



Title	Porphyromonas gingivalis線毛DNAワクチンによる体液性・細胞性免疫応答の誘導
Author(s)	寺尾, 豊
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41526">https://hdl.handle.net/11094/41526</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	寺尾豊
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第14562号
学位授与年月日	平成11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	「 <i>Porphyromonas gingivalis</i> 線毛 DNA ワクチンによる体液性・細胞性免疫応答の誘導」
論文審査委員	(主査) 教授 浜田 茂幸  (副査) 教授 祖父江鎮雄    講師 島内 英俊    講師 岩本 資己

#### 論文内容の要旨

哺乳動物発現ベクター pcDNA3 のサイトメガロウイルスに由来するプロモーターの下流に歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* の線毛遺伝子 (*fimA*) を組み込み、プラスミド pcDNA3/*fimA* を構築した。同プラスミドを *in vitro* でマウス線維芽細胞 NIH3T3-3 株に遺伝子導入すると、*fimA* 遺伝子特異的逆転写反応 (RT)-PCR により、その線毛 mRNA 特異的発現が認められ、抗線毛抗体を用いたウェスタンブロットにより線毛タンパクの発現が確認された。

pcDNA3/*fimA* を BALB/c マウスの後肢筋肉内へ注射免疫すると、血清中に最終免疫から少なくとも70日以上にわたり、高力価の抗線毛 IgG 抗体の産生を維持した。さらに、pcDNA3/*fimA* の投与経路を(1)後肢筋肉内、(2)唾液腺部、(3)鼻腔へ免疫すると、後肢筋肉内注射および唾液腺注射においても初回免疫から14日後より血清中に抗線毛 IgG 抗体の誘導が認められた。唾液中の抗線毛 IgA 抗体は唾液腺への注射群で28日目より、鼻腔滴下群では42日目より抗体価が上昇した。唾液中の抗線毛 IgG 抗体は唾液腺注射群において検出された。次に、唾液腺注射群から唾液腺単核細胞を分離し、サイトカインの発現を RT-PCR で検索したところ、IgA 産生細胞の分化・増殖・誘導に関与するとされる IL-4, IL-5, IL-6 が非免疫マウスより上昇する結果が得られた。

血清中の IgG 抗体のサブクラスを検索すると、DNA ワクチン注射群では精製線毛皮下注射群と比較して IgG2a が優位であることが示された。さらに、後肢および唾液腺へ DNA ワクチンを注射したマウスの脾臓リンパ系細胞を線毛刺激下で培養し [<sup>3</sup>H] チミジンの取り込み能を測定すると、供試した DNA ワクチン注射マウスでは、著しいリンパ系細胞の増殖活性が認められた。この結果 DNA ワクチン免疫法は投与部位に関わらず、全身系の免疫応答を誘導することが示唆された。ついで、DNA ワクチンを注射したマウスの脾臓 CD8<sup>+</sup>T 細胞の分布をみると、脾臓 CD8<sup>+</sup>T 細胞では後肢筋肉注射マウスおよび唾液腺注射マウスの両群で、IFN- $\gamma$  と IL-2 の遺伝子発現が上昇した。また、唾液腺注射群では非免疫群より高い線毛特異的細胞傷害性 T 細胞の活性が認められ、DNA ワクチン注射による細胞性免疫の誘導が示唆された。

以上の結果より、DNA ワクチン pcDNA3/*fimA* の注射では全身系の血清中 IgG 抗体を主とした体液性免疫だけでなく、細胞性免疫応答の誘導も示唆された。特に、唾液腺部へ DNA ワクチンを直接投与すると、血清 IgG 抗体および細胞性免疫応答が後肢筋肉内注射と同程度に亢進するのみならず、唾液由来の IgA 抗体と IgG 抗体の誘導が可能であり、局所での *P. gingivalis* の定着・増殖・侵入を阻害する有望な選択肢の一つと思われる。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は歯周病原菌の1つである *Porphyromonas gingivalis* の線毛遺伝子 (*fimA*) を組み込んだプラスミド pcDNA3/*fimA* を DNA ワクチンとして BALB/c マウスに投与した場合の体液性・細胞性免疫応答について検索したものである。プラスミドをマウス後肢筋肉内に注射することにより、血清中に抗線毛 IgG 抗体の誘導が高レベルで認められること、さらに、唾液腺部へ注射することにより、血清抗線毛 IgG 抗体ならびに唾液抗線毛 IgA 抗体の誘導が認められることを明らかにした。また、プラスミドの唾液腺注射群では線毛特異的細胞傷害性 T 細胞の活性の上昇が認められ、DNA ワクチン注射により、細胞性免疫が併せて誘導されることを示した。以上、本研究は線毛 DNA ワクチンの投与が体液性免疫および細胞性免疫を明白に誘導することを示したものであり、博士（歯学）の学位に値するものと認める。