原 著

唾液タンパク部分水解物の乳酸醗酵促進効果

森 永 和 男

日本歯科大学 生化学教室* (指導 三代幸彦教授)

〔受付: 昭和48年4月12日〕

抄録: インキュベートした唾液中ではアミノ酸が遊離しているので、乳酸生成がさかんになると一般に考えられている。しかし、種々の時間ブレインキュベートした唾液にグルコースを加えて乳酸生成をみると、*Str. salivarius* などレンサ球菌の存在により、ブレインキュベート約10時間の唾液が最高の生成量をしめした。endopeptidase であるナガーゼを作用させた新鮮唾液（あるいは透析内液）でも *Str. salivarius* の乳酸生成は著明に増加した。

Bio-Gel P-4 を用いて唾液試料を分画してみると、ブレインキュベート10時間唾液もナガーゼによる部分水解物もそのペプチド画分が乳酸生成を促進した。また、新鮮唾液などにこのペプチド画分を加えると乳酸生成が著明に増加したが、アミノ酸混液やペプチド画分の完全水解物（塩酸による）を添加しても乳酸生成はほとんど増加しなかった。しかし、ペプチド画分とアミノ酸混液を同時に添加すると、乳酸生成はますます著明になった。

緒 言

歯学領域でもっとも重要で、かつ一般的な疾患のひとつとして齲蝕があげられる。現在、その病因に対して十分な解明がなされてはいないが、微生物によって起こり、摂取された糖とくにショ糖が重要な役割を演じていることは多くの研究によって明白である。ショ糖を基質としてつくられるデキストランが歯苔形成の主物質となり、ここを場としてその内部において酸産生がおこなわれ、齲蝕が発生するものと解されている。すなわち、口腔内における糖質代謝が齲蝕発生に対する重要な直接的因子になっている。しかし、口腔内の物質代謝にはいろいろな因子（たとえば唾液や歯苔の物理的・化学的性状、微生物の分布、代謝産物など）が複雑にからみあっている。その基本的要素には酸素分圧、pH、栄養などがある。

一般に唾液自身の物質の濃度は希薄であり、微生物に対する栄養源としては、それだけでは不完全なものと考えられるが、実際の口腔内にはいろいろの微生物が生存しているのである。摂取食品、微生物間の共同（栄養素の供給）などのほか、唾液には醗酵や呼吸あるいは微生物の生育などを促進する因子が存在しているらしいことは、すでに多くの研究者によって示唆あるいは報告されている。

とくに Hartles¹⁻⁴⁾ は、ヒト唾液上清中には微生物の醗酵を促進させる因子があり、これによって微生物の酸の産生および酸素消費が促進され、しかもこの促進の仕方は微生物による糖質の利用が刺激されるのであって、唾液上清成分自身が基質として関与したためではないと報告している。また、この促進因子は透析性、耐熱性、ニンヒドリン反応陽性のものであると報告している。

Stimulating effect of partial hydrolysates of salivary protein on the lactate fermentation of some streptococci.

Kazuo MORINAGA (Department of Biochemistry, Nippon Dental College, Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo)

* 東京都千代田区富士見 1-9-20 (〒 102)

Jap. J. oral Biol., 15: 187-205, 1973.

Hartles²⁾ は、はじめこれを metabolic factor と呼んだことがあるが、Molan ら³⁾ は尿素（尿素由来アンモニア）ではないかといっている。他方 Kawasaki⁵⁾ は、この因子は分子量 7,000~11,000 のタンパクであると報告し、Hay ら^{6,7)} は主因子はアミノ酸であると報告している。しかるに Mishiro ら^{8,9)} は、この因子はペプチド画分にある、カゼインの完全水解物では代用できないことを報告している。また、唾液透析外液因子によって乳酸産生が促進される微生物として *Streptococcus salivarius* をあげ¹⁰⁾、この菌株をつかって、ヒト唾液透析外液中の因子は比較的に低分子のペプチドであり、完全酸水解によって失活することを報告している^{11,12)}。他方 Kirimura ら¹³⁾ は、*Streptococcus salivarius* の乳酸産生が、カゼインや血清アルブミンの酵素部分水解物で促進されること、小山ら¹⁴⁾ は *salivarius* のほか *pyogenes*, *faecalis* もタンパクの部分水解物で同様の促進を受けることを報告している。そして lactobacilli は一般に促進を受けないとしている。

ところで、Weisberger^{15,16)}、Dreizen ら¹⁷⁾、Lightfood ら¹⁸⁾ は、インキュベートした唾液には lactobacilli の成長に必要なだけのアミノ酸が生じることを報告し、Lightfood ら¹⁸⁾ は唾液微生物のタンパク分解酵素の活性は酸産生の limiting factor であるとしている。唾液は、ひとつひとつの微生物にとっては元来貧弱な培地であっても、それら微生物が混在して生息する場合には、新生栄養素の相互補給があって案外に活動的な培地になるものと解される。もちろん、その逆の場合もありえるが。

このような知見と前述の Mishiro らの成績⁸⁻¹⁴⁾ をあわせ考えると、インキュベート唾液の研究によって、タンパクの代謝産物であるペプチドとアミノ酸のうち、どちらがより強く乳酸産生に効いてくるかを知ることができると期待される。唾液内の微生物分布、とくに lactobacilli か streptococci かという問題、も関係があると思われるが、実験の結果は、Lightfood ら¹⁸⁾ とは違った意味で、タンパクの分解酵素の活性が酸産生の limiting factor であることをしめた。本報告はその成績ならびに関連する現象をまとめたものであ

る。

実験方法

1) ヒト唾液の採集

刷子を用いて、口腔内を水道水でよく洗浄し、純水で含嗽したのち、自然に流出する汚染全唾液を、30°C に保った試験管中に採集する。

2) 唾液のプレインキュベーション

上記のヒト汚染全唾液を 37°C にインキュベートし、一定時間ごとに 10ml あて取り出し、99°C、30分間の加熱滅菌後、冷暗所に保存する。

3) 唾液の濾過（透析）

プレインキュベート唾液を 10,000 G で 10 分間遠沈し、その上清をコロジオンバッグ (Sartorius Membranfilter GmbH) に入れ、4°C の氷室内で濾過する。この濾液（透析外液）を氷室に保存する。内液にはもとの唾液量になるように純水を加え、冷暗所に保存する。

4) 供試細菌

Lactobacillus として

arabinosus 17-5 ATCC 8014

acidophilus (日本歯科大学細菌学教室)

brevis ATCC 1082

casei ATCC 7469

delbrueckii IAM 1085

fermenti IFO 3954

Streptococcus として

faecalis 10541 (日本歯科大学細菌学教室)

lactis ATCC 7963

salivarius ATCC 9758

sanguis ATCC 10557

pyogenes ATCC 10389

を用いた。

5) 細菌浮遊液

各細菌の培養に使用した培地組成を表 1, 2 にしめす。

L. acidophilus, *Str. lactis*, *Str. salivarius* はグルコース加ブイオン培地に、*L. arabinosus* は Snell-Snell 培地に、*L. brevis*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, *L. fermenti*, *L. plantarum* はグルコース加ハートインフュージョン培地に、*Str. faecalis*, *Str. pyogenes*, *Str. sanguis* はハートインフュー

