



Title	D-タガトースの口腔プレバイオティクスへの応用に向けた基礎的研究
Author(s)	眞弓, 昌大
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/87967
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 （ 眞 弓 昌 大 ）	
論文題名	D-タガトースの口腔プレバイオティクスへの応用に向けた基礎的研究
論文内容の要旨 希少糖の一つとして知られるD-タガトースは糖尿病の管理や農業、腸内細菌叢へのプレバイオティクスなど、さまざまな場面での応用が期待されている糖質である。一方で、口腔領域においては、<i>Streptococcus mutans</i> への抑制効果は報告されているものの、他菌種への影響を調べた報告はほとんどない。さらに、メタボロミクスやトランスクリプトミクスなどのオミクス技術を用いて、D-タガトースによって誘発される口腔内細菌の動的变化を網羅的に解析した研究は未だない。本研究では、唾液メタボローム解析を用いた臨床研究によって口腔内の衛生状態が良好な人に特徴的な唾液中の代謝物を探索し、D-タガトースに着目した。さらに、最も代表的な口腔バイオフィルムの初期定着菌である口腔レンサ球菌群において、典型的な口腔常在菌である<i>Streptococcus oralis</i>、う蝕の原因菌である <i>S. mutans</i>、歯周病原性細菌叢形成時に “accessory pathogen” として機能する <i>Streptococcus gordonii</i> を対象にD-タガトースが及ぼす影響を検討することとし、上述 3 菌種の表現型、遺伝子発現、代謝プロファイルに及ぼす影響を調べた。 全身的に健康なボランティア 18 名の唾液メタボロームを再解析した結果、唾液中のD-タガトースは口腔内の衛生状態を反映した指標である修正プラーク指数と逆相関していることを確認した（Spearman’s相関係数：$r = -0.603$, $p = 0.008$）。その後、D-タガトースの供試菌株への影響を <i>in vitro</i> で分析した。0.8% D-タガトースを唯一の糖質源とする化学成分既知培地（CDM）では、<i>S. mutans</i> と <i>S. gordonii</i> はそれぞれごくわずかなバイオフィルムの形成しか示さなかったが、<i>S. oralis</i> の培養では有意なバイオフィルムの形成を認めた。さらにブランクトニックな条件下においても、0.2% D-グルコースを含有する CDM に 1% もしくは 5% D-タガトースを添加して培養した際に、<i>S. mutans</i> と <i>S. gordonii</i> ではD-タガトース濃度依存的に増殖抑制と最終生菌数の減少を示した一方で、<i>S. oralis</i> の増殖及び生菌数に対するD-タガトースの阻害効果は認められなかった。 今回確認されたD-タガトースによる菌種特異的な抑制効果の分子基盤を検討するために、5% D-タガトースで処理した <i>S. mutans</i>, <i>S. gordonii</i>, <i>S. oralis</i> の菌体サンプルを用いてトランスクリプトームおよびメタボローム解析を実施した。その結果、<i>S. mutans</i> と <i>S. gordonii</i> では、フルクトース特異的ホスホトランスフェラーゼシステム（Fru-PTS）関連遺伝子の発現が顕著に亢進しており、同システムを介したD-タガトースのリン酸化を伴う取込みが示唆された。さらに、同菌種において分岐鎖アミノ酸やアラニンといったピルビン酸から代謝されるアミノ酸が 5% D-タガトースの存在下で減少し、同じく解糖系下流の代謝物である乳酸が増加傾向にあった。その一方で、<i>S. oralis</i> ではFru-PTS 遺伝子の発現変動は認めず、D-タガトースの菌体内への輸送に同システムの関与が小さいことが示唆された。また、菌体内メタボロームにおいても、分岐鎖アミノ酸や乳酸のプール量に明らかな変動は認めず、アラニンに関しては有意な増加を示した。これらの各菌種における菌体内メタボローム、特に解糖系最終代謝産物のプロファイルおよびトランスクリプトームの違いは、D-タガトースの Fru-PTS を介した取込みに端を発し、資化されることのないリン酸化D-タガトースが細胞内に蓄積し、解糖系およびその下流の代謝を攪乱することで、D-タガトースが<i>S. mutans</i> および <i>S. gordonii</i> に対して菌種選択的に生育阻害効果を発揮したことを示唆している。 結論として、本研究は、D-タガトースが口腔内の衛生状態が良好な人の唾液に豊富に含まれていることを示し、さらに、D-タガトースが口腔内の病原菌である<i>S. mutans</i> や “accessory pathogen” である <i>S. gordonii</i> の生育を選択的に阻害することを実験的に示した。一方、口腔常在菌である<i>S. oralis</i> への影響は限定的であったことから、D-タガトースを口腔プレバイオティクスとして投与することで、二大口腔疾患の発症に関与する口腔レンサ球菌の代謝を選択的に阻害する可能性が示された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (眞 弓 昌 大)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教 授 天 野 敦 雄
	副 査	教 授 村 上 伸 也
	副 査	准教授 秋 山 茂 久
	副 査	講 師 高 橋 雄 介
論文審査の結果の要旨		
本研究では唾液メタボローム解析により，唾液中の D-タガトース量が歯面のプラーク量と逆相関することを示した．さらに，D-タガトースが口腔内の病原菌である <i>Streptococcus mutans</i> や accessory pathogen である <i>Streptococcus gordonii</i> の生育を選択的に阻害する一方で，非病原性とされる口腔常在菌である <i>Streptococcus oralis</i> に及ぼす影響は限定的であることを示した．その背景には，リン酸化タガトースの蓄積による解糖系およびその下流における代謝の攪乱が示唆された． 以上のことから，本研究は D-タガトースの口腔プレバイオティクスへの応用に向けた基礎的な知見を示したものであり，博士（歯学）の学位授与に値するものと認める．		