

Title	家兔のホルマリン処理歯髓抽出液による同種歯髓抗体の産生とその血清学的性状
Author(s)	西田, 脩
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/29649">http://hdl.handle.net/11094/29649</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 6 】

氏名・(本籍)	西 田 脩 にし だ おさむ
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 1 4 0 7 号
学位授与の日付	昭 和 4 3 年 3 月 2 8 日
学位授与の要件	歯学研究科歯学臨床系 学位規則第5条第1項該当
学位論文名	家兎のホルマリン処理歯髓抽出液による同種歯髓抗体の産 生とその血清学的性状
論文審査委員	(主査) 教授 横溝 一郎 (副査) 教授 寺崎 太郎 教授 小谷 尚三

論 文 内 容 の 要 旨

病巣感染症の病因論を、感染しない炎症の結果修飾された自己の組織による感作という面から追求しようとする試みが少なくない。

歯性慢性病巣についても、病巣産物による自己感作が病因となる可能性がくり返し指摘されている。一方、Landsteiner, Horsfall, Jacobs, 芳川等によって、ホルムアルデヒド処理が、血清、赤血球などの血清学的特異性をほとんど変えることなく、それらが採取された個体(自己)に対する免疫原性を賦与することが明らかにされている。著者は、歯科保存学の臨床で日常使用頻度の高いホルムアルデヒド製剤により修飾された歯髓組織が、歯性病巣抗原となり患者を感作する可能性のあることを考慮し、その場合における生体反応を、産生される抗体およびその血清学的性状を中心に以下の同種感作実験を一つの模型として追求した。

被検動物として体重約3Kgの健全雄性家兎を用い、家兎歯髓の生食水による抽出液(RPN)を局方ホルマリン(終末濃度0.8%)によって37°C、20日間処理したもの(RPF)を免疫原とした。すなわち15~20mg 蛋白/mlのRPFの6mlを1回投与量として、週2ないし3回ずつ耳静脈内に注射し、250日から400日間感作をくり返した。

同種抗RPF抗体の産生の有無、程度を、タンニン酸処理感作血球凝集反応(HA)および皮膚受動アナフィラキシー反応(PCA)によってしらべた結果、供試家兎5例において、HA抗体ならびにPCAで検出される抗体の産生がみとめられた。しかしこれら両抗体産生の時間的推移はたがいに異なり、HA価は感作開始後80日から120日頃にピーク(最高抗体価は50万倍抗血清稀釈)に達し、その後下降の傾向を示すものもあるが全体としては感作終了期まで高い価が維持されるのに対して、PCA反応にあずかる抗体は、今回の実験条件では、感作開始120日後には5例中2例の、140日後には4例の、血清が陰性となり、160日後の血清は2千倍から6万倍におよぶ高いHA抗体価を示すの

に、全例が PCA 反応陰性となった。

抗 RPF 血清に含まれる抗体を分析する目的で、抗 RPF 血清を DEAE-セルロース・カラムクロマトグラフィーによって分画し、各画分について電気泳動および超遠心における挙動、ならびに HA 抗体活性に対する 2-メトールカプトエタノール (2-ME) 処理の影響などについて検討を加えた。すなわち 2 例の家兎から感作 100, 300 および 400 日後にえた抗 RPF 血清を DEAE-セルロース・カラムにかけて分画したところ、4 つの画分がえられたが、0.0175M 磷酸緩衝液 (pH 6.3) で溶出される画分 1 が最も高い HA 価を示し、0.4M 緩衝液 (pH 4.4) で溶出される画分 4 の HA 価がこれにつぐことが示された。

セルロースアセテート膜での電気泳動および超遠心による分析の結果、前者は 6.6S グロブリンであり、後者は 4.2, 5.9 および 17.2S 成分を含むが、画分 4 は 2-ME 耐性の画分 1 とは異なり、その HA 抗体活性が 2-ME 処理によって消失した。すなわち画分 4 ではいわゆる 19S グロブリン部分が HA 抗体活性の担い手となっていると考えられる。

またホルマリン処理が歯髄組織の血清学的特異性にどのように影響するかをしらべる目的で、RPF および RPN と抗 RPF 抗体との反応を HA, PCA および Ouchterlony のゲル内沈降反応により比較検討した結果、抗 RPF 抗体に対応する抗原である RPF ともっとも強く反応するが、RPN とも反応することが明らかにされた。

この際 Ouchterlony 法によって、RPF には、RPF に独自の抗原決定基も存在するが、RPN と共通する少なくとも 2 種類の抗原決定基を有すること、すなわちホルマリン処理後も歯髄組織はなおその血清学的特異性の多くを保持していることが明らかにされた。

一方、ホルマリン処理によって歯髄抽出物がどのような修飾を受けているかを検討するために RPF と RPN との電気泳動における移動度を比較したところ、全体として RPF には RPN にくらべて陽極側により速かに移動する成分の多いことが示された。歯髄蛋白のアミノ基にホルムアルデヒドが結合し、蛋白の荷電状態が変化した結果であろうと考えられる。

そこで RPN および RPF の両者を DEAE-セルロース・カラムにかけ分画を試みたところ、RPN では 0.0175M, pH6.3 および 0.1M, pH5.8 の磷酸緩衝液で溶出されるそれぞれ画分 1 および 3、一方 RPF では画分 3 および 0.4M, pH4.4 の磷酸緩衝液で溶出される画分 4 が抗 RPF 抗体と反応することが、HA と Ouchterlony 法との両者によって示された。

なお抗 RPF 抗体が RPN 以外の自己の組織と反応する可能性を Ouchterlony 法によりしらべた結果、抗 RPF 抗体は正常家兎血清とは反応しないが、感作に用いた家兎の肝および腎の組織抽出液と反応し、この際みられる 1 本の沈降線はたがいに融合することが示された。

以上要するに、ホルマリンで処理した家兎歯髄抽出物による同種抗体の産生が、タンニン酸処理感作血球凝集反応および受身局所アナフィラキシー反応にあずかる抗体をしらべることにより実証された。またこれら両反応にあずかる抗体はその産生の時間的推移を異にし、PCA 反応にあずかる抗体は感作血球凝集抗体とはちがって、感作をくり返しても感作一定時期以降は検出されなくなること、家兎歯髄組織はホルマリン処理後も健常家兎歯髄と強い交叉反応性を保持していること、RPF 感作により産生される HA 抗体には IgG および IgM の両者がみとめられること、さらに抗 RPF 血清

は歯髄以外の自己臓器抽出液とも反応することなどの事実が明らかにされた。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は、歯内療法に頻用されるホルムアルデヒド製剤によって修飾された歯髄組織が歯性病巣抗原となり得る可能性を検討するため、モデル実験としてホルマリン処理歯髄によって家兎を遷延感作し、同種歯髄抗体が産生されることを確証し、あわせてその抗体の血清学的性状を明らかにした意義深い業績と考える。

よって、本研究者は、歯学博士の学位を得る資格があるものと認める。