

〔原著〕 松本歯学 1:11~21, 1975

混合感染能を有する口腔内嫌気性菌の酸性ムコ  
多糖体と脂質分解酵素に関する研究

中村 武, 杉中芳幸, 小幡直樹, 青木宣夫

松本歯科大学 口腔細菌学教室 (主任 中村 武 教授)

Study on the Enzymes of Acid-mucopolysaccharides and  
Lecithin Degradation of Oral Anaerobic Microorganisms  
Produced Experimental Mixed Infection

TAKESHI NAKAMURA, YOSHIYUKI SUGINAKA

NAOKI OBATA and NORIO AOKI

Department of Oral Microbiology, Matsumoto Dental College  
(Chief: Prof. T. Nakamura)

Summary

It was found by Takazoe and Nakamura that transmissible experimental mixed infection was produced by oral anaerobic three species. Various acid-mucopolysaccharides degradating activities of heparinase-producing *Bacteroides*, *Bacteroides melaninogenicus* and *Propionibacterium acnes* respectively, and the lecithin degradating factor of the latter microorganism were studied. Results obtained are as follows.

1. Heparinase-producing *Bacteroides* was found to degrade heparin, chondroitin sulfate and hyaluronic acid in the substrate added Trypticase broth, respectively. *Propionibacterium acnes* degraded the latter two substrates except for heparin in this broth, but *Bacteroides melaninogenicus* did not affect any acid-mucopolysaccharides.
2. As for degradation activity of crude enzyme extracted from two microorganisms having degradating ability, heparin and chondroitin sulfate degradation activities of heparinase-producing *Bacteroides* appeared only by both substrates added to preculture broth, but hyaluronic acid degradation was not affected with substrate added. The enzyme of *Propionibacterium acnes* was producible.
3. Egg yolk reaction factor of *Propionibacterium acnes* was found to degrade lecithin by plate method, paper-chromatography and increase of titration value with N/100 NaOH solution of reaction mixture. The factor was released into the medium and was precipitated by ammonium sulfate. The lecithin hydrolytic activity of this fraction was not

---

本論文要旨は昭和49年9月25日, 第16回歯科基礎医学総会(於, 仙台市), 昭和50年4月2日, 第48回日本細菌学会総会(於, 金沢市)において発表した。また一部は昭和48年度文部省科学研究費によって成ったことを銘記する。

dializable and inactive at 65°C. The evidence from serial experiments indicated that this factor was an enzyme, lecithinase, possessing characters as optimal reaction at pH 6.5~7.0 and 37°C.

4. Possible role of three anaerobes producing mixed infection in the etiology of Periodontal disease was discussed based upon degradating enzymes of extensive substrates of those species including collagen-splitter, *Bacteroides melaninogenicus*.

## 結 言

内因感染である歯周疾患の病因に口腔常在菌叢中潜在的病原性を有する菌種が重要である。複雑な口腔細菌叢のこれら病原性を検索する手段として歯垢ないし歯齦嚢材料接種による実験混合感染症が使用される<sup>12) 13) 25)</sup>。Takazoe and Nakamura<sup>24)</sup>は歯垢細菌の病原性を系統的に検討することを企図し、本感染症病巣局所の菌種推移から、heparinase 産生性 *Bacteroides*,<sup>15)</sup> *Propionibacterium acnes* および *Bacteroides melaninogenicus* の3菌種が病巣局所で優勢となり、本症継代によっても、3菌種の消失はおろか、さらに本傾向が顕著となり、また、常に継代が維持される現象を見出した。この感染事実に基づいて、さらにこれら3菌種純培養菌組合せで検討を重ね、3菌種組合せのみが歯垢接種同様、種々の動物に感染能を有することを明らかにした<sup>24)</sup>。従って、この実験モデルによって導き出された歯垢細菌中の3菌種の組合せこそ潜在的病原性を有するものと言えよう。事実、これら3菌種は歯槽膿漏症病巣局所でも増量<sup>7) 16)</sup>しており、本症病因に重要な役割を有するものと考えられる。

歯槽膿漏症の病因論を解析すべき3菌種の病原的屬性は各菌種について検討されている<sup>5) 6) 11) 17)</sup>。これまで、特に歯周組織崩壊機構に関与すると考えられる蛋白溶解を対称とした *Bacteroides melaninogenicus* の collagenase,<sup>3) 28)</sup> 結合組織など構成する酸性ムコ多糖体としての heparinase 産生性 *Bacteroides* の heparin 分解能<sup>15)</sup>、および *Propionibacterium acnes* の硬蛋白分解能<sup>20)</sup> および chondroitin sulfate に対する作用<sup>18)</sup> が明らかとなっている。本論文は感染能を有する3菌種の分解基質の広域性をさらに追究するため、種々の酸性ムコ多糖体分解能、および *Propionibacterium acnes* の脂質分解因子について検討した。

## 実 験 方 法

供試菌は、heparinase 産生性 *Bacteroides* No. 26 株、*Propionibacterium acnes* EXC-1 の2株、および *Bacteroides melaninogenicus* は歯垢接種による感染症局所膿汁より分離した10株を供試した。

