

**<講演>2. ヒト混合唾液の糖発酵性 : ミュータンス
レンサ球菌との関連(東日本学園大学歯学会第8回学
術大会(平成2年度総会))**

著者名(日)	脇坂 仁美, 上田 五男, 磯貝 恵美子, 三浦 宏子, 井藤 信義, 斉藤 恵美, 丹羽 弥奈, 五十嵐 清治
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	9
号	1
ページ	49-50
発行年	1990-06-30
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00007518/

〔学会記録〕

東日本学園大学歯学会第8回学術大会

(平成2年度総会)

—講演抄録—

平成2年2月24日, 薬学部大講堂

1. ラットのう蝕発生に関連する微生物の研究3.

澱粉と蔗糖のう蝕誘発能とその微生物叢について

山口享子,¹⁾ 松井聡子,²⁾ 猿田 峻²⁾
 寺山千恵,¹⁾ 宮川博史,¹⁾ 鎌口有秀¹⁾
 馬場久衛,¹⁾ 松本仁人,²⁾
 (口腔細菌,¹⁾ 歯科薬理²⁾)

報告者らはラットのう蝕の発病と口腔微生物との関連性を検討しているが、蔗糖を69%に含む飼料投与群をcontrolとしているため、この群のう蝕発病率が高くなる傾向にあった。そこでS.mutansが単独では利用できない可溶性澱粉、あるいは馬鈴薯澱粉を炭水化物源として含む飼料を作成し、そのう蝕発病性と微生物叢を蔗糖配合飼料投与群と比較検討した。ラットは当大学歯学部歯科薬理学教室が1961年来 closed colony として飼育している Wister 系 albino rat を用いた。その結果、う蝕の発病性は馬鈴薯澱粉投与群が最も低く、可溶性澱粉と、蔗糖投与群は同程度であった。また歯垢中の微生物叢は

3群とも S.mutans が過半数を占め、ついでG(-)桿菌が約1/5を占め、S.bovisが1割強を占めた。また体重の増加では、馬鈴薯澱粉投与群は下痢症状を呈したためか平均増加体重が176gと極端に低く、ついで蔗糖投与群の263g、可溶性澱粉投与群の275gの順であった。さらにラットの唾液の amylase 活性は可溶性澱粉を100とする馬鈴薯澱粉に対しては約6割の活性しか示さず、この点も馬鈴薯澱粉による下痢症状や増加体重やう蝕の発病性の低下の原因の一つである可能性が示唆された。以上の結果から Wister 系 albino rat では可溶性澱粉が必ずしも蔗糖よりう蝕誘発能が低くないことが判明した。

2. ヒト混合唾液の糖発酵性：ミュータンスレンサ球菌との関連

脇坂仁美,¹⁾ 上田五男,¹⁾ 磯貝恵美子¹⁾
 三浦宏子,¹⁾ 井藤信義,¹⁾ 斉藤恵美²⁾
 丹羽弥奈,²⁾ 五十嵐清治,²⁾
 (口腔衛生,¹⁾ 小児歯科,²⁾)

目的 マンニトールやソルビトールの発酵性は、ミュータンスレンサ球菌の同定性状の1つである。本研究では、ヒト混合唾液のこれら糖質の発酵性とミュータンスレン

サ球菌との関連について検討した。

方法 混合唾液を96名(年齢3から5歳)の被験者から採取し、その糖発酵性をアピストレップ20システムを

使って、10種の糖質について測定した。また、唾液中のミュータンスレンサ球菌数をミイティス・サリバリウス・バシトラシン (MSB) 培地で算定した。さらに、ミュータンスレンサ球菌の8標準株を使って、その10倍段階希釈菌液の糖発酵性についても同システムで測定した。

