

表 平成元年当初に上げられた新規素材

食品の名称	機能成分	予想される機能
オピオイドペプチド強化牛乳・小麦など	オピオイドペプチド	中枢神経調節機能 腸管蠕動抑制機能
核酸強化パン・魚類など	核 酸	吸收機能調節機能, 循環器系改善機能, 心筋代謝賦活機能, 性欲減退予防機能, 放射性防護機能, 皮膚基底細胞賦活機能, 骨髄細胞賦活機能, 眼精疲労聴覚障害改善機能, けいれん治療機能, 夜尿症治療機能, 脳老化防止機能
小麦胚芽強化加工食品	オクタコサノール	抗ストレス機能, 体力耐久力増進筋肉疲労回復機能, 抗腫瘍機能
$\alpha$ -リノレン酸強化加工食品	$\alpha$ -リノレン酸	アレルギー低減化機能, 抗炎症機能
レクチン強化煮豆等加工食品	レクチン	リンパ系刺激機能
キチン・キトサン強化食品	キチン・キトサン	細胞免疫強化機能, 血液凝固阻止機能
マリンクロレラ	マリンクロレラ	高血圧防止機能
コンドロイチン硫酸強化加工食品	コンドロイチン硫酸	肝疾患予防作用機能, コレステロール制御機能, 腎疾患治療機能, 扁頭痛治療機能, 神經痛関節痛治療機能
SOD 強化加工食品	スーパーオキシドジスムターゼ	活性酸素障害予防機能, 脂質過酸化抑制機能
EPA 強化加工食品	エイコサペンタエン酸	コレステロール制御機能, 血小板凝集抑制機能
EPO 強化加工食品	エリスロポイエチン	コレステロール制御機能, 造血機能調節機能, 脂質代謝異常治療機能
ギムネマ・シルベスタ強化食品	ギムネマ・シルベスタ	糖尿病予防機能
ナットウキナーゼ強化加工食品	ナットウキナーゼ	血栓溶解機能

厚生科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）  
低・非・抗う蝕性食品の検定評価法の確立と  
その応用・普及に関する研究  
(H12-医療-005)

分担研究報告書

Intra-oral cariogenicity test の特徴

分担研究者 飯島 洋一 長崎大学・助教授

研究要旨

Intra-oral cariogenicity test (ICT; 口腔内齲歎原性試験)は、「低齲歎誘発性ならびに非齲歎誘発性食品の評価の規格化と応用・普及」についてどのような貢献ができるかを検討した。検討方法は、これまでに文献的に報告されてきた各種 ICT に共通な特徴をまとめ、これまでに明らかになってきた主な ICT の利点・欠点について考察した。

さらに、外国人研究者ゼロ教授に対する4つの質問；

- 1) 食品の齲歎誘発性とは？
- 2) 食品の齲歎誘発性に基づいてランクイングすることは可能か？
- 3) 口腔内の齲歎実験装置 (ICT) から食品の齲歎誘発性に関してどのような情報が得られるか？
- 4) 食品の齲歎誘発性に最も適した ICT モデルはどれか？に関する回答を紹介した。

A. 研究目的

Intra-oral cariogenicity test (ICT; 口腔内齲歎原性試験)は、「低齲歎誘発性ならびに非齲歎誘発性食品の評価の規格化と応用・普及」についてどのような貢献ができるかを解明することを目的としている。

B. 研究方法

ICT モデルについて、それぞれに異なる場面で最初に報告された主要論文を紹介・解説した。

C. 研究結果と D. 考察

Intra-oral あるいは in situ 試験法として応用される。

- 2) 臨床試験された方法とは異なる応用法に関する

より詳細な情報を得るために適した試験法である。

- 3) 口腔内で副作用が懸念されるような調剤・素材の変更があった場合、チェック試験法として応用される。
- 4) 抗齲歎性を有するとされる成分のメカニズムを検討する試験法として応用される。
- 5) 脱灰-再石灰化の効果を検討する試験法として応用される。

口腔内実験モデルの位置づけは、臨床試験と in vitro 実験モデルとの関連で示すとその特徴は以下の表 1 のようになる。in situ モデルは ○ の位置に近い側の特徴を有する。

表 1 in situ モデルの特徴

項目	臨床試験	in situ モデル	in vitro モデル
実験環境	口腔内	○	人工的
要因数	大	○	小
例数	大	○	小
要因の制御	困難	○	可能
評価法の種類・感度	少ない・低い	○	多い・高い

