



Title	Eikenella corrodensを凝集するヒト顎舌下腺唾液因子の精製とその性状
Author(s)	福原, 弘喜
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34796">https://hdl.handle.net/11094/34796</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">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

氏名・(本籍)	ふく	はら	ひろ	のぶ
学位の種類	福	原	弘	喜
学位記番号	歯	学	博	士
学位授与の日付	第	6548	号	
学位授与の要件	昭和59年5月30日			
学位論文題目	学位規則第5条第2項該当			
論文審査委員	<b><i>Eikenella corrodens</i> を凝集するヒト頸舌下腺唾液因子の精製とその性状</b>			
	(主査) 教授 岡田 宏			
	(副査) 教授 常光 旭 教授 鈴木不二男 講師 平地 慶行			
	講師 大嶋 隆			

### 論文内容の要旨

歯周炎患者から分離され、実験動物に歯周病原性を発揮するグラム陰性の通性嫌気性桿菌 *Eikenella corrodens* は、菌体表層にレクチン様物質を備え、この物質を介して *in vitro* で頬粘膜上皮細胞をはじめとする種々の生体細胞に付着することが示されてきた。しかし、*in vivo*において、*E. corrodens* は頬粘膜や舌粘膜からはほとんど検出されず、プラーカーから多く検出される。この原因として、著者は唾液中に *E. corrodens* の粘膜上皮への付着を阻害する物質が存在するのではないかと推察し、検索した結果、頸舌下腺唾液が *E. corrodens* を凝集させることを見い出した。すなわち、唾液による菌の凝集が頬粘膜上皮への本菌の定着を阻止しているものと考えられる。そこで、唾液中の *E. corrodens* 凝集物質の性状を明らかにするとともに本菌との凝集機構を検討して、不明な点が多い唾液と口腔細菌との相互関係を菌の口腔への定着という観点から病因論的に考察した。

頸舌下腺唾液から *E. corrodens* 1073 株を凝集させる物質 (*E. corrodens* 凝集因子) を以下の方法により精製することに成功した。すなわち、pH 7.2 の 10mM リン酸塩緩衝生理食塩水 (P B S) にて透析した頸舌下腺唾液 (血液型 A, 分泌型) を、P B S で平衡化した ECTEOLA セルロースカラムに添加し、非吸着画分および 1.0 M NaCl 溶出画分を除去した後、チオシアノ酸ナトリウムの濃度匀配にて、*E. corrodens* 凝集因子をカラムから溶出した。これを、分画分子量 20 万を境とする限外濾過により分画濃縮した後、さらにチオシアノ酸ナトリウムで平衡化した TSK G 5000 PWG カラムによるゲル濾過を行った。このようにして得た *E. corrodens* 凝集因子は SDS-PAGE により SDS-PAGE により約 14 万と推定された。また、

*E. corrodens* 凝集因子のサブユニット分子量は SDS-PAGE により約 14 万と推定された。また、

本凝集因子は TSK G 5000 PWG カラムを用いたゲルfiltrationにより、分子量約27万、約55万、および約 200 万に相当する 3 つの部位に溶出された。これら 3 つの各フラクションは、SDS-PAGE により同一の単一バンドを示すことから、それらは分子量約14万のサブユニットのそれぞれ 2 量体、4 量体、および分子間凝集体であると考えられる。

*E. corrodens* 凝集因子の化学分析の結果、本凝集因子はムチン型の糖タンパクであり、その構成成分の約73%が糖で、構成糖のモル比はガラクトサミン、グルコサミン、ガラクトース、フコース、シアアル酸がそれぞれおよそ 2 : 1 : 2 : 1 : 1 の割合を示した。また、構成アミノ酸として、プロリン、スレオニン、セリン、アラニンが多く検出された。

本凝集因子による *E. corrodens* 1073 株の凝集は菌体表層に存在すると考えられる細菌レクチン様タンパクと *E. corrodens* 凝集因子の糖側鎖に位置する N—アセチル—D—ガラクトサミン (GalNAc) 類似レセプターとの結合により発現することが明らかになった。一方、頬粘膜上皮細胞への *E. corrodens* の付着もこれと類似の機構、すなわち、*E. corrodens* 菌体表層のレクチン様タンパクと頬粘膜上皮細胞表層の GalNAc 類似レセプターとの結合であることが既に当教室の Yamazaki らにより報告されている。以上のことから、*E. corrodens* の口腔粘膜への付着は本凝集因子の存在により競合的な阻害を受けていることが推定された。

次に本凝集因子が *E. corrodens* に特異的なものであるかどうかを 20 菌種、47 菌株の細菌を用いて検討した。さらに顎舌下腺唾液あるいは全唾液によるこれらの細菌凝集反応についても検討を加えた。その結果、*E. corrodens* 凝集因子は次の様な多様な細菌をも凝集させた。すなわち、セロタイプ b に属する 2 株の *S. mutans*、供試したすべての *Actinomyces*、*Bacterionema matruchotii* 14266 株、*Bacteroides gingivalis* 381 株、*Bacteroides melaninogenicus* subsp. *intermedius* 24 株、供試したすべての *Actinobacillus actinomycetemcomitans*、*Capnocytophaga sputigena* # 4 株であった。しかも、これらの細菌凝集反応は GalNAc の存在によっても阻害されなかったことから、その凝集機構は *E. corrodens* 1073 株とは異った機構であることが示唆された。さらに、精製した *E. corrodens* 凝集因子とは凝集しないが、顎舌下腺唾液および全唾液により、あるいは全唾液とのみより凝集する細菌が存在した。このような多彩な凝集反応の結果は、唾液中には今回精製した糖タンパク以外にも複数の細菌凝集因子が存在することを強く示唆している。

#### 論文の審査結果の要旨

本論文は *Eikenella corrodens* を凝集する因子をヒト顎舌下腺唾液より分離精製し、その生化学的性状ならびに凝集機構について検討したものである。

その結果、この凝集因子はサブユニット分子量約14万のムチン型糖タンパクであることが明らかとなった。またこの菌凝集反応は N—アセチル—D—ガラクトサミン (GalNAc) により特異的に阻止されることから、この凝集は細菌性レクチン様物質と唾液凝集因子の糖側鎖に位置する GalNAc との結合

により発現すると推定された。さらに、この凝集因子は *E. corrodens* 以外のいくつかの口腔細菌種をも凝集せしめるが、この場合には GalNAc による凝集阻害が生じないことから、その凝集機構は *E. corrodens* の場合とは異なることが示唆された。

福原君の論文は歯周病関連細菌として注目されている *E. corrodens* の口腔内定着機構を、唾液と本菌との相互関係という観点から考察し、いくつかの新しい知見を提示したものであり、歯学博士の学位請求に値する極めて価値ある業績と認める。