

論文内容要旨

Porphyromonas salivosa 線毛の破骨細胞分化
とサイトカイン産生誘導能に関する研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 稲葉啓太郎

(指導： 浜田信城 教授)

論文内容要旨

Porphyromonas salivosa (*P. 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素産生細菌であり、ヒト歯周病に深く関わる *P. gingivalis* と同属の菌種である。*Porphyromonas* 属の菌種に存在する線毛の口腔内定着と病原性状を明らかにすることは極めて重要な知見になると考えられる。これまでに *P. gingivalis* 線毛に関する生物学的性状に関する報告がされていることから、*P. salivosa* に存在する線毛の役割を解明することを目的とした。

これまでの *P. gingivalis* の研究結果から、菌体表層に存在する線毛は、口腔内への付着能を有することが報告されている。また、*P. gingivalis* 線毛はマクロファージや線維芽細胞を刺激しサイトカイン産生を誘導し、細菌感染による炎症反応に関与があることが示されている。しかしながら、*P. salivosa* 線毛の役割については、未だ報告が何もされていない。

本論文では、*P. salivosa* ATCC 49407 株から線毛タンパク質を精製し、マウスマクロファージを用いて破骨細胞分化誘導能とサイトカイン産生誘導能について検討し、歯周病の病原因子となりうる可能性について検討した。

P. salivosa ATCC 49407 株線毛タンパク質の精製は、超音波処理により線毛を菌体表面から剥離後、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により行った。その後、線毛に対する特異抗体を作製し、ウエスタンブロット分析と電子顕微鏡観察で確認した。また、25 匹のネコ血清に対する *P. salivosa* 全菌体の反応性をウエスタンブロット法で検討した。破骨細胞分化誘導能は、マウス骨髄細胞と MC3T3-G2/PA6 の共培養系を用いて、種々の濃度の精製線毛タンパク質で刺激して、破骨細胞の分化誘導能について検討した。成熟破骨細胞による吸収窩形成能は、マウス骨髄細胞と MC3T3-G2/PA6 の共培養により誘導した前破骨細胞を線毛タンパク質で刺激し、吸収窩の面積を測定し評価した。サイトカイン産生誘導能は、マウス骨髄細胞由来マクロファージを線毛タンパク質で刺激後に産生された IL-1 β および TNF- α 量を ELISA 法にて測定した。

その結果、*P. salivosa* ATCC49407 株の菌体表層に線毛が存在し、線毛タンパク質は分子量 60 kDa であることが確認された。また、25 匹中 17 匹のネコの血清において 60 kDa 線毛タンパク質と反応することが確認され、生後 1 年以上のネコにおいては、陽性率が 85% であった。また、60 kDa 精製線毛タンパク質は、有意な破骨細胞分化誘導能を有し、成熟破骨細胞による吸収窩の形成を誘導した。さらに、マウスマクロファージを濃度依存的に刺激し、炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α の産生誘導が確認された。

以上の結果から、*P. salivosa* 菌体周囲に存在する 60 kDa 線毛は、歯周組織破壊に関わる破骨細胞分化誘導能やサイトカイン産生誘導能を有する重要な病原因子であることが示唆

された。