

Title	Streptococcus mutansの及ぼす全身への影響を探求し続けて
Author(s)	仲野, 和彦
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2017, 62(1), p. 1-9
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/68266">https://hdl.handle.net/11094/68266</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

# *Streptococcus mutans* の及ぼす 全身への影響を探求し続けて

仲野 和彦\*

(平成 29 年 7 月 26 日受付)

## はじめに

歯科領域における二大疾患は齲蝕と歯周病であり、それぞれに関連する口腔細菌が引き起こす感染症として広く認知されている。齲蝕は主にグラム陽性通性嫌気性菌であるミュータンスレンサ球菌によって引き起こされる(図1)。ヒトに存在するミュータンスレンサ球菌としては、*Streptococcus mutans* と *Streptococcus sobrinus* が知られている<sup>1)</sup>。本研究は、東京女子医科大学感染症科の菊池 賢教授から供与された血液から分離されたレンサ球菌のうち4株の *S. mutans* 菌株の分析を行うことから始まった<sup>2)</sup>。その後、現在まで「*S. mutans* の及ぼす全身への影響」の研究に取り組んでいる。本稿では、これまでに得られた研究成果について概説していきたい。

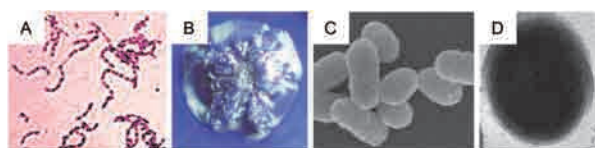


図1 *S. mutans* 像 A) グラム染色 B) ミティス・サリバリウス寒天培地上 C) 走査型電子顕微鏡像 D) 透過型電子顕微鏡像

## *S. mutans* の菌体表層抗原

*S. mutans* は菌体表層に存在するラムノースのポリマーによる主骨格とグルコールポリマーによる側鎖からなる血清型特異多糖抗原の側鎖の結合様式によって、

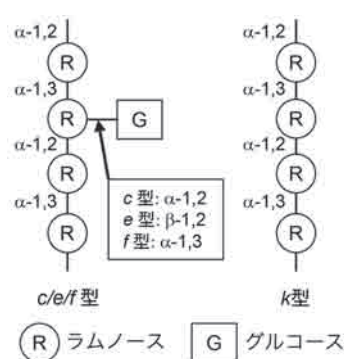


図2 *S. mutans* の血清型特異多糖抗原の模式図

血清学的に *c/e/f*型に分類される(図2)<sup>1)</sup>。それぞれの口腔分離株における分布頻度は *c*型が約7~8割、*e*型が約2割、*f*型が数パーセント以下とされる。しかし、先述の4株はどの株も主要な *c*型には分類されず、*e*型および *f*型が1株ずつであった<sup>2)</sup>。さらに、残りの2株は *c/e/f*型のいずれにも分類されず、血清学的な分類が不能であった。そこで、これらの株の血清型特異多糖抗原に対する抗血清を作製することにした。一般的に、*S. mutans* の血清型特異多糖抗原に対する抗血清は、全菌体をアジュバントとともにウサギに筋肉注射することで容易に得られるが、これらの菌体に関しては通法では抗血清が作製不能であった。その後、作製法を試行錯誤して、最終的には多量的全菌体を静脈内に投与するという方法で抗血清の作製に成功した。そして、新規血清型 *k*型を定義するに至った<sup>3,4)</sup>。

*S. mutans* の菌体表層には様々なタンパク抗原が存在していることが分かっており、齲蝕原性に関わるグルコシルトランスフェラーゼ (Glucosyltransferase;

\* 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (小児歯科学教室)

GTF)<sup>5)</sup>, Protein antigen (PA)<sup>6)</sup>, グルカン結合タンパク (Glucan-binding protein; Gbp)<sup>7)</sup>等が主要な抗原として広く知られている。*S. mutans* はPAを介して歯面に初期付着し, GTFによってスクロースからグルカンを形成する際に産生する酸によって歯質の崩壊が生じ, Gbpによってグルカンと結合することでバイオフィルムの成熟に至るとされている。これらのタンパク抗原は*S. mutans*が齶蝕原性を発揮する上で必要不可欠なものであり, ほとんどの菌株で発現していることが分かっている。一方で, 約1~2割の*S. mutans*株に限ってコラーゲン結合能を有するものが存在することが古くから知られており<sup>8)</sup>, コラーゲン結合タンパク (Cnm, Cbm)も同定されている<sup>9,10)</sup>。血液分離株においては, GTFは標準株と同様な発現をしているものの, PAの発現を欠いたりGbpに変異が生じたりしていることが特徴で, コラーゲン結合タンパクを有するものもあることが明らかになった<sup>11-15)</sup>。

### 菌血症

拔牙や口腔外科処置等の観血的歯科治療によって生じる菌血症は広く知られるところであり, 患者血液から分離される主要な菌種は口腔レンサ球菌である<sup>16)</sup>。最近では, ブラッシングやフロスの使用等の日常生活においても, 菌血症が生じることも認識されている<sup>17)</sup>。実際に, 心臓血管外科において心臓弁置換術および大動脈瘤摘出術の際に除去された検体を供与いただき, 口腔レンサ球菌種および歯周病原性細菌種の存在についてPCR法を用いて検討した<sup>18,19)</sup>。その結果, 各細菌種の存在が確認されたが, *S. mutans*の検出率が最大であった。一方で, 各種条件下で*S. mutans*の生菌を分離しようと試みたものの, どの検体からも分離はできなかった。このように, DNAレベルでのみ検出されることは, *S. mutans*が一過性に血液中に侵入し心臓弁や動脈瘤の箇所が存在するものの, 菌が局在できるような血管の傷害部位が存在しない場合には, 短時間で排除されていることを示唆しているものと考えられる。また, *S. mutans*陽性の心臓弁や動脈瘤検体において血清型分布を検討すると, 健常者口腔で高頻度に検出されるc型の割合が極めて低く, 他の血清型の頻度が高かった<sup>20)</sup>。さらに, 心臓弁や動脈瘤検体を提供いただいた患者のデンタルプラークにおいても同様であり, c型株以外では, 菌体表層タンパクにも変異が生じていることが多いことから, 免疫機構をくぐり抜けて血液中

