

**Porphyromonas gingivalisの浮遊菌とバイオフィルム形成菌の遺伝子発現の比較(北海道医療大学歯学会第26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	27
号	1
ページ	64
発行年	2008-06
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00010097/">http://id.nii.ac.jp/1145/00010097/</a>

ている。我々は浸潤性の異なる癌細胞を用い、癌細胞のケモカイン受容体発現誘導が炎症性サイトカインと増殖因子刺激によって制御されている可能性について検討した。

【材料と方法】細胞：ヒト舌扁平上皮癌細胞SASと、本細胞から得られた高浸潤性SAS-H1細胞及び低浸潤性SAS-L1細胞を用いた。試薬：IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 1, EGF, HGFを用いた。また、NF- $\kappa$ B阻害剤BAY11-7082を用いた。定量RT-PCR法：特異的プライマーを用いてSYBR greenによる定量RT-PCR法を行い、受容体発現の変化を検討した。ケモカイン受容体蛋白質発現：抗CX3CR1抗体によるウエスタンブロット法で蛋白質の発現を検討した。NF- $\kappa$ B活性：TransAM NF- $\kappa$ B p65 assay kitによりNF- $\kappa$ B活性を測定した。細胞遊走性：transwell-chamberを用いて、遊走細胞数を測定した。

【結果と考察】親株SAS細胞では、16種類のケモカイン受容体mRNAの発現が認められた。これらのケモカイン受容体で、SAS-H1とSAS-L1で共通して発現し、さらに発現の差がみられたものは、CCR-5, -6, -7, CXCR-1, -6, CX3CR1の6種類で、いずれもSAS-H1で発現が亢進されていた。6種類のケモカイン受容体について、各細胞により炎症性サイトカインと増殖因子による発現誘導に違いがみられた。さらにその反応性の違いは、転写因子NF- $\kappa$ Bにより制御されていることを示した。

【結論】癌原発巣周囲の炎症性細胞や血管内皮細胞から産生放出されるサイトカインおよび増殖因子が、癌細胞のケモカイン受容体の発現を増強し、局所浸潤を促進している可能性が示された。さらに、これらのケモカイン受容体を介した細胞遊走性が、転写因子であるNF- $\kappa$ Bによって制御されていることが明らかとなった。

### 全身照射ラットにおける抜歯窩の破骨細胞の観察

○細川洋一郎, 田中力延, 佐野友昭, 大西 隆, 中山英二,  
奥村一彦\*, 矢嶋俊彦\*\*  
北海道医療大学歯学部  
生体機能・病態学系歯科放射線学分野  
生体機能・病態学系組織再建口腔外科分野\*  
口腔構造・機能発育学系解剖学分野\*\*

【目的】破骨細胞は、骨髄由来の単核前駆細胞の融合によって形成されるとされている。しかし、生体内の前駆細胞の本体およびその寿命等の詳細については不明である。そこで、骨髄細胞の供給が不能になった全身照射ラットを用い、抜歯窩に発生する破骨細胞の動態を検討した。

【方法】4週齢Wistar系雄ラットの上顎右側第一大臼歯を抜歯し、8Gyの全身照射を行った。HE染色ならびに酒石酸耐性酸性ホスファターゼ染色（TRAP染色）を施し、抜歯窩の破骨細胞を経時的に観察した。また、全身照射ラットに、照射していないラットの大腿骨髄から採取した骨髄細胞を、 $1 \times 10^7$ 個腹腔内に投与して抜歯窩の破骨細胞を観察した。

【結果および考察】全身照射群では照射後に大腿骨骨髄の骨髄細胞

は消失し、それに伴い抹消血中の白血球も減少した。非照射群では抜歯後3日に、抜歯窩の骨表面に破骨細胞が多数観察された。全身照射群では、抜歯後3日に破骨細胞が観察されたが、対照群に比較してその数は少なく、細胞は小さく核の数の少ない傾向がみられた。放射線照射と抜歯の時期を変化させたところ、放射線照射1日後抜歯した群の破骨細胞数が最も少なかったが、破骨細胞が観察されないことはなかった。全身照射群に骨髄細胞を投与したところ、破骨細胞数は増加した。

【結論】破骨細胞は、放射線感受性の比較的低い前駆細胞と、放射線感受性の高い骨髄由来細胞により形成され、抜歯窩の場合、骨髄由来細胞の供給は抜歯後比較的前期におこるものと考えられる。

### *Porphyromonas gingivalis* の浮遊菌とバイオフィルム形成菌の遺伝子発現の比較

○鎌口有秀, 藤田真理, 宮川博史, 中澤 大  
北医療大・歯・口腔生物学系・微生物学分野

【目的】*Porphyromonas gingivalis* は成人性歯周炎の主原因細菌の1つであり、歯肉溝でバイオフィルムを形成することがこの疾患の1つの要因である。今回は*P. gingivalis*のバイオフィルムの性状を知るために、*P. gingivalis*の浮遊菌とバイオフィルム形成菌の遺伝子発現について比較検討した。

【方法】*P. gingivalis* np11株をヘミン、メナジオン添加Tryptic soy brothにて嫌気培養した。*P. gingivalis* np11株を96穴プレートに接種し、2日培養後、上清を浮遊菌、プレートに結合した菌をバイオフィルム形成菌とした。両菌より総RNAを抽出し、cDNAを作製後、*P. gingivalis* W83株のゲノム解析データベースを元に作製されたアレイ（GeneFrontier社）にてDNAアレイ解析を行った。

【結果および考察】*P. gingivalis*の1,909遺伝子をターゲットとして

浮遊菌とバイオフィルム形成菌のDNAアレイ解析を行ったところ、2倍以上の遺伝子発現の差異がみられたものは74遺伝子であった。バイオフィルム形成菌において発現が増加したものはABC transporter, efflux transporter MFP component RDN familyなどの32遺伝子、減少したものはheat shock protein 90, OxyR, outer membrane efflux protein, AcrB/AcrD/Acrf family proteinなどの42遺伝子であった。

【結論】細胞壁における物質の取り込みや排出に関与するタンパク質の遺伝子の増減や薬剤排出関与するタンパク質の遺伝子の増減がみられたことより、これらが直接的または間接的にバイオフィルム形成性や薬剤に対する感受性に関与している可能性が強く示唆された。