

Title	28 : Treponema denticola に対する Porphyromonas gingivalis Hgp 44 の付着ドメインの検討
Author(s)	吉川, 幸輝; 喜田, 大智; 菊池, 有一郎; 国分, 栄仁; 山下, 慶子; 北村, 友里恵; 深澤, 俊也; 今村, 健太郎; 石原, 和幸; 齋藤, 淳
Journal	歯科学報, 118(3): 251-251
URL	http://hdl.handle.net/10130/4622
Right	
Description	

No.27: インプラント周囲骨における骨質特性の分析

小高研人¹⁾, 是澤和人²⁾, 松永 智²⁾, 阿部伸一²⁾ (東歯大・歯放)¹⁾ (東歯大・解剖)²⁾

目的: 骨の主要な成分であるコラーゲン線維と生体アパタイト (BAP) 結晶は異方性の高い構造を有しており, 骨強度に深く関連する骨質因子である。骨強度は力学環境と密接に関係していることから, 骨質因子を定量的に解析することで骨の力学機能を正確に把握できる。通常長骨は骨の長軸方向にコラーゲン線維が走行し, BAP 結晶の配向もそれに準ずることが知られている。一方, 顎骨は自重の影響を受ける体幹・四肢の骨と異なり, 歯やインプラントを介して咬合力をはじめとする機能圧の影響を強く受ける。これまでの研究から, 顎骨の微細構造および骨の質的因子は通常の長骨とは大きく異なることが明らかとなっているが, 力学環境の関連についてはいまだ不明な点が残されている。そこで本研究では, 長期に機能したインプラント周囲顎骨について骨質解析を行うとともに, 得られたパラメータをもとに力学解析を行うことで, インプラントを介して加わる荷重と周囲顎骨の構造特性に与える影響の一端を解明することを目的とした。

方法: 長期間使用された歯科インプラントを有するヒト遺体の上・下顎骨から, インプラント体を含む試料体を採取した。マイクロ CT にて内部構造を確認後, 100 μ m 厚の研磨標本を作製し, 微細構造を

観察するとともに, 微小領域エックス線回折法を用いて BAP 結晶の配向性を解析した。また SHG イメージングによるコラーゲン線維走行方向の異方性解析を行い, 得られた三次元データからコラーゲン線維走行についてのパラメータを抽出し, 三次元有限要素法を用いた数理解析を行った。

結果および考察: BAP 結晶は, 下顎体下縁部において近遠心方向への一軸優先配向が認められたが, インプラント体のネック部周囲では骨面の方向に, インプラント体中央部ではインプラントの軸方向に, インプラント体先端部付近では放射状の優先配向性を示した。コラーゲン線維の走行は, インプラント近傍の層板状の骨においてはインプラント体に平行に, その外側においては近遠心方向への走行を観察した。また力学解析の結果から, コラーゲン線維の走行方向への引張応力が, BAP 結晶の優先配向方向への圧縮応力が多く認められた。以上の結果から, インプラント周囲に新生された骨組織は皮質骨様構造を呈するものの, 有歯顎骨・無歯顎骨とは異なる構造特性を有しており, インプラントを介して加わる負担を緩衝するために生体力学的に最適化されている可能性が示唆された。

No.28: *Treponema denticola* に対する *Porphyromonas gingivalis* Hgp44 の付着ドメインの検討

吉川幸輝¹⁾²⁾, 喜田大智¹⁾, 菊池有一郎²⁾³⁾, 国分栄仁²⁾³⁾, 山下慶子¹⁾²⁾, 北村友里恵¹⁾, 深澤俊也¹⁾, 今村健太郎¹⁾, 石原和幸²⁾³⁾, 齋藤 淳¹⁾²⁾ (東歯大・歯周)¹⁾ (東歯大・口科研)²⁾ (東歯大・微生物)³⁾

目的: *Porphyromonas gingivalis* が産生する RgpA は, プロテアーゼドメインおよび赤血球凝集/付着ドメインによって構成されている。近年, このドメインの一部である Hgp44 が *Treponema denticola* との共凝集において重要な付着因子であることが報告された。本研究は *T. denticola* に対する *P. gingivalis* Hgp44 の付着ドメインを明らかにすることを目的とした。

方法: *P. gingivalis* ATCC 33277 の Hgp44 (アミノ酸配列 1-419) を含むプラスミドベクターをテンプレートとし, PCR 法にて増幅後, self ligation し, 各 Hgp44 の一部を含むプラスミドを作製した。これらを *Escherichia coli* に形質転換し, リコンビナントタンパク質 (r-Hgp44₁: 1-419, r-Hgp44₂: 1-124, r-Hgp44₃: 1-199, r-Hgp44₄: 1-316, r-Hgp44₅: 199-419, r-Hgp44₆: 124-198, r-Hgp44₇: 199-316) を精製した。発現は SDS-PAGE および Immunoblotting で確認した。各 r-Hgp44 を用

いた *T. denticola* ATCC 35405 への付着は, ELISA にて評価した。Coaggregation assay にて, r-Hgp44₆ が両菌の共凝集に及ぼす影響を評価した。走査型電子顕微鏡および共焦点レーザー顕微鏡にて両菌のバイオフィーム形成に及ぼす影響を評価した。

結果および考察: ELISA では, r-Hgp44₆ と *T. denticola* の付着はコントロール (His-tag) に比較して有意に高い値を示した。Coaggregation assay の結果, r-Hgp44₆ はコントロールに比較して両菌の共凝集を有意に阻害した。走査型電子顕微鏡, 共焦点レーザー顕微鏡による解析の結果, r-Hgp44₆ は両菌のバイオフィーム形成を阻害した。以上の結果より, Hgp44 において *T. denticola* との付着に関わる主たるドメインは, アミノ酸配列の 199-316 間に存在することが明らかになった。今後, 予想される付着領域のアミノ酸配列をもとに合成ペプチドを作製し, *T. denticola* との付着を詳細に解析する予定である。