第20回 春季日本歯周病学会

期日 昭和52年5月21~22日

会場 新潟県民会館

会長 新潟大学 原 耕二 教授

特別講演要旨

細菌を凝集する唾液中の糖蛋白に関する研究

近 藤 亘

(新潟大学歯学部口腔細菌学教室)

Studies on Bacterial Aggregating Glycoprotein Isolated from Human Mixed Saliva

Wataru KONDO

Dept. of Oral Microbiology, School of Dentistry

(Niigata University)

この研究は細胞外に粘性多糖を合成し得ない細菌が唾液の糖蛋白を介してエナメル表面に粘着する機構を理解するために行なわれたものである。

我々は *Lepotrichia buccalis* の細胞壁の微細構造を研究している過程でこの菌の細胞壁の表面に幅約 3 nm、長さ約 30 nm の線毛 (pili) とは明らかに異なる短い毛様構造の突起がほぼ一定の間隔で配列していることを見出した。そこでこの菌の血球凝集性を調べた結果、分離株の多くが人および各種動物の赤血球を強く凝集することを明らかにした。この菌の毛様構造は菌体を 60°C、10 分加熱しても変化がなく血球凝集性も低下しないが、80°C、10 分以上加熱すると毛様構造は消失し、同時に菌体の血球凝集性も消失した。次いで単純糖による凝集抑制試験を行った結果、lactose、N-acetyl-D-galactosamine、melibiose と raffinose がこの菌の血球凝集に対して阻止効果を示すことが明らかとなった。これらの糖は何れも D-galactose を構成糖とするアミノ糖かまたはそれを非還元末端にもつ二糖あるいは三糖であって、このうち特に前二者の糖が強い抑制作用をもつことが判った。

次いで口腔から分離された 10 株の紡錘菌が *L. buc-*

calis と非常によく似た血球凝集性をもっていることが証明された。この菌の場合には *L. buccalis* で認められた様な規則性のある毛様構造とは異なるより繊細な fuzzy coat で細胞表面が覆われていた。それから両菌種の血球凝集は反応系に 5 mM の EDTA を添加することによって阻止され、また菌体をアルコールで処理したり pronase で消化することによって凝集活生の低下または消失が起ることを確かめた。

以上のことから菌体側の血球に対する binding site は菌体表層に存在する易熱性、pronase 感受性の微毛様構造をとる蛋白成分であり、一方血球側の receptor site はこれらの菌による血球凝集が lactose で強く抑制されることから β -結合をした galactose か、あるいは lactose 構造を非還元末端にもつ糖鎖であろうと推定した。

血球側の receptor site の性状を解明する上で一つの手掛かりとなったのはこの両菌種が唾液によって強く凝集される現象がみつかったことである。人の混合唾液の遠心上清にこれらの菌体を加えると直ちに凝集を起こし細胞は粘い菌塊となって沈殿する。面白いことにこの反応は菌体を 80°C、10 分加熱すると起らなくなり、D-galactose を構成糖とする前述の糖類によって強く抑制

された。また唾液に EDTA を加えて透析すると凝集性を失ない、これに Ca イオンを添加すると凝集性を回復した。以上のことから、この両菌種が赤血球を凝集する現象は唾液によって菌体が凝集を起こす現象と外見は異なっているが、その二つの反応機構は同一のものであると考えられた。

そこで次に人の唾液に含まれる血液型物質と細菌凝集因子の異同を確かめるために混合唾液を Sepharose 2B のカラムでゲル濾過を行ってみた。その結果、唾液に含まれる細菌凝集因子と血液型の全活性が void volume 分画に出てくることが明らかとなった。この分画はジスク電気泳動では試料層に止まったまま分離層に移動しないか、超遠心では対称性のある単一ピークとして行動した（沈降定数 15.1 S）。この物質は蛋白（約 20%）、アミノ糖（32～42%）と中性糖（40～47%）から構成されていた。アミノ酸組成の特徴はオキシアミノ酸（Thr + Ser）の含量が高いことであった。アミノ糖は glucosamine と galactosamine がほぼ 2 : 1 の割合で含まれていた（A 型分泌型唾液では 1 : 1）。中性糖は fucose と galactose の二種類でこれがほぼ 1 : 1 の割合で含まれていた。A 型分泌型唾液は例外であるが、オキシアミノ酸（Thr + Ser）と galactosamine の含量はほぼ等モルであった。それからこの物質をアルカリ条件下で還元すると Thr と Ser が減少し、その代わりに α -アミノ酪酸の出現と alanine の増加がみられることから Thr と Ser が糖一 peptide 結合に関係するアミノ酸であることが判明した。糖鎖の還元末端は恐らく galactosamine であろう。以上の成績からこの物質が人の卵巣嚢腫から分離された血液型物質と非常によく似た化学組成をもつ高分子の糖蛋白であることが明らかとなった。

ところがこの分画の細菌凝集活性は血液型活性（A、

B、H および Le^a）とは無関係であって、反応系に抗 A 血清や抗 B 血清あるいは抗 H うなぎ血清を添加しても凝集活性が低下しないことから、唾液凝集因子が菌体と結合する部位の構造は血液型抗原として完成した糖鎖ではなく、その生合成の中間段階にある糖鎖であろうと推定している。

次に唾液凝集因子の糖鎖構造に変化を与えることなく、アミノ酸の結合を還元剤や蛋白消化酵素で切断してみた。この処理によって血液型活性の低下は殆んど起らなかったが細菌凝集活性は著しい低下を起こした。これをゲル濾過にかけると血液型活性は高分子側から低分子側にかけて広い溶出パターンを示すようになるが、僅かに残された凝集活性は高分子側にだけ証明された。このことは血液型活性をもつ糖一 peptide 鎖がこの物質から外されることによってこの物質の細菌凝集活性が消失して行くことを示している。この事実と唾液凝集因子の活性が Ca イオン依存性であることから、この糖蛋白が細菌凝集活性を発現する場合その糖鎖の末端構造だけでなく分子全体の特殊な configuration がやはり大切な要因になっていることが明らかとなった。

最近、この糖蛋白がもう一つの活性としてエナメル質の粉末を強く凝集する性質のあることを明らかにした。この糖蛋白によるエナメル粉末の凝集は α -ケト酸や二塩基性酸以上のオキシ酸によって抑制され、逆に Ca イオンによって促進された。また一定量のエナメル粉末に対する糖蛋白の吸着量はある濃度の所まで Ca イオンの濃度を増すにつれた増加した。Ca イオンの示すこの吸着促進効果はこれが糖蛋白に incorporate されることによってその configuration を変え、糖蛋白の極性基がエナメル粉末の active site と結分し易くなるように働いているのかも知れない。

シンポジウム要旨

歯周病における咬合治療の役割

1. 咬合の生理と異常

加 藤 潔

（北海道大学歯学部第 2 保存学教室）

歯周疾患を治療するにあたって大切なことは原因の除去であり、その中でも炎症を引き起こす歯垢の定期的な除去が最も重要なことはすでに認められている。しかし

辺縁歯肉に初発した歯肉炎が歯槽骨や歯根膜を高度に破壊するのは、単に炎症性の因子である plaque の作用ばかりでなく、外傷性咬合すなわち咬合性の因子が大きな