

論文内容要旨

Porphyromonas salivosa ATCC 49407株の線毛精製とその性状に関する研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

微生物感染学講座 古谷田 泰徳

(指導: 浜田 信城 教授)

論文内容要旨

高齢者の急増により歯周病の罹患者が増加し、歯周病原細菌が歯の喪失のみならず呼吸器疾患、糖尿病や動脈硬化など全身疾患の誘因となることが明らかにされている。*Porphyromonas gingivalis* は慢性歯周炎の発症・増悪に関わる最重要細菌であり、血液寒天培地上での黒色集落形成、赤血球凝集性、ヘモグロビン吸着性、糖非発酵性、強力な菌体表面および菌体外プロテアーゼ産生性などの興味深い性状を示す細菌である。

Porphyromonas salivosa は、様々な動物の歯肉溝に存在するグラム陰性の偏性嫌気性黒色色素産生細菌で、ヒト歯周病に深く関わる *P. gingivalis* と同属の細菌である。今回、我々は *Porphyromonas salivosa* ATCC 49407 株から線毛の分離精製を行い、今後の歯周病の病因解明に役立てたいと考えてヒト歯周病の原因細菌である *P. gingivalis* との線毛性状について比較検討した。線毛の精製は、*P. salivosa* ATCC 49407 株を超音波処理後、40%硫酸により粗線毛を分画し、DEAE Sepharose CL-6B 陰イオン交換クロマトグラフィーを行って精製した。線毛タンパク質の分子量は、12.0% SDS-PAGE を用いて推定分子量を決定した。線毛の局在は、精製線毛に対する特異抗体を作製し、ウェスタンブロット法と金コロイド法による免疫電子顕微鏡観察により行った。その結果、*P. salivosa* ATCC 49407 株から分離した線毛タンパク質の推定分子量は 60-kDa であった。また、*P. salivosa* ATCC 49407 株から精製した抗精製タンパク質血清を用いた免疫電子顕微鏡により菌体表層に存在する線毛に特異的に金粒子が付着した。この 60-kDa 線毛は、*P. gingivalis* に存在する 41-kDa 線毛、53-kDa 線毛、67-kDa 線毛や *P. gulae* 41-kDa 線毛、53-kDa 線毛とは異なった抗原性を示した。また、精製タンパク質の N 末端アミノ酸配列を比較したところ、相同性がほとんど認められなかった。さらに、*P. gingivalis* ATCC 33277 と *P. salivosa* ATCC 49407 株のヒト歯肉上皮細胞への付着率を検討した結果、*P. salivosa* が *P. gingivalis* よりも低いことが判明した。現段階では、ヒト歯肉上皮細胞への付着率の違いが線毛タンパク質のアミノ酸配列の違いだけによるものとは考えていないが、*P. salivosa* がヒト口腔から検出されない理由のひとつと考えられた。歯槽骨吸収を指標としてラット実験的歯周炎モデルにより確認した結果、*P. salivosa* が顕著な歯槽骨吸収を惹起することが確認された。従って、*P. salivosa* 菌体表面には、これまでに報告されている *P. gingivalis* 線毛とは明らかに異なる抗原性と分子量のタンパク質で構成される線毛が発現していることが明らかになった。今後、菌体表層に存在する線毛性状の違いを解明する基礎となる結果が得られ、ヒトのみならず多くの動物の口腔内定着機序とヒト歯周炎の発症解明の一助となることが示唆された。