

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 北條 研一

歯周病は *Porphyromonas gingivalis* をはじめとする歯周局所の口腔細菌が原因となって発症する慢性感染症である。近年、歯周病の予防に *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* などのプロバイオティクスが応用できる可能性が示唆されている。本論文では、ヒト口腔内の *Lactobacillus* または *Bifidobacterium* の生態を明らかにし、生態学的知見に基づいて菌種・菌株を選択することで、より効果的・効率的なプロバイオティクス開発が可能であると考え、健常者および歯周病患者の口腔から検出される *Bifidobacterium* の生態学的研究を行った。

第一章では、ヒト口腔内に生息する *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* の菌種構成を検討した。その結果、*Lactobacillus* は 11 菌種が検出され、*L. fermentum*、*L. gasseri* および *L. salivarius* が最も高頻度に検出される菌種であったが、健常者に特異的ではなかった。一方、*Bifidobacterium* は *B. adolescentis*、*B. dentium*、*B. longum* および近縁細菌である *Alloscardovia omnicoles* の 4 菌種が検出された。さらに、健常者群において *B. adolescentis* の検出率が歯周病患者群に比較して有意に高値であり、*Bifidobacterium* の菌種構成が宿主要因(口腔内環境、年齢など)により異なること、また *B. adolescentis* が健常な口腔細菌叢の一員として生体防御に関わっている可能性が考えられた。

第二章では、*Bifidobacterium* が *P. gingivalis* と共通の増殖促進因子であるビタミン K (VK) を競合するかどうかを視点にして検討した。その結果、ヒト口腔から検出された *Bifidobacterium* の菌種の中で、*B. adolescentis* が VK によって最も増殖促進され、さらに VK を著しく消費することが明らかになった。また、ヒト口腔内の最優勢菌群である *Veillonella* が VK 以外に VK 様代謝物を産生して *Bifidobacterium* および *P. gingivalis* の増殖を促進することが示唆された。連続培養装置を用いた検討では、VK を最も消費した *B. adolescentis* OLB6398 が *P. gingivalis* の増殖を抑制し、この抑制機序として *B. adolescentis* が VK 様代謝物を *P. gingivalis* と競合している可能性が考えられた。本章の結果から、VK 消費能力が高い *Bifidobacterium* 菌株を選抜することで、VK 様増殖促進因子を競合して *P. gingivalis* の増殖を抑制し得るプロバイオティクスを開発できることが考えられた。

第三章では、口腔細菌の口腔内定着因子の一つと考えられている共凝集反応について、各種口腔細菌と *Bifidobacterium* 分離株を用いて検討した。その結果、*B. adolescentis*、*B.*

*dentium* および *B. longum* の大半の菌株が *Fusobacterium nucleatum* と共凝集し、共凝集反応が *Bifidobacterium* の口腔定着機構の一つであることが示唆された。また、*in vitro* biofilm model による検討では代表菌株として用いた *B. adolescentis* OLB6410 が *V. parvula* の形成するバイオフィルムに対して付着したことから、第二章で述べた VK 様増殖促進因子が口腔内に拡散せずに、*Bifidobacterium* に容易に利用され得ることが示唆された。さらに、本研究で構築した biofilm model を用いて、*Veillonella* のバイオフィルムに対して付着能力が高い *Bifidobacterium* 菌株を選別することで、歯周病予防効果を有するプロバイオティクスの開発に応用できることが考えられた。すなわち、VK 様増殖促進因子の拮抗・競合に関して、*Veillonella* に最も近い位置で VK 様増殖促進因子を消費して増殖できる *Bifidobacterium* を選別することで、*P. gingivalis* が利用できる増殖促進因子の量を効率的に減少させることができるプロバイオティクスの開発が可能であることが考えられた。

以上、本論文はヒト口腔内に生息する *Bifidobacterium* の生態および機能の一端を明らかにした。また、本研究を応用・発展させることでプロバイオティクス研究にとって新たな可能性がひらけることが期待され、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。