

## 特異血清抗體 IgG分劃이 *Streptococcus mutans*의 平滑面 附着에 미치는 影響에 關한 研究

慶熙大學校 齒科大學 豫防齒科學校室, 慶熙大學校 醫科大學 微生物學校室\*

李振鏞 · 崔有鎮 · 夏潤文\* · 金燦洙\*

==Abstract==

**Effect of specific serum IgG antibody against *Streptococcus mutans* on the adherence of *S. mutans* to smooth surface *in vitro*.**

Jean-Yong Lee, Eu-Gen Choi, Youn-Mun Ha\* and Chan-Soo Kim\*

Department of Preventive Dentistry, School of Dentistry

\*Department of Microbiology, School of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

In order to demonstrate the effect of specific serum IgG antibody on the adherence of *Streptococcus mutans* to smooth surface and the mechanism of effective adherence inhibition by IgG antibody, in the present study authors obtained purified IgG from different immunogen preparations of *S. mutans* NCTC 10449 (serotype *c*) and observed the effect of each IgG preparation on the adherence of each *S. mutans* strain cultured in different conditions. In addition, the present study was undertaken to observe the cross-reactivity of IgG and the effect of sucrose concentration on the adherence of *S. mutans in vitro* non-growth condition.

The adherence of *S. mutans* to glass surface was effectively inhibited by serum IgG antibody. At the same IgG concentrations, anti-2% fructose grown/1 N NaCl washed *S. mutans* NCTC 10449 cell showed greater adherence inhibitory effect to *S. mutans* strains than anti-2% sucrose grown and anti-*S. mutans* NCTC 10449 cell wall, and the greater inhibitory effects of IgG preparations were observed in assay using 2% fructose grown *S. mutans* cell preparations than using 0.1% sucrose grown cell preparations. These results suggest that the more effective adherence inhibition by serum IgG antibody is due to the reaction with *S. mutans* cell surface antigens rather than glucan and cell-associated glucosyltransferase. The greatest adherence inhibitory effect of IgG to *S. mutans* strains was observed on homologous NCTC 10449 strain and the inhibition cross-reactivities were observed between serotype *c*, *e*, and *f* strains. More pronounced cross-reactivity of adherence inhibition of IgG to *S. mutans* was observed in assay using anti-2% fructose grown/1 N NaCl washed cell than using other IgG preparations, and observed in assay using 2% fructose grown *S. mutans* cell preparations than 0.1% sucrose grown cell preparations. It was interested that low, but adequate concentration of reactive IgG antibody significantly increased the adherence ability of *S. mutans*. This result may be due to the formation of small cell aggregates resulted in a increase in the numbers of organisms which adhered to glass surface. The adherence of *S. mutans* to glass surface was possible in the absence of glucan-synthetic activity. Low level of sucrose significantly increased the adherence ability of *S. mutans* to glass surface, but excessive amount of sucrose induced large cell aggregates resulted in a decrease in the numbers of organism which adhered.

本論文의 要旨는 1982年 大韓微生物學會 第49次 春季學術大會에서 發表하였음

細菌이 齒牙表面에 附着하는 것은 齒苔形成과 齒牙 齶蝕症發生의 根本的인 條件이다<sup>9,13,14</sup>. *Streptococcus mutans*는 口腔內에 蔗糖이 存在할 때 齒牙表面에 強하게 附着하며 細菌間 集落化를 誘導하여 齒苔形成에 主 役割을 하기 때문에 齒牙齶蝕症의 原因菌으로 알려져 있다<sup>9,13,14,15,25,27,28,35,36,37</sup>. 이같은 *S. mutans*의 齶蝕原性은 *S. mutans*로 부터 遊離된 glucosyltransferase (GTF)가 蔗糖을 利用하여 附着性的 非水溶性 glucan을 合成하기 때문이다<sup>9,12,13,14,15,18,19,20,25,26,27,28,35,36,37,39</sup>. 따라서 蔗糖利用의 制限, GTF의 活性이나 非水溶性 glucan의 合成 및 *S. mutans*의 齒面附着을 抑制할 境遇 齒牙齶蝕症發生이 減少될 수 있다는 可能性이 提示되고 있다<sup>4,7,11,17,26,27,28,29,32,36,37</sup>.

唾液內의 分泌性 IgA는 細菌의 附着抑制에 重要한 役割을 하고 있다<sup>17,30</sup>. 反面, 血清 IgG抗體는 齒齶裂溝液을 通過 口腔內로 流入<sup>31</sup>됨으로써 *S. mutans*에 對한 多形核白血球의 食食作用을 增進시켜<sup>34</sup> 齶蝕發生抑制이 可能한 것으로 알려져졌다<sup>22</sup>. 血清 IgG抗體는 齶蝕發生抑制의 密接한 關係가 있는 것으로 報告되고 있다<sup>21,22,23</sup>.

Olson 等<sup>29</sup>은 *S. mutans*에 對한 抗血清의 附着抑制 効果는 IgG分劃과 關聯이 있다고 報告하였으나 純粹 分離된 IgG 만의 附着抑制效果는 平價되지 않았다. Russell 等<sup>22</sup>은 GTF에 對한 抗血清의 GTF-抑制效果는 IgG分劃에서만 發見되고 다른 Ig 分劃은 GTF의 活性을 充進시킨다고 報告하였다.

Mukasa와 Slade<sup>26,27</sup>는 *S. mutans*의 全菌과 細胞壁 多糖體에 對한 抗血清이 glucan 合成의 妨害없이 附着을 抑制하는 것으로 報告하였고, Hamada와 Slade<sup>11</sup>의 實驗에서 全菌의 免疫 抗血清 中에 包含된 glucan에 對한 抗體는 附着抑制과 關係가 없는 것으로 나타나, glucan 以外에 表面抗原에 對한 抗體가 附着抑制에 重要하게 作用하고 있음이 示唆되었다.

著者들은 食食機能의 主 效果系로 作用하는 IgG 抗體가 *S. mutans*의 平滑面 附着에 미치는 影響을 觀察하기 爲해 *S. mutans* 抗血清에서 IgG分劃만을 分離하였고, IgG抗體의 *S. mutans*에 對한 附着抑制機轉을 科明하기 爲해 培養과 處理過程을 달리한 免疫原으로부터 獲得된 各 IgG抗體의 附着抑制效果의 差異와 培養條件이 다른 同一 菌株의 附着에 對한 IgG抗體의 抑制效果의 差異를 觀察하였으며, 아울러 IgG抗體에 依한 附着抑制效果의 血清型間 交叉反應樣相, 培養時

蔗糖의 含量이 *S. mutans*의 附着에 미치는 影響을 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 實驗方法

### 1. 實驗菌株

*S. mutans* FA-1(血清型 b), NCTC 10449 (c), JC-2 (c), B-13 (d), MT 703 R (e), OMZ 175 (f), OMZ-65 (g)를 使用하였다.

### 2. 免疫原의 準備

抗血清을 얻기 爲한 免疫原으로 다음 3가지를 準備하였다.

