

Streptococcus mutans AL7-1株の産生する exo-enzymeによる各種レンサ球菌種の生菌の溶解に ついて

著者名(日)	馬場 久衛, 鎌口 有秀, 金森 啓子, 田中 かえで, 山口 享子, 小松 始, 野崎 善弘, 越前 敏広
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	5
号	1
ページ	41-49
発行年	1986-06
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00007204/

[原 著]

Streptococcus mutans AL7-1株の産生する
exo-enzymeによる各種レンサ球菌種の生菌の溶解について

馬場 久衛, 鎌口 有秀, 金森 啓子
田中かえで, 山口 享子, 小松 始,
野崎 善弘, 越前 敏広

東日本学園大学歯学部口腔細菌学講座

(主任: 馬場 久衛 教授)

Lytic Ability of Exo-enzyme from *Streptococcus*
mutans AL7-1 Strain against Living Cells of Streptococci

Hisae BABA, Arihide KAMAGUCHI, Keiko KANAMORI,
Kaede TANAKA, Kyoko YAMAGUCHI, Hazime KOMATSU,
Yoshihiro NOSAKI and Toshihiro ECHIZEN

Department of Oral Microbiology, School of Dentistry,
HIGASHI-NIPPON-GAKUEN UNIVERSITY

(Chief: Prof. Hisae BABA)

Abstract

An exo-enzyme produced by the oral bacterium *Streptococcus (Str.) mutans* strain AL7-1 that lysed heat-killed cells of *Str. sanguis* ATCC 10558 was examined for its lytic ability against living cells of stock cultures of streptococci and of the oral isolates of *Str. sanguis* from the dental plaques of infants.

This exo-enzyme showed a clear decrease in OD of living cell suspensions of 4 hr-culture of *Str. sanguis* ATCC 10558 but in no other streptococcal species. In the reaction mixture, the initially gram positive long-chained cocci were found to have been converted to gram negative, short-chained cocci. It is evident that the decrease in OD of living cell suspension depends on the action of a lytic enzyme, because, this dissolves cell walls of *Str. sanguis*, in addition its strength is inactivated by heat treatment, and at the same time this enzyme does not contain an activity of bacteriocins. This enzyme showed a fairly good lytic ability against living cells of six out of seven strains

of *Str. sanguis* isolated from the same oral cavity from which *Str. mutans* AL7-1 was isolated. Furthermore, 43(31%) out of 141 strains of *Str. sanguis* isolated from dental plaques of 20 infants show a susceptibility to this exo-enzyme similar to or higher than *Str. sanguis* ATCC 10558.

From the above results, if this exo-enzyme is produced from *Str. mutans* in dental plaques *in vivo*, it seems would be possible that it may take part in the decrease of *Str. sanguis*.

Key words : Lytic enzyme, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*

緒 言

幼児の歯垢中より分離した *Streptococcus* (*Str.*) *mutans* が, *Str. sanguis* ATCC10558 株の加熱菌体を溶解する溶菌酵素を産生することを既に報告している^{1,2)} また, このような溶菌活性を有する *Str. mutans* が多数の幼児の歯垢中に存在することが判明している³⁾ もし, 本酵素が歯垢中の *Str. sanguis* の生菌に対して溶解性を有するならば, 歯垢中でのう蝕の発病に伴う *Str. sanguis* の減少に, 本酵素が少なからず関与する可能性がある。

本報告では, *Str. sanguis* を含む数種の *Streptococci* 保存株, ならびに幼児の歯垢より分離した *Str. sanguis* の生菌に対する本酵素の溶解性について検討した。

材料ならびに方法

1. 使用菌株と培地

溶菌酵素産生菌は, 当教室で幼児の歯垢より分離した *Str. mutans* AL7-1 株を用いた³⁾ *Str. sanguis* ATCC 10556, 10557 および 10558 株は岩手医科大学金子克教授より分与して載いた。*Str. mutans* E 49, BHT, OMZ-70, OMZ-176, P-4, OMZ-175, 6715 および *Str. salivarius* ATCC 9222 と HHT は日本大学松戸歯学部池田正教授より, *Str. mitis* ATCC 9811, *Str. milleri* ATCC 10708 および *Str. mitior*