表 1 Snell-Snell 培地の組成 (500ml 中)
グルコースを除き、硫酸アンモニウムを添加、pH 6.8

ア デ ニ ン	5mg
グ ア ニ ン	5〃
ウ ラ シ ル	5〃
<hr/>	
L-シ ス チ ン	100〃
L-トリプトファン	25〃
カ ザ ミ ノ 酸	2.5 g
<hr/>	
ビ タ ミ ン B ₁	50γ
〃 B ₂	100〃
〃 B ₆	200〃
ビ オ チ ン	0.2〃
ニ コ チ ン 酸	100〃
パラアミノ安息香酸	50〃
パントテン酸ナトリウム	100〃
<hr/>	
FeSO ₄ · 7 H ₂ O	5mg
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	100〃
MnSO ₄ · nH ₂ O	5〃
K ₂ HPO ₄	250〃
KH ₂ PO ₄	250〃
酢酸ナトリウム	5 g

これに硫酸アンモニウムを 30mg/100ml の濃度に添加する

表 2 各種培地の組成

1) グルコース加ブイオン培地

粉 末 ブイオン	2 g
グ ル コ ー ス	1 g
以上を純水で 100ml とし、pH 7.0 に調整	

2) グルコース加ハートインフュージョン培地

ハートインフュージョンブイオン	2.5 g
グ ル コ ー ス	1 g
チオグリコール酸ナトリウム	0.1 g
酢酸ナトリウム	1 g
以上を純水で 100ml とし、pH 7.0~7.2 に調整	

3) ハートインフュージョン培地

ハートインフュージョンブイオン	2.5 g
純水で 100ml とし、pH 7.3~7.5 に調整	

ジョン培地に接種し、37°C で20時間培養し、濃厚な細菌浮遊液をつくる。これらの浮遊液を10,000 G で10分間遠沈し、上清をすてる。その沈澱細菌層を0.6%塩化ナトリウムに浮遊させ、さきの条件で再び遠沈する。この操作を 3 回おこなう。つい

で細菌を一定濁度の浮遊液にするため、日立101型光度計を用い、0.6%塩化ナトリウムを加えながら 660mμ の attenuation (A_{660mμ}) を測定し、A_{660mμ}=0.2のものをつくる。

6) 唾液微生物浮遊液

20ml の唾液を採集して10,000 G で遠沈し、上清をすてる。この唾液沈渣について、前述の細菌浮遊液を作成したと同様の操作をおこない、一定濁度 (A_{660mμ}=0.2) のものをつくる。

7) 歯苔の採集

口腔内を充分刷掃し、2日後に鎌状スクレーパーにて小白歯、第一大臼歯の各面から採集する。

8) インキュベーション

基質として、終濃度0.48g/100mlのグルコースを用いた。約30ml 容量の試験管にとった10g/100 ml のグルコース0.1ml に、一定時間プレインキュベートした唾液0.5ml と、唾液微生物浮遊液または細菌浮遊液0.5ml、純水 1.0ml を加え全量 2.1 ml にする。4時間静置 インキュベートし、10g/100ml トリクロル酢酸3.0ml で反応を停止させ、生成蓄積乳酸量を測定する。

9) 乳酸の定量

Barker-Summerson 法¹⁹⁾ によった。これは乳酸を濃硫酸の存在下で加熱し、アセトアルデヒドを生成させ、パラヒドロキシジフェニルとの反応で生じる呈色を、硫酸銅で増強させる方法である。

共栓付スピッツグラスにトリクロル酢酸で除タンパクした試料液1.0ml をとり、2.5g/100ml 硫酸銅4.0ml を加え、さらに水酸化カルシウム1.0g を加えて振盪混和し、30分静置後に3,000rpm で5分間遠沈する。このようにして除糖操作をおこなった上清1.0ml を試験管にとり、これに4 g/100 ml 硫酸銅0.05ml を加え、冷却しながら濃硫酸 6.0ml を徐々に加え、振盪混和する。つぎにこれを沸騰水中で5分間加熱したのち、冷水で20°C 以下に冷却する。ついで1.5g/100ml パラヒドロキシジフェニルを0.1ml 加え、よく振盪混和する。ただちに30°C の水浴中に30分間浸し、さらに沸騰水浴中に90秒間浸し、残存パラヒドロキシジフェニルを溶解し、冷水中で冷却する。発色した青紫色を570mμ で比色する(日立101型光度計)。

表 3 アミノ酸混液の組成

アミノ酸	mg/100ml
グリシン	0.98
アラニン	0.40
バリン	0.26
ロイシン	0.35
イソロイシン	0.70
セリン	0.60
スレオニン	0.36
チロジン	1.05
フェニルアラニン	0.63
トリプトファン	3.0
システイン	0.84
メチオニン	0.54
グルタミン酸	1.21
アスパラギン酸	0.51
リジン	3.31
ヒスチジン	1.80
アルギニン	1.39
プロリン	0.35

10) Bio-Gel P-4によるペプチドの分画

Bio-Gel P-4を0.2N 酢酸アンモニウム(pH 9.0)で充分に膨潤させ、内径15mm、高さ950mmのカラムに充填する。これに唾液試料の透析外液濃縮液を一定圧のもとで通す。0.2N 酢酸アンモニウムで展開させ、流出量2 ml/20min あてフラクションコレクター(東洋 SF-160K)に分取する。

分画した各画分を280m μ にて追跡する(日立101型光度計)。

11) 濁度の測定

微生物の増殖をチェックする意味で、波長660 m μ で求めた(日立101型光度計)²⁰⁾。

12) 唾液タンパクの完全水解(塩酸)

唾液透析内液に同量の濃塩酸を加え、110℃、12時間水解する。凍結乾固によって塩酸を除き、さらに水酸化ナトリウムで中和し、はじめの $\frac{1}{2}$ 量になるように純水を加える。

13) 唾液タンパクの部分水解(ナガーゼ)

唾液透析内液2 mlに1.6mg/10ml ナガーゼ(結晶細菌アルカリプロテアーゼ)0.1mlを入れ、12時間インキュベートする。対照として用いるナガーゼは99℃、30分の加熱によって失活させる。

14) グルコースの定量

Somogyi-Nelson 法²¹⁾によった。

15) アミノ酸混液

真田ら²²⁾がおこなった新鮮全唾液のアミノ酸の分析結果を参考にしたが、トリプトファン、ロイシン、イソロイシンはそれより高い濃度にした(表3)。

実験結果

1. 基礎的実験

唾液のpHは6~8とされているが、採取されたヒト汚染全唾液では、唾液酸性タンパクの作用によるCO₂の逃出²³⁾によって7以上のことが多い。そこでまず、プレインキュベート唾液および*Str. salivarius*の乳酸生成に対するpHの影響をみることにした。

1) プレインキュベート唾液のpH変化

ヒト汚染全唾液を30ml 採集してよく振盪し、0, 10, 36, 48時間プレインキュベートする。これらの唾液試料を99℃で30分間加熱する。加熱前、加熱後、加熱後一昼夜冷暗所に保存したときのpHを比較した(東亜電波 HM-5A 型)。

