各種口腔疾患患者における *Mycoplasma salivarium* ならびに *Mycoplasma fermentans* に対する metabolic inhibition 抗体の保有率について

松浦正朗*・渡辺継男**・高良恒己*
宮本素子*・瀬戸暁一*

Incidence of metabolic inhibition antibody to *Mycoplasma salivarium* and *Mycoplasma fermentans* from patients afflicted with various oral diseases

Masarah MATSUURA*・Tsuguo WATANABE**・Tsunemi TAKARA*
Motoko MIYAMOTO*・Kanichi SETO*

緒 言

mycoplasma は口腔常在菌叢の一員であり、口腔内に常在する species は主として *Mycoplasma salivarium* と *Mycoplasma orale* である^{1,2)}。

これらの mycoplasma が口腔常在菌叢の中でどのような役割を果たし、さらには口腔の感染症とどのようなかわりをもっているかについてはまだ不明である。しかしながらこれまでの研究の過程で、これら 2 種の mycoplasma のうち *M. salivarium* が歯周疾患の病因論を考える上で無視できない factor として浮上してきた^{1,2)}。

われわれは従来より、口腔 mycoplasma と歯周疾患をはじめとするさまざまな口腔疾患とのかかわりあいを探明する目的で、その病原性について主として生化学的^{3,4)}ならびに免疫学的^{5,6)}な面から検討を行っているが、今回は *M. salivarium* と host との interaction をみる目的で、本学付属病院口腔外科を訪れた各種口腔疾患患者について、*M. salivarium* に対する血中抗体の保有率・抗体価の分布等を検索したので、その結果を報告

する。

血中抗体の検出に用いた metabolic inhibition (MI) test は、広域スペクトルの抗生物質が血中に存在する場合には、その影響をうける欠点がある⁷⁾。このため MI test の抗体価に対する抗生物質の影響をチェックする目的で、口腔からはほとんど検出されず、主として尿・生殖器に生息する *Mycoplasma fermentans* に対する MI 抗体をも測定したので、その結果もあわせて報告する。

実験方法ならびに材料

1) 被験者：本学付属病院口腔外科を訪れた各種口腔疾患患者243人(被験血清281検体)を対象とした。

これらの患者を年齢別に分けてみると図1のごとく、10歳以下から80歳以上に及ぶ広い範囲に分布していたが、30歳代が最も多く20~40歳代で全体の約60%を占めていた。

また被験患者の有する疾患は多様であったが、そのうち9症例以上から検体が得られた疾患をあげると表1のごとくであった。症例数8以下のものには、三叉神経痛、顎骨嚢胞、顎骨骨折、抜歯後出血、埋伏歯、唾石症、ガマ腫、舌痛症、褥創性潰瘍、慢性化膿性骨髄炎、リンパ節炎、慢性耳下腺炎等があった。なお併発疾患を有する場合には、原疾患の中に分類した。

2) *mycoplasma* 菌株：*M. salivarium* ATCC 23064 および *M. fermentans* ATCC 19989を使用した。

3) *metabolic inhibition (MI) test* : Purcellら⁸⁾の方法に基づき先に記載した方法⁹⁾により行った。

なお *M. fermentans* に対する MI 抗体の検出には、arginine-HCl のかわりに glucose (1%, w/v) を加え pH を 7.8 に調整した培地を用い、MI test を行った⁹⁾。

* 鶴見大学歯学部第1口腔外科学教室(主任：渡辺義男教授)

** 鶴見大学歯学部細菌学教室(主任：藤田浩教授)

* First Department of Oral Surgery, School of Dentistry, Tsurumi University (Chief: Prof. Yoshio Watanabe)

** Department of Bacteriology, School of Dentistry, Tsurumi University (Chief: Prof. Hiroshi Fujita)

受付日：昭和52年9月22日

図 1 被験症例の年齢分布

結 果

1. MI 抗体の検出率

被験患者全体 (243 例) を通じての *M. salivarium* に対する MI 抗体の検出率は 42.3% (103 例) であり、*M. fermentans* に対しては 3.2% (8 例) であった。