各菌株のムコ多糖体分解能は、sodium heparin (1mg/ml), chondroitin sulfate (1mg/ml) および hyaluronic acid (2mg/ml) 加 Trypticase broth に接種し、嫌気培養後、経日的に培地中の基質定量によって検索した。なお定量法は、これまでと同様 0.02% toluidine blue 溶液の titration method<sup>15)</sup> によって行った。

### ムコ多糖体分解粗酵素の抽出

heparinase の抽出は Table 1 に示す如く、0.1% heparin 加 Trypticase broth (4 l) の5日嫌気培養菌体を集菌し、洗浄菌体を ultra-sonic wave で30分間処理し、この遠沈上清に30%飽和に硫酸アンモニウムを添加し、30%分画を除去した上清にさらに70%飽和に硫酸アンモニウムを添加、遠沈によって70%分画を得た。これを veronal buffer (pH 7.4) に溶解して、同 buffer で2日間透析後、内液の最終量を50ml に調製した。*Propionibacterium acnes* の chondroitin sulfate の抽出は、0.2% Yeast Extract 加 BHI broth の5日培養上清に70%飽和に硫酸アンモニウムを添加して、heparinase に準じて粗酵素標品を得た。

各抽出粗酵素のムコ多糖体分解能の検索は Smith ら<sup>23)</sup>の方法を改良し、基質(0.5mg~1.0mg/ml)加 veronal buffer に1% bovine albumin, 寒天を添加し、本平板に hole を作製し、この hole 中に粗酵素の0.2ml を添加、37°C, 24時間 incubate した後 2N acetic acid を添加して試料添加 hole 周辺の lytic zone によって基質分解性を検討し

Table 1. Extracting procedure of heparinase

Washed cell (veronal buffer pH 7.4, 3 times) 17g (w. w.)
Suspend (veronal buffer pH 7.4, 50ml)
Ultra-sonic wave treatment (30 min.)
Centrifugation (4°C, 12,000 rpm, 20min.)
twice
Supernatant
Total 100 ml (with veronal buffer pH 7.4)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (added to 30% saturate)
Centrifugation (4°C, 12,000 rpm, 20 min.)
Supernatant
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (added to 70% saturate)
Centrifugation (4°C, 12,000 rpm, 20 min.)
Precipitate
Resuspend (veronal buffer pH 7.4, 50 ml)
Dialysis (against veronal buffer pH 7.4, 48 hours)
<u>Crude enzyme (50 ml original)</u>

た。

*Propionibacterium acnes* の脂質, 特に lecithin 分解性を, 培養菌については卵黄平板 (卵黄15ml を生理食塩液15ml に溶解し, これを 0.2% Yeast Extract 加 BHI 寒天に 10% に添加) および 0.5% lecithin 加寒天平板を用いて乳光反応によると共に培養菌体および培養上清からの抽出試料についても検討した。分解因子の抽出は 0.2% Yeast Extract 加 BHI broth の 5 日嫌気培養菌体, および上清から行った。菌体は洗浄菌体を ultra-sonic wave で 30 分処理し, 本遠沈上清の 60% 硫酸飽和分画を得て透析, 内液の最終量を 50ml に調製した。また培養上清は遠沈上清に 60% 飽和に硫酸アンモニウムを添加して, 菌体に準じて得た。

抽出試料の lecithin 分解性は Matsumoto の方法<sup>14)</sup> に準じ N/100 methanolic NaOH 液の titration method および上述の酸性ムコ多糖体分解能の検索に準じて基質添加平板に hole を作製し, この hole に抽出試料を 0.2ml 添加し, 24 時間 incubate 後の乳光反応によって検索した。また, 抽出

試料と lecithin を 4 時間 incubate をした後の反応混液を遠沈して上清試料の paper-chromatography を行った。すなわち, 試料をスポットした後, 80% phenol で 48 時間展開し, Hanes 試薬<sup>4)</sup> で分解物質を検出した。なお, 対照として *Clostridium perfringens* より同様に得た抽出試料を使用した。

### 研究成績

培養下における heparinase 産生性 *Bacteroides* の 3 種ムコ多糖体分解能は Fig. 1 に示す如く, chondroitin sulfate および heparin を培養 2 日で殆んど分解し, 3 日ですべてを分解した。これに対し hyaluronic acid は経日的に緩慢な分解であるが 4 日培養ですべて分解した。

*Propionibacterium acnes* は heparin には作用しないが, hyaluronic acid および chondroitin sulfate の 2 種を分解し, 特に本菌は hyaluronic acid を培養 2 日で, 100% の分解を示した (Fig. 2)。一方, *Bacteroides melaninogenicus* の供試 10 株は, いずれの酸性ムコ多糖体をも分解しなかった。