図1から明らかなように、加熱前のpHは7以上をしめし、インキュベート時間が長くなるにしたがって、徐々にpHのわずかな減少がみられたが、36時間以上の場合はpHがすこし上昇した。しかし、これらのプレインキュベート唾液を加熱すると、CO₂の逃出や尿素分解によって、図にし

図1 種々の時間プレインキュベートした唾液の加熱操作によるpH変動

図2 乳酸生成と pH

図3 Snell-Snell 培地の濃度 (正規の培地を1とする) と乳酸生成

めすように pH 8以上に上昇した^{24,25)}。これを一昼夜冷暗所に保存してもその pH は著明には変化しなかった。この結果から、プレインキュベート唾液は加熱滅菌後一昼夜冷暗所に保存して実験に

使用することにした。

2) 乳酸生成に対する pH の影響

Str. salivarius など細菌は pH の変動によって活動が変化する。至適初期 pH を決定するため、つぎの実験をおこなった。

プレインキュベート10時間唾液の透析外液に水酸化ナトリウムあるいは塩酸を加えて pH 種々のものをつくる。それぞれの6.0ml にアミノ酸混液および *Str. salivarius* 浮遊液を6.0ml あて加える。これを8本の試験管に2.0ml あて分注する。これらに10g/100ml のグルコースを0.1ml あて加え(終濃度0.48g/100ml), 37°C で2時間あるいは4時間インキュベートする。

図2のように、2時間のインキュベーションでも、4時間のインキュベーションでも、pH が7.0以上であれば乳酸生成量はほとんど同じになった。そこで以下の実験においては、初期 pH を7.5に調整した試料について乳酸生成を調べることにした。

3) 乳酸生成に対する Snell-Snell 培地の濃度の影響

表1の Snell-Snell 培地を $\frac{3}{4}$, $\frac{2}{4}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{0.5}{4}$ に希釈し、それぞれの0.5ml を試験管にとり、これらに純水1.0ml, *Str. salivarius* 浮遊液0.5ml とグルコース0.1ml あてを加える。37°C で4時間インキュベートした場合の乳酸生成を図3に示した。図のように、培地を $\frac{3}{4}$ に希釈しても、乳酸生成量には変化が認められなかった。

2. インキュベート唾液内での乳酸生成

1) 唾液内微生物による乳酸生成

プレインキュベート唾液を経時的に0.5ml あて取り出し、これに純水1.5ml と10g/100ml グルコース0.1ml を加えて全量2.1ml とする。37°C に4時間再インキュベートした場合の乳酸生成を図4に示した(図の実線)。図示のように、プレインキュベート唾液の乳酸生成は、プレインキュベート10時間前後の唾液で最高になった。

この実験では、プレインキュベート中に唾液微生物叢が変化しているかもしれない。そこで、微生物叢一定のものを使用するため、プレインキュベートした各唾液をあらかじめ99°C, 30分間加熱して滅菌し、その0.5ml あてに新鮮唾液微生物浮

図4 プレインキュベート唾液内における乳酸生成

実線：プレインキュベート唾液に直接グルコースを混和して4時間インキュベートした場合

破線：プレインキュベート唾液を加熱滅菌したのち、グルコースと新鮮唾液微生物浮遊液を混和して4時間インキュベートした場合

図5 プレインキュベート唾液内における *Str. salivarius* の乳酸生成

プレインキュベート唾液を加熱滅菌したのち、グルコースと *Str. salivarius* 浮遊液を混和して4時間インキュベートする

遊液0.5ml と純水1.0ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml を加えたものについて実施した。その成績は図4の破線のようにあり、乳酸生成の傾向は実

線の場合と類似していた。

2) 種々の乳酸菌による乳酸生成

唾液中に多い乳酸菌のひとつは *Str. salivarius* である。その ATCC 9758株を、前項(図4破線)の新鮮唾液微生物のかわりに用いて、同様の実験をおこなった。図5に示すように、唾液微生物全体の場合と同様に、10時間プレインキュベート唾液中において、*Str. salivarius* の乳酸生成は最高値をしめし、それより長時間のプレインキュベート唾液中では乳酸生成量は減少した。そこで *Str. salivarius* のほかにいろいろな乳酸菌を使って比較してみた(図6, 7)。

lactobacilli は *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. arabinosus*, *L. delbrueckii*, *L. fermenti* のいずれにおいてもプレインキュベート10時間唾液中のピークは認められなかった。さらに *streptococci* でも、*Str. faecalis*, *Str. pyogenes* ではピークはみられなかった。しかし、*Str. salivarius* と同様に、*Str. lactis*, *Str. sanguis* のような *streptococci* はプレインキュベート10時間の唾液においてピークをしめすことがわかった。したがって、インキュベート唾液中の乳酸生成を代表するもののひとつは *streptococci* であると考えられる。この結果から、以下の実験には *Str. salivarius* を使用することにした。

プレインキュベート10時間の唾液中で乳酸生成がこのような高くなる原因として、唾液をプレインキュベートした時には、10時間をすぎてから阻害的に作用する代謝産物がなにかできてくるのかどうか、または乳酸の分解が早くなるのかどうか、なども考えられる。

3) 抑制因子の有無

従来の通説¹⁶⁻¹⁸⁾から考えると、インキュベートした唾液においては、多くのアミノ酸が遊離し、したがって乳酸生成量が増加すると考えられる。図6のように多くの *lactobacilli* においては確かにそうである。しかるに10時間前後プレインキュベートした唾液中で、*Str. salivarius* など *streptococci* の乳酸生成量が最高値をしめすのは、長時間インキュベートすると、これらの細菌に対する阻害物質が生じることも考えられる。そこでプレインキュベート10時間唾液にプレインキュベート

図 6 プレインキュベート唾液内における lactobacilli の乳酸生成
プレインキュベート唾液を加熱滅菌したのち、グルコースと各種 *Lactobacillus* 浮遊液を混和して 4 時間インキュベートする

図 7 プレインキュベート唾液内における streptococci の乳酸生成
プレインキュベート唾液を加熱滅菌したのち、グルコースと各種 *Streptococcus* 浮遊液を混和して 4 時間インキュベートする

48時間唾液を加えた混合液中での *Str. salivarius* による乳酸生成量を調べた (図 8)。図のように、唾液混合液中の方が、10時間や48時間プレインキュベート唾液よりも乳酸生成量が大きかった。このことから、48時間プレインキュベート唾液中には、*Str. salivarius* に対する阻害物質はないか、あっても無視できると考えられる。なお、両

唾液の等量あて混液において乳酸の生成がもっとも大きくなったことは、各唾液中の物質分布が異なり、それらの相加的あるいは相乗的效果が現われたことを示唆する。

4) プレインキュベート唾液中における乳酸の分解

L 型の方が D 型より早く消失するが²⁶⁾、とにかく

図 8 プレインキュベート48時間唾液内の代謝阻害因子の検討

- ① 48時間唾液1.0ml, *Str. salivarius* 浮遊液0.5ml, 純水0.5ml, 10g/100ml グルコース0.1ml
- ② 10時間唾液1.0ml のほかは①に同じ
- ③ 48時間および10時間唾液の各0.5ml のほかは①に同じ, これらを4時間インキュベートする

