

## 論文の内容の要旨

氏名：市野澤 隆宏

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Molecular interaction of the SspB analogous peptide with periodontopathic and cariogenic bacteria

(SspB ペプチドによる歯周病原細菌および齶蝕原生細菌との分子間相互作用)

口腔バイオフィルムの一つであるデンタルプラークの形成はペリクルへの口腔細菌の付着に起因し、口腔レンサ球菌の付着がバイオフィルム形成の初期段階である。齶蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* や初期定着細菌 *Streptococcus gordonii* はそれぞれ菌体表面のアドヘジン（付着因子）を介して、歯面上に形成された唾液ペリクルに付着する。歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* はバイオフィルム中の口腔レンサ球菌への付着能を有する後期定着菌である。アドヘジンの一つである *S. gordonii* 由来 SspB の C 末端アミノ酸領域（SspB Adherence Region: BAR）は *P. gingivalis* の結合ドメインである。この BAR から合成された BAR ペプチドは、*in vitro* において *P. gingivalis* の *S. gordonii* への付着を阻害し、その結果 *P. gingivalis* のバイオフィルム形成を抑制することが報告されている。また *in vivo* において、マウスの口腔内に *S. gordonii* を定着後、BAR ペプチドで処理した *P. gingivalis* を投与すると、BAR ペプチドが *P. gingivalis* と *S. gordonii* の相互作用を抑制し、マウス口腔の歯槽骨吸収を抑制したと報告されている。一方で SspB の N 末端アミノ酸領域は *S. mutans* のタンパク質抗原 PAc と相同性があり、SspB (390-402) ペプチドの 400 番目のアミノ酸残基をリシンに置換した SspB (390-T400K-402) ペプチドは唾液糖タンパク (gp340) 由来ペプチド (SRCRP2) と高い結合作用を持つ。唾液コートしたハイドロキシアパタイト (s-HA) を SspB (390-T400K-402) で処理すると、*S. mutans* および *S. gordonii* の付着が阻害され、さらに唾液コートしたポリスチレンプレート上では SspB (390-T400K-402) による *S. mutans* のバイオフィルム形成阻害が生じることが報告されている。本研究では歯肉縁上および歯肉縁下における歯周病原細菌のバイオフィルム形成メカニズムを理解するために、SspB (390-T400K-402)、歯周病原細菌ならびに唾液アグルチニンの相互作用を検討した。また *S. mutans* の初期付着阻害に着目し、SRCRP2 への結合が最も高いと報告されている SspB (A4K-A11K) ペプチドを用いて *S. mutans* のバイオフィルム形成阻害効果について検討した。

本実験では *P. gingivalis* W83 株、W50 株および ATCC 33277 株、*Fusobacterium nucleatum* #20 株および ATCC 23726 株、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29522 株、ATCC 29523 株および Y4 株を歯周病原細菌として供試した。歯周病原細菌と SspB (390-T400K-402) の結合および唾液成分が SspB (390-T400K-402) の結合に及ぼす影響について、ELISA 法を用いて評価した。SspB (A4K-A11K) による *S. mutans* のバイオフィルム形成阻害効果は、s-HA 上に形成されたバイオフィルムを剥離し、Mitis-Salivarius (MS) 寒天培地に植菌後コロニー数を計測することによって評価した。また s-HA 上に形成されたバイオフィルムをサフラニンで染色後、吸光度測定によって定量した。

本研究から得られた結果として、

1. SspB (390-T400K-402) は *P. gingivalis* ATCC 33277 株、*F. nucleatum* #20 株および ATCC 23726 株と高い結合反応を示した。
2. ヒト全唾液で処理された歯周病原細菌への SspB (390-T400K-402) の結合反応は、未処理群と比較して低下した。一方で SRCRP2 によって処理された歯周病原細菌では、未処理群よりも高い SspB (390-T400K-402) の結合作用を示した。
3. MS 寒天培地に形成されるコロニー数において、SspB (A4K-A11K) で処理された s-HA 群では、未処理群と比較して減少した。また s-HA 上のバイオフィルム形成量も SspB (A4K-A11K) 処理群で減少した。

以上の結果より、

*S. gordonii* は SspB を介して歯周病原細菌と結合し、細菌同士を架橋することによってバイオフィルムを形成していくことが示唆された。また *S. gordonii* と歯周病原細菌の相互作用には唾液糖タンパク gp340 が関与することが示唆された。さらに SspB ペプチドは、唾液ペリクル中の gp340 へ結合し、*S. mutans* の

初期付着ならびにバイオフィルム形成を競合的に阻害したことから、齧蝕バイオフィルムの新規抑制因子として有用である可能性が示唆された。