#### 抽出粗酵素の酸性ムコ多糖体分解能

培養下では heparinase 産生性 *Bacteroides* は供試 3 種の酸性ムコ多糖体, *Propionibacterium acnes* は heparin 分解能が認められなかったが, その他の酸性ムコ多糖体を分解することが判ったので分解粗酵素の作用基質域を追究するために, これら粗酵素による各基質分解を検討した。

heparinase 産生性 *Bacteroides* から heparinase を対称として抽出した粗酵素の供試ムコ多糖体の分解能は, heparin および hyaluronic acid の両者を顕著に分解するが, 先の培養下では本菌が chondroitin sulfate をも分解したのに対し, 本抽出粗酵素は chondroitin sulfate には, 殆んど作用しなかった (Table 2)。しかし本菌前培養に chondroitin sulfate (1mg/ml) を添加した培養菌体からの抽出粗酵素では明らかに添加基質を分解した (Table 3)。なお本菌の heparin 分解活性は基質誘導性であり, 従って, この抽出粗酵素は heparin 分解能力が欠除していた。一方, 本菌の hyaluronic acid 分解活性は前培養の基質添加に関係なく顕著な活性が認められた (Table 2, Table 3)。この成績から本菌の chondroitin sulf-

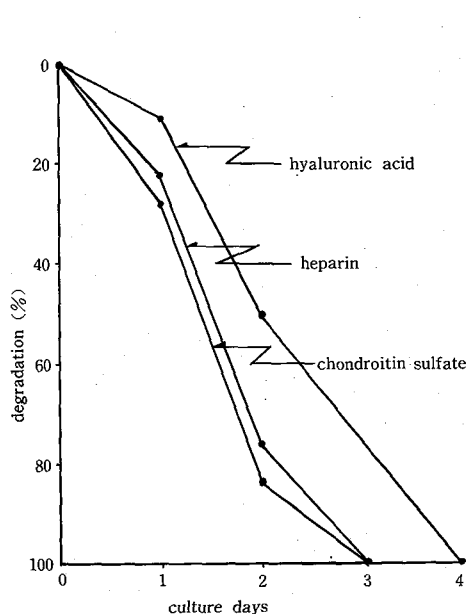


Fig. 1. Acid-mucopolysaccharides degradation by heparinase-producing *Bacteroides*

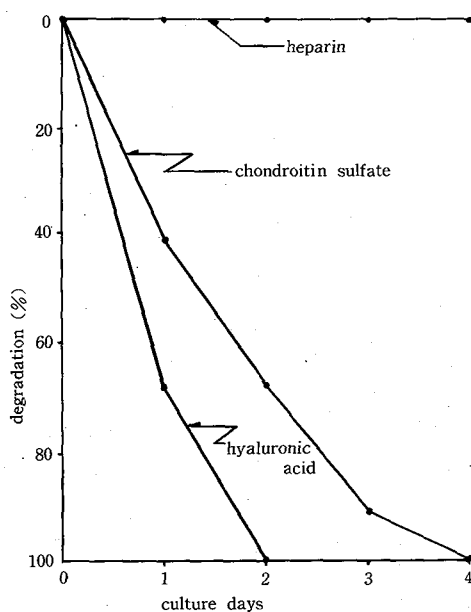


Fig. 2. Acid-mucopolysaccharides degradation by *Propionibacterium acnes*

Table 2. Acid-mucopolysaccharides degrading activity of extracted crude enzyme from heparinase-producing *Bacteroides*

acid-mucopoly,	heparin*	chondroitin sulfate*	hyaluronic acid**
incubation	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)
0 min.	11.0 (0%)	16.8 (0%)	5.0 (0%)
30 min.	3.4 (78.1%)	15.2 (0.1%)	2.8 (44.0%)
60 min.	0 (100%)	15.2 (0.1%)	0 (100%)

\* final concentration 1mg/ml

\*\*final concentration 2mg/ml

ate 分解活性も基質誘導性である事が判った。

そこで前培養に heparin および chondroitin sulfate を同時に添加した培養菌体と同様検討した。その成績は Table 4に示す如く、本抽出粗酵素は供試3種の酸性ムコ多糖体を顕著に分解した (Fig. 3)。

以上の成績から、heparinase 産生性 *Bacteroides* は、酸性ムコ多糖体を幅広く分解すること、この分解因子は hyaluronic acid 分解活性を除いて誘導性であり、本菌はこれら基質に対する誘導・適応性が広い菌種と考えられた。

*Propionibacterium acnes* の粗酵素の活性は上

Table 3. Effects of acid-mucopolysaccharides degradating ability\* of heparinase-producing *Bacteroides* by chondroitin sulfate added preculture

acid-mucopoly. incubation	heparin**	chondroitin sulfate**	hyaluronic acid***
	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)
0 min.	11.4 (0%)	16.8 (0%)	5.4 (0%)
30 min.	10.1 (6.4%)	7.2 (56.0%)	2.3 (57.4%)
60 min.	9.3 (18.7%)	0 100%	0.2 (96.2%)

\*crude enzyme

\*\*final concentration = 1mg/ml

\*\*\*final concentration = 2mg/ml

Table 4. Effects of acid-mucopolysaccharides degradating ability\* of heparinase-producing *Bacteroides* by heparin and chondroitin sulfate added preculture

acid-mucopoly. incubation	heparin**	chondroitin sulfate**	hyaluronic acid***
	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)
0 min.	9.5 (0%)	10.5 (0%)	5.5 (0%)
30 min.	4.7 (50.5%)	0.8 (92.3%)	1.0 (81.8%)
60 min.	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)

