

〔原著〕 松本歯学 7 : 230~237, 1981

## 歯垢細菌のStaphylococcal bacteriocin (Staphylococcin) に対する不活化作用

中村 武, 谷口裕朗, 金川直博, 藤村節夫  
松本歯科大学 口腔細菌学教室 (主任 中村 武 教授)

Inhibitor of Staphylococcal Bacteriocin (Staphylococcin),  
Produced by Dental Plaque Bacteria

TAKESHI NAKAMURA, HIROO TANIGUCHI, NAOHIRO KANAGAWA,  
and SETSUO FUJIMURA

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

### Summary

Inactivation of staphylococcal bacteriocin (staphylococcin) by bacteria isolated from human dental plaque was investigated. Dental plaque was introduced into brain heart infusion (BHI) broth containing staphylococcin, followed by incubation, resulted in decrease of staphylococcin activity, as compared with the control without dental plaque. Staphylococcin activity was depressed also when the dental plaque was inoculated onto BHI agar plates which had been inoculated previously with staphylococcin producer strain (*Staphylococcus aureus* IYS-2) and its appropriate indicator strain and subsequently incubated. In this way, 14 strains which inhibited staphylococcin activity were isolated from the dental plaque of three individuals. These strains were found to have similar biological properties each other and were identified as *Bacterionema matruchotii*. The authentic *B. matruchotii* strains (strain ATCC 14266 and #13) demonstrated also the same inhibitory activity against staphylococcin. However, this activity was never found in another bacterial species from dental plaque, as far as screened.

The inhibitory substance in the cell-free extracts of the isolated strains was precipitated by addition of ammonium sulfate at 70% saturation. It was undialyzable and inactivated by heating at 70°C for 10 min, indicating this substance is proteinaceous.

## 結 言

口腔細菌叢は、解剖学的部位によって各常在菌叢の構成菌種ないし菌数に可成りの特徴が見られる事から今日、舌、唾液、歯垢および歯肉溝細菌叢に大別される<sup>10)12)</sup>。この事実は、口腔内各部位に異なる微生物学的生態系の存在を示すものである。微生物学的生態系は、栄養的、物理・化学的および寄生微生物の生物学的活性因子に依存し、細菌叢が形成・維持(変動)する<sup>13)23)29)</sup>ものと考えられる。一方、口腔の常在菌叢の生態学は、口腔感染症のほとんどが内因感染である<sup>4)</sup>ことから、これらの病因ないし進行経過に関係して重要である。しかし、口腔内における常在菌叢の生態系は多くの要因を包含しており各因子の総合的解析は極めて困難であり不明な点が多い<sup>12)</sup>。われわれは、口腔細菌叢における菌種間相互作用系を明らかにするため、特に抗菌因子としての生物活性を主眼に検討を行い、これまで2、3の口腔常在菌の bacteriocin ないし bacteriocin 様活性とその性状について明らかにして来た<sup>5) 6) 24) 25) 26)</sup>。また、最近、bacteriocinogenic staphylococci が広く口腔内に分布することも見出している<sup>27) 28)</sup>。しかし、bacteriocinogenic 常在菌が産生するこれら抗菌活性は、口腔内非感受性常在菌によって影響される可能性もある。本論文は、菌種相互作用系に関連すると考えられる生物学的属性として歯垢細菌の staphylococci (bacteriocin) 活性に対する影響について検討し、歯垢細菌中 *Bacterionema matruchotii* が staphylococci 活性を不活化することを示したものである。

## 研究 方法

Staphylococci は、口腔より分離した *Staphylococcus aureus* IYS-2 株の培養上清から 0~50% 硫酸飽和沈澱および 75% ethanol 処理によって得た<sup>27) 28)</sup> crude bacteriocin を使用した。

Staphylococci 不活化活性の検索のすべてに *Staph. aureus* 209 P 株を指示菌として使用した。

歯垢細菌の staphylococci に対する不活化能は、staphylococci (128 U/ml) 加 BHI (0.2% Y. E. supplemented) broth に 3 例の成人歯垢を接種して 37°C で好気培養した。経日的に各培養液の遠心上清について *Staph. aureus* 209 P 株を指示菌と

し、bacteriocin 活性を検した。また、BHI 寒天平板上に IYS-2 株および各歯垢を交差培養および隣接して stab 培養(2日間)し、各培養平板をクロロホルム処理した後、指示菌含有 BHI 軟寒天培地を重層した。24時間培養後歯垢細菌による IYS-2 株産生の bacteriocin 活性すなわち指示菌の発育阻止帯の抑制からも検した。歯垢培養菌からの cell free 試料は、指示菌含有 BHI 軟寒天平板上に隣接して凹を作製し、中央の凹に staphylococci, 両凹に培養上清および培養菌体の超音波処理した遠心上清を入れ、24時間培養後指示菌の発育阻止帯の抑制程度から検索した。なお、試料調製は、すべて 0.05 M phosphate buffer pH 7.0 を使用した。