口腔内実験モデルは、口腔内環境を実験環境とし、*in vitro* の特徴を活かした実験モデルである。しかも、得られた結果は *in vitro* 実験モデルよりは臨床的関連性が高いという特徴がある<sup>2)</sup>。これらの諸点を考慮すると、食品の齲歯誘発性を評価する口腔内実験モデルは、臨床試験法に比較して、方法が簡便であること、そのため経済的にも時間的にも利点があること。複雑な組合せの試験法も可能であること。抗齲歯性や脱灰-再石灰化効果を標榜する食品についても検討できる等の長所を有している。

**ICT の試験法の概略：**ICT はヒトの口腔内環境そのものを実験環境として活用することを特徴として、Koulourides によって 1960 年代前半に開発された齲歯原性試験の 1 つである<sup>3)</sup>。脱灰-再石灰化のメカニズムならびに糖質の齲歯誘発性、フッ化物の齲歯抑制効果や被験者の齲歯活動性の程度などを評価することが出来る。その後の口腔内実験装置の工夫や開発に影響を与え続けた点で最も重要である。と同時に、今日においても利用可能性の高い方法である。

**ICT の具体的な実験の概略**は次の通りである。ヒトまたはウシの歯質（エナメル質や象牙質）試料を可撤義歯（部分床、全部床義歯）に装着する。装着に際して歯質試料表面に歯垢が付着し易いように、歯垢が蓄積するためのくぼみスペースを確保する、と同時にダクロンガーゼで試料をカバーするなどの工夫を行う。被験者は実験条件に基づいて、歯垢の付着した歯質試料を、口腔外で 1 日当たり特定の時間（10 分間）ならび頻度（4 回）で糖質溶液（3% 濃度）に義歯ごと浸漬する。口腔清掃時や浸漬時以外は、実験装置を口腔内に 1 週間保持する。その結果、歯質試料表面に表層下脱灰病変が形成されてくる。実験的初期齲歯の程度は、歯質試料表面の硬度を微小硬度計で測定し、実験前後の硬度変化によって脱灰傾向（硬度の減少）あるいは再石灰化傾向（硬度の増加）を評価する。硬度の変化と同様に歯質試料切片のコンタクトマイクロラジオグラフを撮影し、写真の濃淡から脱灰-再石灰化の程度も評価する。特に、口腔外で浸漬する溶液にフッ化物を準備することによってフッ化物応用の効果が評価できるだけでなく、口腔内実験終了後、試料をさらに *in vitro* で酸溶液に浸漬すれば、耐酸性効果も評価することが可能である。

本法の特徴は、*in vivo* で実験齲歯を形成し、評価を *in vitro* で行う点にある。両者を組み合わせる実験条件を創意工夫することにより、より実際的な齲歯発現環境下で要因相互の関係を明らかにすることが可能となる。評価を *in vitro* で行うことにより試料を詳細に評価することが可能となる。また、各種糖質溶液への浸漬は口腔外で行うことができるところから、蓄積した歯垢による酸産生の

影響は試料だけに限られ被験者自身の歯は酸の侵襲から保護される利点がある。唯一考えられる欠点は、義歯装着者が被験者であるため食品の齲歯誘発能が比較的高齢者の口腔内環境で評価していることである。食品の齲歯誘発性に関する情報は、主に乳幼児期から青少年期まで、ライフサイクルの前半期に必要とされる。食品の齲歯誘発能を評価する場合、ICT の被験者は食品の主な利用者と近似していることが望ましい。この点を解決する方法としては、矯正的理由で抜去される歯を有する小児を被験者とし、抜去前の臼歯をそのまま被験歯とし、*in vivo* の口腔環境を実験環境とする ICT モデルが報告されている<sup>4)</sup>。この方法は、義歯装着者が被験者の場合の ICT モデル（被験者の数は多くの場合 5 名前後の特定の個人である）に比較して、口腔環境が被験者ごとに変動することが予測されるため、データのバラツキが懸念される。しかしながら、例数を確保することも困難である等の制限がある。

