

口腔内常在菌のグルカン産生能 — 界面活性剤との関連性 —

(分担研究：川崎病のサーベイランスに関する研究)

古庄巻史

要約：口腔内常在菌であるビリダンス群連鎖球菌である *Str. sanguis* SSH-83株, *Str. sanguis* KIH-T株, *Str. mutans* および *Str. sobrinus* の4菌種について, その培養系に蔗糖および3種の界面活性剤 (LAS, AOS, AS) を別々に添加し, 各菌の産生する不溶性グルカン (ISG) を測定した。その結果, いずれの菌もISGを産生したが, 特に *Str. sanguis* KIH-T株ではAOSおよびASの, *Str. mutans* ではLAS, AOS, ASの影響をうけてISGを多量に産生することが判明した。 *Str. sanguis* SSH-83株, *Str. sobrinus* は界面活性剤の影響はうけなかった。

見出し語：川崎病, ビリダンス群連鎖球菌, 不溶性グルカン, 界面活性剤

研究目的

我々は口腔内常在菌であるビリダンス群連鎖球菌の中で川崎病患児の咽頭より高率に検出される *streptococcus sanguis* KIH-T株について, 培養系に蔗糖および界面活性剤 α -olephine sulfonic acid Na : AOSと略) を添加すると不溶性グルカン (ISGと略) が培養液中に多量に産生されることを見出した^{1)~3)} このISGを分離精製し, ヒト単核球よりのIL-1, TNF, IL-6などのサイトカインの産生を示標にISGの免疫学的活性を測定すると大腸菌 Lipo-poly-saccharide (LPS) と同等またはそれ以上の活性がえられた^{1)~3)} さらに川崎病患児血清について抗グルカン IgG抗体を測定した

ところ, 89%の症例で正常範囲より著しく高値を示した³⁾ このことから, *Str. sanguis* は少量の砂糖をoriginに, 我々が日常使用している微量の界面活性剤AOSの存在下で免疫活性物質のグルカンを大量に口腔内に産生し, これが川崎病の病因として作用しているのではないかと考えた³⁾。

しかし口腔内常在菌では *Str. sanguis* 以外にもグルカンを産生する菌が多数あり⁴⁾ これらの菌も同様に病因として作用している可能性があると考えられる。そこでグルカン産生におよぼす界面活性剤の影響を, 数種の口腔内常在菌について検討した。

NTT九州病院：NTT Kyushu Hospital

方 法

国立予防衛生研究所より分与された *Str. sanguis* SSH-83株 (MCLS-1株), *Str. sanguis* KIH-T株 (MCLS-2株), *Str. mutans* および *Str. sobrinus* をおのおの GAM 半流動高層培地に継代培養した。その一部を BHI 培地 5 ml に 37°C, 一晚培養した。BHI 培地 5 ml をおのおの菌について 5 本用意し, 1 本は培地のみ, 1 本は培地 + 5% 蔗糖, 1 本は培地 + 5% 蔗糖 + AOS (1mg/dl), 1 本は培地 + 5% 糖 + 界面活性剤 Liner-type alkyl-beuzene sulfonic acid Na (LAS と略) (1mg/dl), 1 本は培地 + 5% 蔗糖 + 界面活性剤 alkyl-sulphate (AS と略) (1mg/dl) とし, 先に培養した 4 種の菌の培養液 0.1 ml を各 5 本に混合し, 37°C 5 日間培養を行った。また各菌の培養は 1 つの菌につき Duplicate または TriPLICATE の操作を行った。

以上により培養した培養液から Willcox の方法⁴⁾により可溶性グルカンと不溶性グルカン (ISG) を分離, 定量した。

結 果

1) *Str. sanguis* SSH-83 (MCLS-1株) による ISG 産生

Str. sanguis SSH-83 による ISG 産生を図 1 に示した。培養系に蔗糖を加えるとわずかの ISG が産生したが培養系に蔗糖および LAS, AOS または AS を加えても ISG の産生にさほど影響はみられなかった。

2) *Str. sanguis* KIH-T (MCLS-2株) による ISG 産生

Str. sanguis KIH-T による ISG 産生量を図 2 に示した。培養系に蔗糖を加えると平均 180 mg/

dl の ISG が産生されたが, 培養系に蔗糖および LAS を加えると ISG の産生はみられなかった。しかし蔗糖および AOS を添加すると平均 985 mg/dl, AS を加えると平均 510 mg/dl の ISG が産生された。