く唾液には乳酸を分解する微生物が生息している²⁷⁾。10時間以上のプレインキュベート唾液中で乳酸量の減少がおこるのは、乳酸の生成よりも分解の方を大きくする因子の発現によるのかもしれない。そこでつぎの実験をおこなった。

0, 10, 48時間プレインキュベートした唾液の0.5ml あてに、100mg/100ml 乳酸ナトリウムの1.0 ml と *Str. salivarius* または唾液微生物浮遊液の0.5ml を加え、37°C, 4時間インキュベートしたときの乳酸量を図9, 10に示す。図のように、唾液微生物では、プレインキュベーションが長いとき、乳酸の減少がわずかにみられた。しかし、*Str. salivarius* においては、乳酸の減少はまったくなかった。したがって、10時間以上プレインキュベートした唾液にみられる乳酸生成量の減少(図4, 5, 7)は、乳酸の分解が促進されたためのものではないと考えられる。

5) 唾液浮遊物および歯苔の有無による *Str.*

図 9 唾液微生物による乳酸の分解

実線：新鮮唾液

破線：プレインキュベート10時間唾液

点線：プレインキュベート48時間唾液

図 10 *Str. salivarius* による乳酸の分解

実線、破線、点線の意味は図9に同じ

salivarius の乳酸生成の比較

唾液試料中に剝離上皮などの浮遊物が多いほど、乳酸生成のピークが早く現われる感じがあるので、人為的に唾液浮遊物を30分間自然放置して除去したのちプレインキュベートした唾液と、除去しなかった唾液について、*Str. salivarius* の乳酸生成を調べた(図11)。プレインキュベート唾液

図 11 *Str. salivarius* の乳酸生成を唾液浮遊物の有無によって比較

黒丸：浮遊物を除去した唾液をプレインキュベートし、各時間において加熱滅菌したもの0.5ml あてをとり、*Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 1.0ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml を加えて4時間インキュベートする

白丸：浮遊物を除去しない唾液について同様に実施する

図 12 *Str. salivarius* の乳酸生成を歯苔の有無によって比較

黒丸：図11に同じ

白丸：浮遊物除去唾液に歯苔を加えたものについて図11と同様に実施する

はすべてあらかじめ加熱滅菌したのちに *Str. salivarius* 浮遊液を添加した。図のように唾液浮遊物がいっていたものでは、10時間プレインキュベート唾液において著しいピークが現われたが、浮遊物を除いた唾液ではこのピークの発現が10時間以後になり、しかもピークはさほど著明でなくなった。また図12のように唾液浮遊物のかわりに歯苔を使用した場合にも同じ傾向がみられたが、歯苔は唾液浮遊物ほどには明らかなピークを現わさなかった。歯苔と浮遊物ではその構成成分が異なるためであろう。

6) 小括

以上から、唾液をプレインキュベートした場合は、唾液微生物によって *Str. salivarius* などの streptococci に対する必要因子（代謝産物）がつかれ、その因子は一定時間（10時間前後）後にもっとも量が多くなり、さらに長時間のプレインキュベーションでは分解されてしまうと考えられる。緒言にのべた Mishiro ら⁸⁻¹⁴⁾の研究から考えると、これは乳酸生成促進因子ではないかと推定される。唾液浮遊物や歯苔についての成績も、乳酸生成促進因子の生成量と関連するものと思われる。

3. 乳酸生成促進因子の性状

1) 耐熱性

これまでの実験ですでにわかっていることであるが、さらに正確にするため、つぎの実験をおこなった。プレインキュベート10時間唾液20ml を10,000G で遠沈し、その上清の10ml を99°C、30分加熱処理する。これを加熱上清とし、加熱処理しない生の上清との比較をおこなった。すなわち、*Str. salivarius* 浮遊液0.5ml, 純水1.0ml に加熱上清あるいは生の上清 0.5ml を加えたものを作り、これらに基質として 10 g/100 ml グルコース 0.1ml あてを添加し、それぞれを37°C で4時間インキュベートし、乳酸生成量を比較した（図13）。図のように唾液上清を加熱しても、乳酸生成量にはさほど変化はみられなかった。

2) 透析性

プレインキュベート10時間唾液20ml を10,000G で遠沈し、その上清10ml をコロジオンバッグで濾過する。この濾液をプレインキュベート10時間

図 13 促進因子の耐熱性

図 14 促進因子の透析性

- ① 新鮮唾液透析外液+プレインキュベート10時間唾液透析外液
- ② 新鮮唾液透析外液+プレインキュベート10時間唾液
- ③ 新鮮唾液透析外液+プレインキュベート10時間唾液透析内液
- ④ 新鮮唾液透析外液だけ (純水 1.0ml 添加)
- ⑤ プレインキュベート10時間唾液透析内液だけ (純水 1.0ml 添加)

唾液の透析外液とよぶ。また、この内液をプレインキュベート10時間唾液の透析内液とよぶ。

これらの内液あるいは外液0.5ml を新鮮唾液透析外液 0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 0.5ml, 10 g/100ml グルコース 0.1 ml の混液に加え、乳酸生成を比較した(図14)。プレインキュベート10時間唾液の透析内液では、ほとんど乳酸生成はみられなかった(図の③)。しかし、プレインキュベート10時間唾液の透析外液では、乳酸生成が著明になった(図の①)。これは図の②のプレイン

図 15 新鮮唾液透析内液ナグーゼ水解物による乳酸生成促進

A : 唾液透析外液

B : 不活性ナグーゼを添加した透析内液

C : ナグーゼ水解内液

これらの各0.5ml に, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水1.0ml, 10g/100ml グルコース0.1 ml を混和して4時間インキュベートする

A+B : A 0.5ml と B 0.5ml の混液に *Str. salivarius* 浮遊液0.5ml, 純水0.5ml, 10g/100 ml グルコース0.1ml を混和して4時間インキュベートする

A+C : A 0.5ml と C 0.5ml の混液についてと同様に実施する

キュベート10時間唾液の生上清の場合とほぼ同じ程度である。これらの成績は乳酸生成促進因子が完全に透析性であることをしめす。

3) 唾液タンパクの部分水解

唾液をインキュベートするとペプチドが生じ、ついで種々の exopeptidase が作用してアミノ酸が遊離するであろう。したがって、ペプチド量はある一定時間のプレインキュベーションにおいて最高値に達すると考えられる。

そこで新鮮唾液20ml を採集し、コロジオンバッグで透析内液および外液にわけた。内液をナグーゼで水解させ、*Str. salivarius* による乳酸生成を調べた(図15)。この図のように新鮮唾液透析外液にナグーゼ水解内液を添加した場合は、他に比

図 16 ナガーゼで部分水解した唾液透析内液のゲルクロマトグラム

実線：ナガーゼ水解内液
破線：未水解内液

較して著しい乳酸生成があった。しかし新鮮唾液透析外液やナガーゼ水解物だけの場合には、乳酸生成は著明ではなかった。新鮮唾液の透析内液にナガーゼを作用させると、唾液タンパクの部分水解がおこって、いろいろな大きさのペプチドを生じる。したがって、この図15の結果は、乳酸生成の促進がペプチドによることを示唆している。

