

ギムネマ葉から抽出された各種成分の抗う蝕性効果

鳥取大学医学部生理学第一教室 (主任 日地康武教授)

三好 美智夫・井元 敏明

鳥取大学医療技術短期大学部看護学科

笠木 健

Antieurodontic effect of various fractions extracted from the leaves of *Gymnema sylvestre*.

Michio MIYOSHI, Toshiaki IMOTO and Takeshi KASAGI*

Department of Physiology, Tottori University School of Medicine
and Department of Nursing, Tottori University College
of Medical Care Technology*, Yonago 683, Japan

ABSTRACT

Streptococcus mutans has been strongly implicated as a causative organism of dental caries. In the present study, inhibitory effects of several fractions isolated from *Gymnema sylvestre*'s leaves on glucan synthesis by *Streptococcus mutans* under the presence of saccharose were investigated in detail by liquid culture methods in test tubes. The results are as follows:

- 1) No inhibitory effect of three fractions of decoction, precipitation at pH 3 and supernatant from *Gymnema sylvestre*'s leaves was observed.
- 2) Inhibitory effect against glucan synthesis was found to increase with increasing concentration of gymnemic acids (GA) from a dose of 0.5 mg/ml GA in proportion to logarithmic concentration.
- 3) Although bacterial growth was inhibited by an application of GA at the dose range of 1-10 mg/ml, its population was attained to saturate in the same level with the control ones at the long run culture.
- 4) Gymnemic acids used were further separated to several kinds of homologues by means of high performance liquid chromatography system, but they did not show so greater inhibitory potency against the glucan synthesis than that of GA before refined.
- 5) The enzymatic activity of glucosyltransferase which was separated from the bacterial coat was markedly inhibited in the presence of GA.
- 6) The inhibitory potency to the glucan synthesis was also found in glycyrrhizin, but no potency in stevioside.

These results strongly suggest that gymnemic acids could be useful for generally preventing formation of dental plaque as well as dental caries in social life.

(Accepted on February 10, 1987)

インド産の植物ギムネマ・シルベスタ葉から抽出されたトリテルペン系のグルクロン酸配糖体であるギムネマ酸は、ヒトの甘味感覚を選択的に消失させることで知られている⁶⁾。甘味消失の機序としては、味細胞の表面に存在する甘味受容体が甘味物質を受容し得ないようにギムネマ酸が作用するためと推察されている。このギムネマ酸にみられる糖受容抑制作用の考え方は、小腸におけるブドウ糖吸収阻害作用にも適用されている。すなわち、ラットを用いた糖輸送電位の測定、あるいは、腸管灌流法によるブドウ糖吸収抑制実験などで明らかにされ¹²⁾、さらにブドウ糖や砂糖、澱粉の負荷試験でもギムネマ酸による血糖値上昇抑制効果は観察されている^{9, 12, 13)}。

一方、虫歯の発生は口腔内に存在する連鎖球菌の一つストレプトコッカス・ムタンス (*Streptococcus mutans*) が砂糖を不溶性の多糖体グルカンに変え、これが歯牙表面のエナメル質に粘着することから始まると言われている⁴⁾。本論文はギムネマ酸にみられる糖受容抑制作用がグルカン形成にも阻害効果を示すものか詳細に検討したものである。

材料と実験方法

1. ギムネマ・シルベスタ葉からギムネマ酸の抽出方法

インドから輸入したギムネマ・シルベスタの乾燥葉を粉碎して 60 °C の温水中に約 5 時間浸し、これを 4 ~ 5 回繰り返した。図 1 で示したように、温水抽出液 (Decoction) を 2 N 硫酸で pH 3 に調整し、生じた沈澱物 (Ppt) を 10,000 rpm, 10 分間遠心して集め、その上清液 (Sup) とに分けた。沈澱物 (Ppt) は水で洗浄後エタノールで 4 ~ 5 回抽出を行った後に、エタノール抽出液を減圧下で濃縮し、その 2 倍量のアセトンを加えて遠沈して得た。上清部は減圧下で濃縮乾固し、炭酸ジエチルを加えて沸点下で数回抽出を繰り返した。その後、溶媒から析出するギムネマ酸 (GA) を集め、凍結乾固して実験に用いた。

2. 高速液体クロマトグラフィーによる分離方法

得られたギムネマ酸 (GA) は、さらに自動大量分取高速液体クロマトグラフィーシステム (ギルソン社) を使って次のようにして分離した。逆相系担体 (オクタデシル基結合シリカゲル, 粒子径 8 μm) を充填した分取用カラム (21.4 mm ID × 250 mmL) に試料を負荷し、移動相のメタノール濃度を徐々に上昇させると、メタノール濃度 70 ~ 80 % の部分に精製された種々の同族体と思われるギムネマ酸の成分が溶出して

Dried leaves of *Gymnema sylvestre*

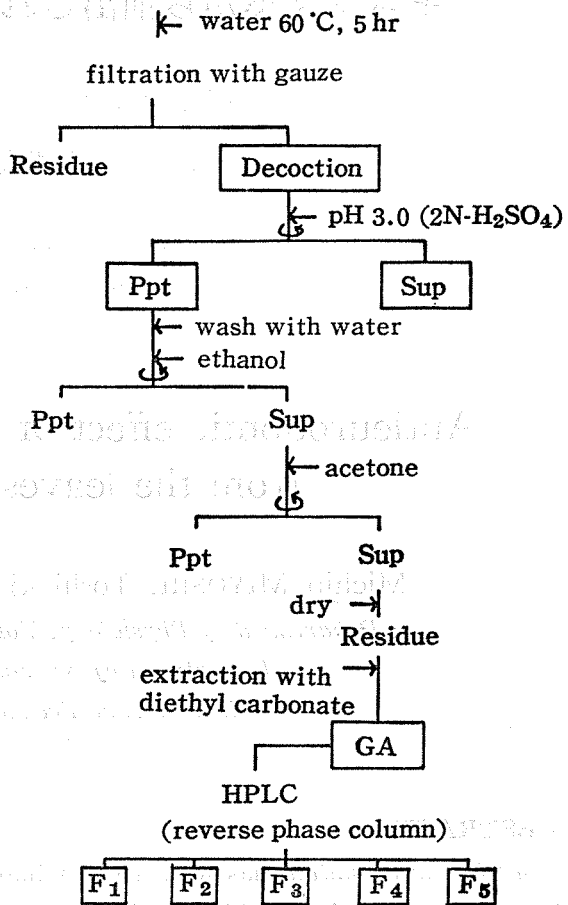


図 1. ギムネマ・シルベスタ葉からの温湯抽出物 (Decoction), pH 3 沈澱物 (Ppt), pH 3 上清 (Sup) およびギムネマ酸 (GA) 分画の調整。F 1 ~ F 5 は高速液体クロマトグラフィーによって分離された分画を示す。

