

**研究者：畠山 理那**（所属：大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学教室）

## **研究題目：ミュータンスレンサ球菌による 慢性腎炎発症リスクとの関連の検討**

### **目的：**

IgA 腎症は、慢性糸球体腎炎の中で最も頻度が高く、20 年の経過で約 40%が末期腎不全に陥る予後不良な腎臓疾患であり、小児における慢性糸球体腎炎のうち半数を占めると言われている。しかし、その原因やメカニズムに関する詳細は不明な点が多い。

これまでに、IgA 腎症を呈する患者の口腔内にコラーゲン結合能を有する *Streptococcus mutans* 株が高頻度に検出されることを明らかにした。本研究では、IgA 腎症患者口腔サンプルより分離したコラーゲン結合能を有する *S. mutans* 株をラット齲蝕モデルの口腔に定着させ重度の齲蝕を発生させることで、IgA 腎症の発症の可能性に関して検討することにした。

### **対象および方法：**

#### **1. 使用した *S. mutans* 菌株**

*S. mutans* の標準株として用いられている日本人小児口腔由来の MT8148 株（コラーゲン結合能なし）と IgA 腎症患者の唾液中から分離した JD74 株（コラーゲン結合能有り）を使用した。なお、以下のラット齲蝕モデルを用いた動物実験には、これらの菌株をストレプトマイシン（1500 $\mu$ g/ml）耐性とし標識付けしたのものを用いた（それぞれの株の名称は MT8148R 株および JD74R 株とした）。

#### **2. ラット齲蝕モデルにおける検討**

ラット齲蝕モデルにおける実験は、大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認を得て行った。Specific Pathogen Free の Sprague-Dawley 系ラット（15 日齢オス）に 2 日間抗生物質を投与し、口腔常在細菌を抑制した。菌非定着群は、普通飼育用粉末飼料を摂取させる群（普通飼料摂取群）とスクロース 56 %を含む齲蝕誘発性飼料 2000（01111 スクロース飼料摂取群）を摂取させる群に分けた。一方で菌定着群（MT8148R 株群および JD74R 株群）は、生後 17 日目より 5 日間供試菌を摂取させ、口腔内に菌の定着を行うと同時にスクロース 56 %を含む齲蝕誘発性飼料 2000 を与えて飼育した。菌定着開始後 24 週に、全ての群の体重の測定を行った後、ラットの屠殺を行い、腎臓の摘出後に重量の測定を行った。病理組織学的評価として Periodic Acid-Schiff（PAS）染色および IgA 抗体を用いた免疫染色を行った。また、ラットの顎骨の摘出を行い、全ての群におけるプラークスコアおよび齲蝕スコアの算出を行った。

### **結果および考察：**

#### **1. プラークスコアおよび齲蝕スコア**

菌定着群のプラークスコアは、菌非定着群と比較して有意に高い値を示した（図 1A）。齲蝕

スコアは、MT8148R 株群が JD74R 株群および菌非定着群と比較して有意に高い値を示した (図 1B)。

菌定着群に観察された齲蝕のほとんどが歯髄に到達していた (図 2)。

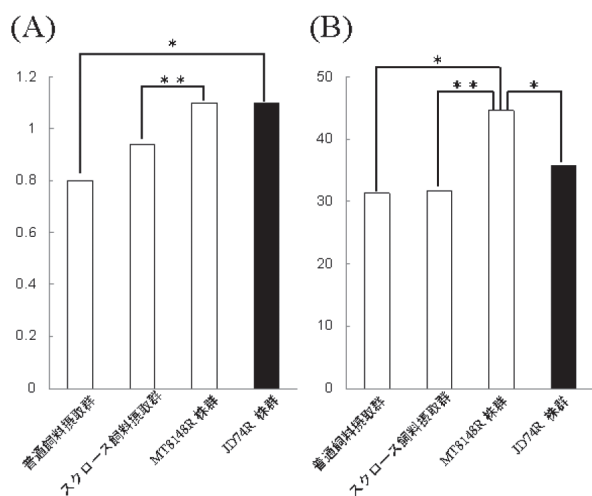


図 1 (A) プラークスコア (B) 齲蝕スコア  
(\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , ANOVA の Bonferroni 法)

