



Title	Bacteroides gingivalis 線毛蛋白の経口免疫によるマウスの体液性免疫応答の誘導に関する研究
Author(s)	島内, 英俊
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/36815
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	しま 島	うち 内	ひで 英	とし 俊
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	9 0 1 8	号	
学位授与の日付	平成	2 年 3 月 14 日		
学位授号の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学位論文題目	<i>Bacteroides gingivalis</i> 線毛蛋白の経口免疫によるマウス の体液性免疫応答の誘導に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教 授	岡田 宏		
	(副査) 教 授	浜田 茂幸	助教授 鳥居 光男	助教授 小川 裕三

論 文 内 容 の 要 旨

線毛 (fimbriae, pili) は、多くの細菌の菌体表層に観察される纖維状構造物であり、細菌の生体への付着あるいは菌体間の相互作用に関与すると考えられている。成人性歯周炎の有力な原因菌のひとつとして注目されている *Bacteroides gingivalis* の菌体表層にも、線毛構造が存在することが知られている。また、成人性歯周炎患者の血清中には同菌種の線毛抗原に対する抗体価の著しい上昇が認められること、さらに、歯周炎の悪化に伴って、病巣部歯肉組織中に同線毛抗原に対する特異抗体産生細胞が著しく増加することが明らかにされている。これらの所見から、*B. gingivalis* の線毛が強い免疫原性を有しており、同菌の感染に繰り返して宿主の免疫応答が全身ならびに局所的に誘導されることが示唆される。

本研究は、細菌の表層蛋白抗原に対する宿主の免疫応答を解析することを目的として、*B. gingivalis* 381 株より分離・精製した線毛抗原を用いて、種々の条件下でマウスを免疫し、血清中ならびに唾液中に誘導される免疫応答性について検討したものである。

免疫に用いた線毛蛋白は、*B. gingivalis* 381 株菌体より物理的に剥離し、DEAE-Sephadex Fast Flow イオン交換クロマトグラフィーにより精製した。免疫処置を行う際、ムラミルジペプチド (MDP) のアシル誘導体である MDP-Lys (L18)，あるいは *Lactobacillus plantarum* の細胞壁由来の半合成ジサッカリドテトラペプチドである GM-53 をアジュバントとして用いた。

実験動物としては、雄性 (5~6 週齢) の BALB/c, DBA/2, CBA/J, C3H/HeN, C3H/HeJ, C57BL/6, C57BL/10, B10.D2 および B10.BR マウス (10~12 匹/群) を用い、所定量の線毛抗原を単独あるいはアジュバントと共にトリス塩酸緩衝液 (pH 8.0) に溶解したもの、あるいはリポソームに取り込ませたものをそれぞれ免疫原とした。経口免疫では、0, 1, 27,

28日目に、皮下免疫では0、28日に各々免疫した。最終免疫後5日目に、ジエチルエーテル麻酔下で眼窩下静脈叢より採血し、またネンブタール麻酔下でピロカルピン刺激により唾液を採取した。血清ならびに唾液中の抗線毛抗体濃度の測定は酵素結合抗体免疫アッセイ（ELISA）を用いて行い、免疫グロブリンのクラスならびにIgGのサブクラス別に検討した。

B. gingivalis 線毛抗原をリポソームと共にBALB/cマウスに経口投与すると、血清中の抗線毛抗体、特に特異IgGI抗体濃度が上昇した。さらに、アジュバントとしてGM-53を添加すると、血清中の特異抗体の産生増強が認められた。また、唾液中においては、線毛抗原をGM-53と共に経口投与した場合に特異IgA抗体濃度の上昇が認められ、皮下投与群のそれを上回った。

線毛抗原の経口投与群において、血清中の抗線毛抗体濃度の経日的変化を調べると、初回免疫7日目にIgMが、ついで21日目にIgGが上昇し、27、28日の1回目の追加免疫により全ての免疫グロブリンクラスの抗体濃度の上昇が認められた。なかでも、特異IgA抗体濃度については、初回免疫後123、124日目に行った2回目の追加免疫により27、28日の1回目のそれを凌ぐ上昇を示した。また、唾液中の特異抗体濃度の経日的変化については、初回免疫後27、28日の1回目追加免疫後、特異IgA抗体濃度が明確に上昇し、123、124日の2回目の追加免疫によりさらにその抗体濃度が上昇したが、IgGクラスの上昇は認められなかった。

線毛抗原をGM-53と共にリポソームに取り込ませて、系統の異なる種々のマウス、すなわち、BALB/c、DBA/2、C57BL/6、CBA/J、C3H/HeNならびにC3H/HeJに経口投与したところ、特に、BALB/cやDBA/2マウスにおいて血清ならびに唾液中の抗線毛抗体濃度の顕著な上昇が認められた。さらに、この免疫応答性の差異について、B10コンジェニックマウスを用いて詳細に検討すると、血清中ならびに唾液中の抗体濃度の上昇の程度は、B10. D2(H-2^d)>B10. B R (H-2^k)>C57BL/10 (H-2^b)マウスの順に高かった。以上の研究結果より、経口投与による線毛抗原に対する免疫応答性は、H-2ハプロタイプにより遺伝学的に拘束されると考えられる。

以上、本研究により、*B. gingivalis* 線毛抗原をアジュバントリポソーム複合体としてマウスに経口投与すると、血清ならびに唾液中に抗線毛抗体が産生増強されることが明らかとなった。さらに、線毛抗原に対するマウスの免疫応答性の違いは遺伝学的背景に基づくことが明らかにされた。

論文の審査結果の要旨

本論文は、*Bacteroides gingivalis* 381株より分離・精製した線毛抗原を用いて、種々の免疫条件下でマウスに投与し、血清ならびに唾液中に誘導される免疫応答性について検討したものである。

その結果、1) 同線毛抗原をリポソームと共にBALB/cマウスに単独経口投与すると、主として血清中の特異IgGI抗体濃度が上昇し、また半合成アジュバントGM-53を添加すると、血清中の特異抗体の産生増強のみならず、唾液中の特異IgA抗体濃度の有意の上昇が認められた。2) 線毛抗原の経口投与群において、血清中の特異抗体濃度の経日的変化を調べると、初回免疫後まずIgMが、ついで

Ig Gが上昇し、追加免疫により全ての免疫グロブリンクラスの抗体濃度の上昇が認められ、特に特異 Ig A抗体濃度は、2回目の追加免疫により1回目のそれを凌ぐ上昇を示した。一方、唾液中の特異 Ig A抗体濃度においても同様のパターンを示したが、Ig Gクラスについてはその上昇は認められなかった。3) 線毛抗原をGM-53と共に経口投与した系統の異なるマウスにおける血清ならびに唾液中の抗体濃度の上昇の程度は、H-2ハプロタイプにおいて $H-2^d > H-2^k > H-2^b$ の順であり、線毛抗体に対するマウスの免疫応答性が遺伝学的に制御されていることを明らかにした。

以上の業績は、細菌の菌体表層抗原に対する宿主の免疫応答性を理解する上で新たな知見を提示すると同時に、歯周病患者の感染実態を免疫学的に検討する基礎資料となるものであり、歯学博士の学位請求に値するものと認める。