原 著

フッ化ジアンミン銀の *Streptococcus mutans* による
プラーク形成におよぼす影響

I. エナメル質表面におけるプラーク形成と表層下脱灰

鈴木 俊 行 堤 脩 郎 祖父江 鎮 雄

大阪大学歯学部 小児歯科学教室*

杉 中 秀 寿

大阪大学歯学部 口腔細菌学教室*

〔受付: 昭和 51 年 5 月 10 日〕

抄録: フッ化ジアンミン銀 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}]$ のう蝕抑制機序解明の一環として, *Streptococcus mutans* によるエナメル質表面でのプラーク形成への影響と形成されたプラーク下でのエナメル質の脱灰への影響に関する *in vitro* 実験を行ない, 以下の結果を得た。

S. mutans K1R を接種したスクロース加培地中に各種薬剤処理および未処理エナメル質片を入れ 48 時間培養した結果, $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理歯面では未処理歯面に比較してプラークの形成が著明に抑制された。この抑制作用は菌のエナメル質表面への定着と定着菌の歯面での増殖を抑制する結果生ずることが判明した。これらの抑制作用は Ag^+ の作用に基因することがわかった。つぎに長期間歯面にプラークを形成させた後のエナメル質表層部の脱灰が, $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理歯面で抑制されることがわかった。これは F^- による歯質の耐酸性向上作用に加え, Ag^+ によるプラークへの影響の結果生ずると考えられる。

緒 言

歯牙表面の化学的処理によってう蝕抑制効果を期待する種々のフッ化物の中で, フッ化ジアンミン銀は他のフッ化物には認められないユニークな効果を示す¹⁻⁴⁾。とりわけ, 小児に慢延する乳歯う蝕部への局所塗布により, う蝕の進行が著明に抑制されるため²⁾, この薬剤は本邦で広範に臨床応用されている。フッ化ジアンミン銀の特徴は, 歯質との反応で CaF_2 と Ag_3PO_4 を生成するため歯質無機成分の流出が少ないこと²⁾, フッ素の歯

牙表面での停留性が他のフッ化物に比べて高いこと³⁾などが明らかにされている。しかし, フッ化ジアンミン銀の抗う蝕作用機序に関する研究は²⁻⁵⁾, 大部分が歯牙無機質を対象として行なわれてきたにすぎない。本剤にはフッ素に加えて銀が含まれることから, 無機質だけでなく, 有機質あるいはプラークへの影響も考えられる。とくに近年のう蝕病因論に関する研究⁶⁻⁹⁾から, プラークがう蝕誘発に重要な役割を演じていることが示されており, フッ化ジアンミン銀のプラークへの作用が本剤のう蝕抑制機序の一つとなる可能性があ

Effects of diammine silver fluoride on plaque formation by *Streptococcus mutans* 1. Plaque formation on enamel surface and demineralization of subsurface enamel.

Toshiyuki SUZUKI, Nobuo TSUTSUMI, Shizuo SOBUE and Hidekazu SUGINAKA (Department of Pedodontics and Oral Microbiology, Osaka University Dental School, Osaka)

* 大阪市北区常安町 32 (〒 530)

Jap. J. oral Biol., 18: 259-267, 1976.

る。

本研究はフッ化ジアンミン銀のう蝕抑制機序解明の一環として、とくに近年のう蝕病因論に関する細菌学的研究成果⁶⁻⁹⁾に基づきプラークへの影響と、歯牙無機質の変化を *in vitro* で明らかにするために行った。