ATCC 903 株は神奈川歯科大学梅本俊夫教授より分与して載いた。また, 溶菌酵素産生性 *Str. mutans* AL7-1 株と同一の口腔中の歯垢より分離した *Str. sanguis* の 7 株 (Table 4), および 20 人の幼児の歯垢より分離した 141 株の *Str. sanguis* (Table 5) も用いた。これらの菌株は GAM 半流動培地を用いて継代した。溶菌酵素の産生には当教室で処方した chemically defined medium⁴⁾ を用いた。

2. 溶菌酵素の調製

Chemically defined medium (CD medium, Table 1) に *Str. mutans* AL7-1 株の overnight culture を 1/20 量接種して 95% N₂ と 5% CO₂ の環境下で 6 時間培養した。上澄を分子量 1 万のフィルター (ミリポア) で限界濾過濃縮したのち, Sephadex G75 (ファルマシア) を用いてゲル濾過を行い, *Str. sanguis* ATCC 10558 株の加熱菌体に溶菌活性を示す void volume 画分を凍結乾燥して溶菌酵素を得た。

3. 生菌体ならびに加熱菌体浮遊液の調製

生菌体と加熱菌体の調製は, Brain heart infusion (BHI, Difco) に 1/20 量の overnight culture を接種したのち, 嫌氣的に一定時間培養した。菌体を集め, phosphate buffered saline (pH 7.0) で 1 回洗浄したのち, 純水に OD_{600nm} が 1.80~1.82 になるように浮遊した。浮遊液を 2 分し, 一方をそのまま, 生菌体浮遊液とし, 他方を 100 °C 20 分の加熱処理を行って

Table 1 Composition of chemically defined medium

glycine	0.2g	riboflavin	2mg
L-alanine	0.1g	pyridoxin · HCl	2mg
L-valine	0.1g	nicotinic acid	2mg
L-leucine	0.1g	calcium pantothenate	2mg
L-isoleucine	0.1g	thiamine · HCl	2mg
L-serine	0.1g	folic acid	0.05mg
L-threonine	0.1g	p-aminobenzoic acid	0.05mg
L-cysteine	0.2g	biotin	0.005mg
L-cystine	0.2g	sodium acetate	10g
L-phenylalanine	0.1g	sodium carbonate	0.5g
L-tryptophan	0.2g	ammonium chloride	3g
L-proline	0.2g	MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0.2g
L-hydroxyproline	0.2g	MnSO ₄ · H ₂ O	7.5mg
L-asparatic acid	0.3g	FeCl ₃	2mg
L-glutamic acid	0.3g	K ₂ HPO ₄	9.5g
L-glutamine	5 mg	KH ₂ PO ₄	3.4g
L-lysine	0.1g	glucose	5g
L-arginine	0.2g	deionized water	1,000ml
L-histidine	0.2g		

加熱菌体浮遊液とした。

4. 細胞壁浮遊液

細胞壁はBHIで一夜培養した菌体を遠沈により集菌したのち、Yokogawaら⁵⁾の方法で調製した。但し、細菌細胞の破碎はX-press (Biox, Stockholm) を用い、-25℃で行った。得られた細胞壁を純水でOD_{600nm}が1.50~1.52になるように浮遊したものを酵素反応の基質に供した。

5. 溶菌酵素活性の測定

酵素反応は細菌細胞又は細胞壁の浮遊液1mlと、溶菌酵素水溶液1ml (最終酵素濃度; 反応液1ml当り320μg)および1.2×10⁻³MのCaCl₂を含む0.03MTris-Maleate NaOH buffer

(pH 7.0) 1mlとを混合して行った。37℃で0分、60分、あるいは120分間反応させ、その時の反応液のOD_{600nm} (OD-A₀, ₆₀又は₁₂₀)を測定した。同時に失活酵素 (100℃で10分間加熱処理)反応液についても0分、60分又は120分間反応時のOD (OD-I₀, ₆₀又は₁₂₀)を対照として求めた。

酵素活性は次式により、吸光度の減少(ΔOD)として求めた。

$$\Delta OD = [(OD - A_0) - (OD - A_{60 \text{又は} 120})] - [(OD - I_0) - (OD - I_{60 \text{又は} 120})]$$

但し、0, 60, 120: 反応時間(min)

