

V-17

Bacteroides gingivalis線毛とマクロファージ

○磯貝 浩、磯貝恵美子、高野一雄 (東園大)

Bacteroides gingivalisはグラム陰性の偏性嫌気性桿菌であり、ヒト成人性歯周炎の原因細菌として注目されている。演者らは昨年の本学会においてB. gingivalisが菌体表層に有する縮毛状の線毛を介してヒト頬粘膜上皮細胞に付着することを、線毛に対する単クローン性抗体を作成し明らかにした。しかし線毛の上皮細胞への付着以外の生物活性に関する知見は少なくほとんど知られていない。歯周炎の炎症や組織破壊機構を知るうえで細菌菌体成分の種々の生物活性を明らかにすることは重要である。そこで今回B. gingivalis線毛とりボ多糖を用いマクロファージに対する活性を調べた。さらに有線毛の B. gingivalisから無線毛株を分離し、線毛の有無と菌の付着および赤血球凝集活性との関係を調べた。

マクロファージはBALB/cマウス腹腔に 5% Starch, 5% Proteose peptoneを投与し誘導された腹腔浸出細胞から付着性細胞を回収し用いた。マクロファージの活性は化学発光試験により比較した。無線毛株は線毛に対する単クローン性抗体を添加した培地中で菌の継代を繰り返すことにより誘導した。有線毛および無線毛 B. gingivalis の上皮細胞

への付着活性はヒト頬粘膜上皮細胞を用いて調べた。また両株の赤血球凝集活性を各種動物およびヒト赤血球を用いて比較した。

マクロファージは B. gingivalis 線毛およびリボ多糖の添加により2株性の化学発光の増強を示した。化学発光はDose-dependentであったがリボ多糖に対しては高い反応が見られたのに比較して線毛に対する反応は低かった。

単クローン性抗体添加培地中で継代を繰り返すことにより無線毛株が分離された。分離菌は線毛に対する単クローン性抗体により凝集されず電顕観察で線毛が認められなかった。無線毛株の B. gingivalis によるヒト頬粘膜上皮細胞への付着菌数は有線毛株に比較して低い値を示した。赤血球凝集活性は線毛の有無にかかわらず認められた。マクロファージの化学発光に対する作用は無線毛株が有線毛株に比較して高い反応を誘導した。

V-18

子豚大腸菌下痢症に対する卵黄由来特異抗体の防御効果

○横山英明、仙道さだ子、葛谷光隆、池森 豊、児玉義勝 (ゲン・コーポレーション、岐阜ラボラトリ)

子豚大腸菌下痢症は、抗線毛抗体を経口投与することにより防御できることが知られている。そこで、我々は特異抗体の大量調製方法として鳥類の卵黄中の移行抗体(IgG)に注目し、採卵鶏に大腸菌線毛(987P)を免疫することにより抗線毛抗体を調製し、その防御効果を攻撃試験によって検討した。

材料と方法： 1. 供試菌株：サルスベリ社(米国)より分与された *Escherichia coli* 987P株(09:K103:987P+,ST+)を用いた。 2. 抗線毛抗体の調製：生後50週齢の採卵鶏(ハイラインW-77)に987P線毛抗原を免疫し、卵黄中に移行した特異抗体(凝集価約1000倍)を用いた。 3. 試験方法：抗987P線毛抗体を保有しない母豚から生まれた子豚26頭に生後10時間まで初乳を飲ませた後、抗体投与群(11頭)と対照群(15頭)に分けてアイソレータに収容した。抗体投与群では特異抗体含有人工乳を、対照群では人工乳を直ちに飲ませ、生後20時間目に987P株(2×10^{10} cfu/頭)で攻撃した。その後、抗体投与群では特異抗体含有人工乳を、対照群では人工乳を1日3回飲ませ、臨床症状の観察、体重測定及び直腸便からの攻撃菌の分離を行なった。攻撃後4日目に剖検し小腸各部位からの攻撃菌の分離と粘膜への付着(組織切片における間接酵素抗体法)を観察した。

結果及び考察： 1. 臨床症状：抗体投与群では攻撃後一過性の下痢を呈したが2日後には回復した。対照群では攻撃後約6時間目より激しい水様性下痢を呈し、4日目までに7/15頭が脱水のため死亡した。 2. 直腸便からの攻撃菌の検出：攻撃後1日目では両群共に100%検出されたが、抗体投与群では3日後には検出されなくなった。一方、対照群では剖検時まで100%検出された。 3. 剖検時における小腸各部位からの攻撃菌の回収と粘膜への付着：抗体投与群では十二指腸及び空腸から菌は回収されず、回腸部から1頭のみ回収された。一方、対照群ではいずれの部位からも多数の攻撃菌が回収された。また、病理所見では、抗体投与群は1頭を除き回腸粘膜上皮に攻撃菌の付着が認められなかったが、対照群では同部位に多数の攻撃菌が付着していた。 4. 増体重：抗体投与群では攻撃後1日目に一時的な体重減少を認めたが翌日には非攻撃豚の体重まで回復し、剖検時の増体率は10%であった。これに反して、対照群では攻撃後1日目に体重が著しく減少し、剖検時まで回復傾向が認められず増体率は-20%であった。

これらのことより、採卵鶏に大腸菌線毛を免疫することにより調製した卵黄由来の特異抗体は、子豚大腸菌下痢症の予防に有効と考えられる。