

北海道医療大学博士論文の内容および審査の結果要旨（平成8年度）

氏名・(本籍)	宮川博史(愛知県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	乙第28号
学位授与の日付	平成9年3月21日
学位授与の要旨	学位規則第5条第2項該当(論文博士)
学位論文題目	ウイスター系とオズボーン系ラットから分離した mutans streptococciの性状とう蝕原性の比較研究
論文審査委員	主査 教授 馬場久衛 副査 教授 松本仁人 副査 教授 上田五男

論文内容の要旨

1. 緒言

ラットはう蝕誘発実験などで最も頻繁に使用されている実験動物である。実験用ラットとしては、いくつかの異なる系統のラットが使用されているが、これまでに異系統のラットにおけるう蝕の発病性を比較した報告は少ない。また、それらの報告ではう蝕の発病に常在細菌叢が関与しているにも関わらず、う蝕原性菌については検討されていない。そこで、ウイスター系とオズボーン系の異なる2系統のラットにおける常在細菌叢について調べたところ、それぞれのラットから形態の異なるmutans streptococci菌株(WS1株とOS1株)が分離された。mutans streptococciは、これまでう蝕原性菌として研究されている共通の性状を示す菌群の総称で、現在では血清学的に8つの血清型に、また、遺伝学的に7つの菌種に分類されている。したがって、今回分離された菌株もそれぞれのラットにおけるう蝕の発病に強く関与していると考えられる。

そこで、まず、分離菌株の生化学的性状と血清型について既知のmutans streptococci標準菌株を用いて比較し、血清型、菌種について検討した。次に、両分離菌株のstreptomycin(以下SM)耐性菌株を獲得して、得られた耐性菌株を2系統のラットそれぞれに対して交叉接種して、う蝕原性の比較実験を行い、分離したmutans streptococci菌株と2系統のラットにおけるう蝕の発病性との関連性について検討した。

2. 材料及び方法

使用した菌株はウイスター系とオズボーン系ラットから分離されたWS1株とOS1株の2株とmutans streptococciの標準菌株として8血清型、6菌種を含む16株を実験に供した。分離菌株のSM耐性菌株(以下WS1R株とOS1R株)は1000 μ g/mlのSMを含んだ培地で培養して獲得した。

分離菌株、SM耐性菌株、標準菌株の生化学的性状はApi 20 strep systemを用いて調べ、その他、bacitracin耐性についても検討した。また、glucoseを1%含んだ培地で培養した後に測定したpH値をfinal pHとし、酸産生能についても比較検討した。

分離菌株や標準菌株の抗血清は、増田の方法にしたがって調製し、血清型はOuchterlonyによって考案されたゲル内沈降反応による沈降線の出現の有無により判定した。

SM耐性菌株を用いたう蝕原性の比較実験は2系統のラットをそれぞれ対照群、WS1R株接種群、OS1R株接種群の3群に分け、各耐性菌株を実験群に継続的に経口投与し、実験開始から12週間シュクロースを69%含んだ粉末飼料で飼育した。実験終了後、歯牙より歯垢を採取して歯垢中の細菌を分離培養し、接種菌株の定着性を調べ、その他に分離された菌株については生化学的性状を調べて同定した。これら同定された菌株はfinal pHを測定し、酸産生能についても検討した。また、対照群および

実験群の臼歯部におけるう蝕の罹患状況について調べて比較検討し、接種菌株とラットに関連性があるか検討した。

3. 結果及び考察

分離されたmutans streptococciに対して生化学的性状を検討した結果、分離菌株はそれぞれ異なる性状を示した。標準菌株と対比してみると、WS1株は*S. rattus*菌株と、OS1株は*S. ferus*菌株と同様の性状を示した。また、SM耐性菌株は親株と同一の性状を示すことを確認した。これらラット由来の分離菌株や同様の性状を示した標準菌株のfinal pHは4.22~4.44でそれら以外の標準菌株のfinal pH3.92~4.13よりもやや高いpH値を示し、比較的酸産性能が弱い傾向を示した。