材料と方法

エナメル質片の作製と薬剤処理

使用歯牙は矯正治療のために便宜抜去された萌出して間もない上顎第1小白歯で、抜去後ただちに -20°C で保存した。フッ素を含まない歯磨剤をつけたラバーカップにて、歯冠エナメル質表面を清掃後、ダイヤモンドディスクで歯冠を歯牙の長軸方向に4分してエナメル質片(約5mm×5mm)を作製した。超音波洗浄後、エナメル質片を矯正用弾線にて培地中につり下げるため、エナメル質片に弾線を入れ、 120°C 、20分間高圧蒸気滅菌あるいはエチレンオキシドによるガス滅菌を行ってから薬剤処理を施した。処理は下記に示した各濃度の薬剤溶液を綿球に漬し、ピンセットにはさんでエナメル質表面にすり込むようにして4分間塗布した。塗布後、過剰の薬剤を取り除くために、滅菌した大量の清製水中で攪拌しながら十分洗浄した。使用薬剤は、1) 7.6% (w/v) フッ化ジアンミン銀 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}]$ 溶液〔サホライド(東洋製薬、大阪)を精製水で5倍に希釈〕およびこれと等モルの 2) 8.032% 硝酸ジアンミン銀 $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3]$ 溶液(アンモニア水にて pH 9.2 に調整)と 3) 1.985% フッ化ナトリウム (NaF) 溶液である。なお未処理の対照もつくった。

使用菌株とその培養

う蝕原性 *Streptococcus mutans* K1R¹⁰⁾ を用い、トリプティケースソイブローズ (Baltimore Biological Laboratory, Md. USA) 中で18時間培養後、実験に供した。

1. *S. mutans* によるプラーク形成

エナメル質表面での *S. mutans* によるプラーク形成への $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ の影響を調べるために以下の実験を行った。5% スクロース加トリプティケースソイブローズ中に、*S. mutans* K1R の18時間培養菌を10% になるように接種し、各種薬

剤処理および未処理エナメル質片をつるし、 37°C で48時間培地を攪拌しながら培養した。培養後、エナメル質表面に形成されたプラークを肉眼的に観察した。

2. *S. mutans* のエナメル質表面への定着

菌液の調整は、*S. mutans* K1R をトリプティケースソイブローズ中で24時間培養後、遠心分離して集菌し、精製水で洗浄後、0.05 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 中に約 10^{10} 個/ml になるように菌を入れた。この菌浮遊液に最終濃度が5% となるようにスクロースを加え、 37°C で20分間インキュベートし、菌体表層に多糖を合成させた後、菌体に結合していない多糖、未反応のスクロースおよび単糖をのぞいてから原量の0.05 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) に浮遊させ菌液とした。この菌浮遊液 10 ml 中に各種薬剤処理および未処理のエナメル質片を入れ、 37°C で1時間攪拌して菌をエナメル質表面に定着させた。つぎに未定着の菌を除去する目的で、エナメル質片を精製水で十分洗浄してから、5.85% 塩化ナトリウムを含む2.5% グルタルアルデヒドの0.05 M リン酸緩衝液¹¹⁾ 中に入れ、室温にて3時間固定した。再び精製水で十分洗浄後、デシケーター中で減圧乾燥した。つぎに約200 Å の厚さの金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡 (JSM-P 15, 日本電子、東京) で観察した。

3. エナメル質表面に定着した *S. mutans* の増殖

実験2で示した方法で各種薬剤処理および未処理エナメル質表面に *S. mutans* を定着させ、滅菌水で十分洗浄してから、5% スクロース加トリプティケースソイブローズ中に入れ、 37°C で6時間培養し、定着した菌を増殖させた。培養後、実験2と同様の方法で水洗と固定を行ない、金蒸着ののち、走査型電子顕微鏡にて定着菌の集落形成状態を観察した。

4. *S. mutans* によって形成されたプラーク下でのエナメル質の変化

S. mutans によるプラークをエナメル質表面に形成させ、プラークのエナメル質表層への影響を調べるために以下の実験を行った。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理および未処理エナメル質の表面を一部ワックスで被い、実験1の方法と同様5% スクロース加ト