**各種 ICT の特徴：**上記の ICT モデルを基本に、その後は各種の改良を加えた装置が考案されている。最も工夫・改良された点は、義歯タイプでないクラウンタイプの装置の登場<sup>5)</sup>によって、ほとんどの食品が口腔内環境下で、かつ、通常の食品摂取形態がとれるようになった（義歯タイプではチュウインガムが困難）。また、コンタクトポイントを設けることにより隣接面における脱灰-再石灰化能を検討することも可能となった<sup>6)</sup>。その他、実験目的によって異なる条件（試料の種類はエナメル質・象牙質、試料表面削除の有無、口腔内保持期間、等）を設定することはいずれの装置の場合でもある程度可能であるが、試料のタイプが薄切切片か、エナメルブロック試料であるかについては考案された装置に依存性である。

歯垢 pH に関しては、エナメル質・あるいは象牙質試料を装着可能な *in situ* モデルを用いてして測定すべきことが明記されている<sup>1)</sup>。

食品がバイオフィルムの構成や性状にどのような影響を与えるかについて考慮できる装置は考案されていない。したがって、この点に関する、研究成果は蓄積されていない現状である。今後の研究結果を待って、バイオフィルムのどのような評価項目が食品の齲歯誘発性と関連性を有しているかが明らかとなつて検討されることと思われる。

## E. 結論

どの ICT モデルともそれぞれの特徴があり、これ 1 つだけで必要十分というモデルはないが、理想的には次の諸点が全て考慮されていることが望ましいことが考察された。

- (1) 通常の食品摂取形態がとれること
- (2) 短い実験期間内で結果を計測するのに十分な感度を有すること
- (3) エナメル質も象牙質も評価可能であること

- (4) 食品の脱灰/再石灰化能が評価できること
- (5) 食品のバイオフィルムの構成や性状に与える影響について考慮できていること
- (6) 歯垢の酸性度が評価できること

F. 健康危険情報  
特になし。

G. 研究発表  
特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

#### 文献

- 1) Featherstone JDB: Consensus conference on intra-oral models: evaluation techniques, *J Dent Res* 71(Spec Iss): 955-956, 1992.
- 2) Zero DT: In situ caries models, *Adv Dent*

- Res* 9: 214-230, 1995.
- 3) Koulourides T, Volker JF: Changes of enamel microhardness in the human mouth, *AL J Med Sci* 1: 435-437, 1964.
- 4) Gaard B, Rilla G: The in vivo orthodontic banding model for vital teeth and in situ orthodontic banding model for hard-tissue slabs, *J Dent Res* 71(Spec Iss): 832-835, 1992.
- 5) Wefel JS et al.: Development of an intra-oral single-section remineralization model, *J Dent Res* 66(9): 1485-1489, 1987.
- 6) Creanor et al.: In situ appliance for the investigation of enamel de-and remineralization, *Caries Res* 20: 385-391, 1986.

## 資料

### 外国人招へい研究者 ゼロ教授に対する4つの質問の回答

#### 1) 食品の齲歯誘発性とは？

食品の齲歯誘発性とはヒトに齲歯を発現させる可能性のある食品であると定義し、評価法としては、  
1) 歯垢 pH の測定 2) 実験動物の使用 3)  
エナメル質の脱灰/ 再石灰化に関する方法があることを紹介した。

歯垢 pH の測定は齲歯病因論とも関連し、原因である脱灰なければ結果としての齲歯発現も認められないことから、非齲歯誘発性食品の評価に適し、実験動物ならびにエナメル質の脱灰/ 再石灰化法は、低齲歯誘発性食品の評価に適している。低齲歯誘発性食品の評価に関しては、ポジティブコントロールとして砂糖含有食品、ネガティブコントロールとしてソルビトール含有食品、さらには、低齲歯誘発性食品として知られているピーナツのような中間コントロールを設けてそれとの比較をすることで可能であると提案した。

#### 2) 食品の齲歯誘発性に基づいてランキングすることは可能か？

各種の方法を紹介しながら、食品の齲歯誘発性を試験することは大切であるが、次の限界のあることも考慮しなければならないことを指摘した。1) 実際に食品がどのように食べられているのか、すなわち、摂取頻度や摂取パターン、他の食品摂取との関係が考慮されていない。2) 個々人の齲歯感受性、すなわち、口腔細菌の組成、唾液の量や組成が考慮されていない。

これらのこと考慮すると、非齲歯誘発性食品であること、また、低齲歯誘発性食品であることの評価は科学的に支持される内容であるが、齲歯誘発性に基づいてあらゆる食品をランキングすることは現段階では推薦できないとしている。

