

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 中村 鷹平

学位論文題目 **Persistor cell formation and elevated *lsrA* and *lsrC* gene expression upon hydrogen peroxide exposure in a periodontal pathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.**

審査委員 (主査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内 弘

(副査氏名) 安細 敏弘 (署名) 安細 敏弘

(副査氏名) 臼井 通彦 (署名) 臼井 通彦

学位審査結果の要旨

細菌が抗菌薬治療に抵抗性を示す機序には、遺伝的な耐性獲得と別に、自身が休眠状態のようになることで生存に特化した *persistor* を形成することが知られているが、後者は不明な点が多い。申請者の中村氏は、歯周炎でも *persistor* が治療抵抗性や病態の長期化に関与すると考え、本研究で歯周病関連細菌の過酸化水素処理による *persistor* 形成の有無と形成機序について検討した。

実験には *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 (*A.a.*) を用い、増殖試験から過酸化水素の最小発育阻止濃度 (MIC) を 0.015% と決定した。*A.a.*を MIC の4倍にあたる 0.06% 過酸化水素で処理したところ、3時間で 99.5% が死滅した後 24時間経過しても残存菌数は不変であった。残存菌は過酸化酸素を除去すると増殖を開始したが、再度 0.06% 過酸化水素処理すると再増殖前と同様の残存菌数を残して死滅したことから、*persistor* 形成が示唆された。顕微鏡観察試験において、過酸化水素非存在下で *persistor* の分裂開始時間は増殖期の *A.a.*と比較し遅い時間に分散しており、一般的な *persistor* の特徴を示した。次に過酸化水素で4時間処理した *A.a.*に、*persistor* に有効とされる抗腫瘍薬の mitomycin C (MMC) を添加したところ、残存 *persistor* は3時間で死滅した。過酸化水素処理の有無による *A.a.*の発現遺伝子を RNA シーケンサーにより比較解析したところ、細胞外シグナル分子 autoinducer-2 の取り込みに関与する *lsrA* と *lsrC* が、*persistor* で高発現していることが明らかとなった。

本研究により、歯周病関連細菌 *A.a.*は過酸化水素処理において *persistor* を形成すること、同 *persistor* は MMC で死滅すること、*A.a.*の *persistor* 形成には AI-2 トランスポーターである *Lsr* ファミリーが関与していることが明らかとなった。

本研究内容について申請者の中村氏に対し、実験の手技や結果の解釈、用いた統計解析方法、臨床における意義等について主査と2名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。本研究結果は、歯周病に関与する細菌が口腔内に適用される消毒薬によって *persistor* を形成すること、その機序解明の足掛かりとなる結果を提示しており、歯周病をはじめとする口腔内の細菌感染症の新たな治療戦略開発に寄与することが期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。