

Title	ヒトの歯面より分離したStreptococcus sanguisの分類と平滑面付着能
Author(s)	鳥居, 光男
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/32085
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 8 】

氏名・(本籍)	と 鳥	い 居	みつ 光	お 男
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	4 2 4 8	号	
学位授与の日付	昭和 53 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	ヒトの歯面より分離した <i>Streptococcus sanguis</i> の分類と 平滑面付着能			
論文審査委員	(主査) 教授	土谷 裕彦		
	(副査) 教授	小谷 尚三	助教授	中川 皓文 講師 浜田 茂幸

論 文 内 容 の 要 旨

近年、う蝕の主な原因菌として *Streptococcus mutans* が注目されている。しかし、歯牙プラーク (dental plaque) の主な構成菌種の一つであり、*S. mutans* と同程度の酸産生能を有する *Streptococcus sanguis* がう蝕の誘発過程において果たす病因的な役割についての研究は著しく少ない。

S. mutans はスクロース存在下で、グルコシルトランスフェラーゼ (GTase) の作用により、非水溶性で粘着性のグルカンを産生し、それにより歯面に定着する。これが、*S. mutans* のう蝕原性を担うビルレンス因子の一つとされている。*S. sanguis* も *S. mutans* と同様、スクロースから水溶性及び非水溶性のグルカンを産生するが、*S. mutans* とは異なり、平滑面での付着能は一般に弱いとされている。

本研究では、う蝕誘発過程における *S. sanguis* の役割を解析する第一歩として、まずヒトのプラークより *S. sanguis* を分離し、生物学的ならびに血清学的分類を行い、各分類型から選んだ菌株の SPF ラットに対するう蝕原性を調べた。ついで、*S. mutans* において菌体結合 GTase の存否と平滑面付着能との間に密接な関係があることを参考にして、各分類型に属する *S. sanguis* 分離株について、菌体結合 GTase 活性の強弱と菌体の平滑面付着能との関係を調べた。さらに平滑面への付着にあたり、*S. sanguis* と *S. mutans* が、それぞれの GTase をなかだちとして、どのように作用し合うかについて、検討を加えた。

まず、幼児を主とする 64 人から採取したプラークを Mitis-Salivarius 寒天平板培地に接種し、集落形態を指標にして、113 株を分離した。これらはすべて H_2O_2 を産生し、スクロースからグルカンを作り、またヒツジ血液寒天培地上で α -溶血を示した。しかし、サリシン、イヌリンの発酵能、アルギ

ニン、エスクリンの加水分解能の点で、これら4者が陽性のもの（生物型A）95株と、陰性のもの（同B）18株の2群に大別された。

ついで、従来 *S. sanguis* の各血清型の代表株とされている ATCC 10556（血清型I型）、同10557（同II型）、同10558（同III型）株の全菌に対するウサギ免疫血清に適当な吸収操作を施して型別用抗血清を調製した。これらの抗血清と、分離株より Rantz & Randall 法で抽出した抗原とを毛細管法で反応させ、血清学的分類を試みた。その結果テストした 113株のうち、24株はI型に、16株はII型に、37株はIII型に型別された。これらの型別用型血清のいずれとも反応しない株が24株存在したが、任意に選んだ1株に対する抗血清を作り、これに対する反応を調べたところ、これら24株中15株が陽性反応を呈したので、これらを新たにIV型と分類することとした。IV型の抗血清とも反応しなかった9株と、複数の型別用抗血清と反応し、血清型を特定できなかった12株は未型別とした。なお、I、IIIおよびIV型菌はすべて生物型Aに、II型菌はすべてBに属した。

続いて、未型別を含むこれらの分類型から選んだ5菌株について、SPF Sprague-Dawley ラットに対するう蝕原性を調べたところ、5菌株はいずれもラット口腔中に確実に定着すること、3菌株には弱いながら、明確な裂溝う蝕の誘発能が認められた。

さらに、全分離株について、菌体結合GTase活性の有無とガラス平滑面への付着能との関係を調べた。すなわち、Todd-Hewitt ブロースで一夜培養し、水洗後凍結乾燥した菌体を ^{14}C スクロースと反応させ、生成する非水溶性 ^{14}C グルカンの放射能を指標として、菌体結合GTase活性を測定した。その結果、GTase活性は血清型IとIIIに属する菌株では強いものから弱いものまで広い範囲に分布するが、IIとIVに属する菌株では概して弱いことがわかった。しかしスクロース存在下でのガラス平滑面への付着は、CTase活性の高い菌株をも含めて、ほとんど認められなかった。そこで各血清型から選んだ33株についてその菌体に *S. mutans* B13株の培養上清より得たGTaseを加えたところ、すべての *S. sanguis* 菌株について、B13 GTaseの吸着によるグルカン産生量の増加が見られ、ガラス平滑面への付着能が著しく増加することを認めた。

最後に、*S. sanguis* 菌体表面のGTase結合部位の実体を調べるために、*S. sanguis* 菌体に各種の処理を加えたところ、デキストラナーゼ、トリプシン、NaOHで処理した場合に、B13 GTase吸着量の著明な減少と、それに伴うガラス平滑面付着率の減少とが観察された。

以上、著者の研究により、*S. sanguis* は血清学的には従来の3型ではなく少なくとも4型に分類されること、ならびに *S. sanguis* 分類株のなかにも弱いながらう蝕原性を示すものが存在することが明らかにされた。さらに、*S. sanguis* が *S. mutans* のGTaseを菌体に吸着し、ガラス平滑面への付着能を獲得することから、*S. sanguis* の歯面への付着に *S. mutans* の産生するGTaseが関与する可能性のあることが示唆された。また、*S. sanguis* 菌体表面のGTase結合部位が、菌体表面の結合グルカン、あるいは表層タンパク質の両者又はいずれかであることを示唆する結果が得られた。

論文の審査結果の要旨

Streptococcus sanguis はヒトの dental plaque の最も主要な構成菌でありながら、従来血中から分離された菌株が主として供試されてきたことも手伝って、その生物学的ならびに血清学的性状に関する系統的な研究は不十分で、また歯面への付着機序も明らかでない。この研究は、ヒトの plaque から分離した多数の菌株を用い、血清学的に従来 3 型に型別されていた *S. sanguis* と呼ばれている菌種が 4 型に区分され、2 型の生物型を考慮すると、大変異質な菌株の集団であること、この異質性は本菌の GTase 活性にも反映され、この活性が非常に強いものから極度に弱いものまで幅広い分布がみられることを示した。さらに *S. sanguis* は、*Streptococcus mutans* とは異なり、GTase 活性が非常に強いものも、sucrose の存在下で、平滑面に付着し得ないこと、しかし本菌は、*S. mutans* が作る菌体外 GTase を菌体表面に吸着することにより、平滑面へ付着するようになることを明らかにした。

以上本研究は、口腔内疾患の発生と進行における *S. sanguis* の役割を考える上で、見逃すことのできない新事実を明らかにしたものであり、本論文は歯学博士の学位請求に十分値する優れたものと認める。