

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	甲 乙 第 587号	論文提出者名	藤波和華子
論文審査 委員氏名	主査 武部 純 副査 三谷 章雄 長谷川 義明		
論文題名	<i>Candida albicans</i> と量的相関を示す デンチャープラークおよびデンタルプラーク 構成細菌属の探索		

インターネットの利用による公表用

近年、誤嚥性肺炎を引き起こす日和見感染菌の多くがデンチャープラークから検出されており、全身疾患を引き起こすリスク要因の一つとして注目されている。このデンチャープラークを構成する微生物の特徴は、真菌である *Candida albicans* (*C. albicans*) の検出率が高いことが挙げられ、多種多様な細菌種とプラーク内で共存している。その中で真菌 - 細菌間における相互作用の存在が示唆されているが、詳細な報告は認められていない。また従来の解析技術では、難培養性のものや未知のものも含めた網羅的な細菌種の検出・同定が原理的に難しかったため、詳細なデンチャープラークに関する報告についても認められていない。そこで本研究では、次世代シーケンス解析技術に着目し、デンチャープラークとデンタルプラーク細菌叢に関する解析を開始している。バイオフィームであるプラークでは、同一試料中に共存する真菌と細菌とを共通のユニバーサルプライマーを用いた次世代シーケンス解析技術を行うことは困難であるため、本研究ではプラーク中の各検体の全細菌量に対して正規化した *C. albicans* 構成比を算出する方法を考案し、デンチャープラークおよびデンタルプラーク中の口腔常在細菌と *C. albicans* の構成パターンを解明して、*C. albicans* と量的な相関を示す細菌属の同定を行い検討している。

そこで本研究では、愛知学院大学歯学部附属病院補綴科診療部にて、定期的なメンテナンスで通院中の 65~88 歳の男女各 9 名ずつ計 18 名（平均年齢 80.3 歳）を研究対象者とし、デンチャープラークは義歯研磨面と義

歯粘膜面から各 15 検体の計 30 検体を採取、デンタルプラークは 16 検体を採取し、合計 46 検体を本研究に用いている。分析手法は、従来法にビーズ破碎処理を加えた前処理を行った後、ゲノム DNA を抽出し、メタ 16S ライブラリーを調製後に次世代シーケンサーMiSeq を用いて塩基配列を解読している。取得した配列データを QIIME2 にて解析し、プラーク細菌叢の属レベルまでの分類と菌構成比の算出を行っている。さらに本研究では、プラーク細菌叢の多様性解析、プラーク中の *C. albicans* と構成細菌属との比較定量法の検討、プラーク中の *C. albicans* との量的相関関係の検討を行っている。

これらの研究方法により、本研究では以下に示す知見が得られている。

次世代シーケンス解析技術を用いてデンチャープラーク細菌叢の類似性や違いが解明され、誤嚥性肺炎の起炎菌として注目される *Streptococcus*、*Corynebacterium*、*Veillonella*、*Prevotella* が検出されたことから、感染症を予防する上で有床義歯補綴の徹底したデンチャープラークコントロールを行うことの重要性が示されている。

さらに、プラーク中の細菌属構成比と *C. albicans* 構成比との量的相関性を検討した結果、*C. albicans* 構成比と正/負相関を示したプラーク構成細菌属が明らかとなり、*C. albicans* に対して共生/拮抗関係にある細菌属の存在が示されている。負相関を有意に示す細菌属は、正相関を示す細菌属と比べて多岐にわたり同定されたことから、*C. albicans* と拮抗関

係にあり増殖を抑制する細菌属が存在することを推察している。今後、*C. albicans* - 細菌間相互作用を解明することが可能となれば、負相関を示した比較的病原性が弱い *Leptotrichia* のようなものに焦点を当て、*C. albicans* との1対1の共培養系を用いた分子レベルでの相互作用解析を展開することにより、抗真菌薬として応用可能な口腔細菌由来の生理活性物質の新たな開発へ貢献できる可能性が示されており、有床義歯補綴臨床への有効な治療戦略になるものと期待される。

以上より、メンテナンス中の有床義歯装着者を対象とした *C. albicans* を含むデンチャープラーク中における微生物叢の菌構成パターンと、*C. albicans* との量的相関を有意に示す細菌属の一例を提示することができたとしている。また、デンチャープラークでは、誤嚥性肺炎の起炎菌として注目される口腔レンサ球菌属や嫌気性細菌属の多くが高い構成比で検出され、日和見感染菌の *Leptotrichia* が *C. albicans* との量的な負相関を有意に示したと結論している。

本研究は、*C. albicans* の増殖や定着に影響を及ぼす候補となる口腔常在細菌を効率よく探索する解析方法を考案し、*C. albicans* 構成比と正/負相関を示したプラーク構成細菌属を明らかにしており、歯科補綴学、歯科保存学、口腔微生物学、及び関連諸学科に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。