

|           |  |
|-----------|--|
| Title     | HGP44 Induces Protection against Porphyromonas gingivalis-Induced Alveolar Bone Loss in Mice |
| Author(s) | 村松, 恭太郎  |
| Journal   | 歯科学報, 112(2): 180-181  |
| URL       | <a href="http://hdl.handle.net/10130/2764">http://hdl.handle.net/10130/2764</a>              |
| Right     |  |

|         |  |
|---------|--|
| 氏名(本籍)  | 村松恭太郎 (静岡県)  |
| 学位の種類   | 博士(歯学)   |
| 学位記番号   | 第1753号(甲第1028号)  |
| 学位授与の日付 | 平成20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  | HGP44 Induces Protection against <i>Porphyromonas gingivalis</i> -Induced Alveolar Bone Loss in Mice |
| 掲載雑誌名   | Clinical and Vaccine Immunology 第18巻 5号 888~891頁<br>2011年5月  |
| 論文審査委員  | (主査) 柴原 孝彦教授<br>(副査) 山田 了教授 佐野 司教授<br>奥田 克爾教授  |

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

*Porphyromons gingivalis* は慢性歯周炎の主要な病原菌で、近年の疫学調査において、心血管系疾患や糖尿病をはじめとする全身疾患にも関わっていることが示唆されている。高齢化にともない歯周病原性細菌の定着阻止による歯周炎の予防は重要な課題となってきた。 *P. gingivalis* は gingipain, 線毛, 内毒素等の病原因子を持つ。このうち arginine 特異的タンパク分解酵素(arg-gingipain A, RgpA)は本菌の定着, 及び組織傷害性に重要な役割をはたしている。

本研究では、DNA ワクチンによる防御性抗体を誘導できる RgpA のエピトープを解明し、歯周炎予防に応用可能な DNA ワクチンの開発することを目的とした。

#### 2. 研究方法

LA-PCR 法により、*rgpA* DNA vaccine から、catalytic domain を発現する plasmid(pCAT), Hgp44を発現する plasmid(pHGP44), Hgp15-27を発現する plasmid(pHGP15-27)を作製した。これらのワクチンを遺伝子銃にてマウス腹部の皮膚に1匹につき2.5μg, 7日間隔で6回接種した。血清抗体価は、ELISA 法にて測定した。ワクチンを接種したマウスに対し、4日間アンピシリンとカナマイシンをそれぞれ1日2.5mg 投与した。投与終了から3日後、 $1 \times 10^9$ CFU の *P. gingivalis* ATCC33277を2日おきに3回口腔へ感染させた。最終感染から4週間後上顎歯槽骨の吸収を評価し、それぞれの domain を発現する DNA ワクチンによる防御効果を比較した。

#### 3. 研究成果および考察

pHGP44で免疫したマウスの血清中抗 *P. gingivalis* IgG 抗体価は、pCAT, pHGP15-27免疫群および対照群に比べ有意に上昇し、RgpA 全体を含む *rgpA* DNA vaccine と同程度の抗体価を認めた。

*P. gingivalis* 口腔感染による骨吸収は、pCAT, pHGP15-27および対照群と比較して、HGP44接種群で有意に低くなっていた。この抑制作用は、*rgpA* DNA vaccine と同程度であった。

マウス血清抗体のイムノブロットによる結果では、*rgpA* DNA vaccine 免疫群、pHGP44免疫群においてともに Hgp44に対する抗体が主要なものであった。

#### 4. 結 論

この結果より、防御効果の認められた Hgp44 domain は、DNA ワクチン抗原の主要なエピトープの候補であると示唆される。

#### 論 文 審 査 の 要 旨

本研究は、歯周病を予防するため、その原因菌である *Porphyromons gingivalis* に対する防御抗体を誘導できるワクチンの開発を目的としている。本菌表層のタンパク分解酵素 arg-gingipain A (RgpA) に含まれる触媒ドメイン、付着・血球凝集素ドメインの前半部と後半部を発現するワクチン pCAT, pHGP44, pHGP15-27 を *rgpA* DNA vaccine をもとに作製し、その効果を比較検討している。

免疫後 ELISA 法により抗体価を測定すると、pHGP44, pHGP15-27 免疫群で抗体価の上昇が認められ、その上昇は pHGP44 免疫群の方が高かった。pHGP44 免疫によって誘導された抗体は、*rgpA* DNA vaccine で誘導されたのとはほぼ同程度の抗体価を示した。イムノプロットにより認められた主要なバンドは 43.8 kDa であり、HGP44 のサイズと一致した。このことは HGP44 が高い免疫原性を持つことを示唆している。さらに pHGP44 は、作製した 3 つのワクチンの中で、最も歯槽骨吸収抑制効果が強いことを確認した。

本審査委員会では下記の質問がなされた。1) ワクチンによる骨吸収抑制の機序に関する質問に対して、直接本研究ではメカニズム解析を行っていないが、*P. gingivalis* の付着抑制、免疫の攪乱作用の抑制が考えられるという解答がなされた。また、骨吸収の図を加えることの必要性が問われた。これに対しては予定している投稿雑誌が臨床の雑誌でないことから、今回掲載しないことにするとの説明がなされた。2) ヒトへのワクチン応用の可能性についての質問は、DNA ワクチンは、副作用が少ないこと、および *P. gingivalis* が様々な全身疾患に関することを考えれば十分可能であろうとの解答がなされた。3) タイトルの表記について質問がなされた。投稿雑誌に対応して考慮したいとの説明がなされた。その他、図・表の表記、統計分析法の表記などの質疑が行われ、概ね妥当な解答が得られた。本研究で得られた知見は、今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位論文に値するものと判定した。