The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	多形核白血球による口腔放線菌食作用に関する研究 : 特に免疫血清のオプソニン効果と菌表層成分の関与
Author(s)	木村, 重信
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33340
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【4】

氏名・(本籍)	木村重信（きむらしげのぶ）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6016 号
学位授与の日付	昭和58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	**多形核白血球による口腔放線菌食作用に関する研究 —特に免疫血清のオプソニン効果と菌表層成分の関与—**
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏 (副査) 教授 小谷 尚三 助教授 竹村 金造 講師 増田 典男

論文内容の要旨

*Actinomyces*属の細菌は，ヒトやある種の動物の口腔常在細菌叢の一員である。なかでも，*Actinomyces viscosus*と*Actinomyces naeslundii*は分布が広く，加えて，適当な条件下で実験動物に歯頚部セメント質う蝕を誘発したり，歯槽骨の吸収を伴う歯周疾患を惹起する。これら病変の成立に当って，歯肉周辺において宿主の防禦機構の第一線として働き，反面リソゾーム酵素の放出等を介して組織に障害作用をもたらす多形核白血球（PMNL）と上記*Actinomyces*との相互作用，特に食作用が重要なかかわり合いを持つと考えられる。しかし，このような視点に立った系統的な研究は意外に少ない。

本研究では，ラット腹腔浸出のPMNLの*A. viscosus*, *A. naeslundii*に対する食作用への抗体や補体などの宿主側因子，ならびに菌表層抗原などの細菌側因子の関与を，*in vitro*の測定系で，種々の角度から検討した。

A. viscosus ATCC19246株（血清型2）を主な供試菌として，〔^{3}H〕チミジンで標識また一部の実験では，臨床分離株を含む，上記以外の11株の *A. viscosus*（血清型1および2），5株の *A. naeslundii*（血清型1）および*Actinomyces*以外の8菌種，9菌株の〔^{3}H〕チミジン標識菌を供試した。抗放線菌免疫血清は，*A. viscosus* ATCC19246株（血清型2），*A. viscosus* Ny 1株（血清型1）およびA. naeslundii ATCC 12105株全菌を，Freundの完全アジュバンドとともに家兎に2回，皮下注射して得たものを用いた。食作用の測定は，以下に示す方法に従って得た%食菌率を指標として行なった。即ち，Wistar系ラットの腹腔にチオグリコール酸培地を注入して誘導し，無菌的に採取したPMNL（2×10^6 cells）および供試菌（2×10^7）のRPMI 1640培地浮遊液に，抗放線菌血清と

補体標品，あるいは補体標品のみを添加し最終容量を1mℓとした。対照では血清成分無添加とした。反応系を容れた試験管は37℃で30分間，水平面に対して30°の角度に傾けて回転（9回/分）させながら，大気中で反応させた。分別遠心によってPMNLと補食されていない菌体とに分け，各々の放射能を測定し，$\frac{\text{PMNL沈渣のdpm}}{\text{PMNL沈渣のdpm}+\text{菌体沈渣のdpm}}\times 100$の式により，%の食菌率を求めた。

得られた結果を要約するとを次のとおりである。*A. viscosus, A. naeslundii*の食作用に対する感受性には菌株毎に相当の差違が認められた。補体のみの添加によってもPMNLによる*A. viscosus, A. naeslundii*の食作用は多くの菌株で亢進することが認められたが，免疫血清と補体とを同時に添加した場合に，用いた限りのすべての*A. viscosus*および*A. naeslundii*の菌株について，食作用がより明確に亢進した。また，抗*A. viscosus* Nyl（血清型1）血清，あるいは抗*A. naeslundii*血清によっても，抗19246株血清を用いた場合と同様に，用いたすべての*Actinomyces*の菌株について，PMNLによる食作用の明確な亢進がみられ，菌種の差あるいは血清型の違いによる系統だった差違は認められなかった。一方，抗19246株血清は，*Rothia dentocariosa, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguis Capnocytophaga ochracea*さらには*Escherichia coli*など，分類学的に*A. viscosus*や*A. naeslundii*と異縁の菌種に対しては，オプソニン作用を示さなかった。

A. viscosus ATCC 19246株の精製細胞壁のM1エンド-*N*-アセチルムラミダーゼ処理による溶解産物をCM-Sephadex C-25，ついで，Sephadex G-100カラムによって分画して得た細胞壁多糖抗原（M1-AV）や，*A. viscosus* ATCC 19246株の全菌体あるいはペプチドグリカン標品（PG）を用いて抗19246株血清の吸収処理を行なったところ，M1-AVあるいは全菌体による吸収により，オプソニン作用が明確に低下するのが観察された（PGによる吸収は影響しなかった）。

また，トリプシン，プロナーゼPおよびリパーゼ処理した*A. viscosus* ATCC 19246菌体は，抗19246株血清によるオプソニン作用に対する感受性を増し，HCl, NaOH, SDSおよび加熱（100℃，15分間）処理では逆に感受性の低下がみられた。ちなみに，これらの処理はすべて血清無添加の実験系での食作用にはほとんど無影響であった。

以上の所見より，PMNLによる*A. viscosus*および*A. naeslundii*の食作用は，抗放線菌血清のオプソニン作用によって明確に亢進することが示唆された。M1-AVによる吸収実験の結果から，この抗放線菌血清のオプソニン効果は，*A. viscosus, A. naeslundii*の両菌種に共通な細胞表層多糖抗原に対する抗体によって，その多くの部分が担われていることが示唆された。

さらに，適当な条件下で，PMNLをM1-AVあるいは精製細胞壁標品で前処理すると，PMNLの*A. viscosus* ATCC 19246株に対する食機能が亢進するという結果を得た。これは，PMNLによる口腔放線菌の食作用を解析するに当っては，細菌側がPMNLを活性化して食作用に影響をおよぼす可能性をも考慮しなければならないことを示す所見と言えよう。

論文の審査結果の要旨

本研究は，ヒトの歯肉炎との関連性が強く示唆されている口腔放線菌に対する多形核白血球の食作用を，*Actinomyces viscosus* を中心に，多面的に検討したものである。

この研究により，抗放線菌血清に明確なオプソニン効果が認められること，このオプソニン効果の主たる担い手は，口腔放線菌に共通する細胞表層多糖抗原にむけられた抗体であること，一方適量の細胞表層多糖は多形核白血球の食機能を，免疫血清および補体の存在の有無にかかわらず，亢進させることなどの新しい事実が明らかにされた。

木村重信君の論文は，歯肉炎の発症ならびに病理機序を考察する上で，貴重な情報を提供するものであり，歯学博士の学位請求に値するものと認める。