

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17227

研究課題名（和文）コラーゲン結合能を有するう蝕原性細菌の大規模分布調査および全身疾患との関連の検討

研究課題名（英文）Large-scale survey of cariogenic bacteria with collagen-binding proteins and their association with systemic disease

研究代表者

又吉 紗綾（Matayoshi, Saaya）

大阪大学・大学院歯学研究科・特任講師（常勤）

研究者番号：70910214

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は、小児におけるミュータンスレンサ球菌が検出された割合は過去の報告の約半数ほどであったことを明らかにした。これは、近年の齲蝕罹患者の低下に起因している可能性が示唆された。また、小児のうち、最も低い年齢群である0-6歳群においてCBP陽性ミュータンスレンサ球菌の分離を認める割合が最大であったことから、乳幼児期におけるCBP陽性ミュータンスレンサ球菌の定着予防が重要である可能性が示された。また、CBP陽性群は、CBP陰性群および非検出群と比較してう蝕罹患率が高かったことから、CBPがう蝕の病原因子である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに、CBP陽性菌は感染性心内膜炎の発症および病態の悪化に関与することを示してきた。また、感染性心内膜炎の合併症である脳血管疾患をはじめ、非アルコール性脂肪肝炎、IgA腎症および潰瘍性大腸炎の患者の口腔内からもCBPをコードする遺伝子が高頻度で検出されることが報告されている。しかし、我が国のCBP陽性菌の分布については未だ不明である。本研究結果から、最も低い年齢群である0-6歳群においてCBP陽性菌の分離を認める割合が最大であったことから、乳幼児期におけるCBP陽性菌の定着予防が重要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In the present child subjects, the detection rate of Streptococcus mutans was approximately half that noted in previous reports, suggesting a potential association with the recent decrease in caries prevalence. Furthermore, the highest rate of isolation of S. mutans with collagen binding proteins (CBPs) was observed in the youngest age group 0-6 years old, which highlights the importance of prevention of colonization by such bacteria during infancy. Additionally, caries prevalence was higher in the CBP-positive group as compared to the CBP-negative and non-detection groups, suggesting that the presence of CBPs is a pathogenic factor for caries development.

研究分野：小児歯科学

キーワード：ミュータンスレンサ球菌 全身疾患 う蝕

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

う蝕原性細菌であるミュータンスレンサ球菌は、感染性心内膜炎の原因菌としても知られており、主に幼児期における家族内伝播によって感染すると言われている。ミュータンスレンサ球菌には、菌体表層に分子量約 120 kDa のコラーゲン結合タンパク (Collagen-binding protein: CBP) を発現している菌株が存在することが報告されており、健常者の口腔内において約 10~20% の頻度で存在すると推定されている。

これまでに、CBP 陽性菌は感染性心内膜炎の発症および病態の悪化に關与することを示してきた。また、感染性心内膜炎の合併症である脳血管疾患をはじめ、非アルコール性脂肪肝炎、IgA 腎症および潰瘍性大腸炎の患者の口腔内からも CBP をコードする遺伝子が高頻度で検出されることが報告されている。しかし、我が国の CBP 陽性菌の分布については未だ不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、大阪大学及び岡山大学歯学部 of 病院を受診した様々な年齢の患者から口腔サンプルを採取し、CBP 陽性菌の有無を調査することで、年齢別の CBP 陽性菌の分布の差異を検討することにした。

### 3. 研究の方法

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理審査委員会の承認 (R1-E51-1) のもとで行った。

#### (1) 対象

大阪大学歯学部附属病院小児歯科および岡山大学病院小児歯科を受診する患者のうち、参加の同意が得られた者を対象とした。5 歳~14 歳までの各年齢を 1 群とした 10 群および 0~4 歳の 1 群、15 歳~19 歳の 1 群の計 12 群から男女それぞれランダムに 10 名ずつ、合わせて 240 名を施設ごとに選出し、合計 480 名を対象者とした。