*S. mutans* NCTC 10449 (c)를 蔗糖이 2% 添加된 tryptic soy broth (TSB; Difco Laboratories)에 16~18時間 GasPak (BBL)으로 嫌氣培養한 後 0.6% formalin으로 24時間 處理한 다음 0.01 M, pH 7.2 phosphate buffered saline (PBS)으로 3,000 rpm (Sorvall RC-2B)에서 15分間 3回 洗淨하여 免疫原으로 準備하였다.

NCTC 10449를 果糖이 2% 添加된 brain heart infusion broth (BHI; Difco Laboratories)에 16~18時間 嫌氣培養한 後 0.6% formalin으로 處理한 다음 1 N NaCl로 10,000 rpm에서 10分間 5回 洗淨한 以後, 다시 7.2 PBS로 3,000 rpm에서 15分間 3回 洗淨하여 免疫原으로 準備하였다.

NCTC 10449를 TSB에 16~18時間 嫌氣培養한 後, 3回 洗淨하여 10分間 高壓蒸氣滅菌한 다음 French Pressure Cell Press (American Instrument Company)의 1 inch diameter position에서 計器壓力 1,260 psig로 10分間씩 3회에 걸쳐 粉碎하여 얻은 細胞壁成分<sup>11</sup>을 免疫原으로 準備하였다.

### 3. IgG의 分離

準備된 免疫原을  $1 \times 10^9$  cells/ml의 濃度로 調節하여 1ml씩 5~6回 토끼의 耳靜脈에 免疫하여 抗血清을 얻었다.

通法에 따라, 各各의 抗血清으로부터 ammonium sulphate precipitation에 依해 crude IgG分劃을 얻은 後에 Sephadex G-150 column (3cm  $\times$  72cm) 上에서 2回 chromatograph하여 純粹한 IgG分劃을 얻었다. 分離된 各各의 IgG 抗體, 즉 anti-2% sucrose grown NCTC 10449 cell (anti-SGC), anti-2% fructose grown/1 N NaCl washed NCTC 10449 cell (anti-FGC), anti-NCTC 10449 cell wall (anti-CW)을

UV spectrophotometer (SP 6-550 UV/VIS, Pye Unicam)에서 最終 測定하여 IgG 濃度 7.67mg/ml로 調節하였다.

#### 4. 附着抑制實驗 前準備

##### 實驗菌株의 準備

果糖을 2% 添加시킨 BHI에서 16~18時間 培養한 後 生理食鹽水로 3,000rpm에서 15分間 3回 洗淨시킨 菌 (BHI-2% fructose grown cell; BHI-FGC)과 蔗糖이 0.1% 添加된 BHI에 培養, 洗淨된 菌(BHI-0.1% sucrose grown cell; BHI-SGC)等 培養條件이 다른 2가지 洗淨菌을 各 *S. mutans* 菌株마다 準備하여 實驗에 使用하였다. 但, BHI-SGC 中 附着力이 極히 弱하게 나타난 FA-1은 除外하였다.

##### 標準化

附着抑制實驗에 앞서, 使用될 *S. mutans* 細菌濃도와 IgG 濃도를 標準化過程을 通해 決定하였다.

細菌濃度の 決定: 培養, 洗淨된 NCTC 10449 BHI-FGC를 spectrophotometer (540 nm)에서 吸光度로 0.2~0.8까지 調節하여 細菌濃도에 따른 試驗管壁 附着細菌比率<sup>29)</sup>을 觀察한 結果(Fig. 1), 細菌濃도가 增加할 수록 附着細菌比率이 減少한 反面, 附着細菌數는 增加하였으나 實驗誤差가 컸기 때문에 誤差가 적으면서 附着細菌比率과 附着細菌數가 큰 吸光度 0.5를 規定細菌濃도로 決定하였다.

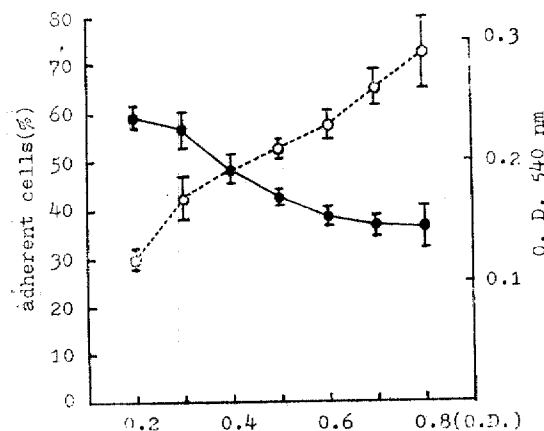


Fig. 1. Percentage and optical density of adherent cells of 2% fructose grown *S. mutans* NCTC 10449 with increasing cell densities measured as optical densities at 540 nm. Cells were incubated with 2% sucrose in saline-0.04% sodium azide; (●) percentage of adherent cells, (○) optical density of adherent cells. Vertical bars indicate standard error. The determination was done in triplicate.

Table 1. Adherence inhibitory effect of each IgG antibody preparation to 2% fructose grown *S. mutans* NCTC 10449\* (%)

Dose <sup>b</sup> (μl)	anti-SGC <sup>c</sup>	anti-FGC <sup>d</sup>	anti-CW <sup>e</sup>
4.0	85.4(1.9)	87.1(2.6)	57.9(0.1)
2.0	78.6(1.1)	85.3(1.7)	49.9(1.3)
1.0	75.4(2.4)	76.3(1.0)	42.5(3.7)
0.9	73.9(2.7)	73.0(1.4)	39.7(1.6)
0.8	71.6(0.5)	71.8(1.4)	34.3(3.3)
0.6	63.0(2.6)	69.0(1.1)	29.6(5.0)
0.5	56.9(2.5)	66.7(1.3)	28.4(0.2)
0.45	49.9(1.3)	65.3(0.7)	22.8(0.6)
0.4	45.9(1.4)	63.0(2.4)	22.3(3.2)
0.3	37.2(1.3)	59.4(1.6)	18.7(2.2)
0.25	28.5(3.9)	54.2(0.3)	15.4(2.3)
0.225	25.4(1.2)	49.9(1.3)	13.4(1.7)
0.2	22.1(0.3)	46.1(2.7)	13.2(0.7)
0.15	13.3(1.4)	40.1(1.7)	12.0(1.0)
0.1	10.4(1.3)	14.7(2.2)	9.7(1.3)

( ) standard error.

a: brain heart infusion broth was used as a base medium.

b: original IgG protein concentration was 7.67 mg/ml.

c: anti-2% sucrose grown *S. mutans* NCTC 10449 cell.

d: anti-2% fructose grown/1 N NaCl washed *S. mutans* NCTC 10449 cell.

e: anti-*S. mutans* NCTC 10449 cell wall.

Note: total volume of test mixture was 1 ml.

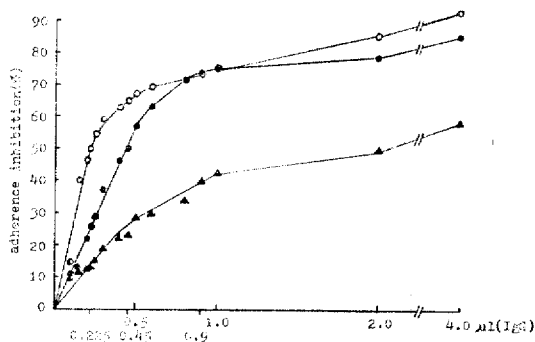


Fig. 2. Adherence inhibition effect of each IgG antibody preparation to 2% fructose grown homologous *S. mutans* NCTC 10449; (●) anti-2% sucrose grown *S. mutans* NCTC 10449 cell, (○) anti-2% fructose grown/1 N NaCl washed *S. mutans* NCTC 10449 cell, (▲) anti-*S. mutans* NCTC 10449 cell wall.

