

## ● 다형핵 백혈구의 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 균주 탐식시 항협막 항체의 기능에 관한 연구

정종평 · 정진형\* · 정해원

서울대학교 치과대학 치주과학교실

\* 단국대학교 치과대학 치주과학교실

협막이 없는 세균의 탐식작용은 항체가 존재하지 않아도 보체 하나만으로도 이루어지게 되지만 협막이 있는 경우는 항체 IgG가 존재해야 하며 이때 보체가 존재함으로써 항체가 보체를 세균협막 표면에 고정시킴으로서 다형핵 백혈구의 Fc수용기와 C3수용기가 공동으로 IgG 및 C3b에 결합됨으로서 탐식작용을 효과적으로 수행할 수 있다(Horwitz 1980, 1982). 이러한 결과와 함께 협막을 가지고 있는 *Staphylococcus aureus*를 탐식하는 실험에서 항협막 항체의 역가가 높을때는 보체의 도움없이도 다형핵 백혈구가 직접 탐식능력을 발휘하나 항체역가가 낮은 경우에는 보체의존도가 더욱 높아지게 된다고 보고하고 있다(Peterson 1978). 본 실험에서는 AaY4의 협막다당류를 추출하여 가토에 면역하여 얻은 항협막 항체의 항체역가치가 예상했던 것보다는 비교적 낮은 정도였고 AaY4에 대한 동 항체의 결합력도 정상가토 IgG 보다는 높으나 기대치를 나타내지 못하고 있다. 그리고 이러한 결과는 Kim과 Chung(1986)등이 AaY4 전체균주를 면역감작시켜 얻은 항 AaY4 항체 IgG의 항체역가치 및 결합력 수준을 벗어나지 못하고 있다. 이러한 원인은 협막자체가 다당류로 구성됨으로서 complete Freund's adjuvant라는 매개체를 이용하여 면역감작 되더라도 macrophage에 의한 협막항원성의 전달시 문제점을 가져올 수 있다고 보며, 그러므로 단백질 항원보다는 면역감작이 잘 안되는 단점이 나타나기 때문이라고 생각된다. 또한 항협막 항체만을 AaY4에 opsonize한 경우보다 유의성있게 높은 산소소모도 및 세포내 균탐식 능력을 보이고 있다. 그러나 이러한 결과도 역시 항 AaY4 전체균주 항체를 이용한 경우와 커다란 차이를 보이고 있지 않다. 비록 이러한 AaY4의 항협막 항체나 항AaY4 전체균주 항체가 특이항체로서 비교적 높은 항체역가를 나타내고 있음으로 보체의 역할을 배제할 수는 있으나 이 역시 항협막 항체의 항체역가나 AaY4와의 결합력이 뛰어나지 못하기 때문에 나타나는 결과라고 볼 수 있다. 이러한 협막항원을 소동물인 mouse등을 이용하여 면역감작하며 단일 clone 항체 생산을 하는 방법을 개발한다면 비교적 높은 항체역가가 나타나리라고 생각된다. 그러나 항협막 항체만을 이용한 AaY4의 opsonization시 다형핵 백혈구의 탐식작용 자체에는 커다란 결함이 나타나지 않는 것은 보체의 도움없이도 항협막 항체 자체만으로도 탐식작용에 충분한 역할을 할 수 있음을 알 수 있다(Leijh 1979). 또한 항협막 항체자체는 다형핵 백혈구의 탐식작용에 대한 도움에도 기여하지만 AaY4 세균협막의 독성과 관계있는 leukotoxin의 중화작용 및 다형핵 백혈구 자체의 보호에 도움을 준다고 볼 수 있다(McArthur 1982). 상기와 같은 연구 결과는 AaY4협막항원이 다당류라는 화학물질인 관계로 단백질에 비하여 항원성이 약하며 면역감작시 동물에 따르는 차이가 많으므로 순수항원을 이용한 단일 clone 항체생산을 개발하면 높은 항체역가를 얻을 수 있다고 본다. 그럼에도 불구하고 항협막 항체자체의 다형핵 백혈구의 탐식작용에 미치는 영향은 크므로 본 실험에서 나타난 실험상의 문제점을 극복한다면 협막세균의 탐식에 있어서 항협막 항체가 결정적인 역할을 하리라 생각되며 국소 유년성치주염의 원인균인 *A. actinomycetemcomitans* 균주를 치주낭에서 제거하는데 있어서 동세균의 항협막 항체를 이용하면 보다 용이하게 이루어 지리라 생각되며 이러한 실험은 세균감염에 대한 vaccination 개발과 깊은 관련이 있다고 본다.

## Specific role of anticapsular antibody to phagocytosis of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 by polymorphonuclear

Chong Pyong Chung, Jin Hyong Chung, Hae Won Chung

Department of Periodontology, College of Dentistry Seoul National University

Department of Periodontology, College of Dentistry Dan Kuk University

Previous studies have demonstrated that *Actinobacillus actinomycetemcomitans* is important microorganism in the etiology of localized juvenile periodontitis. This bacterium have several pathogenic products to inhibit host defense mechanisms. Among the toxic materials, capsular polysaccharide exhibit resistance to phagocytosis from leukocyte and facilitate bacterial adherence to mucosal surfaces. This study was undertaken to investigate the role of anticapsular antibody to the phagocytosis of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y<sub>4</sub> by PMNLs and its related function to facilitate on the elimination of this encapsulated bacterium from periodontally involved tissue and pocket. Capsular polysaccharide of AaY<sub>4</sub> was purified by phenol-water extraction, gel filtration, ethanol precipitation and nucleic acid elimination. Determination of molecular weight by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis showed that three positive bands were detectable around 20, 24, 29 Kd, respectively. Anticapsular antibody was produced and purified by routine immunization and gel filtration procedures. The binding capacity of anticapsular IgG to AaY<sub>4</sub> was significantly higher than that of normal rabbit IgG and oxygen consumption rate of PMNLs phagocytosis to AaY<sub>4</sub> which was opsonized with anticapsular IgG, was significantly higher than that of normal rabbit IgG. ( $39.73 \pm 2.23$  :  $28.41 \pm 2.26$  n mol/min/ $1 \times 10^6$  cells) The study of intracellular ingestion capacity of PMNLs to AaY<sub>4</sub> by immunofluorescence microscopic examination showed that the difference between the numbers of the ingested AaY<sub>4</sub> which was opsonized with anticapsular IgG and normal IgG, was reached at statistically significant levels. ( $196.21 \pm 12.14$  :  $135.32 \pm 9.72$ /100PMNLs) These results revealed that anticapsular antibody of AaY<sub>4</sub> is effective for enhancing of PMNLs phagocytosis of encapsulated AaY<sub>4</sub>s, and also can be available to use this system to eliminate this bacterium from infected periodontal tissue and pocket.

## In vitro antibiotic susceptibility of oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolates

Hyun Ju Chung\*, Chong Pyoung Chung\*\*, Seong Heui Son\*\*

\*Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Chonnam National University

\*\*Dept. of Periodontology, College of Dentistry, Seoul National University

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* was isolated from the periodontal lesion of localized juvenile periodontitis and the susceptibility of a series of antibiotics for 17 *A. actinomycetemcomitans* isolates