#### (2) 方法

##### う蝕罹患歯率の算出

全被験者において口腔内診査を行い、永久歯及び乳歯それぞれにおける未処置のう蝕、う蝕に由来する喪失歯、処置歯の本数を記録した。これらの本数の合計を被験歯の合計で割ることで、対象者一人当たりのう蝕罹患歯率を乳歯と永久歯のそれぞれで算出した。

##### 口腔サンプルの採取

滅菌したスワブを用いて歯面よりデンタルプラークを採取し滅菌生理食塩水に懸濁後、Mitis-Salivarius-Bacitracin (MSB) 寒天培地に播種した。37°C で 48 時間、嫌気条件下にて培養した後、MSB 寒天培地上に得られたミュータンスレン

サ球菌のコロニーを釣菌した。その後、Brain Heart Infusion (BHI) 液体培地にて 37°C で 18 時間培養を行った。

#### PCR 法による遺伝子解析

得られた菌を Brain Heart Infusion (BHI) 液体培地にて 37°C で 18 時間培養を行った後、ゲノム DNA を抽出した。得られた DNA を用いて、PCR 法によりミュータンスレンサ球菌に特異的な 16sRNA および CBP をコードする遺伝子の有無を分析することで、ミュータンスレンサ球菌の保有や CBP の有無を判定した。

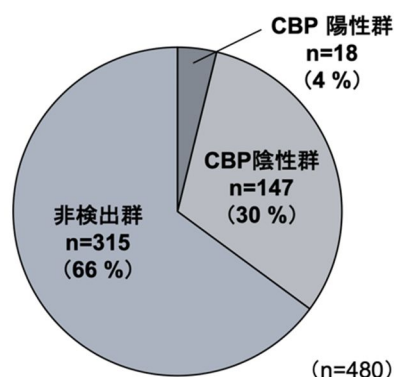
#### 統計学的分析

齲蝕罹患歯率の関係に対する統計学的分析として ANOVA ののち post-hok 解析として bonferroni 法を使用し、 $P < 0.05$  で有意差有りとした。

## 4. 研究成果

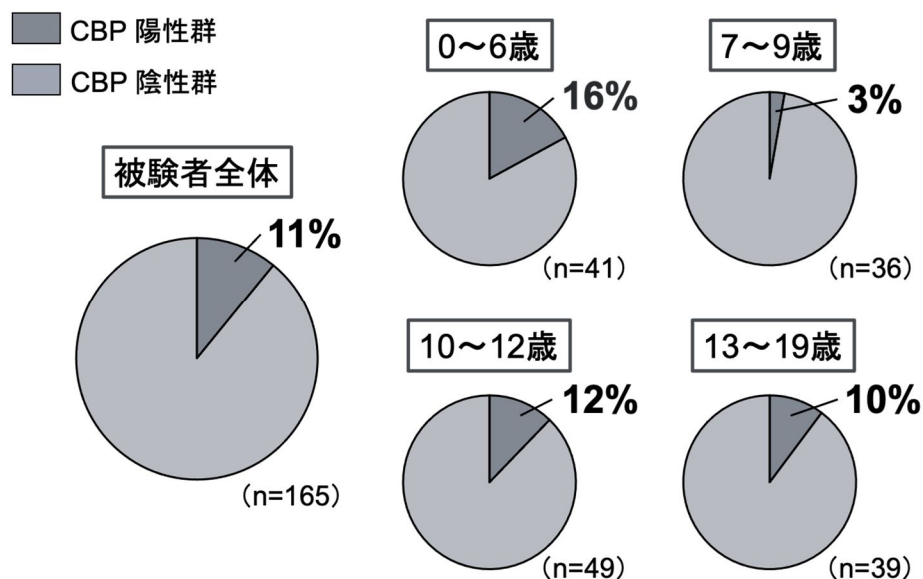
### (1) ミュータンスレンサ球菌の分布

480 名のうち、ミュータンスレンサ球菌が検出されなかった非検出群は 315 名、CBP 陰性菌が検出された群 (以下 CBP 陰性群) は 147 名、CBP 陽性菌が検出された群 (以下 CBP 陽性群) は 18 名存在した。



