

Title	Dentilisin involvement in coaggregation between <i>Treponema denticola</i> and <i>Tannerella forsythia</i>
Author(s)	佐野, 由美子
Journal	歯科学報, 115(2): 170-171
URL	http://hdl.handle.net/10130/3568
Right	

氏名(本籍)	佐野由美子 (静岡県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1810号(甲第1081号)
学位授与の日付	平成21年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Dentilisin involvement in coaggregation between <i>Treponema denticola</i> and <i>Tannerella forsythia</i> http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.08.008
掲載雑誌名	Anaerobe 第30巻 45-50頁 2014年
論文審査委員	(主査) 新谷 誠康教授 (副査) 山田 了教授 佐野 司教授 水口 清教授 石原 和幸教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

Treponema denticola, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* の3菌種は red complex と呼ばれ、歯周炎局所から検出され、歯周炎の発症と進行に重要な役割を果たしている。これらの細菌のバイオフィルム形成には、細菌同士の付着である共凝集が重要な役割を果たしている。本研究の目的は、*T. denticola* と *T. forsythia* の共凝集に関与する因子を明らかにすることである。

2. 研究方法

T. denticola の表層タンパクの共凝集への関与を明らかにするために、表層プロテアーゼである dentilisin, major outer sheath protein である Msp の欠損株を homologous recombination により作成した。共凝集は Cisar らによる視覚的判定法と 660nm での吸光度測定法によって判定した。菌株は *T. denticola* ATCC 35405, 33520, 33521, dentilisin 欠損株 K1, KpSano 7, Msp 欠損株 DMSP 3 および *T. forsythia* ATCC 43037 を用いた。

3. 研究成績および考察

T. denticola ATCC 35405 と *T. forsythia* の共凝集は、*T. denticola* の熱処理によって低下したが、*T. forsythia* の熱処理によって影響を受けず、2糖類である sucrose, lactose, maltose によって阻害された。この事より、共凝集にはレクチン様の活性が関わっていることが示唆された。*T. denticola* の野生株3株で共凝集のレベルを比較すると、菌株間で差が認められ、その程度は dentilisin 活性と相関していた。Dentilisin の欠損株 K1, KpSano 7 と *T. forsythia* との間では、共凝集が認められなかった。これらの結果から、dentilisin の共凝集への関与が示唆された。付着タンパク質として働き、dentilisin と複合体を形成している Msp の欠損株 DMSP 3 は、野生株と同程度の共凝集活性を示した。

共凝集への dentilisin の関与としては、1. dentilisin の活性部位が直接 *T. forsythia* の表面に付着する。2. dentilisin が *T. forsythia* の表面タンパク質を分解し、隠れたレセプターを露出させる。3. dentilisin が自身の表面にあるリガンドとなるタンパク質の成熟に関与している。の3つが考えられる。プロテアーゼインヒビターである PMSF によって共凝集が変化していないこと、*T. forsythia* 表面をキモトリプシン処理して、

dentilisin の欠損株と合わせても共凝集が認められないことから, dentilisin の活性中心以外の部位, もしくは dentilisin によるプロセッシングを受けるタンパクが共凝集に関わることが示唆された。

4. 結 論

Dentilisin は *T. denticola* と *T. forsythia* の共凝集に関与している。

論 文 審 査 の 要 旨

共凝集はバイオフィーム形成に非常に重要な役割を果たすことが知られている。本論文は, red complex 構成細菌である, *Treponema denticola* と *Tannerella forsythia* の共凝集に dentilisin が関与していることを明らかにし, *T. denticola* の dentilisin あるいは Msp の欠損株を作成して, そのメカニズムを検討したものである。その結果, dentilisin は *T. denticola* と *T. forsythia* の共凝集に重要な役割を果たしているものの, このプロテアーゼが活性中心により直接的に付着する可能性, あるいは *T. forsythia* の表層蛋白質を分解し, 共凝集レセプターを露出する可能性は低いことが示唆された。

本審査委員会において, (1)糖存在下での共凝集抑制に対する解釈, (2)菌株による表層構造の違い, (3)dentilisin のプロテアーゼ活性部位以外の共凝集への関与, および(4)小児歯科分野への応用等について, 質疑が行われ, 概ね妥当な解答が得られた。また, 論文の構成, 表現法, 図表の改変などに関する指摘があり, 修正がなされた。今後の研究課題として, *T. denticola* の表層蛋白を解析し, その蛋白質と dentilisin との関与, さらには共凝集への関与についての解明が要望された。

以上より, 本研究で得られた知見は, 歯科医学の進歩, 発展に寄与するところ大であり, 学位授与に値するものと判定された。