

歯周病進行におけるインドールの効果 — *Porphyromonas gingivalis* の視点から —

Effects of indole on the progression of periodontitis –A viewpoint from *Porphyromonas gingivalis*–

小野田空¹⁾, 前田憲成¹⁾

¹⁾九州工業大学 大学院生命体工学研究科

Sora Onoda¹⁾, Toshinari Maeda¹⁾

¹⁾ Department of Biological Functions Engineering, Graduate School of Life Science and Systems Engineering,

Kyushu Institute of Technology,

E-mail address: toshi.maeda@life.kyutech.ac.jp

1. はじめに

歯周病は口腔内に常在する嫌気性細菌の増加・定着により引き起こされる慢性炎症性疾患であり、歯の喪失のみならず咀嚼機能低下や全身疾患との関連が指摘されている^[1]。日本では中高年層の多くが歯周病関連所見を有し^[2]、健康寿命の延伸の観点から口腔機能を長期に保つことが求められている。代表的歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) は、ジンジパインなどの強力なプロテアーゼ、線毛、莢膜等を介して歯周組織破壊や免疫回避に関与することが知られている^[3]。

一方で、当研究室の先行研究より、唾液の 16S rRNA 配列解析では、いわゆる Red complex に属する歯周病関連細菌が歯周病患者のみならず健常者唾液からも検出されることが分かっており^[4]、「病原菌がいること」だけでは病態差を説明しきれないことが示唆される。また、同じ唾液試料を用いた比較では、歯周病患者群でトリプシン様プロテアーゼ活性が高いことが示されており^[4]、歯周病では細菌の存在量よりも「どの程度病原性を発揮しているか」という活性の違いが重要になると考えられる。細菌の病原性発現を集団で協調的に調節する仕組みとしてクオーラムセンシング (quorum sensing, QS) が知られており、腸内細菌や口腔細菌でもシグナル分子としてインドールが報告されている^{[5][6]}。本研究では、インドール存在下での *P. gingivalis* の増殖挙動・ジンジパイン活性・バイオフィルム形成を評価し、歯周病進行におけるインドールの関与を検討した。

2. 方法

2. 1 供試菌株と培養条件

供試菌として *P. gingivalis* ATCC 33277 を用いた。37°C 嫌気条件下で前培養後、TSB ヘミンメナジオン培地に懸濁し初期 OD₆₀₀ を 0.05 に調整した。試験群として DMSO のみを添加した対照、0.1 mM、0.5 mM、1 mM のインドール添加群を設け、37°C・嫌気雰囲気で最大 7 日間培養した。

2. 2 増殖およびジンジパイン活性の測定

培養 1、2、3、5、7 日目にサンプリングし、段階希釈

後、TSB ヘミンメナジオン血液寒天培地に塗抹して生菌数を測定した。*P. gingivalis* の病原性指標として、蛍光基質 Bz-Arg-MCA を用いたトリプシン様プロテアーゼ活性測定を行い、インドール非存在下との比較によって活性変動を評価した。

2. 3 バイオフィルム形成量の評価

インドール添加培養後、24 時間で形成された付着バイオフィルムをホルムアルデヒドで固定した。続いてクリスタルバイオレットで染色し、エタノールで溶出して A₅₄₀ で吸光度測定を行った。

3. 結果と考察

3. 1 インドール存在下での増殖挙動

1 mM インドール添加群では、培養 3 日目以降で対照群に比べ有意な生菌数の低下が認められた ($p < 0.05$)。0.1 および 0.5 mM では明確な抑制はみられず、インドールによる増殖への影響は濃度依存的であることが示唆された。これは、インドールが *P. gingivalis* に対して軽度のストレスとして働き得ることを示す。

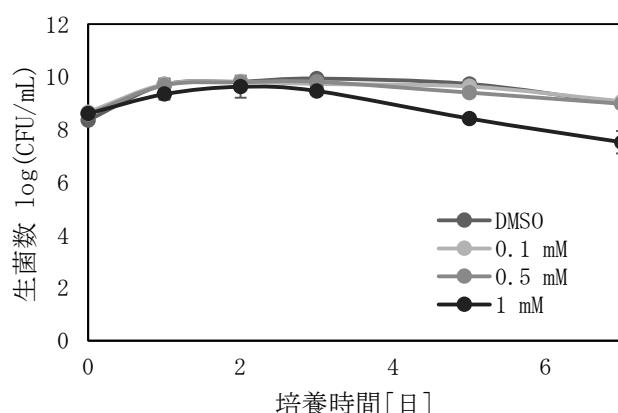


Fig. 1 インドール存在下での *P. gingivalis* の増殖

3. 2 ジンジパイン活性への影響

すべての条件で培養後期にジンジパイン活性は上昇したが、1 mM インドール存在下では定常期における活性が対照より高値を示した ($p < 0.05$)。このことから、イ

ンドールは増殖をやや抑制しながらも病原性プロテアーゼの発現を高める方向に作用する可能性がある。歯周病患者唾液でトリプシン様プロテアーゼ活性が高いという当研究室の先行研究の報告^[4]と合わせると、口腔内にインドール様のシグナルが存在する環境では、同じ菌量でも病原性が高く発現しうることが考えられる。