IgG抗體濃도의 決定: 各各의 IgG 原液(7.67 mg/ml)을 7.2 PBS에 稀釋하여 調節된 여러가지 IgG 濃도와 吸光度 0.5 細菌濃도의 NCTC 10449 BHI-FGC를 反應시켜 나타난 anti-SGC의 50% 附着抑制濃度인 IgG 原液 0.45  $\mu$ l (IgG濃度 3.44  $\mu$ g)를 中心으로 2倍 濃度인 0.9  $\mu$ l (6.88  $\mu$ g), 1/2 濃度인 0.225  $\mu$ l (1.72  $\mu$ g)等 3가지를 各 IgG의 規定濃度로 決定하였다(Table 1, Fig. 2).

### 5. 附着抑制實驗

標準化過程 中에 施行되었던 實驗과 附着 및 附着抑制實驗은 Kuramitsu<sup>18)</sup>의 方法에 準해 實施하였다.

#### 各 IgG의 附着抑制效果

sodium azide를 0.04% 添加한 生理食鹽水로 吸光度 0.5로 調節된 *S. mutans* 洗淨菌 0.8 ml, 7.2 PBS 0.2 ml로 稀釋된 規定濃度の IgG, 總 1 ml를 1.0×7.5 cm 玻璃試驗管에 蔗糖 2%와 함께 添加한 後, 試驗管을 parafilm으로 密封하여 37°C에서 水平面으로 부터 30度 傾斜지게 하여 16~18時間 培養하였다. 培養 後 試驗管을 가볍게 기울여 非附着細菌을 除去한 다음 蒸溜水 3 ml로 試驗管壁을 가볍게 2回 洗淨하고 나서 0.5 N NaOH 3 ml에 附着細菌을 完全히 浮游시켜 540 nm에서 附着細菌의 吸光度를 觀察하였다. 對照試驗管은 PBS 稀釋 IgG 代身에 生理食鹽水를 0.2 ml 添加하였으며, 對照試驗管에 對한 實驗試驗管的 附着細菌吸光度로 附着抑制率을 計算하였다. 모든 實驗은 triplicate로 實施하였다.

#### 試驗管內 蔗糖濃도에 따른 IgG의 附着抑制效果

試驗管內 蔗糖濃도를 0~5%까지 增加시켰을 때 蔗糖濃도가 NCTC 10449의 BHI-FGC와 BHI-SGC에 對한 anti-FGC 0.9  $\mu$ l의 附着抑制效果에 미치는 影響을 觀察하였다.

### 6. 附着實驗

#### 培養條件이 다른 同一 菌株의 附着力 比較

免疫原과 試驗管內 附着抑制實驗에 利用했던 培養條件에 따라 NCTC 10449를 培養, 洗淨한 後 NCTC 10449의 附着力을 比較하였다. 즉, BHI-FGC와 BHI-SGC 및 免疫原으로 準備했던 BHI-FGC/1 N NaCl 洗淨菌과 蔗糖을 2% 添加시켜 培養한 TSB洗淨菌 各各을 試驗管에 蔗糖을 添加하지 않은 狀態와 蔗糖을 2% 添加한 狀態로 16~18時間 培養한 다음, 附着細菌과 非附着細菌을 따로 모아 540 nm에서 全體 細菌의 吸光度에 對한 附着細菌의 吸光度를 附着細菌比率<sup>29)</sup>로 計算하여 各 培養·洗淨菌의 附着力을 比較하였다.

TSB 洗淨菌은 甚한 凝集으로 因해 試驗管壁 附着現象이 나타나지 않아 比較에서 除外하였다.

#### 培養時 蔗糖含量에 따른 附着力 比較

蔗糖을 各各 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5% 添加한 BHI에 B-13을 16~18時間 培養, 洗淨한 後 試驗管에서 蔗糖 2%와 함께 培養했을 때의 附着細菌比率을 比較하였다.

#### 試驗管內 蔗糖含量에 따른 附着力 比較

BHI에 蔗糖을 0.05% 添加하여 培養한 後 洗淨된 B-13과 함께 蔗糖을 各各 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5%씩 試驗管에 混合·培養했을 때의 附着細菌比率을 比較하였다.

## III. 實驗結果

### 1. IgG 濃도에 따른 附着抑制效果

NCTC 10449 BHI-FGC에 對한 各 IgG의 附着抑制效果는 anti-CW에 비해 anti-SGC와 anti-FGC가 顯著히 크게 나타났다. 0.8  $\mu$ l 以上에서는 anti-FGC와 anti-SGC 사이에 差異가 없었으나 낮은 濃度에서는 anti-FGC의 效果가 anti-SGC보다 크게 나타났다 (Table 1, Fig. 2).

### 2. 各 IgG의 附着抑制效果

結果는 表 2와 3에 나타난 바와 같다.

規定濃度에서 IgG의 附着抑制效果는 NCTC 10449에 對해서 가장 크게 나타났으며, 같은 c血清型인 JC-2, e血清型인 MT 703 R에서 큰 抑制效果가 나타났고, f血清型인 OMZ 175에서도 抑制效果가 나타났으나 FA-1에 對해서는 效果가 거의 나타나지 않았다. 反面, d血清型인 B-13, g血清型인 OMZ 65에 對해서는 오히려 附着尤進效果가 나타났다.

IgG의 附着抑制效果는 anti-FGC의 境遇 JC-2와 MT 703 R, anti-CW의 OMZ 175를 除外하고는 BHI-FGC에 비해 BHI-SGC에 對한 附着抑制效果가 顯著히 減少하였다.

OMZ 175 BHI-FGC의 境遇를 除外하고는 一般的으로 anti-SGC와 anti-FGC가 anti-CW보다 큰 抑制效果를 보였고, anti-FGC는 JC-2 BHI-FGC에 對한 效果를 除外하고는 anti-SGC보다 큰 附着抑制效果를 보였다.

