Osaka University Knowledge Archive

Title	う蝕原性細菌Streptococcus mutansの産生するバクテリオシン（ミュータシン）のう蝕抑制作用に関する研究　1. ラット実験う蝕系におけるミュータシンの抗う蝕作用　2. ミュータシンの抗菌作用を妨げる因子について
Author(s)	安福, 美昭
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35669
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【6】

氏名・(本籍)	安福美昭（やすふくよしあき）
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 7834 号
学位授与の日付	昭和62年7月28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	**う蝕原性細菌Streptococcus mutansの産生するバクテリオシン（ミュータシン）のう蝕抑制作用に関する研究** **1．ラット実験う蝕系におけるミュータシンの抗う蝕作用** **2．ミュータシンの抗菌作用を妨げる因子について**
論文審査委員	(主査) 教授 祖父江鎮雄 (副査) 教授 八木 俊雄　教授 浜田 茂幸　教授 竹村 金造 教授 雫石 聰

論文内容の要旨

口腔内細菌の多くは，ある限られた条件下において，抗菌物質バクテリオシンを産生する。Streptococcus mutansに由来するバクテリオシンはミュータシン（mutacin）と呼ばれ，大部分の口腔内細菌に対して抗菌作用を示すことが明らかにされている。このミュータシンがプラーク（dental plaque）中の微生物生態系でどのような役割を演じるかについて，in vitroおよびin vivoにおける研究で様々な検討が加えられてきた。

S.mutans C3603株（血清型c）が産生するミュータシンは分子量4,800の塩基性蛋白質で，100℃10分の熱処理に対しても安定であり，プロナーゼ，リパーゼ等の酵素に対しても耐性を示すことが明らかにされている。しかし，このミュータシンはラクトアルブミンや小麦粉，コーンスターチの存在下ではその活性が著明に抑制され，これらの成分を多量に含むう蝕誘発性飼料2000中では，その活性の83％が損なわれることが示されている。本研究では，活性の90％が損なわれても有効と考えられる高濃度のミュータシンC3603のう蝕抑制作用を，S.mutansを感染させたラット実験う蝕系を用いて検討し，さらにまた，in vitroの条件下でその抗菌作用を妨げる因子について検討を加えた。

実験動物としてspecific pathogen free（ＳＰＦ）のSprague−Dawley系ラット（15日齢，雄，以下ＳＤラットと略）を使用し，供試菌にはS.mutans ＭＴ8148Ｒ株（血清型c）を用いた。60匹のＳＤラットを1群12匹として5群に分け，生後17日目より実験終了までう蝕誘発性飼料2000を与えて飼育した。Ⅰ群はミュータシンを投与しないコントロール群とし，Ⅱａ，Ⅱｂ，Ⅱｃ群には飼料中にそれぞれ2,500，1,000，500μｇ／ｇ，また，飲料水中にはそれぞれ100μｇ／mlの濃度で添加し，Ⅱｄ群では飼料中のみに500μｇ／ｇの濃度でミュータシンを投与した。供試菌のラット口腔内への定着を定期的に確認し，

供試菌の接種後55日（73日齢）でラットを屠殺し，プラーク指数とう蝕スコアを算出した。またin vitroの条件下で、スクロースおよびグルコース培地で培養した口腔内細菌に対するミュータシンC3603の経時的抗菌作用を測定した。即ち，S.mutans MT8148R（血清型c），Streptococcus sanguis ST183R，Streptococcus sulivarius HT3R，Actinomyces viscosus T14V，T14AVの各菌株を指示菌として用い，これらの菌株をBrain heart infusion（BHI）ブロースまたは1％スクロースを加えたBHIブロース中で培養して菌液を調製した。この菌液と等量のミュータシンC3603溶液とを混合して37℃で反応させ，その反応液中の生菌数の経時的変化を記録することにより，ミュータシンの抗菌活性を測定した。さらに，指示菌（S.mutans MT8148R株）を1％スクロースおよび50単位／mlのデキストラナーゼ（ペニシリウム菌由来）を同時に加えたBHIブロースで培養して指示菌液を調製した場合や，スクロースのみを添加して培養後デキストラナーゼで前処理して調製した場合のミュータシンの経時的抗菌作用を測定することにより，ミュータシンの抗菌作用に及ぼすデキストラナーゼの影響を調べた。S.mutansが産生する不溶性グルカンおよび菌体外多糖に対する特異的な吸着は，それらの多糖でミュータシンを前処理した後，その抗菌作用を測定することにより調べた。また，ミュータシン活性に対する唾液の影響は，ミュータシンC3603溶液と等量のラットあるいはヒト唾液とを混合して反応させた後，その混合液中のミュータシン活性を測定することにより調べた。ヒトの口腔粘膜へのミュータシンの吸着は，成人有志がミュータシン溶液を用いて洗口を行った後に回収した洗口液のミュータシン活性を測定することにより調べた。