る。こうして GA を 5 つの分画 (F 1 ~ F 5) に分離した。図 2 は、分析用カラム (4.6 mmID × 250 mmL) を用いて GA を分析したクロマトグラムで、図中に示した F 1 ~ F 4 および 100 % メタノールで最後に溶出される分画 F 5 が、分析用カラムで分離した 5 つの分画に対応している。

3. 菌の種類と培地

う蝕原性細菌は、*Streptococcus mutans*, IID 973 株、(東京大学医科学研究所の提供によるものを鳥取大学医療技術短期大学部上田益巳教授の御好意によって得た) を実験に供した。培地は TTY 培地を pH 7.7 で使用し、その培地成分は表 1 に示してある。菌の増殖にはブドウ糖 1 % を加え、実験用の基礎培地としてはサッカロースを含まない培地を用い、これに 1 % の

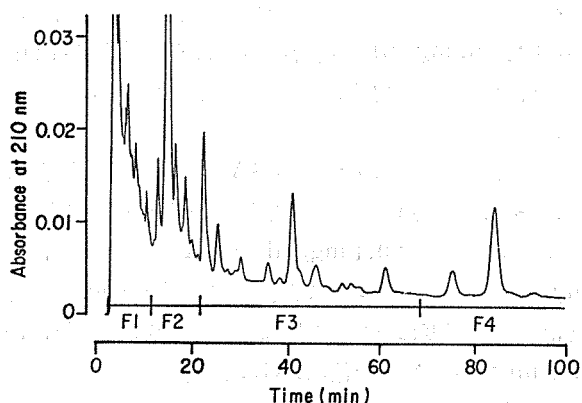


図 2. オクタデシル基結合シリカゲルを充填した分析用カラムによるギムネマ酸のクロマトグラム F1～F4 は分取用カラムで得られた分画に対応している。

移動相：60%メタノールを含む 20 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0), 流速：0.75 min, カラム温度：25.0 °C, 検出：210 nm, フルスケール 0.05 AU.

表 1. TTY 培地の組成

Compositions	Amount
Trypticase (BBL)	15 g
Tryptose (Difco)	4 g
Yeast extract (Difco)	4 g
K ₂ HPO ₄	2 g
KH ₂ PO ₄	5 g
Na ₂ CO ₃	2 g
NaCl	2 g
Sucrose or Glucose	10 g
Agar	15 g (hard) or 5 g (soft)
Distilled water	1000 ml

Final pH 7.7

サッカロースを含有する培地, 1%サッカロースに各種試験物質を種々の濃度で加えた培地をそれぞれ調整し, アガーを含有しない各種の液体培地にしてからクレット単位 112 の菌体 *S. mutans* を 400 μl/4 ml 当

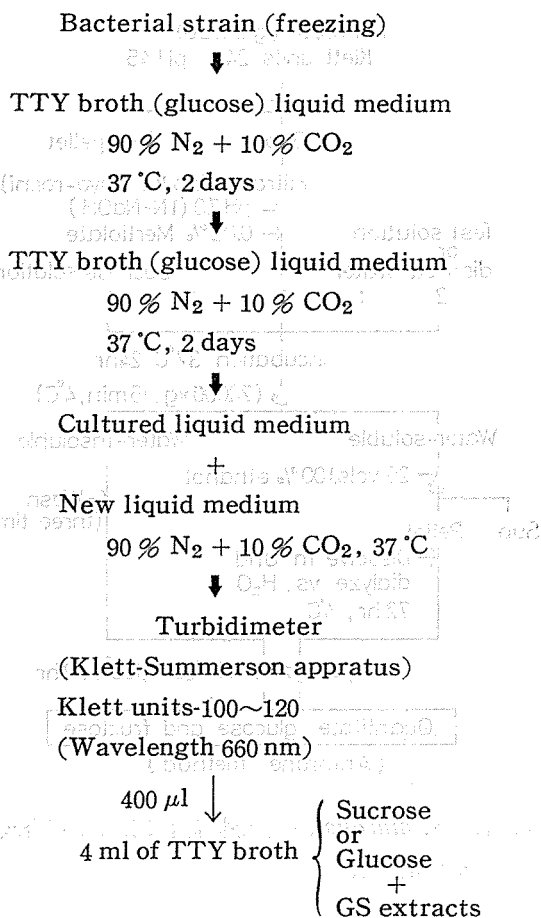


図 3. TTY 培地における *S. mutans* の嫌氣的培養法

り植菌して, 37~38 °C で必要な時間経過で培養した。培養中は, 窒素ガス 95%, 炭酸ガス 5% を供給した。

4. 菌量の定量

菌増殖のための定量には, TTY 培地にブドウ糖を含有した液体培地を用いて, 波長 660 nm の濁度計 (クレット-サマーソン社) を用いてクレット単位を測定することによって菌量の相対値とした (図 3)。400 μl/4ml 当りの植菌時の菌量は約 40 クレット単位である。

5. グルカンの定量

各種液体培地において生成された不溶性, ならびに水溶性グルカンの定量は, 波長 660 nm の濁度計を用いて菌量と共に相対的变化量としてクレット単位で測定した。

6. 菌体外酵素でのグルカン定量法

ブドウ糖含有の TTY 液体培地で培養された菌体 (クレット単位 240) を 4,000 rpm, 4 分遠心後, その上清をトローヨー濾紙 No. 101 で濾過したものに, 0.02