\*crude enzyme

\*\*final concentration = 1mg/ml

\*\*\*final concentration = 2mg/ml

述の培養における分解能と同様, chondroitin sulfate および hyaluronic acid の両者を明らかに分解した。しかし, 本菌は heparin には全く作用しなかった (Table 5, Fig. 4)。この成績から *Propionibacterium acnes* は heparinase 産生性 *Bacteroides* 程 saccharolytic な菌種ではないが, 2種のムコ多糖体分解能を有し, この因子は基質非誘導性で菌体外に産生されることがわかった。以上3種組合せで感染能を有する3菌種の酸性ムコ

多糖体分解能について検討した結果, heparinase 産生性 *Bacteroides* は供試3種の多糖体を分解し, *Propionibacterium acnes* は heparin 分解能は認められないが, chondroitin sulfate および hyaluronic acid 分解能を有していた。しかし, *Bacteroides melaninogenicus* には, これらムコ多糖体分解能が認められなかった (Table 6)。

*Propionibacterium acnes* の lecithin 分解因子  
本菌を卵黄平板で培養すると乳光反応を示す

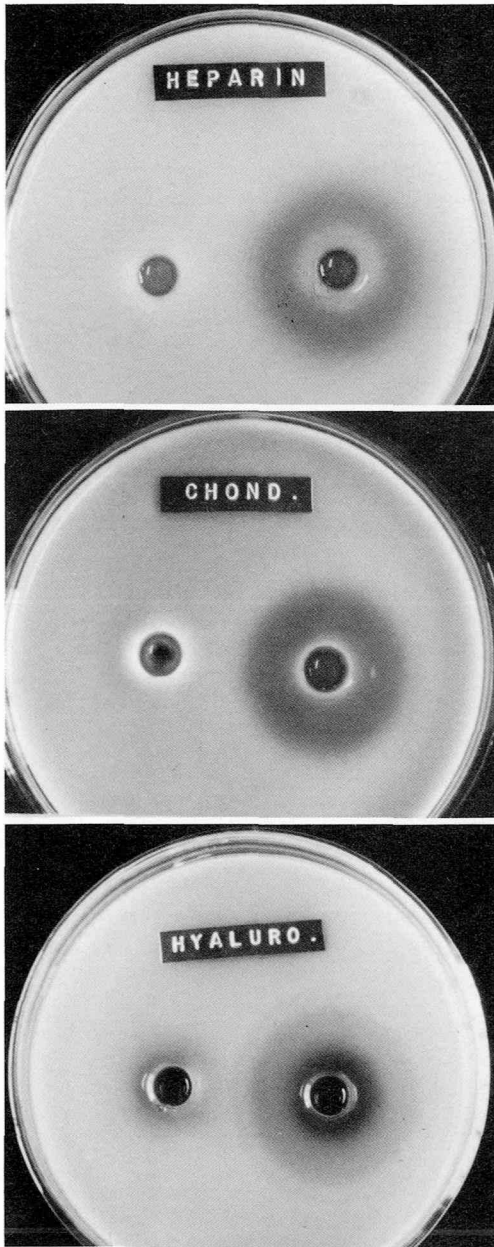


Fig. 3. Acid-mucopolysaccharides degradation activity on albumin added substrate agar plate by crude enzyme of heparinase-producing *Bacteroides* No. 26 strain (left : heated sample)

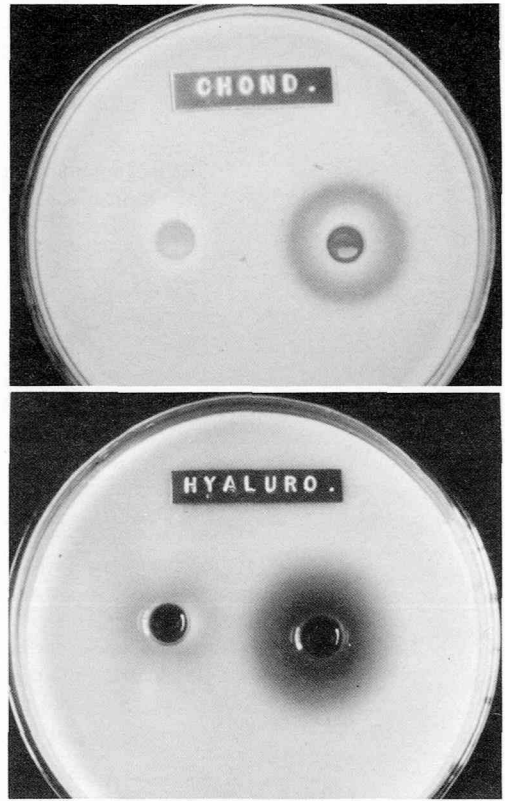


Fig. 4. Chondroitin sulfate and hyaluronic acid degradation activity on albumin added substrate agar plate by crude enzyme of *Propionibacterium acnes* Exc-1 strain (left : heated sample)