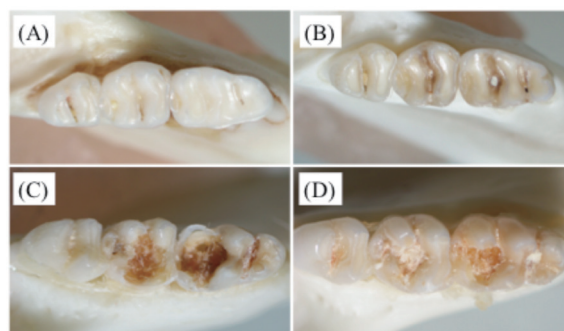


図 2 各群におけるラット臼歯部齲蝕の状態  
(A) 普通飼料摂取群  
(B) スクロース飼料摂取群  
(C) MT8148R 株群  
(D) JD74R 株群

## 2. 体重変化および腎臓の重量

菌定着後 24 週における各群のラットの体重及び屠殺時に採取した腎臓の重量を測定したところ、いずれの群においても有意な差は認められなかった。

## 3. 腎臓組織における病理組織学的分析

PAS 染色の結果から、JD74R 株群では他の群と比較して、メサンギウム領域の基質の有意な増殖が観察された。メサンギウム増殖スコアは、JD74R 株群が他の群と比較して有意に高い値を示した (図 3A)。また、IgA 抗体を用いた免疫染色の結果より、JD74R 株群では、他の群と比較して、メサンギウム基質領域に IgA の沈着が有意に多く認められた。IgA スコアは JD74R 株群が普通飼料およびスクロース飼料摂取群と比較して有意に高い値を示した (図 3B)。

本研究の結果から、ラット齲蝕モデルにおいて、コラーゲン結合能を有する *S. mutans* 株により重度の齲蝕が誘発されると、IgA 腎症が引き起こされる可能性が示唆された。今後、発症メカニズムに関して検討していきたいと考えている。

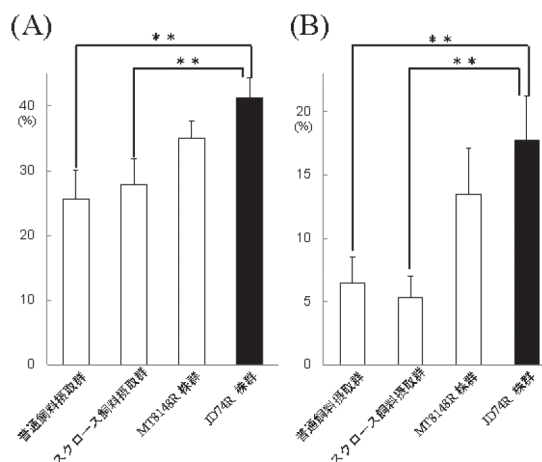


図 3 (A) メサンギウム増殖スコア  
(B) IgA スコア  
(\*\*  $P < 0.01$ , ANOVA の Bonferroni 法)

成果発表：(予定を含めて口頭発表、学術雑誌など)

学会発表 (ポスター発表)

1. Wato K, Naka S, Misaki T, Hatakeyama R, Nagasawa Y, Ito S, Inaba H, Nomura R, Matsumoto-Nakano M, Nakano K. *Campylobacter rectus* and *cnm-positive Streptococcus mutans* strains harbored in oral cavity increase urinary protein in IgAN patients. The 65rd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, Tokyo, Japan, November 18 2017.

論文発表

1. Naka S, Wato K, Hatakeyama R, Okawa R, Nomura R, Nakano K. Longitudinal comparison of *Streptococcus mutans*-induced aggravation of non-alcoholic steatohepatitis in mice. *Journal of Oral Microbiology*, 2018 Jan 22 ; 10 : 1428005
2. Misaki T, Naka S, Wato K, Hatakeyama R, Nagasawa Y, Ito S, Inaba H, Nomura R, Matsumoto-Nakano M, Nakano K. *Campylobacter rectus* in the oral cavity correlates with proteinuria in IgA nephropathy patients *Nephron* (in press)