The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	歯周炎患者血清中の抗Porphyromonas gingivalis抗体に対する抗イディオタイプ抗体の解析
Author(s)	河井, 敬久
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38055
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【6】

氏　　名	河　井　敬　久（かわい　としひさ）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　10691　号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学　位　論　文　名	**歯周炎患者血清中の抗 Porphyromonas gingivalis 抗体に対する抗イディオタイプ抗体の解析**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　岡田　宏 （副査） 教　授　浜田　茂幸　　教　授　雫石　聡　　講　師　開　祐司

論　文　内　容　の　要　旨

（研究目的）

感染症，癌，および自己免疫疾患においてイディオタイプ（Id）ネットワークは重要な免疫調節機構であることが種々の研究で実証されている。しかし歯周炎においては，これまでのところ Id に関する研究は全くなされていない。そこで本研究では，歯周病関連細菌の一つである Porphyromonas gingivalis（P.g.）に特異的なマウスモノクローナル抗体を用いて，歯周炎患者血清中の抗 Id 抗体の存在の証明，およびその抗 Id 抗体の特性について検討を加えた。

（実験材料および方法）

1．被験者：本学歯学部附属病院歯周病診療室の外来患者で，進行した辺縁性歯周炎と診断された10名（平均31.5才，23才～47才）を被験者とし，初診時の静脈血を採取した。対照として健康な歯周組織を有する10名（平均31.7才，25才～39才）から採血を行なった。なお被験者には，予め研究目的の採血である旨を説明し承諾を得た。

2．モノクローナル抗体（MoAb）：P.g.を BALB／c マウスに免疫して P.g. に反応する MoAb を産生する20クローンのハイブリドーマを得た。さらに，この抗 P.g.-MoAb の一つを同系マウスに免疫してこの Id を認識する抗 Id-MoAb を得た。

3．イムノブロット法：P.g. の超音波破砕上清を SDS-PAGE にて展開し，これをニトロセルロース膜に転写した後，各種 MoAb を反応させ，酵素標識抗体を2次抗体として反応させ染色パターンを比較した。また，抗原エピトープの過ヨウ素酸，およびトリプシンに対する感受性も検討した。

4．アフィニティクロマトグラフィ：MoAb を結合させた Sepharose 4 B で P.g. の超音波破砕上清から MoAb が認識する特異抗原物質（以下PF18-Ag）を精製した。

5．免疫電子顕微鏡観察：MoAb が認識する P.g .の抗原物質の菌体上の局在をコロイダルゴールドで染色し，透過型電子顕微鏡で観察した。

6．固相酵素抗体法（ELISA）：P.g. 全菌体，或は線毛，リポ多糖等の精製抗原を96穴 ELISA プレートに吸着させ，これに対する試料中の抗 P.g. 抗体活性を測定した。また，P.g. を吸着させたプレート上での各 MoAb とヒト血清 IgG との競合性を検討した。

抗Id活性の測定には，MoAb から Fab を分離精製し，これを吸着させたプレートを用いた。さらに同様のプレートを用いて，ヒト血清中の抗 Id 活性がどの MoAb あるいはどのような抗原物質で阻害を受けるものかを検討した。

8．マウス血清中のIdおよび抗Id抗体：マウスにP.g.を免疫し，血清中の抗P.g.抗体及び抗Id抗体の活性を経時的に測定した。

（結　　果）

1）20クローンのマウス抗P.g.-MoAbをイムノブロット法での染色パターンの相同性から4群に分類し各々から1クローンずつを選び，これらのMoAbとヒト血清との競合性をELISAで検討した。その結果，4種のMoAbのうちPF18が全被験患者血清によって強く阻害された。すなわち多数の患者にPF18が認識するものと同一のエピトープに反応する抗P.g.抗体が誘導されていることが示唆された。

2）PF 18はP.g.の表層に局在する抗原を認識する事が免疫電顕から示された。また，PF 18は糖関連エピトープを認識しており，このエピトープはフェノール抽出LPSには存在しないことがイムノブロットおよびELISAの結果から示唆された。

3）PF 18に対する抗Id抗体は，ヒト血清を固相化P.g.抗原で吸収した後に9名の患者血清中に検出されたが健常人血清中には全く認められなかった。

4）患者抗Id抗体は，PF 18自身，PF 18のIdに特異的なMoAbであるAPFI，およびPF 18-Agで阻害されたことから，PF 18の抗原結合部位そのものに向かった抗体であることが示唆された。

5）PF 18に対する抗Id-MoAbのAPFIは，抗Id活性を示した上記9人の患者血清にも反応を示すことから，歯周炎患者間に共通なcross reactive Id（IdX）が存在することが示唆された。しかしながらこのIdXは，2名の健常人にも弱いながらも検出された。

6）P.g.を免疫したマウス血清中にもヒト歯周炎患者と同様に抗PF 18-Id抗体が検出された。その動態はP.g.抗原に対する抗体価の動態と異なっていた。

（考　　察）

歯周炎患者血清中にはPF 18と同じIdを保有する抗P.g.抗体と，それに対する抗Id抗体が存在し，歯周炎においてもIdネットワークにより免疫反応が調節されていることが示唆された。抗PF 18-Id抗体は患者特異的に検出され，歯周炎に対する罹患の有無を判定しうる優れたマーカーであることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は，多くの歯周炎患者の血清中に認められるPorphyromonas gingivalis（以下Pg）に対する抗体と共通の抗原特異性を示すマウスのモノクローナル抗体（PF 18）を用いて患者血清中における抗イディオタイプ抗体を証明したものである。即ち，Pgの糖関連抗原に対する抗体であるPF 18と歯周炎患者の抗体には，動物種を越えて共通のイディオタイプが表現されており，その結果，患者血清においてPF 18に対するイディオタイプ抗体が特徴的にかつ高率に検出された。またマウスに本菌を免疫した時には，追加免疫時に抗イディオタイプ抗体が抗Pg抗体に先行して出現し，抗イディオタイプ抗体が外来抗原に対する抗体産生を調節している可能性を示唆した。

こられの知見はPgによる感染に起因すると考えられる成人性歯周炎において，本菌に対する宿主応答を調節する機構の1つとしてイディオタイプネットワークが重要な役割を演じている可能性を初めて示唆したものであり，本研究は博士（歯学）の学位請求に十分に値するものと認める。