

へ、病原性や性状との関連性について随時明らかにしていきたいと考えている。

6. *Prevotella intermedia*と*Prevotella nigrescens*の溶血因子とその遺伝子についての1検討

○鎌口 有秀, 宮川 博史, 寺山 千恵,
馬場 久衛
(北海道医療大学歯学部口腔細菌学教室)

*Prevotella intermedia*と*Prevotella nigrescens*は血液寒天培地において*Porphyromonas gingivalis*より強い β -hemolysisの溶血環を生じるが、この溶血因子の歯肉溝内での作用は不明である。我々はこの溶血因子の性状と作用を検討しているが、つい最近*P. intermedia*の溶血因子の遺伝子がcloningされた。そこで、この遺伝子と溶血性の関連について若干の検討を行った。

*P. intermedia*の溶血因子の遺伝子のシーケンスを参考にしてprimerを作製し、*P. intermedia*と*P. nigrescens*のchromosomal DNAをtemplateとしてPCRを行い同遺伝子の検出と血液寒天培地における溶血性、液体法による溶血性を比較した。また各PCR産物のシーケンスを調べ、それらのホモロジーも検討した。

*P. intermedia*の溶血因子の遺伝子は3領域(ORF1, ORF2, ORF3)よりなると報告されている。しかし、PCRの結果用いた両菌種では3領域とも保有する菌株は非常に少なく、他の菌株は2領域(ORF1, ORF2)のみを保有していた。供試した株は血液寒天培地上での溶血環を形成したが、液体法による溶血性は3領域をもつ菌株においては溶血性が殆ど無いか非常に弱かった。一方上記の2領域をもつ菌株においては弱い溶血性を示す株と強い溶血性を示す株があった。これらの溶血性と遺伝子との関係は既に報告されているものと一致がみられなかった。このことより、*P. intermedia*や*P. nigrescens*にはさらに別の溶血因子と遺伝子が存在する可能性が示唆された。

7. 上皮細胞での β ティフェンシン発現の変化

○安彦 善裕, 加藤 幸紀*, 荒川 俊哉**,
三田村治朗, 西村 学子, 中島 啓介*,
溝口 到***, 小鷲 悠典*, 田隈 泰信**,
賀来 亨

(北海道医療大学歯学部口腔病理学講座・保存学第一講座*・口腔生化学講座**・歯科矯正学講座***)

(緒言) われわれは昨年の本学会において、抗細菌性タンパクである β ティフェンシン(hBD)が口腔上皮細胞およびさまざまな口腔癌細胞で発現していることを発表した。そのなかで、口腔癌細胞株SCC-9ではhBD-1およびhBD-2いずれも発現しているものの、KB細胞ではhBD-2の発現レベルが極めて低いことを実証した。本研究では、これらの細胞のhBDの発現における炎症性サイトカインおよび細菌の影響について検討した。炎症性サイトカインの一種であるIL-1 β , LPS, および若年性歯周炎の原因菌とされている*Actinobacillus actinomycetemcomitance* (AA)による変化について検討した。

(材料および方法) 細胞には、口腔癌細胞株SCC-9細胞およびKB細胞を用いた。hBD mRNAの発現を観察する

ために、total RNA抽出の後、Oligo (dT) プライマーよりcDNAを作製し、hBDに対するプライマーを用いてPCR法による増幅を行った。定量的な検索は、SYBR Green Iを用いたLightCyclerによる定量的RT-PCR法を行った。炎症性サイトカインとしてIL-1 β , LPS, および細菌には、若年性歯周炎の原因菌とされている*Actinobacillus actinomycetemcomitance* (AA)を用いた。いずれも添加後24時間時にtotal RNAを抽出し、同様に検索を行った。さらに、in situ hybridizationによる検索も行った。

(結果) 通常の培養条件下で、SCC-9でのhBD-2 mRNAの発現は、KB細胞に比へ約5倍であった。SCC-9でのhBD-2 mRNAの発現はIL-1 β 添加により2.5倍に、