6. 生物学的性状検査

分離株の性状検査は馬場と五十嵐¹⁾の方法により行った。

7. バクテリオシン活性

溶菌酵素中のバクテリオシン活性中の有無を次の方法により調べた。

Trypticase soy broth (TS, BBL, Cockeysville, Maryland) でover night cultureした指示菌を100倍に希釈し、その0.1mlを0.5%にyeast extract (Difco) を含むTS寒天平板 (TS-Y寒天平板) に塗抹した。ついで、この寒天平板上に直径8mm (内径6mm) 長さ10mmのカップを乗せた (Fig. 2)。10mg/mlの溶菌酵素液を2倍の階段希釈にし、この各希釈液の0.05mlを上記のカップに注入した。この寒天平板をさらに嫌氣的に24時間培養し、カップの周囲

に形成される阻止帯の有無を調べた。

結 果

Table 2 に 4 時間培養の生菌体と加熱体および細胞壁に本酵素を反応液 1 ml 当り 320 μ g 反応させたときの *Str. sanguis*, *Str. mutans*, *Str. salivarius*, *Str. mitis*, *Str. milleri* および *Str. mitior* の各保存株の溶解性を表の下欄に示す式により反応液の OD の減少率で示した。*Str. sanguis* では, ATCC 10556 と 10557 株が本酵素により反応液の OD の減少はまったくみられないが, ATCC 10558 株は反応時間の増加とともに生菌体, 加熱菌体および細胞壁ともに大巾な OD の減少がみられた。また, う蝕原性の *Str. mutans* 7 株も *Str. sanguis* ATC

C 10558 株に劣るものの, 加熱菌体と細胞壁は反応時間の増加とともに OD の減少が観察された。しかし生菌体では微少な OD の減少にとどまっな。しかし, *Str. salivarius*, *Str. mitis*, *Str. milleri* および *Str. mitior* は, 生菌体, 加熱菌体ともに, 本酵素では OD の減少はまったくみられなかった。Fig. 1 に *Str. sanguis* の生菌体に本酵素を 60 分間反応させたときの反応液のグラム染色像を示した。失活酵素反応液 (A) では, グラム陽性で長いレンサ状の菌が, 活性酵素反応 (B) ではレンサは短く, グラム陰性 (写真では薄い) に染まる菌が多数観察された。Table 3 は, 溶菌酵素産生菌 *Str. mutans* AL 7-1 菌が分離されたと同一の口腔より分離した 7 種の *Str. sanguis*, および *Str. sanguis* ATCC

Table 2 Susceptibilities of living cells, heated cells and cell walls of several streptococcal species to the exo-enzyme* from *Str. mutans* AL 7-1

strain	Living cells**		Heated cells**		Cell walls	
	—— reaction time ——					
	60min	120min	60min	120min	60min	120min
<i>Str. sanguis</i> ATCC 10556	0%***	0%	0%	0%	0%	0%
" " 10557	0	0	0	0	0	0
" " 10558	23.2	33.6	21.0	32.4	8.0	18.9
<i>Str. mutans</i> E-49 (a)	2.4	4.2	5.9	12.2	6.0	15.5
" BHT (b)	2.3	4.6	6.7	13.3	4.8	15.1
" OMZ-70 (c)	2.7	4.4	5.3	11.9	2.3	7.8
" OMZ-176 (d)	1.2	2.6	6.7	12.5	6.4	12.5
" P-4 (e)	2.0	3.6	6.9	12.1	1.6	6.1
" OMZ-175 (f)	2.1	5.0	3.6	9.5	3.0	6.2
" 6715 (g)	2.2	5.0	9.5	16.0	5.5	11.0
<i>Str. salivarius</i> ATCC 9222	0	0	0	0		
" HHT	0	0	0	0		
<i>Str. mitis</i> ATCC 9811	0	0	0	0		
<i>Str. milleri</i> ATCC 10708	0	0	0	0		
<i>Str. mitior</i> ATCC 903	0	0	0	0		

* : The concentration of exo-enzyme was 320 μ g per ml of reaction mixture

** : The cell of 4 hr-culture grown in BHI broth

*** : Per cent decrease in OD_{600nm}

$$= \frac{[(OD-A_o) - (OD-A_i)] - [(OD-I_o) - (OD-I_i)]}{OD-I_o} \times 100 (\%)$$

o and i : reaction time ; o = 0 min, i = 60 or 120 min.