1) 年齢別検出率: *M. salivarium* に対する抗体は、10歳未満の患者からは全く検出されず、10歳以上の患者においては 19ないし 52.8% から検出された。抗体陽性率は 10歳代から 30歳代にかけて増齡的に上昇し、以後著しい変化はほとんど認められなかった (図 2)。

M. fermentans に対する抗体は、20歳未満および 70歳以上の患者からは全く検出されず、20ないし 60歳代の患者から 1.9~10% の頻度で検出された (図 2)。

2) 疾患別検出率: *M. salivarium* および *M. fermentans* に対する抗体の疾患別検出率は、表 1 のごとくで

図 2 *M. salivarium* および *M. fermentans* に対する MI 抗体の年齢別検出率と *M. salivarium* に対する抗体価の年齢別幾何平均値

ある。

M. salivarium に対する抗体は、顎関節疾患、上顎洞炎および術後性頬部嚢胞、辺縁性歯周炎の疾患群からは 60.0~64.2% と比較的高い頻度で、またその他の疾患でも 26~50% の範囲で検出された。

M. fermentans に対する抗体の検出率は、いずれの疾患でもきわめて低く、ある特定の疾患からより高率に検出されるということとはなかった。

2. MI 抗体価

M. salivarium および *M. fermentans* に対する MI 抗体価の分布は図 3 に示すごとくである。

被験血清は MI 抗体価が 16 以上のものを抗体陽性検

表 1 各種口腔疾患患者からの *M. salivarium* および *M. fermentans* に対する MI 抗体の検出率と *M. salivarium* に対する抗体価の幾何平均値

疾 患 名	M. salivarium に対する抗体		M. fermentans に対する抗体検出率
	検 出 率	抗体価の幾何平均値	
アフタ性および潰瘍性口内炎	25.9%	78.9	0%
急性菌性炎症	38.0	240.5	1.4
根尖性歯周炎および歯根嚢胞	41.1	64.0	0
顎関節疾患	64.2	137.2	0.7
扁平苔癬	50.0	84.5	0
上顎洞炎および術後性頬部嚢胞	63.6	115.9	0
悪性腫瘍	36.3	53.8	0
辺縁性歯周炎	60.0	113.6	0
良性腫瘍	33.3	90.5	0

図3 *M. salivarium* および *M. fermentans* に対する MI 抗体価の分布

体とし、総検体281例のうち *M. salivarium* に対する抗体陽性検体119例(42.3%), *M. fermentans* に対してはわずかに8例(2.7%)のみが陽性であった。

M. salivarium に対して最高の抗体価2048を示した検体は5例で、陽性検体の半数以上(64.7%)の抗体価は32~128であった。

M. fermentans に対する抗体価はほとんどの抗体陽性検体で16~32の範囲にあり、1例のみ128であった。

一方、抗体価の年齢別幾何平均値は、図2でみるごとく増齡的に上昇し、50歳代で最高値に達し、60歳代および70歳代では20歳代の値と同程度まで低下した。

被験血清の *M. salivarium* に対する抗体価の分布状態を疾患別にみると(図4-1, 4-2)、アフタ性および潰瘍性口内炎、根尖性歯周炎および歯根嚢胞、悪性腫瘍等の疾患では比較的低い抗体価を示し、これに対して急性歯性炎症では高い抗体価を示す症例が多く、また顎関節疾患等ではこれらの中間の傾向を示した。このことは抗体価の疾患別幾何平均値によっても、ほぼ同様の結果が得られた(表1)。

考 察

Mycoplasma 感染症の血清学的診断に現在最もしばしば用いられている方法としては、補体結合反応(CF test)、間接血球凝集反応(IHA test)および metabolic inhibition (MI) test がある。