ミュータシンC3603はラット実験う蝕系において，飲料水中に100μg／ml，および飼料中に1,000μg／g以上の高濃度で添加した場合に有意なう蝕抑制効果が認められた。しかし，その抑制効果は投与量から予期される程には顕著ではなく，飲料水中へミュータシンを添加してもS.mutansの回収，プラークの付着，あるいはう蝕スコアに変化はみられなかった。このため，ラットに投与したミュータシンがラット口腔内で何等かの機序でその抗菌活性の発現を阻害されたと考えられた。そこでその原因を究明するため，in vitroにおいてこのミュータシンの活性発現の時間経過を調べた。その結果，S.mutans MT8148R株を指示菌としたとき，ミュータシンC3603はグルコース培地で培養した細胞には迅速で明確な抗菌作用を示すものの，スクロースを含む培地で培養した場合にはその抗菌作用が著明に阻害された。また，同じ指示菌をスクロースとデキストラナーゼとを同時に添加した培地で培養した場合には，グルコース培養した場合と同様の強い抗菌作用がみられた。一方，S.mutansが産生する不溶性グルカンや菌体外多糖への吸着，あるいはラット唾液によるミュータシン活性の低下はほとんどみられなかった。さらに，スクロースやあるいはグルコースの存在下で菌体外多糖を産生するS.sanguisやA.viscosusについても，ミュータシン活性に対する同様の耐性が認められた。以上のin vitroの実験結果は供試菌が自ら産生する菌体外多糖による菌体表面の被覆により，ミュータシンC3603の抗菌作用から保護されたことを示しており，動物実験で認められたミュータシンの抗う蝕作用が予期したほど明確でなかったのは，供試したS.mutansがスクロースを基質として産生する菌体外多糖により覆われ，ミュータシンが菌体表面に到達できなかったことによるものと示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は，Streptococcus mutans C3603株（血清型c）が産生するバクテリオシン（ミュータシンC3603）のう蝕抑制効果をラット実験う蝕系を用いて検討し，さらに，in vitroにおいて，このミュータシンC3603の抗菌作用を妨げる因子を究明したものである。

ラット実験う蝕系におけるミュータシンC3603のう蝕抑制効果は，そのin vitroでの強力な抗菌作用から予期される程には顕著ではなく，その抗菌作用の発現が，ラット口腔内において何等かの機序によって阻害されたと考えられた。そこで，in vitroにおいて，スクロースやグルコースの存在下で菌体外多糖を産生するS.mutans，Streptococcus sanguis Actinomyces viscosusの各菌株を指示菌とした場合、菌体外多糖の産生によってミュータシン活性に対する感受性が低下することを示した。また，α（1→6）グルカナーゼの存在下においてスクロース培養されたS.mutansがこのミュータシンに対して感受性を有すること，さらに，S.mutansの産生する菌体外多糖がこのミュータシンと特異的に吸着しないことを明らかにした。これらの結果は，スクロースあるいはグルコースを基質として産生される菌体外多糖が菌体表面を覆うことにより，ミュータシン活性が阻害されたことを示唆している。

以上のように，本論文はミュータシンのin vivoにおける活性発現に対する阻害機序の一端を明らかにしたものであり，本研究は歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。