#### 3) 口腔内の齲歯実験装置（ICT）から食品の齲歯誘発性に関してどのような情報が得られるか？

ICT から得られる結果は、1) エナメル質脱灰の抑制 2) エナメル質再石灰化の促進

#### 3) 歯垢の酸產生能 4) バイオフィルムの構成 5) バイオフィルムの微細構造 である。

このことに関連し、食品の齲歯誘発性の新しい範疇として、食品の抗齲歯誘発性についてバイオフィルムの性状を変える食品（上記の4）、5) 関連）やミネラルの補給能（上記の2）関連）を有する食品が考えられることを指摘した。さらに、エナメル質再石灰化の促進ならびにミネラルの補給能については、その後の、耐酸性能の評価が必要不可欠であることが確認された。詳細には、2)

のエナメル質再石灰化に関しては、飯島の提案で、再石灰化と耐酸性は表裏一体の関係にあることから、単にミネラルの補給能だけでは不十分であるとの合意に至った。すなわち、再石灰化時にフッ素の存在が不可欠であること。フッ素は口腔内環境の唾液にも存在しているが、微量すぎて必要十分な濃度でないこと。脱灰は齲歯好発部位では日常的に発現していることから、フッ素関与の再石灰化によって耐酸性ミネラルが形成されなければ、回復したミネラルは、また脱灰するだけである。これらの事実から、2) のエナメル質再石灰化の促進、ならびに、ミネラルの補給能については、再石灰化したミネラルが果たして耐酸性であるのか、あるいは、補給されたミネラルが果たして耐酸性であるのかをさらに評価する必要性が加えられた。食品の抗齲歯誘発性能に関わる新しい概念としては、注目に値する事項と思われた。

齲歯誘発性試験の有益性を考慮した序列は、1) 臨床試験 2) ICT モデル 3) 実験動物モデル 4) 歯垢 pH モデル 5) *in vitro* の齲歯モデルの順番であるとした。各モデルがいかに実際の口腔内環境を反映しているかがその決め手となっていることが理解される。実験動物モデルが果たして、ヒトの食品の評価に適しているか否かについても議論のあるところであった。種の違いのみならず、実験動物モデルではガム等の食品は評価できない等の難点がある。さらに、興味ある指摘は、高齲歯誘発性食品の指摘を行う必要性を指摘していることである。そうすることで、食品製造会社に改善を求めていくことができるとしている。社会的な意味を有するだけに検討に値する指摘である。

#### 4) 食品の齲歯誘発性に最も適した ICT モデルはどれか？

以上の示唆的な項目のみならず、外国人研究者を招へいしたことによる成果は、ICT モデルとしての理想的な諸条件を検討できた点である。すなわち、

どの ICT モデルともそれぞれの特徴があり、これ1つだけで必要十分というモデルはないが、理想的には次の諸点が全て考慮されていることであると指摘した。

- (1) 通常の食品摂取形態がとれること
- (2) 短い実験期間内で結果を計測するのに十分な感度を有すること
- (3) エナメル質も象牙質も評価可能であること
- (4) 食品の脱灰/ 再石灰化能が評価できること

- (5) 食品のバイオフィルムの構成や性状に与える影響について考慮できること
- (6) 歯垢の酸性度が評価できること

これらの各項目は、今後とも多くのICTモデルが開発されると思われるが、その装置の特徴を理解し、評価する際のポイントになり得ると思われる。

厚生科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）  
低・非・抗う蝕性食品の検定評価法の確立と  
その応用・普及に関する研究  
(H12-医療-005)

分担研究報告書

唾液からみたう蝕罹患性の評価

分担研究者 渡部 茂 明海大学・教授

分担研究要旨

課題： 唾液からみたう蝕罹患性の評価

う蝕発生の部位特異性におよぼす唾液の影響について

- 1、唾液クリアランス
- 2、唾液pHの点から検討を行った。

1では上顎第二小臼歯、第一大臼歯、第二大臼歯頬側面におよぼす耳下腺唾液の影響について検討した結果、頬側面を移動する唾液量は第一大臼歯が最も多く、第二小臼歯、第二大臼歯の順であった。