(Fig. 7) ので本反応因子について検討した。

本菌から抽出した各分画の lecithin 分解能は 0.5% lecithin および 0.001M  $\text{CaCl}_2$  を添加して、 $37^\circ\text{C}$ 、90 分間 incubate 後、反応試料を N/100 methanolic NaOH 液の titration によって検索した。NaOH 液の滴定量は Table 7 に示す如く、培養上清からの分画は、菌体よりの抽出試料に対し、顕著に滴定量が多く、すなわち、本因子は lecithin を分解すること、また、この分解因子は培養上清に存在することがわかった。また、抽出試料の lecithin 分解を経時的に見ると明らかに滴定量が反応時間に比例して増量していた (Fig. 5)。この反応混液を遠沈 (12,000 r. p. m. 20 分) した遠沈上清の paper-chromatography は Fig. 6 に示

**Table 5.** Acid-mucopolysaccharides degradating activity of extracted crude enzyme from *Propionibacterium acnes*

acid-mucopoly. incubation	heparin*	chondroitin sulfate*	hyaluronic acid**
	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)	titre of toluidine blue (degradation)
0 min.	11.0 (0%)	9.2 (0%)	5.0 (0%)
30 min.	11.0 (0%)	2.0 (78.2%)	2.3 (43.8%)
60 min.	11.0 (0%)	0 (100%)	0 (100%)

\* final concentration = 1mg/ml

\*\* final concentration = 2mg/ml

**Table 6.** Acid-mucopolysaccharides degradation ability of oral anaerobes produced experimental mixed infection

acid-mucopoly.	heparin	chondroitin sulfate	hyaluronic acid
heparinase-producing <i>Bacteroides</i>	+	+	+
<i>Propionibacterium acnes</i>	-	+	+
<i>Bacteroides melaninogenicus</i>	-	-	-

**Table 7.** Localization of lecithin hydrolytic activity of *Propionibacterium acnes*

extract	from culture supernatant	from cell
N/100 methanolic NaOH	0.30 ml	0.01 ml

condition of reaction : lecithin 0.5%, CaCl<sub>2</sub> 0.001 M, crude extract : original concentration.  
incubation was carried out at 37°C, for 90 min.

**Table 8.** Optimal pH of lecithin hydrolytic activity of *Propionibacterium acnes*

pH	4.0	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
lytic zone*	-	+	+	++	###	###	+	-

\* plate method  
 # : strong reaction  
 ++ : middle reaction  
 + : weak reaction  
 - : negative

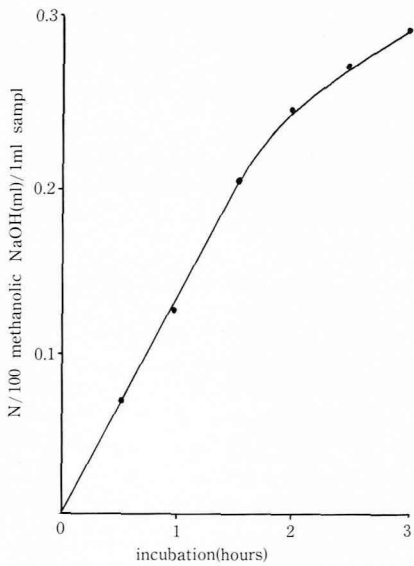
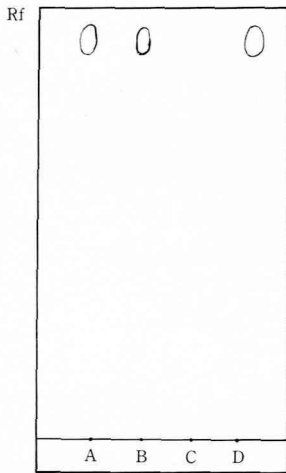


Fig. 5. Time course of lecithin hydrolysis by extract from *Propionibacterium acnes*



- A : phosphoryl coline chloride
- B : crude enzyme of *propionibacterium acnes*
- C : heat treated of *propionibacterium acnes*
- D : crude enzyme of *Clostridium perfringens*

80 % phenol was used as developing solvent. Spot observed stained with Hanes' reagent

Fig. 6. Paper-chromatography of hydrolysis of lecithin by crude enzyme of *Propionibacterium acnes*

