

論文内容要旨

P. gingivalis ジンジパインIgY抗体のラット実験歯周炎に対する歯槽骨吸収抑制効果

神奈川歯科大学感染制御学講座微生物学分野

研究生 鹿谷 宗司

(指導：浜田信城 教授)

論文内容要旨

慢性歯周炎の原因菌が *Porphyromonas gingivalis* であることは多くの臨床的、実験的研究から明らかにされている。我々の研究室においても *P. gingivalis* 生菌をラット口腔内へ接種することにより歯槽骨吸収を惹起する実験的歯周炎モデルを用いて、*P. gingivalis* の病原因子の解析を行ってきた。本菌の病原因子の一つとして、菌体表面および菌体外に強力なプロテアーゼを産生することが知られているが、なかでもジンジパイン (gingipains) は本菌の産生する主要なプロテアーゼであり、ペプチド切断部位特異性の異なる Arg-gingipain (Rgp) と Lys-gingipain (Kgp) が存在する。これら2つの酵素は、宿主細胞に傷害を与え歯周病に関連する種々の病態を生み出すと考えられている。本研究においては、*P. gingivalis* の産生する酵素であるジンジパインに対する鶏卵抗体 (IgY-GP) のラット実験的歯周炎に対する骨吸収抑制効果について検討した。

P. gingivalis 接種によるラット実験的歯周炎の惹起は、生後3週齢の Sprague-Dawley 系の SPF ラットを使用し、1群6匹で行った。ラットの健康状態を観察後、イオン交換水中に最終濃度 1 mg/ml のサルファメトキサゾールと 200 µg/ml のトリメトプリムを混合した飲料水を1週間与えて口腔常在菌を減少させた。その後、3日間抗生物質を含まないイオン交換水を与え 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. gingivalis* ATCC 33277 株の菌液を一日おきに3回 ラット口腔内へ直接接種した。*P. gingivalis* 未接種群には5% CMC 溶液のみを与えて同条件で飼育した。抗体の投与は、*P. gingivalis* のジンジパインに対する IgY 抗体粉末を CMC 溶液に添加したものを作製して行った。投与回数は、*P. gingivalis* の投与開始1日前を含む、計4回投与した。尚、*P. gingivalis* 接種時においては、細菌接種10分後に IgY-GP を投与した。歯槽骨吸収量の評価は、上顎臼歯部のセメントエナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定して行なった。すなわち、*P. gingivalis* 接種最終日から46日目にエーテル麻酔下で屠殺後、頭蓋骨を2気圧下で10分間加熱後、3%次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬して軟組織を除去し、1%メチレンブルー溶液で歯槽骨を染色乾燥させた。試料を実体顕微鏡にて静止画像を記録し、画像解析ソフトを用いて歯槽骨骨頂からセメントエナメル境までの距離を両側14部位測定した。14部位の測定値を平均して個体当たりの歯槽骨吸収量とし、それぞれ6匹分の平均値を実験群の歯槽骨吸収量としてミリメートルで表示した。

本研究において、*P. gingivalis* 接種群は、非接種群に比較して有意に歯槽骨吸収量の増加が認められた。また、抗体投与により有意に歯槽骨吸収の抑制効果が認められ、IgY-GP 投与群では *P. gingivalis* 非接種群と同程度の歯槽骨吸収量であり、*P. gingivalis* 接種による歯槽骨吸収がほぼ完全に抑制された。以上の結果から、歯槽骨吸収を指標とした今回の研究では、ジンジパインに対する鶏卵抗体がラット歯槽骨吸収を抑制することが明らかになった。*P. gingivalis* のジンジパインに対する鶏卵抗体の口腔内投与により、*P. gingivalis* 感染によるラット歯槽骨吸収が抑制されたことから、歯周病治療と予防における鶏卵抗体の有用性が示唆された。