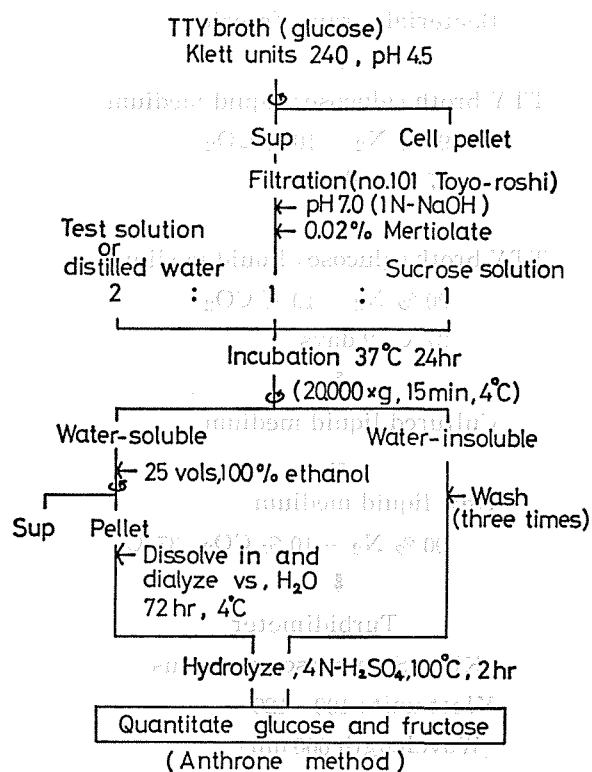


図 4. *S. mutans* の菌体外酵素による多糖合成とその定量法

%のメルティオレート（半井化学薬品株式会社）を加えた溶液中に存在する菌体外酵素抽出液を実験に用いた（図 4）。菌体外酵素での生成グルカン定量法としては、酵素抽出液にサッカロース 1%を加え、さらに各種試験液を添加して、37°C、24 時間放置後、20,000 ×g、15 分間、4°C で遠心して、沈澱物は不溶性グルカンとして、その上清を水溶性グルカンとし（エタノールで沈澱させて回収）、それぞれ 4 N 硫酸、100°C、2 時間放置で加水分解されたブドウ糖、果糖の量をアンスロン法で測定した（図 4）。

結 果

サッカロースを含有しない液体 TTY 培地（No suc）に菌体量 10 クレット単位を植菌してもグルカンの生成はみられないが、サッカロースをこれに加えるとグルカンは大量に生成される。図 5 は植菌後 48 時間後の状態を示したものである。図の中で、サッカロース含有培地に散在してみられる白色粒状の物質が不溶性グルカンである。これにギムネマ葉の温湯抽出物（Deco）、あるいは pH 3 の沈澱物（pH 3 ppt）やその上清物（Sup）を添加してもグルカンの生成は抑制

されず、むしろやや増加する傾向にあることが判る。添加物質 10 mg/ml の場合にみられる試験管溶液中の茶褐色は、添加物それ自身の着色によるものである。

ところが抽出ギムネマ酸（GA）を添加した場合には、1%のサッカロースが存在しているのにも拘らず、グルカンの生成は 0.1 mg/ml の GA でやや弱く、1 mg/ml ではサッカロースを含まない No suc の場合とほぼ同じ程度にまで抑制される（図 6 の上図）。10 mg/ml でみられる着色は、GA 自身によるものであるが白色粒状のグルカンは全くみられない。

これらの結果を濁度計を用いてクレット単位で測定し、まとめたものが図 7 である。No suc の場合には、10 クレット単位であったものが 1%サッカロース含有培地ではグルカン生成のために、その値は 90 単位に上昇している。ところが、10 mg/ml GA を添加したサッカロース含有培地でのクレット単位は僅かに 12 と No suc のそれに近い。また、Sup あるいは Deco 添加培地ではコントロールの 1%サッカロース培地よりもグルカンの生成が増大していることが判る。菌体量を 10 から 4 倍量の 40 クレット単位に増やした結果が図 8 である。菌体量が増えたために、Deco、pH 3 ppt、Sup にみられるグルカンの生成傾向が顕著に増大していることが示されている。

ギムネマ酸と化学構造上、類似の物質グリチルリチン並びにグリチルリチンと同程度に甘味強度を持つステビオシドに対する抗う蝕性効果について調べたものが図 6 の下図に示してある。1 mg/ml のグリチルリチン添加によってグルカン生成の抑制効果がみられ、その程度は 1 mg/ml ギムネマ酸の効果に近い。しかし、図にみられるように 1 mg/ml ステビオシドにはその抑制効果はみられない。このことに基づいて、ギムネマ酸とグリチルリチンとの併用抑制効果をまとめたものが表 2 である。グルカン生成抑制効果はほぼ相加的に発現し、相乗効果は存在しないことが判る。

ギムネマ酸のグルカン生成抑制作用は濃度依存性である事を示したものが図 9 である。その抑制効果は、ギムネマ酸 0.5 mg/ml から現れ、対数濃度にしたがって直線的に増大している。10 mg/ml GA ではグルカンの生成はコントロールに比べて僅かに 25%であり、抑制率では 75%に達している。

ギムネマ酸の菌体増殖に対する効果をみたものが図 10 である。1%ブドウ糖液体培地では *S. mutans* はグルカンを生成することなく増殖するが、その程度は培養 24 時間において急速に増大し、以後飽和状態と

