

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11577

研究課題名(和文) 混合感染による病原性増強における各種菌体成分の役割

研究課題名(英文) bacterial components which play important roles in the synergistic effect by mixed infection

研究代表者

米田 雅裕 (Yoneda, Masahiro)

福岡歯科大学・口腔歯学部・教授

研究者番号：10253460

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)：辺縁性および根尖性歯周炎の発症・増悪には複数の細菌の混合感染が重要な役割をはたしていると考えられている。我々は以前、歯周病原性細菌をマウスに混合して接種すると、それぞれを単一感染させた時に比べて病原性が増加することを報告した。本研究課題では歯周病原性細菌のタンパク分解酵素および菌体表面の構造物が混合感染による相乗的病原性増強に関わっていることを明らかにした。一方、歯科材料の一種がこの混合感染による相乗的病原性増強効果を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周炎や根尖性歯周炎は多くの国民を悩ます疾患であるが、その発症メカニズムは完全には解明されていない。口の中には多くの種類の細菌が棲んでおり、複数の細菌による協同作業が推測される。われわれに一連の研究でこの仮説が一部証明された。また、身近に用いている歯科材料がこの共同作業による病原性増強を阻害する可能性も示された。本研究成果により多くの国民を悩ます疾患の改善につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Mixed infection of periodontopathic bacteria plays an important role in the initiation and progression of periodontal diseases and peri-apical periodontal diseases. We previously reported that mixed infection of periodontopathic bacteria exhibited increased pathogenicity comparing to mono-infection. In this project, we reported that proteolytic enzymes and surface structure of periodontopathic bacteria are associated with this synergistic increase of pathogenicity. On the other hand, we showed that a kind of dental material suppressed this synergistic effect by the mixed infection.

研究分野：歯周病学

キーワード：混合感染 歯周炎

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

辺縁性歯周炎の発症・増悪には複数の細菌の混合感染が重要な役割をはたしていると考えられている。そして臨床研究の結果、*P. gingivalis*、*T. forsythia* は歯周局所に共存すると歯周炎が重症化しやすいことが報告されている。また、根尖性歯周炎でも混合感染が症状を悪化させ、治療を困難にしていると考えられる。

P. gingivalis は重要な歯周病原性細菌のひとつであるが、感染根管内や根尖性歯周炎局所からも検出される。本菌は線毛、LPS 等の細胞成分の他、gingipain と呼ばれる強力なシステインプロテアーゼ活性を有している。我々も Kadowaki らと共に本酵素を精製し、ヒト好中球の活性酸素産生能、ケミルミネッセンス反応等を障害することを明らかにした。

T. forsythia は紡錘形のグラム陰性偏性嫌気性細菌で、進行した歯周炎局所から高頻度に分離される。本菌は *P. gingivalis*、*Treponema denticola* と合わせて red complex と呼ばれており、この3菌種が同時に存在すると歯周炎が進行しやすいと考えられている。

また、*Fusobacterium nucleatum* は歯周炎局所からも高頻度に検出されており、混合感染による病原性増強に関わっていると考えられている。

2. 研究の目的

これまで現象としてよく知られている「混合感染による病原性増強」のメカニズムを解明することを第一の目的とする。さらに、この「混合感染による病原性増強」を抑制する方法を検討することを第二の目的とする。

3. 研究の方法

(1) 「混合感染による病原性増強」のメカニズムの解明

P. gingivalis の培養系に *T. forsythia* の成分を添加し、*in vitro* における増殖促進を確認する。

P. gingivalis のプロテアーゼ欠失株を用いて、「混合感染による病原性増強」におけるプロテアーゼの役割を明らかにする。

(2) 「混合感染による病原性増強」を抑制する方法の検討

P. gingivalis の培養系に *T. forsythia* の成分を添加し、さらに S-PRG 溶出液を添加し、*in vitro* における増殖促進を阻害することを確認する。

各種細菌の自己凝集、共凝集の実験系に S-PRG 溶出液を添加し、影響を調べる。

4. 研究成果

(1) 「混合感染による病原性増強」のメカニズムの解明

P. gingivalis の培養系に *T. forsythia* の成分を添加すると、*in vitro* における増殖促進が確認された。

P. gingivalis の gingipain 欠失株を用いると *T. forsythia* の成分による増殖促進効果が失われた。

(2) 「混合感染による病原性増強」を抑制する方法の検討

P. gingivalis の培養系に *T. forsythia* の成分を添加し、さらに S-PRG 溶出液を添加すると、病原性増強効果が一部失われた (図1)。

P. gingivalis と *Fusobacterium nucleatum* を混合させると共凝集が認められるが、これに S-PRG 溶出液を添加すると、共凝集が阻害された (図2)。

各種細菌の自己凝集の系に S-PRG 溶出液を添加すると、一部の細菌に対して自己凝集促進効果が認められた (図3)。このことは S-PRG 溶出液による口腔内からの細菌排除に役立っている可能性が示唆された。

