

氏名(本籍) : 則松佑佳<sup>のり まつ ゆ か</sup>

学位の種類 : 博士 (歯学) 学位記番号 : 歯博第721号

学位授与年月日 : 平成27年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程)歯科学専攻

学位論文題目 : 口腔細菌 *Streptococcus* 及び *Actinomyces* の酸産生と増殖に対する窒素源の促進効果

論文審査委員 : (主査)教授 高橋 信博  
教授 坪井 明人 教授 山本 照子

## 論文内容要旨

口腔 *Streptococcus* および *Actinomyces* は主要な口腔細菌であり、共に口腔バイオフィームから頻繁に検出される。口腔 *Streptococcus* は齲蝕関連菌として広く知られ、口腔 *Actinomyces* も歯周疾患や根面齲蝕との関連が示唆されている。両菌種とも糖を代謝して酸を産生し、齲蝕誘発因子の一つである酸産生活性を持つ。口腔 *Streptococcus* は糖代謝系として解糖系 (Emden-Meyerhof-Parnas pathway : EMP pathway) を主体として酸を産生する一方、口腔 *Actinomyces* は解糖系に加えクエン酸回路 (Tri-carbonic acid cycle : TCA cycle) を利用して酸を産生する。口腔 *Streptococcus* もクエン酸回路の一部を持つことが報告されている。唾液や歯肉溝浸出液に含まれるアミノ酸等の窒素源はクエン酸回路の基質となるため、窒素源が代謝を介して酸産生へ影響を与えることが考えられるがこれまで報告はない。そこで本研究では、代表的な口腔 *Streptococcus* として *S. mutans* および *S. sanguinis* を、代表的な口腔 *Actinomyces* として *A. naeslundii* および *A. oris* を用い、窒素源の糖代謝 (酸産生) に対する影響、さらには増殖に対する影響を嫌気条件下で検討した。

4菌種のグルコースからの酸産生を pH-stat で測定し、これに窒素源 (tryptone および glutamate) を加えて酸産生への影響を検討し、そのとき産生された各種有機酸を高速液体クロマトグラフィーで定量した。さらに tryptone ならびに口腔で利用可能な窒素源である saliva, serum および gelatine の存在下で 4菌種を培養し、増殖量と培地 pH を測定した。

口腔 *Actinomyces* の酸産生量は口腔 *Streptococcus* よりも低かったが、両菌種とも窒素源の添加によって酸産生量が増加した。酸産生量が増加しても各種有機酸の産生比率はほとんど変わらないことから、酸産生の増加は glucose 代謝の促進によるものと考えられた。また glutamate の添加でも酸産生量が増加したことから、glutamate あるいは glutamate の  $\alpha$ -ketoglutarate を経たクエン酸回路への流入が直接的あるいは間接的に酸産生の促進に関与していることが示唆された。さらに各菌とも

tryptone, saliva, serum および gelatine を窒素源として増殖し、グルコース添加によって serum 以外の培地で増殖量が増加した。

本研究の結果から窒素源は口腔 *Streptococcus* および *Actinomyces* の酸産生を促進するとともに、増殖を促進することが明らかになった。

## 審査結果要旨

口腔に生息する細菌は、口腔に供給される様々な栄養基質を代謝利用し、口腔という環境に適応し独自の生態系を構築している。口腔細菌の代謝、とくに齲蝕発症の直接的要因となる糖質からの酸産生については長年にわたり研究され、その解糖系を主体とした代謝経路については詳細な検討がなされてきた。一方、近年のメタボロミクスに代表される網羅的代謝研究によって、これまで口腔細菌においてはあまり機能していないと思われていたクエン酸回路が糖代謝においても一定の機能を果たしている可能性が示唆されている。アミノ酸やペプチド等の窒素化合物は、唾液や歯肉溝浸出液に含まれる栄養成分として、広く口腔細菌に利用されていることが知られているが、糖代謝への影響は不明のままであった。このような背景のもと、本研究では、代表的な口腔細菌である *Streptococcus* および *Actinomyces* を対象とし、クエン酸回路の代謝基質となりうるアミノ酸やペプチド等の窒素化合物が、これらの口腔細菌の糖代謝（糖質からの酸産生量）および増殖に与える影響を検討している。

本研究の結果、口腔 *Actinomyces* および *Streptococcus* とも窒素化合物の添加によってグルコースからの酸産生量が増加することが明らかになった。酸産生が増加しても産生された酸の種類とその比率は変わらなかったことから、この酸産生の増加は窒素化合物から新たな酸が産生されたのではなく、グルコースからの酸産生を促進したことを示唆する。また、代表的アミノ酸であるグルタミン酸の添加でも酸産生量が増加したことから、グルタミン酸等のアミノ酸がクエン酸回路の代謝中間体となり、クエン酸回路の活性化を通して酸産生の促進に関与する可能性を考察している。さらに、両菌とも唾液、血漿およびゲラチンを窒素源とした培地で増殖したことから、これらの口腔細菌は糖代謝と共役して窒素化合物を利用し、糖代謝を促進することで酸産生、ひいては増殖を促進することを考察している。

本研究によって、初めて、アミノ酸やペプチド等の窒素化合物が口腔細菌の糖代謝を促進し、結果として酸産生を増加させることが明らかになった。これまで、口腔細菌を対象とした糖代謝や酸産生の研究、さらには齲蝕誘発能としての酸産生活性の評価において、窒素化合物を添加しない場合が多かったが、窒素化合物添加によってより口腔環境を反映した研究や評価が可能となることが明らかになり、本領域の研究はもとより酸産生評価において極めて有用な情報になるものと思われる。

以上のことから、本研究は博士（歯学）の学位に値するものと判断する。