



Title	Arthrinium sp.が作る糖タンパクによるin vitroでのStreptococcus mutansのグルカン合成とプラーク形成の阻害
Author(s)	曾我, 和正
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34840
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら 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

【6】

氏名・(本籍)	そ 曾	が 我	かず 和	まさ 正
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	6672	号	
学位授与の日付	昭和59年12月18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>Arthrinium</i> sp. が作る糖タンパクによる <i>in vitro</i> での <i>Streptococcus mutans</i> のグルカン合成とプラーク形成の阻害			
論文審査委員	(主査)			
	教授	岡田	宏	
	(副査)			
	教授	八木	俊雄	教授 祖父江鎮雄 助教授 雫石 聰
	講師	平地	慶行	

論 文 内 容 の 要 旨

Streptococcus mutans は、グルコシルトランスフェラーゼ(以下GTase)の作用によりスクロースから不溶性グルカンを合成し、このグルカンを介して歯面に付着するとともに、菌体間凝集反応等によりデンタルプラーク(以下プラーク)を形成する。この特性は、*S. mutans* のう蝕原性の発現に決定的に重要な役割を果たすことが知られている。したがって、なんらかの方法で不溶性グルカンの合成を阻害することができれば、*S. mutans* の歯面への付着やプラーク形成を抑制し、ひいてはう蝕を予防することができると思われる。本研究は、溝口順三ら(東洋醸造株式会社研究所)が、*S. mutans* のスクロース凝集に対する阻止作用を指標として土壌標品から分離した真菌、*Arthrinium* sp. の作る糖タンパク(M5071)がこのような目的に利用できるかどうかを検討したものである。

すなわちM5071が、溝口らが検定に用いた以外の*S. mutans*株(スクロース凝集能が強い血清型d, fおよびgの代表株)の凝集を阻害することを確認した上で、この糖タンパクが*S. mutans* の*in vitro*でのグルカン合成、抜去歯のエナメル質片表面への付着および同表面での人工プラーク形成にどのように影響するかを検討した。得られた結果は、次のように要約される。

S. mutans OMZ 176株(血清型d)の培養上清由来の粗酵素標品をスクロースと反応させた際に作られる不溶性グルカン(全生成グルカンの約70%)の生成は、M5071(100 μ g/ml反応液)の添加によりほぼ完全に阻害された。一方、可溶性グルカンの生成の阻害は認められなかった。

OMZ 176株およびFA 1株(血清型b)の培養上清由来の酵素標品によりスクロースから生成されたグルカンをメチル化後加水分解し、メチル化グルコースをガスクロマトグラフィーにより分離定量したところ、生成されたグルカン中の α -1,3グルコシド結合の総グルコシド結合に対する割合は、両株そ

れぞれ約32%および15%であった。これに対して、M5071 (80 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 存在下で生成されたグルカンでは、いずれの酵素標品によるものも、グルコシド結合のほとんどが $\alpha-1,6$ 結合であり、 $\alpha-1,3$ 結合の割合は数%に過ぎなかった。すなわち、M5071は、*S. mutans*のGTaseの $\alpha-1,3$ 結合を作る作用を選択的に阻害し、不溶性グルカンの合成を抑制することが示唆された。

一般に、スクロースの存在下で生育した*S. mutans*は菌体周囲に粘着性の構造物を作って固体表面に強固に付着することが知られている。そこで、スクロース存在下で培養した数種の*S. mutans*株のガラス試験管壁への付着に対するM5071添加の影響を検討した。その結果、M5071の添加濃度に応じてOMZ 176株の付着は減少し、約25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度では付着は完全に認められなくなった。OMZ 176株以外の*S. mutans*の血清型 a~g の代表株についても、本質的に同様な付着阻止効果が得られた。

ついで、OMZ 176株のヒト抜去歯のエナメル質片表面への付着およびプラーク形成を走査型電子顕微鏡により観察し、M5071添加の影響を調べた。その結果、スクロース存在下で生育するOMZ 176株は菌体周囲に作ったグルカンを介してエナメル質表面に付着するが、M5071 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)の存在下では、菌体周囲へのグルカン形成が阻害され、エナメル質表面への付着が抑制されることが形態学的観察によっても確認された。さらに、一旦エナメル質表面に付着した菌がスクロース存在下で増殖して集落を形成する際、M5071が存在すると、この集落形成が抑制された。また、スクロース加BHIブローヌス中でOMZ 176株をエナメル質片とともに培養した際、エナメル質片表面にプラークが形成されるが、M5071の存在はこのプラーク形成を阻害した。

以上要するに、土壌真菌の一株である *Arthriniium* sp. が作る糖タンパク (M5071) が *S. mutans* の培養上清由来のグルコシルトランスフェラーゼによる不溶性グルカンの合成を選択的に、かつほぼ完全に抑制することを明らかにした。この所見は、M5071の発見の端緒となった *S. mutans* のスクロース凝集阻止作用が不溶性グルカン合成の阻害によることを示唆する。また本研究によって、*S. mutans* の作るグルカンの不溶性が $\alpha-1,3$ グルコシド結合した主鎖に依存し、*S. mutans*の歯面モデルへの付着に $\alpha-1,3$ グルコシド結合を多量に含む不溶性グルカンが重要な役割を果していることが、従来とは異なる視点から、確認された。

M5071が *S. mutans* の $\alpha-1,3$ グルコシド結合を作る酵素作用を選択的に抑制し、不溶性グルカンの合成を阻害することによって、*S. mutans*の歯面への付着、およびプラーク形成を著明に阻止することを示したこのモデル実験の結果は、他の条件が整えば、M5071をヒトのう蝕予防にも利用し得る可能性を期待させるものと言えよう。

論文の審査結果の要旨

*Streptococcus mutans*による不溶性グルカンの生成は、本菌がう蝕原性を発現するための最も重要な特性であることがよく知られている。この研究は、土壌真菌である *Arthriniium* sp. が産生する糖タンパク (M5071) が *S. mutans*のグルカン生成、グルカン生成に基づく本菌の歯面への付着、

デンタルプラークの形成などに及ぼす影響を *in vitro* で調べたものである。

この研究により、M 5071 は *S. mutans* OMZ 176 株およびFA 1 株から調製したグルコシルトランスフェラーゼの α -1,3 グルコシド結合形成作用を選択的に抑制し、不溶性グルカンの合成をほぼ完全に阻害すること、またM 5071 を共存あるいは“結合”させた歯面モデルでは *S. mutans* の付着が抑制され、さらに *S. mutans* がすでに歯面モデルに付着したあとでも、M 5071 を共存させると集落形成が阻害されることなどの事実を明らかにした。

曾我君の業績は、以上のようにM 5071 が *S. mutans* のう蝕原性の発現に決定的に重要な役割を果たす不溶性グルカンの生成を阻害することにより、様々な過程においてプラークの形成を抑制することを明らかにし、本物質のう蝕抑制への利用の可能性を考える基礎を与えたものであり、歯学博士の学位請求に値する価値ある業績と認める。