






(別紙様式第7号)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	松永 哲郎
審査委員	<p>主査 阿座上 弘行 </p> <p>副査 藤井 克彦 </p> <p>副査 會見 忠則 </p> <p>副査 澤 嘉弘 </p> <p>副査 横山 和平 </p>
題目	<p>Studies on the Mechanism of Lectin-Dependent Colonization of <i>Eikenella corrodens</i> in the Oral Cavity (歯周病関連細菌<i>Eikenella corrodens</i>の口腔内へのレクチン依存的定着機構に関する研究)</p>
<p>ある種の細菌がその病原性を発揮するためには、まず生体の局所組織に定着する必要がある。この細菌の定着には、一般に細菌表面に存在する付着因子(リガンド)と宿主側のそれに対する受容体(レセプター)が重要な役割を果たしている。歯周病の原因であるデンタルプラークは約500種以上の口腔細菌から形成されるバイオフィルムコミュニティである。デンタルプラークは典型的なバイオフィルムの一例であり、浮遊細菌が歯面や歯周組織に付着して、マイクロコロニーを形成し、成熟したバイオフィルムを形成する。これらの細菌はバイオフィルムを形成することで口腔内に定着し、宿主の免疫機能や酵素、抗生物質などから逃れる特殊な環境を形成していると考えられている。</p> <p><i>Eikenella corrodens</i> は歯周病患者の病変部から頻りに分離され、無菌ラットへの単一感染により重度の歯周病を惹起するため、歯周病関連細菌の一つであると考えられている。本菌は菌体表層にN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)特異的なレクチンを有しており、口腔内上皮細胞への付着、赤血球の凝集、他の口腔細菌との共凝集、マウスB細胞の活性化、細胞接着因子ICAMの誘導などを行うことが報告されている。したがって、GalNAc特異的なレクチンが<i>E. corrodens</i>の口腔内への病原性に大きく関与すると考えられている。最近、我々はプラスミド上にコードされたリコンビナーゼが線毛遺伝子領域に組換えを起こし、このゲノム再編がGalNAc特異的なレクチン活性を増加させることを報告した。さらに、本菌はGalNAc特異的なレクチンに依存してポリスチレン表面にバイオフィルムを形成することが明らかとなった。しかしながら、本菌の口腔内への定着機構やその制御法については明らかにされていない。本研究では、<i>E. corrodens</i>の口腔内へのレクチン依存的な定着機構に関する研究を行った。すなわち、第一章では、本菌の定着に対する阻害剤の開発を目的として、お茶に多く含まれる</p>	

カテキン類による *E. corrodens* のバイオフィルム抑制効果を、第二章では本菌による定着機構の解明を目的として、*E. corrodens* の病原因子におけるリコンビナーゼによるゲノム再編の効果を調べた。

第一章では、*E. corrodens* の定着阻害剤としてカテキン類を用いた。その結果、ピロガロール型 B リングやガロイル基を持つカテキン類の添加により本菌のバイオフィルム形成が抑制された。このうち、ピロガロール型 B リングを持つカテキン類には増殖抑制効果は見られなかった。さらに、ガロイル基を構成する没食子酸の添加により増殖阻害なしにバイオフィルム形成を抑制した。これらの結果より、ある種のカテキン類は最小生育阻害濃度以下でバイオフィルム形成を抑制することが示唆された。近年、オートインデューサー (AI) と呼ばれるシグナル物質を介した菌密度依存的な細菌間コミュニケーション機構 (クオラムセンシング: QS) がバイオフィルム形成を調節することが明らかとなり、数多くの研究が進められている。近年 *E. corrodens* においても AI-2 を介した QS がバイオフィルム形成に関与することが明らかとなっている。そこで AI-2 合成に関与する *luxS* 遺伝子を欠損させた変異株を用いて、カテキン類のバイオフィルム抑制効果における QS の関与を調べたところ、最小生育阻害濃度以下のエピガロカテキンガレート (EGCg) に見られたバイオフィルム抑制は *luxS* 欠損株では見られなかった。これらの結果から、ガロイル基をもつカテキン類は AI-2 を介した QS を阻害し、これによってバイオフィルム形成を抑制する可能性が示唆された。

第二章では、*E. corrodens* のレクチン依存的な定着機構の解明を試みた。以前、重度歯周病患者の臨床分離株の一つ (1073 株) からプラスミド DNA (pMU1) が発見され、pMU1 上にタイプ IV 線毛遺伝子の特異的に組み換えるリコンビナーゼ遺伝子がコードされていた。さらに、このリコンビナーゼがゲノム上の線毛遺伝子 (*ecpAB*) 領域に組換えを起こし、このゲノム再編が本菌の GalNAc 特異的レクチン活性やバイオフィルム形成を大きく増加させていた。一方、上述のように、GalNAc 特異的レクチンは本菌の宿主細胞表面への付着や病原性に大きく寄与すると考えられている。そこで、口腔内における *E. corrodens* の定着機構を解明するために、病原因子におけるゲノム再編の効果を調べた。その結果、リコンビナーゼ遺伝子の導入により、血液寒天培地上に β 溶血が見られ、口腔内上皮細胞への付着能が増加した。一方、上皮細胞への侵入能はリコンビナーゼ遺伝子の導入により減少した。これらの結果から、リコンビナーゼによる GalNAc 特異的レクチン活性の上昇が *E. corrodens* の病原性を高めることが示唆された。

以上のように、本論文では、カテキン類が QS を介して *E. corrodens* の定着機構を抑制すること、リコンビナーゼによる GalNAc 特異的レクチンの増加が *E. corrodens* の定着に寄与することを明らかにした。よって本研究により、本菌によるレクチン依存的な定着機構やその制御法を提案するとともに、微生物学の基礎的な知見のみならず、バイオフィルム感染症の予防や治療など臨床分野への応用にも大いに貢献できる結果をあげていると判断した。