に長期間存在できる可能性が考えられた。実際に, *in vitro*系および動物実験において*S. mutans*のうち菌体表層の主要なタンパク抗原に変異が生じている株では, 多型核白血球による貪食から逃れて血液中に長期間存在できることが明らかになった<sup>21-23)</sup>。

### 感染性心内膜炎

感染性心内膜炎は, 心内膜や弁膜の傷害部に血小板やフィブリン, 細菌塊からなる疣贅と称される塊を形成し, 心臓症状, 感染症状および血管塞栓症状を示す疾患として知られている<sup>24)</sup>。黄色ブドウ球菌が関連し急激に進行するタイプもあるが, わが国においては口腔レンサ球菌によって緩やかに生じるタイプが多いとされている<sup>25)</sup>。歯科治療のうち侵襲的な処置には菌血症を誘発するものが多くあるため, 心内膜や弁膜に傷害を生じ得る心疾患を有する対象においては, 抗菌薬を用いた感染性心内膜炎の予防が強く意識されている<sup>26)</sup>。我が国においては独自のガイドラインを有していなかったが, 2003年に日本循環器学会が初のガイドラインを発表し<sup>27)</sup>, 2008年の改訂<sup>28)</sup>を経て2018年にはさらなる改訂版が公開されることになっている。

感染性心内膜炎の起炎菌としては, 口腔レンサ球菌のうち*Streptococcus sanguinis*などmitisグループに分類されている菌がよく知られているが, *mutans*グループである*S. mutans*もその1つとして知られており, *S. mutans*が引き起こしたとされる感染性心内膜炎の症例報告が数多くなされている<sup>29)</sup>。一方で, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*のような一部の菌を除いて, 歯周病原性細菌が起炎菌になることはほとんどない<sup>24)</sup>。これは, 血液中の酸素分圧の環境下では, 通性嫌気性である口腔レンサ球菌では生存可能であるが, 偏性嫌気性である歯周病原性細菌には不利であることに起因していると考えられる。

*S. mutans*が引き起こす感染性心内膜炎の病原メカニズムに関しては, GTFやPAや様々な菌体表層タンパク抗原が注目されてきた<sup>30,31)</sup>。また, *S. mutans*の関連する感染性心内膜炎では, k型が多く同定されることが明らかになり<sup>32)</sup>, 菌体表層抗原に変異が生じている株が病原性を発揮している可能性が示唆された。一方で, *S. mutans*の約10%の株にコラーゲン結合能があることが知られており<sup>33)</sup>, 2004年にはコラーゲン結合タンパクとしてCnmタンパクが同定されるとともに, コードする*cnm*遺伝子が明らかになった<sup>9)</sup>。さらに,

2012年には我々のグループでもう1つのコラーゲン結合タンパク (Cbm タンパク) を同定し、コードする *cbm* 遺伝子を明らかにした<sup>10)</sup>。その後、教室内に保有している580株を調べてみると、コラーゲン結合能を有する *S. mutans* 株の頻度は10~20%程度であり、CnmもしくはCbmのいずれかを菌体表層に発現していることが明らかになった<sup>10)</sup>。Cnmは*f*型の株に多く存在し、Cbmは*k*型の株に多く認められることも明らかになった<sup>10)</sup>。

図3にコラーゲン結合タンパクの感染性心内膜炎に対する病原性への関連性を示す研究結果の一部を示す。CnmやCbmを発現する *S. mutans* 株は、血管内皮細胞への高い付着侵入能を有することが示された<sup>33,34)</sup>。また、ラットの心臓弁に人工的に傷害を与えて *S. mutans* 株を感染させた感染性心内膜炎モデルによる評価を行ったところ、コラーゲン結合タンパクを保有する *S. mutans* 株では多数の菌の心臓弁への付着が認められた<sup>35)</sup>。このような血管内皮細胞や感染性心内膜炎モデルにおける高い病原性は、コラーゲン結合タンパク陽性 *S. mutans* 株のコラーゲン結合遺伝子に抗生物質耐性遺伝子を挿入することにより不活化させた変異株では失われることから<sup>33,35)</sup>、CnmやCbmが直接的に感染性心内膜炎の悪化に関わっていることが示唆された。また、CnmやCbmを発現する *S. mutans* 株はPAの発現が極めて弱い菌株が約25%の割合で認められることも分かった<sup>34)</sup>。PA陰性でコラーゲン結合タンパク陽性の *S. mutans* 株では、PA陽性でコラーゲン結合タンパク陽性の *S. mutans* 株と比較して、コラーゲン結合能や血管内皮細胞への付着侵入能が増強することが明らかになり<sup>34)</sup>、PAがコラーゲン結合タンパクのネガテ

