



氏 名 昆 麻 子 (昭和49年4月18日生)
 本 籍 地 青 森 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第179号
 学 位 授 与 の 日 付 平成15年3月25日
 学 位 授 与 の 条 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 *Porphyromonas endodontalis* の病原因子の解析

論文内容の要旨

I. 研究目的

Porphyromonas endodontalis は強い臨床症状をともなう感染根管あるいは歯根膿瘍病巣から分離されることから、根尖性歯周炎の急性症状に関わる原因細菌と考えられている。本菌の細菌学的性状は成人性歯周炎の原因菌である *P. gingivalis* と類似しているが、*P. endodontalis* の病原特異性に関わる病原因子についての解析はほとんど行われていない。そこで本研究では、*P. endodontalis* の病原因子を明らかにする目的で、歯肉上皮細胞への付着能、付着因子としての線毛遺伝子の有無、さらに本菌の産生するプロテアーゼ活性スペクトラムについて *P. gingivalis* と比較検討した。

II. 研究方法

P. endodontalis ATCC 35406株、および対照として種々の線毛タイプの *P. gingivalis* 株を用いた。マウス歯肉上皮細胞株 (GE1) への付着能は光学顕微鏡観察および [³H] 標識菌を用いた定量的測定から検討した。また、線毛の有無については電子顕微鏡観察から検討した。さらに PCR 法および DNA-DNA ハイブリダイゼーション解析法を用いて、*P. gingivalis* 線毛タンパク質遺伝子 (*fimA*) の相同遺伝子の検索を行った。プロテアーゼ活性は種々の MCA ペプチド合成基質を用いて測定した。

III. 研究成果

P. endodontalis は GE1 への付着能を有するものの、*P. gingivalis* に比して有意に低いことが明らかとなった。また、電子顕微鏡観察では線毛様構造は認められず、さらに PCR および DNA-DNA ハイブリダイゼーション解析からも、*P. endodontalis* ゲノム DNA 上には *fimA* 様遺伝子の存在は認められなかった。MCA ペプチドを基質として用いた解析からは、*P. endodontalis* のプロテアーゼ活性スペクトラムが *P. gingivalis* のそれとは大きく異なることが明らかとなった。

IV. 考察及び結論

P. endodontalis は線毛様構造物を保有せず、*P. gingivalis* とは異なる定着機構によって感染根管に定着し、さらに、その特徴的なプロテアーゼ活性により根尖性歯周炎の病原因子となることが強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 久保田 稔 (歯科保存学第一講座)
 副査 教授 木村 重信 (口腔微生物学講座)
 副査 教授 名和 橙黄雄 (口腔解剖学第二講座)

根管細菌のうち *P. endodontalis* は強い臨床症状をともなう根管内あるいは歯根膿瘍病巣部から分離されるこ

とから、急性症状との関連性が示唆されている。しかし、細菌学的に類縁菌種で成人性歯周炎の原因菌である *P. gingivalis* と比較して、その病原因子の解析はほとんど行われていないというのが現状である。本研究で著者は、*P. endodontalis* の病原因子として、宿主細胞への付着能、付着因子としての線毛の有無、さらにプロテアーゼ活性スペクトラムについて検討を行った。その結果、*P. endodontalis* は株化マウス歯肉上皮細胞への付着能を有するものの、*P. gingivalis* と比較してその付着菌数は有意に低いことを光学顕微鏡観察および [³H] 標識菌を用いた定量的測定から明らかにした。線毛（様構造）については、透過型および走査型電子顕微鏡観察から *P. endodontalis* には認められないことを示唆した。さらに著者は、*P. gingivalis* 線毛の主要な構成タンパク質であるフィンブリリンをコードする遺伝子 (*fimA*) に着目し、*P. endodontalis* が *fimA* 様遺伝子を保有するか否かについて分子生物学的に検索を行った。その結果、type I-V の *fimA* に特異的なプライマーを用いた PCR および DNA-DNA ハイブリダイゼーション解析の成績から、*P. endodontalis* ゲノム DNA 上に *fimA* 様遺伝子が認められないことを示した。*P. endodontalis* の病原因子としてのプロテアーゼ活性については、MCA ペプチドを基質として解析を行い、*P. endodontalis* のプロテアーゼ活性スペクトラムが *P. gingivalis* のそれとは大きく異なることを明らかにした。

本研究は、付着能、線毛、プロテアーゼ活性という病原因子の解析を通じて *P. gingivalis* とは異なる *P. endodontalis* の病原特異性を明らかにしたもので、得られた知見は本菌による感染根管／根尖性歯周炎の病理発症機序の解明に寄与することが期待されることから博士論文に値するものと評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究に対し、関連事項ならびに今後の研究の展開に関して多方面にわたる試問を行ったところ、的確な解答が得られたことから、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認めた。