a to g in parenthesis : serotype of *Str. mutans*

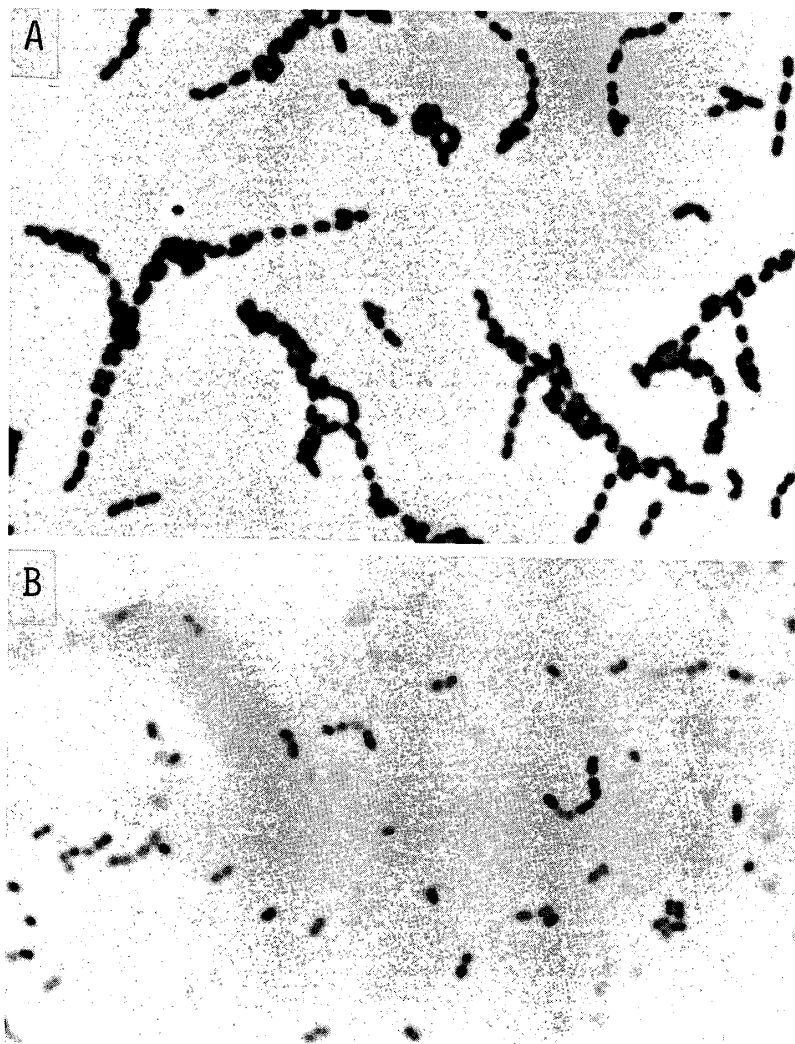


Fig. 1 Photographs of gram-stained smears in 2 hr-reaction mixtures of living cells of *Str. sanguis* ATCC10558 (A: inactive ; B: active enzyme-containing reaction mixture). x 2,700

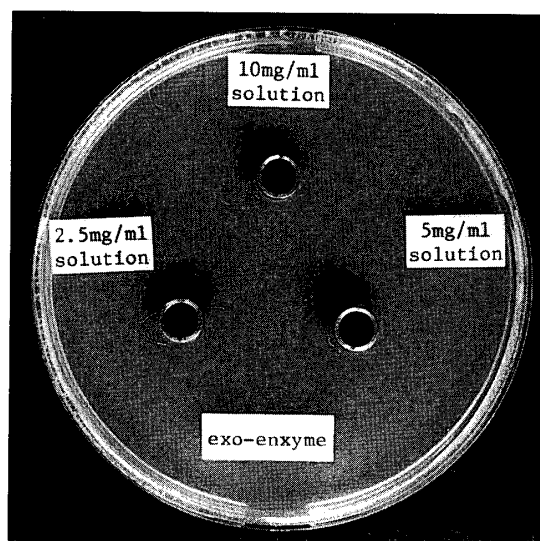


Fig. 2 Bacteriocin activity of 10,5, and 2.5mg per ml solutions of exo-enzyme against *Str. sanguis* ATCC 10558. No-inhibition zones appear around the cups. x 0.7