ィブレギュレーターとして働いている可能性が考えられた。さらに、Cbm陽性 *S. mutans* 株は、コラーゲンだけでなく血漿中に含まれるフィブリノーゲンにも付着する能力を有し、フィブリノーゲンを架橋とした血小板凝集を惹起し病変部での疣贅に関与することが示された<sup>35)</sup>。

## 脳出血

脳血管障害は、我が国では悪性新生物、心疾患に次いで高い死因の1つであり、脳梗塞と脳出血に大きく分類される。脳出血は、動脈硬化等により脳の微小な血管に変化が起ることで生じるとされている<sup>36)</sup>。感染性心内膜炎の主要な合併症として脳出血が挙げられているため<sup>24)</sup>、コラーゲン結合タンパク陽性株の脳出血に対する病原性について検討することにした。これまでに、マウスの中大脳動脈に光化学的に傷害を与えて出血を人工的に誘発するモデルが存在していたため<sup>37)</sup>、このモデルを改変して微小な出血を引き起こした条件下で頸静脈より菌株を投与することとした<sup>38)</sup>。Cnm陽性株を頸静脈から投与して24時間後にマウスから摘出した脳を図4に示す。光化学的に傷害を与えた側の脳では著しい出血が誘発され表層部から深部にまで広範囲に生じていた。一方で、傷害を与えていない側の脳では変化は認められなかった。また、生理食塩水やCnm陰性株投与群では出血の悪化は認められなかった。これらのことから、感染性心内膜炎の発症メカニズムと同様に、血管に傷害があることが病変の成立要件の重要な因子になっていることが考えられた。その後の様々な分析から、コラーゲン結合タンパク陽性株が血液中

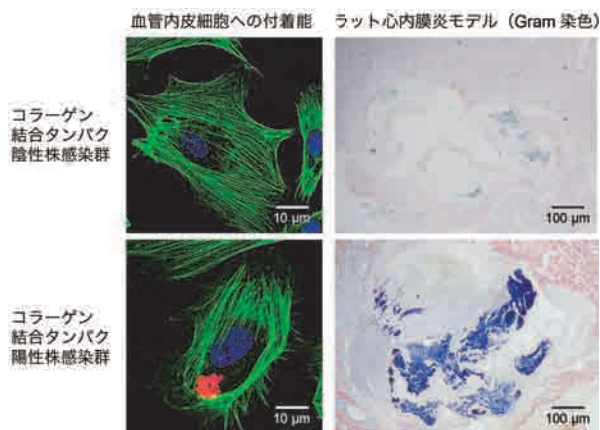


図3 コラーゲン結合タンパクの感染性心内膜炎に対する病原性への関連性を示す実験結果

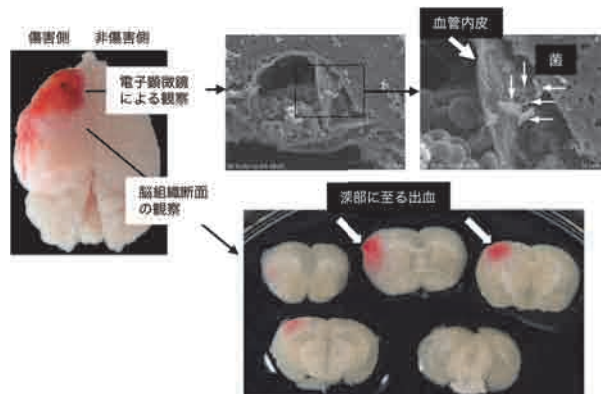


図4 マウス中大脳動脈傷害モデルにおける脳出血に対する検討

に侵入した際に、傷害を受けてコラーゲンが露出している血管内皮に結合することで、血小板の凝集を妨げてしまうことが明らかになった。また、コラーゲン結合タンパク陽性株自体が負に帯電しており、正に帯電しているコラーゲン層に強い親和性が生じることや、負に帯電している血小板とは反発しあうことでも血小板凝集を阻害している可能性が示唆された。さらに、傷害部に集積した菌自体がマトリックスメタロプロテアーゼ等を活性化させて出血を増悪させていることも考えられた。

次に、脳出血の治療中もしくは治療後の患者 37 人（平均 70.8 歳）に提供いただいた口腔検体から *S. mutans* を分離してコラーゲン結合タンパク陽性株の存在を検討したところ、脳出血患者では年齢と性別がマッチして全身的な既往歴や常用薬のない方たちよりも有意に高い保有率を示した<sup>38)</sup>。また、コラーゲン結合タンパク陽性株を保有している人は、保有していない人に対して 9.4 倍の脳出血発症のリスクを呈した。さらに、脳卒中のため入院した患者さん 99 人（平均 70.1 歳）から唾液を提供いただき、*S. mutans* を分離してコラーゲン結合タンパク陽性株の存在を検討した結果、コラーゲン結合タンパク陽性株を保有している患者さんでは、保有していない患者さんよりも脳出血の発症している割合が高く、脳の MRI 画像で観察できる微小出血の跡も多いことが明らかになった<sup>39)</sup>。また、このタイプの脳出血は、深部型に分類されるものに多く認められることも示された。加えて、139 人（平均 70.0 歳）の脳ドックを受診した方々に協力いただき、唾液の提供を受けて *S. mutans* を分離してコラーゲン結合タンパク陽性株の存在を検討した結果、コラーゲン結合タンパク陽性株を保有している人は、保有していない人に対して 14.4 倍の脳内微小出血発症のリスクを呈し

