

P25-43

口腔うがい液に存在する歯周病菌と歯周病抑制菌の試料間比較

○松尾 佳祐¹、前田 憲成¹、¹九州工業大・院生命体工・生体機能応用工

近年、生活習慣病の一つとして注目されている歯周病は、口腔内の病原細菌による感染症である。その歯周病細菌群としては、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 菌 (A.a. 菌) や *Porphyromonas gingivalis* 菌 (P.g. 菌) などが報告されている。また、歯周病が口腔内疾患のみでなく全身疾患と高い関連性を持つことがわかっており、有用な口腔内ケア技術の開発が求められている。一方で、プロバイオティクスを確立するためには、個人個人のうがい液中に存在する歯周病菌と歯周病抑制菌の存在比などのデータを蓄積していく必要がある。本研究では、歯周病患者と健常者のうがい液からDNAを抽出し、歯周病細菌A.a.菌およびP.g.菌、すでに当研究室で歯周病抑制菌の一つと同定した *Pseudomonas aeruginosa* (P.a. 菌) の存在比をそれぞれTaqMan法による定量リアルタイムPCRを用いて比較した。その結果、健常者ではP.a.菌存在率が歯周病患者に比べて高かった。一方、歯周病患者では、P.g.菌の存在率が健常者に比べ高く、歯周病患者特有の指標として考えられる。A.a.菌のみを餌菌とした寒天培地を作成し、うがい液を塗布したところ、透明な溶解斑 (ハロー) を得た。次にハローを形成した菌株を選別・単離し、その菌株から得た上清みと歯周病菌を栄養培地に加えて、歯周病菌の増殖を調べた結果、12株中1株に阻害効果がみられた。これより、単離した歯周病抑制菌が細胞外放出因子による効果だけではなく、直接的な細菌間相互作用により、歯周病菌の生育を阻害していることが示唆された。

P25-44

細菌溶菌性デロビブリオ属細菌の弱酸性条件における大腸菌捕食阻害—遺伝子工学的手法を用いたメカニズム解明—

○吉村 純一¹、前田 憲成¹、¹九州工業大・院生命体工・生体機能応用工

【背景・目的】デロビブリオ属細菌は、薬剤耐性菌に対する新規抗菌剤として応用が期待されている菌株である。デロビブリオ属細菌は、他のグラム陰性の細菌に侵入・増殖・溶菌する能力を持つ菌株であり、この一連の捕食機構が新規抗菌剤として期待される所以である。しかし、この菌株の大腸菌等への捕食作用の分子メカニズムは未解明な点が多い。本研究では、デロビブリオ属細菌とpH環境の関連性に着目し、弱酸性条件下にてデロビブリオ属細菌による大腸菌捕食が阻害されることを発見し、遺伝子工学的な手法を用いて、弱酸性条件におけるデロビブリオ属細菌の大腸菌捕食阻害の機構の解明を試みた。

【方法及び結果】pH 6.6における大腸菌内のデロビブリオ属細菌のRNA量をリアルタイムPCRにて経時的に測定した結果、デロビブリオ属細菌は大腸菌内に侵入可能ではあるが、増殖せず、機能停止していることが分かった。次にpH 6.6においてデロビブリオ属細菌が大腸菌内で栄養物を分解し伸長可能か否かを、GFPを導入した大腸菌にデロビブリオ属細菌を接種し、その明度により判断した。その結果、pH 6.6では大腸菌単独の際の明度と差が見られなかったことから、デロビブリオ属細菌は大腸菌内で、伸長不可能な状態にあることが判明した。さらに、pH 6.6とpH 7.6の条件でデロビブリオ属細菌を接種した大腸菌から全RNAを抽出して識別子遺伝子発現解析を行ったところ、pH 7.6の条件と比較して、pH 6.6では、110個の遺伝子は発現が向上した。一方、遺伝子発現が抑制された遺伝子数は77個であった。