分離菌株の血清型を調べた結果、WS1株は血清型bの*S. rattus*菌株と交差反応し、生化学的性状を併せると血清型bの*S. rattus*と考えられた。一方、OS1株は*S. ferus*菌株と交差反応したので、性状と併せると*S. ferus*と思われた。しかし、*S. ferus*標準菌株は血清型cとされているにも関わらず、OS1株と*S. ferus*ともに血清型cの*S. mutans*標準菌株から調製した抗原や抗血清とは全く反応性を示さず、両者の抗原性が異なることが示唆された。

う蝕原性の比較実験終了後、まず、口腔細菌叢について調べた結果、各実験群に接種したSM耐性菌株は92.0~97.2%と高率に定着していた。また、2系統のラッ

トそれぞれの対照群では分離菌株より酸産性能の強いグラム陽性桿菌が69.7~75.4%と比較的高率に分離された。次に、う蝕の罹患状況を調べた結果、分離菌株がそれぞれ分離されたラットにおいて、対照群に対して統計的に有意に高いう蝕の発病性が見られたが、菌株を交叉接種した場合には、う蝕の発病性に有意な差は見られなかった。これらの結果から、ラット分離菌株はともに分離された系統のラットに対してはう蝕誘発能が高いが、異系統のラットにはう蝕誘発能が弱いと考えられ、分離菌株と分離されたラットとの間に関連性のあることが示唆された。今後、ラットにおけるう蝕の発病性を調べる上で、常在菌叢との関連性についても考慮することが必要であると考えられる。

4. 結 論

ウィスター系とオズホーン系ラットそれぞれから分離されたmutans streptococci菌株は生化学的性状、血清型を調べた結果からWS1株は血清型bの*S. rattus*と、OS1株は*S. ferus*と考えられた。しかし、OS1株や*S. ferus*標準菌株の血清型については血清型cとは異なる血清型であることが示唆された。

また、う蝕原性の比較実験から、分離菌株はそれぞれが分離された系統のラットに対してう蝕誘発能が高く、異なる系統のラットにはう蝕誘発能が低いことが示され、常在細菌叢とラットの系統との間に関連性のあることが示唆された。

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

系統の異なるラットにおけるう蝕の発病と微生物との関連性について検討するために、ウィスター系とオズホーン系の2系統のラットの常在菌叢について調べたところ、それぞれから形態の異なるmutans streptococciが分離された。これらの菌種、血清型について検討するために、まず、それぞれの生化学的性状を比較した結果、ウィスター系ラットから分離された菌株(WS1株)は、arginineを加水分解し、bacitracinに耐性で、starchとglycogenは非分解性を示したのに対し、オズホーン系ラットから分離された菌株(OS1株)は、arginineを非分解性、bacitracinに感受性で、starchとglycogenを分解し、両者の性状には違いが見られた。既知のmutans streptococci標準菌株と比較すると、WS1株は*S. rattus*とOS1株は*S. ferus*と同様の生化学的性状を示した。また、グルコースを1%加えた培地で培養した時のfinal pHは、WS1株で4.44、OS1株で4.28であり、同様の性状を示した*S. rattus*、*S. ferus*標準菌株とほぼ同じpH値

を示した。しかし、その他の標準菌株は3.92~4.13と低いpH値を示し、これらのラット由来の分離菌株の酸産性能は比較的弱い傾向を示した。次いで、分離菌株の血清型について調べたところ、WS1株は血清型bの*S. rattus*と交差反応し、この菌株は生化学的性状と併せると血清型bの*S. rattus*と考えられた。一方、OS1株は血清型a~hの菌株に対する抗血清とは全く反応しないが、*S. ferus*とは交差反応を示し、生化学的性状と併せて*S. ferus*と考えられた。しかし、OS1株や*S. ferus*の血清型については、a~hのどれとも異なることが示唆された。