図 1 *T. forsythia* 菌体抽出物による *P. gingivalis* 増殖促進および S-PRG 溶出液による抑制

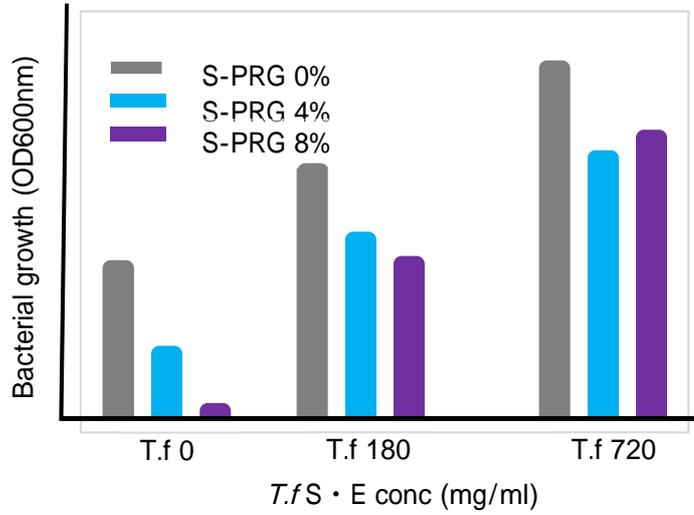


図 1 *P. gingivalis* *F. nucleatum* による共凝集および S-PRG 溶出液による抑制

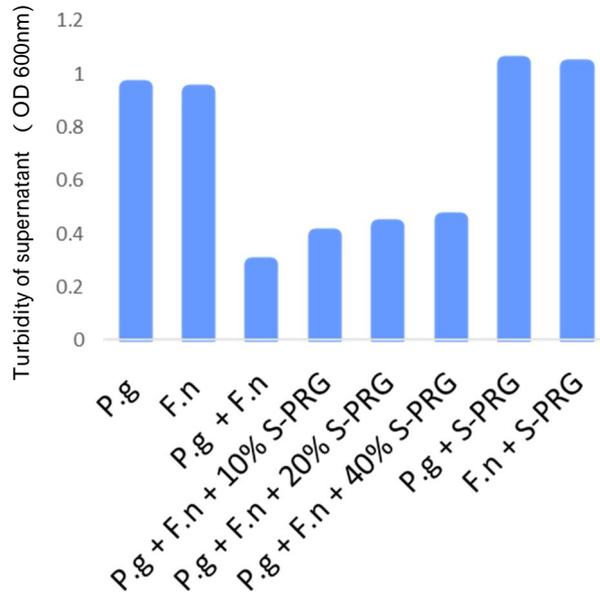
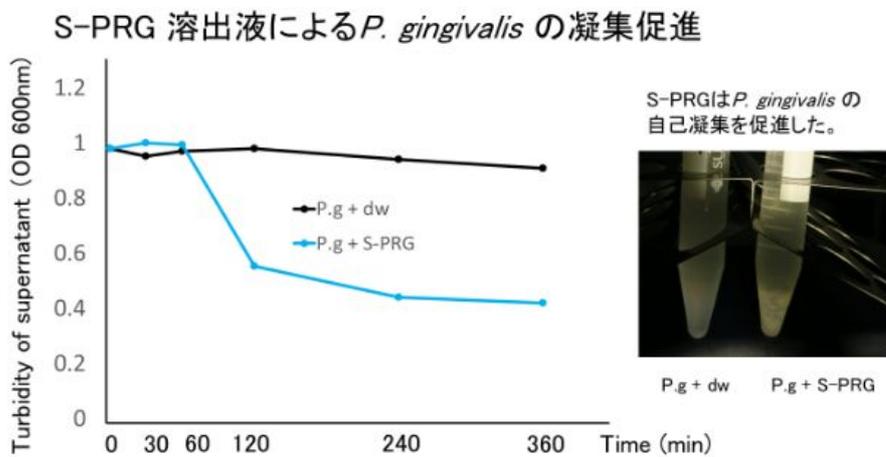