歯垢細菌から staphylococci に対する不活化能を有する菌株の検索は、供試歯垢を希釈して、staphylococci (12 U/ml) 加 BHI 寒天平板で 2~3 日間好気培養した。無作為的に集落性状の異なる独立集落のみを新たな培地に転写接種しておき、培養平板をクロロホルム処理後指示菌含有軟寒天の 5 ml を重層した。24時間培養後集落上周辺での指示菌の発育の有無から screening した。また reference 株についても同様に検索した。不活化能を有する分離菌株の性状は、Takazoe, Takeuchi, and Nakamura<sup>40)</sup>らの方法に準じて検索し、Bergey's manual of determinative bacteriology<sup>3)</sup>に準じて同定した。

Staphylococci に対する不活化活性の定量法は、前述の staphylococci 加 BHI 寒天(指示菌含有)平板を使用し、これまで bacteriocin 活性の定量法<sup>5) 25)</sup>に準じ、これとは逆の判定法を考案して行った。すなわち、寒天培地に凹を作製し、これに被検試料を入れ、培地中に含有させた一定量(12U/ml)の staphylococci 活性が不活化されることによって指示菌は凹部を中心に増殖して発育帯が発現する。試料の指示菌発育帯を発現させる最高希釈度から不活化活性を算定した。

## 研究 成績

3例の歯垢培養による培地中の staphylococci 活性は、いずれも 1 日培養で 45~80% が減少し、3 日で全く本活性は認められなかった (Fig.1)。また、staphylococci 産生 IYS-2 株と歯垢の交差培養および stab 培養平板においても明らかに

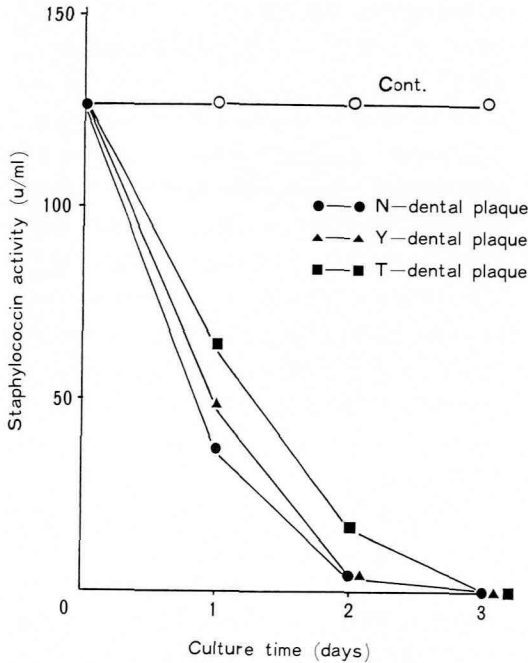


Fig. 1. Decrease of staphylococcin activity by incubation with dental plaque

指示菌の発育阻止帯が歯垢培養集落部位で顕著な抑制を示した (Fig. 2-a, b, c). これらの所見は、歯垢細菌によって staphylococcin 活性が不活化されることを示唆している。

歯垢培養試料を使用して、本 inhibitor の局在を培養遠心上清および菌体の超音波処理試料について検索すると、培養遠心上清に比較して菌体からの抽出試料は、指示菌の発育阻止帯を顕著に抑制した (Fig. 2-d). この成績から本 inhibitor は菌体に associate であると考えられた。

各歯垢培養平板からそれぞれ20集落の転写分離集落中、不活化能を有するものは、N歯垢から5株、T歯垢から6株およびY歯垢から3株で計14株を得た (Table 1, Fig. 2-e, f).

