

Title	歯周病原性細菌Eikenella corrodensによる異種菌体間凝集反応の解析 : モノクローナル抗体の利用
Author(s)	中江, 英明
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/35339">http://hdl.handle.net/11094/35339</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

## 【10】

氏名・(本籍)	中 江 英 明
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 7 6 9 5 号
学位授与の日付	昭 和 6 2 年 3 月 2 6 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	歯周病原性細菌 <i>Eikenella corrodens</i> による異種菌体間凝集反応 の解析——モノクローナル抗体の利用——
論文審査委員	(主査) 教 授 岡 田 宏
	(副査) 教 授 作 田 正 義 助 教 授 大 嶋 隆 講 師 高 田 春 比 古

## 論 文 内 容 の 要 旨

同種あるいは異種の細菌細胞間に生じる菌体同士の付着、すなわち菌体間凝集反応はプラーク形成の過程で重要な部分を占めると考えられている。そこで、ヒト歯周炎の歯周ポケットから検出され、しかも実験動物に単一感染させると歯槽骨吸収を伴う歯周炎を惹起することが明らかにされている *Eikenella corrodens* 1073 と数種の口腔細菌との間に生じる菌体間凝集について検討した。

*E. corrodens* 1073 は検討した 15 菌種 42 菌株中、*Streptococcus mutans* E49 および OM Z 176, *Streptococcus sanguis* ST 160 R および 34, *Actinomyces viscosus* T 14 A V および A T C C 19246, *Propionibacterium acnes* 11828, *Bacteroides gingivalis* 381 との間に菌体間凝集が生じることが観察された。

そこで、この *E. corrodens* 1073 と凝集する 8 菌株のうち、*S. sanguis* の 2 株と *A. viscosus* の 2 株ずつを選び、*E. corrodens* 1073 との間の 4 通りの菌体間凝集反応の機構を検討した。これら 4 つの菌体間凝集反応はいずれも、温度や NaCl 濃度には依存しない反応であったが、pH に依存した反応であった。また、EDTA の存在はこれらの菌体間凝集反応をほぼ完全に抑制したが、 $Ca^{2+}$  を反応系に添加することにより菌体間凝集反応は回復した。*E. corrodens* 1073 菌体を加熱 (100°C 10 分間) したり、トリプシンやプロナーゼで処理することにより、4 菌株との間の菌体間凝集活性は大幅に低下したが、*A. viscosus* や *S. sanguis* 菌体側を同じように処理しても、凝集活性はほとんど変化しなかった。さらに、これらの菌体間凝集反応は、いずれも N-アセチル-D-ガラクトサミン (以下 GalNAc と略す)、D-ガラクトースあるいは非還元性末端に D-ガラクトースを含む糖により、特異的に阻害された。

以上の結果は、*E. corrodens* 1073 と 4 菌株の細菌細胞との間の菌体間凝集反応において *E. corro-*

dens菌体に存在する細菌レクチン様物質（以下LSと略す）が重要な役割を演じていることを示唆するものである。そこでLSに対するモノクローナル抗体を作製して、これらの菌体間凝集反応機構をより詳細に解析した。

LSに対するモノクローナル抗体は4種類（moAnti-LS 1, 2, 3および4）得られ、いずれもLSによる赤血球凝集反応およびE. corrodens 1073と4菌株との間の菌体間凝集反応を完全に阻害した。moAnti-LS 1, 2, 3および4はすべてIgGクラスで、サブクラスは moAnti-LS 1および2がIgG 2 bで、moAnti-LS 3および4がIgG 1であった。これら4種のmoAnti-LSのLSに対する作用部位を検討した結果、moAnti-LS 1がLSの付着活性部位の最も近くを認識し、moAnti-LS 2, 3および4はそれよりやや離れた部位を認識することが示唆された。次に、このmoAnti-LS 1を用いて、E. corrodensの中でも付着活性の高い1073株と付着活性の低い1080株のLS量をELISA法で比較した結果、1073株と1080株の間における赤血球凝集活性および菌体間凝集活性は、それぞれの菌体表層に存在するLSの量の多寡に依存していることが示唆された。

LSはE. corrodens 1073の菌体表層の夾膜様構造物あるいは細胞壁に存在していることが免疫電顕法により示唆された。この結果は、種々の口腔細菌と菌体間凝集を起こすA. viscosus T14VのLSが繊毛上に位置している存在様式とは異なっている。

以上の結果から、E. corrodens 1073と4菌株との間の菌体間凝集反応において、E. corrodensの菌体表層に強固に結合しているLSが決定的な役割を担っていることが明確になった。この反応機序は、E. corrodens 1073のLSと標的細胞のGalNAc類似レセプター間の反応であることが示されている、E. corrodens 1073とヒト赤血球凝集反応、モルモット腹腔マクロファージへの付着反応およびヒト頬粘膜上皮細胞への付着反応における機序と基本的には同一であった。

このように、E. corrodensとプラーク細菌との間に菌体間凝集が生じるという観察は、E. corrodensが口腔内に定着するに際して、直接歯面や粘膜上皮細胞へ付着する以外にも、プラーク中にある特定の菌がすでに定着していればその菌に付着すること、すなわち菌体間凝集を起こすことによりプラーク中に定着できることを示唆するものである。

## 論文の審査結果の要旨

菌体間凝集反応は歯肉縁下プラークの形成過程で重要な役割を演じていると考えられているが、その詳細は明らかでない。

そこで中江君は成人の歯周炎の歯周ポケットから検出され、動物に歯周病原性を発揮することが示されているEikenella corrodensと他の口腔細菌との菌体間凝集反応を検討した。その結果、本菌はStreptococcus sanguisおよびActinomyces viscosusと凝集した。これらの菌体間凝集反応は、本菌の菌体成分である細菌レクチン様物質（LS）を介する単一様式であること、さらにLSは夾膜様構造物あるいは細胞壁に存在することを明らかにした。また付着活性の異なる本菌種の2株はLS量が異な

り、付着活性がL S量の多寡に依存することを証明した。

以上のように、中江君の論文は従来報告されている線毛様構造物を介する菌体間凝集機構と異なる機構が存在することを明らかにして、今後歯内縁下プラーク形成の機構を解明する上に貴重な新知見を提供したものであり、歯学博士の学位請求に十分値するものと認められる。