

## 最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

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 に  
対する最終試験は、主査 児玉 利朗 教授 、副査 合田 征司 教授 、  
副査 青山 典生 准教授 により、論文内容ならびに関連事項につき口頭試問を  
もって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 児 玉 利 朗 教 授

副 査 合 田 征 司 教 授

副 査 青 山 典 生 准 教 授

論 文 審 査 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 )

主 査 児玉利朗教授

副 査 合田征司教授

副 査 青山典生准教授

## 論文審査要旨

*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。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なされ、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、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とされている。本研究は、*Porphyromonas* 属の *P. salivosa* に存在する線毛の役割を、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を評価した論文である。

実験方法は、*P. salivosa* ATCC 49407 株線毛タンパク質の精製について、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ている。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ている。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ている。破骨細胞分化誘導能については、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ている。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、吸収窩の面積を評価している。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 $\beta$  および TNF- $\alpha$  量を ELISA 法にて測定を行っている。本研究は、線毛タンパク質分子量 60 kDa の結果をもとに、破骨細胞分化誘導能や炎症性サイトカインの産生誘導について同時に着目している点は評価されるものである。研究結果として、*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、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認められ、とくに生後 1 年以上のネコにおいては陽性率が 85%であることを確認している。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誘導を確認している。さらに、マウスマクロファージを濃度依存的に刺激した場合、炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  の産生誘導を認めている。以上より、これまで *P. salivosa* 線毛の役割についての報告はなかったが、本研究論文は *P. salivosa* 菌体周囲に存在する 60 kDa 線毛が、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を示した。

本審査委員会は、すべての教育課程を修了し、教育理念に相応しい成果が認められ、高

度専門職として豊かな学識を有すると判定されたことから、申請者が博士（歯学）の学位に十分値するものと認めた。