2では 上顎第一大臼歯頬側面と下顎中切歯舌側面にて舌尖味覚刺激後及び酸性清涼飲料水による口腔洗浄後のpHをモニターした結果、刺激後のpHの変化には唾液の流量に応じて両部位に差がみられた。以上の結果から口腔に分泌された唾液は口腔内に一様に広まることはなく、唾液による影響は部位によって異なることが示された。

A. 研究目的：

う蝕罹患の部位特異性を唾液から検討するために、唾液クリアランスと唾液pHの部位による差を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法：

1. 唾液クリアランス：唾液クリアランスの評価は寒天中に一定濃度の塩化カリウムを溶解し、ホルダーにて寒天を固形化し、それを一定時間口腔内の各部位に放置して唾液にさらした後、その寒天中の塩化カリウム濃度を測定した。塩化カリウム濃度の減少率から寒天上を移動する唾液量を推定し部位による差を比較した。  
2. 唾液pHの継時的測定：イオン感応性電界効果トランジスター電極 (ISFET) を口腔に固定する装置を作成し、上顎第一大臼歯頬側 (U6) および下顎中切歯舌面 (L1) にISFET電極を接着させた。同部位のpHが安定した後 濾紙ディスクによる5%クエン酸舌尖味覚刺激を行い、電極上を移動する唾液pHの変化をモニターした。次に酸性清涼飲料水 (pH3.4) で口腔洗口後のpHの変化をモニターした。

C. 研究結果：

1. 上顎第二小臼歯、第一大臼歯、第二大臼歯の頬側面におよぼす耳下腺唾液の影響について検討した結果、頬側面を移動する唾液量は第一大臼歯が最も多く、第二小臼歯、第二大臼歯の順であった。

濾紙ディスク刺激後の変化：

安静時のpHはU6がL1より低く、刺激後ともに急上昇し、最大pHはU6がL1より低く、以後緩徐に低下した。

口腔洗口後の変化：

洗口後pHは酸性清涼飲料水のpH(3.4)まで低下し、その後U6は緩徐に、L1は速やかにpHの回復が見られた。

D. 考察および E. 結論：

う蝕誘発性の高い甘味食品が口腔内を通過した後、口腔内は唾液による洗浄作用や緩衝作用を受け、元の状態を目指して回復していくことが知られている。しかしその程度は口腔の各部位によって異なっており、それは唾液の影響に依存していることが本研究で明らかとなった。一個の飴玉を口にしてもその影響は口腔全体に等しく行き渡るのではないことは、乳幼児哺乳瓶う蝕の発生をみても明らかである。今後う蝕予防、う蝕リスクを論じるようなときはこれらの概念を考慮する必要があることが示唆された。

F. 健康危険情報

特にない。

G. 研究発表

1. 論文発表：

鈴木昭：耳下腺唾液の口腔内クリアランスに及ぼす影響、特に上顎臼歯における唾液の流れにつ

いてー 小児歯誌、39：190－197, 2001

2. 学会発表：

鈴木欣孝、鈴木昭、五十嵐公英、渡部 茂：pH  
測定による口腔内部位特異性の検討、第38回日本  
小児歯科学会、6/23, 2000.

Y.Suzuki, A.Suzuki, Y.Tokiyasu , K.Igarashi  
and S.Watanabe : pH Measurements at  
Different Regions of the Mouth. The 2<sup>nd</sup>  
Conference Pediatric Dentistry Association of  
Asia. 11/2, 2000

3. 雑誌：

A.Suzuki: The Effect of Parotid Saliva on the  
Oral Environment. Cariology Today, 1:7-9,  
2000.

S.watanabe, A.Suzuki ,M.Minami, Y.Suzuki:  
The Effect of Saliva on the Mechanisms for the  
Site-Specificity of Oral Environment. Cariology  
Today 1: 10-15, 2000.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特はない。

厚生科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）  
低・非・抗う蝕性食品の検定評価法の確立と  
その応用・普及に関する研究  
(H12-医療-005)

分担研究報告書

食品の抗う蝕性を評価するための微生物学的試験法の検討

分担研究者 福島 和雄 日本大学松戸・教授  
(竹内 武男：日本大学松戸・助手)  
(篠崎 紀子：日本大学松戸・副手)