リプティケースソイブローズ中に入れ、*S. mutans* を接種して 37°C で 18 時間培養し、エナメル質表面にプラークを形成させた。ついでプラークが形成されたエナメル質片を新しい前述の培地へ移し、培地の pH が 6.0 以下に低下しないように 12 時間ごとに培地を交換しながら 2 あるいは 3 週間、37°C で培養した。培養後、超音波洗浄にてエナメル質表面のプラークおよびワックスを取り除き、上昇アルコール中にて脱水乾燥後、一部の試料は約 200 Å の金蒸着を施して走査型電子顕微鏡にてエナメル質表面の変化を観察した。他の試料は、Bio-plastic Specimen 樹脂（京都科学標本、京都）に包埋後、研磨して約 50~60 μ の均厚な切片とした。この切片は、偏光顕微鏡（POH、日本光学、東京）および顕微 X 線（SCMR-11、日本ソフテックス社、東京）写真によって観察した。顕微 X 線写真の撮影条件は、電圧 7 kv、電流 3 mA、ターゲット試料間距離 80 mm、照射時間 2~3 時間である。

図 1 各種薬剤処理および未処理エナメル質表面での *S. mutans* によるプラーク形成
a: 未処理, b: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理, c: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理, d: NaF 処理

結 果

1. *S. mutans* によるプラーク形成

エナメル質表面を各種薬剤で処理したとき、そ

図 2 各種薬剤処理および未処理エナメル質表面への *S. mutans* の定着
a: 未処理, b: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理, c: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理, d: NaF 処理
いずれの場合も菌浮遊液にエナメル質片を浸漬、洗浄後、走査型電子顕微鏡で観察した。(×1000)

図 3 各種薬剤処理および未処理エナメル質表面に定着した *S. mutans* の集落形成
 a, b: 未処理, c, d: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理, e: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理, f: NaF 処理
 薬剤処理および未処理歯面に定着 (図 2) した菌をスクロース加培地で培養, 6 時間後, 歯面での集落形成状態を走査型電子顕微鏡で観察した。(a, c, e, f, $\times 300$) (b, d, $\times 1000$)

の薬剤が歯面での *S. mutans* によるプラーク形成に影響をおよぼすかを調べた。*S. mutans* K1R を接種したスクロース加培地に薬剤処理および未処理エナメル質片をつり下げ, 48 時間培養後, それぞれの歯面に形成されたプラークを観察した。図 1 に示すように, 未処理エナメル質表面 (a) にはプラークが厚く形成されており, NaF 処理歯面 (d) でも未処理対照の場合とほぼ同程度のプラーク形成が認められた。一方, $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理 (b) および $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理 (c) 歯面では, プラークの形成が認められるものの, その厚さは未処理歯面 (a) に比べて著しく薄く, プラークの形成が抑制されていることがわかった。

2. *S. mutans* のエナメル質表面への定着

上述の $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ および $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理によるプラーク形成抑制がどのような機序によって発現するかを調べる目的で, プラーク形成の

第一段階である菌のエナメル質表面への定着におよぼす影響について検討した。*S. mutans* が歯面に定着するには, この菌がスクロースから産生する菌体外多糖, とくに細胞表層に結合した不溶性グルカンが重要な荷い手となっている¹²⁾。そこで各種薬剤処理および未処理エナメル質片を, 菌体表面にグルカンをもった *S. mutans* の浮遊液に 1 時間浸漬させ, 十分水洗して定着していない菌を除去したのち, 走査型電子顕微鏡で菌の定着状態を観察した (図 2)。未処理 (a) および NaF 処理 (d) エナメル質表面では一様に分布した菌の定着像が認められた。一方 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理表面 (b) ではほとんど菌の定着は認められず, 同様の菌定着の抑制所見が $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理表面 (c) でも認められた。しかし, エナメル質表面に存在する陥凹部には菌塊状を呈して定着している像が一部で認められた。これは陥凹部に入り込んだ菌が水洗に

図 4 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理および未処理エナメル質表面のプラーク下脱灰

a: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 未処理, b: 処理

両写真とも右側はワックスで被覆された健全部分, 左側はプラーク形成後, 3 週間経た部分の走査型電子顕微鏡像である。(×300)

