

## 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 微生物感染学講座 佐々木 悠 に  
対する最終試験は、主査 三辺正人 教授、副査 児玉利朗 教授、  
副査 高橋俊介 准教授により、主論文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 教 授 三辺正人

副 査 教 授 児玉利朗

副査 准教授 高橋俊介

論 文 審 査 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

微生物感染学講座 佐々木 悠

(指 導：浜田信城 教授)

主 査 教 授 三 辺 正 人

副 査 教 授 児 玉 利 朗

副 査 准 教 授 高 橋 俊 介

## 論文審査要旨

本論文は、黒色色素産生性偏性嫌気性グラム陰性桿菌である *Porphyromonas gulae* (*P. gulae*) 線毛の生物学的活性を検討したものである。*P. gulae* は、イヌの歯肉溝から高頻度に検出される細菌であり、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。本研究は、*P. gulae* ATCC 51700 株菌体表層に存在する 41-kDa 線毛の歯周組織破壊における病原性について歯槽骨吸収に関わる破骨細胞の分化誘導能やサイトカイン産生誘導能について検討し、ラットを用いた動物実験から歯周病発症に関わる重要な細菌であることを明らかにした論文である。

*P. gulae* 41-kDa 線毛タンパク質は、超音波処理で菌体から線毛を剥離し硫酸アンモニウム塩析法で濃縮後、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ている。精製タンパク質は、SDS-PAGE で分子量 41-kDa の単一タンパク質であることと電子顕微鏡観察においても、精製タンパクで質が線毛構造であることを確認している。精製 41-kDa 線毛タンパク質の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い、10.0 µg/ml、1.0 µg/ml、0.1 µg/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 µg/ml と 1.0 µg/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 µg/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を明らかにしている。また、これらの濃度の 41-kDa 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も認められることを確認している。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、炎症性サイトカインである IL-1β と TNF-α を誘導することを確認している。さらに、3 週齢の Sprague-Dawley 系ラットを用いて、*P. gulae* 生菌を口腔に接種し、歯槽骨吸収量を指標として判定している。*P. gulae* 感染群は、5% CMC 溶液のみを同一条件下で接種した *P. gulae* 非接種群に比べ有意な歯槽骨吸収が認められ、本菌が歯周組織破壊に関与する重要な細菌であることを明らかにした。以上の結果から、*P. gulae* 41-kDa 線毛タンパク質が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、*P. gulae* 41-kDa 線毛が歯周組織破壊の関わる重要な病原因子であることが示唆した結果を見出したことを高く評価できる。また、本研究で得られた新しい知見は歯周病の病因論を論じるうえで重要な基礎的データとなると判断した。

本審査委員会は、申請者に対して論文内容に関する説明と主査、副査により行われた質問に対しても十分に満足できる回答が得られた。さらに *P. gulae* 線毛の新しい知見は、今後の歯科医療への貢献が期待でき、ヒト歯周病に関わる *P. gingivalis* の口腔内定着機序の解明にも重要であるとの結論に至った。以上の審査の結果、本審査委員会は申請者が博士（歯学）の学位に十分値するものと認めた。