



Title	口腔レンサ球菌のハイドロオキシアパタイトへの付着性に及ぼすヒト全唾液より分離した菌凝集因子の影響
Author(s)	堅中, 秀樹
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33412
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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）	の 堅	なか 中	ひで 秀	樹
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	5842	号	
学位授与の日付	昭和57年12月4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	口腔レンサ球菌のハイドロオキシapatiteへの付着性及びヒト全唾液より分離した菌凝集因子の影響			
論文審査委員	(主査)			
	教授	常光	旭	
	(副査)			
	教授	岡田	宏	教授 小谷 尚三 講師 増田 典男
	講師 恵比須繁之			

論文内容の要旨

歯苔の形成機序を解明するために、エナメル質の表面と口腔細菌との相互作用における唾液成分の関与が重要視され、特に、歯苔形成に関与する唾液糖タンパク質が注目されている。関連する重要な要因として、Gibbons ら (1969) によりヒト唾液中に口腔細菌を凝集する因子が存在することが指摘されている。しかし、この因子の分離・精製は、多くの試みにもかかわらず、現在に至るまで成功していない。例えば Hogg and Embery (1979) は、ヒト全唾液より IgA などの免疫グロブリンを含まず、しかし、血液型活性を示す菌凝集因子を分離し、本因子が巨大な分子量をもつ糖タンパク質であることを示した。しかし、彼らの分離標品は十分均質とはいえないようである。また菌凝集因子が歯苔形成の初期段階で口腔レンサ球菌のハイドロオキシapatite (HA) 粒子への付着にどのような役割を演じているかについても、現在なお不明確な点が多い。

この研究で著者は、ヒト全唾液に口腔由来の *Streptococcus mutans* のセロタイプ c, e と f に属する数株および *S. mitis* と *S. sanguis* の数株を凝集させる菌凝集因子が存在することを確かめた上、ヒト全唾液より菌凝集因子を DEAE セファデックス A-25 カラムクロマトグラフィとセファデックス G-200 によるゲル濾過を行って分離することを試みた。分離された標品は、等電点 2.5-3.5、推定分子量約 200 万の巨大“分子”であり、シアル酸、フコース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミンとマンノースを主な構成糖とし、少量の硫酸塩を含む酸性糖タンパク質であった。この標品は HA 粒子に吸着し、血液型活性を示した。なお、この標品の菌凝集活性は中性、80℃、30 分間の加熱により失われた。

次に、分離標品によって強い凝集を起こす代表的な菌株として *S. mutans* LM 7, *S. mitis* ATCC

9811および *S. sanguis* ATCC 10557 を選び、パパイン、プロナーゼやドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 処理の菌凝集活性への影響を調べたところ、菌凝集活性がいずれも完全に消失することが判明した。一方、本標品の糖鎖を構成する単糖類の添加は菌凝集活性を阻止しないことが明らかにされた。これらの事実は、菌凝集因子のタンパク質部分が菌凝集活性の発現に重要な役割を演じる可能性を示唆する。また、分離標品を EDTA で処理すると菌凝集活性の著しい低下がみられた。低下した菌凝集活性は十分量のカルシウム、マグネシウム、マンガンイオン等を添加しても回復しなかった。シアロ糖タンパク質の本質的な成分であるシアル酸が菌苔形成にどのような役割を演ずるかについては、重要な研究課題であるにもかかわらず、現在までにみるべき知見がない。そこで、この研究で分離した標品を *Arthrobacter ureafaciens* 由来のノイラミニダーゼ (EC 3.2.1.18) で処理し、シアル酸を除去し、指示菌株に対する菌凝集活性への影響を調べた。*S. mitis* と *S. sanguis* に対しては著しく活性が低下したが、*S. mutans* に対する活性には全く変化がみられなかった。また、分離標品で HA 粒子を被覆し、HA 粒子への菌付着がどのように影響されるかを、 $[^3\text{H}]$ 標識した指示菌株を用いて調べたところ、いずれの菌株についても、HA 粒子への菌付着が著しく抑制されることを認めた。一方、シアル酸を除去した分離標品で HA 粒子を被覆した場合には、*S. mitis*、*S. sanguis* の菌付着量は明らかに減少したが、*S. mutans* のそれには変化が認められなかった。

以上、ヒト全唾液に存在する口腔レンサ球菌凝集因子を分離し、HA 粒子-菌凝集因子-口腔レンサ球菌を複合させたモデル実験系を作成して菌苔形成して菌苔形成機構を解析した結果、次の諸点が明らかになった。すなわち、(1)分離した菌凝集因子は硫酸化酸性糖タンパク質であった。(2)分離標品をパパイン、プロナーゼあるいは SDS で処理すると、菌凝集活性は完全に消失した。(3)分離標品よりのシアル酸の除去は、*S. mitis* と *S. sanguis* に対する菌凝集活性を著しく低下させるが、*S. mutans* に対する活性には影響を与えなかった。(4)HA 粒子への指示菌株の菌付着は、分離標品で HA 粒子を被覆することにより著しく抑制された。(5)しかし、シアル酸を除去した分離標品で HA 粒子を被覆した場合には、*S. mutans* の付着量に変化はみられなかったが、*S. mitis* と *S. sanguis* では菌付着の著しい減少が認められた。

以上の結果から、口腔レンサ球菌の本因子を介しての菌面への付着に本因子に存在するシアル酸が重要な役割を果たしていることが示された。

論文の審査結果の要旨

本研究はヒト全唾液に存在する口腔レンサ球菌凝集因子を分離し、ハイドロオキシアパタイト(HA)粒子-菌凝集因子-口腔レンサ球菌を複合させたモデル実験系において、菌苔形成機構を解析したものである。その結果、1) この菌凝集因子は硫酸化酸性糖タンパク質を主体とするものであること、2) 分離標品をノイラミニダーゼで処理してシアル酸を除去すると、*Streptococcus mutans* LM7 株を凝集する活性には変化はみられないが、*S. mitis* ATCC 9811 株と *S. sanguis* ATCC 10557

株に対するそれは著しく低下すること、さらに、3) 菌凝集活性の変動と関連して、シアル酸除去標品で被覆した HA 粒子では、未処理標品で被覆したそれに比べて、*S. mitis* と *S. sanguis* の菌付着が著しく減少することが明らかにされた。

この論文は上記菌凝集因子に存在するシアル酸が、口腔レンサ球菌の歯面への初期付着に重要な役割を果たしていることを明らかにし、歯苔形成を支配する要因の解析に重要な知見を与えるものであり、歯学博士の学位請求に十分値する秀れた論文と認める。