

論文審査の要旨

報告番号	総研第 596 号	学位申請者	藤田 愛弓	
審査委員	主査	於保 孝彦	学位	博士 (歯学)
	副査	南 弘之	副査	齋藤 充
	副査	西谷 佳浩	副査	中村 利明

Expression of virulence factors under different environmental conditions

in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

(様々な環境条件における *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の遺伝子発現の解析)

慢性歯周炎や侵襲性歯周炎の病原性細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa)は、グラム陰性の通性嫌気性桿菌であり、その病原性因子としてリポ多糖(LPS)、ロイコトキシン(Ikt)、細胞膨化致死毒素(cdt)、外膜タンパク(outer membrane protein : Omp)などが挙げられる。その中の Omp については主なものとして Omp100, Omp64, Omp39, Omp29, Omp16/18, OmpA2 が同定されている。その病原性に係る機能としては、Omp100 と Omp29 は細胞への付着・侵入性、補体抵抗性、OmpA2 は細胞への付着などの病原性が報告されている。Aa は口腔内において主に歯肉縁下に定着し、唾液や歯肉溝浸出液に含まれる生体由来成分に晒されているが、そのような環境における Aa の遺伝子発現についての知見は未だ少ない。そこで本研究は、強毒性を示す HHK1651 株を主に用い、生体環境を模倣した培養条件(唾液含有培地、血清含有培地、鉄制限培地、固形培地、好気性環境、嫌気性環境)にて培養した Aa について、omp を中心とした病原性遺伝子の発現の解析を目的として行なった。その結果、以下の知見が得られた。

- 1) 遺伝子発現 (total RNA レベル) を各種培養条件で解析した結果、血清培地や鉄制限培地では、omp100 と omp64 の遺伝子発現が上昇しており、固形培地中では、omp100 と omp64、ae、emaA、cdtA の遺伝子発現が上昇していた。一方、固形培地中で IktA と ompA2 の遺伝子発現は低下した。
- 2) RNA-seq 解析行なった結果、血清培地中では、鉄獲得因子を含む無機イオンの輸送と代謝および糖の輸送と代謝に関与する遺伝子発現が上昇した。また、エネルギー代謝に関与する遺伝子の発現は低下していた。
- 3) 菌株間の遺伝子発現において、HK1651 株では、通常培地中で IktA の発現が高く、その他の病原性因子についても、遺伝子発現が高い傾向にあった。一方、血清培地中の HK1651 株では認められた omp100 と omp64 の有意な発現上昇がみられたが、他菌株では認められなかった。
- 4) *Fusobacterium nucleatum* (Fn) は自己凝集を示したが、Aa ほどの培養条件においても自己凝集をほとんど示さなかった。一方、Aa と Fn の 1:1 混合液は、いずれの培養条件においても共凝集を示した。とくに血清培養した Aa と Fn との共凝集は、Fn の自己凝集より増強されていた。
- 5) 唾液含有培地および血清含有培地では、通常培地と比較するとバイオフィーム形成量が有意に減少したが、菌の増殖性に変化は認められなかった。

本研究において、Aa は生体内で唾液や歯肉溝浸出液に晒されると、鉄獲得因子を含む外膜タンパクや毒素の遺伝子の発現を変動させることが判明した。Fn などの口腔内細菌と凝集し、バイオフィームが形成され成熟した後、Aa は毒素をさらに産生する可能性が考えられた。以上より Aa は生体中で外膜タンパク等の病原性因子の遺伝子発現を変動させ、様々な口腔内環境に適応していることが示唆された。本研究論文は、歯周病発症に係るメカニズムを解明し、歯周病原菌の遺伝子解析結果を用いた歯周治療への応用するための基礎的知見を提供していることから、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。