Table 3 Characteristics of *Str. sanguis* isolated from the same oral cavity in which *Str. mutans* AL7-1 was isolated

Character	<i>Str. sanguis</i> isolated						<i>Str. sanguis</i>			
	A1-6	A1-7	A7-2	A7-4	A11-2	A11-3	A12-3	ATCC 10556	ATCC 10557	ATCC 10558
Haemolysis (sheep blood)	α	α	α	α	α	α	α	α	α	α
Peroxide	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Final pH	4.80	4.49	4.44	4.47	4.49	4.45	4.43	4.55	4.30	4.32
Fermentation of										
mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
melibiose	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
raffinose	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
esculin	-	+	+	+	+	+	+	-(+)	+	+(-)
salicin	+	+	+	+	+	+	+	+(-)	+	+
inulin	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Hydrolysis of										
L-arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
esculin	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

(+) or (-) : sometimes (+) or (-)

Table 4 Susceptibilities of *Str. sanguis* strains isolated from the same oral cavity in which *Str. mutans* AL7-1 was isolated, to the exo-enzyme*

<i>Str. sanguis</i> strain	Living cells**		Heated cells**	
	reaction time		reaction time	
	60 min	120 min	60 min	120 min
A1-6	0.4%***	1.2%	0.3%	0.3%
A1-7	23.9	33.1	12.2	29.5
A7-2	20.1	31.9	10.2	28.0
A7-4	20.3	28.3	12.0	27.3
A11-2	21.1	27.7	10.7	28.0
A11-3	22.1	29.1	12.8	27.9
A12-3	20.6	31.8	14.4	29.2

* : The concentration of the exo-enzyme was 320 μ g per ml of the reaction mixture

** : The cells of 4 hr-culture grown in BHI broth

*** : Per cent decrease in OD_{600nm}

$$= \frac{[(OD-A_o) - (OD-A_i)] - [(OD-I_o) - (OD-I_i)]}{OD-I_o} \times 100(\%)$$

o and i : reaction time ; o = 0 min,

i = 60 or 120 min

Table 5 Characteristics of *Str. sanguis* isolated from the dental plaques of 20 infants

Character	group*	<i>Str. sanguis</i>	
		I : A	I : B
	No. of strains	10	131
Haemolysis in blood pour plate	<i>alpha</i>	10	131
	<i>beta</i>	0	0
	<i>gamma</i>	0	0
Hydrogen peroxide formed		10	131
Extracellular polysaccharides produced		10	131
Final pH in broth containing glucose	≤ 4.1	0	1
	4.2—4.4	8	39
	4.5≤	2	91
Fermentation of			
mannitol		0	5
sorbitol		0	17
melibiose		8	70
raffinose		9	69
esculin		0	63
salicin		0	131
inulin		0	79
Hydrolysis of			
L-arginine		0	131
esculin		0	83

* : with reference to the report described by Carlsson (1968)

10556, 10557 と 10558 の 3 種の性状検査の結果を示した。A1-6 株を除く 6 株は、ATCC 10558 株にその性状が類似するが、A1-6 株のみは、L-arginine の加水分解が陽性になる点を除けば、ATCC 10557 株にその性状は類似した。これらの *Str. sanguis* 株の生菌体と加熱菌体の本酵素に対する感受性を Table 4 に示した。本酵素は、A1-6 株を除く 6 株の生菌体ならびに加熱菌体に対して良好な OD の減少を示した。しかし A1-6 株ではほとんど OD の減少は見られなかった。Table 5 は、20 名の幼児の歯垢より分離した 141 株の *Str. sanguis* の性状と Carlsson⁶⁾ の報告に準じてそれらを群別した結果を示した。141 株は、I : A 群 10 株、I : B 群 131 株に分けられた。Table 6 は、これらの *Str. sanguis* 株に対する本酵素の溶解性を検討した結果で、本酵素を 2 時間反応させたときの OD の減少率で示

Table 6 Susceptibilities of living cells* of *Str. sanguis* strains isolated from the dental plaques of 20 infants to the exo-enzyme**

per cent decrease in OD	group	<i>Str. sanguis</i> strains	
		I : A	I : B
	No. of strains	10	131
50≤		—	3
45%		—	2
40%		—	9
35%		—	10
30%		—	19
25%		—	16
20%		—	13
15%		4	19
10%		2	11
5%		—	9
0<		—	12
0=		4	8

