



Title	獲得被膜形成に関する基礎的研究：獲得被膜モデルの形成と唾液糖蛋白シアル酸の関係についての走査型電顕による観察
Author(s)	林, 博雄
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31769
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	林	博	雄
学位の種類	歯学	博士	
学位記番号	第	3828	号
学位授与の日付	昭和	52年3月3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	獲得被膜形成に関する基礎的研究——獲得被膜モデルの形成と唾液糖蛋白シアル酸の関係についての走査型電顕による観察		
論文審査委員	(主査) 教授 横溝 一郎	(副査) 教授 赤井三千男 教授 常光 旭 講師 杉中 秀寿	
	講師 祖父江鎮雄		

論文内容の要旨

歯苔形成の基礎を提供する物質として重要視されている獲得被膜の本質は、唾液糖蛋白が歯牙エナメル質表面に吸着されたものであるとする考えが、一般に支持されている。一方、この糖蛋白の吸着の機序については、唾液糖蛋白に非還元末端糖として存在するシアル酸の重要性を指摘するものが多い。しかし異論も少なくなく、獲得被膜形成に果す唾液糖蛋白のシアル酸の意義については、多くの問題が未解決のまま残されている。

さて歯牙表面付着物の形態の面からする研究は、in vivoおよびin vitroの別なく、歯苔に集中しており、獲得被膜の形成を形態学的に検討した研究は皆無に等しい。この現状に注目し、唾液糖蛋白分子の構成成分であるシアル酸の動態が獲得被膜形成の鍵を握るとする仮説を検証することを目的として、この研究を行なった。

唾液標品として、全唾液はヒトの自然流出唾液の遠沈上清を紫外線照射して滅菌したものを、また頸舌下腺および耳下腺唾液は、それぞれの唾液腺から無菌的に採取したものを供試した。獲得被膜モデル（以下獲得被膜と略記する）は、次のようにして形成させた。すなわち、供試唾液を容れた試験管に、ヒトの抜去歯由来の鏡面研磨したエナメル質板を唾液中に完全に侵るように挿入し、0℃あるいは37℃に保温した。時間を追ってエナメル質板を取り出し、グルタルアルデヒド固定、臨界点乾燥、金蒸着した後、板上に生成した獲得被膜、あるいは形成物の形態を走査型電子顕微鏡により観察した。この形態学的観察に平行して、上記3種の唾液標品、およびこれらの標品に、いずれも *Clostridium perfringens* 由来のノイラミニダーゼ (NANase) と N-アセチルノイラミン酸アルドラーーゼ (以下単にアルドラーーゼ) を添加したものを37℃で保温し、総および遊離シアル酸量を経時的に定量し、糖蛋

白シアル酸の消長を検べた。

まず滅菌全唾液を37°Cに1時間保温したところ、エナメル質板の表面は無構造な物質で被われた。4~24時間後には、この無構造物上に唾液成分が凝集し、連続し合って生じたと考えられる網状の構造物が積み重なるのが観察された。一方滅菌全唾液を37°Cで24時間予め保温した後に、エナメル質板を挿入した系、および滅菌全唾液あるいはNANase添加滅菌全唾液に、NANaseの阻害剤を添加した系では、エナメル質板への形成物は無構造で、また網状の被膜の生成も認められなかった。

一方、滅菌全唾液を37°Cに保温し、唾液糖蛋白シアル酸の消長を検べると、全唾液固有のNANaseの作用により糖蛋白分子からシアル酸が遊離し、さらに、共存するアルドラーゼの作用により分解された。この所見を、先に述べた滅菌全唾液由来の獲得被膜モデルの形態所見と対比させたところ、網状の構造物の形成と唾液糖蛋白からのシアル酸の遊離は、相関することがわかった。

頸舌下腺唾液および耳下腺唾液はNANaseおよびアルドラーゼ活性を示さず、また後者はシアル酸を微量にしか含まないことを確認した上で、これらに*C. perfringens*由来のNANaseおよびアルドラーゼを作用させてシアル酸を除いた系、ならびに未処理の対照系について、エナメル質板への形成物の形態を比較した。頸舌下腺唾液未処理の場合、37°Cあるいは0°Cに保ったどちらの系でも、早い時期の形成物は無構造なものが大部分であったが、24時間後には桿状の凝集物がエナメル質板の全面を被うのが観察された。一方、酵素添加系では、桿状物の輪郭が不明瞭となり、しかも全唾液を37°Cに保温した場合に見られるものに類似する網状の物質の形成が認められた。なお、結合シアル酸を予め酵素により遊離させた頸舌下腺唾液にエナメル質板を浸し、37°Cに保温した場合には、無構造な形成物だけが観察された。またシアル酸を微量にしか含まない耳下腺唾液からのエナメル質板への形成物は、*C. Perfringens*由来の両酵素添加系と未処理系とで全く異なるところがなく、無構造であった。

頸舌下腺唾液と耳下腺唾液を3:1の割合に混ぜ合わせた系を作り、生成するin vitro獲得被膜の形態を検べたが、これは無構造であった。しかしこの混合系に*C. perfringens*由来の両酵素を添加した系では、頸舌下腺唾液成分に由来すると考えられる凝集物（全唾液系で観察されたものと形態学的に類似する）が観察された。

一旦形成された全唾液および頸舌下腺唾液由来の形成物にNANaseおよびアルドラーゼを作用させた場合、全唾液由来の網状構造が全く形態変化を示さなかったのに対して、頸舌下腺唾液由来の形成物では、桿状構造の不明瞭化が起こり、さらにその上に網状の構造物が付加されるのが観察された。

以上のin vitroのモデルで得られた所見に基づくと、獲得被膜は次のようにして形成されるとするのが妥当ではないかと考えられる。すなわち獲得被膜形成は、まず主として耳下腺唾液に由来するシアル酸を含まない糖蛋白の吸着に始まる。この無構造の形成物は、頸舌下腺唾液のシアル酸結合糖蛋白分子本来の特性に依存する桿状の凝集物の吸着を妨げる。しかし、頸舌下腺唾液の糖蛋白は、NANaseの作用によってシアル酸を失うと分子相互間の荷電状態に変化を来し、網目様に連結する。このものが、エナメル質板に先に生成した耳下腺唾液由来の上記無構造物質をおおい、このようにして獲得被膜が形成される。

論文の審査結果の要旨

本研究は、獲得被膜の形成にあたって、唾液糖蛋白のエナメル質への吸着機序を、*in vitro*において、唾液糖蛋白を構成するシアル酸の消長と関連づけて、形態学的に検討したものである。その結果、シアル酸の動向が、形成される獲得被膜モデルの形態変化に重要な役割を演ずることを明らかにした。獲得被膜の形成を形態学的に検討した研究は皆無に等しい現状において、この研究業績は、獲得被膜の形成機序に関して、重要な知見を得たものであり、歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。