Staphylococcin に対する不活化能を有するこれら分離菌株は、いずれも種々の生物学的性状が均一であった。すなわち、集落性状は、表面粗糙のR型で培地固着性を有していた。液体培地で顆粒状発育を示す。Gram 陽性の長桿菌 (線状) で、顕著な異染顆粒も認められた。すべて好気培養で良く発育し、Catalase 陽性、Voges-Proskauer 反応陽性、硝酸塩を亜硝酸に還元し、esculin を全株が分解した。また、殆どどの菌株が urease を産生

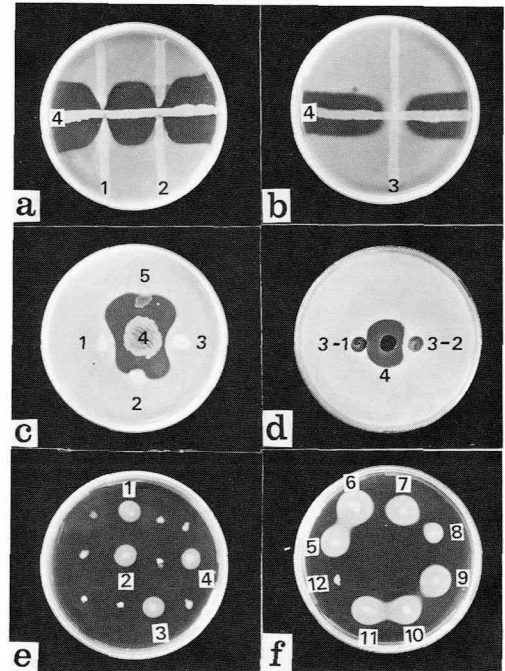


Fig. 2. Inactivation of staphylococcin by dental plaque bacteria

- a, b : Cross culture method for dental plaque. — 1; N-dental plaque, 2; Y-dental plaque, 3; T-dental plaque, 4; *S. aureus* IYS-2
- c : Stab culture method for dental plaque. — 1~4; a, b ref. 5; N-saliva
- d : Diffusion method for cell free extract. — 3-1; culture supernatant, 3-2; cell extract from T-dental plaque bacteriocin, 4; staphylococcin
- e, f : Staphylococcin contain BHI agar method for isolates or reference strains, — 1; TB-2, 2; TB-3, 3; TB-8, 4; TB-12, 5; NB-3, 6; NB-10, 7; NB-24, 8; YB-28, 9; YB-36, 10; *B. matruchotii* ATCC 14266, 11; *B. matruchotii* # 13, 12; *S. mutans* Ingbritt

Table 1. Isolation of inhibitor positive strains from dental plaque

Number	Origin	Dental plaque		
		N	T	Y
Isolates tested		20	20	20
Positive		5	6	3

Stab culture method was used. BHI ager contained staphylococcin (12 u/ml)

し hippurate も分解した。gelatin 液化能はなく indole および H<sub>2</sub>S を産生しなかった。炭水化物分解能は、glucose, sucrose, maltose, raffinose および dextrin を分解するが、lactose, galactose および inulin を分解しなかった。これらの性状は、Bergey's manual の記載<sup>3)</sup>また、Takazoe, Takeuchi and Nakamura<sup>40)</sup>が報告している *B. matruchotii* の性状と一致するものであった。従って、staphylococcin 活性に対する不活化能を有する本分離菌は、*Bacterionema matruchotii* と同定された。

さて、歯垢からの分離菌株中 *B. matruchotii* を除く多くの集落に本不活化能が認められなかった事から、歯垢細菌中特定菌のみが staphylococcin 活性を不活化することが示唆される。しかし、供試分離集落がすべての歯垢細菌をカバーしているとは考えられないので、主な reference 株について staphylococcin 加培地および各培養菌の遠心上清および菌体より超音波処理によって得た抽出試料によってさらに不活化能を検討した。その成績は Table2, Fig.2-f,10,11, Fig.3 に示した。供試 *Streptococcus salivarius* および *Propionibacterium acnes* は staphylococcin に感受性であるので stab 培養法での検索は不可能であるが、*Strep. mutans*, *Strep. sanguis*, *Strep. mitis*, *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *A. israelii*, *P. acnes*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* および *L. fermentii* にはいずれの検索法によっても不活化能

が全く認められなかった。しかし、*B. matruchotii* の2株 (ATCC14266, #13) はいずれも分離菌同様に staphylococcin を不活化した。以上の成績から歯垢培養で認められた staphylococcin に対する不活化活性は、歯垢中の *B. matruchotii* に起因すること、また、staphylococcin を不活化する菌種に特異性のあることを強く支持するものである。

*B. matruchotii* の本 inhibitor の局在について検討するため主に ATCC 14266 株および分離NB-10 株を供試した。供試菌を 0.2% Y.E. 加 BHI broth (各 1 ℓ) で 37°C 2 日間振盪培養し、本遠心上清および菌体より歯垢培養菌の検討に準じて得た超音波処理試料(100ml)についての不活化活性を見ると、菌体からの抽出試料は、培養上清の約10倍の不活化活性を有していた (Table 3)。これは先の歯垢培養菌で見られた成績と一致するものであった。また、分離 NB-10 株も同様の成績であった。菌体の超音波処理試料を硫酸で塩析し、透析して得た各画分の不活化活性は、Fig.4, Fig. 5 に示した。30~50%飽和硫酸画分が最も本活性が強く、次いで50~70%飽和画分であった。この事から、*B. matruchotii* の本 inhibitor は30~70%硫

