

一般演題

演題1. *Streptococcus anginosus* の酸性環境適応性

○佐々木 実, 田近志保子, 下山 佑,
木村 重信

岩手医科大学歯学部口腔微生物学講座

目的: *Streptococcus anginosus* は口腔常在菌であるが, 胃癌, 食道癌および口腔癌との関連性も示唆されている。それら上部消化器が酸性環境にあることから, 本研究では, *S. anginosus* の耐酸性およびその機構について, *S. anginosus* の実験室株, 臨床分離株ならびに他の口腔レンサ球菌実験室株を用いて比較検討した。

材料と方法: *S. anginosus* NCTC 10713 株および臨床分離株, *S. mutans* ATCC 25175 株, *S. sanguinis* ATCC 10556 株, *S. gordonii* ATCC 10558 株, *S. mitis* ATCC 9811 株, *S. oralis* ATCC 10557 株, *S. salivarius* ATCC 7073 株を用いた。耐酸性は, 酸性環境 (pH 4.0) で1.5時間暴露した菌の生存率から求めた。酸性環境での生育は, 酸性培地での増殖曲線から検討した。耐酸性機構については ATPase 活性および Arginine deiminase 活性から検討した。

結果・考察: 実験室株および臨床分離株のいずれについても *S. anginosus* は pH 4.0 の環境下に暴露しても高い生存率を示し, 被験7口腔レンサ球菌種のうち, *S. mutans* について強い耐酸性を有することが明らかとなった。さらに, *S. anginosus* は, pH 5.0 の酸性環境においても中性環境 (pH 7.4) と同様の増殖を示すことが明らかとなった。また, *S. anginosus* は, ATPase 活性, Arginine deiminase 活性のいずれも高い値を示し, それら活性が *S. anginosus* の酸性環境への適応性に関与していることが強く示唆された。

演題2. *Streptococcus downei* の自己分解酵素 Atlh の溶菌活性の解析

○田村 晴希, 山田ありさ, 吉田 康夫,
加藤 裕久

岩手医科大学歯学部歯科薬理学講座

目的: *Streptococcus mutans* の自己分解酵素 AtIA はペプチドグリカン分解酵素の一つである。我々は以前の研究から *S. downei* の AtIA ホモログ (Atlh) 遺伝子を同定していた。本研究では Atlh の溶菌活性を明らかにし, AtIA と機能的に異なるか否かについて検討した。

材料・方法: *S. downei* MFe28 株を用いて, Atlh 欠失株を構築した。組換えタンパク質 Atlh, Atlh 変異体, AtIA を大腸菌で発現させ, 粗精製した。マウス抗 Atlh 抗体を作製し, Atlh を検出できることを確認した。菌体を4% SDS で懸濁し, タンパク質を抽出した。また菌体を共焦点レーザー顕微鏡の微分干渉モードで観察した。バイオフィーム形成能の評価は, バイオフィームをクリスタルバイオレット染色後, 可溶化して 595 nm の吸光度を測定した。溶菌活性の評価はフッ化水素酸処理した *S. downei* 菌体を基質として 37°C でザイモグラフィを行った。

結果: 顕微鏡像では Atlh 欠失株はフィラメント状の形態を示した。*S. downei* 菌体を SDS 抽出すると, 66 kDa のタンパク質が溶菌活性を示すことがわかった。このタンパク質は Atlh 欠失株では認められなかった。Atlh の D771A 変異体は溶菌活性が消失した。また, 細胞壁結合ドメインが短い変異体では溶菌活性は消失しなかった。バイオフィーム形成能は親株に比べて Atlh 欠失株は低下した。Atlh の溶菌活性は AtIA よりも低く, 双方の酵素ドメインを交換しても AtIA より低い活性であった。

考察: Atlh の溶菌活性は酵素ドメインが重要であり, Atlh は AtIA と溶菌活性の程度は異なるものの, 菌体の分離とバイオフィーム形成に関与することが示唆された。

結論: Atlh は溶菌活性を示し, AtIA と機能的に類似していることが示唆された。