

学部学生ポスター

(ポスター会場②)

5月24日（土）	ポスター掲示	8：30～10：00
	ポスター展示・閲覧	10：00～16：30
	ポスター討論	16：30～17：10
	ポスター撤去	17：10～17：40

ポスター会場②

SP-01～03



SP-01

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の Mfa1 線毛
における新規微量成分の同定

吉村 唯

キーワード：歯周病，微生物，細菌

【背景】歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* は、バイオフィルム形成に必要な FimA 及び Mfa1 という2つの線毛を持つ。Mfa1 線毛は *mfa* クラスターから発現する5つのタンパク質 Mfa1～Mfa5 により構成される。Mfa1 は線毛の主要成分であり、Mfa3, Mfa4 および Mfa5 は先端に位置すると考えられている。近年我々は、EM3 株のドラフトゲノムにおいて *mfa5* の下流に *mfa5* と類似した ORF (*mfa5-2*) がタンデムに存在する可能性について報告した。

【目的】本研究では、不完全であった EM3 株における *mfa* クラスターの塩基配列を決定し、Mfa5-2 が精製 Mfa1 線毛中に含まれるか否かの解析を行った。

【方法】EM3 株の染色体 DNA を抽出し、DNA シークエンシングを行った。JI-1 株 (ATCC 33277 株由来 *fimA* 欠損株) 及び EM3 株から Mfa1 線毛をイオンクロマトグラフィーにより精製した。精製線毛を SDS-PAGE により展開し、CBB 染色を行った。その後、EM3 株の精製線毛では検出され、JI-1 株では検出されない 250-kDa バンドを切り出し、質量分析を行った。また、抗 Mfa5-2 抗体を用いてウェスタンブロットを行った。

【結果】EM3 株で見られた 250-kDa のタンパク質が Mfa5-2 と同定された。さらにウェスタンブロットにおいても、250-kDa のバンドが特異的に検出された。以上の結果から Mfa5-2 が新規 Mfa1 線毛タンパク質であることが考えられた。Mfa5-2 を含めた先端因子は付着に機能していることが示唆される。

SP-03

アルツハイマー型認知症モデル細胞を用いた *Pg*-LPS
誘発神経突起障害に対するカテプシン B 阻害剤の有用性評価

東 真帆

キーワード：ボルフィロモナスジンジバリス，アルツハイマー型認知症，Pg-LPS

【目的】近年、アルツハイマー型認知症 (AD) 患者の脳に歯周病の原因菌 *Porphyromonas gingivalis* 由来の内毒素 *Pg*-LPS が検出され、歯周病が AD 増悪因子であると報告されている。また、*Pg*-LPS により $A\beta$ 産生酵素カテプシン B (CatB) の増加が確認され、CatB 阻害剤による認知症発症や進行抑制の可能性が示唆されている。我々は APP^{Swe/Ind} 遺伝子を神経細胞に導入した AD モデル細胞を構築し、歯周病の AD 誘発への関与解明と予防・治療薬の探索に取り組んでいる。本研究では AD モデル細胞を利用して LPS の AD の増悪因子機序を解明し、CatB 阻害薬 CA-074Me の神経突起障害に対する予防・治療効果を検討した。

【材料と方法】遺伝子導入により作製した SH-iAPP^{Swe/Ind} 細胞に double distilled water 又はドキシサイクリン (DOX) を添加し、ウェスタンブロットリング (WB) 法により $A\beta$ 発現を確認した。また、CCK-8 法により細胞生存率の評価を行った。本 AD モデル細胞に LPS を 1 μ g/mL 添加した歯周病菌由来 AD モデル細胞に LPS と同時、または LPS 添加 24 時間後に CA-074Me を添加して細胞生存率、神経突起障害に対する影響を評価した。

【結果と考察】DOX 添加後の AcGFP を観察した結果、AcGFP の蛍光は DOX 添加群のみに観察された。また、WB 解析を行った結果、DOX 添加による $A\beta$ 発現を確認した。本 AD モデル細胞に LPS を 1 μ g/mL 添加した結果、細胞毒性を与えることなく神経突起障害を誘発することが明らかになり、CA-074Me を 5 μ M 添加した結果、LPS による神経突起の伸長、突起数の減少抑制効果が確認され、予防効果とともに治療効果を有する可能性が示唆された。今後は LPS の神経突起障害に加えて IL-1 β の産生に与える影響を検討する予定である。

SP-02

アルツハイマー型認知症モデル細胞を用いた *Pg*-LPS
誘発神経毒性に対するエキノシスチン酸の有用性評価
中野 百花

キーワード：ボルフィロモナスジンジバリス，アルツハイマー型認知症，エキノシスチン酸 (EA)

【目的】アルツハイマー型認知症 (AD) 患者の脳にはアミロイド β ($A\beta$) 及びタウタンパク質が蓄積し、神経細胞の脱落・消失が進行する。我々は家族性 AD に関わる Swedish 変異型及び Indiana 変異型を合わせた Swedish/Indiana 変異型 ヒト APP に着目し、ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞に Swedish/Indiana 変異型 APP プラスミドを導入した APP^{Swe/Ind} 発現細胞において $A\beta$ 42 産生が亢進した AD モデル細胞を構築した。本研究では、本 AD モデル細胞を用いて歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* に由来する *Pg*-LPS 存在下での天然物質エキノシスチン酸 (EA) の神経突起に対する影響を検討した。

【材料と方法】SH-iAPP^{Swe/Ind} 細胞にドキシサイクリン (DOX) を添加し、ウェスタンブロットリング法により $A\beta$ 発現を評価した。また、2 μ g/mL DOX を添加した AD モデル細胞に *Pg*-LPS と同時、または *Pg*-LPS 添加後 24 時間後に EA を添加した歯周病菌由来 AD モデル細胞での細胞生存率、神経突起障害に対する EA の予防、治療効果を検討した。

【結果と考察】DOX 誘導による AcGFP の発現及び SH-iAPP^{Swe/Ind} 細胞での $A\beta$ の発現が確認された。本細胞に *Pg*-LPS、EA を同時添加した結果、EA 2.5～10 μ M 添加群では伸長減少を有意に抑制し、*Pg*-LPS 添加 24 時間後の EA 投与群でも同様の効果が確認された。一方、24 時間後の EA 添加群では同時添加群に比べて EA10, 20 μ M 添加群において細胞生存率が低下した。本結果より EA は神経突起伸長に対しては予防的及び治療的効果を示すものの、10 μ M 以上では細胞毒性が示唆された。今後は、軽度認知障害から重症に至る歯周病由来 AD モデル細胞を構築し、誘発機序、予防・治療薬の検討を行う予定である。