Table 2. Distribution of staphylococcin-inhibitor among various oral bacterial species

Microorganisms	Strains	Detection method		
		Stab-cul-ture	Cell-ex-tract	Cul-ture super-natant
<i>Bacterionema matruchotii</i>	ATCC 14266 # 13	+	+	+
<i>Streptococcus mutans</i>	Ingbritt	-	-	-
<i>Streptococcus sanguis</i>	ATCC 10557	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC 9759	•	-	-
<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 9855	-	-	-
<i>Actinomyces viscosus</i>	ATCC 15987	-	-	-
<i>Actinomyces naeslundii</i>	ATCC 12104	-	-	-
<i>Actinomyces israelii</i>	ATCC 12102	-	-	-
<i>Propionibacterium acnes</i>	ATCC 6919	•	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	IFO 3205	-	-	-
<i>Lactobacillus casei</i>	ATCC 7469	-	-	-
<i>Lactobacillus fermentii</i>	IAM 1083	-	-	-

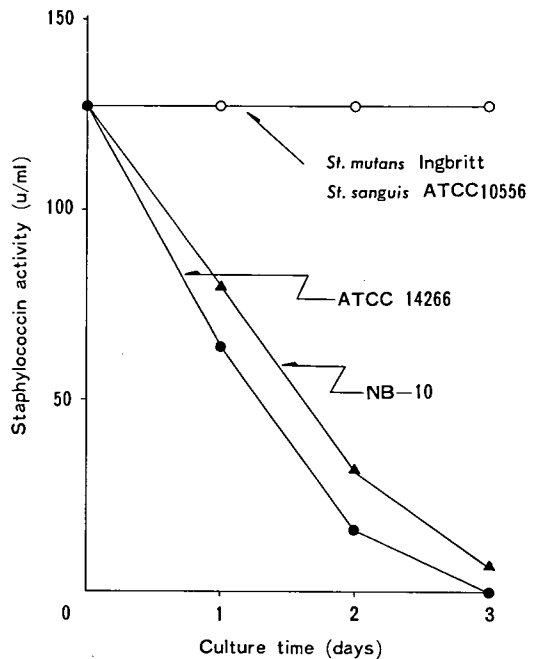


Fig. 3. Decrease of staphylococcin activity by incubation with *Bacterionema matruchotii*

Table 3. Cellular localization of staphylococcin-inhibitor

<i>B. matruchoii</i> (ATCC 14266)	Activity (total u)
Culture supernatant	0
Concentrate (10 fold) of culture supernatant	1,200
Cell-sonicate	12,800

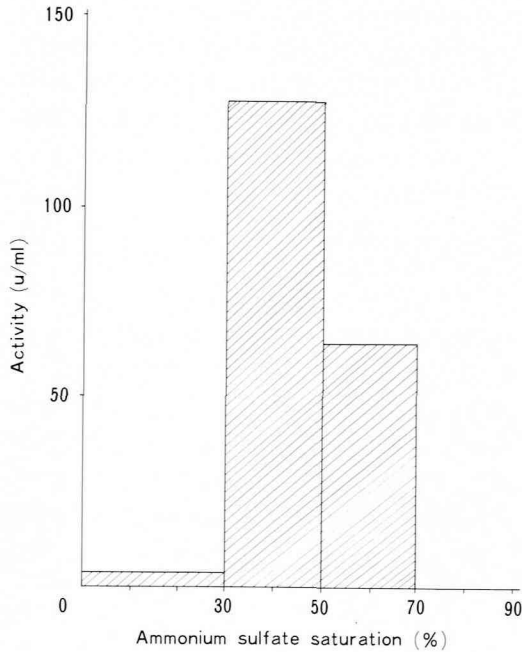
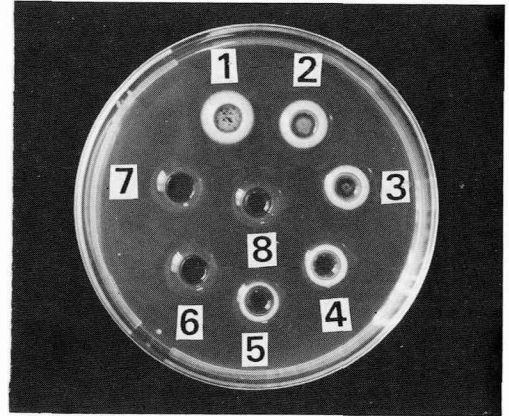