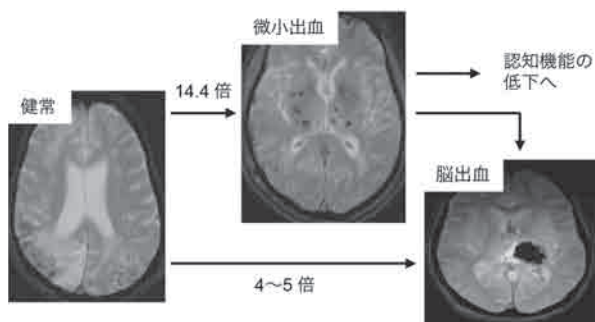


図5 コラーゲン結合タンパク陽性株の保有と微小出血および脳出血のリスク

た<sup>40)</sup>。さらに、深部型脳内微小出血は認知機能障害に関与することが報告されているため検討したところ、コラーゲン結合タンパク陽性株を保有している患者では認知機能低下が生じている可能性も示唆された<sup>41)</sup>。図5に示すように、口腔内にコラーゲン結合タンパク陽性株の保有していることが、脳微小出血、脳出血、認知機能の低下に関連しているデータが蓄積されてきている。

## 炎症性腸疾患

炎症性腸疾患は主として消化管に原因不明の炎症を起す慢性かつ難治性の腸疾患の総称であり、クローン病と潰瘍性大腸炎に分類されている<sup>42)</sup>。炎症性腸疾患の根本治療法は未だ確立されておらず、厚生労働省によって難病に指定されている。前述の脳出血マウスモデルにおける研究の際に、コラーゲン結合タンパク陽性株を投与したマウスの腸において重度の炎症を呈していることが明らかになったため、ヒトにおける潰瘍性大腸炎と類似した所見を示すマウス腸炎モデルを用いて病原性を検討することとした。

マウス腸炎モデルは、7週齢の C57BL/6J マウスに、2.5%デキストラン硫酸塩溶液を飲料水として自由に摂取させ軽度の腸炎を誘発するものを用いた<sup>43)</sup>。頸静脈より菌を感染させて15日後に屠殺し腸組織の病理組織像を検討すると、コラーゲン結合タンパク陽性株を感染させたマウスでは腸炎悪化の所見が認められたが、コラーゲン結合タンパク陰性株を感染させたマウスでは著明な変化は認めなかった（図6）<sup>44)</sup>。その後の様々な

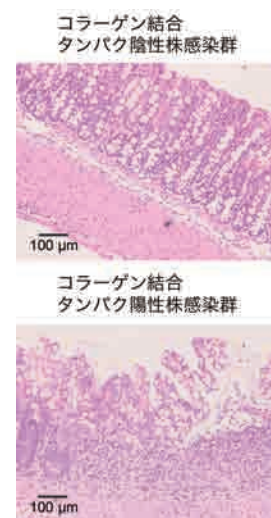


図6 マウス腸炎モデルにおける病原性の検討

分析から、コラーゲン結合タンパク陽性株が引き起こす腸炎悪化メカニズムが想定された。すなわち、血液中に侵入したコラーゲン結合タンパク陽性株が肝臓実質細胞に取り込まれることによって INF- $\gamma$  などのサイトカインを産生し、 $\alpha$ AGP やアミロイドといった物質が誘導されることで免疫機構の不均衡を引き起こし、腸炎の悪化が生じるというものである。

さらに、潰瘍性大腸炎やクローン病と診断された患者 (平均 43.7 歳) から提供を受けた唾液から *S. mutans* を分離し、コラーゲン結合タンパク陽性株の保有率を検討したところ、炎症性腸炎群では年齢と性別がマッチして全身的な既往歴や常用薬のない健常群よりも有意に高い保有率を示した。また、コラーゲン結合タンパク陽性株を保有している人は、保有していない人に対して 1.7 倍の腸炎発症のリスクを呈した。

### 非アルコール性脂肪肝炎

脂肪肝はアルコール性と非アルコール性とに分類され、非アルコール性は単純性脂肪肝と非アルコール性脂肪肝炎に分類される。このうち、非アルコール性脂肪肝炎は、飲酒歴がないのにもかかわらず、病理学的にはアルコール性脂肪肝炎に類似した所見を示すため、アルコール性肝障害とは別の病態として分類しようと提唱されたのが始まりである<sup>45)</sup>。非アルコール性脂肪肝炎の成り立ちには Two-hit theory という理論が提唱されており、まず過剰栄養摂取によりメタボリックシンドロームに陥ってインスリン抵抗性が生じ単純性脂肪肝が生じた後に (1st hit)、酸化ストレスなどで肝臓における炎症性変化および線維化が誘発され非アルコール脂肪肝炎へと進行するとされている (2nd hit)<sup>46)</sup>。そこで、コラーゲン結合タンパク陽性株の血液中への侵入が 2nd hit の要因になり得ないかをマウスモデルを用

いて検討することにした。

マウス非アルコール性脂肪肝炎モデルは、6 週齢の C57BL/6J マウスに、高脂肪食飼料 32 (日本クレア、東京) を摂取させると 48 週後に非アルコール性脂肪肝炎に類似した所見を呈するようになるモデル<sup>47)</sup>を以下のように改変した。すなわち、高脂肪食飼料 32 を 4 週間摂取させて Two-hit theory でいういわゆる 1st-hit の状況を作り出した上で、供試菌を頸静脈より投与することで 2nd-hit の状況を作り出すというものである<sup>48)</sup>。菌を投与して 12 週後に屠殺して肝臓の病理組織所見を検討すると、コラーゲン結合タンパク陽性株を感染させたマウスでは非アルコール性脂肪肝炎悪化の所見が認められたが、コラーゲン結合タンパク陰性株を感染させたマウスでは著明な変化は認めなかった (図 7)<sup>48,49)</sup>。その後の様々な分析から、コラーゲン結合タンパク陽性株が引き起こす非アルコール性脂肪肝炎悪化メカニズムが想定された。すなわち、血液中に侵入したコラーゲン結合タンパク陽性株が、コラーゲン結合タンパクを介して肝臓組織に付着した後、INF- $\gamma$  やメタロチオネインなどの発現を上昇させ炎症性変化や酸化ストレスを惹起させることで非アルコール性脂肪肝炎の悪化が生じるというものである。