### 3. 試驗管內 蔗糖濃도에 따른 IgG의 附着抑制效果

試驗管內 蔗糖濃도를 0~5%까지 增加시키면서 NCTC 10449 BHI-FGC와 BHI-SGC에 對한 anti-FGC

**Table 2.** Adherence inhibitory effect of each IgG antibody preparation to 2% fructose grown cells of *S. mutans*\* (%)

IgG Preparation	Dose ( $\mu$ l)	NCTC 10449 (c)	FA-1 (b)	JC-2 (c)	B-13 (d)	MT 703 R (e)	OMZ 175 (f)	OMZ 65 (g)
anti-SGC	0.9	73.9(2.7)	6.1(3.3)	35.7(1.8)	-11.1 <sup>b</sup> (5.5)	27.8(1.5)	17.6(4.1)	-14.3(3.6)
	0.45	49.9(1.3)	4.2(2.1)	21.8(0.9)	-1.0(1.5)	15.7(2.4)	9.9(2.7)	-12.4(5.3)
	0.225	25.4(1.2)	2.2(1.1)	1.6(3.8)	9.1(4.3)	7.4(4.5)	-4.2(3.5)	-6.0(1.2)
anti-FGC	0.9	73.0(1.4)	1.0(13.3)	25.3(0.8)	7.7(1.6)	53.0(3.7)	22.3(2.0)	-11.2(4.5)
	0.45	65.3(0.7)	0.9(11.6)	13.4(3.6)	11.6(4.2)	26.8(0.7)	14.6(5.8)	-4.8(1.3)
	0.225	49.9(1.3)	-1.6(9.5)	7.5(0.4)	3.9(2.0)	12.7(5.5)	3.5(2.1)	-4.2(1.2)
anti-CW	0.9	39.7(1.6)	9.1(4.1)	28.1(0.6)	7.8(3.4)	22.0(0.7)	30.7(4.7)	-3.6(1.0)
	0.45	22.8(0.6)	5.3(2.9)	26.5(2.2)	8.1(4.0)	8.9(2.1)	25.5(1.7)	3.9(1.8)
	0.225	13.4(1.7)	-2.3(11.5)	14.8(3.1)	11.4(2.4)	6.4(1.6)	12.8(1.9)	-8.7(0.7)

a: cells grown in brain heart infusion broth supplemented with 2% fructose.

b: this represents that the percentage of increased adherent cells to glass surface compared with control test glass tube which did not contain IgG antibody.

**Table 3.** Adherence inhibitory effect of each IgG antibody preparation to 0.1% sucrose grown cells of *S. mutans*\* (%)

IgG Preparation	Dose ( $\mu$ l)	NCTC 10449 (c)	JC-2 (c)	B-13 (d)	MT 703 R (e)	OMZ 175 (f)	OMZ 65 (g)
anti-SGC	0.9	50.4(1.3)	9.4(1.5)	-23.4(4.0)	13.7(4.3)	-21.8(2.7)	-10.0(0.3)
	0.45	39.0(0.8)	9.2(2.7)	-30.7(2.1)	0.2(5.7)	-12.5(3.6)	-8.3(2.2)
	0.225	29.9(3.6)	10.9(1.8)	-25.3(3.3)	3.7(5.1)	-11.9(1.6)	-6.7(1.3)
anti-FGC	0.9	68.1(0.8)	31.9(1.0)	-18.0(6.6)	64.6(1.1)	13.1(1.4)	-3.2(1.3)
	0.45	61.8(2.8)	28.0(2.2)	-3.3(3.4)	54.0(2.2)	2.8(6.6)	-4.8(2.0)
	0.225	47.5(1.3)	22.0(0.6)	-8.2(6.1)	44.5(1.3)	2.6(6.3)	-2.1(0.3)
anti-CW	0.9	40.6(9.1)	24.5(2.3)	-1.5(2.2)	-15.2(3.3)	9.1(4.7)	-2.3(0.6)
	0.45	25.7(6.8)	22.9(2.7)	-23.9(0.6)	-32.2(3.5)	8.6(0.8)	1.1(1.8)
	0.225	19.2(0.2)	23.4(2.6)	-14.2(3.2)	-8.1(1.9)	4.8(0.6)	5.1(0.4)

\*cells grown in brain heart infusion broth supplemented with 0.1% sucrose.

Note: assay evaluation for FA-1 was impossible due to the weak adherence ability of the strain.

0.9  $\mu$ l의 抑制效果를 比較한 結果(Table 4), BHI-FGC에 對해서는 蔗糖濃度가 增加함에 따라 anti-FGC의 抑制效果도 漸次 增加하였으나 큰 差異가 없었고, BHI-SGC에 對해서는 3% 以上에서 多少 減少하였으나 亦是 큰 差異는 없었다.

#### 4. 培養條件이 다른 同一 菌株의 附着力 比較

NCTC 10449의 BHI-FGC/1 N NaCl 洗淨菌과 BHI-FGC, BHI-SGC의 附着力을 比較한 結果(Table 5), 蔗糖이 添加되지 않았을 때는 相互間에 差異가 없었으나 蔗糖이 添加되었을 때 BHI-FGC/1 N NaCl 洗淨菌은 附着力이 增大되지 않은 反面, BHI-FGC와 BHI-

SGC는 附着力이 크게 增加하였으며 BHI-SGC의 附着力이 BHI-FGC 보다 크게 增加하였다.

#### 5. 培養時 蔗糖含量에 따른 附着力 比較

BHI에 蔗糖의 含量을 달리하여 培養한 B-13 洗淨菌의 附着力은 蔗糖含量 0.05%까지는 크게 增加하여 蔗糖含量 0.05%에서 最高 87.3%의 附着細菌比率을 보였으나 蔗糖濃度 0.1% 以上에서는 附着細菌比率이 크게 減少하여 蔗糖含量 0.5%에서 附着細菌比率이 15.5%로 나타나 蔗糖을 添加시키지 않고 培養한 境遇보다 오히려 減少하였다(Table 6).

**Table 4.** Effect of sucrose with various concentrations on the adherence inhibitory effect of 0.9  $\mu$ l of anti-2% fructose grown/1 N NaCl washed *S. mutans* NCTC 10449 to homologous strain NCTC 10449(%)

Sucrose added(%)	Adherence inhibitory effect to:	
	2% fructose grown cell	0.1% sucrose grown cell
no	69.9 (1.9)	70.1 (2.3)
1	68.1 (0.5)	70.8 (1.6)
2	72.7 (0.2)	69.1 (0.8)
3	73.0 (0.2)	64.0 (1.3)
4	75.1 (0.5)	64.3 (1.6)
5	76.0 (0.2)	64.3 (1.5)

**Table 5.** Comparison of the adherence ability of each preparation of *S. mutans* NCTC 10449 used for experiments\* (%)

Sucrose added(%)	1 N NaCl washed cell <sup>b</sup>	2% fructose grown cell	0.1% sucrose grown cell
0	25.0 (1.1)	29.5 (1.4)	23.4 (1.3)
2	27.1 <sup>c</sup> (2.9)	42.0 (0.6)	50.4 (0.8)

a: brain heart infusion broth was used as a base medium.

b: cell grown in brain heart infusion broth supplemented with 2% fructose, followed by 1 N NaCl washing.

c: percentage of adherent cells when cultured with 2% sucrose in non-growth condition.

**Table 6.** Relative adherence ability of *S. mutans* B-13 grown in brain heart infusion broth supplemented with various sucrose concentrations

Sucrose added in medium(%)	Adherence(%)
no	19.3*(0.8)
0.01	35.4 (3.0)
0.05	87.3 (1.2)
0.1	34.8 (2.0)
0.2	29.9 (0.3)
0.5	15.6 (1.6)

\*percentage of adherent B-13 cells had been grown in brain heart infusion broth without additional sucrose when cultured with 2% sucrose in non-growth condition.

#### 6. 試驗管内 蔗糖含量에 따른 附着力 比較

蔗糖이 0.05% 添加된 BHI에서 培養한 後 洗淨된 B-13의 附着細菌比率은 試驗管内 蔗糖含量의 增加에 따라 增加하였으며, 特히 蔗糖含量 1, 2%에서 크게 增加하였다. 蔗糖含量 2%에서 87.1%로 最大 附着細菌比率을 보였고, 5% 濃度에서는 附着細菌比率이 多少 減少하였다(Table 7).

