

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	川村 彩花
論文審査 委員氏名	主査 後藤 滋巳 副査 長谷川 義明 野本 周嗣 宮澤 健		
論文題名	歯周病原細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> の 二成分制御系転写因子 AtoC が発現調節する 標的遺伝子の同定		

インターネットの利用による公表用

矯正歯科治療において歯周病の予防および進行防止には注意が必要であり、治療開始前には歯周組織の状態を把握し、基本治療等により歯周環境を整えることが重要である。

Porphyromonas gingivalis は歯周組織に定着して歯周病の発症や進行に深く関わるグラム陰性嫌気性細菌である。本菌は細菌に特徴的なシグナル伝達機構である二成分制御系 (TCS) を 7 組もち、各組の膜センサーが特定の環境シグナルを受容しその刺激を細胞内の転写因子 (レスポンスレギュレーター) に伝え、支配下の遺伝子群 (標的遺伝子) の発現調節を行うことで生息環境に適応していると推定される。先行研究で標的遺伝子等が解明された 5 組の TCS はいずれも本菌の病原性への関与が認められている。従って未解析のものを含めた全 TCS の標的遺伝子を同定することは、本菌特有の病原因子発見につながるのみならず、その病原性を特異的に抑制しつつも宿主への毒性は少なく抗菌薬耐性が生じにくい、新しい薬剤の開発に応用される可能性もある。

本研究では標的遺伝子が不明な TCS 系レスポンスレギュレーター (RR) のうち AtoC ホモログと推定される PGN_0775 に着目した。遺伝子発現の最終産物であるタンパク質レベルで親株と遺伝子破壊株間の網羅的な発現比較解析を行い、*P. gingivalis* の AtoC ホモログ支配下にある標的遺伝子探索を試み、以下の結果を得ている。

二次元電気泳動によるプロテオーム比較解析で変動スポットとして絞り込

み、質量分析で同定した5つのタンパク質のうち4つは PGN0775KO 株で発現が抑制されており、その内訳はアルギニン特異的システインプロテアーゼ RgpB、チアミン生合成タンパク質 ThiF、および IX型分泌装置(T9SS)選別ドメイン含有タンパク質 (PGN_0654 と PGN_0657) であった。一方、運動性関連タンパク質 G1dB とわずかに相同性を持つリポタンパク質は、標準株で発現が抑制されていた。

RQPCR 解析の結果、T9SS 選別ドメイン含有タンパク質 PGN_0654 および 0657 をコードする遺伝子の転写レベルは、KO 株では標準株の約半分に低下しており、プロテオーム解析の結果と発現変動の方向性が一致した。さらに、その KO 株に *pgn_0775* 遺伝子を相補すると、これら2つの遺伝子の転写レベルが標準株と同等程度もしくはそれ以上に回復し、*pgn_0654* と *pgn_0657* 両遺伝子の発現が PGN_0775 RR により正方向に調節されていることが転写レベルで裏付けられ、有力な標的遺伝子候補であると考えられた。以上の解析結果を総合すると、*P. gingivalis* の AtoC ホモログ PGN_0775 RR は、IX 型分泌系により菌体表層へ輸送される膜タンパク質をコードするオペロンの転写を促進する機能を持ち、*P. gingivalis* 特異的な抗菌療法の有望なターゲットとなり得ると推定され、臨床応用への可能性が示唆された。これは、歯科矯正学のみならず関連諸分野に寄与するところが大きい。よって本論文は博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。