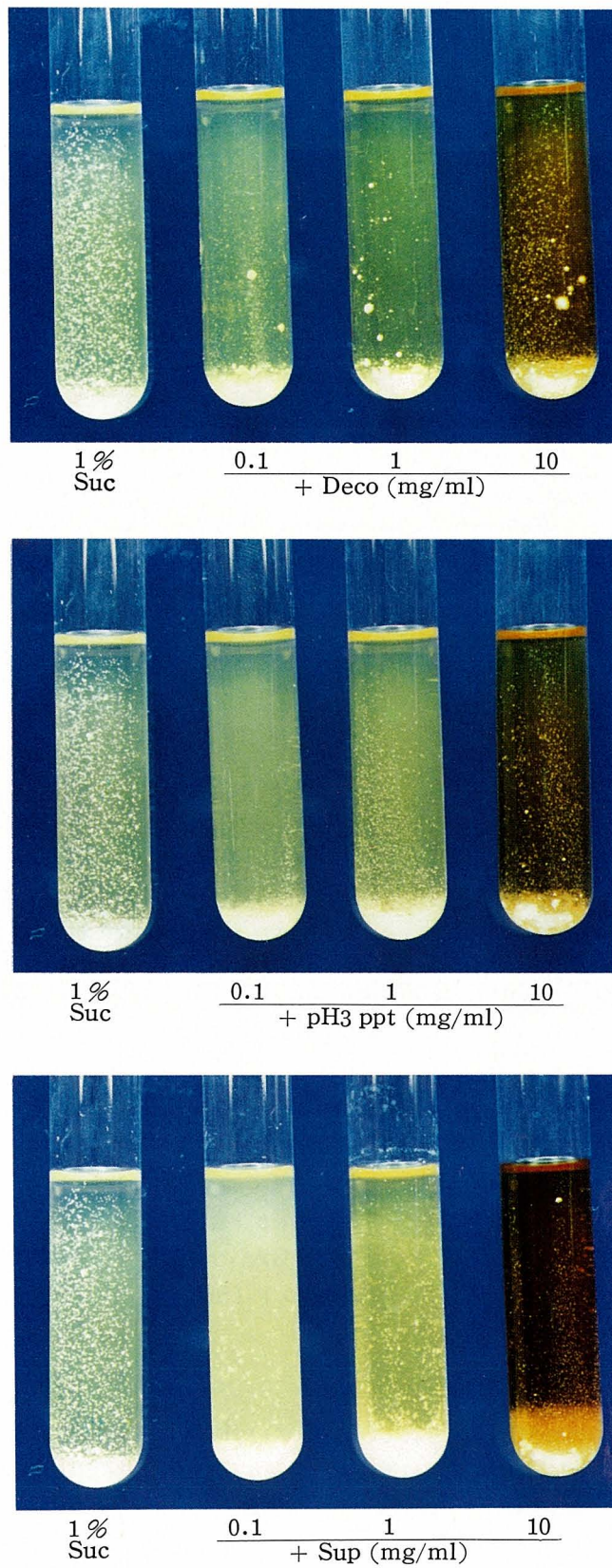


図 5. *S. mutans* のグルカン生成に及ぼすギムネマ葉抽出物の効果
 上：温湯抽出物 (Deco), 中：pH 3 沈澱物 (pH 3 ppt), 下：pH 3 上清 (Sup).
 37 °C, 48 時間嫌氣的条件下で培養.

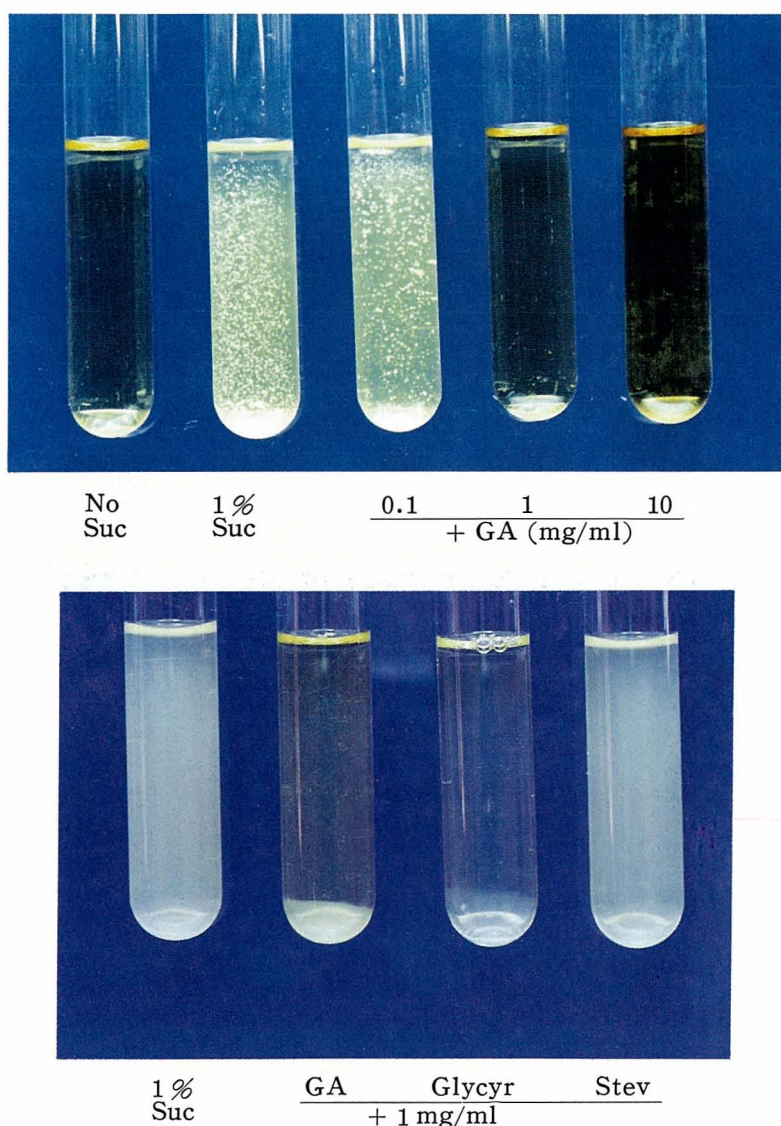


図 6. 上：*S. mutans* のグルカン生成に及ぼす GA の抑制効果

1%サッカロース含有培地では試験管壁に付着性の白いグルカンを形成する。
GA (1, 10 mg/ml) を添加した試験管には付着していない。

下：*S. mutans* の菌体外酵素によるグルカン合成

左よりサッカロース, サッカロース+ GA, サッカロース+グリチルリチン
(Glycyr), サッカロース+ステビオンド (Stev) を各々含む。

37°C で 24 時間反応させた。

なる。ところが、これにギムネマ酸が添加されていると増殖は大幅に抑制される。培養 24 時間は無添加の場合のほぼ半量に (1 mg/ml GA) あるいは 1/3 量 (10 mg/ml GA) に減少する。しかし、96 時間の培養ではギムネマ酸を添加してもしなくても同じ増殖量に到達している。