図 5 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理および未処理エナメル質表層の偏光顕微鏡ならびに顕微X線像

a, c: 未処理, b, d: $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理

右側は健全部分, 左側はプラーク形成後, 2 週間経た部分の偏光顕微鏡像(a, b)および顕微X線像(c, d)である。

よって脱落しなかったためと考えられる。

3. エナメル質表面に定着した *S. mutans* の増殖

一旦歯面に定着した菌が、その薬剤処理歯面で増殖するかどうかを調べる目的で、菌をエナメル質表面に定着させ、十分水洗後、歯面に菌が定着したエナメル質片をスクロース加培地に入れ、6時間培養したのちのそれぞれのエナメル質表面での菌の集落形成状態を走査型電子顕微鏡で観察した(図3)。未処理エナメル質表面(a)では定着菌の増殖による集落形成像がエナメル質全面に渡って認められた。強拡大像(b)でみると、一部には個々の菌の輪郭が明瞭に観察できるが、大部分は多量の菌体外多糖の合成によって菌が被われているために菌の輪郭は不明瞭であった。NaF処理表面(f)でも未処理表面(a)での像と同様の像が認められた。一方 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理表面(c)では菌の集落形成がほとんど認められなかった。これは定着した菌数が非常に少なかったことが原因の1つと考えられる。しかし一部に認められた菌の集落は量的に著しく少なく、増殖が抑制されていると考えられる。集落形成部分を強拡大(d)で観察してみると、菌の輪郭が明瞭に認められ、菌体外多糖合成の抑制も、増殖抑制の一機序であると考えられた。また $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理表面(e)でも菌の増殖が抑制されていた。

4. *S. mutans* によって形成されたプラーク下のエナメル質の変化

1の項に記したように、*S. mutans* によるプラーク形成は48時間培養では未処理に比べて $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理表面では著しく抑制された。しかし、同条件下でさらに長期間培養すると、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理歯面でも未処理歯面と同程度にプラークが形成されるようになる。そこで長期間培養したプラーク下のエナメル質表面を走査型電子顕微鏡ならびに薄切切片に顕微鏡的観察を行なった。図4は $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理および未処理エナメル質表面の走査型電子顕微鏡像であり、比較のために両像とも健全部分との境界部を示した。未処理エナメル表面(b)では、プラーク中の *S. mutans* が産生する酸による表層部の脱灰が著しく、表面の一層が脱落していた。一方 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処

理表面(a)では、ほぼワックスで被った健全部(写真右側)と同程度の像を示し、わずかに小さな陥凹部を認めたにすぎなかった。

図5は、2週間培養後、処理および未処理エナメル質片を切片にして得た偏光顕微鏡像と顕微X線写真像である。未処理エナメル質(a)では、表層から約80 μ の深さまで偏光性の著しく異なる像が認められた。一方 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理のもの(b)では、偏光性の変化は認めるものの、その深さは約70 μ で未処理に比べてわずかに浅く、かつ偏光性の異なりも少なかった。図5(c,d)は(a,b)と同じ試料の顕微X線写真像である。未処理エナメル質(c)では、表層下に著明な脱灰、いわゆる表層下脱灰像が認められ、かつ表層エナメル質も一部脱灰されていた。一方 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理試料(d)では、表層下脱灰像を認めるものの、その程度は未処理試料(c)で認められた像よりも少なく、かつ表層エナメル質も健全部とほぼ同程度のX線不透過性を呈しており、ほとんど脱灰されていなかった。以上の所見から $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理したエナメル質のプラーク下での脱灰が著明に抑制されることがわかった。

考 察

プラークがう蝕過程に密接な関係をもっていることは、多くの研究者⁶⁻⁹⁾によって論じられてきた。プラーク形成には口腔連鎖球菌、とくにう蝕原性 *S. mutans* が重要視され¹³⁻¹⁵⁾、事実この菌がプラーク形成に重要な役割を果している。う蝕抑制に関する研究も、従来のう蝕に対する宿主側、すなわち歯牙の抗う蝕性付与という消極的な方法から、う蝕の原因そのものを標的とする積極的な方法¹⁶⁻²³⁾へと関心が向けられてきている。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ には他のフッ化物と同様にエナメル質の耐酸性と耐キレート性向上作用やエナメル質の硬度上昇作用があり²⁾、歯質の物理的・化学的性質の変化による抗う蝕性効果が認められている^{2,3)}。本実験結果から $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ は人歯牙表面への *S. mutans* によるプラーク形成を著しく抑制することが明らかとなった。このプラーク形成抑制作用は $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ にも認められたが、 F^- の効果のみを期待するフッ化物として用いた NaF では