* : the cells of 4 hr-culture grown in BHI broth
 ** : The concentration of exo-enzyme was 320 μg per ml of the reaction mixture

した。*Str. sanguis* ATCC 10558 株 (減少率: 33.6%, Table 2) と同等あるいはそれ以上 (減少率: 30%以上) の本酵素に対する感受性を示した株数は, I:B 群131 株中43株あり, I:A 群では0 株であった。また, 溶菌酵素中のバクテリオシン活性はまったくみられなかった (Fig. 2)。

考 察

溶菌酵素は peptidoglycan に対する作用によって, glycosidases と acetyl-muramyl-L-alanine-amidases と endopeptidases の3 種に分けられる。細菌が産生するこれらの2 種または3 種の酵素から構成される溶菌酵素の中には, これらの構成するすべての酵素が存在しなければ, その活性が発現しないものがある^{8,9}。そこで, 本研究では, 未純化の粗酵素を用いて実験を行った。

本酵素は, 生菌体では, *Str. sanguis* ATCC 10558 株のみに高い吸光度の減少を示した (Table 2)。本酵素はまた, 本菌株の細胞壁をも溶解し, 本菌株のレンサを at random に切断し, そして, 加熱によって失活した。 (Fig. 1)。*Str. mutans* は液体培地ではバクテリオシンの産生はむずかしいとされている¹⁰⁻¹⁴。本実験においてもまた, 化学合成培地 (CD medium) では, *Str. mutans* AL 7-1 株によるバクテリオシン活性は観察されなかった (Fig. 2)。以上の事実から, Table 2 に示した *Str. sanguis* ATCC10558 株の生菌における OD の減少は, 本溶菌酵素の作用によって生じたことは明白である。酵素は一般に基質特異性を持っているので, 上述の結果は, *Str. sanguis* ATCC10558 株の細胞壁の構成成分が, ATCC10556 株や10557 株とは異った部分があることを示していると思われる^{15,16}。

本酵素は, *Str. sanguis* ATCC10558 株の生菌体, 加熱菌体および細胞壁のいずれも溶解するがう蝕原性の *Str. mutans* に対しては, 加

熱菌体と細胞壁は溶解するが, 生菌体は微少溶解されるのみである。この両菌種の生菌体に対する溶解性の違いは, cariogenic *Str. mutans* の生菌体の細胞壁に, 本酵素に阻害作用を有する物質が存在していることを示唆しているように思われる。それらの物質は, タイコ酸やリポタイコ酸, リピドなどのような, 加熱処理あるいは塩溶液の洗浄によって細胞壁から離脱する物質と考えられる^{17,18,19}。

本酵素は, *Str. mutans* AL 7-1 株を分離した同じ口腔から得られた7 株の *Str. sanguis* のうち, その性状が *Str. sanguis* ATCC10558 株に類似した6 株に対して良好な溶解性を示した。さらに, 本酵素は, 20名の幼児の歯垢より分離した141 株の *Str. sanguis* のうちの43 株 (31%) に対して, *Str. sanguis* ATCC 10558 株 (sero type: III) と同等あるいはそれ以上の溶解性を示した (Table 6)。鳥井²⁰は, 日本人の歯垢より分離した *Str. sanguis* のうち, 32.7% が sero type III 型の *Str. sanguis* だったと報告している。

以上の事実から, もし, 本酵素が生体中においても *Str. mutans* によって産生されるものとするれば, *Str. mutans* から産生される本酵素が歯垢中の sero type III 型の *Str. sanguis* の減少に少なからず関与している可能性があるものと考えられる。

文 献

1. 馬場久衛, 五十嵐清治: *Streptococcus mutans* の産生する溶菌酵素に関する研究 I. *Streptococcus sanguis* 溶解菌株の分離とその諸性状, 歯基礎誌, 25; 932-946, 1983.
2. 馬場久衛, 鎌口有秀, 金森啓子: *Streptococcus mutans* の産生する溶菌酵素に関する研究 II. 溶菌酵素の特性と酵素産生に及ぼす諸因子, 歯基礎誌, 25; 947-955, 1983.
3. Baba, H. Igarashi, S.: Studies on the lytic enzyme from *Streptococcus mutans*. V. Prevalence of bacteria lytic against heated cells of *Str-*

