

論 文 内 容 要 旨

Inhibitory effects of azithromycin on the adherence ability of  
*Porphyromonas gingivalis*

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 甘 博 文

(指 導： 三 辺 正 人 教 授)

## 論文内容要旨

歯周病は、歯肉の炎症、歯周ポケット、付着喪失および歯の喪失を特徴とする細菌感染によって引き起こされる炎症性疾患である。*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) は、歯周病の主要な歯周病原細菌として認識されているグラム陰性嫌気性細菌である。*P. gingivalis* の病原因子には、リポ多糖類、線毛、血液凝集素、莢膜およびジンジパイン等が含まれる。特に、線毛および赤血球凝集素は、本菌の付着能力やバイオフィーム形成において重要な役割を果たすことが報告されている。

本研究では、タンパク質合成阻害薬であるアジスロマイシンを最小発育阻止濃度 (MIC) 以下の濃度で投与後、*P. gingivalis* 線毛の発現、細胞への付着能、血球凝集能と関連遺伝子の発現状況への影響を検討し、アジスロマイシン濃度と *P. gingivalis* 線毛発現との関係を明らかにすることを目的とした。

実験には、*P. gingivalis* ATCC 33277 株を使用してヘミン、ビタミン K<sub>1</sub> とイーストエキストラクトを添加したブルセラ液体培地を使用し、嫌気条件下 (15% CO<sub>2</sub>、15% H<sub>2</sub>、70% N<sub>2</sub>) 37°C 一昼夜培養した菌体のアジスロマイシンに対する MIC 濃度を測定した。MIC 濃度を決定後、1/2、1/4、1/8 MIC 濃度のアジスロマイシン添加ブルセラ液体培地で 18 時間培養後、菌体を集菌し PBS で 2 回洗浄した。この菌体を 12% SDS-PAGE で常法により電気泳動を行った。また、Western blot は、電気泳動後 PVDF 膜に転写後、抗 41-kDa 線毛抗体と抗 67-kDa 線毛抗体を用いて行った。同時に、ヒト歯肉上皮細胞 (HGECs) に対する付着能について検討した。更に、電子顕微鏡で菌体表層の線毛発現を観察した。PCR による線毛遺伝子と関連遺伝子について遺伝子発現の状態を検討した。

その結果、タンパク質合成阻害薬であるアジスロマイシンの最小発育阻止濃度以下の濃度における *P. gingivalis* への影響は、41-kDa 線毛の発現とともに赤血球凝集能および細胞付着能を抑制することが判明した。遺伝子発現においては、*fimA*、*rgpA*、*kgp*、*hgaA* の遺伝子発現が抑制されていた。なお、0.4 µg/mL、0.2 µg/mL、0.1 µg/mL 濃度のアジスロマイシン添加により、41-kDa 線毛が完全に消失したものの 67-kDa 線毛の発現には影響してなかった。

以上の結果から、アジスロマイシンは、殺菌作用だけではなく、低濃度では *P. gingivalis* の口腔内定着を抑制し、バイオフィーム形成抑制に作用して歯周病治療に寄与することが示唆された。