このうち MI test は、特異抗体によって発育が阻止されるという *mycoplasma* 独特の性状を応用したものであり¹⁰⁾、反応の実施にあたって特別な機器を必要とせ

ず、手技も簡単である。この反応を用いた場合に検出される抗体(MI 抗体)は、*mycoplasma* の細胞膜を構築する抗原に対して産生され、この抗原と特異的に直接反応する¹¹⁾。したがって、この反応は IHA および CF test に比べて特異性が高い¹²⁾。MI 抗体は、*Mycoplasma pneumoniae* の感染をうけて原発性異型肺炎(ATP)を起こした患者の回復期の血清から検出され、防禦抗体としての機能をもつといわれている^{12,13)}。*M. pneumoniae* に感染した際の各抗体の消長をみると、まず最初に CHA (cold hemagglutinin)が、続いて IHA および CF 抗体の産生がつぎつぎとはじまり、CHA 価が減少して、IHA および CF 抗体が最大値に達するころ、MI 抗体の産生がゆっくりとはじまる。IHA および CF 抗体は比較的早期に血清中から消退していく傾向を示すが、MI 抗体は徐々に増量を続け最高値に達し、その状態がかなり長い間持続される¹⁴⁾。反応の特異性が高く¹⁵⁾、反応の対象となる抗体が長期間にわたって維持されること等のためと思われるが、seroepidemiologic な研究において、*mycoplasma* に対する抗体の MI test による検出率は、IHA および CF test による場合よりも高いといわれている¹⁶⁾。

以上のような理由により、本研究では *M. salivarium* および *M. fermentans* に対する抗体の検出を MI test によって試みた。

MI test では被験血清の *mycoplasma* に対する直接的な発育阻止効果を測定するため、被験血清が抗体を含んでいなくても *mycoplasma* に対して発育阻制的に働く物質を含んでいる場合には、反応は陽性となる。この false reaction の原因を占めるほとんどが広域スペクトルの抗生物質である⁷⁾。このため被験者から採血する際、来院前に抗生物質が投与されたかどうか、もし投与されたとしたらその抗生物質の種類、投与量等について、できるだけ詳しく問診した。

さらに MI test の実施にあたっては、口腔からはほとんど検出されることのない *M. fermentans* を organism control として用いた。*M. fermentans* は抗生物質に対しては *M. salivarium* とほぼ同様の感受性を示すの

表2 *M. salivarium* および *M. fermentans* の双方に対する抗体が検出された被験血清の両種の *mycoplasma* に対する抗体価

検体 No.	<i>M. salivarium</i> に対する抗体価	<i>M. fermentans</i> に対する抗体価
87	32	32
95	64	32
108	64	16
182	256	128
193	2048	32

図 4-1 各種口腔疾患患者血清における *M. salivarium*, *M. fermentans* に対する MI 抗体価

で^{17,18)}, 抗体以外の物質による false reaction を呈する被験血清はこれら両種の mycoplasma に対し、ほぼ同値の MI 価を示すはずである。

本研究ではこのような配慮のもとに MI test を実施した。その結果、両種の mycoplasma に対して抗体が検出された検体は5例であり、このうちの4例では2種の mycoplasma に対してほぼ同じ MI 価の抗体が検出されたが、残りの1例では *M. salivarium* に対して圧倒的に高い MI 価を示した(表2)。したがって、先の4例では false reaction の可能性を含んでいるので、こ

の点については吸収試験等によって検討する必要があると思われる。

一方、最後の1例については false reaction も一部含まれていると思われるが、*M. salivarium* に対する MI 価がきわだって高いので、MI 価の大部分が特異的な反応によるものと推定された。