4) ナガーゼ水解内液の分画

唾液透析内液にナガーゼを作用させた場合には、いろいろな大きさのペプチドが生じているはずである。したがって実際に、*Str. salivarius* に対する乳酸生成促進性のペプチドをえるために、Bio-Gel P-4による分画をおこなった。

新鮮唾液30ml をとり、10,000 G で遠沈し、その上清をコロジオンバッグで濾過する。この透析内液をもとの唾液の $\frac{1}{2}$ 量 (15ml) の純水で希釈し、これをナガーゼ水解し、Bio-Gel P-4にて分画したのが図16である。図の破線はナガーゼ水解しない内液の分画、実線がナガーゼ水解させた内液の分画を表わす。図にしめたように、ナガーゼ水解内液の場合には、fraction number 30 をすぎると、 $E_{280m\mu}$ 分析で著明なピークが現われた。

図 17 ナガーゼ水解内液クロマト画分の乳酸生成 (*Str. salivarius*) に対する作用

C: 新鮮唾液透析外液 0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 1.0ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml の混液を 4 時間インキュベートする

C+H: H画分 0.5ml, 新鮮唾液透析外液 0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 0.5ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml の混液を 4 時間インキュベートする

C+I₁: I₁ 画分 0.5ml, 以下同様

C+I₂: I₂ 画分 0.5ml, 以下同様

C+I₃: I₃ 画分 0.5ml, 以下同様

これを 4 つの画分にわけ、それぞれを、H (high molecule fraction), I₁, I₂, I₃ (intermediate fractions) とする。

新鮮唾液の透析外液に上記の各画分を加えたときの乳酸生成を調べた。図17にしめすように、中間画分 intermediate fractions のうち I₁, I₂ 画分に著明な乳酸生成促進がみとめられた。これらは分子量 800~4000 のペプチドの画分である。

5) プレインキュベート唾液の Bio-Gel P-4 による分画

ナガーゼ水解した新鮮唾液透析内液での乳酸生成の促進は、前述の10時間プレインキュベート唾液でのピーク発現と原理的に同じ現象ではないかと考えられる。そこで実際に、インキュベート唾液の分画をおこなってみた。

図 18 プレインキュベート唾液のゲルクロマトグラム

①: 新鮮唾液

②: プレインキュベート10時間唾液

③: プレインキュベート48時間唾液

唾液120ml を採集し、40ml ずつ試験管にとり、プレインキュベート0時間、10時間、48時間の唾液をつくる。これらの唾液を10,000 G で遠沈し、その上清をBio-Gel P-4で分画した(図18)。図のようにそれぞれの唾液を H, I₁, I₂, I₂' および L (low molecule fraction) の画分にする。

新鮮唾液では、その中間画分 (I₁ の a と b, I₂ の c と d 画分) はさほど著明ではなかったが、プレインキュベート10時間唾液では著明になり、とくに I₁ 画分の a および I₂ 画分の c と d が増加した。しかし、プレインキュベート48時間唾液では、I₁ 画分の a, I₂ 画分の d がほとんど消滅した。

実際にこれらの画分について、*Str. salivarius* の乳酸生成促進を調べたのが図19である。その成績をみると、前項のナグゼ水解唾液透析内液の場合と同様であり、I₁, I₂ 画分によって乳酸生成は著明になり、その他の H, L, I₂' 画分によって

図 19 プレインキュベート唾液クロマト画分の乳酸生成 (*Str. salivarius*) に対する作用

図17と同様に実施する

は乳酸生成はほとんど促進されなかった。乳酸生成を促進するペプチドは、I₁ 画分および I₂ 画分にあり、とくにそのなかの a, d 画分ではないかと考えられる。

6) 小括

以上から、プレインキュベート10時間唾液中で乳酸生成が著明になるのは、唾液タンパクが微生物のタンパク分解酵素 (endopeptidase) によって部分水解されてペプチドを生じ、そのなかのある大きさのもの (分子量800~4000のペプチド) が乳酸生成を促進するためと考えられる。

4. ペプチド画分の作用

1) アミノ酸との関係

Hay ら^{6,7)} は、新鮮唾液の解糖促進作用に対してアミノ酸を重視している。そこで、ペプチド画分の作用を明らかにするために、まずアミノ酸との関係について調べた (図20)。

図5にしめしたと同様の実験、およびそれらにアミノ酸混液 (表3) を加えた場合の実験をおこなった。図20のように、新鮮唾液、およびプレインキュベーションが長時間の唾液では、乳酸生成量はアミノ酸混液を添加してもさほど増加していないが、プレインキュベーションが10時間付近の唾液においては、著明に乳酸生成が増加してい

図 20 プレインキューベート唾液におけるアミノ酸混液添加と乳酸生成

破線：図 5 に同じ

実線：プレインキューベート各唾液を加熱滅菌したのち、それぞれの 0.5ml に *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 0.5 ml, アミノ酸混液 0.5ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml あてを加え、4 時間インキュベートする

た。このような現象からみると、アミノ酸に対してペプチド画分がなんらかの関係をもつものと考えられる。

10 時間プレインキューベート唾液の I_2 画分を用いて、アミノ酸混液添加の効果をさらに調べた(図 21)。新鮮唾液透析外液中および I_2 画分中での *Str. salivarius* の乳酸生成は、図 19 と類似の結果をしめしているが、予期したように、新鮮唾液の透析外液にアミノ酸混液を添加したときの乳酸生成量増加はきわめてわずかであるのに、 I_2 画分に添加した場合には、著しい増加がみられた。

さらに、 I_2 画分のかわりに、プレインキューベート 10 時間唾液(図 22)あるいは新鮮唾液透析内液ナガーゼ水解物(図 23)を使用して同様の実験をおこなったところ、まったく類似の成績がえられた。なお、図 22 の実験における新鮮唾液透析外液のところに 48 時間インキュベート唾液透析外液を用いても、同様の成績であった。

ペプチド画分の存在はなんらかのかたちで、直接あるいは間接に、アミノ酸の利用を高める方向

図 21 I_2 画分にアミノ酸混液を添加した時の乳酸生成

- ①：新鮮唾液透析外液 0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 1.0ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml の混液を 4 時間インキュベートする
- ②：アミノ酸混液 0.5ml, 新鮮唾液透析外液 0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 純水 0.5ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml の混液を 4 時間インキュベートする
- ③：②のアミノ酸混液のかわりに図 18⑧の I_2 画分を添加する
- ④：③の純水のかわりにアミノ酸混液を添加する

に作用しているようにも考えられる。

2) 合成培地による検討

唾液物質については、すべてが解明されているわけではない。とくにインキュベートしたときに、どのような物質が出現したり消失したりしているかについて、定量的なことはわかっていない。そこで、十分に栄養をそなえ、しかもその成分がはっきりしている人工培地を用いて検討する必要がある。そのために、表 1 の Snell-Snell 培地を使用することにした。

