

氏名 ツェレンソド'ノム ハ'ザ'ラクチャ-

授与した学位 博 士  
専攻分野の名称 歯 学

学位授与の番号 博 甲 第 2320 号

学位授与の日付 平成 14 年 3 月 25 日

学位授与の要件 歯学研究科歯学専攻(学位規則第4条第1項該当)

学位論文題名 Variations in acid-producing ability, dextranase activity and adherence property within *Streptococcus sobrinus*  
(*Streptococcus sobrinus* の酸産生能, デキストラナーゼ活性ならびに付着能に関する研究)

論文審査委員 教授 福井 一博 教授 永井 教之 教授 下野 勉

### 学位論文内容の要旨

[緒言]主な齲蝕の初発菌として *mutans streptococci*, 中でも *Streptococcus mutans* (*S.mutans*) と *Streptococcus sobrinus* (*S.sobrinus*) が挙げられる。最近の研究によると *S.sobrinus* は *S.mutans* よりも *in vitro* で酸産生能が強く、動物実験においても齲蝕原性が高いと報告されている。Cariostat (CAT) 寒天培地を用いた研究により酸産生能の相違はこれら2種菌間のみならず同種菌株の中でも認められた。CAT はプラーク細菌叢の酸産生能を評価する目的で開発された培地の色調の変化によって齲蝕活性度を示す齲蝕活性試験のひとつである。つまり細菌叢中の酸産生ならびに酸耐性菌のpH 低下能を肉眼的に CAT を用いて観察することができる。本研究では、MS 寒天培地上で単一のコロニー形態を示した *S.sobrinus* について CAT 寒天培地を用いて三種類の異なったコロニーの分離を行い、酸産生能、デキストラナーゼ活性ならびに付着能について検討した。

[材料と方法] 本研究では、*S.sobrinus* (KIR: serotype g)を試供菌とした。また、*S.sobrinus* を酸産生能の違いによって分類するために CAT 寒天培地を用い、次のとうりに分類した。P-colony: コロニー自身とその周囲の培地に色調の変化を認めなかったもの、G-colony: コロニー自身とその周囲の培地に紫から緑色の変化を認めたものと Y-colony: コロニー自身とその周囲の培地に紫から黄色の変化を認めたものの三種類に分類した。*S.sobrinus* の P-, G-と Y-colony のpH 低下能を調べるためにそれぞれを CAT 液体培地の入ったアンプルに接種した。そして CAT 色調が暗緑色、つまり CAT スコアが 0.5 になるまでの時間を酸産生開始時間とし、これをベースラインの時間とした。ベースラインの時間から2時間ごとにマイクロチューブにそれぞれのアンプルから 0.1ml ずつ汲み出しpH を測定した。また同時に CAT スコアを肉眼判定した。ベースラインから臨界脱灰pH ( 5.4-5.5 )になるまでの時間をそれぞれのコロニー接種し、培養アンプルについて pH 低下速度を調べた。pH ならびに CAT スコアについては、48 時間培養後のものを最終値

とした。さらにデキストラナーゼ活性を調べるために P-, G-と Y-colony のサスペンションを 0.5% blue dextran 2000 を添加した Brain Heart Infusion agar に接種し 37°C、48 時間、嫌氣的に培養した。またそれぞれの菌のガラス壁付着能を調べるために Bhuiyan の方法を用いた。