### (2) 年齢別のミュータンスレンサ球菌の分布

被験者を年齢ごとにそれぞれ 0~6 歳、7~9 歳、10~12 歳、13~19 歳の 4 群に分類し、ミュータンスレンサ球菌が検出された者のうち、CBP 陽性群の割合を算出した。

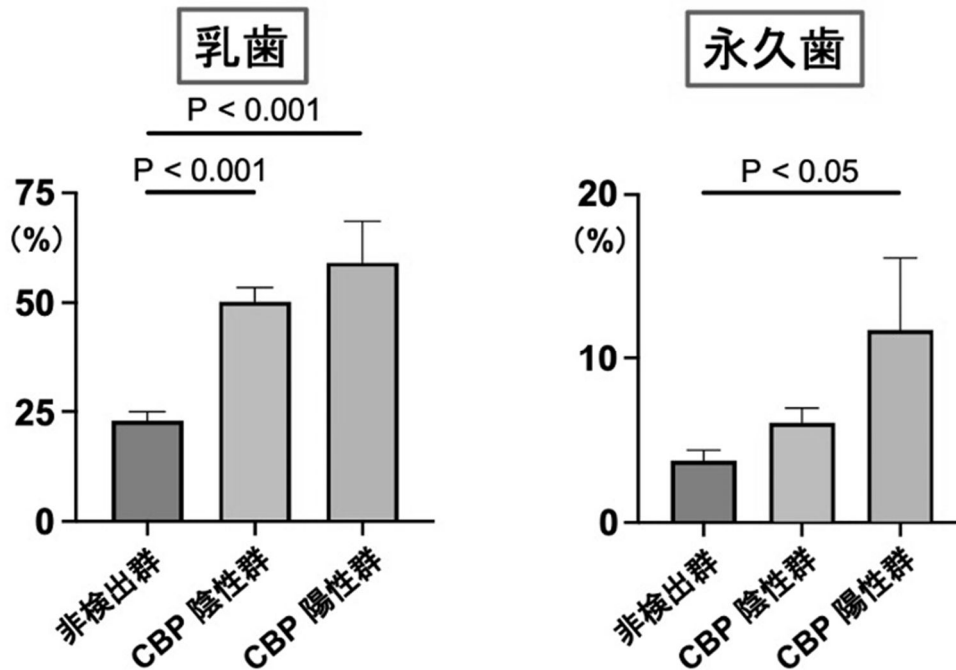


CBP 陽性群の割合は、被験者全体では 11%、0~6 歳の群では 16%、7~9 歳の群では 3%、10~12 歳の群では 12%、13~19 歳の群では 10%であった。

本研究においては、0~6 歳の群において CBP 陽性群は約 16% を占めており、本研究において最も高い割合を認めた。

### (3) CBPの有無によるう蝕罹患歯率の比較

乳歯及び永久歯のいずれにおいても、CBP 陽性群において、齲蝕罹患歯率が最大であった。また、CBP 陽性群、CBP 陰性群、非検出群の順に齲蝕罹患歯率が低下した。



本研究対象におけるミュータンスレンサ球菌が検出された割合は過去の報告<sup>1</sup>の約半数ほどであった。これは、近年の齲蝕罹患者の低下に起因している可能性が考えられる。本研究の対象者のうち、最も低い年齢群である 0～6 歳群において CBP 陽性菌の分離を認める割合が最大であったことから、乳幼児期における定着予防が重要である可能性が示された。また、CBP 陽性群は、CBP 陰性群および非検出群と比較してう蝕罹患歯率が高かったことから、今後は CBP 陽性菌の齲蝕病原メカニズムへの関与について検討したいと考えている。

1. Nomura, R., et al. Mol Oral Microbiol, 27 : 308-323, 2012.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 奥田真琴、又吉紗綾、東條文和、仲 周平、仲野道代、野村良太、仲野和彦
2. 発表標題 小児におけるコラーゲン結合タンパク陽性Streptococcus mutans株の分布と齲蝕罹患との関係
3. 学会等名 第61回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------