

Title	Streptococcus mutans の菌体表層タンパク抗原と菌体結合型グルコシルトランスフェラーゼの相互作用とう蝕原性への関与
Author(s)	南, 貴洋
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37250
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 ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【10】

氏名・(本籍)	みなみ 南	たか 貴	ひろ 洋
学位の種類	歯	学	博 士
学位記番号	第	9717	号
学位授与の日付	平成3年3月26日		
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	<i>Streptococcus mutans</i> の菌体表層タンパク抗原と菌体結合型グルコシルトランスフェラーゼの相互作用とう蝕原性への関与		
論文審査委員	(主査) 教授 祖父江鎮雄	(副査) 教授 浜田 茂幸	助教授 鳥居 光男 講師 玉川 裕夫

論 文 内 容 の 要 旨

Streptococcus mutans のう蝕原性の発現には、同菌の歯面への付着が必要であり、その過程には、菌体表層の線毛様物質であるタンパク抗原 (PA) と、少なくとも2種の酵素グルコシルトランスフェラーゼ (GTase) が関係していると推測されているが、詳細なメカニズムについてはいまだ明らかではない。この研究では、特に *S. mutans* (血清型 *e*) の菌体表層タンパク抗原 (PAe) と非水溶性グルカンを産生する菌体結合型GTase (CA-GTase) に着目し、これらの欠落変異株を用いることによりPAeとCA-GTaseの菌体付着並びにう蝕発生のメカニズムの解明を試みた。

(材料と方法)

1. 被験菌：ヒトのう蝕病巣より分離された血清型 *e* に属する *S. mutans* LK3株と、同株を血液寒天平板上で継代培養中に菌体表層の結合型PAeが欠落し、培養上清中に多量に遊離するようになった変異株LK37株を用いた。いずれもJan Olsson博士 (Göteborg大学, スウェーデン) より恵与されたものである。これらの2株にストレプトマイシン耐性を付与し (LK3R, LK37R) 実験に供試した。さらにLK37R株をニトロソグアニジンで処理し、2種の変異株 (LK37R-149株およびLK37R-190株) を分離した。
2. PAeの産生量：被験菌株の菌体表層および培養上清中のPAe量を、抗PAe抗体によるELISA, [²⁵I] 標識抗PAe抗体の結合実験, およびSDS-PAGEで検討した。
3. 菌体疎水性：尿素及びマグネシウムを含むリン酸緩衝液 (pH7.1) に各凍結乾燥菌体を懸濁し、*n*-ヘキサデカンを加えて混和、静置後、ヘキサデカン層に移動した菌量を全菌量に対する%比で表し、菌体疎水性とした。また、菌体懸濁液に硫酸アンモニウムを加え、凝集を生じる最小硫酸アンモニウ

ム濃度によっても菌体疎水性を検討した。

4. 唾液被覆ハイドロキシアパタイト (S-HA) 粒子への吸着能: [^3H] チミジンで標識した各菌体を全唾液で被覆したハイドロキシアパタイト粒子と混和し, 吸着した菌量を放射活性により測定した。
5. GTase 活性: 供試菌株の CA-GTase 活性を [^{14}C] スクロースを基質とした [^{14}C] グルカンの合成量で測定した。
6. スクロース依存性平滑面付着能: 1%スクロースを含む液体培地で被験菌株を培養し, 試験管壁に付着した菌量を全菌量に対する比率で表わした。
7. ラットを用いたう蝕誘発実験: 被験菌を SPF Sprague-Dawley ラット口腔内に接種し, スクロースを56%含むう蝕誘発性飼料2000で55日間飼育した。飼育期間中, 定期的に口腔内より菌を回収し, 菌の定着を調べた。実験終了後屠殺し, う蝕スコアとプラークスコアを算定した。

(結果と考察)

LK3R以外の変異株は, 菌体表層の結合型PAeを喪失していた。一方, 培養上清中の遊離PAe量は, LK37R株にのみ増加が認められた。菌体上にPAeを有するLK3R株は高度の菌体疎水性を示した。S-HA粒子への吸着率は, 菌体表層PAeの欠落株であるLK37R株, 及びこれに由来する突然変異株LK37R-149, LK37R-190は有意に低かった。またこれら3株の菌体疎水性は著しく低かった。このことはPAeが*S. mutans*の歯への初期吸着に重要な因子であることを示唆している。

CA-GTase活性はLK37R-190株のみが著しく低い値を示した。さらにスクロース依存性平滑面付着能について見ると, 菌体上のPAeとは無関係に, CA-GTase活性を保有しているLK3R, LK37R, LK37R-149の3株は試験管壁に強固に付着した。これは, CA-GTaseの菌体上への局在およびスクロース依存性の平滑面付着に, PAeが関与していないことを示すものである。一方, CA-GTase活性の著しく低下したLK37R-190株はほとんど試験管壁に付着せず, さらにこのLK37R-190株の培養系にCA-GTaseを添加することにより, 付着能の回復が認められた。これらの結果より, スクロースを基質とする粘着性グルカンを介する強固な付着は, CA-GTaseが主要な役割を果たしていると考えられる。

SPFラットによるう蝕誘発実験では, PAeの欠失株であるLK37R-149株とLK37R-190株は, 親株のLK3Rに比べてラット口腔内への定着が著しく低下し, う蝕スコアおよびプラークスコアが有意に減少した。また, LK37R-149株とLK37R-190株を比較すると, CA-GTase活性の低下したLK37R-190株の方が, より低いう蝕スコアを示した。PAe欠失株でありながら親株と同レベルの口腔内への定着を示したLK37R株は, 実験期間中に菌体上にPAeを保有するようになる逆変異現象を示した。

以上の結果より, *S. mutans*の歯面への付着には, PAeを介する歯面ペリクルへの吸着と, CA-GTaseによる, スクロースを基質とした粘着性グルカン産生を介する強固な付着の二つの段階が互いに独立して機能しており, 両者の存在が*S. mutans*のう蝕原性の発現に重要であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、う蝕の主要な病原細菌である *Streptococcus mutans* のう蝕原性の発現における菌体表層タンパク抗原 (PAe) と菌体結合型GTase (CA-GTase) の果たす役割を、それぞれの欠落変異株を用いて *in vitro* および *in vivo* において検討した。その結果、*S. mutans* の菌面への付着には、PAe を介するペリクルへの吸着と、CA-GTase による、スクロースを基質とした粘着性グルカン産生を介する強固な付着の二つの段階が互いに独立して機能しており、両者の存在が *S. mutans* のう蝕原性の発現に重要であることが明らかとなった。

このように、本研究は *S. mutans* のう蝕原性の発現における菌体表層PAe とCA-GTase の役割を明らかにしたものであり、*S. mutans* の口腔内への定着からう蝕発生に至る詳細なメカニズムの解明と、う蝕の予防法立案に大きく役立つと思われる。よって本研究は、歯学博士の学位請求に値すると認める。