

日本財団補助金による

1999年度日中医学協力事業報告書

—在留中国人研究者研究助成—

H12年 3 月 12 日

財団法人 日中医学協会  
理事長 中島章 殿

研究室で撮影した本人のスナップ写真、及び発表論文のコピーを添付

1. 研究者氏名 李 玲  
研究機関 大阪大学歯学部歯科保存学講座 研究指導者 恵比須 繁之 職名 教授  
所在地 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-8 電話 06-6879-2927 内線 2927

研究テーマ ヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis* 線毛の免疫組織学的検索

2. 本年度の研究業績

(1) 学会・研究会等における口頭発表  有 ・ 無 (学会名・内容)

以下の研究業績を第43回春季日本歯周病学会学術大会(平成12年5月13-14日)にて発表する予定である

《演題名》: ヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis* 線毛の免疫組織化学的検索

《内容》: 本研究では、ヒトの歯周ポケットを可及的に再現した試料を作製し、厚さ3 $\mu$ mの連続薄切片を作製した。切片の一部は、Brown-Brenn染色を施し、他の一部は、調製した抗*P. gingivalis* 381線毛抗体(抗線毛抗体)(1000倍希釈)及び抗*P. gingivalis* 381抗体(抗381抗体)(1000倍希釈)を用いて、酵素抗体法による免疫染色を行った後、光学顕微鏡にてヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis* 線毛抗原の局在性を検索した。その結果、ヒトの歯周ポケットにおいて、抗線毛抗体陽性の*P. gingivalis* を検出した。抗線毛抗体に対する陽性反応は、概して歯周ポケット全域から検出されたが、抗381抗体に比べその検出頻度は低く、染色性は弱かった。さらに、歯周ポケット底部に近づくに従い、歯面に接した部位あるいは近接した部位で*P. gingivalis* の検出頻度が増加する傾向を示した。同部位では、*P. gingivalis* 線毛が歯面への初期付着の役割も担っていると推察された。

(2) 学会誌等に発表した論文  有 ・ 無 (雑誌名・論文名)

日本歯周病学会会誌, 42 (春季特別号), 2000, in press.

李 玲ら. ヒトの歯周ポケットにおける*Porphyromonas gingivalis* 線毛抗原の免疫組織学的検索

### 3. 今後の研究計画

#### 1. 免疫電顕法による*P. gingivalis*と宿主の超微細構造学的解析

光顕による観察結果に基づき、樹脂ブロックより、被検部位を切り抜き、エポンビーム先端に張り付け、ウルトラミクロトームにて連続超薄切片を作製する。得られた連続超薄切片に調製した抗線毛抗体を反応させた後、粒径5nmのコロイド金プローベを反応させ、透過電子顕微鏡にて検索し、*P. gingivalis*線毛抗原と宿主細胞の付着関係の実態を超微細構造的解析する。

#### 2. 免疫2重（線毛-Glycocalyx）染色を用いた透過免疫電顕法による*P. gingivalis*の宿主細胞への付着・定着メカニズムの超微細形態学的解析

得られる連続超薄切片をアルシアンブルーあるいはルテニウムレッドで処理し、Glycocalyx（菌体外多糖）染色を行う。洗浄後、金コロイド標識法による*P. gingivalis*線毛抗原に対する免疫染色を行い、宿主、*P. gingivalis*線毛とGlycocalyxを超微細形態的に検索し、*P. gingivalis*のヒトの歯周ポケットにおける定着・増殖メカニズムを検索する。

### 4. 研究指導者の意見

李玲君は1999年4月より、大阪大学大学院歯学研究科の2年生（歯科保存学専攻）として、《ヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis*線毛の免疫組織学的検索》の研究テーマに取り組み、免疫組織学的及び免疫電顕的手法を用いて、ヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis*線毛抗原の局在性を解析しました。主婦であり、一児の母親であることを感じさせない程の頑張り振りで、真摯に研究に打ち込んで、優れた研究業績をあげました。2000年5月の第43回春季日本歯周病学会にて、《ヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis*線毛の免疫組織学的検索》と題する発表を予定しています。今後、免疫電顕法を用いて、*P. gingivalis*線毛と宿主細胞との相互作用を超微細構造的に解析する予定で、歯周病の有力原因菌の感染実態に関する新しい知見が得られるものと期待しています。

