The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bordetella pertussis工相菌の既知のものとは異なる菌表層免疫強化成分に関する研究
Author(s)	久保, 隆夫
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33914
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

【6】

氏名・（本籍）	久保隆夫（くぼ たかお）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6425 号
学位授与の日付	昭和59年3月24日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学基礎系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	***Bordetella pertussis*** **工相菌の既知のものとは異なる菌表層免疫強化成分に関する研究**
論文審査委員	（主査） 教授 小谷 尚三 （副査） 教授 鈴木不二男 助教授 雫石 總 助教授 恵比須繁之

論文内容の要旨

Bordetella pertussis（百日咳菌）工相菌は，血中リンパ球を増加させ，ヒスタミンに対する感受性を高め，血中インスリンレベルを上昇させるなど，この菌種に特有な免疫薬理作用〔作用の担い手はpertussis toxinであるとされている〕を示すとともに，種々の免疫原に対する抗体産生を高めるなど，生体の免疫機能を強化する作用（以下免疫強化作用）が，他の菌種に比べ，強いことが知られている。

私は，百日咳菌工相菌に，グラム陰性菌一般の表層成分である内毒素性リポ多糖（LPS），Mycoplasmaを除く全ての細菌が保有する細胞壁の骨格構造であるペプチドグリカン（PG），およびpertussis toxin（PT）などの既知のものとは異なる免疫強化因子が存在することを想定し，工相菌，東浜株の培養菌体から調製した種々の画分の免疫強化作用をin vivoならびにin vitro系で比較検討し，上述の想定が正しいことを実証しようとした。

結論を先に述べると，Stainer－Scholteの改良培地に5日間静置培養した東浜株菌体（若い培養菌体とは異なり，PTを含まない）から分離したcell envelope（細胞表層）画分を，1％SDSで室温処理した際に抽出される成分のうち，水に対して透析すると沈澱する画分（SDS－EI）が，PGおよびLPSをほとんど含まないことが，それぞれアミノ酸・アミノ糖分析およびLimulusテストにより確認されたのにもかかわらず，抗原特異的なアジュバント活性，強いB cellマイトジェン活性，および実験腫瘍の増殖を抑制する作用を呈することを見い出した。

すなわち，1）アジュバント活性については，SDS－EI画分（100 μg／匹）を，テスト抗原とした卵白アルブミンとともに鉱物油中水滴型乳剤としてモルモットに投与して調べたところ，この画分が

遅延型過敏症（角膜反応を指標とした）を誘導し，血中抗体レベル（定量沈降反応で調べた）を上昇させる明確な抗原特異の免疫強化作用を呈することが明かにされた。

次に，2）マイトジェン作用については，BALB／C，C 3H／HeN，無胸腺BALB／c nu/nu，LPS低応答性のC 3H/HeJ マウスおよびモルモットの脾細胞，ならびにモルモット胸腺細胞に対する刺激作用を〔^{3}H〕チミジンの取り込みの増加を指標として調べた。SDS－EI画分は，BALB／c，C 3H／HeN マウスのみならず，無胸腺BALB／c nu/nu およびLPS低応答性のC 3H／HeJマウスの脾リンパ球に対して，強力なB cell マイトジェンとしてよく知られているLPSを凌ぐ，強いマイトジェン活性を発揮し，C 3H／HeJ マウスと同様LPS低応答性のモルモット脾細胞に対して強くはないが明確なマイトジェン活性を呈するが，モルモット胸腺細胞には作用しないことが示された。

さらに，3）同系の実験腫瘍，プラズマサイトーマ X 5563を皮内に接種したC 3H／HeN マウスに，SDS－EI 画分（5－25μg／匹）を接種の翌日から連続して4日間，毎日1回腹腔内投与すると，腫瘍の増殖が有意に抑制されることが明かにされた。

一方，既知の免疫強化因子については，1）全菌体を4％SDS 中で煮沸した際に得られる不溶性残渣をプロナーゼP処理して調製したPG画分は，SDS－EI に匹適するアジュバント活性を示し，モルモット脾細胞に対するマイトジェン活性ではSDS－EI を凌ぐが，4系統のマウス脾細胞に対するマイトジェン作用は，SDS－EI のそれより著しく弱く，またX 5563増殖抑制作用を示さないこと，2）cell envelope からWestphal 法で調製したLPS は，SDS－EI に匹適するアジュバント活性を示したが，マイトジェン活性，特にC 3H／HeJ およびモルモット脾細胞に対する活性はSDS－EIのそれに比べてはるかに弱いこと，X 5563の増殖抑制作用を示さないこと，さらに3）Stainer－Scholte 改良培地5日間培養の東浜株培養上清から分離されたPT 標品（国立予研，佐藤勇治博士より恵与された）は，きわめて微量でアジュバント作用を示したが，SDS－EI，PGおよびLPS とは異なり，T cell マイトジェンであり，B cell に対するマイトジェン作用を欠き，またX 5563の増殖に対する有意の抑制効果も示さないことが，明らかになった。

なお，この研究中にいわば副次的に得られた所見として，cell envelope を1％SDSにより室温抽出した際に不溶性残渣として得られる画分が，PGに特有な成分をほとんど含まないのに，明瞭な膜様構造物から成っていることが，電子顕微鏡による観察の結果明らかになった。

以上要するに，百日咳菌工相菌の細胞表層画分は，従来の研究でその化学的実態が把握されているPG，LPS およびPTのいずれとも異なる免疫強化因子を保持することが明らかにされた。

論文の審査結果の要旨

細菌由来の免疫強化物質としてその化学性状が明確となっているのは，細胞壁ペプテドグリカン（PG）および内毒素性リポ多糖（LPS），特にリピドA部分であり，両者はともに作用を担う部分の化学合成が行われている。一部の細菌種には，上記以外の免疫強化因子の存在が想定されてはいるが，その

実在を証明した研究は見られなかった。

久保君は，この研究でBordetella pertussis 工相菌の細胞表層成分からドデシル硫酸ナトリウムにより抽出され，かつ水に対して透析すると不溶性になる画分（PG ,LPS ならびにこの菌に特有な毒素pertussis toxin を含まない）が，いくつかの明確な免疫強化作用を有することを見出した。

有効因子を精製し，化学性状を特定するには至っていないが，この研究は，既知のものとは異なる免疫強化物質の存在を確認し，新しい細菌由来の免疫強化因子の今後の研究に強固な基盤を与えるものと考える。

したがって，久保隆夫君の論文は，歯学博士の学位請求論文に価するものと判定した。