

論文内容の要旨

小児プラークにおけるミュータンスレンサ球菌定着量と齲蝕罹患状況の関連
(小児歯科学雑誌 第 55 巻、第 1 号、平成 29 年 2 月)

まきなえ つよし
蒔苗 剛

I. 研究目的

ヒトのミュータンスレンサ球菌 (MS) である *Streptococcus mutans* (Sm) と *S. sobrinus* (Ss) はともにデンタルプラークをニッチとする細菌であり、ともに小児齲蝕の主たる原因細菌であることが明らかにされている。しかしこれまでの研究は Sm、Ss の定着の有無による検討が主で、定着量と齲蝕罹患率との関連性については依然不明な点が数多く残されている。本研究では、菌種特異的 PCR 法 (c-PCR) および定量的リアルタイム PCR 法 (q-PCR) による MS の定着量と齲蝕罹患率との関連性について検討を行った。さらに、全細菌および全レンサ球菌中における MS の構成比率と齲蝕罹患率との関連性についても検討を行った。

II. 研究方法

実験に際して、MS を含む主な口腔レンサ球菌 10 菌種について嫌気培養し、供試菌株とした。インフォームド・コンセントの得られた小児患者 98 名を被験者とし、齲蝕罹患状況を確認した。齲蝕罹患状況は WHO の齲蝕診査基準に基づき、df 歯 (DF 歯) 率で示した。サンプルとして歯肉縁上プラークを採取し、細菌 DNA を精製した。c-PCR および q-PCR に用いる口腔レンサ球菌特異的プライマーについては、*S. mutans* Elongation factor Tu (*tuf*) の塩基配列をもとに設計した。サンプルより、c-PCR による MS の定性分析を行い、*S. mutans* が検出されたものに q-PCR での定量解析を行った。総菌数と総レンサ球菌数についても、c-PCR と q-PCR を行った。

なお、本研究は岩手医科大学歯学部倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号 D-01231、承認年月日 平成 26 年 12 月 1 日)。

III. 研究成果

新規に開発した口腔レンサ球菌特異的プライマーの検出限界は 10~100 pg DNA であった。サンプル DNA 中の MS を c-PCR により定性解析したところ、全 98 例中 60 例 (61.2%) に Sm が、12 例 (12.2%) に Ss が検出され、Sm、Ss の検出の有無により被験者を 4 群に分類した。*S. mutans* (+)・*S. sobrinus* (-) 群が 49 名 (50%) と最も多く、*S. mutans* (-)・*S. sobrinus* (+) 群は 1 名のみであった。*S. mutans* (-)・*S. sobrinus* (+) 群を除く 3 群間で平均 df 歯率を比較した結果、*S. mutans* (+)・*S. sobrinus* (+) 群が他の 2 群と比較して有意に高い値を示すことが明らかとなった。c-PCR で *S. mutans* (+)・*S. sobrinus* (-) となった 49 例については q-PCR を併用することにより Sm^{high}-Ss (-) 群 (30/49) および Sm^{low}-Ss (-) 群 (19/49) に群分けされた。Sm^{high}-Ss (+) 群および Sm (-) - Ss (-) 群を加えた 4 群間で齲蝕罹患率との関連性を検討した結果、df 歯率は Sm^{high}-Ss (+) 群が最も高く、ついで Sm^{high}-Ss (-) 群が高かった。また全細菌および全レンサ球菌中における Sm の構成比率も Sm^{high}-Ss (+) 群で最も高かった。しかし、Sm^{low}-Ss (-) 群と Sm (-) - Ss (-) 群の間には df 歯率の有意な差は認められなかった。

IV. 考察及び結論

- c-PCR と q-PCR を併用することで、プラーク中への MS の定着状況および定着量から 98 名の小児被験者は *S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*⁺ 群、*S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*⁻ 群、*S. mutans*^{low}-*S. sobrinus*⁻ 群、*S. mutans*⁻-*S. sobrinus*⁻ 群の 4 群に大別された。
- これら 4 群においては、*S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*⁺ 群 (10 例) でプラーク中の全真性細菌中に占める口腔レンサ球菌および *S. mutans* の構成比率が最も高く、その平均 df 歯率が他の群と比較して有意に高かった。
- c-PCR での *S. mutans* (+)・*S. sobrinus* (-) 群は、q-PCR を併用することで *S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*