研究指導者氏名 恵比須 繁之



### 5. 研究報告

別紙形式を参考に、報告本文4000字以上で報告して下さい（枚数自由・ワープロ使用）

タイトル・要旨等は日本語で、KEY WORDS以下は日本語或いは英語で記入して下さい。

研究成果の発表予定がある場合は発表原稿・抄録集等を添付して下さい。

論文発表に当っては、日中医学協会-日本財団補助金による旨を明記して下さい。

# ヒトの歯周ポケットにおける *Porphyromonas gingivalis* 線毛抗原の免疫組織化学的検索

李 玲

中国ハルビン医科大学歯学部附属第二病院口腔内科 講師

恵比須 繁之

大阪大学歯学部歯科保存科講座 教授

《要旨》：本研究の目的は、*Porphyromonas gingivalis* がヒトの歯周ポケットにおいて線毛を形成しているか否か、あるいは線毛を介した付着・定着機構の実態を解明することである。*P. gingivalis* 381より分離・精製した線毛標品および全菌体に対する特異抗血清はウサギを用いて通法に従い調製した。ヒトの歯周ポケットを可及的に再現できる試料を調製し、連続薄切切片を作製した。切片の一部はBrown-Brenn染色を施し、他の一部は、調製した抗*P. gingivalis* 381線毛抗体（抗線毛抗体）および抗*P. gingivalis* 381抗体（抗381抗体）を用いて、酵素抗体法による免疫染色を施した後、光学顕微鏡検索に供した。次いで、顕微鏡検索結果に基づき、歯周ポケット底部に位置するいわゆるプラークフリーゾーンに相当する部位の連続超薄切片を作製した。得られた超薄切片に抗線毛抗体と、金コロイドを用いた免疫染色を行い、透過型電子顕微鏡検索に供した。顕微鏡検索の結果、ヒトの歯周ポケットにおいて、抗線毛抗体陽性の*P. gingivalis* を検出した。歯周ポケット浅部では、抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラークから上皮関連プラークまでの広い領域で検出された。浅部での抗線毛抗体に対する陽性反応は、中央部や深部に比べ弱かった。歯周ポケット中央部の抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラーク及び弱付着性プラーク領域で散在性に検出された。歯周ポケット深部の抗線毛抗体に対する陽性反応は、主に歯根付着性プラーク及び弱付着性プラーク領域でみとめられ、上皮関連プラークではあまりみられなかった。さらに、歯周ポケット底部に近づくに従い、歯面に接した部位あるいは近接した部位で検出される頻度が増加する傾向を示した。抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯周ポケットのいずれの深さにおいても、上皮内では検出されなかった。透過電顕による超微細形態的な検索の結果、プラークフリーゾーンのセメント質表面に1-2層堆積したグラム陽性あるいは陰性の桿菌およびスピロヘータの小集団が散在性に観察された他、長桿菌もわずかながら観察された。グラム陰性桿菌が歯面表層のcuticleに接したあるいは近接した部位に局在する傾向がみられた。透過免疫電顕法による検索では、プラークフリーゾーンにおいて金コロイドで標識された*P. gingivalis* 線毛が観察された。*P. gingivalis* は*in vivo* 系においても線毛を形成していると推察されていたが、ヒトの歯周ポケットで*P. gingivalis* が線毛を形成し棲息していることが明らかになり、同菌と歯周組織破壊との関連が改めて示唆された。抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯周ポケット底部の歯面に接した部位あるいは近接した部位で検出され、同部位では、*P. gingivalis* 線毛が歯面への初期付着の役割もを担っていると推察された。

Key Words : *Porphyromonas gingivalis* 線毛, 免疫組織化学, ヒトの歯周ポケット, 免疫電顕法.

## 研究報告

### 《目的》

*Porphyromonas gingivalis*は、その病原性と進行性歯周炎の歯周ポケットからの検出率の高さゆえ、成

*P. gingivalis* 線毛が歯面への初期付着の役割もを担っていると推察された。

Key Words : *Porphyromonas gingivalis* 線毛, 免疫組織化学, ヒトの歯周ポケット, 免疫電顕法.