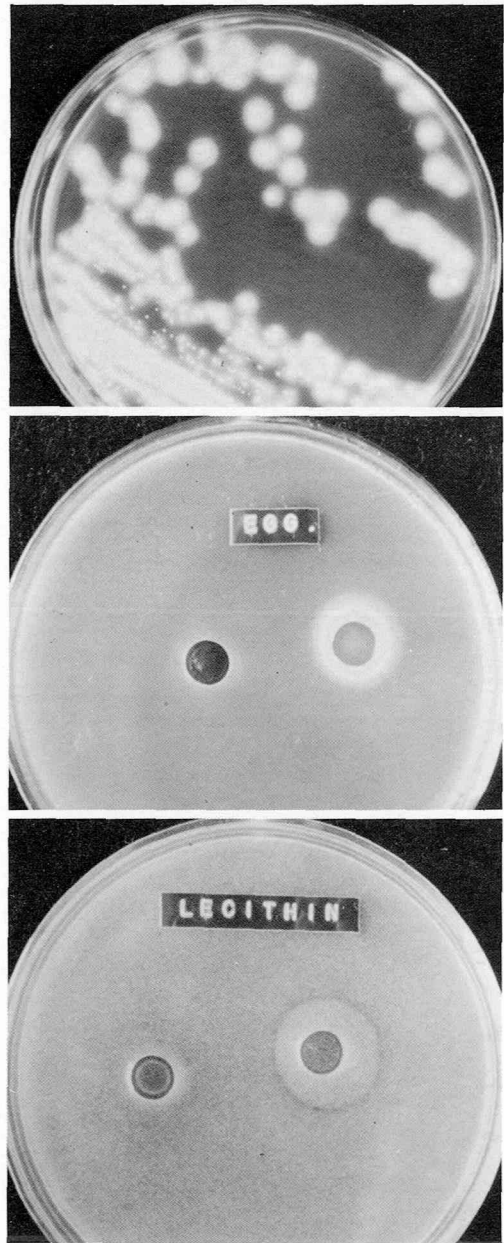


Fig. 7. Lecithin hydrolytic activity of *Propionibacterium acnes* Exc-1 strain on egg yolk and lecithin agar plate. The zone of precipitation is a clearing of the agar plate around the colonies (upper), the crude enzyme (under : left : heated sample)



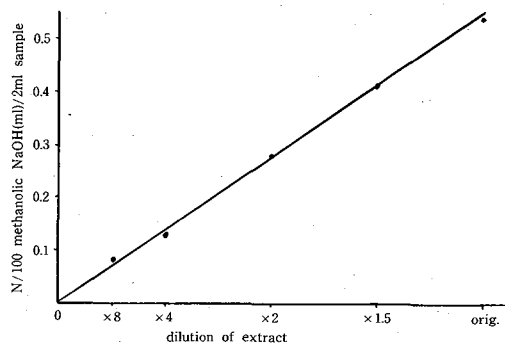


Fig. 8. Effects of concentration of extract upon lecithin hydrolysis

すごとく、対照として phosphoryl choline chloride と一致するスポットが認められた。なお、100°C 10分処理した抽出試料の反応液中には全く phosphoryl choline chloride 様スポットが認められなかった。また、*Clostridium perfringens* から同様に抽出した試料は *Propionibacterium acnes* と近似していた (Fig. 6)。これらの成績から、卵黄平板上に乳光反応を呈する *Propionibacterium acnes* の反応因子は明らかに lecithin を分解するものと考えられた (Fig. 7)。

また、抽出試料の濃度による lecithin 分解性を見ると、濃度に比例して滴定量が増量していた (Fig. 8)。本因子の熱抵抗性を検討すると、40°C では殆んど活性に影響が認められないが、50°C で活性が低下し、60°C で不活化される易熱性であった (Fig. 9)。以上の成績から本菌の卵黄反応因子は lecithinase であると考えられた。この酵素の作用至適 pH を平板法で検すると、pH 6.5~7.0 で最も顕著な反応帯が認められ、従って本酵素の作用至適 pH は 6.5~7.0 であると考えられた (Table 8)。

#### 考 察

3菌種混合で感染能を有する heparinase 産生性 *Bacteroides*, *Propionibacterium acnes* および *Bacteroides melaninogenicus* の酸性ムコ多糖体分解能を検討した結果、heparinase 産生性 *Bacteroides* は供試3種の酸性ムコ多糖体を分解し、

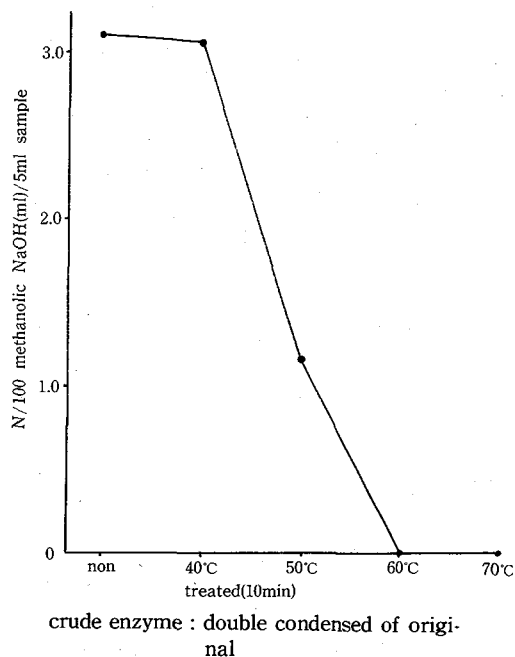


Fig. 9. Influence of lecithin hydrolytic activity of crude enzyme by heat treatment

