

Title	Actinomyces viscosusのグルカンによる菌体凝集の機序
Author(s)	和田, 甫
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/31974
rights	Copyright © 特定非営利活動法人日本歯周病学会
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	和田 甫
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 4144 号
学位授与の日付	昭和 53 年 2 月 16 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	<i>Actinomyces viscosus</i> のグルカンによる菌体凝集の機序
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏
	(副査) 教授 鈴木不二男 教授 祖父江鎮雄 助教授 中村 亮
	講師 杉中 秀寿

論文内容の要旨

放線菌は、ヒトや齧歯類の口腔内、特に歯肉溝やデンタルプラークに棲息する主要な微生物の一つである。1964年のJordanとKeyesらの研究以来、ヒトおよびハムスターやラットの口腔から分離される *Actinomyces viscosus* のなかに、齧歯類に実験的に歯周病や歯頸部う蝕を誘発させる株(例えば ATCC 15987 株)のあることが明らかにされ、注目されている。

一般に、口腔細菌が歯肉や歯面に病害作用を効果的に発揮するためには、まずその部位に足場をえなければならない。*A. viscosus* についても例外ではなく、上述の病原性を発揮するためには、歯肉あるいは歯面に定着し、かつ増殖することにより、必要な生菌数を維持することが必要と考えられる。

ところで、1975年 Mcbride らによって、*A. viscosus* ATCC 15987 株が、 $\alpha(1\rightarrow6)$ グルコシド結合を主結合とする *Leuconostoc mesenteroides* のグルカン(高分子量デキストラン)、ならびに *Streptococcus mutans* や *Streptococcus sanguis* が蔗糖から歯体外多糖として作るグルカンによって凝集することが、明らかにされた。

この所見は、*A. viscosus* の歯面や歯肉溝への定着に、プラークの主要な構成成分の一つであり *S. mutans* や *S. sanguis* が作るグルカンによる歯体凝集が、重要なかかわり合いを持つ可能性を強く示唆する。

そこで、ATCC 15987 株を主なテスト菌として、この現象の機序を種々の角度から解析し、あわせてこの現象が *A. viscosus* の歯面への定着に演ずる役割を考察することを試みた。

まず、ヒト抜去歯歯面、ならびにそのエナメル質面上に *S. mutans* およびこの歯が蔗糖から産生したグルカンからなる“人工プラーク”を作らせたものに *A. viscosus* を作用させ、附着の有無、程度

を、走査型電子顕微鏡を用いて観察した。テスト菌はセメント質面には明らかに付着するが、エナメル質面にはほとんど付着しないこと、しかし“人工プラーク”で被覆されたエナメル質面には、テスト菌が著明に付着するのが観察された。この結果は、*S. mutans* が作るグルカンを介して、*A. viscosus* がエナメル質面に付着することを示唆する。

この所見を別の角度から検討するために、蔗糖を加えた培地で培養した *S. mutans*、および対照として蔗糖無添加の培地で培養した *S. mutans* を別に蔗糖無添加培地で培養したテスト菌と混ぜ合わせ、共同凝集が起こるかどうか調べた。テスト *A. viscosus* はグルカンを菌体表面に生成した *S. mutans* と共同凝集し、対照では凝集はほとんど見られないことがわかった。この所見から、“人工プラーク”面への *A. viscosus* の付着に、菌体表面にグルカンを生成した *S. mutans* との共同凝集が関係することが推定された。

つぎに、グルカンによる ATCC 15987 株および他の放線菌の凝集の有無と程度を調べた。ATCC 15987 株は、*S. mutans* を凝集させるに必要な量の高分子量デキストランによって凝集することが示された。ATCC 15987 株以外の *A. viscosus* では、NY1 株は ATCC 15987 株と同程度の凝集能を有し、また ATCC 15988 株にも弱いながらも凝集能が認められた。しかし他の 2 株はグルカンによる凝集を示さなかった。*Actinomyces naeslundii* ATCC 12104 株および ACN-1 株、ならびに *Actinomyces odontolyticus* ATCC 17982 株のグルカンによる凝集能も、ATCC 15987 株のそれに比べて弱かった。

さて、凝集にあずかる菌側の因子の実体についての手掛りを得る目的で ATCC 15987 株に加熱あるいはトリプシン処理を施して調べたところ、これ等の処理によってテスト菌の凝集活性が失われることがわかった。すなわちグルカンによるテスト菌の菌体凝集には、非耐熱性で蛋白質性の菌体表面物質が関与していると考えられる。

ATCC 15987 株を凝集させるグルカン側の化学構造については、まず肉眼的にみられる菌凝集を起こすには、*L. mesenteroides* が産生するデキストランの場合、約 25 万以上の高分子量が必要なことが示された。しかし、低分子量デキストランも菌体表層に結合することが、これらが菌体への高分子量グルカン結合、および継起する凝集を競合的に阻害する事実によって明らかにされた。テスト *A. viscosus* の凝集は、上記の高分子量デキストランによってのみならず、*S. mutans* や *S. sanguis* が産生するグルカンのうち、デキストランと同様 $\alpha(1\rightarrow6)$ 結合を含むグルコース多糖によってもひき起こされた。しかし、 $\alpha(1\rightarrow3)$ や $\alpha(1\rightarrow4)$ および β グルコシド結合を主な結合とするグルカンならびにフルクタンによっては、テスト菌は全く凝集を起こさなかった。また、テスト菌の凝集にはグルカンの還元末端グルコース残基は重要でなく、非還元末端グルコースが関与していることが、デキストランの誘導体を用いた実験により明らかにされた。

最後に、*S. mutans* FA1 株由来のグルコシルトランスフェラーゼを用いて ^{14}C -蔗糖から生成させた可溶性の標識グルカンを用い、ATCC 15987 株菌体表層へのグルカンの結合を調べたところ、この結合は飽和点が認められる特異的な結合であった（ちなみにグルカンによる凝集能を失った加熱菌体では、特異結合が全くみられなかった）。

以上、*A. viscosus*のグルカンによる菌体凝集という現象が*A. viscosus*の歯面への定着、したがって病原性の発揮に重要な役割を演じていることを示唆する結果を得た。ただしこの現象と*A. viscosus*の病原性との間にどのような関係があるかについての最終的な評価は、今後に残された研究課題といふべきであろう。

論文の審査結果の要旨

この研究は、歯肉溝やデンタルプラークから検出され、かつ歯周病や歯頸部う蝕を実験的に誘発させることが知られている *Actinomyces viscosus* の歯面への定着機構をグルカンによる菌体凝集という観点から検討したものである。その結果、この菌がう蝕原性菌の一つである *Streptococcus mutans* により作らせた“人工プラーク”によく付着し、またグルカンを菌体表面に生成した *S. mutans* と共同凝集することが明らかになった。さらにその凝集機構には非還元末端に $\alpha(1\rightarrow6)$ 結合をもつ高分子量グルカンが関与していることが示された。

以上のようにこの研究は、*A. viscosus* が歯周病その他の口腔疾患の発症・進行において演ずる役割を考えるに当たって考慮すべき新しい事実を明らかにしたものであり、本研究者は歯学博士の学位を得るのに、十分な資格があるものと認められる。