3) *Str. mutans* による ISG 産生

Str. mutans による ISG 産生量を図 3 に示した。培養系に蔗糖を加えると平均 190 mg/dl の ISG が産生された。培養系に蔗糖および LAS, AOS または AS を加えると, それぞれ平均 500 mg/dl, 400 mg/dl, および 270 mg/dl の ISG が産生された。

4) *Str. sobrinus* による ISG 産生

Str. sobrinus による ISG 産生量を図 4 に示した。培養系に蔗糖を加えると平均 610 mg/dl の ISG が産生された。培養系に蔗糖および LAS, AOS または AS を加えると, それぞれ平均 640 mg/dl, 520 mg/dl, および 630 mg/dl の ISG が産生された。

考 按

口腔内に常在するピリダナス群連鎖球菌の数は培養系に蔗糖を加えると, その菌が培地内に産生した Glucosyltransferase の作用によって蔗糖を origin として多糖体であるグルカンを産生する。グルカンは可溶性グルカンと不溶性グルカン (ISG) に分けられるが, ISG が強い免疫活性物質であることは先に報告した^{1)~3)}。さらにこの ISG の産生に際して, 培養系に微量の界面活性剤 AOS が存在すると *Str. sanguis* KIH-T 株では蔗糖のみ添加した場合に比べて約 8 倍もの大量のグルカンが産生することが判明した^{1)~3)}。しかし