図 11 は、1%ブドウ糖液体培地における菌体の増殖と培地の pH 変化をみたものである。植菌時の培地

の pH は 7.7 に調整してあったものが時間経過と共に菌体は増殖し (図 10), それと共に培地の pH は 5 以下に下がることが示されている (図 11)。

図 12 は、抽出ギムネマ酸を、さらに高速液体クロマトグラフィーで分離精製して得られた各フラクションについて、菌体外酵素におけるグルカンの生成抑制効果の違いを不溶性グルカンと水溶性グルカンに分けて調べたものである。1%サッカロース含有培地では

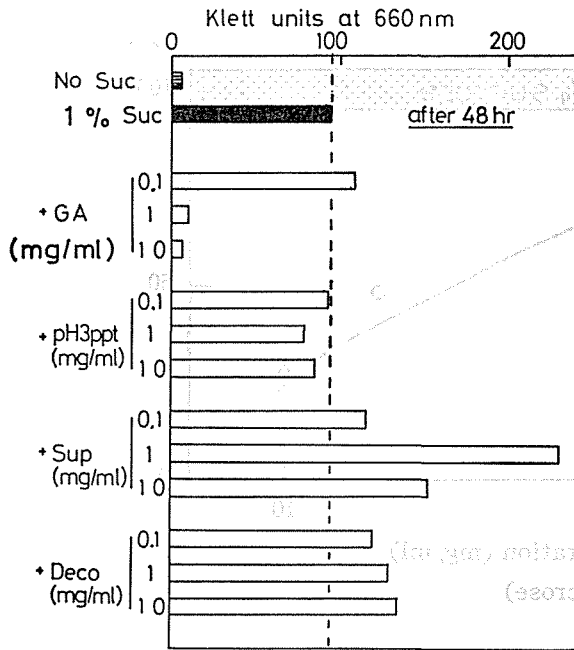


図 7. *S. mutans* のグルカン生成に及ぼすギムネマ葉抽出物の効果

図 5, 図 6 上の試験管に付着したグルカンをガラスホモジナイザーで粉砕し, 濁度を測定した. 110 クレット単位の菌量を 100 μ l/4 ml の割合で植菌した.

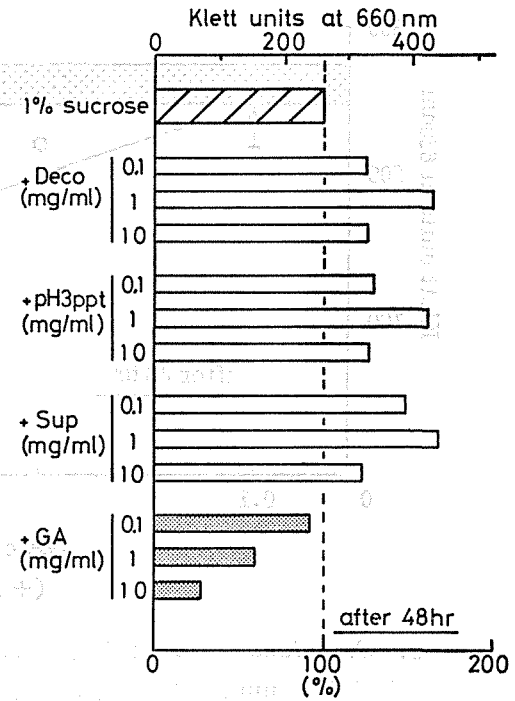


図 8. *S. mutans* のグルカン生成に及ぼすギムネマ葉抽出物の効果

植菌量を図 7 の 4 倍にした結果を示す.

表 2. *S. mutans* の菌体外酵素によるグルカン生成に及ぼす GA とグリチルリチン (Glycyr) の併用効果

1% Sucrose + Additives (mg/ml)	WIG		WSG	
	μ g/ml	%	μ g/ml	%
1% Suc	666	100	120	100
1% Suc + GA (1.00)	284	43	15	13
1% Suc + GA (0.75) + Glycyr (0.25)	242	36	15	13
1% Suc + GA (0.50) + Glycyr (0.50)	252	38	10	8
1% Suc + GA (0.25) + Glycyr (0.75)	296	44	10	8
1% Suc + Glycyr (1.00)	278	42	15	13

WIG: 不溶性グルカン, WSG: 水溶性グルカン

不溶性グルカンの生成が圧倒的に多く, 水溶性グルカン量は不溶性の約 1/8 である. これに GA 1 mg/ml を添加することによって, 不溶性グルカン量は約 1/8 に抑えられるが, もともと少ない水溶性グルカン量抑

制はコントロール値の約 1/4 であった. ところが GA を更に分離精製したフラクションにおいては, いずれも抑制効果は顕著ではあるが, 分離精製前の GA に比べ, さほど大きな差はみられていない.