結果および考察 混合唾液のマンニトールとソルビトールの発酵陽性率は、唾液中のミュータンスレンサ球菌数の増加に従って有意に高くなっていった (マンニトール、

$X^2=23.2$, $P<0.001$; ソルビトール, $X^2=25.7$, $P<0.001$)。ミュータンスレンサ球菌数 $10^{5.0}$ CFU/ml以上のすべての混合唾液検体 ($n=12$) がマンニトールとソルビトールの発酵陽性を示した。標準株では、菌数 $>10^{5.0}$ から $10^{6.6}$ CFU/mlの菌液がマンニトールの発酵陽性を、さらに、菌数 $>10^{6.0}$ から $>10^{7.6}$ CFU/mlの菌液がソルビトールの発酵陽性を示した。これらの結果から、混合唾液中のマンニトールやソルビトールの発酵性とミュータンスレンサ球菌数の関連が示唆された。

3. 蛍光色素 fura-2による耳下腺細胞内 Ca^{2+} 濃度の測定

谷村明彦, 松井聡子, 東城庸介
松本仁人 (歯科薬理)

カルシウムイオン (Ca^{2+}) は細胞内セカンドメッセンジャーとして様々な細胞機能の調節に関与していることが明らかになってきた。細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の変動を測定することは Ca^{2+} による細胞内情報伝達系のメカニズムを知る上で特に重要である。1985年に R. Y. Tsien らによって Ca^{2+} 感受性蛍光色素 fura-2が開発され、現在、この色素を用いた $[Ca^{2+}]_i$ の測定が広く行われている。我々は、今回、fura-2によるラット耳下腺細胞の $[Ca^{2+}]_i$ の測定を試みたので報告する。耳下腺を細切し、トリプシンとコラゲナーゼの併用処理により遊離耳下腺細胞を調整した。さらに、fura-2/AM を 2μ Mになるように添加し、45-60分間のインキュベーションにより細胞内に fura-2を取り込ませた。こうして調整した細胞 suspension に340nm と380nm の励起光をあて、蛍光強

度の比から $[Ca^{2+}]_i$ を算出した。無刺激時の $[Ca^{2+}]_i$ は約80nMであった。水・イオン分泌を主に促進する 10μ Mカルバコール (ムスカリン受容体刺激薬) を作用させたところ、数秒以内にピーク (約300nM) に達する急速な $[Ca^{2+}]_i$ の上昇がみられた。カルバコール刺激ほど顕著ではないが、フェニレフリン (α -アドレナリン受容体刺激薬) もまた急速な $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を引き起こした。しかし、アミラーゼ分泌を主に促進する 1μ Mのイソプロテレンオール (β -アドレナリン受容体刺激薬) を作用させたところ、 $[Ca^{2+}]_i$ はほとんど変化しなかった。以上の結果は、耳下腺での水・イオン分泌の主要なセカンドメッセンジャーは Ca^{2+} であるが、アミラーゼ分泌の場合は Ca^{2+} よりむしろ cAMP が重要であるという考えを支持する。

4. ヒト唾液ムチン分画中の微量脂肪酸について 第3報：唾液中の脂肪酸結合性タンパク質について

石塚祐司, 市田篤郎
(口腔生化)

前々回、並びに前回の本学会で我々はヒト混合唾液のムチン分画中に脂肪酸が検出されること、及びラットに経静脈的に投与した ^{14}C パルミテートが、ピロカルピン刺激により採取される唾液のタンパク質に結合して出現することを示した。

ラット唾液中に出現する ^{14}C 脂肪酸結合タンパク質は、SDS-PAGE で35K dalton 及び40K dalton と推定され、ラット血清アルブミンの60K dalton とは一致して

いなかった。

また、唾液中にアポEの出現する可能性を想定して、濃縮ヒト唾液について抗ヒトアポA₁, A₂, B, C₂, C₃及びEを用いる免疫泳動を試みたが、ヒト唾液ではこれらのいずれについても沈降線を示す事は出来なかった。

唾液中にみられる脂質結合タンパク質は、現在までの実験では血清由来のものとは異なるものと考えられる。