M. salivarium は口腔常在菌叢の一員であるが、その口腔への定着は歯牙の有無によって強く影響されるため、その検出頻度は有歯顎口腔に比べて無歯顎口腔では極端に低い²⁾。また、*M. salivarium* の主たる生息部位

図 4-2 各種口腔疾患患者血清における *M. salivarium*, *M. fermentans* に対する MI 抗体価

は歯垢、歯肉溝、歯肉嚢等であるため¹⁾、歯肉炎あるいは歯周疾患のある口腔では、その生菌数が著しく増加しているとされている²⁾

宿主の *M. salivarium* に対する antibody response の程度は、宿主が抗原刺激にさらされる頻度と時間、その抗原の濃度および宿主の抗体産生能によって規定されるものと思われる。したがって、*M. salivarium* が定着して増殖しやすい環境をもつ口腔を有する宿主ほど、高

濃度の *M. salivarium* 抗原によって、頻回にしかも長時間にわたって刺激されている可能性がある。*mycoplasma* が口腔から検出される頻度を年齢別にみた報告はないようであるが、無歯顎者は別として、一般的には自覚症状の有無と関係なく、増齢とともに、歯肉炎および歯周疾患に罹患している人が多くなっている傾向が認められることから、*M. salivarium* の検出率はある一定の年齢まで、増齢とともに上昇の傾向を示すのではないかと思います

れる。

M. salivarium に対する抗体の保有率および抗体価が、若年層で低く、高齢者層で高いという今回得られた成績は、M. salivarium が口腔から検出される頻度ならびに口腔内に生息する M. salivarium の数とかなりよく平行関係を示していると思われる。

抗体の保有率を疾患別にみると、疾患によって高低さまざまであったが、特に辺縁性歯周炎、上顎洞炎および術後性頬部嚢胞、顎関節疾患の3つの疾患群では60~64%と比較的高い値が得られた。

現在のところわれわれは、健康な口腔を有する人での抗体保有率がどの程度であるかを把握していないので、これらの疾患群での抗体保有率について論議することはできない。しかしながら、これら3つの疾患群での抗体保有率は、アフタ性および潰瘍性口内炎での保有率の2倍以上、そして歯性急性炎症および腫瘍での保有率の約2倍弱となっている。このことから、将来さらに症例を重ね研究を続けることによって、これらの疾患において M. salivarium が果たしている役割を明らかにすることができるかもしれないと思われる。

抗体価の幾何平均値は、疾患別にみた場合、歯性急性炎症できわだって高く、根尖性歯周炎および歯根嚢胞、扁平苔癬、辺縁性歯周炎のように、どちらかというと言性に経過する疾患群では低いという傾向が認められた。この結果の意義についても、今後の研究の過程で明らかにされるものと思われる。

結 論

1. 各種口腔疾患患者243例における M. salivarium に対する MI 抗体の検出率は42.3% (103例)であり、M. fermentans に対しては3.2% (8例)であった。

この2種の mycoplasma に対してともに抗体陽性であった検体は5例で、うち4例は2種の mycoplasma に対して同程度の抗体価を示したので、抗生物質等による false reaction の可能性が考えられる。

2. M. salivarium に対する抗体保有率を年齢別にみると、10歳未満では0%、10歳代より30歳代までは増齡的に増加し、それ以後は平行線をたどる。一方、抗体価の幾何平均値をみると10歳代より50歳代までは増加の傾向を示し、60ないし70歳代では20歳代とはほぼ同じ値まで低下した。

3. M. salivarium に対する抗体が検出された症例での MI 価は、その半数以上 (64.7%) が32~128の範囲にあった。

4. M. salivarium に対する疾患別の抗体検出率ならびに抗体価の分布については、まだ症例数が少なく今後の検討を要するが、次のような傾向がみられた。

抗体の検出率は顎関節疾患、上顎洞炎および術後性頬

部嚢胞、辺縁性歯周炎の3つの疾患群では約60%と高い検出率を示した。

一方、抗体価の分布を疾患別にみると、急性歯性炎症では比較的高い値を示すものが多く、アフタ性および潰瘍性口内炎、根尖性歯周炎および歯根嚢胞等の疾患では低い抗体価を示す例が多かった。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜りました本学第1口腔外科学教室主任、渡辺義男教授ならびに御協力下さった教室員各位に深謝致します。