Fig. 4. Distribution of the staphylococcin-inhibitor in the fractions precipitated by ammonium sulfate

安飽和で塩析する非透析性であることが判った。本活性の熱に対する影響をこの crude 抽出試料で検すると 60°C, 10分の加熱によって殆んどが失活し, 70°C では全く不活化能が消失した (Fig. 6)。また, 本 inhibitor による staphylococcin の不活化程度を経時的に検討するため, 両混合液 (各 125 U/ml) を 37°C で incubate 後, 80°C で加熱して残存 staphylococcin 活性を検索した。その成績は, Fig. 7に示す如く, 30分の incubation で殆んどの staphylococcin 活性が不活化され, 45分では, 全く認められなかった。この事から本因子は短時間で staphylococcin 活性を不活化する事も判った。また, 本抽出 inhibitor の蛋白分解活性について casein を基質として検討<sup>7) 21)</sup>したが, 本試

Fig. 5. Inactivation of staphylococcin by inhibitor from *B. matruchoii* (NB-10) Serial two-fold dilution of the ammonium sulfate fraction.

1:  $\times 2$ , 2:  $\times 4$ , 3:  $\times 8$ , 4:  $\times 16$ , 5:  $\times 32$ , 6:  $\times 64$ , 7:  $\times 128$ , 8: heated sample of  $\times 2$ .

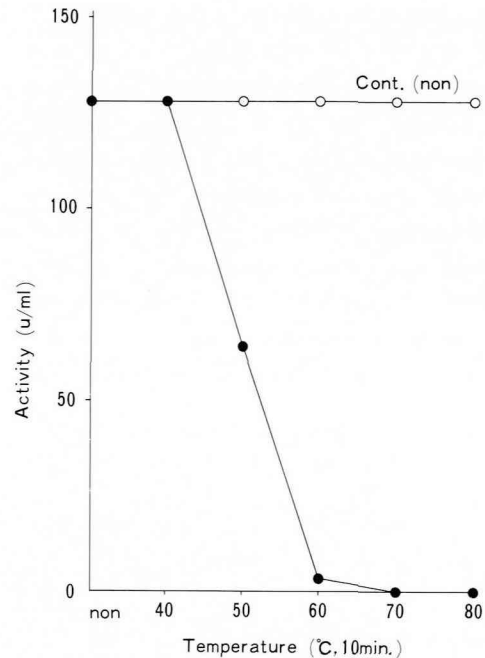


Fig. 6. Thermo-sensitivity of the inhibitor

料中には全く分解活性は認められなかった。

*B. matruchoii* の本 inhibitor の *P. acnes* (CN-8 株) が産生する acnecin 活性<sup>5) 24)</sup>に対する作用について, これまで同様に検討した。しかし, いずれの検索法によっても acnecin に対して, *B. matruchoii* の不活化能が認められなかった。