ついで、両分離菌株よりstreptomycin耐性菌株を分離して、それぞれのラットに交叉接種してう蝕原性の比較実験を行った。その結果、両分離菌株ともに対照群と比較して自らが分離されたラットでは統計的に有意に高いう蝕の発病性を示したが、由来の異なるラットではう蝕の発病性に差は見られなかった。これらのことから、2系統で分離された菌株と宿主であるラットとの間で深い

関連性があることが示唆された。

以上の結果から、本論文は歯科医学の進歩発展に寄与

するところが大きく、審査の結果、学位授与に値すると判定した。

氏名・(本籍)	青木 聡 (東京都)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	甲 第42号
学位授与の日付	平成9年3月21日
学位授与の要旨	学位規則第5条1項該当 (課程博士)
学位論文題目	高週齢ラットにおける咬合支持と栄養が下顎骨と大腿骨の粗鬆化に及ぼす影響
論文審査委員	主査 教授 平井 敏 博 副査 教授 金 沢 正 昭 副査 教授 矢 嶋 俊 彦

論文内容の要旨

I. 目的

高齢者のQOLには、先ず、身体的健康の確保が必要である。このためには、バランスの取れた栄養を有する食物を、十分な咀嚼のもとに摂取することが不可欠であり、健全な顎口腔系器官・組織の維持とその管理が重要となる。しかし、高齢者の咀嚼機能は、顎口腔系の生理的老化に加えて全身疾患や歯の喪失など種々のストレスが原因となる。いわゆる病的老化によりその低下が促進されると考えられる。また、歯の喪失による咬合支持の欠如は、栄養摂取状態や活動エネルギー摂取状態の低下につながり、日常生活活動状態を悪化させ、全身運動機能の低下につながることが考えられる。

本研究では、高週齢ラットを用い、咬合支持と栄養が下顎骨および大腿骨の粗鬆化、さらに、全身持久性の低下に及ぼす影響を明らかにすることを目的として検討を行った。

II. 実験材料および方法

30週齢のWistar系雄性ラット99匹を9匹ずつの11群に分けた。すなわち、予備飼育群として固型飼料飼育による実験開始前の35週齢群、対照群として、全実験期間を固型飼料で飼育した50週齢と75週齢の2群、粉末飼料群として、生後45週齢になった時点で固型飼料を同一成

分の粉末飼料に代えて飼育した同2群、臼歯切除群として、生後45週齢になった時点で臼歯部歯冠部を切除し、その後は固型飼料を粉末飼料に代えて飼育した同2群、低Ca・VD欠固型群として、生後45週齢になった時点で通常の固型飼料を低カルシウム (低Ca) ・ビタミンD欠乏 (VD欠) の固型飼料に代えて飼育した同2群、低Ca・VD欠臼歯切除群として、生後45週齢になった時点で臼歯部歯冠部を切除し、固型飼料を低Ca・VD欠の粉末飼料に代えて飼育した同2群の11群である。なお、水および飼料は自由摂取とした。

各群の7匹については、全身持久性の指標として体力限界に至るまでの遊泳運動時間を測定後、麻酔下にて直ちに断頭し採血を行い各種の分析に供した。なお、運動強度や運動時間の指標としてクレアチンキナーゼ (CK) 値と遊離脂肪酸 (FFA) 値を測定した。さらに、骨の粗鬆化の指標として血清カルシウム (Ca) 値と血清III型アルカリフォスファターゼ (III型ALP比) 比を測定した。その後、下顎骨と大腿骨を取り出し、4%パパイン水溶液に60°Cで24時間浸漬した後、水洗・乾燥を行い骨標本を作成した。得られた骨標本の軟X線写真撮影を行い、画像解析システムを用いて、下顎頭部と大腿骨中央部の相対的平均骨塩量指数 (BMD) を測定した。

各群、残りの2匹については、下顎頭部と大腿骨中央部の組織学的観察を行うために、各実験週齢に達した時