

論 文 内 容 要 旨

Porphyromonas gulae 41-kDa fimbriae induced osteoclast
differentiation and cytokine production

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

微生物感染講座 佐々木 悠

(指 導： 浜田信城 教授)

論文内容要旨

歯周病は、ヒトに限らず他の哺乳動物にも発症し得る。特に、愛玩動物として飼育されるイヌやネコでは罹患率が高く、4歳以上のイヌの約80%は歯周病に罹患していると報告されている。*Porphyromonas gulae* (*P. gulae*) はイヌの歯肉溝から高頻度に検出される黒色色素産生性偏性嫌気性グラム陰性桿菌である。*P. gulae* は、DNA 相同性および 16S rRNA 遺伝子解析により 2001 年にヒト口腔から分離される *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) とは異なる菌種として報告されている。*P. gulae* と *P. gingivalis* は、カタラーゼ産生性が異なるもののトリプシン様酵素や血球凝集活性を有することから、極めて近縁の細菌と考えられる。本研究では、*P. gulae* ATCC 51700 株に存在する 41-kDa 線毛の歯周組織破壊における病原性について検討した。

P. gulae 41-kDa 線毛タンパク質は、DEAE-Sepharose CL-6B を用いて陰イオンカラムクロマトグラフィーにより精製した。精製タンパク質による破骨細胞分化誘導は、BALB/c マウス骨髄細胞と破骨細胞分化支持細胞である MC3T3-G2/PA6 の共培養系を用いて行った。その結果、10.0 $\mu\text{g/ml}$ 、1.0 $\mu\text{g/ml}$ 、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の 41-kDa 線毛タンパク質刺激によりそれぞれ 129.67 ± 8.18 個、 144.67 ± 5.44 個、 42.00 ± 4.32 個の TRAP 陽性破骨細胞が認められ、10.0 $\mu\text{g/ml}$ と 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 濃度の 41-kDa 線毛タンパク質は陽性対照として用いた 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 大腸菌 LPS と同程度の破骨細胞分化誘導能を有することが判明した。また、これらの濃度の線毛タンパク質により、象牙切片上に明らかな吸収窩の形成が認められた。さらに、サイトカイン産生誘導能については、BALB/c マウス腹腔マクロファージを用いて検討した。*P. gulae* 41-kDa 線毛タンパク質は、炎症性サイトカインである IL-1 β と TNF- α の誘導が認められた。実験的歯周炎は 3 週齢の Sprague-Dawley 系ラットを用いて、スルファメトキサゾールとトリメトプリムを飲料水中に添加して口腔常在菌を減少させた後、PBS で作製した 5% カルボキシメチルセルロース溶液で調製した *P. gulae* 菌液を口腔内に一日おきに 5 回接種し、歯槽骨吸収量を指標として判定した。*P. gulae* 非接種群には 5% CMC 溶液のみを同一条件下で接種した。その結果、*P. gulae* 感染群の歯槽骨吸収量は、*P. gulae* 非接種群に比べ有意に増加していた。

以上の結果から *P. gulae* 41-kDa 線毛は破骨細胞分化誘導能、炎症性サイトカイン産生能を有し、本菌がラット実験的歯周炎モデルにおいて顕著な歯槽骨吸収を示したことから、イヌの歯周炎において *P. gulae* 41-kDa 線毛が重要な病原因子であることが示唆された。