研究要旨

本研究は、食品の抗う蝕性を評価するための微生物学的試験法を開発するための第一段階として、最重要う蝕原因菌種を特定することを主目的に、う蝕罹患経験の異なる4成人群からの歯垢サンプルにつきミュータンス連鎖球菌種の分布状況を培養法により調べ、う蝕罹患との関連性を追及した。その結果、*S.sobrinus* の存在とう蝕罹患との間、及び *S.mutans* の菌数レベルとう蝕罹患との間に強い正の相関関係があることが確認された。

A. 研究目的

ヒトう蝕の主要原因菌と考えられているミュータンス連鎖球菌は、現在、細菌学的性状を異にする *S.cricetus* (血清型 a)、*S.rattus* (b)、*S.mutans* (c/e/f)、*S.sobrinus* (d/g)、*S.downei* (h)など7菌種8血清型に分類されている。これらのうち、ヒト口腔から分離される主な菌種は *S.mutans* と *S.sobrinus* であり、まれに *S.cricetus* が検出される。これまでの幾つかの疫学研究の結果は、*S.mutans* と *S.sobrinus* の両菌種を保有しているヒトのう蝕リスクは *S.mutans* のみ或いは *S.sobrinus* のみを保有するヒトのそれより高いことを示唆している。しかし、ミュータンス連鎖球菌種の分布状況とう蝕罹患との関連性については充分な検討がなされていない。

本研究は、食品の抗う蝕性を評価するための微生物学的試験法を開発するための第一段階として、ターゲットとなる最重要菌種を特定することを主目的に、う蝕罹患経験の異なる4成人群（高う蝕者群、中等度う蝕者群、低う蝕者群及び無う蝕者群）からの歯垢サンプルにつきミュータンス連鎖球菌種の分離・同定を行い、*S.mutans* と *S.sobrinus* の分布状況とう蝕罹患との関連性を追及した。

B. 研究方法

1) 被験者

日本大学松戸歯学部学生 150 名を口腔診査

し、高う蝕者 (DMF 歯数；14～25) 15 名、中等度う蝕者 (DMF 歯数；8～11) 11 名、低う蝕者 (DMF 歯数；4～7) 9 名、無う蝕者 (DMF 歯数；0) 10 名を選定した。

2) 供試培地

総連鎖球菌の算定に MS 平板培地を、*S.mutans* 数と *S.sobrinus* 数の算定に MSB 平板培地を、分離菌種の純培養に BHI 液体培地を、分離菌株の固着性試験に 5% ショ糖加 THB 液体培地を使用した。

3) 歯垢サンプルの調製

日本大学松戸歯学部の倫理委員会の承認及び充分な説明と了解（インフォームド・コンセント）の下に、本学部学生から下記の方法で歯垢サンプルを採取した。

軽く 1 回、水でうがいをする。  
↓  
歯ブラシによるブラッシング（1 分間）。  
↓  
生理食塩水 5 ml にて含漱（30 秒間）。  
↓  
含漱液を紙コップに出す。  
↓  
歯ブラシを含漱液で漱ぎ、歯ブラシをコップ壁に押しつけ、液を切る。

↓  
歯垢サンプル

4) 総連鎖球菌、*S.mutans* 及び *S.sobrinus*

## A. の菌数レベル算定法

歯垢サンプルを超音波処理 (50W, 20秒) 後、直ちに滅菌生理食塩水で連続10倍段階希釈し、その50μlをMS及びMSB平板培地に播種し、37℃で48時間ローソク培養、次いで24時間好気培養後、MS平板上の典型的*S. mutans*様集落と典型的*S. sobrinus*様集落を実体顕微鏡下で数え、歯垢サンプル1ml当たりの総連鎖球菌数、*S. mutans*数及び*S. sobrinus*数を算定した。

## B. 非典型集落株の同定

MSB平板上に形成された非典型*S. mutans*様及び*S. sobrinus*様集落株の同定は、ショ糖依存性菌体固着性試験、ストレプトグラム試験、及び特異抗体に対する反応性試験（菌体凝集、オクタロニー、ELISA）等により行った。

## C. 研究結果

高う蝕者群、中等度う蝕者群、低う蝕者群、無う蝕者群の計45名から採取した歯垢サンプルにつき、サンプル1ml当たりの総連鎖球菌数、*S. mutans*数及び*S. sobrinus*数、及び総連鎖球菌当たりの*S. mutans*比率と*S. sobrinus*比率を算出した結果をTable 1に示した。