### おわりに

小児歯科領域では、齲蝕の予防が日々の臨床における重要なテーマの一つであることから、当教室では長年に亘って *S. mutans* の齲蝕原性に関する研究が行われてきた。私自身は、20 年程前に *S. mutans* が血液中に侵入した際に生じ得る病態の追究という研究テーマを与えていただいた。当時考えたのは *S. mutans* がどのような全身疾患を起こし得るかということであった。そして、*S. mutans* が口腔レンサ球菌の一種であること

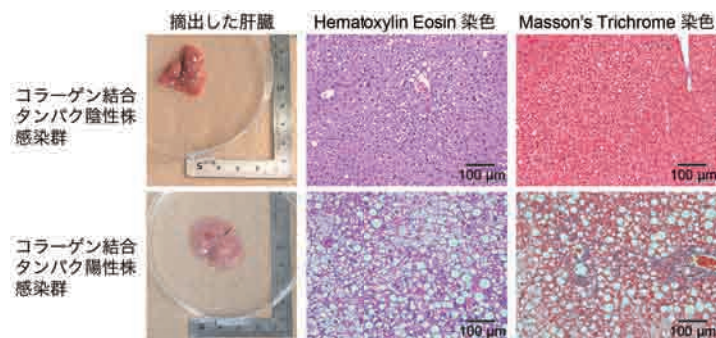


図 7 マウス非アルコール性脂肪肝炎モデルにおける病原性の検討

から、口腔レンサ球菌によって生じ得る感染性心内膜炎に関する研究から開始した。健全な動物においては、血液中に菌株をいくら投与しても明確な病変は形成されなかった。一方で、心臓弁に人工的に傷害を与えた上で、Cnm陽性菌のような病原性を発揮する菌株を投与した際に初めて病変が形成された。その後、脳や腸、肝臓に与える影響の検討を行い、現在は腎臓への影響を検討するに至っている<sup>50,51)</sup>。次のステップとしては、これまでに網羅できていない臓器への影響を検討するとともに、それぞれの臓器間での一連の現象のつながりを明確にしていく必要性を感じている。

小児歯科医としてのこれまでの経験を通じて、齶蝕に関する菌の定着期を担当する小児歯科領域であるが故に行うことができる研究アプローチと臨床応用が存在していると感じている。*S. mutans* に関して言えば、乳幼児期に菌の伝播を防ぐことができれば、理論的には菌の定着が生じないと考えられる。そのためには、子どもに接する人たちの菌数を減少させることが重要であり、齶蝕があれば治療しておくことや日常の口腔衛生に心がけてもらうことが必要だと思われる。また、残念ながら菌が伝播してしまった際にその定着を防ぐためには、保護者による子どもの口腔衛生管理の必要があると考えられる。さらに、齶蝕が発生してしまった際には、速やかに治療を行うことで菌数を減少させることが重要であると思われる。このように、小児歯科医が行う菌の伝播や定着を意識したアプローチが、その人の一生の齶蝕の低下させることにつながると考えられる。

さらに、本稿で触れたようにCnm陽性菌のような病原性を発揮するものに関しては、菌の伝播や定着を防ぐことで全身疾患の発症をも予防することにつながる可能性があると思われる。特に、これまでの調査を結果から、Cnm陽性菌は母子伝播している可能性が強く示唆されており<sup>52)</sup>、保有者を特定し伝播や定着を防ぐ手立てを企てることは重要であると考えられる。今後は、本研究で得られたエビデンスをもとに、「乳幼児期に子どもと接する人たちの口腔衛生の向上が、その子の齶蝕の低下のみならず全身の健康に寄与する」という可能性を広く啓発していきたいと考えている。

#### 謝辞

本研究を遂行する機会を与えていただき長年にわたってご指導いただきました大阪大学名誉教授大嶋 隆先生に深謝申し上げます。また、研究を遂行するにあ

たりまして多大なるご協力、ご指導を賜りました大阪労災病院心臓血管外科 谷口和博部長（現市立東大阪医療センター理事長）、同歯科口腔外科 吉岡秀郎部長、聖隷浜松病院脳神経外科 田中篤太郎部長、同腎臓内科 三崎太郎部長、国立循環器病研究センター脳神経内科 猪原匡史部長、殿村修一先生、齊藤 聡先生、京都府立医科大学大学院医学研究科地域保健医療疫学 渡邊能行教授（京都府健康福祉部保健医療対策監）、栗山長門准教授、渡邊 功助教、松井大輔助教、大阪産業大学工学部交通機械工学科 山田 修教授、寺本 昇先生に心より感謝いたします。さらに、大学院生として、また学位取得後も粘り強く本研究の遂行を支えてきていただいた当教室の野村良太准教授、大継将寿助教、鋸屋侑布子助教、根本浩利博士、谷口奈穂博士、小島あゆち博士、増田勝彦臨床准教授、畠山理那博士、岡山大学病院小児歯科 仲 周平講師、タイ・マヒドン大学口腔細菌学講座 Jinthana Lapiratnakul 准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究（A）19209063、基盤研究（B）16390605、23390472、24390461、15H05049、15H05300、若手研究（A）18689050、21689052、萌芽研究17659647、挑戦的萌芽研究15K15754）の支援のもとに行われた。