## 研究報告

### 《目的》

*Porphyromonas gingivalis*は、その病原性と進行性歯周炎の歯周ポケットからの検出率の高さゆえ、成人性歯周炎との関連が注目されている<sup>1-3)</sup>。*P. gingivalis* の病原因子の一つである細胞付着能には、同菌の線毛が深く関与しており、*in vitro*系では、ハイトロキシアパタイトや上皮細胞に対する付着能を有している<sup>4-6)</sup>。しかしながら、*in vivo*系で*P. gingivalis*の線毛発現の実態を検索した報告は皆無であり、ヒトの歯周ポケットにおいて同菌が線毛を発現しているか否か、あるいは線毛を形成した*P. gingivalis*がいずれの部位に局在しているかといったことは、全く解明されていない。我々はヒトの歯周ポケット試料の上で歯周病関連細菌の局在性を検索し、*P. gingivalis*は歯周ポケット全域に散在性に存在すること及び走査免疫電顕法により、ヒトの歯周ポケット底部に、いわゆるプラークフリーゾーンに*P. gingivalis*が生息していることを報告した<sup>7-9)</sup>。本研究の目的は、(1) *P. gingivalis*線毛に対する特異抗体を調製し、免疫組織化学手法により、ヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis*線毛抗原の発現の有無および局在性を検索する、(2) 光顕結果に基づき免疫電顕法によりヒトの歯周ポケット底部(プラークフリーゾーン)における*P. gingivalis*線毛を超微細形態学的に検索することである。

### 《方法》

#### 1. *P. gingivalis* 381線毛抗体と全菌抗体の調製

*P. gingivalis* 381より分離・精製した線毛標品及び*P. gingivalis* 381全菌に対する特異抗血清をウサギを用いて通法に従って精製した<sup>7, 10)</sup>。すなわち、*P. gingivalis* 381より分離・精製した線毛標品(1.0mg)及び*P. gingivalis* 381の凍結乾燥菌体(10mg)を生理食塩水1mlに浮遊させ、等量の Freund の完全アジュバンドと十分に混合し、得られたエマルシヨンの計2mlの体重3kgの雄性ニュージーランドラビットの後背部皮下に0.4mlずつ5か所に分けて注射した。2週間後同様に皮下に追加免疫を行い、さらに、2週間後精製した線毛(0.5mg)あるいはホルマリン処理した*P. gingivalis*菌体を1mg/mlの濃度に滅菌生理食塩水に浮遊させた線毛希釈液あるいは菌液3mlを静脈内にブースター注射した。初回免疫から5週間後採血し、血清を分離した後、濾過滅菌を行った。

#### 2. 抗血清の吸収

得られた抗線毛血清および抗線毛血清を用いて、酵素抗体法 (labeled streptavidin biotin 法) および金コロイド標識法により、種々のプラーク細菌の塗沫標本に免疫染色を施した。交差反応がみられた場合は、供試した菌株により抗血清を吸収した。吸収操作はZambonら<sup>11)</sup>の記載をもとに行った。すなわち、凍結乾燥菌体 (20mg) をウサギ抗血清 1 ml に加え、37℃で1時間浸漬し、さらに4℃にて12時間静置した。そして、7,000×g の遠心により得られた上清を、抗*P. gingivalis* 線毛および抗*P. gingivalis* 381 菌体に対する抗血清として、以下の実験に用いた。

### 3. ヒトの歯周ポケット試料の調製

過去6か月以内に歯周治療の既往がない、重度歯周炎患者のうち、術前診査により保存不可能と診断され、深さ6-10mmの歯周ポケットを有する部位を被験部位とした。歯周ポケットが可及的に再現できるよう歯とその周囲歯周組織を慎重に採取し、得られた試料は直ちにhalf-kaynovsky 溶液で浸漬固定した。洗浄後、上昇エタノール系列にて、脱水し、水溶性メタクリル樹脂に置換後、同樹脂に包埋し、ブロックを作製した。得られたブロックを硬組織切断機 (Buehler limited, Lake Bluff, USA) にて頬舌側方向に縦断し、各ブロック片を10%EDTA脱灰液にて3-4週間脱灰した後、水溶性メタクリル樹脂に再包埋した。