全く認められなかった。このことは $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ の Ag^+ の作用によってプラークの形成が抑制されることを示している。

プラーク形成は、エナメル質表面あるいはエナメル質表面を被覆するペリクル^{24,25)}上に口腔内細菌、とくに *S. mutans* が定着することに始まり、続いて定着菌の増殖が起こり、最終的に粘着性の構造物として歯牙表面に強く接着する。*S. mutans* のガラス表面²⁶⁾、ステンレススチールワイヤー²⁷⁾、あるいは歯牙表面^{12,28)}への定着に関しては種々の研究結果が報告されているが、いずれの報告もスクロースから産生される菌体外多糖が重要な役割を演じているとしており、事実グルコース加培地で培養した菌はほとんどエナメル質表面に定着せず¹²⁾、またプラークも形成しない。プラーク形成の第1段階である菌の定着には菌体外多糖、とくにグルカンが重要であり、しかもそれは菌体に結合した不溶性でかつ粘着性のグルカンである。この不溶性かつ粘着性グルカンは最近の化学構造の研究²⁹⁾から、 α -1,6、および α -1,3、の結合をもつグルカンであることが明らかにされている。

さて、エナメル質に $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 溶液を塗布した場合、その歯面への *S. mutans* の定着は著明に抑制をうけた。この現象は $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{NO}_3$ 処理によってもみられ、かつ NaF 処理ではみられなかったことから、恐らく歯面に結合した Ag^+ の作用によるものと考えられる。このように $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理によって *S. mutans* の歯面への定着が抑制された結果、前述のようにプラークの形成を抑制することになると考えられる。

つぎにプラーク形成の過程として、一旦歯面に定着した *S. mutans* がその歯面で増殖し集落を形成しなければならない。実験3で示したように、この段階でも歯面に結合した薬剤が作用して歯面での菌の増殖と集落形成に影響すると考えられる。この現象と同様の結果はクロールヘキシジンで歯面を処理した場合¹²⁾にもみられ、この薬剤処理では *S. mutans* の歯面への定着には全く影響をおよぼさないが、一旦定着した菌はその歯面でほとんど集落を形成しない¹²⁾。菌の歯面での集落形成抑制現象は、クロールヘキシジンの場合¹²⁾と同様、歯面に結合した薬剤による抗菌作用や、スクロース

からの多糖合成能を抑制する結果と考えられる。これらの作用機序については次の論文で報告する³⁰⁾。

$\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布エナメル質表面での *in vitro* におけるプラーク形成抑制作用は、本実験条件では48時間前後が限度であり、それより長期間経過すると、プラークは未処理歯面と比較して量的に明瞭な差異が認められない程に成長する。そこで長期間経過したプラーク下でのエナメル質への影響を調べた。 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 塗布したエナメル質表層部では、未処理のものに比べて脱灰が著明に抑制されていた。このことは、従来からいわれている F^- によるエナメル質の耐酸性向上作用²⁾の結果と考えられる。しかし、 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 処理の場合は F^- の作用だけでなく、 Ag^+ の作用も考えられる。エナメル質表面に $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ を作用させると、 CaF_2 と Ag_3PO_4 が生成され、 Ag^+ は歯面に長期間停留することが考えられる。事実、今回の実験においても、3週間培養後、空气中に保存した歯牙片は経時的に黒変した。このことは Ag^+ の歯面での残留を示している。エナメル質表面に Ag^+ が存在する限り、プラーク中の活動性が抑制されると考えられる。プラーク下エナメル質の脱灰は、*S. mutans* によるスクロースからの多糖合成の際にできる単糖、インペルターゼによってできる単糖³¹⁾さらに菌体外多糖の分解によって産生される単糖^{32,33)}などが分解利用される結果生じる酸による。これに加えて、単糖より合成された菌体内多糖³⁴⁾の消費によっても酸が産生される。このような酸産生能は菌の生育条件に左右されると考えるのは当然であり、酸産生能の低下も考えられる。