[結果] Y-colony が CAT スコアー、0.5 に達するまでの時間は 16 時間で、P-colony を同菌数接種したときよりも 8-10 時間短かった。G-colony については細菌数に関わらず 24 時間以内に達した。また Y-colony 接種培地については、ベースラインから 2-4 時間後、すなわち、接種してから 18-20 時間以内に臨界脱灰 pH に達した。P-colony については、4-6 時間で臨界脱灰 pH に達し、接種してからでは 30-36 時間で達した。G-colony については P-と Y-colony の中間に位置していた。P-, G-と Y-colony いずれにおいても細菌数と pH 低下速度との間には正の相関が認められた。それぞれの菌を  $10^5$  CFU/ml CAT 液体培地に接種培養した 24 時間後の平均 pH は、Y-colony で  $4.97 \pm 0.02$  (S.D.) で P-colony では  $6.47 \pm 0.03$  (S.D.), G-colony では  $5.88 \pm 0.01$  (S.D.) であり P-, G-と Y-colony いずれの間には  $p < 0.01$  で有意の差を認めた。同様に 48 時間後の平均 pH は Y-colony では  $4.52 \pm 0.05$  (S.D.), P-colony では  $4.72 \pm 0.02$  (S.D.), G-colony では  $4.67 \pm 0.05$  (S.D.) となり Y-colony と P-colony の間には  $p < 0.01$ 、G-colony との間には  $p < 0.01$  で有意の差を認めたが、P-colony と G-colony の間には有意差を認めなかった。CAT スコアーでは、Y-colony は 24 時間後に P-と G-colony よりも有意に低かったが、48 時間後のスコアーでは有意の差を認めなかった。なおデキストラナーゼ活性は Y-colony が最も高く次いで G-, P-colony の順であった。さらにガラス壁付着能については、スクロース存在下の培地で P-, G-colony よりも Y-colony が著明であり、P-, G-colony は同じ位付着能が弱かった。

[考察] *S.sobrinus* の P-, G- と Y-colony は 20%スクロースを含む CAT 液体培地中で有意に酸産生速度が異なった。Y-colony は、P-, G-colony に比べ高い酸産生能を示した。つまり、Y-colony は他のコロニーに比べ酸産生速度が速く、P-colony が最も遅く、G-colony は P-と Y-colony の中間値をとった。*S.sobrinus* の P-, G- と Y-colony のデキストラナーゼ活性は、酸産生能と関係が認められた。Y-colony は酸産生能のみならずデキストラナーゼ活性も高いことが示された。さらに *S.sobrinus* の P-, G-と Y-colony の付着能と酸産生能の間にも正の相関が認められた。以上の所見より *S.sobrinus* の Y-colony は P-, G-colony と比べ、齶蝕原性が高いと思われる。すなわち歯垢中の mutans streptococci の中でも Y-colony の存在により齶蝕原性を高めている可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、主な齲蝕の初発菌として挙げられる mutans streptococci, 中でも最近の研究により *S. mutans* よりも *in vitro* で酸産生能が強く、動物実験においても齲蝕原性が高いと報告されている *S. sobrinus* について研究を行った。MS 寒天培地上で単一のコロニー形態を示した *S. sobrinus* について Cariostat (CAT) 寒天培地を用いて三種類の異なったコロニーの分離を行い、酸産生能、デキストラナーゼ活性ならびに付着能について検討した。

*S. sobrinus* KIR (serotype g) を試供菌とし CAT 寒天培地を用いて酸産生能の違いによって P-colony、G-colony、Y-colony の三種類に分類した。酸産生開始時間を算出し、ベースラインから臨界脱灰 pH (5.4-5.5) になるまでの時間を調べた。さらにデキストラナーゼ活性と菌のガラス壁付着能を調べた。

*S. sobrinus* の P-, G- と Y-colony は 20%スクロースを含む CAT 液体培地中で有意に酸産生速度が異なった。Y-colony は、P-, G-colony に比べ高い酸産生能を示した。つまり、Y-colony は他のコロニーに比べ酸産生速度が速く、P-colony が最も遅く、G-colony は P-と Y-colony の中間値をとった。*S. sobrinus* の P-, G- と Y-colony のデキストラナーゼ活性は、酸産生能と関係が認められた。Y-colony は酸産生能のみならずデキストラナーゼ活性も高いことが示された。さらに *S. sobrinus* の P-, G- と Y-colony の付着能と酸産生能との間にも正の相関が認められた。以上の所見より *S. sobrinus* の Y-colony は P-, G-colony と比べ、齲蝕原性が高いと思われる。すなわち歯垢中の mutans streptococci の中でも Y-colony の存在により齲蝕原性を高める可能性が示唆された。

以上によって、本申請論文は学位論文として価値があると認めた。