### 4. *P. gingivalis* 線毛抗原の免疫組織化学的検索

調製した樹脂ブロックより硬・軟組織用マイクローム (LEICA RM 2155, Leica Instruments GmbH, Germany) にて連続薄切切片 (3 μm) を調製した。得られた連続薄切切片の一部はBrown-Brenn染色を施し、他の一部切片は調製した抗線毛及び抗381特異抗体を反応させ、酵素抗体法 (LSAB法) による免疫染色を施した。酵素抗体法による免疫染色は、LSABキット (DAKO Corporation, Carpinteria, USA) を用いて行った。すなわち、得られた薄切切片を20% (v/v) 正常ヤギ血清で30分間処理し、1000倍希釈した抗線毛抗体および抗381抗体を1次抗体として室温で1時間反応させた。反応終了後、0.05M トリス塩酸緩衝生理食塩水 (PH7.6, 以下TBSと略す) にて5分間3回洗浄し、2次抗体としてビオチン標識抗ウサギ免疫グロブリン・ヤギ抗体を室温で30分間反応させた。次いで、0.5% (v/v) パーオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを20分間反応させた。洗浄後、発色基質 (Vector Laboratories, Inc. Burlingame, USA) を室温で10分間反応させ、抗原-抗体複合物の発色を確認した後、グリセロールゲルで封入して、光学顕微鏡にてヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis* 線毛抗原の局在部位を観察した。なお、陰性コントロールとして、1次抗体に、正常ウサギ血清を用いて免疫染色を行った。

### 5. 免疫透過電顕試料の調製

光学顕微鏡による観察結果に基づき、歯周ポケット底部に位置する、いわゆるプラークフリーゾーン

に相当する部位を保存していた樹脂ブロックから切り出し、エボンビーム先端に張り付けた。実体顕微鏡の下でトリミング後、ウルトラマイクロトームにダイヤモンドナイフを装着し、厚さ70nmの連続超薄切片を作製した。

## 6. 免疫電顕法による*P. gingivalis* 線毛抗原の検索

超薄切片の免疫染色は金コロイド標識法を用いて行った。すなわち、得られた連続超薄切片を20%正常ヤギ血清に30分反応させ、ブロッキングを施した後、100倍希釈した抗線毛抗体を1次抗体として4℃で2時間反応させた。0.1%BSA-トリス塩酸緩衝生理食塩水 (PH7.6)にて15分間3回洗浄した後、50倍希釈した粒径5 nm金コロイド標識抗ウサギ免疫グロブリン・ヤギ抗体を2次抗体として4℃で1時間反応させた。洗浄後、切片を2%酢酸ウラン染色液にて10分間処理し、蒸留水で洗浄、乾燥後、透過電子顕微鏡 (H-7500, Hitachi) にてヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis* 線毛抗原のを超微細構造的に検索した。

### 《結果》

#### 1. ヒトの歯周ポケットにおけるプラーク細菌の形態学的観察

歯周ポケットにおけるプラーク細菌の分布状態をBrown-Brenn染色を施し観察したところ、歯面及び上皮に近接した部位ではプラーク細菌が密に集合しており、その間で弱付着性プラークと称される領域では菌体の密度は比較的に低かった。プロービング深さ3-4 mm付近の歯根付着性プラーク領域にはグラム陽性の球菌、桿菌およびグラム陰性の糸状菌などを観察され、ポケット底部（プロービング深さ7-8 mm）では、菌体が集合している所と疎かな所が比較的に明瞭であった。歯根に近接した菌体が密に集合した部位では、主にグラム陽性の球状菌及び桿菌がみとめられ、その表層部にグラム陰性の糸状菌が観察された。上皮に近接したところでは、グラム陽性及び陰性の球状菌、桿菌及び糸状菌等が混在して大きな集団を形成していた。

#### 2. 光学顕微鏡にてヒトの歯周ポケットにおける*P. gingivalis* 線毛抗原の免疫組織化学的検索

1) ヒトの歯周ポケットにおいて抗線毛抗体陽性の*P. gingivalis* を検出した。

2) 歯周ポケット浅部では、抗線毛抗体及び抗381抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラークから上皮関連プラーク領域に及ぶ広い領域で検出された。浅部での抗線毛抗体に対する染色性は、中央部や深部に比べ弱かった。歯周ポケット中央部の抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラーク及び弱付着性プラーク領域で散在性に検出されたが、抗381抗体に比べその検出頻度は低く、染色性は弱かった。抗381抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラークから上皮関連プラークまでの広い領域でみとめられた。歯周ポケット深部の抗線毛抗体に対する陽性反応は、主に歯根付着性プラーク領域でみとめら