**Table 7.** Effect of sucrose concentration on the adherence ability of *S. mutans* B-13 grown in brain heart infusion broth supplemented with 0.05% sucrose

Sucrose added in test tube(%)	Adherence(%)
no	18.2 (0.7)
0.1	16.5 (2.2)
0.5	27.5 (1.9)
1.0	61.4 (2.0)
2.0	87.1 (1.1)
5.0	80.1 (0.3)

#### IV. 考 察

血清 IgG 抗體는 多形核白血球의 食食能力을 增進시킴으로써 齒苔内 *S. mutans* 數가 減少하고 齶蝕發生이 抑制되는 것으로 報告되었다<sup>21, 22, 23, 24</sup>). Olson 等<sup>25</sup>은 抗血清을 anti-IgG 로 處理하면 附着抑制效果가 喪失되기 때문에 抗血清의 IgG 分割이 附着抑制效果와 關係가 있다고 하는 것을 間接적으로 밝혔다. 純粹하게 分離된 IgG 單의 效果를 觀察한 本 實驗에서, *S. mutans* NCTC 10449에 對한 特異血清 IgG 抗體는 同 菌株에 對해 4  $\mu$ l 濃度에서 anti-SGC가 85.4%, anti-FGC가 87.1%, anti-CW가 57.9%의 높은 附着抑制效果를 보였다(Table 1). 4  $\mu$ l 以上の 濃度에서는 差異가 없었다.

Anti-FGC는 0.4  $\mu$ l, anti-SGC는 0.8  $\mu$ l에서 이미 附着抑制效果에 plateau가 나타나 高濃度에서는 差異가 없었으나 0.225~0.9  $\mu$ l 濃度에서는 NCTC 10449 뿐만 아니라 다른 *S. mutans* 菌株들에 對해서도 anti-FGC의 附着抑制效果가 anti-SGC보다 顯著히 크게 나타났다(Table 1, 2, 3). 한편, IgG의 附着抑制效果는 BHI-FGC에 비해 BHI-SGC에 對해서 적게 나타났고, 特히 anti-SGC는 BHI-SGC에 對한 附着抑制效果가 BHI-FGC보다 顯著히 減少하였다(Table 2, 3). 蔗糖이 存在하면 많은 量의 GTF가 *S. mutans* 細胞表面에

吸着되면서 GTF의 活性이 活發해져 glucan 合成이 增加하고 附着力도 增加하는 것으로 알려져 있다<sup>13, 15, 16, 18, 20, 25, 30</sup>. 그러나 果糖과 함께 培養된 *S. mutans*는 細胞附着GTF의 形成量이 크게 減少되고<sup>21</sup>, *S. mutans*를 高鹽液의 NaCl로 洗淨하면 相當量의 細胞附着GTF가 除去되는 것으로 報告되었다<sup>18, 20</sup>. 이 方法대로 anti-FGC의 免疫原으로 準備했던 NCTC 10499의 BHI-FGC/1 N NaCl 洗淨菌은 蔗糖이 存在하여도 附着力이 增加하지 않았는데, 이것은 細胞附着GTF의 活性이 없었음을 反映하는 것으로 생각된다(Table 5). 反面, BHI-SGC는 蔗糖이 存在할 때 附着力이 크게 增加됨으로써 蔗糖과 함께 培養된 *S. mutans*는 多量의 細胞附着GTF가 形成되어 glucan 合成이 活發했음을 알 수 있다. 以上の 結果는 細胞附着GTF와 glucan 以外的 表面抗原과 그 抗體와의 反應이 IgG에 依한 附着抑制效果에 重要하게 作用하고 있음을 示唆하는 것이다. Mukasa와 Slade<sup>20</sup>도 細胞附着GTF에 對한 抗體形成이 微弱하여 glucan 合成을 妨礙하지 못 하더라도 全菌免疫으로 얻은 抗血清은 *S. mutans*의 附着을 抑制하는 것으로 報告하였다.

Hamada와 Torii<sup>15</sup>는 全菌免疫으로 얻은 抗血清의 附着抑制效果는 抗體에 依해 細菌이 큰 凝集塊를 이룸으로써 物理的으로 平滑面에 附着하기가 어렵게 되기 때문으로 推測하였다. 抗血清의 凝集效果는 蔗糖없이 培養된 *S. mutans* 免疫原보다 蔗糖과 함께 培養된 免疫原으로 獲得된 抗血清이 적게 나타났는데<sup>20</sup>, 이것은 *S. mutans*가 蔗糖으로 부터 glucan을 合成함으로써 形成된 莢膜이 凝集에 必要한 細胞壁 免疫決定基를 遮斷하기 때문으로 보인다. 蔗糖과 함께 培養된 NCTC 10449의 免疫 抗血清에는 glucan에 對한 抗體가 包含되어 있다<sup>27, 30</sup>. 그러나 이 抗體가 *S. mutans* 菌體와 直接 凝集反應하는 程度는 微弱하고<sup>27</sup>, 全菌의 免疫 抗血清에서 glucan에 對한 抗體가 除去되어도 抗血清의 附着抑制效果에는 差異가 없는 것으로 報告되었다<sup>11</sup>. 이런 結果로 미루어 本實驗에서 IgG 抗體의 附着抑制效果는 glucan이나 細胞附着 GTF보다는 GTF의 受容器인 細胞壁多糖體와 表面蛋白<sup>13, 14, 20, 26, 27</sup>을 비롯한 表面抗原<sup>13, 14, 26, 27, 33, 35</sup>들과의 凝集反應에 依한 것으로 思料된다. 따라서 同量의 IgG로 比較했을 때, 細胞附着GTF와 glucan에 對한 抗體가 包含된 anti-SGC 보다는 anti-FGC가 效果의으로 *S. mutans*의 表面抗原과 反應하여 附着抑制效果가 크게 나타났고, BHI-SGC 보다는 BHI-FGC에 對한 IgG의 附着抑制가 效果의으로 나타났으며, 滅菌과 細胞粉碎過程에서 表面抗原이 破壞 또는 喪失된 免疫原으로 獲得된 anti-CW

의 效果가 anti-SGC와 anti-FGC 보다 적게 나타난 것으로 생각된다. 蔗糖과 함께 培養된 *S. mutans*에 對해서는 分泌性 IgA에 依한 附着抑制效果도 없으며<sup>17</sup>, 多形核白血球에 依한 食食에 對해서도 抵抗하는 것으로 報告되었고<sup>20</sup>, 免疫原으로 使用된 境遇에는 凝蝕抑制效果가 多少 減少하는 것<sup>21</sup>으로 나타나고 있다.

