

歯周病原菌はなぜ口腔内で生存できるのか

How can periodontal pathogens survive in the oral cavity?

森岡勇磨*, 前田憲成*

*九州工業大学 大学院生命体工学研究科

Yuma MORIOKA*, Toshinari MAEDA*

Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology

E-mail address: morioka.yuma532@mail.kyutech.jp

1. はじめに

歯周病は軽度のものも含めると成人男女の7~8割が罹患していると考えられている¹⁾。また、歯周病は数々の全身疾患にも関係する口腔内感染症であるため、健康寿命を延ばす上で歯周病ケアは重要である。実際に歯周病患者から特徴的に検出されるトリブシン様プロテアーゼ活性は、歯周病原菌の一つである *Porphyromonas gingivalis*(以下 *P. g.*)由来とされている。また、近年の研究ではアルツハイマー型認知症が *P. g.*によって引き起こされる可能性が示唆されている²⁾。そのため、歯周病発症を抑制するには、この *P. g.*の不活性化が不可欠である。

当研究室では過去に歯周病患者と健常者の口腔内の菌叢を調査したところ、健常者にも歯周病患者と同程度 *P. g.*が存在しており、病原性発現にはクォーラムセンシングの関わりが疑われている。また、*P. g.*は偏性嫌気性菌である³⁾にも関わらず、酸素混入が起こる口腔内でも生存することができるが、その生存メカニズムは十分に明らかにされていない。

そこで本研究では、クォーラムセンシング分子の一つであるインドールと酸素ストレスに着目し、*P. g.*の酸素ストレス環境下での生存メカニズムの解明を目的とした。

2. 解析法

2.1 初期濁度の違いによる好気条件下での生菌数測定の比較

初期濁度(OD₆₀₀)を0.05、0.3に合わせた *P. g.*の菌液をそれぞれ37°C、静置、好気条件下で培養を行い、時間変化における濁度と生菌数を比較した。

2.2 *P. g.*のインドール産生能の比較

*P. g.*を初期濁度0.3となるように合わせそれぞれ嫌気条件、好気条件で培養し、時間変化における上清のインドール濃度を、コバック試薬を用いて比色定量により比較した。

2.3 *P. g.*のインドールに対する動態調査

インドールを終濃度2 mMとなるように添加した培地に *P. g.*を初期濁度0.3となるように合わせ、それぞれ嫌気条件、好気条件で培養し、時間変化における生菌数を比較した。

2.4 アスコルビン酸添加による生菌数比較

2.3のサンプルに活性酸素種を除去するアスコルビン酸を添加し、好気条件で培養し、時間変化における生菌数を比較した。

3. 実験と結果

初めに、*P. g.*の初期濁度の影響を調べた結果、初期濁度を0.05に合わせると好気条件では50時間で生菌数が大きく減少し、71時間になると生菌数は0となったが、初期濁度を0.3に合わせると嫌気条件、好気条件の間に生菌数の差はなかった。

次に、*P. g.*が産生したインドールの濃度を嫌気条件、好気条件で比較したところ、好気条件で培養したサンプルの方が高いことが分かった。このことにより酸素ストレスに耐性を持つうえでインドールの産生能が重要であることが示唆された。

次に、*P. g.*の高濃度のインドールに対する影響を調べた結果、嫌気条件下では高濃度のインドールを添加しても生菌数に差がなかったが、好気条件下では、生菌数が大幅に減少した。また、上記の生菌数が減少したサンプルに活性酸素種を除去できるアスコルビン酸を添加すると生菌数の維持が見られた。よって、インドールと酸素の組み合わせは活性酸素種を過剰に生産する可能性が示唆された。

4. おわりに

本研究では酸素ストレスに対して耐性を持つうえで初期の菌密度が重要であることが示唆された。また、酸素と高濃度のインドールの組み合わせは何らかの相乗効果を生み、活性酸素種が過剰に生産され、*P. g.*に作用していることが示唆された。

今後の展望としてインドールを添加した際の活性酸素種の発生機序を解明するために、活性酸素種の測定を行うことと、遺伝子欠損株を用いて比較を行う予定である。また、*P. g.*以外の菌でも同様の効果を発揮するかを調べるために、口腔内細菌を用いて比較を行う。

今後、*P. g.*の酸素ストレスに対する生存戦略を解明することで歯周病発症を抑制する新たな手法の確立につながることを期待される。

謝辞

研究生活の様々な面でお世話になった前田研究室の学生の皆様に深く感謝いたします。

参考文献

- [1] 日本大学歯学部 細菌学教室/総合歯学研究所 生体防御部門 “口腔感染症とは” 日本大学 http://www2.dent.nihon-u.ac.jp/microbiology/oral_infection/case.html (参照 2022-10-13)
- [2] Wu, Z. *et al.*: Cathepsin B plays a critical role in inducing Alzheimer's disease-like phenotypes following chronic systemic exposure to lipopolysaccharide from *Porphyromonas gingivalis* in mice: Brain, Behavior, and Immunity: Volume 65, October 2017, Pages 350-361
- [3] Phillips, P.L. *et al.*: Deletion of a conserved transcript PG_RS02100 expressed during logarithmic growth in *Porphyromonas gingivalis* results in hyperpigmentation and increased tolerance to oxidative: PLoS ONE: Volume 13, Issue 11, November 2018