れ、上皮関連プラークではあまりみられなかった。さらに、歯周ポケット底部に近づくに従い、歯面に接した部位あるいは近接した部位で検出される頻度は増加する傾向を示した。一方、抗381抗体に対する陽性反応は歯根付着性プラークから上皮関連プラークまでの広い領域で検出された。

3) 抗線毛抗体及び抗381抗体に対する陽性反応は、歯周ポケットのいずれの深さにおいても、上皮内では検出されなかった。

## 2. 免疫電顕法によるプラークフリーゾーンにおける*P. gingivalis* 線毛抗原の検索

### 1) プラークフリーゾーンにおける細菌を超微細形態学的観察

セメント質に接した部位に、1-2層のグラム陽性あるいは陰性の短桿菌およびスペロヘータが散在しているのが観察された他、長桿菌もわずかながらみとめられた。グラム陰性桿菌は歯面表層のcuticleに近接して観察される傾向がみられた。さらに、歯面のcuticle表面に細胞を溶解したghost状態の細菌が観察された。

### 2) プラークフリーゾーンにおける*P. gingivalis* 線毛抗原の検索

プラークフリーゾーンにおいて金コロイドで標識された*P. gingivalis* 線毛が主にセメント質に近接した部位で観察された。

#### 《考察》

1. *P. gingivalis* は*in vivo*系においても線毛を形成していると推察されていたが、ヒトの歯周ポケットで*P. gingivalis* は線毛を形成し、棲息していることが明らかとなり、同菌と歯周組織破壊との関連が改め示唆した。

2. 光顕検索より抗線毛抗体に対する陽性反応は、概して歯周ポケット全域から検出されたが、抗381抗体に比べその検出頻度は低く、染色性は弱かった。ヒトの歯周ポケットには、今回使用した抗線毛抗体に未反応な、線毛形成量の少ない*P. gingivalis* も混在している可能性が示唆された。

3. 光顕および電顕検索より抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯周ポケット深部の歯面に接した部位あるいは近接した部位で検出され、同部位では*P. gingivalis* 線毛が歯面への初期付着の役割もを担っていると推察された。

#### 《参考文献》

1. Slots J. et al, *J Periodont Res*, 1985; 20: 613-620.
2. White D. et al, *J Periodont Res*, 1981; 16: 259-265
3. Tanner A. et al, *J Clin Periodontol*, 1979; 6: 278-307

4. Amano A. *et al*, *Infect Immun*, 1994; 62: 3372-3380.
5. Duncan M.J. *et al*, *Infect Immun*, 1993; 61: 2260-2265.
6. Lamont R.T. *et al*, *Infect Immun*, 1995; 63: 3878-3885.
7. Noiri Y. *et al*, *J Periodont Res*, 1997; 32: 598-607.
8. 野杓 由一郎ら, 日誌周誌, 38 (1) : 60-68, 1996.
9. Noiri Y. and Ebisu S. *J Periodontol*, 2000; 71: in press.
10. Yoshimura F. *et al*, *J Bacteriol*, 1984; 160: 949-957.
11. Zambon J. J. *et al*, *Infect Immun*, 1983; 41: 19-27



## ヒトの歯周ポケットにおける *Porphyromonas gingivalis* 線毛の免疫組織化学的検索

大阪大学歯学部歯科保存学講座, \*愛知学院大学歯学部微生物学講座

○李 玲, 野村 由一郎, 吉村 文信\*, 恵比須 繁之

An Immunohistochemical Study on *Porphyromonas gingivalis* Fimbriae Antigen in Human Periodontal Pockets

Department of conservative Dentistry, Osaka University, Faculty of Dentistry

\*Department of microbiology, AICHI-GAKUIN University School of Dentistry

○Li Ling, Yuichiro Noiri, Fuminobu Yoshimura\*, Shigeyuki Ebisu

キーワード: *Porphyromonas gingivalis* 線毛, 免疫組織化学, 歯周ポケット

### 《目的》

*Porphyromonas gingivalis* の病原因子の一つである細胞付着能には、同菌の線毛が深く関与しており、*in vitro* 系では、ハイトロキシアパタイトや上皮細胞に対する付着能を有している。しかしながら、*in vivo* 系で *P. gingivalis* の線毛形成の実態を検索した報告は皆無であり、ヒトの歯周ポケットにおいて同菌が線毛を発現しているか否か、あるいは線毛を形成した *P. gingivalis* がいずれの部位に局在しているかといったことは、全く解明されていない。我々は、ヒトの歯周ポケット試料上で歯周病関連細菌の局在性を検索し、*P. gingivalis* が歯周ポケット全域に散在性に存在するを報告したり・本研究では、ヒトの歯周ポケットにおいて、*P. gingivalis* 線毛を介した付着・定着機構の実態を解明するため、同菌の線毛を免疫組織化学的手法により検索した。