Snell-Snell 培地の場合にも、図 24 のように、唾液タンパクの部分水解物および I_2 画分を添加したもので、明らかに乳酸生成が多くなった。な

図 22 プレインキュベート10時間唾液にアミノ酸混液を添加したときの乳酸生成

- ①: 図21の①に同じ
 ②: 図21の②に同じ
 ③: 新鮮唾液透析外液0.5ml, プレインキュベート10時間唾液0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液0.5ml, 純水0.5ml, 10g/100ml グルコース0.1ml の混液を4時間インキュベートする
 ④: ③の純水のかわりにアミノ酸混液を添加する

お、これらにアミノ酸を添加しても乳酸生成量はまったく同じであった。すなわち、Snell-Snell 培地にはすでに十分にアミノ酸が添加されていたと思われる。したがって、インキュベート10時間の唾液や新鮮唾液透析内液ナガーゼ水分解中の乳酸生成促進物質（低分子ペプチド）は、それがアミノ酸に分解してから作用を現わすのではなく、微生物に対する代謝促進物質として働くものと考えられる。

3) 微生物の増殖に対する作用

ペプチド画分の代謝促進に関与する場合、どのような起点で働くかを調べるための実験をおこなった。

i) 濁度

新鮮唾液的透析外液のみのもの、これにアミノ酸混液を加えたもの、またこの透析外液にプレ

図 23 新鮮唾液透析内液ナガーゼ水分解物にアミノ酸混液を添加したときの乳酸生成
 A, B, C, 白柱: 図15に同じ
 黒柱: それぞれにアミノ酸混液0.5mlを添加した場合（それに応じて純水添加量をへらす）

インキュベート10時間唾液（透析外液）を加えたもの、さらにこれにアミノ酸混液を加えたものをつくる（各原液の量は0.5ml, 全量は純水によって1.5mlとする）。これらの4つの試料に *Str. salivarius* 浮遊液0.5ml あてを加え、37°C に4時間インキュベートする。

インキュベーションの前後における混濁を、波長660mμで測定した（日立101光度計）。表4のように、アミノ酸混液だけあるいはプレインキュベート10時間唾液（透析外液）だけの添加では、濁度増加はきわめてわずかであったが、両者を同時に加えた場合にはあきらかな増加がみられた。

ii) グルコースの消費量

表5に示すように、プレインキュベート10時間唾液（透析外液）とアミノ酸混液を同時に加えた場合には、グルコース消費は明らかに高くなっていた。しかしその他の場合には、新鮮唾液

図 24 栄養充分な合成培地による乳酸生成実験
M : Snell-Snell 培地
A : 新鮮唾液透析外液
G : 新鮮唾液透析内液
C : G のナガーゼ部分水解物
D : G の塩酸完全水解物
I : プレインキューベート10時間唾液の I₂ 画分
白柱 : Snell-Snell 培地 0.5ml, 試料 0.5ml, 純水 0.5ml, *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml, の混液を4時間インキュベート
黒柱 : これにアミノ酸混液 0.5ml (純水の添加なし) ただし, M のみの場合は Snell-Snell 培地 0.5ml, 純水 1.0ml (あるいはアミノ酸混液 0.5ml, 純水 0.5ml), *Str. salivarius* 浮遊液 0.5ml, 10g/100ml グルコース 0.1ml の混液を4時間インキュベート

透析外液のみの場合にくらべほとんど差がみられなかった。

4) 小括

これらの実験から、プレインキューベート10時間唾液にアミノ酸混液を加えた場合乳酸生成がさらに高まるのには、*Str. salivarius* の増殖促進が加味されていると思われる。しかし、インキュベート10時間唾液自身の乳酸生成促進作用には、微生物の増殖はあまり効いてないようである。すなわち、乳酸生成には著明な増加がみられるにもかかわらず、濁度やグルコースの消費は増加をしめてはいない。したがってこの場合は、ペプチド画分の存在によって微生物増殖が促進され、その二次的結果として乳酸生成量が増したとは考えにくい。

表 4 インキュベート前後における *Str. salivarius* 浮遊液の濁度
〔インキュベート時間 : 4 時間 (37°C), 波 長 : 660mμ〕

溶 媒	濁 度		
	インキュベート前	インキュベート後	差
新鮮唾液透析外液, 純水 (対照)	0.045	0.045	0
" , アミノ酸	0.044	0.057	0.013
" , プレインキューベート10時間唾液	0.045	0.056	0.012
" , プレインキューベート10時間唾液, アミノ酸	0.045	0.100	0.055

表 5 インキュベート前後の *Str. salivarius* によるグルコースの消費量
〔インキュベート時間 : 4 時間 (37°C), 試料調製は表 4 に同じ, ただしグルコースを添加〕

条 件	グルコース量 (mg/100ml)		
	インキュベート前	インキュベート後	差
グルコース	124.6	118.5	6.1
グルコース, 新鮮唾液透析外液	106.8	101.0	5.8
グルコース, " , アミノ酸	114.0	107.2	6.8
グルコース, " , プレインキューベート10時間唾液	107.7	102.3	5.4
グルコース, " , プレインキューベート10時間唾液, アミノ酸	113.5	82.0	31.5

考 察

唾液と微生物との関係については、いろいろな立場から研究がなされている。そのひとつとして、微生物に対する栄養問題がある。とくにアミノ酸およびアンモニアの作用があげられるが、アミノ酸は古くからとくに *lactobacilli* において^{15-18, 28)}、アンモニアは最近 *streptococci*^{3, 29)} において注目されている。しかしアミノ酸²²⁾やアンモニア³⁰⁾は、唾液をインキュベートすることによって次第に増加して行く。したがって、インキュベートされた唾液中で乳酸生成は次第に増加するものと予想されている。しかし、あらかじめインキュベートした唾液を用いて乳酸生成を試みてみると、ある時間 (約10時間) でピークが現われる (図 4)。微生物の活動は単にアミノ酸、アンモニアだけで支配されているのではないと思われ

る。この現象と同じ傾向をしめす細菌を探したところ *Str. salivarius* など2, 3のものがみつかった。しかも、それらはみな streptococcus であった。したがって、この場合唾液の乳酸生成を代表するものは streptococci であると考えられる。*Str. salivarius* は唾液内に多い streptococcus であるから、この細菌を用いて種々の実験をおこなうことになった。

アンモニアには一般に解糖抑制作用はないというが³¹⁾, Pigman ら³²⁾によると乳酸菌の発育を抑えるという。また、フェノールやインドールなどタンパクの腐敗産物は酸の産生や *L. acidophilus* の生育を抑制するとの報告もある³³⁾。しかし今回の実験におけるプレインキュベート唾液中には乳酸生成に対して阻害を現わすほどの物質はないことが確かめられた(図8)。唾液をインキュベートしたときは、細菌の endopeptidase によってペプチドが生じ、ついでさらに分解されて行き、ある一定のプレインキュベート時間において、ペプチド量は最高値に達するのではないかと考えられる。