IgG의 附着抑制效果는 免疫原과 同一 菌株인 NCTC 10449에 對해 가장 크게 나타났고, 같은 c 血清型인 JC-2와 e 血清型인 MT 703 R, f 血清型인 OMZ 175에서 큰 抑制效果가 나타났다(Table 2, 3). c 血清型은 血清型 e, f 菌株와 強한 血清學的 交叉反應이 나타나며<sup>2, 13, 16, 31</sup>, 이들 血清型間에는 生物學的, 生化學的 및 遺傳的인 類似性이 있다고 報告되었다<sup>6, 10, 13, 16, 31</sup>. 이 때문에 血清型間 交叉反應의 樣相은 附着抑制效果에서도 나타나며<sup>15, 29</sup>, *S. mutans*에 對한 抗血清의 食食增進效果에서도 發見되고 있다<sup>34</sup>. IgG에 依한 附着抑制效果의 血清型間 交叉反應樣相은 BHI-SGC보다는 BHI-FGC에서 分明하게 나타났고, anti-SGC 보다 anti-FGC에 依한 抑制效果에서 더욱 分明하게 觀察되었다.

NCTC 10449에 對한 IgG 抗體는 c, e, f 菌株에서 附着抑制效果가 크게 나타났으나, b 血清型인 FA-1에 對해서는 IgG의 效果가 거의 나타나지 않았다. 이것은 b 血清型이 다른 血清型的 菌株와 매우 다른 獨特한 血清學的 性狀을 보이기<sup>2, 6, 13, 14</sup> 때문으로 思料된다. 또한, d 血清型인 B-13과 g 血清型인 OMZ 65에 對해서는 抑制效果가 없었거나 附着亢進效果를 나타냈다(Table 2, 3). Liljemark 等<sup>24</sup>은 口腔 streptococci가 큰 凝集塊를 이루면 附着細菌數가 減少하고, 작은 凝集塊가 形成될 境遇에는 附着細菌數가 增加한다고 報告하였다. 이런 點으로 미루어, d, g 菌株에서는 反應할 수 있는 抗體가 c, e, f 菌株에 비해 적기 때문에 작은 凝集塊가 形成되어 附着이 亢進된 것으로 思料된다. 附着亢進效果는 d, g 菌株에서 뿐만 아니라 MT 703 R, OMZ 175에서도 나타났다. 또한 IgG의 種類나 菌株에 따라 一定치 많은 IgG 濃度에서 附着亢進效果가 나타났기 때문에 IgG 抗體가 少量의 適正濃度로 存在할 境遇에만 작은 凝集塊가 形成되어 *S. mutans*의 附着을 亢進시킬 수 있는 것으로 推測되었다. 이것을 立證하기 爲해 IgG의 濃度を 낮춰 NCTC 10449 BHI-FGC와 反應시킨 結果(Table 8), anti-SGC는 0.09  $\mu$ 에서 14.1%의 附着亢進效果를 나타냈고, anti-FGC는 0.05  $\mu$ 에서 17.3%, anti-CW는 0.08  $\mu$ 에서 9.7%의 亢進效果를 보였다. 附着亢進效果를 나타낸 IgG 濃度 以上の 濃度에서는 亢進效果가 나타나지 않았거나 無視

**Table 8.** Effect of each IgG antibody preparation with lower concentrations on the adherence of 2% fructose grown *S. mutans* NCTC 10449 (%)

Dose( $\mu$ l)	anti-SGC	anti-FGC	anti-CW
0.15	13.3 <sup>a</sup> (1.4)	40.1 (1.7)	12.0 (1.0)
0.125	12.6 (1.6)	30.3 (0.2)	10.3 (1.3)
0.10	10.4 (1.3)	14.7 (2.2)	9.7 (1.3)
0.09	-14.1 <sup>b</sup> (1.6)	6.5 (0.8)	7.9 (1.0)
0.08	-2.8 (0.6)	4.9 (0.9)	-9.7 (0.4)
0.07	2.8 (1.5)	-2.1 (2.7)	-1.4 (0.1)
0.06	-0.6 (0.6)	-1.1 (1.4)	3.2 (0.4)
0.05	-1.7 (1.0)	-17.3 (0.9)	2.0 (2.0)
0.04	- <sup>c</sup>	1.3 (1.3)	-
0.03	-	-1.2 (2.1)	-
0.02	-	-1.5 (2.6)	-

a: adherence inhibition was 13.3%.

b: adherence enhancement was 14.1%.

c: not done.

할 수 있을 정도로微弱하게 나타났고, 그 이하의 농도에서는 아무런 효과도 없었던 것으로 미루어, 반응할 수 있는少量的의 適正 IgG 농도는附着을 充進시키는 것으로 믿어진다. 이에 對해 알려진 報告는 없으나, Russell 等<sup>32)</sup>은 免疫되지 않은 血清內의 IgG 分割이 GTF-充進效果를 나타낸다고 밝혔고, Ciardi 等<sup>4)</sup>의 實驗에서는 GTF에 對한 抗體가 包含된 抗血清이 少量存在할 때 一時 附着細菌數가 增加하는 結果를 보였다. 이같은 事實로 미루어, *S. mutans*에 對한 特異血清抗體의 形成이 微弱한 個體에서는 貪食能力의 減少와 함께 平滑面에서 *S. mutans*의 增進될 수 있다는 가능성도 豫想할 수 있다. 唾液內 凝集因子의 量에 따라 hydroxyapatite에 附着하는 streptococci의 數가 增加할 수 있다는 가능성은 提示되고 있다<sup>24)</sup>.

試驗管內 蔗糖의 添加量을 增加시켰을 때 NCTC 10449 洗淨菌에 對한 anti-FGC의 附着抑制效果는 蔗糖濃度 2%와 比較하여 큰 差異가 없었다(Table 4). 이것은 細胞附着GTF가 蔗糖을 利用하여 glucan을 合成하기 以前에 IgG 抗體가 細胞表面과 反應함으로써 glucan에 依한 表面抗原의 被覆<sup>7,29)</sup>으로 因해 IgG의 效果가 減少되지 않았기 때문으로 생각된다.

細胞附着GTF의 活性이 없는 BHI-FGC/1 N NaCl 洗淨菌도 25%의 附着率을 보임으로써(Table 5) *S. mutans*의 平滑面 附着이 glucan 合成과 關係없이도 可能한 것으로 나타났다. *S. mutans*가 附着하기 爲해

서는 蔗糖으로부터 附着性的 非水溶性 glucan이 合成되는 것이 必要한 것으로 알려져 있다<sup>13,14,26,27)</sup>. 그러나 Clark 等<sup>2)</sup>은 *S. mutans*의 齒牙表面에 對한 附着은 蔗糖없이 일어날 수 있다고 報告하였고, Kuramitsu와 Ingersoll<sup>19)</sup>도 蔗糖으로부터 合成된 非水溶性 glucan만이 附着力을 높일 수 있는 唯一한 條件이 아님을 示唆하였다. 最近 Staat 等<sup>35)</sup>은 GTF의 受容器인 表面蛋白과는 性質이 다른 表面蛋白이 蔗糖과 關係없이 齒牙表面의 pellicle과 直接 反應하여 *S. mutans*가 齒牙에 附着하는 것을 發見하였고, 蔗糖으로부터 合成된 glucan은 *S. mutans*의 蓄積에 關與한다고 報告하였다.