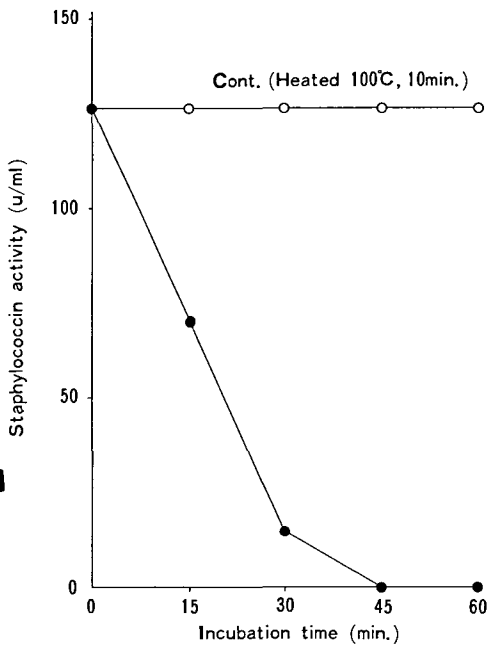


Fig. 7. Time course of inactivation of the inhibitor

## 考 察

Bacteriocin ないし bacteriocin 様物質は、微生物的拮抗因子であり<sup>30) 31)</sup>、常在菌叢の生態学におけるこれら産生菌の役割が興味ある主題として種々論議されている<sup>1) 2) 23) 30) 33) 41)</sup>。従って、口腔内常在菌のこれら活性・性状についての知見も多い<sup>8) 11) 14) 18) 19) 20) 23) 32) 34) 35) 42)</sup>。しかし、口腔細菌叢における bacteriocin ないし bacteriocin 様活性の発現・作用については、殆んど不明確である。その理由として、多くの菌種(菌数)が常在する口腔内生態系は、極めて多くの要因<sup>23)</sup>がからみ合い単純でないことに起因するのであろうし、また、個々の常在菌が保有する生物学的属性すなわち bacteriocin (bacteriocin-like) 活性-inhibitor 作用系の存在も考えられよう。bacteriocin を含めたこれら抗菌活性に対する生物学的 inhibitor に関連した検討<sup>33)</sup>は極めて少い。本研究で示された歯垢細菌の staphylococci に対する inhibitor としての生物学的属性は常在菌種間相互作用系の一端を明らかにしたものである。従って、*B. matruchotii* の本 inhibitor が常在菌叢の生態系に関与する可能性も考えられる。

*B. matruchotii* の保有する inhibitor は、培養上清中に殆んど産生されず、菌体の超音波処理試料に強い不活化活性が認められる事から本因子は菌体 associate であると考えられる。また、本不活化活性は、30~70% 硫酸飽和で塩析され、非透析性であり、70°C、10分処理で失活する事から本 inhibitor の化学的本態は、蛋白性物質である事を示唆する。bacteriocin ないしその関連物質は一般に蛋白を主体とした糖・脂質複合体と定義されている<sup>15) 31)</sup>。供試 staphylococci (IYS-2 株由来) もまた化学的に蛋白ないし peptide を主体とした homogenous な耐熱性の bacteriocin である<sup>27)</sup>。また、種々市販の蛋白分解酵素標品によって本活性が不活化する事も判っている<sup>28)</sup>。しかし、歯垢細菌中の蛋白分解能を有する菌種を含めた多くの供試菌によっても、本 staphylococci 活性がいずれの検索法においても不活化が認められなかった。また、*B. matruchotii* の菌体より抽出した不活化能を有する試料には、少なくとも casein を基質としての protease 活性は認められなかった。この事は *B. matruchotii* 以外の歯垢細菌の保有する蛋白ないし peptide 分解に関する酵素学的不活化作用を否定するものと考えられる。*B. matruchotii* の staphylococci 活性に対する不活化機序は不明である。多くの供試歯垢細菌中、*B. matruchotii* のみが staphylococci 不活化能を有する事実は興味深い。すなわち、bacteriocin-inhibitor 系における菌種間特異性の存在を示唆するからである。また、この *B. matruchotii* の inhibitor は、acnecin<sup>5) 24)</sup> (*P. acnes* 由来) に対しては、全くその作用が認められない事実はこの事を強く支持するものである。*B. matruchotii* の口腔内における病原性<sup>36)</sup>、石灰化能<sup>37) 38)</sup> さらに免疫学的属性<sup>39)</sup> についての報告がなされているが、本研究で明らかにされた本菌の bacteriocin inhibitor は、口腔常在菌の生態系における本菌挙動の一端を示したものである。しかし、これまで報告されている staphylococci の産生する bacteriocin の性状は<sup>9) 16) 17) 22)</sup>、理化学的にも必ずしも一様ではない。従って本研究で明らかとなった *B. matruchotii* の保有するこの inhibitor がすべての staphylococci 由来の bacteriocin に作用するか否かは不明である。本菌の staphylococci-inhibitor の精製と共に、その作用機序の解明は、今後検討しな

ればならない。

### 結 論

口腔内細菌叢における菌種間相互作用を明らかにするため歯垢細菌の staphylococcin (bacteriocin) に対する不活化能について検討した。

Staphylococcin (IYS-2 株由来) 加 BHI broth に3名の成人歯垢を接種し、培養後培地中の bacteriocin 活性を検索すると、経目的に顕著な活性の減少を示した。また、BHI 寒天平板上で bacteriocin 産生菌 (IYS-2 株) と歯垢の交差および stab 培養法によっても明らかに歯垢細菌が強く staphylococcin 活性を抑制する事が判った。歯垢培養上清および同培養菌体の超音波処理試料は寒天平板内拡散法でも staphylococcin 活性を抑制し、その不活化活性は菌体抽出試料において顕著であった。

歯垢細菌から、これら不活化能を有する菌株の screening を staphylococcin 加平板法で行い、明らかに不活化能を有する14株を分離した。本分離菌はいずれも均一な生物学的性状を有し、*Bacterionema matruchotii* と同定された。また、*B. matruchotii* の reference 株(ATCC 14266, #13) も分離菌同様の staphylococcin 活性を不活化した。しかし、*B. matruchotii* 以外の分離菌株および reference 株には、いずれの検索法によっても本不活化能は全く認められなかった。

