

Title	Chemical, immunobiological and antigenic characterizations of lipopolysaccharides from <i>Bacteroides gingivalis</i> strains.
Author(s)	藤原, 卓
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36826">https://hdl.handle.net/11094/36826</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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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)	ふじ 藤	わら 原	たく 卓
学位の種類	歯	学	博 士
学位記番号	第	9 0 1 7	号
学位授与の日付	平成 2 年 3 月 14 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	Chemical, immunobiological and antigenic characterizations of lipopolysaccharides from <i>Bacteroides gingivalis</i> strains. ( <i>Bacteroides gingivalis</i> リポ多糖体の化学的, 免疫生物学的, ならびに血清学的性状に関する研究)		
論文審査委員	(主査)	教授 祖父江鎮雄	
	(副査)	教授 浜田 茂幸	講師 加藤 幸夫 講師 木村 重信

### 論文内容の要旨

歯周病原菌の一つと目されているグラム陰性嫌気性桿菌 *Bacteroides gingivalis* のリポ多糖体 (LPS) は多彩な生物活性を示し, 細菌と宿主との免疫反応を修飾すると同時に, 抗原としても機能し, 免疫調節物質と抗原の両面から歯周病の発症に深くかかわっていると考えられる。この LPS の化学組成, 生物学的活性が, 通常の LPS といくつかの重要な点で異なることが報告されているが, 多数の菌株を供試して, 広範囲に調べられた報告は見当たらない。本研究は, 7 菌株の *B. gingivalis* より LPS を同一の調製法により抽出しその化学組成, 生物学的活性, 免疫原性について比較検討したものである。

供試した菌株は *B. gingivalis* 381, ATCC33277, BH18/10, OMZ314, OMZ409, 6/26 および HW24D-1 株の 7 株で, LPS は凍結乾燥菌体より温フェノール水抽出後, 超遠心分離とスクレアーゼ処理を繰り返して精製した。

比色定量とガスクロマトグラフィー, およびガスクロマトグラフィー質量分析によって求められた *B. gingivalis* LPS の化学組成はラムノース, 各種ヘキソース, グルコサミン, 脂肪酸, リン等であった。通常の比色定量法では有意のヘプトースと 2-ケト-3-デオキシオクトン酸 (KDO) は検出されなかったが, 3M 塩酸水解によってリン酸化 KDO が検出された。

*B. gingivalis* LPS を構成する脂肪酸の特徴的所見は, 分枝型  $\beta$ -ヒドロキシ脂肪酸の存在であり, 通常 LPS にみられる  $\beta$ -ヒドロキシミリスチン酸は検出されなかった。これらの結果は *B. fragilis* などの LPS について調べられた報告とよく一致しており, この分枝型  $\beta$ -ヒドロキシ脂肪酸は *Bacteroides* 属 LPS に広くかつ特徴的に存在するものと考えられる。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) では, 供試した LPS は, S 型 LPS

に特徴的な梯状のバンドパターンを示した。381, ATCC 33277, BH18/10の3株、及び OMZ 314とHW24D-1株のLPSのパターンは、それぞれ酷似するものであった。さらに6/26株のLPSは、前者のグループに、一方OMZ 409株のLPSは後者のグループに似たパターンを示した。

供試したすべての *B. gingivalis* のLPSは、LPS応答性のC3H/HeNマウスに対してのみならず、LPS非応答性のC3H/HeJマウスに対してもマイトジェン活性と多クローン性B細胞活性化活性を発現した。供試LPSの局所Shwartzman 反応準備能は、標準として用いた *E. coli* のLPSの1/100以下であった。発色試薬を用いたリムルステストによれば、供試した *B. gingivalis* LPSは、標準として用いた *E. coli* のLPSと比較すると約1/2の発色であった。これらの生物学的活性は、化学分析の結果から示唆されるLPSの化学構造の特異性、すなわち脂肪酸組成が示している lipid A 部分や、リン酸化KDOの存在、ヘプトースが検出されないといったコア部分の構造の相異と密接な関係にあると考えられる。

本研究で調製、供試したすべての *B. gingivalis* LPSに対するウサギ抗血清やマウス単クローン抗体 (mAb) は、*B. gingivalis* 以外の菌に由来するLPSと反応性を示さなかった。また *B. gingivalis* 6/26株のLPSに対する mAb の一つは供試したすべての *B. gingivalis* LPSと、ELISAならびにゲル内沈降反応で反応した。これらの結果はいずれもLPSが本菌種に特異的な抗原であることを示している。

さらに381株、6/26株LPSに対するいくつかのmAbは381, ATCC 33277, BH18/10, 6/26の4株に由来するLPSとのみ反応した。一方、HW24D-1株LPSに対するmAbはOMZ 314, HW24D-1, OMZ 409の3株由来のLPSとのみ反応し、これらの結果より *B. gingivalis* はLPSの血清学的特異性に基づいて少なくとも2つの血清型に分類できることが明らかになった。各血清型内のLPSはSDS-PAGEで、それぞれ非常に類似したパターンを示しており抗原性との相関性が高いものと考えられる。

以上のように *B. gingivalis* のLPSは、生物学的活性や構成脂肪酸などの点で共通性を示し、菌種に特異的な抗原性を有する一方、SDS-PAGEのバンドパターンや抗LPS mAbを用いた解析において特異性が認められ、*B. gingivalis* の菌株はいくつかの集団に分類できる可能性が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は歯周病の重要な病原細菌種の1つと考えられる *Bacteroides gingivalis* の7菌株の培養菌体からリポ多糖体 (LPS) を抽出、精製し、それらの化学的、免疫生物学的、血清学的性状について比較検討したものである。その結果、*B. gingivalis* のLPSは大腸菌などの腸内細菌属のLPSとは異なる化学組成を示し、LPSの血清学的特異性に基づいて少なくとも2群に分類可能なこと、さらに、これら *B. gingivalis* LPSのいずれの血清群も他の口腔 *Bacteroides* 種のLPSとは免疫化学的な

特異性を異にすることを明らかにした。一方、*B. gingivalis* のLPSには複数の血清群が存在するにもかかわらず、マウスリンパ系細胞に対する免疫生物学的諸活性や古典的内毒素様活性の発現様式は酷似することを併せて示した。

従来、*B. gingivalis* のLPSについての知見は1,2の菌株について得られたものに限られており、本研究で明らかにされたLPSの血清学的分類についての知見は細菌分類学的にもきわめて興味深いものである。以上のように*B. gingivalis* の多くの菌株のLPSについて詳細な解析を行った藤原 卓君の研究は、歯周病原菌である*B. gingivalis* の細菌学的性状の解明に大きく寄与するものであり、歯学博士の学位に値するものと認める。