

Title	歯周病原性細菌Eikenella corrodensのヒト頬粘膜上皮細胞への付着機構の解析と付着に關与する細菌レクチン様物質の部分精製について
Author(s)	山崎, 洋治
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34869
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【8】

氏名・（本籍）	やま	ざき	よう	じ
	山	崎	洋	治
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	6685	号	
学位授与の日付	昭和60年1月8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	歯周病原性細菌 <i>Eikenella corrodens</i> のヒト頬粘膜上皮細胞への付着機構の解析と付着に關与する細菌レクチン様物質の部分精製について			
論文審査委員	(主査)			
	教授	岡田	宏	
	(副査)			
	教授	常光	旭	教授 小谷 尚三 助教授 大嶋 隆
	講師	滝川	正春	

論文内容の要旨

感染が成立するには、細菌が局所組織に定着し増殖して病原性を発揮することが必須である。グラム陰性の通性嫌気性細菌 *Eikenella corrodens* は歯周炎患者の歯周ポケットから比較的高頻度に分離され、これを無菌ラットに単一感染させると顕著な歯槽骨破壊を伴う歯周炎が惹起されることから歯周病原性菌の1つとして注目されている。

本研究は、*E. corrodens* がいかなる機構で歯一歯肉溝領域に定着して、歯周病原性を発揮するかを解明する目的で行なった一連の研究の1つである。本論文は、歯肉溝上皮細胞を用いるのが適当であるが、量的な制約から頬粘膜上皮細胞を代用して、①本菌の上皮細胞への付着機構、ならびに②付着に關与する菌体成分の精製とその性状を明らかにしたものである。

近年、細菌の宿主細胞への付着機構を解明するための研究が活発に行なわれ、ある種の細菌の宿主細胞への付着は、細菌表層に存在する付着因子を介した宿主細胞表層のレセプターへの特異的結合に依存していることが明らかにされてきた。

E. corrodens 1073株のヒト頬粘膜上皮細胞への付着反応は時間、細菌濃度、温度、pHおよびCa²⁺に依存する反応であり、細菌細胞をトリプシンまたは加熱前処理（100℃、10分間）すれば付着が生じない。また、トリプシンおよびプロナーゼによる上皮細胞の前処理も細菌の付着を減少させた。一方、上皮細胞のノイラミニダーゼ前処理は逆に付着を増大させ、さらにノイラミニダーゼ処理した上皮細胞を過ヨウ素酸で酸化またはガラクトシダーゼで処理しても細菌の付着は減少しなかった。そして、この付着反応はN-アセチル-D-ガラクトサミン (GalNAc) あるいはD-ガラクトース (Gal)を含む糖により特異的に抑制された。

以上の結果から、*E. corrodens* 1073 株は、細菌細胞表層のレクチン様物質を介してヒト頬粘膜上皮細胞表面の糖タンパク質の糖鎖内部に位置するGalNAcあるいはGal類似レセプターに付着することが示唆された。

そこで、この付着に際して決定的な役割を果たしていると推定されるレクチン様物質を *E. corrodens* 1073 菌体より精製し、その性状を検討した。*E. corrodens* 1073 株のレクチン様物質は、機械的方法では細胞エンベロープから殆ど遊離せず、Triton X-100 処理と超音波処理を併用することにより Triton X-100 に可溶化した。可溶化したレクチン様物質は、アフィニティ・ゲルガラクトサミンによるアフィニティクロマトグラフィーおよびトヨパーラ HW-65 によるゲル濾過により、赤血球凝集力価に換算して約 256 倍に精製された。この最終標品は、水または PBS には不溶性であったが（この理由により、以下、部分精製標品と称する）、SDS に可溶化して SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動で 1 本のタンパク質バンドを示すこと、100 μg のタンパク質あたり 14.4 μg のヘキソースを含み、構成アミノ酸はアラニン、アスパラギン酸、グリシンおよびスレオニンを多く含むことを明らかにした。また本標品には、微量の内毒素活性の混入を認めるが、ペプチドグリカンに特徴的な構成成分であるムラミン酸、グルコサミンおよび 2,6-ジアミノピメリン酸は検出されなかった。この部分精製標品による赤血球凝集反応は Ca^{2+} 依存性で、GalNAc および Gal を含む糖によって特異的に抑制された。

E. corrodens 1073 株から得られたレクチン様物質がきわめて少量であったため、頬粘膜上皮細胞への付着におけるレクチン様物質の役割を直接的に証明することはできなかった。しかし、このレクチン様物質による赤血球凝集反応は、当教室の恵比須ら（1983）がすでに報告している *E. corrodens* 1073 菌体による赤血球凝集反応と全く同一の反応様式であり、さらに本研究で明らかにした *E. corrodens* 1073 菌体の頬粘膜上皮細胞への付着特性もこれと同一様式であることから、このレクチン様物質がヒト頬粘膜上皮細胞への付着に関与している決定的な菌体側因子であることが強く示唆される。

論文の審査結果の要旨

本研究は歯周病関連細菌である *Eikenella corrodens* 1073 株のヒト頬粘膜上皮細胞への付着機構ならびに付着に関与する菌体成分の精製方法を検討したものである。

その結果、本菌は細胞表層のレクチン様タンパクを介して頬粘膜上皮細胞表面の糖タンパクの糖鎖に結合し、その結合は N-アセチル-D-ガラクトサミンあるいは D-ガラクトースを含む糖により特異的に抑制されることが明らかにされた。さらに、このレクチン様タンパクを細胞表層画分から Triton X-100 抽出、Affi-Gel[®] ガラクトサミンによるアフィニティクロマトグラフィーおよびゲル濾過により部分精製されることが示された。

以上のように山崎君の論文は *E. corrodens* (1073 株) の口腔内定着機構の重要な部分を明らかにする上で貴重な知見をもたらし、併せて細菌表層に局在する細菌レクチンの分離と精製手段に大きな手掛りを与えたものであり、歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。