

日時：9月7日（日）9:00-9:40

会場：D会場（会議場2階 21会議室）

座長：沖永 敏則（大歯大 細菌）

一般演題（口演）微生物1（03-AM-D1～4）

03-AM-D1 「コラーゲン結合タンパク質を搭載する *Streptococcus mutans* のメンブレンベシクルの解析」

村田 貴俊¹

（¹ 鶴大 歯 口腔衛生）

【目的】コラーゲン結合タンパク質（CBP）を発現する *Streptococcus mutans* は、脳卒中をはじめとする循環器疾患の発症に関与する可能性が、疫学的に示唆されている。しかしながら、循環器病変部位から *S. mutans* が直接検出される例は少なく、CBP陽性 *S. mutans* による疾患誘発メカニズムは不明である。そこで本研究では、CBP陽性 *S. mutans* が分泌するメンブレンベシクル（membrane vesicle: MV）に着目し、MVがCBPの運搬を担う可能性を検討した。

【方法】CBP陽性 *S. mutans* OMZ175株の培養上清を0.45 μmフィルターで濾過後、限外濾過で濃縮し、PBSで透析した。得られた透析液と、超遠心によって回収した沈殿物に対し、ウエスタンブロット法および免疫電子

顕微鏡による解析を行った。

【結果】ウエスタンブロット解析の結果、菌体内のCBPは100 kDa未満のバンドとして検出された一方、培養上清中には100 kDaを超えるバンドが確認された。さらに、免疫電子顕微鏡観察により、CBPがMVの表面に局在していることが明らかとなった。

【結論】CBP陽性 *S. mutans* は、CBPを搭載したMVを分泌することで、循環器疾患の発症に関与している可能性がある。MVを介したCBPの運搬は、新たな病原因子の分泌・伝播メカニズムを示唆しており、その病原性の解明にはさらなる研究が必要である。

（会員外研究 協力者：宮之原真由、山下万美子、山田秀則、梁 洪淵、堀江哲郎、田中とも子）

03-AM-D2 「歯周病原菌細菌の培養上清中の短鎖脂肪酸はヒト多形核白血球の細胞死を誘導する」

堀越 大地¹、津田 啓方²

（¹ 日大 口外Ⅱ、² 日大 歯 生化）

歯肉溝に蓄積したプラーク細菌は高濃度の短鎖脂肪酸（SCFA）などの因子を放出し、歯肉溝には多形核白血球が浸潤する。本研究では、歯周病原細菌が産生する因子がヒト多形核白血球の細胞死に及ぼす影響を検討した。日本大学歯学部倫理委員会の承認のもと（承認番号EP22D012）、健康なボランティアより採取した末梢血から密度勾配遠心法により多形核白血球を分離した。次に、各種歯周病原細菌を液体培地で培養し、濾過滅菌した培養上清を調製した。細菌培養上清を多形核白血球に4時間作用させ、SYTOX-green染色を用いて細胞膜破壊を伴う細胞死を評価したところ、供試した全ての菌種の細菌培養上清は、コントロールと比較

して有意に多い細胞死を誘導した。また、多形核白血球からはNeutrophil extracellular traps (NETs) 様の構造物が放出されているのが確認された。細菌培養上清に含まれるSCFAをそれぞれ多形核白血球に作用させたところ、供試した全てのSCFAは濃度依存的に細胞死を誘導した。細菌培養上清中の各SCFAの濃度情報を参考に細菌培養上清を模倣したSCFA混合溶液を作製し、多形核白血球に作用させたところ、どのSCFA混合溶液もコントロールと比較して有意に高い細胞死を誘導した。これらのことから、歯周病原細菌の産生する短鎖脂肪酸がNETs様構造物を伴う細胞死を引き起こすことが示唆された。

03-AM-D3 「Ursolic acid の抗菌活性に拮抗する *Porphyromonas gingivalis* 菌体成分」佐藤 祐太郎¹、石原 和幸¹

(1 東歯大 微生物)

歯周病は、歯肉縁下細菌叢のディスバイオーシスにより引き起こされる歯周組織の炎症である。*Porphyromonas gingivalis*はディスバイオーシスを引き起こすkeystone pathogenと考えられている。これまでにursolic acid (UA) をはじめとした五環性トリテルペンは、抗*P. gingivalis*活性を有することが示されている。我々は*P. gingivalis*の菌体に、UAの抗菌活性に拮抗する成分が含まれることを認め、その単離精製を行った。

P. gingivalis ATCC 33277の菌体超音波破碎液を遠心分離し、得られた上清画分を酢酸エチルを用いて分液した。分液により得られた酢酸エチル層を乾固し、順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し

た。抽出後および精製後UAの*P. gingivalis*抗菌活性に対する拮抗活性を測定した。得られた画分の成分は薄層クロマトグラフィーの観察により単離を確認した。拮抗活性を有する画分に対しては、質量分析および核磁気共鳴を用いて構造決定を行なった。

得られた画分に含まれる成分は1,3-di(13-methyltetradecanoyl)glycerolであり、本化合物が天然から単離されたのは今回が初である。今後はUAの抗*P. gingivalis*活性と本化合物の関わりについて調べていく予定である。

共同研究者：栗本慎一郎、久保田高明（岡山大学学術研究院医歯薬学域）

03-AM-D4 「Hypoxia drives progression of multiple sclerosis by enhancing the inflammasome activation in macrophages with *Porphyromonas gingivalis* infection」Tokuju Okano¹、Toshihiko Suzuki¹

(1 SCIENCE TOKYO Dept Bacter Pathogenesis)

Porphyromonas gingivalis (Pg), a gram-negative anaerobic bacterium, is a leading pathogen causing periodontitis. It secretes several virulence factors, including gingipains, lipopolysaccharides (LPS), and outer membrane vesicles (OMVs), which can trigger the release of inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-1 β , tumor necrosis factor alpha (TNF α), and IL-6 through inflammasome activation and Toll-like receptor (TLR) signaling. Additionally, we observed that toll-interleukin-1 receptor domain-containing adaptor-inducing interferon- β

(TRIF)-mediated hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 α) regulation exacerbates inflammasome activation under hypoxia. Notably, HIF-1 α deficiency in myeloid cells reversed neurological symptoms and reduced IL-1 β and IL-17 production in a mouse model of multiple sclerosis with Pg infection. Our findings indicated that hypoxia modulates inflammasome activation in response to periodontitis-related bacterial infections, contributing to the progression of autoimmune diseases.