本論文の要旨は、第21回日本口腔外科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Kumagai, K., Iwabuchi, T., Hinuma, Y., Yuri, K. and Ishida, N.: Incidence, species, and significance of mycoplasma species in the mouth. J inf Dis 123: 16 1971.
- 2) Watanabe, T., Mishima, K., Fujita, O., Horikawa, T., Noguchi, T., Ishizu, T. and Kinoshita, S.: Possible role of mycoplasmas in periodontal disease. Bull Tokyo Med Dent Univ 19: 93 1972.
- 3) Watanabe, T., Mishima, K. and Horikawa, T.: Proteolytic activities of human mycoplasmas. Japan J Microbiol 17: 151 1973.
- 4) Watanabe, T.: Proteolytic activity of Mycoplasma salivarium and Mycoplasma orale 1. Med Microbiol Immunol 161: 127 1975.
- 5) 渡辺雄男, 他: 口腔 T-mycoplasma (Ureaplasma urealyticum) の免疫原性. 歯基礎誌 19: 300 1977.
- 6) 松浦正明: Mycoplasma salivarium によって誘発された遅延型皮内反応. 日口外誌 23: 500 1977.
- 7) Smith, T.F. and Herrman, E.C., Jr.: Possible influence of antibiotic therapy on usefulness of metabolic inhibition test for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infections. Appl Microbiol 21: 160 1971.
- 8) Purcell, R.H., Taylor-Robinson, D., Wong, D.C. and Chanock, R.M.: A color test for the measurement of antibody to the non-acid-forming human mycoplasma species. Am J Epidemiol 84: 51 1966.
- 9) Taylor-Robinson, D., Purcell, R.H., Wong, D.C., and Chanock, R.M.: A colour test for the measurement of antibody to certain mycoplasma species based upon the inhibition of acid production. J Hyg Camb 64: 91 1966.
- 10) Edward, D.G. ff. and Fitzgerald, W.A.: Inhi-

bition of growth of pleuropneumonia-like organisms by antibody. J Path Bact 68: 23 1954.

- 11) Williams, M.H. and Taylor-Robinson, D.: Antigenicity of mycoplasma membranes. Nature 215: 973 1967.
- 12) Smith, C.B., Chanock, R.M., Friedewald, W.T. and Alford, R.H.: Mycoplasma pneumoniae infections in volunteers. Ann N Y Acad Sci 143: 471 1967.
- 13) Chanock, R.M., Fox, H.H., James, W.D., Gutekunst, R.R., White, R.J. and Senterfit, L.B.: Epidemiology of M. pneumoniae infection in military recruits. Ann N Y Acad Sci 143: 484 1967.
- 14) Clyde, W.A., Jr. and Denny, F.W.: Mycoplasma infections in childhood. Pediatrics 40: 669 1967.
- 15) Purcell, R.H., Chanock, R.M. and Taylor-Robinson, D.: Serology of mycoplasmas of man. In Hayflick, L. (Ed.): The Mycoplasmatales and the L-phase of Bacteria. North-Holland Publishing Co, Amsterdam, 1969, p 221.
- 16) Purcell, R.H., Wong, D., Chanock, R.M., Taylor-Robinson, D., Canchola, J. and Valdesuso, J.: Significance of antibody to mycoplasma as measured by metabolic-inhibition techniques. Ann N Y Acad Sci 143:664 1967.
- 17) Stewart, S.M., Burnet, M.E. and Young, J.E.: In-vitro sensitivity of strains of mycoplasmas from human sources to antibiotics and to sodium aurothiomalate and tylosin tartrate. J Med Microbiol 2: 287 1969.
- 18) Fallon, R.J.: The effect of cephaloridine and a cephalosporin derivative on mycoplasmas. J appl Bact 33: 744 1970.