*S. mutans*は、供試した被験者45名からの全歯垢サンプルから検出された。一方*S. sobrinus*は、高う蝕者15名中の8名(53%)、中等度う蝕者11名中の4名(36%)、低う蝕者9名中の1名(11%)の歯垢サンプルから検出され、無う蝕者10名の歯垢サンプルからは全く検出されなかった。総連鎖球菌当たりの*S. mutans*及び*S. sobrinus*の平均比率は、それぞれ高う蝕者群が3.11%と0.28%、中等度う蝕者群が1.52%と1.02%、低う蝕者群が1.02%と0.01%、無う蝕者群が0.75%と0.00%であり、いずれの菌種もう蝕罹患経験の多い群ほど高い存在比率を示すことが認められた。

## D. 考察

食品の抗う蝕性を評価するための微生物学的試験法を開発するためには、そのターゲットとなる口腔微生物を特定ないし絞り込むことが極めて重要

である。本研究はその目的のため、う蝕罹患経験の異なる4成人群からの歯垢サンプルにつきミュー タンス連鎖球菌種の分離・同定を行い、*S. mutans*と*S. sobrinus*の分布状況とう蝕罹患との関連性を追及した。その結果、*S. sobrinus*の存在とう蝕罹患との間、及び*S. mutans*の菌数レベルとう蝕罹患との間に強い正の相関関係があることが確認された。食品中には*S. mutans*や*S. sobrinus*の増殖や定着に影響を与える多くの成分が存在することが知られている。また、それらう蝕原因菌の増殖や定着を抑制する抗菌性物質や定着抑制物質などを添加した抗う蝕性食品の開発研究が進められており、その幾つかは実用化段階に入っている。従って、*S. mutans*及び*S. sobrinus*の口腔内レベルを食品摂取前後で比較検討するという手段が、そのような食品或いは食品素材の抗う蝕性を評価する有用な方法になり得るものと思われる。そのような観点に立って、現在、*S. sobrinus*の存否及び*S. mutans*の菌数レベルを簡便迅速に測定できる手法の開発研究を進めている。

## E. 結論

*S. sobrinus*の存在とう蝕罹患との間及び*S. mutans*の菌数レベルとう蝕罹患との間に強い正の相関関係があることが確認された。

## F. 健康危険情報

特にない。

## G. 研究発表

### 2. 学会発表

井口律子、木口清子、篠崎紀子、竹内武男、栗田智子、福島和雄；  
う蝕罹患経験を異にする4成人群における  
*S. sobrinus*関連菌種の検出頻度、歯基礎誌 42(5)  
(抄録集) : p 173(509), 2000

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特にない。

Table 1. Distribution of *S. sobrinus* and *S. mutans* in plaque samples from four student groups with different DMFT.

Subject (Sex)	DMFT	Number (CFU/ml) of			<i>S. mutans</i> / Total strep. (%)	<i>S.</i> <i>sobrinus</i> / Total strep. (%)
		Total strep. $\times 10^7$	<i>S. mutans</i> $\times 10^5$	<i>S. sobrinus</i> $\times 10^5$		
H-1 (M)	25	1.0	3.40	0.56	3.40	0.56
H-2 (M)	22	7.8	16.0	0.00	2.05	0.00
H-3 (F)	20	1.4	1.50	0.00	1.07	0.00
H-4 (M)	19	1.4	0.80	0.04	0.57	0.03
H-5 (F)	19	1.3	10.0	0.16	7.69	0.12
H-6 (F)	16	2.6	1.00	0.00	0.38	0.00
H-7 (F)	16	10.0	140	19.20	14.0	1.92
H-8 (M)	15	1.6	5.30	0.00	3.31	0.00
H-9 (M)	15	14.5	3.84	18.0	1.24	0.27
H-10 (M)	15	3.2	23.0	0.00	7.19	0.00
H-11 (F)	15	4.3	1.80	0.00	0.42	0.00
H-12 (F)	15	1.0	3.70	0.29	3.70	0.29
H-13 (M)	14	32.0	13.0	9.60	0.41	0.30
H-14 (M)	14	2.3	1.50	1.80	0.65	0.78
H-15 (F)	14	2.8	1.60	0.00	0.57	0.00
<hr/>						
M-1 (M)	11	36.0	29.0	2.20	0.81	0.06
M-2 (M)	11	15.0	3.9	0.00	0.26	0.00
M-3 (M)	10	4.7	8.40	0.00	1.79	0.00
M-4 (M)	10	21.0	39.0	0.00	1.86	0.00
M-5 (M)	9	7.9	0.80	0.00	0.10	0.00
M-6 (M)	9	23.0	16.0	36.8	0.70	1.60
M-7 (F)	9	2.2	0.10	0.00	0.05	0.00
M-8 (F)	9	15.0	120	140	8.00	9.33
M-9 (F)	9	5.4	1.90	0.00	0.35	0.00
M-10 (M)	8	8.3	7.00	1.60	0.84	0.190
M-11 (F)	8	8.0	16.0	0.00	2.00	0.00
<hr/>						
L-1 (M)	7	19.0	53.0	0.00	2.79	0.00
L-2 (F)	7	19.0	40.0	0.00	2.11	0.00
L-3 (F)	7	8.2	8.00	0.00	0.98	0.00
L-4 (M)	6	27.0	51.0	0.00	1.89	0.00
L-5 (F)	6	3.4	1.60	0.00	0.47	0.00
L-6 (F)	6	6.7	0.90	0.00	0.13	0.00
L-7 (M)	5	66.0	31.0	8.50	0.47	0.13
L-8 (F)	4	11.1	2.00	0.00	0.18	0.00
L-9 (F)	2	1.3	0.20	0.00	0.15	0.00
<hr/>						
F-1 (M)	0	2.20	0.02	0.00	0.01	0.00
F-2 (M)	0	2.00	3.60	0.00	1.80	0.00