#### 文献

- 1) Hamada, S., and Slade, H. D. (1980): Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev*, 44, 331-384.
- 2) Fujiwara, T., Nakano, K., Kawaguchi, M., Ooshima, T., Sobue, S., Kawabata, S., Nakagawa, I. and Hamada, S. (2001): Biochemical and genetic characterization of serologically untypable *Streptococcus mutans* strains isolated from patients with bacteremia. *Eur J Oral Sci*, 109, 330-334.
- 3) Nakano, K., Nomura, R., Nakagawa, I., Hamada, S. and Ooshima T. (2004): Demonstration of *Streptococcus mutans* with a cell wall polysaccharide specific to a new serotype, *k*, in the human oral cavity. *J Clin Microbiol*, 42, 198-202.
- 4) Nakano, K., Nomura, R., Shimizu, N., Nakagawa, I., Hamada, S. and Ooshima, T. (2004): Development of a PCR method for rapid identification of new *Streptococcus mutans* serotype *k* strains. *J Clin Microbiol*, 42, 4925-4930.
- 5) Kuramitsu, H. K. (1993): Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. *Crit Rev Oral Biol Med*, 4, 159-176.

- 6) Koga, T., Okahashi, N., Takahashi, I., Kanamoto, T., Asakawa, H. and Iwaki, M. (1990): Surface hydrophobicity, adherence, and aggregation of cell surface protein antigen mutants of *Streptococcus mutans* serotype *c*. *Infect Immun*, 58, 289-296.
- 7) Banas, J. A. and Vickerman, M. M. (2003): Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev Oral Biol Med*, 14, 89-99.
- 8) Switalski, L. M., Butcher, W. G., Caufield, P. C. and Lantz, M. S. (1993): Collagen mediates adhesion of *Streptococcus mutans* to human dentin. *Infect Immun*, 61, 4119-25.
- 9) Sato, Y., Okamoto, K., Kagami, A., Yamamoto, Y., Igarashi, T. and Kizaki, H. (2004): *Streptococcus mutans* strains harboring collagen-binding adhesin. *J Dent Res*, 83, 534-539.
- 10) Nomura, R., Nakano, K., Naka, S., Nemoto, H., Masuda, K., Lapidattanakul, J., Alaluusua, S., Matsumoto, M., Kawabata, S. and Ooshima, T. (2012): Identification and characterization of a collagen-binding protein, Cbm, in *Streptococcus mutans*. *Mol Oral Microbiol*, 27, 308-323.
- 11) Nakano, K., Matsumura, M., Kawaguchi, M., Fujiwara, T., Sobue, S., Nakagawa, I., Hamada, S. and Ooshima, T. (2002): Attenuation of glucan-binding protein C reduces the cariogenicity of *Streptococcus mutans*: analysis of strains isolated from human blood. *J Dent Res*, 81, 376-379.
- 12) Nakano, K., Nomura, R., Nemoto, H., Lapidattanakul, J., Taniguchi, N., Grönroos, L., Alaluusua, S. and Ooshima, T. (2008): Protein antigen in serotype *k* *Streptococcus mutans* clinical isolates. *J Dent Res*, 87, 964-968.
- 13) Nomura, R., Nakano, K., Taniguchi, N., Lapidattanakul, J., Nemoto, H., Grönroos, L., Alaluusua, S. and Ooshima, T. (2009): Molecular and clinical analyses of the gene encoding the collagen-binding adhesin of *Streptococcus mutans*. *J Med Microbiol*, 58, 469-475.
- 14) Nakano, K., Nomura, R., Taniguchi, N., Lapidattanakul, J., Kojima, A., Naka, S., Senawongse, P., Srisattjaluk, R., Grönroos, L., Alaluusua, S., Matsumoto, M. and Ooshima, T. (2010): Molecular characterization of *Streptococcus mutans* strains containing the *cnm* gene encoding a collagen-binding adhesin. *Arch Oral Biol*, 55, 34-39.
- 15) Taniguchi, N., Nakano, K., Nomura, R., Naka, S., Kojima, A., Matsumoto, M. and Ooshima, T. (2010): Defect of glucosyltransferases reduces platelet aggregation activity of *Streptococcus mutans*: analysis of clinical strains isolated from oral cavities. *Arch Oral Biol*, 55, 410-416.
- 16) Heimdahl, A., Hall, G., Hedberg, M., Sandberg, H., Söder, P. O., Tunér, K. and Nord, C. E. (1990): Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol*, 28, 2205-2209.
- 17) Roberts, G. I., Gardner, P. and Simmons, N. A. (1992): Optimal sampling time for detection of dental bacteremia in children. *Int J Cardiol*, 15, 311-315.
- 18) Nakano, K., Inaba, H., Nomura, R., Nemoto, H., Takeda, M., Yoshioka, H., Matsue, H., Takahashi, T., Taniguchi, K., Amano, A. and Ooshima, T. (2006): Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *J Clin Microbiol*, 44, 3313-3317.
- 19) Nakano, K., Nemoto, H., Nomura, R., Inaba, H., Yoshioka, H., Taniguchi, K., Amano, A. and Ooshima, T. (2009): Detection of oral bacteria in cardiovascular specimens. *Oral Microbiol Immunol*, 24, 64-68.
- 20) Nakano, K., Nemoto, H., Nomura, R., Homma, H., Yoshioka, H., Shudo, Y., Hata, H., Toda, K., Taniguchi, K., Amano, A. and Ooshima, T. (2007): Serotype distribution of *Streptococcus mutans* a pathogen of dental caries in cardiovascular specimens from Japanese patients. *J Med Microbiol*, 56, 551-556.
- 21) Nomura, R., Nakano, K. and Ooshima, T. (2004): Contribution of glucan-binding protein C of *Streptococcus mutans* to bacteremia occurrence. *Arch Oral Biol*, 49, 783-788.
- 22) Nakano, K., Fujita, K., Nishimura, K., Nomura, R. and Ooshima, T. (2005): Contribution of biofilm regulatory protein A of *Streptococcus mutans*, to systemic virulence. *Microbes Infect*, 7, 1246-1255.
- 23) Nakano, K., Tsuji, M., Nishimura, K., Nomura, R. and Ooshima, T. (2006): Contribution of cell surface protein antigen PAc of *Streptococcus mutans* to bacteremia. *Microbes Infect*, 8, 114-121.
- 24) Moreillon, P. and Que, Y. A. (2004): Infective endocarditis. *Lancet*, 363, 139-149.
- 25) Nakatani, S., Mitsutake, K., Hozumi, T., Yoshikawa, J., Akiyama, M., Yoshida, K., Ishizuka, N., Nakamura, K., Taniguchi, Y., Yoshioka, K., Kawazoe, K., Akaishi, M., Niwa, K., Nakazawa, M., Kitamura, S. and Miyatake, K.; Committee on Guideline for Prevention and Management of Infective Endocarditis, Japanese Circulation Society. (2003): Current characteristics of infective endocarditis in Japan; an analysis of 848 cases in 2000 and 2001. *Circ J*, 67, 901-905.
- 26) Dajani, A. S., Taubert, K. A., Wilson, W., Bolger, A. F., Bayer, A., Ferrieri, P., Gewitz, M. H., Shulman, S. T., Nouri, S., Newburger, J. W., Hutto, C., Pallasch, T. J., Gage, T. W., Levison, M. E., Peter, G., Zuccaro, G. Jr. (1997): Prevention of bacterial endocarditis. Recommendations by the American Heart Association. *Circulation*, 96, 358-366.
- 27) 感染性心内膜炎の予防と治療に関するガイドライン Guidelines for the Prevention and Treatment of



