

Title	細菌細胞壁ならびに酵素処理あるいは合成によって得た細胞壁構築成分によるヒト補体の活性化
Author(s)	河崎, 顕則
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33250">https://hdl.handle.net/11094/33250</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【 3 】

氏名・(本籍)	かわ 河	さき 崎	あき 顕	のり 則
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	5624	号	
学位授与の日付	昭和57年3月25日			
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	細菌細胞壁ならびに酵素処理あるいは合成によって得た細胞壁 構築成分によるヒト補体の活性化			
論文審査委員	(主査) 教授	下総	高次	
	(副査) 教授	小谷	尚三	教授 岡田 宏 助教授 零石 聰

論 文 内 容 の 要 旨

補体とは逐次的にはたらく cascade 反応によって様々な生体反応，主として防衛反応を生起する血清の一連の因子に与えられた名称であり，口腔領域においても，例えば歯周疾患の病理機序との関連において注目されている。

著者は，各種細菌種の細胞壁（一部ペプチドグリカン）のヒト補体系を活性化する作用を比較検討するとともに，酵素による細胞壁溶解物やペプチドグリカンの一部を模した合成標品を用いることにより，細胞壁（ペプチドグリカン）の補体活性化作用を担う化学ないし分子構造を明らかにすることを試みた。

供試した細胞壁は，口腔細菌7菌種を含む約30菌種のグラム陽性菌より常法に従って調製した。一方，主として口腔由来のグラム陰性菌5菌種から，全菌体をドテシル硫酸ソーダ(SDS)で抽出処理する Weidel の方法に準拠してペプチドグリカンを調製した。また細胞壁ないしペプチドグリカンを，グリカン鎖を切断するM-1エンド-N-アセチルムラミダーゼ，ならびにペプチドサブユニット間の架橋を開裂するL-3およびSALEエンドペプチダーゼで処理し，種々の細胞壁溶解産物を得た（これらの標品の調製には大日本製薬・総合研の横川・河田両博士の協力を得た）。合成標品は，本学理学部化学科芝哲夫教授の研究室で合成されたMurNAc-L-Ala-D-isoGln(MDP), MurNAc-L-Ala-D-isoGln-L-Lys-D-Ala, MDPの6-O-アシル誘導体である[L18]-MDP, [L30]-MDP, [B30]-MDPならびに[BH48]-MDP-L-Lys-D-Alaの恵与を受けて使用した（ちなみに[ ]内のLは直鎖，Bは $\alpha$ -分枝アシル基，Hは $\beta$ -OHを，また数字はアシル基部の総炭素数を示す）。

補体活性化作用の検定には，10数名の健康成人の血清をプールして-70℃に凍結保存したものを用

いた。用に臨んで溶解した補体血清の0.4ml ずつに、所要の濃度に生食水に懸濁あるいは溶解したテスト標品の0.1ml ずつを加え、37°C 60分間反応させた。反応液を遠心し、上清の補体価(CH50)を測定しテスト標品のかわりに生食水0.1ml を加えて同様に処理した対照血清の値と比較した。また、各補体成分C1, C4, C2, C3およびC5の活性をそれぞれ定量して、上記対照血清のそれらと比較した。さらに血清にEGTA(10mM)とMgCl<sub>2</sub>(5mM)を加えて古典経路を遮断した条件での検定をも行った(EGTA法)。

口腔グラム陽性菌細胞壁はいずれも強い補体活性化作用を示し、しかもこれらは主として別経路を介するものであることが明らかにされた。一方、口腔グラム陰性菌のペプチドグリカンは弱い活性化作用しか示さなかった。さらに口腔を主たる棲息場所としない計25菌種のグラム陽性菌の細胞壁の補体に対する作用を検定した結果、KandlerとSchleiferの分類(1972年)におけるA群型のペプチドグリカンを保有する菌種の細胞壁は、ほぼ例外なくヒト補体系を別経路を介して、菌種によってはさらに古典経路をも介して、ヒト補体を活性化することが示された。B群型ペプチドグリカンを保有する菌種は概して補体活性化作用は弱かった。

酵素による細胞壁溶解産物を用いた検定により、ヒト補体の活性化にはペプチドグリカン構築単位(ジサッカリドペプチド)のモノマーでは不十分であり、その構築単位がグリカン鎖により重合した“ポリマー”構造が必要であることが示された。さらにその活性化作用が重合度の大小に関連することが明らかにされた。

合成標品については、MDP, MDP-L-Lys-D-Ala, [L18]-MDP, [L30]-MDP, [BH48]-MDPはいずれも、補体を活性化する作用を欠くかあるいはきわめて弱かった。一方、[B30]-MDP, [BH48]-MDP-L-Lys-D-Alaには明確な活性化作用が認められた。これらの標品による活性化作用についてはさらに今後の詳細な検討が必要であると考えられるが、分離したC1成分や血清よりB因子のみを失活させたR B血清を用いた検定結果は、[B30]-MDPは抗体の関与なしに直接的に古典経路を活性化する作用をもつことを強く示唆している。一方、[BH48]-MDP-L-Lys-D-Alaの活性化作用については、古典経路あるいは別経路のいずれを主とするものかは明確でなかった。

以上により、次の結論を得た。1. 細菌細胞壁はほぼ例外なく、ヒト補体系を別経路により、菌種によってはさらに古典経路をも介して活性化する。2. この補体活性化作用にはペプチドグリカン構築単位のポリマー構造が必要である。3. 合成標品では、MDP自体には補体を活性化する作用は認められず、供試した標品のうち、[BH48]-MDP-L-Lys-D-Ala, [B30]-MDPに明確な活性化作用が認められた。

口腔、特に歯周局所に存在する細菌種の細胞壁による補体の活性化は、種々の薬理作用を有する活性化産物の生成を介して、歯周疾患の病理機序に関与すると考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

河崎顕則君の研究は、多数の細菌種から分離した細胞壁ならびに酵素処理あるいは合成によって得

た細胞壁構築成分を供試し、ヒト補体系に対する活性化作用を *in vitro* 系で精査したものである。

この研究により、1. 口腔を棲息場所の少なくとも一つとする10菌種を含め、計35種の細菌より分離した細胞壁が、ほぼ例外なく、補体系を別経路により、また菌種によっては古典経路をも介して活性化すること、2. この活性化には細胞壁ペプチドグリカン構築単位の“ポリマー”構造が必要なこと、3. しかし一方、種々の菌種のペプチドグリカンに共通する構造である *N*-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イングルタミン(MDP)自体は作用を欠くが、その6-O-アシル誘導体の一部のものに明確な活性化作用が認められること、などの新しい事実が明らかにされた。

以上のように、河崎顕則君の業績は、生体防御の第一線を担い、かつ活性化にともなって様々な生物学的に活性なメディエータを生成する補体系の細菌細胞壁による活性化という重要な研究課題に新知見を加えたものであり、歯学博士の学位請求に充分値するものと認める。