

Porphyromonas gingivalisのspontaneous mutantの  
バイオフィルム形成性について(北海道医療大学歯  
学会第25回学術大会 一般講演抄録)

著者名(日)	鎌口 有秀, 藤田 真理, 宮川 博史, 中澤 太
雑誌名	北海道医療大学歯学雑誌
巻	26
号	1
ページ	44
発行年	2007-06
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00010004/">http://id.nii.ac.jp/1145/00010004/</a>

目的とした。

【方法】Ag-20InにAuを1～6%添加した合金を作製し、0.9% NaCl溶液中で耐食性を評価した。試験片は通法に従って14×14×1 mmの大きさに铸造し、表面を鏡面に仕上げ実験に供した。溶出イオンは、グラファイト炉原子吸光法を用いて定量した。合金の表面に生成した腐食生成物は、SEMとX線光電子分析装置(XPS)を用いて調べた。

【結果および考察】Auを含まないAg-In合金は、0.9% NaCl溶液中で腐食し、表面に結晶性の腐食生成物を生成して変色した。XPSを用いた分析の結果、腐食生成物はInの酸化物(In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)であることが分かった。腐食生成物の量は、Auを1%添加することによって著

しく減少した。また、Auを6%添加した合金の表面には、腐食生成物はほとんど認められなかった。一方、溶出イオン量を調べた結果、Ag-In合金ではInが選択的に溶出していたが、Auの添加によってInの溶出が抑制されるとともに、Agの溶出量がわずかに増加することが分かった。

【結論】Auの添加は、Ag-In合金の耐食性と耐変色性の向上に有効であることが確かめられた。また、Auの添加によって、結晶性のIn酸化物の生成とInの溶出は著しく抑制されたが、微量のAgが溶出するようになり、合金の腐食機構が大きく変化することが明らかとなった。

### Moigbacterium timidumと歯周疾患(1)

#### —M. timidumに及ぼす嫌気性グラム陰性桿菌の影響—

○宮川博史, 藤田真理, 鎌口有秀, 中澤 太  
北海道医療大学歯学部口腔細菌学講座

【目的】難培養性の糖非分解性偏性嫌気性グラム陽性桿菌である*Mogibacterium timidum*は、歯周ポケット深部から多数分離されることから歯周疾患との関連が指摘されている。しかし、本菌の病原性や歯肉溝細菌叢における役割などについてはほとんど明らかになっていない。今回我々は、本菌の歯周疾患における役割を明らかにする目的で、口腔細菌による本菌への増殖効果と共凝集活性について検討した。

【方法】5種の口腔細菌(*Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*)を予め培養した血液寒天培地、または、液体培養後の培養上清を遠心、ろ過して調整した培地に*M. timidum*を接種して培養し、増殖効果を調べた。共凝集活性の測定は、まず、各細菌を共凝集用緩衝液に懸濁後、5分間超音波処理し、O.D.600nmで1.0に調整した。次に、2種の菌液を同時に混合し、経時的にO.D.の変化を測定して、共凝集活性とした。

【結果および考察】歯周病原性細菌である嫌気性グラム陰性桿菌(*P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*)を予め培養した血液寒天培地に*M. timidum*を接種した場合、その増殖は著しく促進されることが観察された。また、その増殖促進はこれらのグラム陰性桿菌を培養した培養上清でも見られたことから、嫌気性グラム陰性桿菌の代謝産物が*M. timidum*の増殖に重要な役割を果たしていることが示唆された。共凝集試験でも、それらの嫌気性グラム陰性桿菌と*M. timidum*の強い凝集活性が観察された。この増殖促進作用や凝集活性は*A. viscosus*や*S. mutans*のグラム陽性菌ではほとんど観察されないことから、*M. timidum*がグラム陰性桿菌の多く見られる歯周疾患病巣における病態細菌叢の維持や病態の慢性化に関与していることが示唆された。

【結論】*M. timidum*は嫌気性グラム陰性桿菌の存在下において歯周疾患の進行に重要な役割を演じていることが示唆された。

### *Porphyromonas gingivalis*のspontaneous mutantのバイオフィーム形成性について

○鎌口有秀, 藤田真理, 宮川博史, 中澤 太  
北海道医療大学歯学部口腔細菌学講座

【目的】*Porphyromonas gingivalis*は成人性歯周炎の主原因細菌の1つとされ、*P. gingivalis*が歯肉溝バイオフィーム形成菌の一員として長期存在することが本疾患の主要な要因の1つと考えられている。しかし、*P. gingivalis*のバイオフィーム形成因子の詳細については明確にされていない。今回、*P. gingivalis*のspontaneous mutantの中でバイオフィーム形成能が増加する株がみだされたことより、この株の性状について検討を行った。

【方法】spontaneous mutantは*P. gingivalis* ATCC33277(親株)をGAM半流動寒天培地で継代を繰り返すことにより得た。バイオフィーム形成能の測定は96穴プレート用で行った。N-末端アミノ酸解析は菌体をSDS-PAGE後、PVDFメンブランに転写し、目的のバンドをプロテインシークエンサーにて解析した。

【結果および考察】GAM半流動培地で約20代の継代により無色の

コロニーとなるnp8株とnp11株を得た。親株、np8株、np11株のバイオフィーム形成能を比較したところ、np11株が他の2株より多くのバイオフィームを形成することがわかった。np11株は他の2株よりGAM液体培地中で強い凝集性が観察された。菌体のSDS-PAGEによる解析の結果、np11株は他の2株に比較して17kDaと26kDaの2本のタンパク質バンドが増加していた。これらのN-末端アミノ酸解析とBLAST searchの結果、前者はflavodoxinであり、後者は3-oxoacyl-(acyl-carrier protein) reductaseであった。

【結論】本研究の結果、*P. gingivalis*のバイオフィーム形成性及びその凝集性にflavodoxin及び3-oxoacyl-(acyl-carrier protein) reductaseの2種類のタンパク質発現が強く関与していることが明らかとなった。