一般 細菌增殖培地에는 微量의 蔗糖이 混在되어 있고, 그 中에서 BHI는 比較的 적은 量의 蔗糖이 包含되어 있다고 報告되었다<sup>12,15,39)</sup>. *S. mutans*는 培地에 混在되어 있는 程度의 微量의 蔗糖으로도 多量의 細胞附着GTF를 形成하기 때문에 本 實驗에서 0.1%의 蔗糖이 培養時 添加될 때 一部 菌株는 甚한 自體凝集現象을 보였다. BHI에 蔗糖의 添加量을 增加시키면서 培養한 B-13의 細胞附着GTF의 活性과 glucan 合成에 依한 凝集現象이 附着에 미치는 影響을 觀察한 結果, B-13의 附着能力은 蔗糖을 0.05% 添加하여 培養하였을 때 가장 높게 나타났고, 그 以上の 濃度에서는 蔗糖量의 增加에 따라 顯著히 減少되었다(Table 6). 一旦 蔗糖 0.05%에서 培養된 B-13을 試驗管內 蔗糖量을 增加시켰을 때 附着力은 0~2%의 濃度까지는 斷續增加하였고 5%에서는 附着力이 多少 減少되었다(Table 7). 이 結果로 볼 때 蔗糖 0.05%로 形成된 B-13의 細胞附着GTF는 甚한 凝集塊 形成없이 蔗糖濃度 5%까지 利用할 수 있을 程度로 充分한 活性이 있는 것으로 보인다. 그러나 培養時 蔗糖의 含量이 過多하여 多量의 細胞附着GTF가 形成되면 急速하게 glucan을 多量 合成하여 큰 凝集塊를 이룸으로써 附着力이 減少한 것으로 믿어진다.

血清 IgG 抗體는 *S. mutans*에 對한 多形核白血球의 貪食機能에 있어 主 效果系로 作用할 뿐만 아니라 附着抑制效果도 큰 것으로 나타났기 때문에 效果的인 齒牙齶蝕症의 免疫抑制機轉으로 생각되며, 血清 IgG 抗體가 *S. mutans*의 表面抗原과 反應하여 貪食效果와 附着抑制效果를 높이기 爲해서는 免疫原을 細胞附着GTF와 glucan이 存在하지 않는 狀態로 準備해야 할 것으로 思料된다. IgG 抗體의 附着抑制效果는 免疫原의 準備·處理過程, IgG와 反應시킨 菌株의 培養條件에 따라 큰 差異를 보이고 있고, 蔗糖의 濃度에 따라서 *S. mutans*의 附着力이 달라지기 때문에 實驗前에



確實한 實驗條件의 標準化가 必要한 것으로 思料된다.

## V. 結 論

食食機能의 主 效果系인 特異血清 IgG 抗體가 *Streptococcus mutans*의 平滑面 附着에 미치는 影響 및 IgG 抗體의 效果의인 附着抑制機轉을 淸明하고자 IgG 抗體를 獲得할 免疫原의 培養 및 處理過程, 實驗對象 *S. mutans* 菌株의 培養條件을 달리하여 各 IgG 抗體가 各 *S. mutans* 菌株에 미치는 影響을 觀察함과 同時에 IgG 抗體의 血清型間 交叉反應樣相, 蔗糖의 濃도가 *S. mutans*의 附着에 미치는 影響을 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 血清 IgG 抗體는 30.63  $\mu\text{g}$  濃度에서 免疫原과 同一 菌株인 *S. mutans* NCTC 10449(血清型 c)에 對해서 最高 87.1%의 附着抑制效果를 보였다.

2. 蔗糖과 함께 培養된 菌보다는 果糖과 함께 培養한 後 1 N NaCl로 洗淨하여 細胞附着GTF와 glucan이 除去된 菌으로 免疫하여 獲得된 IgG가 큰 附着抑制效果를 보였고, 蔗糖과 함께 培養된 菌에 對해서 보다는 果糖과 함께 培養된 菌에 對한 抑制效果가 크게 나타남으로써, *S. mutans*에 對한 IgG 抗體의 附着抑制는 細胞附GTF와 glucan 以外의 表面抗原들과의 直接的인 反應이 重要함을 알 수 있었다.

3. IgG의 附着抑制效果는 NCTC 10449(c)에서 가장 크게 나타났고, 같은 血清型의 菌株과 e, f 菌株에 對해서도 큰 抑制效果를 보였다.

4. IgG 抗體에 依한 附着抑制效果의 c, e, f 血清型間 交叉反應은 蔗糖과 함께 培養된 菌보다는 果糖과 함께 培養한 後 1 N NaCl로 洗淨된 菌으로 免疫하여 獲得된 IgG에 依해서 더욱 分明히 觀察되었으며, 蔗糖보다는 果糖과 함께 培養된 菌에 對해서 IgG가 反應할 때 分明히 觀察되었다.

5. IgG 抗體가 少量의 適正濃度로 存在할 때 *S. mutans*의 附着力을 充進시키는 것으로 나타나, 蔗糖과 함께 培養된 免疫原으로 獲得된 IgG는 NCTC 10449의 附着力을 0.69  $\mu\text{g}$  濃度에서 14.1%, 果糖과 함께 培養한 後 1 N NaCl로 洗淨된 免疫原으로 獲得된 IgG는 0.38  $\mu\text{g}$  濃度에서 17.3%, 細胞壁 免疫原으로 獲得된 IgG는 0.61  $\mu\text{g}$  濃度에서 9.7% 充進시켰다.

6. *S. mutans*의 試驗管壁에 對한 附着은 glucan과 關係없이 可能하였고, 蔗糖이 少量 存在할 때 試驗管壁에 對한 *S. mutans*의 附着力을 充進시켰으나 過量일 때는 多量의 glucan 合成에 依한 甚한 凝集現象으로 附着力을 減少시켰다.

## REFERENCES

- 1) 浜田茂幸, 杉中秀壽, 加藤慶二郎, 小谷尙三: 齲齒의 Symosium-病因論, 荒谷眞平編, 口腔保健協會發行, 東京, 日本, pp. 100~126, 1973.
- 2) Bratthall, D. and Pettersson, B-M.: Common and unique antigens of *Streptococcus mutans*. *J. Dent. Res.*, 55: A60, 1976.
- 3) Challacombe, S.J., Russell, M.W. and Hawkes, J.: Passage of intact IgG from plasma to the oral cavity via crevicular fluid. *Clin. Exp. Immunol.*, 34: 417, 1978.
- 4) Ciardi, J.E., Rosenthal, A.B. and Bowen, W. H.: Rapid quantitative determination of the effect of antiplaque agents and antisera on the growth, acid production, and adherence of *Streptococcus mutans*. *J. Dent. Res.*, 60: 756, 1981.
- 5) Clark, W.B., Bammann, L.L. and Gibbons, R.J.: Comparative estimates of bacterial affinities and adsorption sites on hydroxyapatite surfaces. *Infect. Immunity*, 19: 846, 1978.
- 6) Coykendall, A.L.: Four types of *Streptococcus mutans* based on their genetic, antigenic and biochemical characteristics. *J. Gen. Microbiol.*, 83: 327, 1974.
- 7) Evans, R.T. and Genco, R.J.: Inhibition of glucosyltransferase activity by antisera to known serotypes of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immunity*, 7: 237, 1973.
- 8) Germaine, G.R. and Schachtele, C.F.: *Streptococcus mutans* dextransucrase: Mode of interaction with high-molecular-weight dextran and role in cellular aggregation. *Infect. Immunity*, 13: 365, 1976.
- 9) Gibbons, R.J. and van Houte, J.: Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Ann. Rev. Microbiol.*, 29: 19, 1975.
- 10) Hamada, S., Masuda, N. and Shimamoto, T.: Some biological properties of *Streptococcus mutans* isolated from human mouth, with reference to the correlation with serotypes. *Archs. Oral Biol.*, 24: 627, 1979.
- 11) Hamada, S. and Slade, H.D.: Adherence of