### 《材料と方法》

1. *P. gingivalis* 381線毛抗体及び全菌抗体の調製: *P. gingivalis* 381より分離・精製した線毛標品及び *P. gingivalis* 381全菌体に対する特異抗血清をウサギを用いて通法に従って精製した<sup>1,2)</sup>。
2. ヒトの歯周ポケット試料の調製: 重度成人性歯周炎患者のうち、保存不可能と診断され、深さ6-10mmの歯周ポケットを有する部位を被験部位とした。歯周ポケットが可及的に再現できるよう歯とその周囲歯周組織を採取し、得られた試料は直ちにhalf-karmorsky 溶液中で浸漬固定した。洗浄後、水溶性メタクリル樹脂にて脱水、置換した後、同樹脂に包埋し、厚さ3μmの連続薄切片を作製した。切片の一部は、Brown-Brenn染色を施し、他の一部は、免疫組織化学的検索に供した。
3. *P. gingivalis* 線毛の免疫組織化学的検索: 得られた連続切片に調製した抗 *P. gingivalis* 381線毛抗体 (抗線毛抗体, 1000倍希釈) 及び抗 *P. gingivalis* 381抗体 (抗381抗体, 1000倍希釈) を反応させ、酵素抗体法による免疫染色を行った後、光学顕微鏡にてヒトの歯周ポケットにおける *P. gingivalis* 線毛を検索した。

### 《結果》

1. ヒトの歯周ポケットにおいて、抗線毛抗体陽性の *P. gingivalis* を検出した。
2. 歯周ポケット浅部では、抗線毛抗体及び抗381抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラークから上皮関連プラーク領域に及ぶ広い領域で検出された。浅部での抗線毛抗体に対する染色性は、中央部や深部に比べ弱かった。歯周ポケット中央部の抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラーク及び弱付着性プラーク領域で散在性に検出されたが、抗381抗体に比べその検出頻度は低く、染色性は弱かった。抗381抗体に対する陽性反応は、歯根付着性プラークから上皮関連プラークまでの広い領域でみとめられた。歯周ポケット深部の抗線毛抗体に対する陽性反応は、主に歯根付着性プラーク及び弱付着性プラーク領域でみとめられ、上皮関連プラークではあまりみられなかった。さらに、歯周ポケット底部に近づくに従い、歯面に接した部位あるいは近接した部位で検出される頻度が増加する傾向を示した。一方、抗381抗体に対する陽性反応は歯根付着性プラークから上皮関連プラークまでの広い領域で検出された。
3. 抗線毛抗体及び抗381抗体に対する陽性反応は、歯周ポケットのいずれの深さにおいても、上皮内では検出されなかった。

### 《考察》

1. *P. gingivalis* は *in vivo* 系においても線毛を形成していると推察されていたが、ヒトの歯周ポケットで *P. gingivalis* は線毛を形成し、棲息していることが明らかとなり、同菌と歯周組織破壊との関連が改め示唆された。
2. 抗線毛抗体に対する陽性反応は、概して歯周ポケット全域から検出されたが、抗381抗体に比べその検出頻度は低く、染色性は弱かった。ヒトの歯周ポケットには、今回使用した抗線毛抗体に未反応な、線毛形成量の少ない *P. gingivalis* も混在している可能性が示唆された。
3. 抗線毛抗体に対する陽性反応は、歯周ポケット深部に近づくに従い、歯面に接したあるいは近接した部位で検出され、同部位では *P. gingivalis* 線毛が歯面への初期付着の役割も担っていると推察された。

### 《参考文献》

- 1) Noiri Y. et al, *J Periodont Res*, 1997; 32: 598-607. 2) Yoshimura F. et al, *J Bacteriol*, 1984; 160: 949-957.