OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	唾液過酸化酵素の抗菌作用機序に関する研究
Author(s)	浜田, 国義
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30002
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	浜田国義
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第1760号
学位授与の日付	昭和44年5月13日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**唾液過酸化酵素の抗菌作用機序に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 松村敏治 (副査) 教授 竹田義朗 教授 小谷尚三

論文内容の要旨

生体の自然防禦機構の一環として唾液の抗菌作用が重要な意義を持つと考えられている。この抗菌作用は唾液中に存在する種々の抗菌物質によるものであるが，近年その1つである唾液過酸化酵素が特に大きな注目を集めるようになってきた。

Klebanoff (1965, 1966), Oram ら (1966)，岩本ら (1967) および井上 (1968) らによれば，唾液過酸化酵素の抗菌作用は，過酸化水素の存在下に SCN^- を酸化して生成する不安定な中間酸化産物によるものであると考えられている。

しかしながらこの中間酸化産物がいかなる機構で抗菌性を発揮するかという点は，ほとんど明らかにされていない。著者はこの点をより明確にする目的で本研究を行なった。

供試菌は Lactobacillus plantarum ATCC 8014 株である。SL 液体培地に培養した菌を遠心集菌したのち，超音波破砕を行ない，その800×g遠心上清（菌抽出液と略す），または10,000×g上清（菌酵素液）を実験に用いた。

唾液過酸化酵素は岩本より供与された部分精製標品 (CM セルロース画分) を用いた。

菌抽出液による核酸合成は，冷酸不溶画分へのウリジン—5—Tまたはチミジン—6—Tの取込みによって測定した。また冷酸可溶画分のウリジンヌクレオチドは，Dowex 1, ×10, ギ酸型カラムを用いて Hurlburt らの方法 (1954) に準拠して分離した。

$KS^{14}CN$ より生成された $^{14}CO_2$ は，ワールブルグフラスコを用いて副室のハイアミンに吸着させたのち，その放射能を測定した。

放射能の測定は，Packard 社製液体シンチレーションスペクトロメーターによりトルエンシンチレーター溶液を用いて測定した。

菌抽出液によって生成された過酸化水素は Bernst および Bergmeyer の方法 (1963) に従っ

て酵素的に測定した。

$NADH_2$ は 340mμ の吸光度測定により，また SH 基は Benesch および Benesch の方法（1962）により定量した。

ヘキソキナーゼ活性は Crane および Sols の方法（1955），グリセロアルデヒド三リン酸脱水素酵活性は Krebs の方法（1955），乳酸脱水素酵素活性は Kornberg の方法（1955）に従ってそれぞれ測定した。

蛋白量は Lowry らの方法（1951）に従って定量した。

実験結果は次の通りである。

1) L. plantarum の核酸合成は，生菌，菌抽出液のいずれにおいても唾液過酸化酵素の添加によって著しく阻害された。この唾液酸化酵素による阻害作用の発現には SCN^- および過酸化水素の両者の存在が不可欠である。

2) 唾液過酸化酵素による RNA 合成阻害は $NADH_2$, GSH，アルブミンなどの添加によってほぼ完全に防止された。

3) 菌抽出液の過酸化水素生成能は $NADH_2$ の添加により半減したが，GSH ではほとんど影響されなかった。

4) 唾液過酸化酵素は過酸化水素の存在下で $KS^{14}CN$ を酸化し，その終末酸化産物として $^{14}CO_2$ を生成するが，この $^{14}CO_2$ 生成は，過酸化水素産生系として菌抽出液を用いた反応系では $NADH_2$ の添加によって約50%，また GSH の添加によってほぼ完全に抑制された。一方菌抽出液の代りに過酸化水素を用いた反応系では，$NADH_2$ は $^{14}CO_2$ 生成にほとんど影響をおよぼさなかったが，GSH は著明に $^{14}CO_2$ 生成を抑制した。

5) 唾液過酸化酵素の添加によって GSH ならびにアルブミンの SH 基は著明に減少したが，一方 $NADH_2$ の減少はきわめてわずかであった。

6) SH 酵素であるヘキソキナーゼ，グリセロアルデヒド三リン酸脱水素酵素，ならびに ATP-UDP リン酸転移酵素の活性は，唾液過酸化酵素によつて著しく阻害されたが，SH 酵素でない乳酸脱水素酵素の活性は全く影響されなかった。

以上要約すると，1) $NADH_2$ および SH 化合物は唾液過酸化酵素の抗菌作用を防止するが，両者の防止機序は相異なること，2) L. plantarum に対する唾液過酸化酵素の抗菌作用は，本酵素が直接菌体に作用するためではなく本酵素によって生成された SCN^- の中間酸化産物による SH 酵素群の阻害に起因することを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

本研究は従来不明確であった唾液過酸化酵素の抗菌機序について追求し，その抗菌作用の本態は本酵素作用の結果 SCN^- から生成される中間酸化産物が乳酸菌の SH 酵素群を阻害するためであることを明らかにしたものとして価値ある業績であると認める。

よって本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。