実際に唾液タンパクのナガーゼ水解物を加えてみると、これによって乳酸生成の促進が認められた(図15, 17)。プレインキュベート唾液の場合にも同じ結果がえられた(図19)。ナガーゼを作用させた場合にはいろいろな大きさのペプチドが生じているはずである。したがって、微生物の endopeptidase によって唾液タンパクから生じたある大きさのペプチドが乳酸生成を促進するものと考えられる。この現象は、*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. delbrueckii*, *L. fermenti*, *L. arabinosus* には現われず(図6), *Str. salivarius*, *Str. sanguis*, *Str. lactis* にみられる(図7)ところから、主として streptococci に付随する属性のように思われる。図7では、*Str. pyogenes*, *Str. faecalis* の場合ピークが現われていないが、小山ら¹⁴⁾はアミノ酸、その他の栄養素を十分に含む Snell-Snell 培地を用いた場合、*Str. pyogenes* や *Str. faecalis* の乳酸生成が、血清アルブミンのキモターゼ部分水解物によって、*Str. salivarius* と同程度以上に促進されると報告している。図7の成績との差異は、実験条件とくに栄養条件の違いによるものと

解される(*Str. salivarius* にはこの条件差はあまり影響しないのではないか)。

このような成績を、アミノ酸とペプチドの点からまとめると、1) lactobacilli のようにアミノ酸では促進されるが、ペプチドでは全く促進されないもの、2) *Str. faecalis*, *Str. pyogenes* のように、ペプチドだけでは駄目であるが、両物質の存在下ではじめて促進されるもの、3) *Str. salivarius*, *Str. lactis*, *Str. sanguis* のように、アミノ酸は無効であってペプチドで促進されるもの、に区別できると思われる。

Kröncke ら³⁴⁾によると、ヒト新鮮唾液にふくまれるペプチドは4種存在するという。著者の成績(図18の新鮮唾液)でも4~5種が認められる。Mishiro らの研究⁸⁻¹²⁾における有効因子はこれらのペプチドであると思われる。図18のインキュベート唾液の分画実験から考えて、微生物の endopeptidase によって出現するペプチドも、大きさの点では、もともと新鮮唾液に存在しているペプチドと類似のものではないかと考えられる。

さて、それではペプチドがどのようにして細菌の代謝を促進するのかが問題になる。唾液タンパクの塩酸による完全水解物(アミノ酸の混合物)あるいは調製アミノ酸混液よりも、酵素による部分水解物の方がより乳酸生成を高める(図23)。しかし、他の栄養素がなくて部分水解物だけの場合には乳酸の生成は少ない(図15)。したがって、なんらかの形で他の物質との相乗ないし相加効果があるのではないかと考えられた。そこでペプチド画分の存在のもとにアミノ酸混液添加をおこなったところ、著明な乳酸生成促進がみられた(図21~23)。なお、アミノ酸量が細菌に対して充分と思われる合成培地(Snell-Snell 培地)を用いたときは、アミノ酸効果は当然みられないが、ペプチド画分自身の乳酸生成促進効果は著明であった(図24)。

これらのことから、微生物の endopeptidase によって唾液タンパクからある大きさのペプチド(分子量 800 ~ 4,000)が生じ(図16, 18)、このペプチドは細菌の単なる栄養因子として、アミノ酸になってから働くのではなく、アミノ酸その他多くの栄養因子を十分に利用できるようにす

る代謝促進因子となるのではないかと考える。このことは *Str. salivarius* の インキュベート前後における濁度、グルコースの消費の成績からも首肯される。すなわちアミノ酸は、それだけでは効果はないが、ペプチド画分と共存するときには濁度を増加させ、またグルコース消費を高めている。しかし、ペプチド画分を含むプレインキュベート10時間唾液のみの場合では、乳酸生成促進があるにもかかわらず、濁度にもグルコース消費にも増加が認められていない(表4~5)。

なお、Bio-Gel P-4の画分のうち a と d が有効であったが、これはグルコース添加再インキュベート時に a が d に変化してから作用するとも考えられる。口腔内には酸性で作用する endopeptidase の存在も実際に報告されている³⁵⁾。しかし、五月女ら³⁶⁾の研究からみると、複数のペプチドがあると作用がより強いことも考えられる。さらに追究の必要があろう。

唾液 pH が糖代謝によってさがると、amino acid decarboxylase の作用が起こってアミンが生じ、そのために pH が上昇する。Kleinberg ら^{37,38)}は、唾液の pH-rise factor の研究を実施し、最近ペプチド画分に注目している。これらの研究は Hartles ら^{1-4,6,7)}や Mishiro ら⁸⁻¹²⁾の研究と同様、新鮮唾液に関するものである。著者は、微生物によって生じる唾液タンパク由来のペプチドをしらべ、その微生物代謝促進能について明らかにし、その作用起点について若干の実験と考察をおこなった。その成績は、Mishiro ら^{13,14)}の血清タンパク部分水解物の効果をも包括説明するものであろう。

さて、古く Woolley^{39,40)}は、ある種の streptococci や lactobacilli がタンパク部分水解物によって生育促進を受けることを知り、この促進因子を strepogenin と命名している。その後これは一種のビタミンと考えられてきた(しかし、endopeptidase をもつ微生物自身においてはビタミンの概念からはずれるかもしれない)。いずれにしても、著者の成績は、このような因子が口腔内の代謝にも関与してくることを明らかにしたのであり、齶蝕酸学説においても充分な考慮が必要と思われる。しかし、作用機序の追究にはペプチドの

定量的表示や純化が必要であり、それは今後の進展に待たなければならない。

結 論

インキュベート唾液中での乳酸生成をしらべ、*Str. salivarius* などの streptococci に対しペプチド画分が促進効果をもつことを明らかにした。

1. プレインキュベート唾液の作用

1) 唾液をプレインキュベートすると、10時間唾液において微生物の乳酸生成は最高になった。

2) プレインキュベート唾液には乳酸生成抑制因子はないものと思われる。

3) プレインキュベート唾液中での乳酸の分解は無視できる程度であった。

4) 剝離上皮などの唾液浮遊物があると1)の現象は著明になった。

2. 乳酸生成促進因子の性状

1) 透析性・耐熱性である。すなわち、コロジオンバッグによる濾液(透析外液)にこの促進因子が存在した。しかもこれは99°C、30分間加熱しても活性は変らなかった。

2) この活性はプレインキュベート10時間唾液を Bio-Gel P-4で分画した場合に、その中間画分(ペプチド画分)にみられた。

3) この因子は完全水解によって活性を全く失った。

4) これらのことから、この乳酸生成促進因子は、唾液タンパクから微生物の endopeptidase によって生じたペプチド(分子量800~4,000)と考えられる。

3. ペプチド画分の作用

1) ペプチド画分が共存するときには、アミノ酸混液添加による効果が著明であった。すなわち、ペプチド画分がない場合には、アミノ酸混液を添加しても乳酸生成は高まらないが、ペプチド画分が存在すると、ペプチド画分だけの場合よりもさらに乳酸生成が著明に促進された。

2) 微生物に対して充分な栄養をもつ合成培地を用いても、ペプチド画分は乳酸生成を著明に増加させた。

3) このペプチド画分によって乳酸生成が促進される場合、微生物の増殖促進はほとんど認めら

れなかった。

4) ペプチド画分にアミノ酸混液を添加すると、このときの乳酸生成促進には微生物の増殖促進も同時に認められた。

5) 以上から、ペプチドは、微生物の単なる栄養因子、すなわちアミノ酸になって働くのではなく、なんらかの代謝促進因子として作用するものと考えられる。

御指導御校閲下さった恩師三代幸彦教授、菌株の一部を分与下さった細菌学教室渡辺武彦教授に厚く御礼申し上げます。なお、本報告の要旨は第14回歯科基礎医学会総会において講演発表した。