一方、*Propionibacterium acnes* は heparin 分解能は認められなかったが、chondroitin sulfate および hyaluronic acid を分解した。しかし、*Bacteroides melaninogenicus* は、酸性ムコ多糖体に作用しなかった。さらに *Propionibacterium acnes* は卵黄寒天上で乳光反応を有し、この反応因子は lecithinase であることがわかった。

heparinase 産生性 *Bacteroides* は、その生物学的性状から *Bacteroides oralis*<sup>10)</sup> と近似するが、xylose および arabinose の分解能は異なり、また、*Bacteroides oralis* にはこれら酸性ムコ多糖体分解能は認められない<sup>19)</sup>。heparinase 産生性 *Bacteroides* は上述の如く広範な酸性ムコ多糖体分解能を有する。さらに本菌のこれら分解活性が基質誘導性である事実は、口腔内 *Bacteroides* 中、潜在的適応酵素産生能の豊富な特性を有する菌種と考えられる。従ってこれら多糖体分解酵素の誘導性を有する本菌は、口腔常在性であり、複雑な歯周組織構成基質<sup>2)</sup>の供試以外のムコ多糖体を分解する可能性もあろう。局所における本菌の増量は、これらの基質分解酵素で、歯周組織を崩壊し、

感染の場をさらに拡大するものと考えられる。一方、*Propionibacterium acnes* は、heparinase 産生性 *Bacteroides* に比較して、それ程 saccharolytic とは言えないが、本菌酵素は producible な酵素で菌体外に産生される点は基質崩壊の進行・過程に影響するかも知れない。また、本菌の脂質分解能は、Werner<sup>27)</sup>が報告しているが、判然としていなかった。しかし、本研究によって *Propionibacterium acnes* は heparin 分解能は欠除しているが、脂質特に lecithin 分解能を有する点は注目すべきであろう。lecithinase は赤血球や組織細胞の細胞膜を溶解し、結合組織の構築は破壊され、細菌の増殖に好適な環境を与えるので本菌の加担は歯周組織崩壊をさらに広域なものとするだろう。また、事実、皮膚常在性の *Corynebacterium* の lipase によって生ずる脂肪酸の病因的役割を重視する報告<sup>1)</sup>もある。本菌は heparinase 産生性 *Bacteroides* に欠除した lecithinase を補い感染に参画する可能性が考えられる。また、本菌は硬蛋白分解能も保有して<sup>20)</sup>おり、これら基質分解の広範な点は歯周組織崩壊機構にそれぞれの役割を有しているに違いない。しかし、これらの基質分解性菌 2 種のみでは感染が成立し得ない。すなわち感染を誘発するには、*Bacteroides melaninogenicus* の参画を要する。*Bacteroides melaninogenicus* は酸性ムコ多糖体分解能が認められないが、collagenase を保有する唯一の菌種である。本菌群中特殊な菌株<sup>26)</sup>以外単一菌によって感染症が成立し得ない事実は、また collagenase のみで、感染まで誘導し得ないものと考えられよう。酵素学的に崩壊機序を考察する病因論に於いては、3 菌種混合によるのみ感染が成立する事実から、これら各菌の保有する多面的基質分解酵素での役割の参画を考えざるを得ない。また、基質溶解のみならず感染の防禦反応機構<sup>8)</sup>の減弱をも含めて感染を許す役割もあろう。しかし、実際に感染の場におけるこれらの酵素の真の役割についてはさらに検討の要がある。一方、2 菌種の酸性ムコ多糖体分解酵素は単一物質によるか否かは粗酵素による検討では明らかではないが、特に heparinase 産生性 *Bacteroides* の基質添加で活性の出現が増減する事実は、少なくとも同一酵素とは考えられない。これらは、分解酵素の精製に依存しなければならず、現在検討中である。また、これら菌種の潜在的病原性は

上述の産生酵素のみならず、内毒素<sup>6) 17)</sup>やアレルギー感作機構<sup>21) 22)</sup>なども当然関与するものと考えられる。

## 結 論

種々の動物に混合感染能を有する 3 菌種の酸性ムコ多糖体分解能および *Propionibacterium acnes* の脂質、特に lecithin 分解因子について検討し、次の結果を得た。

1. 基質添加液体培地中で heparinase 産生性 *Bacteroides* は、heparin, chondroitin sulfate および hyaluronic acid を分解し、*Propionibacterium acnes* は heparin を除く 2 種の酸性ムコ多糖体を分解した。しかし、*Bacteroides melaninogenicus* の供試 10 株はいずれの酸性ムコ多糖体に対しても作用しなかった。

2. 各分解能を有する 2 菌種からの抽出粗酵素では、heparinase 産生性 *Bacteroides* は前培養に各基質を添加しないと heparin および chondroitin sulfate 分解活性が発現せず、本菌のこれら分解活性は誘導性であることがわかった。しかし、hyaluronic acid 分解活性は基質添加に関係なく認められた。*Propionibacterium acnes* は前培養に基質無添加でも活性が発現し、producible であった。

3. *Propionibacterium acnes* の卵黄反応因子は、lecithin を明らかに分解し、65°C で不活化される易熱性の酵素で、その作用至適 pH は 6.5 ~ 7.0 であることがわかった。

4. 混合感染能を有する 3 菌種は広範な基質分解酵素を保有しており、歯周組織崩壊を基盤としてこれら菌種の病原的役割を考察した。

## 文 献

- 1) Ellison, S. A. (1970), Oral Bacteria and Periodontal disease. J. dent. Res., 49 : 199~202
- 2) Gersh, I. and Catchpole, H. R. (1960), Ground substance of connective tissue, Perspect, Biol. and Med., 3 : 281~319
- 3) Gibbons, R. J. and Macdonald, J. B. (1961), Degradation of collagenous substrates by *Bacteroides melaninogenicus*. J. Bact., 81 : 614~621
- 4) Hanes, C. S. and Isherwood, F. A., (1949), Separation of the phosphoric esters on the filter paper-chromatogram. Nature, 164 : 1107~1112
- 5) Hausmann, E., Raisz, L. G. and Miller, W. A.

