

## 21. 歯肉線維芽細胞に対するPorphyromonas gingivalis由来プロテアーゼの影響(一般講演)(東日本歯学会第15回学術大会(平成9年度総会))

著者名(日)	森 修二, 大井戸 真理, 河合 治, 加藤 幸紀, 上原 いずみ, 澤田 圭子, 王 宝禮, 小鷲 悠典
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	16
号	1
ページ	158
発行年	1997-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008235/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008235/</a>

た。

〈結論および考察〉 ヒト骨芽細胞において細胞外カルシウムの上昇は、細胞増殖作用促進に働き、細胞分化を促進する効果はほとんど認められないが、BMP-2, -4, -5のmRNAレベルを上昇させる作用は有する。これらの

結果は骨吸収後あるいは合成ハイドロキシアパタイト埋入後の骨形成促進作用にカルシウム濃度上昇が関与し、その作用のメカニズムの一つとして骨芽細胞におけるBMP-2, -4, -5の産生上昇が関与する可能性が示唆された。

## 21. 歯肉線維芽細胞に対するPorphyromonas gingivalis由来プロテアーゼの影響

○森 修二<sup>1)</sup>, 大井戸真理<sup>1)</sup>, 河合 治<sup>1)</sup>,  
加藤 幸紀<sup>1)</sup>, 上原いずみ<sup>1)</sup>, 澤田 圭子<sup>1)</sup>,  
王 宝禮<sup>2)</sup>, 小鷲 悠典<sup>1)</sup>

(歯科保存学第一講座<sup>1)</sup>, 大阪歯科大学 薬理学講座<sup>2)</sup>)

これまで我々は、歯周組織の主要な構成細胞である歯肉線維芽細胞が*Porphyromonas gingivalis* (*P g*)由来LPS刺激によりInterleukin-6 (IL-6)を産生することを報告した(日歯保誌 38:1280-1289,1995)。さらに我々は、歯周病原性因子として重要と考えられる*P g*プロテアーゼがこのLPS刺激によるIL-6の産生を抑制し、それは*P g*プロテアーゼが歯肉線維芽細胞膜上のLPSレセプターと考えられるCD14分子を破壊するためであることを明らかにした(J Dent Res,75:274,1996)。今回我々は、歯周病発症における*P g*プロテアーゼの病原性発現のメカニズムを解明するために、ヒト歯肉線維芽細胞の細胞間マトリックスであるフィブロネクチン、および接着分子であるICAM-1, VCAM-1, VLA-4の発現に対する*P g*プロテアーゼの影響について検討した。*P g* 381株培養上清からアセトン分画・ゲル濾過し、分子量44kDaのプロテアーゼを抽出精製した。無血清条件下にて*P g*

プロテアーゼでヒト歯肉線維芽細胞を刺激する実験系を確立した。細胞の形態観察は位相差顕微鏡により行い、生細胞数はMTT発色試薬を用い測定した。さらにフィブロネクチン量はELISA法にて測定した。線維芽細胞膜上のICAM-1, VCAM-1, VLA-4の発現は、フローサイトメーターを用い調べた。

その結果、*P g*プロテアーゼはフィブロネクチンを急速に破壊し、細胞を死に至らせた。しかし細胞死に至る過程において、ある一定期間細胞膜上の接着分子の発現が亢進した。この理由として、生存を維持しようとする細胞自身の防御機能が働いていることも考えられた。

*P g*プロテアーゼは、少なくとも感染初期においては、細胞膜上の生体防御に重要なレセプターや細胞接着分子を早期に破壊することによりその病原性を発現し、歯周病発症の関与している可能性が示唆された。

## 22. 歯周炎におけるfilm gelatinase法によるin situ gelatinase活性解析

沓澤 政幸<sup>1)</sup>, 安彦 善裕<sup>2)</sup>, 加藤 賀史<sup>1)</sup>,  
小鷲 悠典<sup>1)</sup>, 賀来 亨<sup>2)</sup>

(歯科保存学第一講座<sup>1)</sup>, 口腔病理学講座<sup>2)</sup>)

細胞外matrix成分の分解酵素であるmatrix metalloproteinases (MMPs)の存在は、歯周疾患の進行に大きく関わっていると考えられる。特にgelatinase(MMP-2, MMP-9)は、歯周組織の構成成分であるtypeIV-collagen, laminin, fibronectinおよびproteoglycanなどを破壊する作用を有し、歯周疾患の進行において重要な役割を担っていると考えられる。歯周組織におけるgelatinaseの同定は、これまで主に生化学的にgelatinase

蛋白およびその活性化の程度の評価が行われ、組織学的には、その蛋白およびmRNAの発現部位についての検索が行われてきた。しかしながら、活性化の程度を組織切片上で解析した研究は未だ行われていない。そこで今回我々は、新たに開発されたgelatin filmを用い、歯周疾患罹患組織中の活性型gelatinaseの分布状況について検索を行い、興味ある知見が得られたので報告する。sampleは、当大学附属病院を受診し、成人性歯周炎または智歯