

【考察】タンニン酸は水に溶け込んでいる金属イオンと結合して不溶化させる効果があり、お歯黒においては鉄を取り込んで不溶化している。シュウ酸を添加した場合、シュウ酸により不溶化していた鉄が再びイオン化し、溶液中に溶け出したものと思われる。つまり、シュウ酸によりお歯黒が剥がれて、お歯黒の成分である鉄を過剰に摂取してしまうと考えられる。

【結論】お歯黒塗布後のほうれん草摂取による生体内への影響の一つとして、鉄の過剰摂取が挙げられた。また、その鉄の過剰摂取はほうれん草に含まれるシュウ酸がお歯黒成分の鉄を遊離させることにより生じると考えられる。

## 12) *Porphyromonas gingivalis*線毛による単球分化機構の解析

○広瀬 公治<sup>1</sup>, 沼田 匠<sup>2</sup>

(奥羽大・歯・口腔衛生<sup>1</sup>, 奥羽大・大学院・口腔保健<sup>2</sup>)

歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* 線毛が持つ多彩な生物活性が注目されている。本菌線毛は *in vitro* の実験系において、骨吸収を促進することが報告されている。そこで今回我々は、本菌線毛が破骨細胞の形成に作用するかを知るため、ヒト単球/マクロファージ系細胞である U937 をモデルとして用い検討を行った。

線毛は菌体より剥離し、カラムクロマトグラフィーにて精製した。所定の濃度の線毛を U937 に添加し、24~48時間培養を行った。U937 の分化は Fc ロゼット形成能をその指標とした。その結果、線毛は U937 の分化を誘導した。当初24時間で認められた分化促進効果はプロテインキナーゼ C の阻害剤である H7、カルホスチンで有意に抑制された。一方、48時間後における線毛の分化誘導作用は抗 TGF- $\beta$ 1 抗体で抑制される傾向が認められた。

以上の結果より、歯周病原性細菌線毛は未熟な単球系細胞に対し、早期にはプロテインキナーゼ C を介した経路で、また後期には TGF- $\beta$ 1 のオートクリンの系を介して分化を誘導することが示された。このことは、歯周局所において菌体構成成分が破骨細胞の形成に関与する可能性を示すものとして興味ある。

## 13) 真菌によるヒト歯肉線維芽細胞への *Porphyromonas gingivalis* の侵入菌数の増加

○玉井利代子, 菅又 美穂, 清浦 有祐  
(奥羽大学・歯・口腔病態解析制御)

【目的】共凝集などにおける歯周病原性細菌と *Candida albicans* 間の相互作用の報告がある。本研究では、ヒト歯肉線維芽細胞への *Porphyromonas gingivalis* の侵入における *C. albicans* の関与を検討した。

【方法】臨床分離株 *C. albicans* OH-1 は 1% yeast extract 含有サブローデキストロース培地で 37°C 好気培養した。*P. gingivalis* 381 はヘミン・メナジオン添加 GAM 培地で 37°C 嫌気培養した。ヒト歯肉線維芽細胞は歯周炎患者の便宜抜去歯から採取した組織片より分離培養し、継代数 5 から 8 代で供試した。侵入実験では、24穴平底マイクロプレートに 1穴あたり 105 播種した。一晚培養後、熱加熱死菌 *C. albicans* 含有または不含の培地で 3 時間前培養した。その後、1穴あたり 107 の *P. gingivalis* を含む培地で 90 分共培養した。次に、メトロニダゾールとゲンタマイシンを含む培地で 2 時間培養後、蒸留水でヒト歯肉線維芽細胞を溶解、その溶解液をヘミン・メナジオン添加血液寒天培地に播種し嫌気培養した。1週間後、得られた黒色コロニー数を計測した。ヒト歯肉線維芽細胞の ICAM-1 発現はフローサイトメトリーで、Rac1 活性は ELISA で検討した。

【結果と考察】1. *C. albicans* 死菌の前培養により、ヒト歯肉線維芽細胞への *P. gingivalis* の侵入が有意に増加した。2. ヒト歯肉線維芽細胞の *C. albicans* 死菌による ICAM-1 発現増強はなかった。3. *C. albicans* 死菌によるヒト歯肉線維芽細胞の Rac1 活性化増強がみられた。*C. albicans* 死菌の前培養によるヒト歯肉線維芽細胞への *P. gingivalis* の侵入増加に Rac1 活性化が係わる可能性がある。