以上のような $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ によるエナメル質の脱灰の抑制作用は、フッ化第1錫溶液塗布の場合にも認められている³⁵⁾。この場合にも、エナメル質表面に形成されるプラークには差はなく、フッ化第1錫は主としてエナメル質の溶解性を抑制する結果だとしている³⁵⁾。しかし、 Sn^{4+} のプラークへの影響も無視することはできないであろう。いずれにしても、今後プラークの Ag^+ および Sn^{4+} による影響をも加味した研究が必要であると考えられる。

本論文の要旨は、第23回 IADR 日本部会 (昭51. 1月17~18日, 東京) で発表した。

文 献

- 1) 青野正男, 宗本健一, 岡田 宏, 吉田雅臣, 石原 宏, 横溝一郎: 歯頸部知覚過敏症に対する弗化アンモニア銀の使用成績. 日歯保誌, 10: 31-36, 1967.
- 2) 西野瑞穂: ふっ化アンモニア銀による乳歯齲蝕の進行抑制に関する研究. 阪大歯誌, 14: 1-14, 1969.
- 3) 鈴木俊行: フッ化ジアンミン銀の局所塗布による臼歯のう蝕抑制効果について. 小児歯誌, 11: 33-54, 1973.
- 4) 清水明彦: フッ化ジアシミン銀による二次う蝕の抑制. 日歯保誌, 17: 183-201, 1974.
- 5) 野々村栄二, 祖父江鎮雄, 森脇 豊: フッ化ジアンミン銀塗布によるう蝕病巣の局所変化に関する研究. 小児歯誌, 12: 33-40, 1974.
- 6) GIBBONS, R. J. and VAN HOUTE, J.: On the formation of dental plaque. *J. Periodont.*, 44: 347-360, 1973.
- 7) JENKINS, G. N.: Current concepts concerning the development of dental caries. *Int. dent. J.*, 22: 350-362, 1972.
- 8) KEYS, P. H.: Research in dental caries. *J. Am. dent. Ass.*, 76: 1357-1373, 1968.
- 9) LEACH, S. A. and HAYES, M. L.: A possible correlation between specific bacterial enzyme activities, dental plaque formation, and cariogenicity. *Caries Res.*, 2: 38-46, 1968.
- 10) FITZGERALD, D. B. and FITZGERALD, R. J.: Induction of dental caries in gerbils. *Arch. oral Biol.*, 11: 139-142, 1966.
- 11) 市川 晃, 竹内盛正, 藤田訓也, 川勝賢作, 杉中秀寿, 小谷尚三: 緑膿菌に対する chlorhexidine の影響. 口科誌, 24: 55-60, 1975.
- 12) 竹村金造: クロールヘキシジンの歯苔抑制機序の in vitro における解析. 日歯保誌, 18: 35-56, 1975.
- 13) DE STOPPELAAR, J. D., VAN HOUTE, J. and BACKEN DIRKS, O.: The relationship between extracellular polysaccharide-producing *streptococci* and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries Res.*, 3: 190-199, 1969.
- 14) LITTLETON, N. W., KAKEHASHI, S. and FITZGERALD, R. J.: Recovery of specific "caries-inducing" *streptococci* from caries lesion in the teeth of children. *Arch. oral Biol.*, 15: 461-463, 1970.
- 15) SHKLAIR, I. L., KEENE, H. J. and SIMONSON, L. G.: Distribution and frequency of *Streptococcus mutans* in caries-active individuals. *J. dent. Res.*, 51: 882, 1972.
- 16) LÖE, H., VON DER FEHR, F. R. and SCHIÖTT, C. R.: Inhibition of experimental caries by plaque prevention - The effect of chlorhexidine mouthrinses. *Scand. J. dent. Res.*, 80: 1-9, 1972.
- 17) KORMAN, K. S., CLARK, W. B., KREITZMAN, S. N. and ALVAREZ, C.: Caries control in the albino rat with chlorhexidine gluconate. *Arch. oral Biol.*, 18: 165-170, 1973.
- 18) REGOLATI, B., KÖNIG, K. G. and MÜHLEMAN, H. R.: Effects of topically applied disinfectants on caries in fissures and smooth surface of rat molars. *Helv. odont. Acta.*, 13: 28-31, 1969.
- 19) GJERMO, P., BAASTSD, K. L. and RÖLLA, G.: The plaque-inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds. *J. Periodontol.*, 5: 102-109, 1970.
- 20) FITZGERALD, R. J., KEYES, P. H., STOUTD, T. H. and SPINILL, D. M.: The effects of a dextranase preparation on plaque and caries in hamsters, a preliminary report. *J. Am. dent. Ass.*, 76: 301-304, 1968.
- 21) HAMADA, S., MIZUNO, J., MURAYAMA, Y., OOSHIMA, T., MASUDA, N. and SOBUE, S.: Effect of dextranase on the extracellular polysaccharide synthesis of *Streptococcus mutans*: chemical and scanning electron microscopy studies. *Infect. Immun.*, 12: 1415-1425, 1975.
- 22) GIBBONS, R. J. and KEYES, P. H.: Inhibition of insoluble dextran synthesis, plaque formation and dental caries in hamsters by low molecular weight dextran. *Arch. oral Biol.*, 14: 721-724, 1969.
- 23) SIMS, W.: The concept of immunity in dental caries. I general consideration. *Oral Surg.*, 30: 670-677, 1970.
- 24) JENKINS, G. N.: The mode of formation of dental plaque. *Caries Res.*, 2: 130-138, 1968.
- 25) CRITCHLEY, P., SAXTON, C. A. and KULENDO, A. B.: The histology and histochemistry of dental plaque. *Caries Res.*, 2: 115-129, 1968.
- 26) MUKASA, H. and SLADE, H. D.: Mechanism of adherence of *Streptococcus mutans* to smooth surfaces. I. role of insoluble dextran-levan synthetase enzymes and cell wall polysaccharide antigen in plaque formation. *Infect. Immun.*, 8: 555-562, 1973.
- 27) MCCABE, R. M., KEYES, P. H. and HOWELL, A.: An *in vitro* method for assessing the plaque forming ability of oral bacteria.