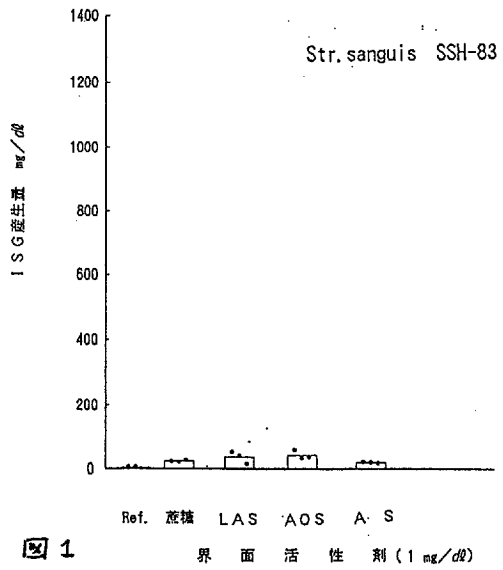


图 1

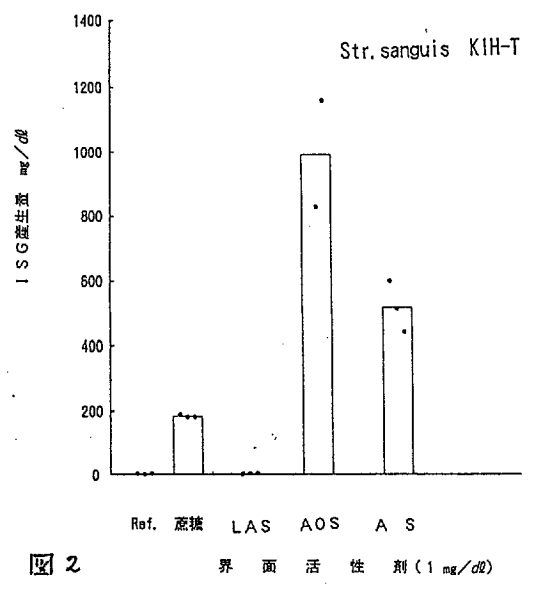


图 2

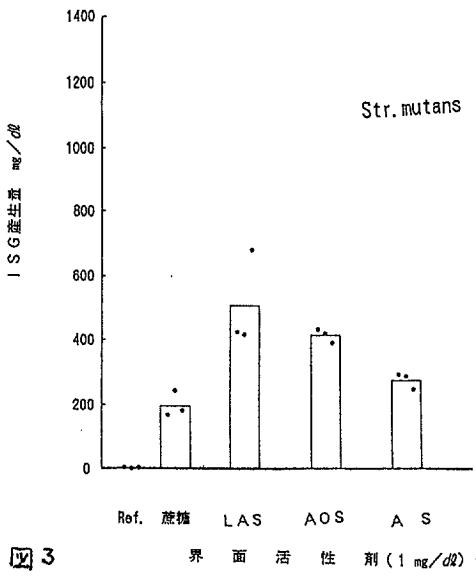


图 3

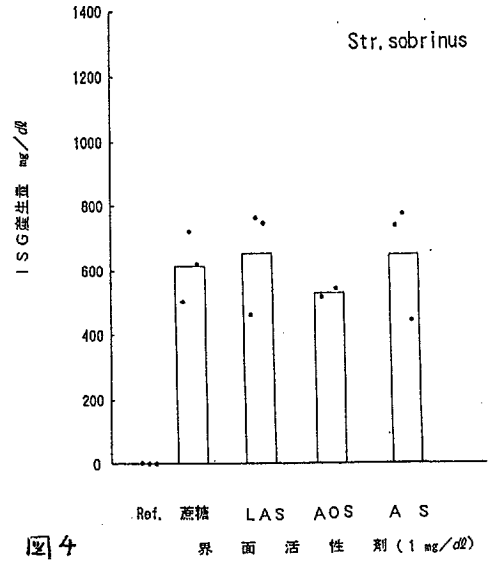


图 4

グルカン産生株は他にも存在するので、すでにグルカン産生株として知られる口腔内常在菌の数種について、本邦で合成洗剤として使用されている3種の界面活性剤(AOS, LAS, AS)とグルカン産生との関連性を考察した。

Str. sanguis SSH-83株, Str. sanguis KIH-T株, Str. mutansおよびStr. sobrinusの4種は、いずれもその培養系に蔗糖を加えることにより、多かれ少なかれ、ISGを産生した。その産生量はStr. sobrinus, Str. mutans, Str. sanguis KIH-T株, Str. sanguis SSH-83株の順となった。蔗糖に3種の界面活性剤を添加するとStr. sobrinusおよびStr. sanguis SSH-83株ではISG産生量に余り変化はみられなかった。しかしStr. sanguis KIH-T株ではLASを加えることでISG産生がみられなくなったがASを加えると蔗糖のみの添加と比較して約2.5倍、AOSを加えると約5倍にまでISG産生量が増加した。Str. mutansでも界面活性剤の添加でISG産生が増加したが、その程度はLAS, AOS, ASの順となった。

各種のグルカン産生菌が産生するISGが分子生物学的に、免疫学的に同一性状を有するとは考え難いが、いずれにせよヒトの口腔内では多くの常在菌が蔗糖の存在下でISGを産生し、またその場に微量の界面活性剤が存在すれば上記2種の菌では更に大量のISGを産生することが判明した。

ISGは強い免疫活性物質であるが、これら異った菌により産生されるISGがいずれも同様の活性を有すかどうかは未検討のために不明である。しかし数種の菌がStr. sanguis KIH-T株と同様に多量のISGを産生するとすれば、川崎病の病因として

これらISG産生菌も、その候補者として考慮に入れなければならないだろう。また界面活性剤も以前の報告ではAOSのみにISG産生増強作用があると述べたが^{1)~3)}、菌の種類によっては、また添加する界面活性剤の濃度によっては(未発表)、AOS, LAS, ASいずれにもISG産生増強作用があると考えらるべきであろう。

文 献

- 1) 古庄巻史ほか：川崎病原因究明への提言—サンギス菌産生グルカンの意義—, Prog in Med., 11:75-78, 1991
- 2) 古庄巻史：川崎病病因に関する一考察, Prog in Med., 11:1795-1800, 1991
- 3) 古庄巻史：川崎病—その病因に関する一考察, 通信医学, 49:459-465, 1992
- 4) Willcox, MDP., et al.: A simple method for determining extracellular polysaccharide-producing ability of streptococci. Microbios, 51:175-181, 1987



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約：口腔内常在菌であるビリダンス群連鎖球菌である *Str.sanguis* SSH-83 株,*Str.sanguis* KIH-T 株,*Str.mutans* および *Str.sobrinus* の 4 菌種について,その培養系に蔗糖および 3 種の界面活性剤(LAS,AOS,AS)を別々に添加し,各菌の産生する不溶性グルカン(ISG)を測定した。その結果,いずれの菌も ISG を産生したが,特に *Str.sanguis* KIH-T 株では AOS および AS の,*Str.mutans* では LAS,AOS,AS の影響をうけて ISG を多量に産生することが判明した。*Str.sanguis* SSH-83 株,*Str.sobrinus* は界面活性剤の影響はうけなかった。