*B. matruchotii* の staphylococcin-inhibitor は歯垢培養試料で認められた不活化活性と一致し、本 inhibitor は、菌体に associate であり、30~70% 硫酸飽和で塩析し、非透析性であった。また、70°C、10分処理によって不活化活性が消失した。この事から本菌 inhibitor の化学的本態は蛋白性物質である事が示唆された。口腔内細菌叢における bacteriocin-inhibitor としての常在菌の生物学的属性の一端を明らかにし、*B. matruchotii* の生態系における役割について考察した。

### 文 献

- 1) Booth, S. J., (1977) Bacteriocin production by strains of *Bacteroides* isolated from human feces and the role of these strains in the bacterial ecology of the colon. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11: 718—724.
- 2) Brandis, H., (1966) Bacteriocine und bacteriocinähnliche Substanzen, *Deutsch Med. Wschr.* 91: 1737—1742.
- 3) Buchanan, R. E., and Gibbons, N. E. (1974) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 8th ed., 659—681. Williams and Wilkins, Baltimore.
- 4) Burnett, G. W., Scherp, H. W., Schuster, G. S et al (1976) *Oral Microbiology and Infectious Disease,* 4th ed., 259—382. Williams & Wilkins, Baltimore.
- 5) Fujimura, S., and Nakamura, T. (1978) Purification and properties of a bacteriocin-like substance (acnecin) of oral *Propionibacterium acnes*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 14: 893—898.
- 6) Fujimura, S., and Nakamura, T. (1979) Sanguicin, a bacteriocin of oral *Streptococcus sanguis*. *Antimicrob. Agents chemother.* 16: 262—265.
- 7) Fujimura, S., and Nakamura, T. (1981) Isolation and characterization of protease from *Bacteroides melaninogenicus*. *Infect. Immun.* 83: 738—742.
- 8) 福島久典, 福島早衛子, 福原裕子, 梅本俊夫, 谷明, 尾上孝利, 小中島諭一, 佐川寛典 (1981) *Streptococcus mutans* Rm-10 の産生する Bacteriocin の精製と性状 (講演要旨). *歯基礎誌 (補冊)*, 23: 332.
- 9) Gagliano, V. J., and Hinsdill, R. D., (1970) Characterization of a *Staphylococcus aureus* bacteriocin. *J. Bacteriol.* 104: 117—125.
- 10) Gibbons, R. J., Socransky, S. S., Sawyer, S., Kapsimalis, B. and MacDonald, J. B. (1963) The microbiota of the gingival crevice area of man—II. the predominant cultivable organisms. *Archs. Oral Biol.* 8: 281—290.
- 11) Hamada, S., and Ooshima, T. (1975) Inhibitory spectrum of a bacteriocinlike substance (mutacin) produced by some strains of *Streptococcus mutans*. *J. dent. Res.* 54: 140—145.
- 12) Hardie, J. M., and Bowden, G. H. (1974) The normal microbial flora of the mouth. Skinner, F. A. and carr, J. G. (eds), *The Normal Microbial Flora of Man.* 47—74, Academic Press, London and New York.
- 13) Holmberg, K., and Hallander, O., (1972) Interference between Gram-positive microorganisms in dental plaque. *J. Dent. Res.* 51: 588—595.
- 14) 池田 正, 岩波健文, 渡辺千秋, 平沢正知, 福島和雄 (1979) *Streptococcus mutans* 産生 bacteriocin による齲蝕予防 *in vitro* 抗菌性および