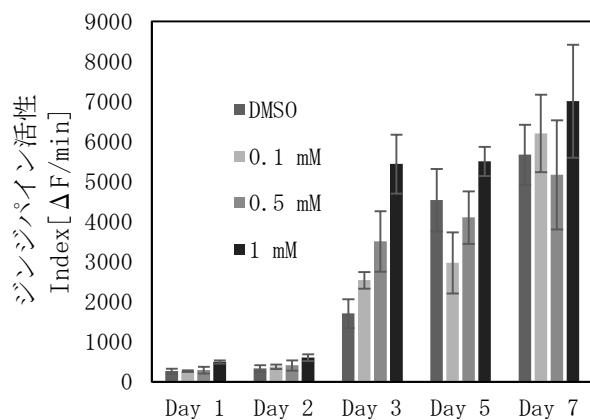


Fig. 2 インドール存在下での *P. gingivalis* のジンジペイント活性

3. 3 バイオフィルム形成量の変化

0.5 および 1 mM インドール添加群では、クリスタルバイオレットによるバイオフィルム定量値が対照より增加了。*P. gingivalis* は単独では病原因子を十分に発揮しにくく、歯周ポケット内での付着・共凝集によって病原性が高まることが知られている^[8]。本結果は、インドールがこの付着・定着段階を促進し、結果として歯周病進行に寄与する可能性を示唆する。

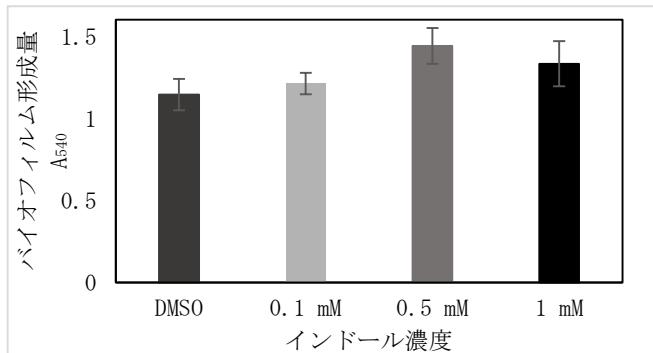


Fig. 3 インドール存在下での *P. gingivalis* のバイオフィルム形成量

3. 4 クオーラムセンシングとの関連

インドールは腸内細菌を中心に QS 様の働きが報告されているが、*P. gingivalis* においてもゲノム上に QS 関連が疑われる遺伝子が存在するとの報告^{[9][11]}がある。今回、インドールの添加によって「増殖の軽度抑制」と「病原性関連性状の亢進」が同時にみられたことは、*P. gingivalis* が環境由来のシグナルに応答して生活様式を切り替える可能性を支持する。

4. おわりに

本研究では、細菌由来シグナル分子インドールが *P. gingivalis* の増殖・ジンジペイント活性・バイオフィルム形成に与える影響を評価した。その結果、インドールは増殖をやや抑えつつも病原性発現と定着能を高める方向に作用する可能性が示唆された。歯周病の制御においては病原菌の除去だけでなく、QS を介した「病原性を発揮させない」戦略をあわせて検討することで、より非侵襲的な予防・治療法につながると考えられる。

参考文献

- [1] Giordano-Kelhoffer, B. et al. Oral Microbiota, Its Equilibrium and Implications in the Pathophysiology of Human Diseases: A Systematic Review. *Biomedicines* **10**, 1803 (2022).
- [2] 厚生労働省：令和4年歯科疾患実態調査.
- [3] How, K. Y., Song, K. P. & Chan, K. G. *Porphyromonas gingivalis*: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Front. Microbiol.* **7**, (2016).
- [4] 西田周平, 健康長寿の秘訣を探る異文化間口腔内フローラと歯周病原性の比較調査, 令和元年度 修士論文(2020).
- [5] Kumar, A. & Sperandio, V. Indole Signaling at the Host-Microbiota-Pathogen Interface. *mBio* **10**, 10.1128/mbio.01031-19 (2019).
- [6] Inaba, T., Obana, N., Habe, H. & Nomura, N. Biofilm Formation by *Streptococcus mutans* is Enhanced by Indole via the Quorum Sensing Pathway. *Microbes Environ* **35**, ME19164 (2020).
- [7] Kumar, A., Russell, R. M., Hoskan, M. A. & Sperandio, V. Indole Sensing Regulator (IsrR) Promotes Virulence Gene Expression in Enteric Pathogens. *mBio* **13**, e01939-22 (2022).
- [8] Tan, K. H. et al. *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* Exhibit Metabolic Symbioses. *PLoS Pathog* **10**, e1003955 (2014).
- [9] Yoshida, Y. et al. Identification and molecular characterization of tryptophanase encoded by tnaA in *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology (Reading)* **155**, 968–978 (2009).
- [10] Ding, J. et al. Regulation of tryptophan-indole metabolic pathway in *Porphyromonas gingivalis* virulence and microbiota dysbiosis in periodontitis. *NPJ Biofilms Microbiomes* **11**, 37 (2025).
- [11] Chung, W. O. et al. Signaling System in *Porphyromonas gingivalis* Based on a LuxS Protein. *Journal of Bacteriology* **183**, 3903–3909 (2001).