- Arch. oral Biol.*, 12 : 1653-1656, 1967.
- 28) ØRSTAVIK, D. KRAUS, F. W. and HENSHAW, C.: In vitro attachment of *Streptococci* to the tooth surface. *Infect. Immun.*, 9 : 794-800, 1974.
 - 29) EBIS, S., KATO, K., KOTANI, S. and MISAKI, A.: Isolation and purification of *flavobacterium* α -1,3-glucanase-hydrolyzing, insoluble, sticky glucan of *Streptococcus mutans*. *J. Bacteriol.*, 124 : 1489-1501, 1975.
 - 30) 鈴木俊行, 堤 脩郎, 祖父江鎮雄, 杉中秀寿 : フッ化ジアンミン銀の *Streptococcus mutans* によるプラーク形成におよぼす影響. II. プラーク形成抑制機序. 歯基礎誌, 18 : 268-278, 1976.
 - 31) GIBBONS, R. J.: Presence of an invertase-like enzyme and a sucrose permeation system in strains of *Streptococcus mutans*, *Caries Res.*, 6 : 122-131, 1970.
 - 32) DACOSTA, T. and GIBBONS, R. J.: Hydrolysis of levan by human plaque *Streptococci*. *Arch. oral Biol.*, 13 : 609-617, 1968.
 - 33) WALKER, G. J.: Some properties of a dextransucrosidase isolated from oral *Streptococci* and its use in studies on dextran synthesis. *J. dent. Res. Suppl.*, 51 : 409-414, 1972.
 - 34) VAN HOUTE, J., DE MOOR, C. and JANSEN, H.: Synthesis of iodophilic polysaccharide by human oral *Streptococci*. *Arch. oral Biol.*, 15 : 263-266, 1970.
 - 35) ABRAMOVICH, A. and SABELLI, C. A.: Action of *Streptococcus mutans* on dental enamel pretreated with stannous fluoride. *J. dent. Res.*, 53 : 94-96, 1974.