群 (30 例) と *S. mutans*^{low}-*S. sobrinus* 群 (19 例) に細分され、*S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*⁻ 群は *S. mutans*^{low}-*S. sobrinus*⁻ 群と比較して有意に高い df 歯率を示すことが明らかとなった。

4. *S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*⁻ 群において、*S. mutans* 量と df 歯率とは有意の正の相関を示した。
5. 一方、*S. mutans*^{low}-*S. sobrinus*⁻ 群では、*S. mutans*⁻-*S. sobrinus*⁻ 群と比較して df 歯率に有意差は認められなかった。

以上の成績より、小児プラーク中への MS、特に *S. mutans* の定着量の増加が小児齲蝕発症に繋がる重要な要因であることが強く示唆された。小児プラーク中の MS の定量解析は、小児齲蝕発症機序の詳細解明への手がかりを与えるとともに、小児齲蝕のリスク診断のための有効な手段となり得る可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 佐々木 実 (微生物学講座 分子微生物学分野)
副査 教授 田中 光郎 (口腔保健育成学講座 小児歯科学・障害者歯科学分野)
副査 教授 岸 光男 (口腔医学講座 予防歯科学分野)

小児齲蝕の原因を考える上で、口腔細菌は重要な要因であり、その関与の詳細が解明されれば、臨床におけるより効果的な対処法を提供しうるものと思われる。ヒトのミュータンスレンサ球菌 (MS) である *Streptococcus mutans* と *Streptococcus sobrinus* はともにプラークを主要生息部位とする細菌で、小児齲蝕の主たる原因細菌と考えられている。MS による齲蝕発症機序についてはこれまで、MS 感染の有無について検討したものがほとんどであったが、本研究では、プラーク中での MS の定着量と齲蝕罹患率との関連性について、菌種特異的 PCR 法 (c-PCR) および定量的リアルタイム PCR 法 (q-PCR) を併用して検討を行った。さらに、全プラーク細菌叢中および全プラークレンサ球菌中での MS の存在比率についても検討を行っている。

c-PCR による MS の定性解析では、全 98 例中 60 例 (61.2%) に *S. mutans* が、12 例 (12.2%) に *S. sobrinus* が検出された。c-PCR で *S. mutans* (+)-*S. sobrinus* (-) となった 49 例について、c-PCR は q-PCR と比較してその感度が約 10 倍高い結果であったことを基に、*S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*^{negative} 群 ($Sm^{high}-Ss^{-}$; 30/49) および *S. mutans*^{low}-*S. sobrinus*^{negative} 群 ($Sm^{low}-Ss^{-}$; 19/49) に群分けし、*S. mutans*^{high}-*S. sobrinus*^{high} 群 ($Sm^{high}-Ss^{high}$) および *S. mutans*^{negative}-*S. sobrinus*^{negative} 群 ($Sm^{-}-Ss^{-}$) を加えた 4 群間で齲蝕罹患率との関連性を検討した。その結果、df 歯率は $Sm^{high}-Ss^{high}$ 群で最も有意に高く、ついで $Sm^{high}-Ss^{-}$ 群も有意に高かった。また全細菌および全レンサ球菌中における *S. mutans* の構成比率も $Sm^{high}-Ss^{high}$ 群で最も高かった。

これらの結果は、小児プラークへの *S. mutans* の定着量と、小児齲蝕の発症に深い関連性があることを示しており、MS を定量解析することが小児の齲蝕リスクの予測に役立つことが示唆され、小児歯科临床上貴重な情報と考えられる。

試験・試問結果の要旨

本研究の概要説明の後、その背景、目的、対象とした集団の位置づけ、結果の統計学的妥当性、新規性等について試問を行った結果、的確な解答が得られた。また、今後の研究の方向性についても抱負が述べられ、小児歯科学の研究、臨床、教育に強い意欲を示していることから、将来も研究者、指導者と

しての活躍が期待できると思われ、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと判定した。

参考論文 なし