- (1970), Endotoxin : Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Science*, 168 : 162~164
- 6) 本間 考(1969), *Bacteroides melaninogenicus* の内毒素に関する研究. 歯科学報, 69 : 1506~1521
- 7) 岩田一夫(1966), 歯槽膿漏症局所の嫌気性菌について. 歯科学報, 66 : 234~252
- 8) 梶川欽一郎, 結合織基質と感染. 宮川正澄, 三橋進, 石田名香雄編(1967), 実験感染学. p. 117~126. 朝倉書店, 東京
- 9) 川喜田愛郎(1964), 感染論. p. 200 岩波書店, 東京
- 10) Loesche, W. J., Socransky, S. S. and Gibbons, R. J. (1964), *Bacteroides oralis*, Proposed new species isolated from the oral cavity of man. *J. Bacteriol.*, 88 : 1329~1337
- 11) Macdonald, J. B. and Gibbons, R. J. (1962), The relationship of indigenous bacteria to Periodontal disease. *J. dent. Res.*, 41 : 320~326
- 12) Macdonald, J. B., Socransky, S. S. and Gibbons, R. J. (1963), Aspects of the pathogenesis of mixed anaerobic infections of mucous membranes. *J. dent. Res.*, 42 : 529~544
- 13) Macdonald, J. B., Sutton, R. M. and Knoll, M. L. (1954), The production of Fusospirochetal infections in guinea pigs with recombined pure cultures. *J. infect. Dis.*, 95 : 275~284
- 14) Matsumoto, M. (1961), Studies on phospholipids, II. Phospholipase activity of *Clostridium perfringens* toxin. *J. Biochem.*, 49 : 23~31
- 15) 中村 武(1969), 口腔内嫌気性 Heparinase 産生菌に関する研究. 十全会誌, 78 : 509~530
- 16) 中村 武(1969), 口腔内嫌気性 Heparinase 産生菌に関する研究(II), 特に歯槽膿漏症局所材料中の Heparinase 活性とその因子. 日細誌, 24 : 550~551
- 17) 中村 武, 奥田克爾, 高添一郎(1970), 嫌気性 Heparinase 産生菌の内毒素について(I). 歯科学報, 70 : 1085~1086
- 18) 中村 武, 奥田克爾, 高添一郎(1971), 口腔内嫌気性 *Corynebacterium* の chondroitin sulfatase について. 歯科学報, 71 : 407~408
- 19) Nakamura, T., Suginaka, Y. and Obata, T. (1976), Enzymatic action of oral *Bacteroides* against the dental plaque forming substance of *Streptococci*. *Bull. Tokyo dent. Coll.*, 17 : (in press)
- 20) 小幡哲夫(1966), 口腔内嫌気性 *Corynebacterium* について. 歯科学報, 66 : 949~968
- 21) 奥田克爾(1973), *Bacteroides melaninogenicus* の感染機序に関する免疫学的研究. 歯科学報, 73 : 912~924
- 22) Okuda, K. and Takazoe, I. (1973), Antiphagocytic effects of the capsular structure of a pathogenic strain of *Bacteroides melaninogenicus*. *Bull. Tokyo dent. Coll.*, 14 : 99~104
- 23) Smith, R. F. and Willett, N. P. (1968), Rapid plate method for screening hyaluronidase and chondroitin sulfatase-producing microorganisms. *Appl. Microbiol.*, 16 : 1434~1436
- 24) Takazoe, I. and Nakamura, T. (1971), Experimental mixed infection by human gingival crevice material. *Bull. Tokyo dent. Coll.*, 12 : 85~93
- 25) 高添一郎, 中村 武, 小幡哲夫(1967), 口腔常在性嫌気性菌群と感染症. 日細誌, 22 : 346~347
- 26) Takazoe, I., Tanaka, M. and Homma, T. (1971), A pathogenic strain of *Bacteroides melaninogenicus*. *Arch. oral Biol.*, 16 : 817~822
- 27) Werner, H. (1967), Untersuchungen über die Lipase und Lecithinase-aktivität von aeroden und anaeroden *Corynebacterium* und von *Propionibacterium*-arten, *Zbl. Bact., I. orig.*, 204 : 127~138
- 28) 山本綾子(1973), 口腔内 *Bacteroides melaninogenicus* の collagenase 活性に関する研究. 歯科学報, 73 : 1155~1171