

Porphyromonas gingivalisのバイオフィルム形成能の検討

○鎌口 有秀, 宮川 博史, 中澤 太
北海道医療大歯学部口腔細菌学教室

【目的】Porphyromonas gingivalisは成人性歯周炎の主病原細菌の1つとされ、その進行に伴い歯肉縁下歯垢中で増加することが報告されている。近年、本菌種のバイオフィルム形成能が重要な病原因子の1つとして注目されているが、その詳細は不明である。今回は、black-pigmented P. gingivalis ATCC 33277（親株）から継代培養により得られたnon-pigmented P. gingivalis np-4（変異株）を用いて、そのバイオフィルム形成能について親株のそれと比較検討したので、その成績を報告する。

【方法】親株をGAM半流動寒天培地にて継代し、血的寒天培地に塗抹、培養後、出現する非黒色コロニーを分離し、変異株とした。親株および変異株はyeast extract, hemin, menadione添加tryptic soy broth (TYHM) にて嫌気培養した。バイオフィルム形成能は96 wellプラスチックプレートに各菌液を接種し、嫌気培養後、クリスタルバイオレット染色性で表した。

【結果および考察】親株を約20回継代することにより、非黒色コロ

ニーが出現した。この中の1つをnp-4とした。プレートの種類により多少の差異は認められるが、np-4は親株に比較し、肉眼的にも明らかに弱いバイオフィルム形成能を示した。また、np-4の菌体表層のアルギニン特異的システイン・プロテアーゼ (Rgp) 活性は低い。培養上中のRgp活性は親株のそれに比較して数倍高いことが判明した。本菌の黒色化に関与する因子として、RgpのC末にあるアドヘジンドメインのHgp15の関与が指摘されている。np-4は菌体表層にRgpとアドヘジンドメインの複合体を保持する何らかの成分の遺伝子に変異が起き、その結果バイオフィルム形成能が低下したと推測された。また、np-4の線毛形成性は現時点では不明であるが、本菌のfimA変異株のバイオフィルム形成能が親株のそれと差異がないことより、np-4のバイオフィルム形成能の低下とfimA線毛の関連性はないものと考えられた。

以上のことより、本菌のバイオフィルム形成にはRgpとアドヘジンドメイン複合体を含む種々の物質が関与することが示唆された。

ニコチンによるβディフェンシン発現量の変化と、インヒビターによるそのpathwayの検索

○中村寿実子*, 安彦 善裕*, 倉重 圭史*, 西村 学子*, 山崎 真美*,
竹嶋麻衣子*, 荒川 俊哉**, 田隈 泰信**, 賀来 亨*

*北海道医療大学歯学部口腔病理学講座, **北海道医療大学歯学部口腔生化学講座

【目的】βディフェンシン (hBD) は、主に上皮細胞に発現している抗細菌性蛋白である。hBD-1は、恒常的に発現し、hBD2と3は、炎症性刺激により発現が誘導され、いずれも上皮細胞の細菌感染防御機構に関与している。ニコチンはタバコを介して口腔粘膜に悪影響をおよぼし、歯周炎や口腔がんの誘発に関与していることが知られている。ニコチンのhBD発現に対する影響については明らかにされていない。本研究では、ケラチノサイトであるHaCaT細胞に、ニコチンを添加しhBD-1, -2, -3の発現変化を観察し、その時の細胞内のpathwayについて検索した。

【方法】HaCaT細胞を10%FBS含有DMEMにて培養し、ニコチンを2.5, 5, 10, 25μg/ml添加した。4, 8, 12, 24, 48時間後にRNAを抽出し、hBD-1, -2, -3の発現量変化をRT-PCR法とTaqMan

probeを用いたreal-time PCR法で行った。この時の細胞内のpathwayを明らかにするために、それぞれの経路のインヒビターであるSB 203580, MG132, PDTTCを添加し、同様にhBDmRNAの発現変化を検索した。

【結果および考察】HaCaT細胞にニコチンを添加したところ、濃度および時間依存的にhBD-1, -2の発現の上昇することが明らかになった。この中で、特にhBD-1の発現が著明であった。これらの発現のpathwayにはp38およびNF-κBの関与していることが明らかとなった。以上のことから、口腔粘膜上皮では、発がんイニシエーターとなるニコチンによりhBDsが上昇することにより、プロモーターとなりうる細菌感染を回避して、発がんに対する防御機構を担っているものと考えられた。

本学歯学部附属病院地域支援医療科活動報告 第4報

○松原 国男*, 越野 寿***, 平井 敏博***, 吉野 夕香***

*歯学部附属病院地域支援医療科, **歯学部歯科補綴学第1講座, ***歯学部附属病院事務部

本学歯学部附属病院は地域からの要望に応えるべく、平成12年11月に「地域支援医療科」を新設し、訪問歯科診療室所属の歯科医師と各科・部署の担当者が診療にあたる体制を整備した。

今回は、平成16年1月から12月末までの「地域支援医療科」としての活動について報告する。

1. 訪問歯科診療の実績

訪問診療を実施した患者数は114名（平成15年同期間：135名）であり、延べ訪問診療回数は1144回（平成15年同期間：1085回）であった。訪問先については、高齢者施設が530回（46%）で最も多く、居宅が414回（46%）、入院中の医科病院が200回（17%）であった。訪問先の地域別分布では、当別町が267回（23%）、江別市が249回（22%）、厚田村が524回（46%）、月形町が27回（2%）、札