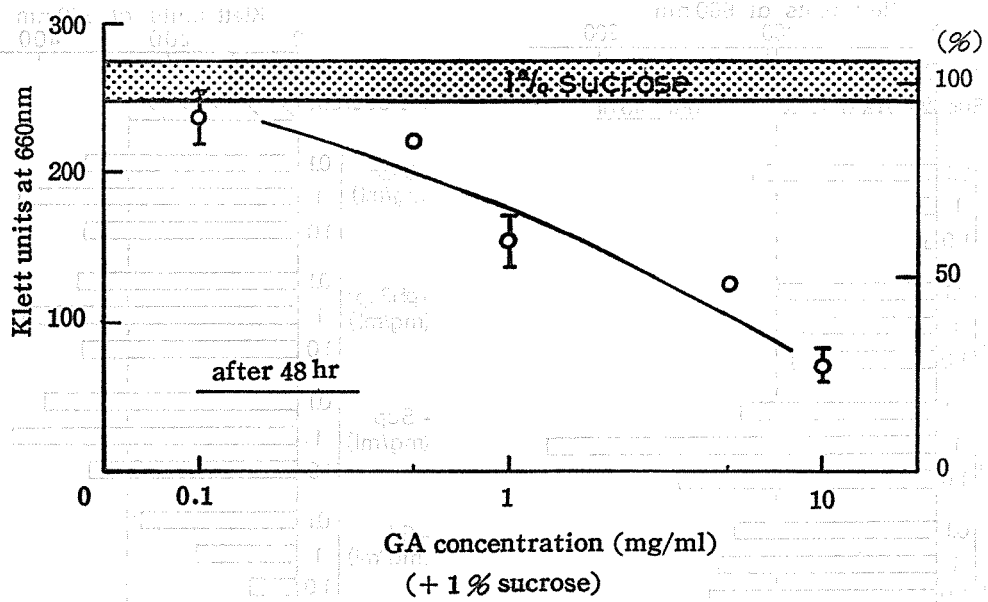


図 9. *S. mutans* のグルカン生成に及ぼすギムネマ酸の効果

縦軸は 660 nm における濁度、横軸は 1% サッカロースに添加したギムネマ酸の濃度を示す (n = 1 ~ 6).