- serotype e *Streptococcus mutans* and the inhibitory effect of Lancefield group E and *S. mutans* type e antiserum. *J. Dent. Res.*, 55 : C65, 1976.
- 12) Hamada, S. and Slade, H.D.: *Synthesis and binding of glucosyltransferase and in vitro adherence of Streptococcus mutans grown in a synthetic medium.* *Archs. Oral Biol.*, 24 : 399, 1979.
  - 13) Hamada, S. and Slade, H.D.: *Biology, Immunology and cariogenicity of Streptococcus mutans.* *Microbiol. Rev.*, 44 : 331, 1980.
  - 14) Hamada, S. and Slade, H.D.: *Mechanisms of adherence of Streptococcus mutans to smooth surfaces in vitro.* In "Bacterial adherence. Receptors and recognition." Series B, Vol 6, Edited by E.H. Beachey, Chapman and Hall, London, p. 107~135, 1980.
  - 15) Hamada, S. and Torii, M.: *Effect of sucrose in culture media on the location of glucosyltransferase of Streptococcus mutans and cell adherence to glass surfaces.* *Infect. Immunity*, 20 : 592, 1978.
  - 16) Hardi, J.M. and Bowden, G.H.: *Cell wall and serological studies on Streptococcus mutans.* *Caries Res.*, 8 : 301, 1974.
  - 17) Kilian, M., Roland, K. and Mestecky, J.: *Interference of secretory immunoglobulin A with sorption of oral bacteria to hydroxyapatite.* *Infect. Immunity*, 31 : 942, 1981.
  - 18) Kuramitsu, H.K.: *Characterization of cell-associated dextranucrase activity from glucose-grown cells of Streptococcus mutans.* *Infect. Immunity*, 10 : 227, 1974.
  - 19) Kuramitsu, H.K. and Ingersoll, L.: *Molecular basis for the different sucrose-dependent adherence properties of Streptococcus mutans and S. sanguis.* *Infect. Immunity*, 17 : 330, 1977.
  - 20) Kuramitsu, H.K. and Ingersoll, L.: *Interaction of glucosyltransferases with the cell surface of Streptococcus mutans.* *Infect. Immunity*, 20 : 652, 1978.
  - 21) Lehner, T.: *The role of serum and salivary antibodies in protection against dental caries.* In "Borderland between caries and periodontal disease II." *Proceedings of the 2nd European Symposium.* Edited by T. Lehner and G. Cimasoni, Academic Press, London, p.193~214, 1980.
  - 22) Lehner, T., Challacome, S.J. and Caldwell, J.: *Immunological and bacteriological basis for vaccination against dental caries in rhesus monkeys.* *Nature*, 254 : 517, 1975.
  - 23) Lehner, T., Russell, M.W. Caldwell, J. and Smith, R.: *Immunization with purified protein antigens from Streptococcus mutans against dental caries in rhesus monkeys.* *Infect. Immunity*, 34 : 407, 1981.
  - 24) Liljemark, W.F., Bloomquist, C.G. and Germaine, G.R.: *Effect of bacterial aggregation on the adherence of oral streptococci to hydroxyapatite.* *Infect. Immunity*, 31 : 985, 1981.
  - 25) McCabe, M.M. and Smith, E.E.: *Origin of the cell-associated dextranucrase of Streptococcus mutans.* *Infect. Immunity*, 7 : 829, 1973.
  - 26) Mukasa, H. and Slade, H.D.: *Mechanism of adherence of Streptococcus mutans to smooth surfaces. I. Roles of insoluble dextran-levan synthetase enzymes and cell wall polysaccharide antigen in plaque formation.* *Infect. Immunity*, 8 : 555, 1973.
  - 27) Mukasa, H. and Slade, H.D.: *Mechanism of adherence of Streptococcus mutans to smooth surfaces. II. Nature of the binding site and the adsorption of dextran-levan synthetase enzymes on the cell-wall surfaces of the Streptococcus.* *Infect. Immunity*, 9 : 419, 1974.
  - 28) Newbrun, E., Finzen, F. and Sharma, M.: *Inhibition of adherence of Streptococcus mutans to glass surfaces.* *Caries Res.*, 11 : 153, 1977.
  - 29) Olson, G.A., Guggenheim, B. and Small, P. A. Jr.: *Adherence inhibition of Streptococcus mutans: An assay reflecting a possible role of antibody in dental caries prophylaxis.* *Infect. Immunity*, 5 : 419, 1972.
  - 30) Passo, S.A., Tsai, C.-C., McArthur, W.P., Leifer, C. and Taichman, N.S.: *Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. IX. The bactericidal effects of human polymorphonuclear leukocytes on isolated plaque micro-*

- organisms. *J. Periodont. Res.*, 15 : 470, 1980.
- 31) Perch, B., Kjems, E. and Ravn, T.: *Biochemical and serological properties of Streptococcus mutans from various human and animal sources. Acta Path. Microbiol. Scand. Section B*, 82 : 357, 1974.
- 32) Russell, M.W., Challacombe, S.J. and Lehner, T.: *Serum glucosyltransferase-inhibiting antibodies and dental caries in rhesus monkeys immunized against Streptococcus mutans. Immunology*, 30 : 619, 1976.
- 33) Russell, M.W. and Lehner, T.: *Characterisation of antigens extracted from cells and culture fluids of Streptococcus mutans serotype c. Archs. Oral Biol.*, 23 : 7, 1978.
- 34) Scully, C.M. and Lehner, T.: *Bacterial and strain specificities in opsonization, phagocytosis and killing of Streptococcus mutans. Clin. Exp. Immunol.*, 35 : 128, 1979.
- 35) Staat, R.H., Langly, S.D. and Doyle, R.J.: *Streptococcus mutans adherence: Presumptive evidence for protein-mediated attachment followed by glucan-dependent cellular accumulation. Infect. Immunity*, 27 : 675, 1980.
- 36) de Stoppelaar, J.D.: *Decreased cariogenicity of a mutant of Streptococcus mutans. Archs. Oral Biol.*, 16 : 971, 1971.
- 37) Tanzer, J.M.: *Essential dependence of smooth surface caries on and augmentation of fissure caries by, sucrose and Streptococcus mutans infection. Infect. Immunity*, 25 : 526, 1979.
- 38) William, R.C. and Gibbons, R.J.: *Inhibition of bacterial adherence by secretory immunoglobulin A: A mechanism of antigen disposal. Science*, 177 : 697, 1972.
- 39) Wu-Yuan, C.D., Tai, S. and Slade, H.D.: *Properties of Streptococcus mutans grown in a synthetic medium: Binding of glucosyltransferase and in vitro adherence, and binding of dextran/glucan and glycoprotein and agglutination. Infect. Immunity*, 23 : 600, 1979.