文 献

- 1) HARTLES, R. L. and WASDELL, M. R.: The metabolism of the oral flora [VI]. *Brit. dent. J.*, **99**: 334-337, 1955.
- 2) HARTLES, R. L.: Metabolic factor in saliva. *J. dent. Res.*, **42**: 553-558, 1963.
- 3) MOLAN, P. C. and HARTLES, R. L.: The identification of a glycolysis-enhancing factor in human parotid saliva. *Archs oral Biol.*, **14**: 421-426, 1969.
- 4) MOLAN, P. C. and HARTLES, R. L.: A study of the enhancement of glycolysis in human saliva. *Archs oral Biol.*, **17**: 1671-1678, 1972.
- 5) KAWASAKI, T.: On the activating factor in human saliva for acid fermentative bacterial metabolism. *Bull. Tokyo Dent. Coll.*, **5**: 25-32, 1964.
- 6) HAY, D. I. and HARTLES, R. L.: The effect of saliva on the metabolism of the oral flora. *Archs oral Biol.*, **10**: 485-498, 1965.
- 7) HAY, D. I. and HARTLES, R. L.: Studies on the glycolytic-enhancing properties of human saliva. *Archs oral Biol.*, **11**: 337-347, 1966.
- 8) MISHIRO, Y., KIRIMURA, K. and ISHIHARA, H.: Observations on the saliva factor that enhances the production of lactic acid by the oral flora. *J. dent. Res.*, **45**: 1824, 1966.
- 9) 石原英夫: 乳酸生成に対する唾液の作用について. *歯学*, **54**: 320-334, 1967.
- 10) MISHIRO, Y., MORITA, M. and KIRIMURA, K.: Promoting effect of saliva dialyzate on the lactate production of *Streptococcus salivarius*. *Archs oral Biol.*, **15**: 465-467, 1970.
- 11) MISHIRO, Y.: Some observations on the metabolism in human saliva. *The Proceedings of the First Pan-Pacific Congress of Dental Research.*, pp. 87-92, 1970.
- 12) 三代幸彦, 桐村和子, 森田倡子, 伊藤 隆: *Streptococcus salivarius* の乳酸産生を促進する唾液透析外液因子の性状. *歯基礎誌*, **11**: 24-29, 1969.
- 13) KIRIMURA, K., MORITA, M. and MISHIRO, Y.: Effect of protein hydrolysates on the fermentative activity of *Streptococcus salivarius*. *J. dent. Res.*, **49**: 890, 1970.
- 14) 小山登志江, 高橋徳治, 島田勝彦, 三代幸彦: 微生物の乳酸産生に対する牛血清アルブミン部分水解物の促進効果. *歯学*, **59**: 265-269, 1971.
- 15) WEISBERGER, D.: Whole saliva as a source of certain growth factors for an oral strain of lactobacillus. *J. dent. Res.*, **25**: 83-87, 1946.
- 16) WEISBERGER, D.: The role of glucose in promoting growth of lactobacilli in saliva. *Science*, **105**: 290, 1947.
- 17) DREIZEN, S., REED, A. and SPIES, T.: Salivary mucin as a source of essential amino acids for the *Lactobacillus acidophilus*. *J. dent. Res.*, **29**: 774-778, 1950.
- 18) LIGHTFOOD, L. H. and COOLIDGE, T. B.: The role of acidity of saliva in the nutrition of oral acidogenus. *J. dent. Res.* **38**: 96-100, 1959.
- 19) BARKER, S. B. and SUMMERSON, W. H.: The colorimetric determination of lactic acid in biological materials. *J. biol. Chem.*, **138**: 535-554, 1941.
- 20) 三代幸彦: 粗大分散系の光吸収. 生化学領域における光電比色法(総論), 化学の領域増刊 67, 2版, 141-149頁, 南江堂, 東京, 1968.
- 21) 宇井理生: Somogyi-Nelson 法. 生化学領域における光電比色法(各論2), 化学の領域増刊34, 27-30頁, 南江堂, 東京, 1958.
- 22) 真田一男, 金子久幸, 関正一郎: インキュベーター唾液中のアミノ酸の動態. *歯基礎誌*, **11**: 159-171, 1970.
- 23) 三浦敏行: 振盪による唾液 pH の上昇について. *歯基礎誌*, **14**: 101-117, 1972.
- 24) 島田勝彦: 加熱唾液の pH について. *歯学*, **60**: 732-747, 1973.
- 25) 曾 水 全: 未発表.
- 26) MORITA, M., SO, S. and MISHIRO, Y.: Disappearance of L-lactic acid and D-lactic acid in saliva. *J. dent. Res.*, **50**: 782, 1971.
- 27) 石川恵三: 唾液内乳酸代謝に対する金属塩の影響について. *歯学*, **58**: 593-609, 1970.
- 28) CALANDRA, J. C. and FOSDICK, L. S.: The effect of amino acids on the rate of acid formation in saliva. *J. dent. Res.*, **26**: 303-308, 1947.
- 29) CARLSSON, J.: Growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* in mixed culture. *Archs oral Biol.*, **16**: 963-965, 1971.

- 30) 大塚悦朗 : 矯正用金属材料の唾液内窒素化合物代謝に及ぼす影響. 齒学, **60** : 512-527, 1972.
- 31) 三代幸彦 : 齒学生化学(押鐘篤監修), 2版, 476頁, 医歯薬出版, 東京, 1967.
- 32) PIGMAN, W. and REID, A. J. : The organic compounds and enzymes of human saliva. *J. Amer. dent. Ass.*, **45** : 325-338, 1952.
- 33) DREIZEN, S. and SPIES, T. D. : Further studies on the association between the products of protein putrefaction and dental caries activity. *J. dent. Res.*, **27** : 305-315, 1948.
- 34) KRÖNCKE, A., BRAMSTEDT, F., NAUJOKS, R. and MARG, H. : Biochemische Speichel Untersuchungen. XI. Peptide im menschlichen Speichels. *J. dent. Belge*, **49** : 391-402, 1958.
- 35) KLEINBERG, I. : Biochemistry of the dental plaque. *Advances in Oral Biology*, **4** : 43-90, 1970.
- 36) 五月女伸一, 北原覚雄 : 日農化大会講演, 1964.
- 37) KOMIYAMA, K. and KLEINBERG, I. : Effect of salivary supernatant on the carbohydrate metabolism of cariogenic and non-cariogenic streptococci. *IADR Program and Abstracts of Papers*, p. 227, 1972.
- 38) KORAYEM, M. R. and KLEINBERG, I. : Effect of various salivary supernatant fractions on oxygen uptake of salivary sediment. *IADR Program and Abstracts of Papers*, p. 247, 1972.
- 39) WOOLLEY, D. W. : Some correlations of growth-promoting powers of proteins with their strepogenin content. *J. biol. Chem.*, **162** : 383-388, 1946.
- 40) WOOLLEY, D. W. : Strepogenin activity of seryl-glycyl-glutamic acid. *J. biol. Chem.*, **166** : 783-784, 1946.