

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名：中村 卓

学位論文題目：*Porphyromonas gingivalis* の産生する硫化水素はメチルメルカプタンによるマウス膿瘍を増悪する

審査委員（主査）中島 啓介



（副査）沖永 敏則



（副査）松尾 拓



### 学位審査結果の要旨

申請者は歯周炎病原細菌である *P. gingivalis* から L-システインを基質として硫化水素を産生する酵素を同定し、マウス膿瘍モデルを使って酵素が産生する硫化水素が膿瘍部位の炎症において果たす役割を検討した。

*P. gingivalis* W83 株を培養し、菌体の超音波破砕物をゲル濾過クロマトグラフィーにかけ、L-システインを基質として硫化水素を産生する分画を採取した。この分画をさらに SDS-PAGE により分離精製し N 末端のアミノ酸配列を調べたところ、既報の酵素である PG0343 と一致していた。

さらに W83 株の PG0343 欠損株を作成し、基質である L-システインと L-メチオニンの存在・非存在下での硫化水素とメチルメルカプタンの産生量についてガスクロマトグラフィーで測定している。その結果、W83 株は L-メチオニンの存在に関係なくメチルメルカプタンを産生し、L-システイン存在下でのみ硫化水素を産生した。一方、PG0304 欠損株では L-メチオニンの存在に関係なくメチルメルカプタンは産生されず L-システイン存在下でのみ硫化水素が産生された。この結果から、*P. gingivalis* W83 株においてメチルメルカプタンと硫化水素では基質による産生様式が異なること、PG0343 以外の硫化水素産生遺伝子が存在することが明らかになったとしている。

次に、W83 株と PG0343 欠損株を用いたマウス膿瘍モデルにおいてメチルメルカプタンと硫化水素の膿瘍形成における役割を解析したところ、W83 株では L-メチオニンの添加に関わらず同程度の膿瘍形成が認められたが、PG0343 欠損株では膿瘍形成は認められなかった。W83 株で形成された膿瘍は L-システインの添加で更に増大したが、PG0343 欠損株に L-システインを添加しても膿瘍形成は認められなかった。

本研究の結果から、*P. gingivalis* が産生する硫化水素のみでは膿瘍を形成しないが、産生された硫化水素はメチルメルカプタンにより形成された膿瘍を増大させることが明らかになったとしている。

プレゼンテーションの後、審査委員から以下のような質問があった。1) W83 株が保有する線毛、ジンジパインといった病原因子が PG0343 欠損株において変化したか否かを検討しないと膿瘍形成における硫化水素・メチルメルカプタンの役割は不明なのではないか？、2) *in vivo* 実験系で TLR2<sup>-/-</sup>マウスのみ使用しているが、LPS 受容体として TLR4 も検討したか？、3) 形成された腫瘍に対して膿瘍という言葉を用いているが、典型的な膿瘍の組織像ではない。本当にこれは膿瘍の病態なのか？膿瘍の組織像など数点の問題点は残るが、これまで不明であった *in vitro* での PG0343 の性状について初めて報告したという点は評価できる。申請者は本研究の将来計画についても十分認識していたことから、審査委員は本論文を学位論文に値するものと判断した。