The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Capnocytophaga sp. の菌構築成分の生物学的諸活性 |
| Author(s) | 村西, 憲一 |
| Citation | 大阪大学, 1981, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/32995 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【9】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 村西憲一（むらにしけんいち） |
| 学位の種類 | 歯学博士 |
| 学位記番号 | 第 5450 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和56年10月29日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当 |
| 学位論文題目 | ***Capnocytophaga* sp.の菌構築成分の生物学的諸活性** |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 岡田 宏<br>(副査) 教授 小谷 尚三　助教授 下野 勉　助教授 雫石 聰<br>講師 加藤 幸夫 |

## 論文内容の要旨

ある種の嫌気性菌は歯周病の発症と進行に重要な役割を演じていることが，最近の研究で示唆されている。1979年にnew genusとして報告された*Capnocytophaga*は，それらの一菌種であり，若年性歯周炎の病巣深部から特徴的に検出される運動性のグラム陰性桿菌である。

本研究では，*Capnocytophaga*が歯周病の病理機序に演じる役割を評価する一つのアプローチとして，歯周病患者の歯周ポケットから分離した一菌株を用い，その構築成分をできるだけ逃がすことなく分画調製し，得られた各画分が*in vivo*および*in vitro*の実験系で示す生物学的活性を幅広く検討することを試みた。

若年性歯周炎患者の歯周ポケット最深部から嫌気的条件下に分離された*Capnocytophaga* S-3株を供試菌とし，37℃で4日間，10%$CO_2$加空気中で大量培養を行い全菌体を得た。全菌体をBraun Cell Homogenizerを用いてガラスビーズと共に振盪して破砕し，10万gの遠心沈査として細胞エンベロープ（CE）画分を分離した。一方，主として細胞質成分を含む上清は精製水に対して透析し，細胞質（CP）画分とした。CE画分の一部について，プロナーゼ消化後1%SDS（sodiun dodecyl sulfate）で処理し，可溶性となった部分は陰イオン交換樹脂を加えた精製水に対して充分透析してSDSを除いた後，SDS-sup 画分とした。一方1%SDS処理後の沈査について，さらに4%SDSで加熱処理し，細胞壁の基礎構造であるペプチドグリカン（PG）を不溶性沈査として得た。他方CE画分から，ブタノール—水および温フェノール—水を用いる2種の抽出方法によって，2種類の内毒素標品，それぞれBu-LPSおよびPh-LPSを分離した。

この様にして調製した各種菌構築成分の生物学的活性を以下の項目について検定した。1）卵白ア

ルブミンと共に鉱物油中水滴型乳剤としてモルモットに投与した際の遅延型過敏症の惹起と，血中抗体産生に関する免疫アジュバント活性，2）ウサギ皮膚組織に対する傷害作用，3）〔$^{3}$H〕チミジンの取り込みを指標としたモルモットの脾および胸腺リンパ球に対するマイトジェン活性，4）〔$^{14}$C〕グルコサミンの取り込みを指標としたモルモット腹腔マクロファージ（Mφ）に対する刺激作用，5）カブトガニのアメーバ様細胞溶解物のゲル化作用，6）ヒト補体系に対する活性化作用。

その結果，CPを除く全ての供試画分に，免疫アジュバント活性，脾リンパ球に対するマイトジェン活性，Mφ刺激作用，補体活性化作用が認められた。同重量当たりの比較では免疫増強においてはPGとSDS-sup画分が，マイトジェン活性では両LPSとSDS-sup画分が，またMφの活性化については両LPSとPGが，さらに補体系の活性化に関してはSDS-sup画分が，特に強い作用を示した。各標品間で最も明確な差異がみられたのはウサギ皮膚を傷害する作用であり，CE画分は再発する多結節形成，両LPSは発赤と腫脹，PGとSDS-sup画分は硬結を主徴とする病変を惹起した。なお，アメーバ様細胞溶解物をゲル化する作用については，両LPSのみが微量で陽性のゲル化反応を呈した。

SDS-sup画分は生物学的作用に富み興味がもたれ，ペプチドグリカンあるいはリポ多糖以外の生物学的活性物質であることが期待された。化学分析の結果，SDS-sup画分はムラミン酸，ジアミノピメリン酸を含まはい，そしてアメーバ様細胞溶解物をゲル化するのにPh-LPSの$10^{5}$～$10^{6}$倍の大量を要し，さらに両LPSに認められた特徴的なウサギ皮膚傷害作用を示さないことなどから，SDS-sup画分にはペプチドグリカンの混入はなく，リポ多糖の混入も極めてわずかで，たとえあったとしても活性発現にあずからない程度であろうと推察される。

SDS-sup画分が示す生物学的活性を担う物質の化学的実態を明らかにすることを目標として，Sepharose 6Bカラムクロマトグラフィーにより2フラクション（Fr ⅠとFrⅡ）に分画した。タンパクおよびヘキソースに富むFrⅠは，SDS-sup画分が示す上述の生物学諸活性の全てを有していた。一方主としてタンパクから成るFrⅡは，補体活性化およびマイトジェン活性以外にはほとんど活性を示さなかった。FrⅠとFrⅡでは，補体活性化の経路に違いが認められ，FrⅠは古典および別経路によって，FrⅡは主として古典経路によって補体系を活性化した。また，両Frの生物学的諸活性は過ヨウ素酸酸化により失われ，トリプシンやプロナーゼ消化には安定であった。したがってSDS-sup画分の生物学的活性発現には糖成分が関与していることが示唆される。

以上の所見より，*Capnocytophaga*の菌構築諸成分が，歯周病の病理機序との関連で見逃がすことのできない多くの生物学的活性を有することが明らかにされ，さらに，ペプチドグリカンや内毒素性リポ多糖以外に従来少なくとも明確には記載されていなかった生物学的作用に富む菌表層成分が存在することが示された。

## 論文の審査結果の要旨

村西君の研究は，1979年new genusとして提案され，歯周病の病理機序に深いかかわりあいをもつことが知られている*Capnocytophaga* sp.の細胞構築成分の生物学的活性を幅広く検討したものである。すなわち，全菌体をまず細胞質画分と菌表層成分とに分け，さらに菌表層成分をペプチドグリカン，ＳＤＳ可溶画分に，またブタノールおよびフェノール抽出内毒素に分画し，これら各画分の免疫アジュバンド作用，皮膚傷害作用，マイトジェン活性，マクロファージ刺激作用，補体活性化作用などを調べた。

その結果，細胞質画分以外のすべての画分が，強弱の差はあるが，上述の生物学的活性を有することが示された。とりわけ従来報告を見ない活性画分として，菌表層成分をＳＤＳで処理した時に可溶化される画分が，細胞壁や内毒素に劣らない強い生物学的諸活性を示すという新しい事実が明らかにされた。

以上のように村西君の業績は*Capnocytophaga* sp.が歯周の病理機序に演ずる役割を論ずる上で見逃がすことのできない重要な知見を明らかにした優れたものであり，歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。