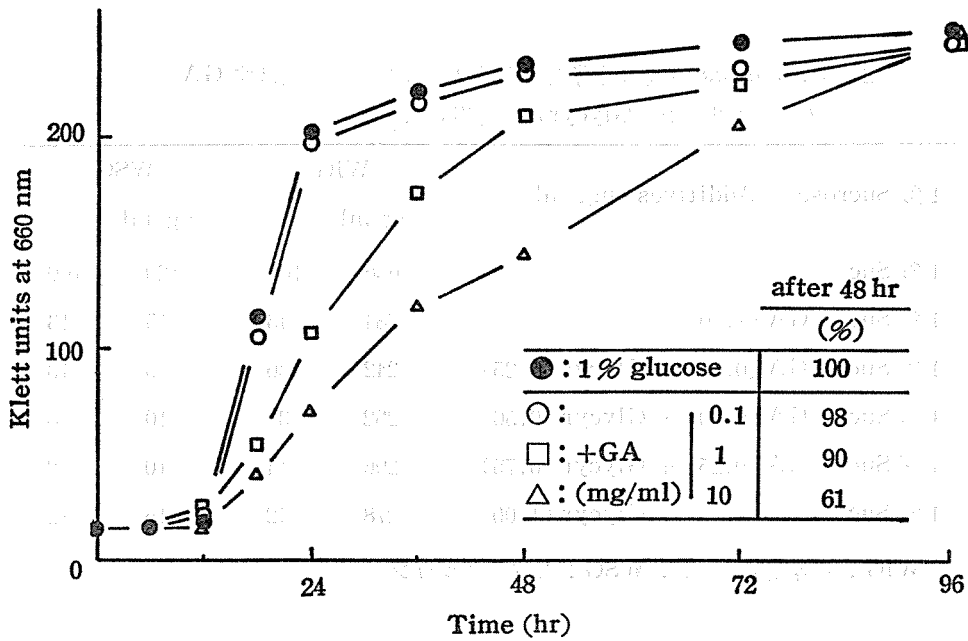


図 10. 1%ブドウ糖を含む培地における *S. mutans* の増殖に及ぼすギムネマ酸の効果

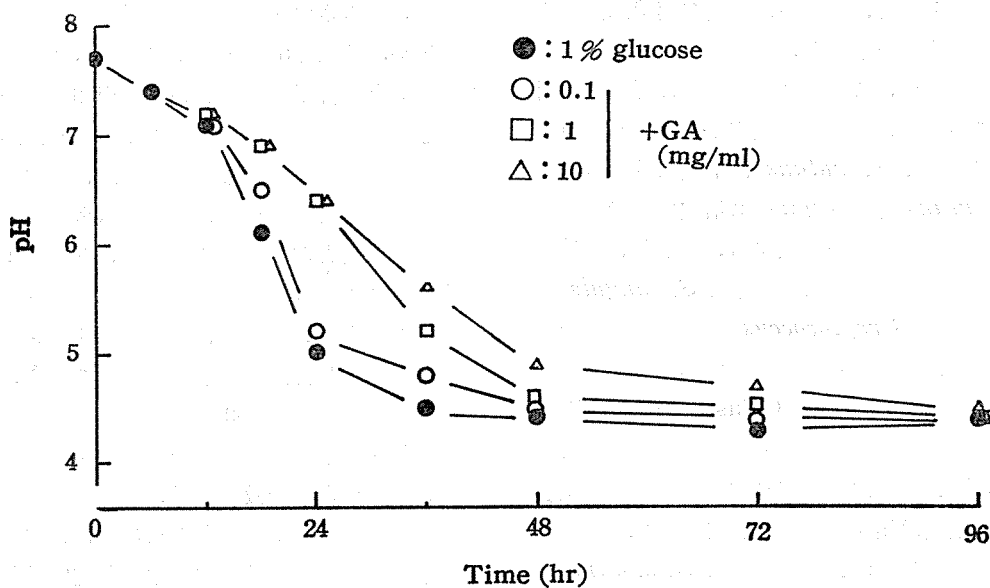


図 11. 1%ブドウ糖を含む培地での *S. mutans* の増殖に伴う培地の pH 変化, および それに対するギムネマ酸の効果

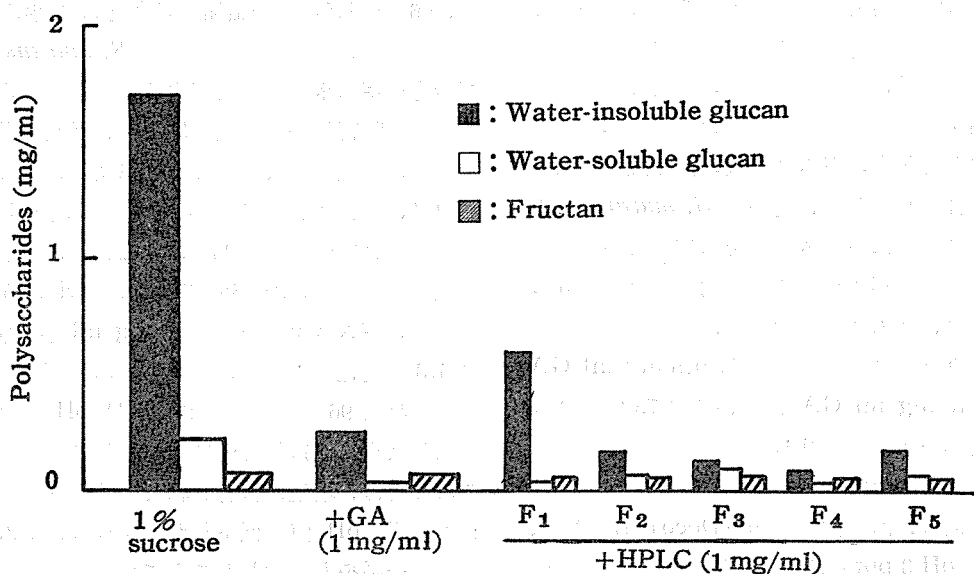


図 12. *S. mutans* の菌体外酵素によるグルカン生成に対する GA および GA より分離した分画 F1~F5 の抑制効果

考 察

虫歯の原因については、古くから様々な説が言われていたが、Koch が結核菌を発見するにともなって早くも虫歯を細菌性疾患としてとらえたようである。1924年、英国の Clarke¹⁾が虫歯の空洞から取り出した細菌 *Streptococcus mutans*こそ、現在ではう蝕

原性細菌だと認められている。この問題に決着をつけたのは米国の Orland¹¹⁾であり、彼らは無菌ラットを使っとう蝕性病因の研究を行った結果、*S. mutans*に感染しない限り、いくら砂糖を食べても虫歯にならないことを明らかにした。さらに、Fitzgerald と Keyes²⁾は虫歯にかかっているハムスターのう蝕病巣から複数の菌株を分離し、これらの株を個別に正常動

物の口腔に接種すると、この中の特定な連鎖球菌のみが虫歯を誘発する事を示した。その後、続々と類似の連鎖球菌が分離され、これらは細菌学的に詳細な検討が加えられているが、現在では細胞壁多糖抗原の免疫化学的特性により、*S. mutans* は7種に分類されている⁹⁾。*S. mutans* をサッカロース培地で培養すると試験管壁に大量の付着物を形成する。しかし、実験動物に虫歯を誘発しない細菌、例えば *S. sanguis* や *S. mitior* などは *Streptococcus* であっても付着物を形成しない⁷⁾。この付着現象は菌体外酵素であるグルコシルトランスフェラーゼ (GTase) の働きによってサッカロースから不溶性グルカンが合成されることが必須であり¹⁰⁾、これが他の口腔内細菌凝集体を歯表面に形成して虫歯は始まると言われている⁵⁾。

従って、虫歯予防方法の一つには、*S. mutans* を抗生物質などによって除去することが考えられるが³⁾、*S. mutans* がサッカロース分子を識別し得なくすることも問題解決の一つであろう。そのためには、ギムネマ酸の利用が考えられる。ギムネマ酸にはヒトの甘味感覚を選択的に消失させる働きのあることが古くから知られているからである⁶⁾。ギムネマ酸の糖受容抑制効果については、最近になって、小腸でのブドウ糖吸収を抑制することが報告されている^{9,12,13)}。

このようなことから、ギムネマ酸の抗う蝕性効果は大いに期待されるわけだが、実際に *S. mutans* に1%サッカロースと共にギムネマ酸を添加して与えるとグルカンの生成は抑制されることが判明した (図6)。この抑制効果は、ギムネマ酸の濃度に依存して発現し、1%サッカロースの存在下では0.5 mg/ml GA からみられ、10 mg/ml GA においては75%のグルカン生成抑制率を示す (図9)。

ところが、ギムネマ酸を含むがあまり精製されていない成分、例えば、温湯抽出成分 (Deco) あるいは pH 3 沈澱物 (pH 3 ppt) においてはグルカンの生成はむしろ増大している (図8)。このことは、精製されていない成分中にはギムネマ酸の作用を阻害する物質か、糖の分子識別を促進させる物質が含まれていることを示しているのかも知れない。事実、GA を含んでいない Sup 成分はグルカン生成を促進している (図7, 8)。精製された GA 成分中には、まだ多くのギムネマ酸類似の同族体が含まれている可能性は大きい (図2)。しかし、同族体相互間でグルカン生成抑制効果に殆ど差はなさそうである (図12)。また同族体ではないが、ギムネマ酸の化学構造と類似なトリテルペン系の2分子グルクロン酸配糖体であるグリチルリチ