- Infective Endocarditis 2003 (JCS 2003) [http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2003\\_miyatake\\_h.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2003_miyatake_h.pdf)
- 28) 感染性心内膜炎の予防と治療に関するガイドライン (2008年改訂版) Guidelines for the Prevention and Treatment of Infective Endocarditis 2008 (JCS 2008) [http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2008\\_miyatake\\_d.pdf](http://www.j-circ.or.jp/guideline/pdf/JCS2008_miyatake_d.pdf)
  - 29) Nakano, K., Nomura, R. and Ooshima, T. (2008): *Streptococcus mutans* and cardiovascular diseases. *Jpn Dent Sci Rev*, 44, 29–37.
  - 30) Ryd, M., Schennings, T., Flock, M., Heimdahl, A. and Flock, J. I. (1996): *Streptococcus mutans* major adhesion surface protein, P1 (I/II), does not contribute to attachment to valvular vegetations or to the development of endocarditis in a rat model. *Arch Oral Biol*, 41, 999–1002.
  - 31) Chia, J. S., Lien, H. T., Hsueh, P. R., Chen, P. M., Sun, A. and Chen, J. Y. (2002): Induction of cytokines by glucosyltransferases of *Streptococcus mutans*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 9, 892–897.
  - 32) Nakano, K., Nomura, R., Nemoto, H., Mukai, T., Yoshioka, H., Shudo, Y., Hata, H., Toda, K., Taniguchi, K., Amano, A. and Ooshima, T. (2007): Detection of novel serotype *k* *Streptococcus mutans* in infective endocarditis patients. *J Med Microbiol*, 56, 1413–1415.
  - 33) Nomura, R., Naka, S., Nemoto, H., Inagaki, S., Taniguchi, K., Ooshima, T. and Nakano, K. (2013): Potential involvement of collagen-binding proteins of *Streptococcus mutans* in infective endocarditis. *Oral Dis*, 19, 387–393.
  - 34) Nomura, R., Naka, S., Nemoto, H., Otsugu, M., Nakamura, S., Ooshima, T. and Nakano, K. (2013): Potential high virulence for infective endocarditis in *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins but lacking PA expression. *Arch Oral Biol*, 58, 1627–1634.
  - 35) Nomura, R., Otsugu, M., Naka, S., Teramoto, N., Kojima, A., Muranaka, Y., Matsumoto-Nakano, M., Ooshima, T. and Nakano, K. (2014): Contribution of the interaction of *Streptococcus mutans* serotype *k* strains with fibrinogen to the pathogenicity of infective endocarditis. *Infect Immun*, 82, 5223–5234.
  - 36) Takebayashi, S. and Kaneko, M. (1983): Electron microscopic studies of ruptured arteries in hypertensive intracerebral hemorrhage. *Stroke*, 14, 28–36.
  - 37) Zhao, B. Q., Ikeda, Y., Ihara, H., Urano, T., Fan, W., Mikawa, S., Suzuki, Y., Kondo, K., Sato, K., Nagai, N. and Umemura, K. (2004): Essential role of endogenous tissue plasminogen activator through matrix metalloproteinase 9 induction and expression on heparin-produced cerebral hemorrhage after cerebral ischemia in mice. *Blood*, 103, 2610–2616.
  - 38) Nakano, K., Hokamura, K., Taniguchi, N., Wada, K., Kudo, C., Nomura, R., Kojima, A., Naka, S., Muranaka, Y., Thura, M., Nakajima, A., Masuda, K., Nakagawa, I., Speziale, P., Shimada, N., Amano, A., Kamisaki, Y., Tanaka, T., Umemura, K. and Ooshima, T. (2011): The collagen-binding protein of *Streptococcus mutans* is involved in haemorrhagic stroke. *Nat Commun* 2, 485.
  - 39) Tonomura, S., Ihara, M., Kawano, T., Tanaka, T., Okuno, Y., Saito, S., Friedland, R. P., Kuriyama, N., Nomura, R., Watanabe, Y., Nakano, K., Toyoda, K. and Nagatsuka, K. (2016): Intracerebral hemorrhage and deep microbleeds associated with *cnm*-positive *Streptococcus mutans*; a hospital cohort study. *Sci Rep*, 6, 20074.
  - 40) Miyatani, F., Kuriyama, N., Watanabe, I., Nomura, R., Nakano, K., Matsui, D., Ozaki, E., Koyama, T., Nishigaki, M., Yamamoto, T., Mizuno, T., Tamura, A., Akazawa, K., Takada, A., Takeda, K., Yamada, K., Nakagawa, M., Ihara, M., Kanamura, N., Friedland, R. P. and Watanabe, Y. (2015): Relationship between *Cnm*-positive *Streptococcus mutans* and cerebral microbleeds in humans. *Oral Dis*, 21, 886–893.
  - 41) Watanabe, I., Kuriyama, N., Miyatani, F., Nomura, R., Naka, S., Nakano, K., Ihara, M., Iwai, K., Matsui, D., Ozaki, E., Koyama, T., Nishigaki, M., Yamamoto, T., Tamura, A., Mizuno, T., Akazawa, K., Takada, A., Takeda, K., Yamada, K., Nakagawa, M., Tanaka, T., Kanamura, N., Friedland, R. P. and Watanabe, Y. (2016): Oral *Cnm*-positive *Streptococcus mutans* expressing collagen binding activity is a risk factor for cerebral microbleeds and cognitive impairment. *Sci Rep*, 6, 38561.
  - 42) Blumberg, R. S. and Strober, W. (2001): Prospects for research in inflammatory bowel disease. *JAMA*, 285, 643–647.
  - 43) Katayama, K., Wada, K., Nakajima, A., Mizuguchi, H., Hayakawa, T., Nakagawa, S., Kadowaki, T., Nagai, R., Kamisaki, Y., Blumberg, R. S. and Mayumi, T. (2003): A novel PPAR gamma gene therapy to control inflammation associated with inflammatory bowel disease in a murine model. *Gastroenterology*, 124, 1315–1324.
  - 44) Kojima, A., Nakano, K., Wada, K., Takahashi, H., Katayama, K., Yoneda, M., Higurashi, T., Nomura, R., Hokamura, K., Muranaka, Y., Matsuhashi, N., Umemura, K., Kamisaki, Y., Nakajima, A. and Ooshima, T. (2012): Infection of specific strains of *Streptococcus mutans*, oral bacteria, confers a risk of ulcerative colitis. *Sci Rep*, 2, 332.
  - 45) Ludwig, J., Viggiano, T. R., McGill, D. B. and Oh, B. J. (1980): Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc*, 55, 434–438.
  - 46) Day, C. P. and James, O. F. (1998): Steatohepatitis: a tale of two “hits”? *Gastroenterology*, 114, 842–845.
  - 47) Nozaki, Y., Fujita, K., Yoneda, M., Wada, K., Shinohara, Y., Takahashi, H., Kirikoshi, H., Inamori, M., Kubota, K.,

