

Title	ヒト耳下腺唾液に存在するプロリン量の多い塩基性糖タンパクの構造とその口腔連鎖球菌との結合性
Author(s)	柴田, 聡明
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/32534
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 3 】

氏名・(本籍)	柴 田 聡 明
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 4 7 6 4 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 12 月 10 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	ヒト耳下腺唾液に存在するプロリン量の多い塩基性糖タンパクの構造とその口腔連鎖球菌との結合性
論文審査委員	(主査) 教 授 常 光 旭 (副査) 教 授 小 谷 尚 三 教 授 鈴 木 不 二 男 助 教 授 岩 壺 克 哉 助 教 授 下 野 勉

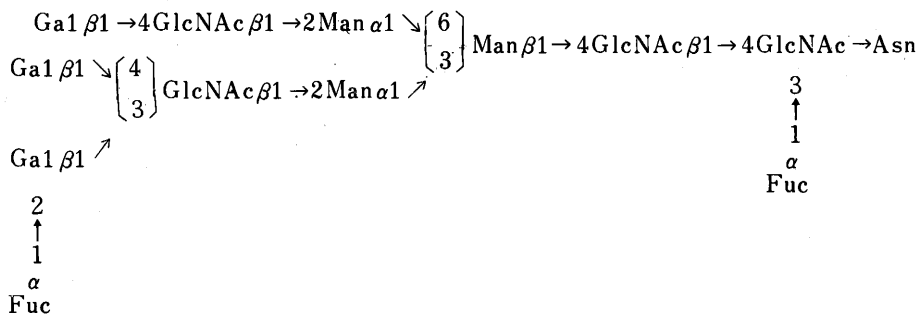
論 文 内 容 の 要 旨

唾液の糖タンパクは歯のエナメル質表面に形成される獲得被膜の構成成分であり、歯垢の基質形成に重要な役割を演じている。そのほか唾液のもつ血液型活性、菌凝集活性さらに免疫学的活性などの発現にも関与していることが次第に明らかにされてきた。近年、ヒト唾液の糖タンパクのもつ生物学的諸活性のうち、口腔細菌との結合性について注目され始め、Gibbons ら (1978) はヒト混合唾液に含まれるムチンを $[^3\text{H}]$ あるいは $[^{14}\text{C}]$ で標識し、血液型活性をもつムチンが口腔連鎖球菌、特に *S. mutans* と結合することを指摘している。一方、ヒト耳下腺唾液にはプロリン含量の高い塩基性糖タンパクが存在することが Levine ら (1969)、Friedman ら (1971) によって報告されているが、この糖タンパクのもつ生物学的活性については、現在全く知られていない。

この研究で著者はヒト耳下腺唾液に存在するプロリン量の多い塩基性糖タンパク (以下 PGP と略す) を Friedman らの方法に準拠して、セファデックス G-200 によるゲル濾過後、CM-セルロースを用いて分画した。この糖タンパク画分が ConcanavalinA (以下 Con A と略す) と沈降することを予備実験で確認した。そこで耳下腺唾液より目的とする PGP の精製は硫酸塩析、セファデックス G-200 によるゲル濾過後、Con A-セファロースアフィニティークロマトグラフィを用いて行った。得られた精製 PGP はディスク電気泳動法による分析 (テスト量は、タンパク量 $70\mu\text{g}$) で単一のバンドを与え、分子量は、ゲル濾過法による測定で約 75,000 と推定された。

精製 PGP の構造を明らかにするために、まず、精製標品をプロナーゼで分解後、セファデックス G-50 によるゲル濾過を行って糖ペプチドを調整し、そのアミノ酸組成と構成糖比を求めた。糖はアルジトールアセチル化してガスクロマトグラフィによって分析した。メチル化は箱守の方法に従い、酵

素による逐次分解には、*S. sanguis* ATCC10557 株由来の α -フコシダーゼ (EC 3, 2, 1, 63), ジャック豆より抽出した β -ガラクトシダーゼ (EC 3, 2, 1, 23), α -マンノシダーゼ (EC 3, 2, 1, 24) および *exo* 型 β -N-アセチルグルコサミニダーゼ (EC 3, 2, 1, 30) および肺炎双球菌由来の *endo* 型 β -N-アセチルグルコサミニダーゼを用いた。さらに過ヨウ素酸酸化と酸緩相加水分解を組み合わせて糖鎖構造をガスクロマトグラフィおよびガスクロマトグラフ質量分析法を用いて解析したところ、次のような推定構造式が得られた。



この精製 PGP は Con A のほかレクチン H (*Ulex europaeus*) とトラ豆レクチン (*Phaseolus vulgaris*) とも凝集性を示した。

次に PGP の生物学的活性の一端を知る目的で、精製 PGP の非還元末端部に存在するガラクトースを Morell らの方法を用い [^3H] で標識し、口腔連鎖球菌との結合性を、菌表層に結合した [^3H] -PGP の放射能を指標として検討した。その結果 PGP は供試菌のうち *S. mitis* ATCC 9811 株, 9895 株, 15909 株, 15911 株, 15912 株, 15913 株, 15914 株 および *S. sanguis* ATCC 10557 株 (Coykendall によると *S. mitior*) にのみ結合し、*S. mutans* BHT 株, Ingbritt 株, 6715 株, *S. salivarius* ATCC 9222 株, *S. sanguis* ATCC 10556 株, 10558 株, 66 \times 49 株, M-5 株, 6249 株には結合性がみられなかった。そこで *S. mitis* ATCC 9811 株と *S. sanguis* ATCC 10557 株について菌体を加熱あるいはトリプシン処理し、PGP と菌体との結合性を調べたところ、両株ともいずれの処理によっても著しく結合性が失われた。また種々の糖のうち、D-ガラクトース、ラクトース、N-アセチルラクトサミン、N-アセチルグルコサミンなどの特定の糖により結合性が著しく阻害された。

以上この研究では、ヒト耳下腺唾液中に存在する PGP を分離・精製し、かつ糖ペプチドの糖鎖配列を解析すると共にその生物学的活性を調べ、次の諸点を明らかにした。すなわち(1)精製 PGP の糖ペプチドは、血清糖タンパク型糖鎖構造が推定された。(2)精製標品は、供試した口腔連鎖球菌のうち、*S. mitis* のみに結合性が認められた。(3)この結合性はD-ガラクトースと、非還元末端部にD-ガラクトースをもつ少糖などにより著しく阻害された。(4)菌体を熱あるいはトリプシン処理することにより、この結合性は著明に減少した。(5)以上の結果から菌表層にはレクチン様物質(糖結合性タンパク)の存在が強く示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ヒト耳下腺唾液に存在するプロリン量の多い塩基性糖タンパクを分離・精製し、その糖ペプチドの推定糖鎖構造を初めて明らかにしたものである。また、この糖タンパクは *Streptococcus mitis* と結合することが認められ、この結合性はD-ガラクトースと非還元末端部にD-ガラクトースをもつ少糖などにより、著しく阻害されることが示された。

この論文は、歯垢形成に重要なかわりあいをもつ唾液糖タンパクと口腔連鎖球菌との相互作用を追究する上で、貴重な手掛りを与えるのみならず *S. mitis* の菌表層部にレクチン様物質が存在することを示唆したものであり、歯学博士の学位に十分値するものと認める。