- ラット齶蝕抑制(講演要旨). 歯基礎誌(補冊), 21: 149.
- 15) Jacob, F., Lwoff, A., Siminovitch, A., and Wollman, E., (1953) Définition de quelques termes relatifs a la lysogénie. Ann. Inst Pasteur. 84: 222—224.
  - 16) Jetten, A. M., and Vogels, G. D., (1972) Nature and properties of a *Staphylococcus epidermidis* bacteriocin. J. Bacteriol. 112: 243—250.
  - 17) Jetten, A. M., Vogels, G. D., and Windt, F. De., (1972) Production and purification of a *Staphylococcus epidermidis* bacteriocin. J. Bacteriol. 112: 235—242.
  - 18) Kelstrup, J., (1969) Inactivation of bacteriocins in the intestinal canal and oral cavity. J. Bacteriol. 99: 888—890.
  - 19) Kelstrup, J., and Gibbons, R. J., (1969) Bacteriocins from human and rodent streptococci. Archs. Oral Biol. 14: 251—258.
  - 20) Klerk, H. de., and Smit, J. (1967) Properties of a *Lactobacillus fermentii* bacteriocin. J. Gen. Microbiol. 48: 309—316.
  - 21) Kunitz, M. (1947) Crystalline soybean trypsin inhibitor II, General properties, J. Gen. Physiol. 30: 291—310.
  - 22) Lachowicz, T., and Walezak, Z., (1968) Purification and properties of staphylococcal A. Arch. Immunol. Ther. EXP. 16: 855—863.
  - 23) Morhart, R., Cowman, R., and Fitzgerald, R. (1980) Ecologic determinants of the oral microbiota. in Menaker, L. ed., The Biologic Basis of Dental Caries. 278—296, Harper & Pow, Publishers. Hagers-town.
  - 24) Nakamura, T., Fujimura, S., Obata, N., Yamazaki, N., and Kanagawa, N. (1978) Bacteriocin (acnecin) activity of oral *Propionibacterium acnes*. Bull. Tokyo dent. Coll. 19: 235—244.
  - 25) Nakamura, T., Suginaka, Y., Obata, N., and Yamazaki, N. (1977) Bacteriocin-like activities of human dental plaque flora against oral anaerobic microorganisms. Bull. Tokyo Dent. Coll. 18: 217—229.
  - 26) Nakamura, T., Fujimura, S., Obata, N., and Yamazaki, N. (1981) Bacteriocin-like substance (Melaninocin) from oral *Bacteroides melaninogenicus*. Infect. Immun. 31: 28—32.
  - 27) 中村 武, 藤村節夫, 谷口裕朗 (1980) 口腔内 Staphylococci の bacteriocin 様活性 (講演要旨). 松本歯学, 6: 125—126.
  - 28) 中村 武, 谷口裕朗 (1981) 口腔内 Staphylococci の bacteriocin の精製とその性状 (講演要旨). 日細誌, 36: 273.
  - 29) Newman, M. G., (1979) The role of *Bacteroides melaninogenicus* and other anaerobes in periodontal infection. Review of Infectious Dis. 1: 313—323.
  - 30) Reeves, P., (1965) The bacteriocin. Bacteriol. Rev. 29: 24—45.
  - 31) Reeves, P., (1975) The Bacteriocin. Springer-Verlag, New York.
  - 32) Rogers, A. H., (1972) Effect of the medium on bacteriocin production among strains of *Streptococcus mutans*. Appl. Microbiol. 24: 294—295.
  - 33) Russell, C., and Tagg, J. R., (1981) Role of bacteriocin during plaque formation by *Streptococcus salivarius* and *Streptococcus sanguis* on a tooth in an artificial mouth. J. Appl. Bacteriol. 50: 305—313.
  - 34) Schlegel, R., and Slade, H. D., (1973) Properties of a *Streptococcus sanguis* (group H) bacteriocin and its separation from the competence factor of transformation. J. Bacteriol. 115: 655—661.
  - 35) Tagg, J. R., and Russell, C., (1981) Bacteriocin production by *Streptococcus salivarius* strain P. Can. J. Microbiol. 27: 918—923.
  - 36) Takazoe, I. (1972) Toxic property of the phospholipid from *Bacterionema matruchotii*. Bull. Tokyo Dent. Coll., 13: 135—144.
  - 37) 高添一郎 (1977) バクテリアの石灰化と歯石. サイエンス, 8: 104—113.
  - 38) Takazoe, I., and Nakamura, T., (1965) The relation between metachromatic granules and intracellular calcification of *Bacterionema matruchotii*. Bull. Tokyo Dent. Coll., 6: 29—42.
  - 39) Takazoe, I., Okuda, K., and Ohta, K., (1978) Adjuvant activity of *Bacterionema matruchotii*. Bull. Tokyo Dent. Coll., 19: 13—17.
  - 40) Takazoe, I., Takeuchi, T., and Nakamura, T. (1963) A study of *Bacterionema matruchotii*. Bull. Tokyo Dent. Coll. 4: 42—49.
  - 41) Woodroffe R. C. S., and Shaw, D. A., (1974) Natural control and ecology of microbial populations on skin and hair. Skinner, F. A., and Carr, J. G. (eds) The Normal Microbial Flora of Man. 13—31., Academic Press, London.
  - 42) Yamamoto, T., Imai, S., Nishizawa, T. and Araya, S. (1975) Production of, and susceptibility to, bacteriocin-like substance in oral Streptococci. Archs. Oral Biol. 20: 389—391.