- Saito, S., Mizoue, T., Masaki, N., Nagashima, Y., Terauchi, Y. and Nakajima, A. (2009): Long-term combination therapy of ezetimibe and acarbose for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 51, 548-556.
- 48) Naka, S., Nomura, R., Takashima, Y., Okawa, R., Ooshima, T. and Nakano, K. (2014): A specific *Streptococcus mutans* strain aggravates non-alcoholic fatty liver disease. *Oral Dis*, 20, 700-706.
- 49) Naka, S., Hatakeyama, R., Takashima, Y., Matsumoto-Nakano, M., Nomura, R. and Nakano, K. (2016): Contributions of *Streptococcus mutans* Cnm and PA antigens to aggravation of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Sci Rep*, 6, 36886.
- 50) Misaki, T., Naka, S., Kuroda, K., Nomura, R., Shiooka, T., Naito, Y., Suzuki, Y., Yasuda, H., Isozaki, T. and Nakano, K. (2015): Distribution of *Streptococcus mutans* strains with collagen-binding proteins in the oral cavity of IgA nephropathy patients. *Clin Exp Nephrol*, 19, 844-850.
- 51) Misaki, T., Naka, S., Hatakeyama, R., Fukunaga, A., Nomura, R., Isozaki, T. and Nakano, K. (2016): Presence of *Streptococcus mutans* strains harbouring the *cnm* gene correlates with dental caries status and IgA nephropathy conditions. *Sci Rep*, 6, 36455.
- 52) Nomura, R., Naka, S., Nakano, K., Taniguchi, N., Matsumoto, M. and Ooshima, T. (2010): Detection of oral streptococci with collagen-binding properties in saliva specimens from mothers and their children. *Int J Paediatr Dent*, 20, 254-260.