ンには、ギムネマ酸とほぼ同じ程度のグルカン生成抑制効果がある (図6の下図)。またギムネマ酸とグリチルリチンとの併用実験においても相加効果がみられたに過ぎなかったことから、グルカン生成抑制作用のメカニズムは両者は共通しているのか、少なくとも類似しているとも考えられる。またギムネマ酸の同族体間に作用差が殆どなかったことから、トリテルペン骨格を持ったグルクロン酸配糖体であれば抑制効果は発現するとも言える。しかし、グリチルリチンには腸管でのブドウ糖吸収抑制効果のなかったこと¹³⁾、またグリチルリチンは砂糖の150倍もの甘味を呈するがギムネマ酸は甘味を消失させるという相反する現象を考えるとき、化学構造上の微妙な違いが大きな生体反応の違いとして現れているのかも知れない。いずれにしても糖分子を介在させた重要な現象に間違いはなさそうである。*S. mutans* はブドウ糖含有培地では、よく増殖して培養時間が24時間経過すると、増殖はほとんど飽和に達する (図10)。培養開始時にギムネマ酸を1~10 mg/ml 添加することによって増殖は抑えられるが、96時間経ると無添加の場合と同じ増殖量に至る。このことは、ブドウ糖に対する *S. mutans* の分子識別能力をギムネマ酸が阻害するためと考えられるが、その増殖阻害効果は完全ではなく、軽度の阻害であるために、増殖が遅れたものとも思える。同じ様な遅延傾向は、ブドウ糖含有培地にみられる培地中の pH 変化にも現れている (図11)。すなわち、無添加培地で増殖させた場合、24時間で培地の pH は5まで変化するが、ギムネマ酸を1~10 mg/ml 添加すると pH は6.3と変化は少ない。しかし、増殖曲線 (図10) でみられた96時間後の飽和傾向は pH 変化においても同じように96時間後には飽和している (図11)。このことは、培地に含有されているブドウ糖が分解された結果、pH 値が低下したとすれば、ギムネマ酸はこの解糖系をも抑制したことになる。

これまで述べてきたギムネマ酸のグルカン生成抑制効果は、実は、*S. mutans* の菌体外酵素 GTase の活性阻害によることは図12の GTase の実験から明らかである。これまでに報告されている GTase の活性阻害物質は *Aspergillus terreus* から抽出されたムタステインが知られている⁸⁾。このものはタンパク質である。グルカン生成抑制効果を虫歯予防に結び付けて考えると、ムタステインは実用的に難点がある。それは耐熱性に問題があるためである。ギムネマ酸は熱には比較的強いのでムタステインよりもこの点では有利ではあるが、難点もある。それはギムネマ酸

のもつ甘味抑制効果が味質を変える点にある。一方、先に述べたグリチルリチンがグルカン生成抑制効果を発現させるに必要な濃度は高濃度のために、グリチルリチンの特有な甘味が強過ぎて実用的ではない。従って、ギムネマ酸の甘味抑制効果とグリチルリチンの最低至適濃度とをうまく組み合わせて(表2)、虫歯予防に使用することが現在考え得るもっとも実用的な虫歯予防方法だといえよう。

総 括

ギムネマ・シルベスタ葉から抽出された各種成分の抗う蝕作用をみるために、*S. mutans* のグルカン生成抑制効果を試験管内液体培養法から調べた。得られた結果は以下の通りである。

1. ギムネマ・シルベスタ葉の温湯抽出物、pH 3 沈澱物および遠心上清には抑制効果はなかった。
2. ギムネマ酸は 0.5 mg/ml の濃度からグルカン生成抑制効果がみられ、対数濃度にしたがって抑制効果は増大した。
3. ギムネマ酸は菌体の増殖を 1~10 mg/ml GA の濃度で抑制したが、長時間の培養ではコントロールと同一の飽和増殖量に達した。
4. 使用したギムネマ酸は高速液体クロマトグラフィーによってさらに幾つかの同族体に精製分離されたが、グルカン精製抑制効果は分離前のギムネマ酸よりやや強化された程度であった。
5. ギムネマ酸は菌体外酵素グルコシルトランスフェラーゼの活性を阻害した。
6. グリチルリチン (1 mg/ml) はグルカン生成抑制効果があったが、ステビオシドにはみられなかった。

稿を終るにあたり、本研究に対して御懇切なる御指導を頂きました日地康武教授に心から感謝いたします。また、*S. mutans* 菌を提供して頂いた上、その菌体の取扱について終始御助言頂きました鳥取大学医療技術短期大学部上田益巳教授に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Clarke, J. K. (1924). On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Br J Exp Pathol* **5**, 141-147.
- 2) Fitzgerald, R. J. and Keyes, P. H. (1960). Demonstration of the etiologic role of *streptococci* in experimental caries in the

hamster. *J Am Dent Assoc* **61**, 9-19.

- 3) Fitzgerald, R. J. (1973). The potential of antibiotics as caries-control agents. *J Am Dent Assoc* **87**, 1006-1009.
- 4) Hamada, S. and Slade, H. D. (1980). Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Rev* **44**, 331-384.
- 5) Hamada, S. and Slade, H. D. (1980). Mechanisms of adherence of *Streptococcus mutans* to smooth surfaces *in vitro*. In Beachey, E. H. (ed.) *Bacterial Adherence*. pp. 107-135, Chapman and Hill, London.
- 6) Hooper, D. (1887). An examination of the leaves of *Gymnema sylvestre*. *Pharm J Trans* **17**, 867-868.
- 7) Kishimoto, E., Koga, T. and Inoue, M. (1979). Cariogenic virulence of *Streptococcus mutans* AHT mutants with altered *in vitro* adherence abilities in hamsters. *Microbiol Immunol* **23**, 849-857.
- 8) Koga, T., Hamada, S., Murakawa, S. and Endo, A. (1982). Effect of a glucosyltransferase inhibitor on glucan synthesis and cellular adherence of *Streptococcus mutans*. *Infect and Immun* **38**, 882-886.
- 9) 倉田康孝 (1987). ラットの経口蔗糖負荷試験におけるギムネマ酸並びにプルランの血糖値上昇抑制作用とその併用効果. *米子医学雑誌* **38**, 61-70.
- 10) Montville, T. J., Cooney, C. L. and Sinskey, A. J. (1978). *Streptococcus mutans* dextranucrase: a review. *Adv Appl Microbiol* **24**, 55-84.
- 11) Orland, F. J. (1959). A review of dental research using germfree animals. *Ann N Y Acad Sci* **78**, 285-289.
- 12) 吉岡伸一, 竹内龍男, 井元敏明, 笠木 健, 日地康武 (1985). インド産植物ギムネマ・シルベスタ葉から抽出したギムネマ酸のショ糖負荷試験における血糖値上昇抑制効果. *医学のあゆみ* **135**, 241-242.
- 13) 吉岡伸一 (1986). ラット小腸におけるギムネマ酸およびナツメ葉抽出物のブドウ糖吸収抑制効果. *米子医学雑誌* **37**, 142-154.