

第64回 日本細菌学会総会,

1991年3月27日(水) 28日(木) 29日(金)

オオサカ・サニプレス

F-1-2

Streptococcus mutans の菌体結合型グルコシルトランスフェラーゼに
対するニワトリ卵黄抗体によるラット実験う蝕の抑制

○堀越俊雄^{1,2)}・南貴洋^{1,3)}・川端重忠¹⁾・平岡淳一郎²⁾・藤原卓¹⁾
大嶋隆³⁾・浜田茂幸¹⁾
(阪大・歯・口腔細菌¹⁾, 鐘紡・化粧品研究所²⁾, 阪大・歯・小児歯科³⁾)

目的 *Streptococcus mutans*は、う蝕の主要な病原因子である。中でも血清型cに属する菌株は、ヒト由来のミュータンスレンサ球菌の約80%を占める。*S. mutans*は、各種の糖から酸を産生し、またスクロースを基質として非水溶性で付着性のグルカンを生成する。後者は、同菌の産生するグルコシルトランスフェラーゼ(GTase)群によって触媒され、う蝕原性を発揮するためのヒルレンス因子として機能している。我々は、*S. mutans*に特有な菌体結合型でかつ非水溶性グルカン合成能を有するGTase (CA-GTase)を分離・精製し、一昨年の本学会において報告した。本研究は、*S. mutans*のう蝕原性の発現に際し、CA-GTaseが関与しているか否かを調べるために、CA-GTaseに対する卵黄抗体を作製し、同抗体によるCA-GTaseの活性阻害と*S. mutans*菌体の試験管壁への付着並びにラットにおけるう蝕抑制効果を検討したものである。

材料と方法 (1)菌株：日本人小児う窩から分離した*S. mutans* MT8148株(血清型c)を主な被験菌株として用いた。(2)抗原の調製：CA-GTaseは、8M尿素により菌体から抽出し、塩析・クロマトグラフィーにより精製した。培養上清中の水溶性グルカン合成酵素であるCF-GTaseは、クロマトフォーカシング法により精製した。(3)ニワトリ卵黄抗体の作製：CA-GTase, CF-GTase, *S. mutans*全菌体(WC)に対する卵黄特異抗体(抗CA-GTase抗体, 抗CF-GTase抗体, 抗WC抗体)を次の様に調製し、実験に供した。各々の抗原を18週齢のニワトリの胸筋にFCAと共に免疫し、その6週後に追加免疫をFIAと共にを行った。被免疫ニワトリの卵を集め卵黄をクロロホルム処理による脱脂後、IgGを含む水溶性タンパク画分(WSPF)を凍結乾燥し、粗IgG標品とした。*in vitro*試験には、WSPFから硫酸分画とDEAE-SepharoseのカラムでIgGを精製して用

いた。非免疫のニワトリ由来の卵からも同様にしてIgG画分を調製した。次に同様に免疫したニワトリ卵黄をエタノール分画法を用いて抗CA-GTase IgG画分を調製し、凍結乾燥した。(4)う蝕抑制試験：SPFのSprague-Dawleyラットに、*S. mutans* MT8148株を感染させ、同時に乾燥卵黄特異抗体を0~1%配合したう蝕誘発性飼料(diet 2000)を自由に摂取させた。*S. mutans*感染後55日後にラットを屠殺し、ブランク指数とう蝕スコアを測定した。

結果と考察 (1)得られた抗CA-GTase, 抗CF-GTase, 抗WC卵黄特異抗体のELISA抗体価は、それぞれ 6.8×10^4 , 3.0×10^4 , 4.7×10^4 であった。また抗CA-GTase抗体は、CA-GTaseとWCとのみ反応した。CA-GTase活性は、抗CA-GTase, 抗WC抗体により顕著に阻害された。CF-GTase活性は、抗CF-GTase抗体により阻害された。グルカンを介した*S. mutans*菌体の試験管壁への付着は、抗CA-GTase, 抗WC抗体により顕著に阻害された。(2)CF-GTase, CA-GTase, 及びWCに特異的な抗体を含むWSPFを配合した飼料を*S. mutans*感染ラットに投与すると、抗CA-GTase抗体配合群のみが対照群に比べ、ブランク指数、う蝕スコアとも有意に低下した。次に抗CA-GTase抗体の最少有効量を決定するために、0.025%から1%までの濃度で飼料に配合しう蝕抑制効果を検討した。その結果、0.1%以上の抗体を配合した群において、ブランク指数、う蝕スコアの有意の低下が認められた。以上の実験から、CA-GTaseに対する卵黄特異抗体は、CA-GTase活性を阻害し、また*S. mutans*菌体の試験管壁への付着を抑制し、さらに*in vivo*においてう蝕抑制効果を有することが明らかにされた。以上の結果は、抗CA-GTase卵黄特異抗体による経口受動免疫が、う蝕の予防に有効な手段となりうる可能性を示唆している。