図 1 S-PRG 溶出液による *P. gingivalis* 自己凝集促進



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Ishii A, Yoneda M, Matsuo T, Omagari S, Suzuki N, Yamamoto S, Morita H, Taniguchi Y, Koga C and Hirofuji T. | 4. 巻 7 |
| 2. 論文標題 Inhibition of protease activity of periodontopathogens by purified | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Hyg Health | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4172/2332-0702.1000250 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Masahiro Yoneda, Ayako Ishii, Tadayuki Matsuo, Sami Omagari, Nao Suzuki, Takashi Tsuzuki, Yusuke Taniguchi, Hiromitsu Morita, Chihiro Koga, Yutaka Takahashi, and Takao Hirofuji. | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Evaluation of a new ceramic-containing toothbrush bristle 1. Questionnaire survey on dental hygienist students about its usability and first impressions. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Hyg Health | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4172/2332-0702.1000240. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Takuya Higuchi, Nao Suzuki, Seigo Nakaya, Sami Omagari, Masahiro Yoneda, Takashi Hanioka, Takao Hirofuji. | 4. 巻 98 |
| 2. 論文標題 Effects of Lactobacillus salivarius WB21 combined with green tea catechins on dental caries, periodontitis, and oral malodor. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Arch. Oral Biol. | 6. 最初と最後の頁 243-247 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Hiromitsu Morita, Yuko Imai, Masahiro Yoneda, Takao Hirofuji. | 4. 巻 37 |
| 2. 論文標題 Applying orthodontic tooth extrusion in a patient treated with bisphosphonate and irradiation: a case report. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Special Care in Dentistry | 6. 最初と最後の頁 43-46 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Seno K., Yasunaga M., Kajiya H., Izaki-Hagio K., Morita H., Yoneda M., Hirofujii T., Ohno J. | 4. 巻 190 |
| 2. 論文標題 Dynamics of M1 macrophages in oral mucosal lesions during the development of acute graft-versus-host disease in rats | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Clinical & Experimental Immunology | 6. 最初と最後の頁 315 ~ 327 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cei.13043 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 N. Suzuki, Y. Nakano, T. Watanabe, M. Yoneda, T. Hirofujii, T. Hanioka. | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Two mechanisms of oral malodor inhibition by zinc ions. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 J. Appl Oral Sci. | 6. 最初と最後の頁 e20170161 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|------------------------|
| 1. 著者名 椛島 浩明、米田 雅裕、中牟田 博敬、大曲 紗生、荒木 公一、都築 尊、柏村晴子、廣藤 卓雄 | 4. 巻 61 |
| 2. 論文標題 全身的な配慮が必要な患者へ | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 日歯保存誌 | 6. 最初と最後の頁 in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Inoue E, Yoneda M, Suzuki N, Matsuo T, Ishii A, Haraga M, Hirahashi K, Morita H, Koga C, Inoue Y, Yasukouchi H, and Hirofujii T. | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Awareness and knowledge of halitosis: Comparison of two grades of dental hygienist students. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Hyg Health | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.4172/2332-0702.1000211 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------|
| 1. 著者名 Ishii A, Yoneda M, Suzuki N, Haraga M, Yamada K, Morita H, Hirahashi K, Koga C, Inoue Y and Hirofuji T. | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Consciousness and Knowledge of Nursing Home Workers About Oral | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Hyg Health | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.4172/2332-0702.1000207 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Yoneda M, Suzuki N, Fujimoto A, Ishii A, Yamada K, Masuo Y, Iwamoto T, Haraga M, Koga C, Morita H, Inoue Y and Hirofuji T. | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 A case of oral malodor: Improving the motivation of patients by use of bacterial examination. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 J Oral Hyg Health | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.4172/2332-0702.1000203 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Nao Suzuki, Takuya Higuchi, Masato Nakajima, Akie Fujimoto, Hiromitsu Morita, Masahiro Yoneda, Takashi Hanioka and Takao Hirofuji. | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Inhibitory effect of Enterococcus faecium WB2000 on volatile sulfur compound production by Porphyromonas gingivalis. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Int J Dent. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) Article ID 8241681. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 Nao Suzuki; Akie Fujimoto; Masahiro Yoneda; Takeshi Watanabe; Takao Hirofuji; Takashi Hanioka. | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Resting salivary flow independently associated with oral malodor. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 BMC Oral Health. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1186/s12903-016-0255-3 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Sami Omagari, Masahiro Yoneda, Nao Suzuki, Akie Fujimoto, Hiromitsu Morita, Daniel Grenier, Takao Hirofuji |
| 2. 発表標題 Effect of S-PRG eluate on multiple-bacterial interaction. |
| 3. 学会等名 . IADR General Session 2018 (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 北野 香、米田雅裕、谷口奈央、藤本暁江、大曲紗生、沖野成美、榊尾陽介、瀬野恵衣、萩尾佳奈子、樋口拓哉、脇 勇士郎、森田浩光、埴岡 隆、安河内ひとみ、廣藤卓雄 |
| 2. 発表標題 自覚のない口臭患者の治療経過 |
| 3. 学会等名 日本歯周病学会 平成29年度 60周年記念大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 樋口拓哉、谷口奈央、別府真理子、竹下 徹、米田雅裕、山下喜久、埴岡 隆、篠原徹雄、廣藤卓雄 |
| 2. 発表標題 Helicobacter pylori の除菌治療に伴う口腔内環境の変化 |
| 3. 学会等名 日本歯周病学会 平成29年度 60周年記念大会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|----------------------------|
| 1. 発表者名 谷口奈央、中野善夫、米田雅裕他 |
| 2. 発表標題 唾液が舌苔の細菌叢に与える影響 |
| 3. 学会等名 日本口臭学会第7回学術大会 |
| 4. 発表年 2016年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

福岡学園研究業績データベース
<http://www.fdcnet.ac.jp/research/gyouseki/>
福岡歯科大学・福岡医療短期大学 研究業績データベース
<http://www.fdcnet.ac.jp/research/gyouseki/>

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 |
|-------------------|--|-------------------------------------|----|
| 研究 分 担 者 | 廣藤 卓雄 (Hirofujji Takao) (10189897) | 福岡歯科大学・口腔歯学部・教授 (37114) | |
| 研究 分 担 者 | 谷口 奈央 (Taniguchi Nao) (60372885) | 福岡歯科大学・口腔歯学部・准教授 (37114) | |