- ptococcus sanguis* ATCC 10558 strain in the dental plaque of infants, Jpn. J. Oral Biol., 27 ; 974-979, 1985.
4. 馬場久衛, 鎌口有秀: *Streptococcus mutans* の産生する溶菌酵素に関する研究IV. *Streptococcus* AL7-1株による溶菌酵素産生のための chemically defined medium の調製, 歯基礎誌, 26 ; 686-697, 1984.
 5. Yokogawa, K., Kawata, S. and Yoshimura, Y. : Lytic enzyme from *Streptomyces globisporus* 1829 strain, Agr. Biol. Chem., 27 ; 799-808, 1973.
 6. Carlsson, J. : A numerical taxonomic study of human oral streptococci, Odont Revy., 18 ; 173-178, 1968.
 7. Ghuyssen, J. M., Tipper, D. J. and Strominger, J. L. : Enzymes that degrade bacterial cell walls. In : Methods in enzymology. VII. Complex carbohydrates. (Edited by Newfeld, E. F. and Ginsburg, V.) pp. 685-699, Academic Press, New York, San Francisco, London. 1966.
 8. Browder, H. P., Zygmunt, W. A., Young, J. R., and Tarormina, P. A. : Lysostaphin : Enzymatic mode of action, Biochem. Biophys. Res. Commun., 19 ; 383-389, 1965.
 9. Tipper, D. J. and Strominger, J. L. : Isolation of 4-0- β -N-acetyl-muramyl-N-acetylglucosamine and 4-0- β -N, 6-0-diacetylmuramyl-N-acetylglucosamine and the structure of the cell wall polysaccharide of *Staphylococcus aureus*., Biochem. Biophys. Res. Commun., 22 ; 48-57, 1966.
 10. Kelstrup, J. and Gibbons, R. J. : Bacteriocins from human rodent streptococci., Archs Oral Biol., 14 ; 251-258, 1969.
 11. Kelstrup, J. and Funder-Nielsen, T. D. : Synthesis of bacteriocins in liquid cultures of *Streptococcus mutans*., Biol. Buccale., 5 ; 99-106, 1977.
 12. Rogers, A. H. : Effect of the medium on bacteriocin production among strains of *Streptococcus mutans*., Appl. Microbiol., 24 ; 294-295, 1972.
 13. Hamada, S. and Ooshima, T. : Production and properties of bacteriocins (mutacins) from *Streptococcus mutans*., Archs Oral Biol., 20 ; 641-648, 1975.
 14. 小野喜美子, 岸本悦央, 森岡俊夫 : バクテリオシン産生能および平滑面付着能をもつ *Streptococcus mutans* のスクリーニング, 口腔衛生誌, 34 ; 150-156, 1984.
 15. Chiu, T. H., Emdur, L. I., and Platt, D. : Lipoteichoic acids from *Streptococcus sanguis*., J. Bacteriol., 118 ; 471-479, 1974.
 16. 山本十糸子, 水野 純, 浜田茂幸 : *Streptococcus sanguis* の両親媒性抗原の免疫化学的性状, 歯基礎誌, 24 ; 152 (抄録), 1982.
 17. Davie, J. M. and Brock, T. D. : Effect of teichoic acid on the resistance to the membrane-lytic agent of *Streptococcus zymogens*., J. Bacteriol. 92 ; 1623-1631, 1966.
 18. Cleveland, R. F., Wicken, A. J., Daneo-Moore, L., and Shockman, G. O. : Inhibition of wall autolysis in *Streptococcus faecalis* by lipoteichoic acid and lipids., J. Bacteriol., 126 ; 192-197, 1976.
 19. Cleveland, R. F., Daneo-Moore, L., Wicken, A. J., and Shockman, G. O. : Effect of lipoteichoic acid and lipids on lysis of intact cells of *Streptococcus faecalis*., J. Bacteriol., 127 ; 1582-1584, 1976.
 20. 鳥居光男 : ヒトの歯面より分離した *Streptococcus sanguis* の分類と平滑面付着能 I . 分離株の血清学的ならびに生物学的型別, および SPF ラットに対するう蝕誘発能, 歯基礎誌, 20 ; 341-349, 1978.