F-3	(M)	0	2.20	0.10	0.00	0.05	0.00
F-4	(M)	0	18.0	1.90	0.00	0.11	0.00
F-5	(M)	0	1.00	0.01	0.00	0.01	0.00
F-6	(M)	0	5.70	2.00	0.00	0.35	0.00
F-7	(F)	0	1.40	0.10	0.00	0.07	0.00
F-8	(F)	0	4.00	4.30	0.00	1.08	0.00
F-9	(F)	0	1.60	6.40	0.00	4.00	0.00
F-10	(F)	0	7.20	0.01	0.00	0.00	0.00

---

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

- 高橋信博　歯肉縁下プラークという生態系。岡田宏, 石川烈, 村山洋二 (監修) : 先端医療シリーズ・歯科医学2：歯周病－新しい治療を求めて。先端医療技術研究所, 2000, 230-238.
- 高橋信博 Acidogenicity and acid tolerance of non-mutans streptococci. 神原正樹 (編集) : Proceedings for 1st Workshop of Cariology Today in Japan. 永末書店, 2000, 25-30.
- A.Suzuki: The Effect of Parotid Saliva on the Oral Environment. Cariology Today, 1:7-9, 2000.
- S.watanabe, A.Suzuki ,M.Minami, Y.Suzuki; The Effect of Saliva on the Mechanisms for the Site-Specificity of Oral Environment. Cariology Today 1: 10-15, 2000.

### 雑誌

- M. Zhu, S. Takenaka, M. Sato, E. Hoshino: Influence of starvation and biofilm formation on acid resistance of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiology and Immunology*, 16; 24-27, 2001.
- M. Zhu, S. Takenaka, M. Sato, E. Hoshino: Extracellular polysaccharides do not inhibit reaction between *Streptococcus mutans* and its specific IgG as well as penetration of the IgG through *S. mutans* biofilm. *Oral Microbiology and Immunology* 16: 54-56, 2001.
- Takahashi N, Yamada T; Pathways for amino acid metabolism by *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiol Immunol* 15: 96-102, 2000.
- Takahashi N, Yamada T: Glucose metabolism by *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiol Immunol* 15: 188-195, 2000.
- Yamamoto Y, Sato Y, Takahashi-Abbe S, Takahashi N, Kizaki H: Characterization of the *Streptococcus mutans* pyruvate formate-lyase (PFL)-activating enzyme gene by complementary reconstitution of the in vitro PFL-reactivating system. *Infect Immun* 68: 4773-3777, 2000.
- Takahashi N, Sato T, Yamada T: Metabolic pathways for cytotoxic end-product formation from glutamate- and aspartate-containing peptides by *Porphyromonas gingivalis*. *J Bacteriol* 182: 4704-4710, 2000.
- Iwami Y, Takahashi-Abbe S, Takahashi N, Abbe K: Yamada T. Rate-limiting steps of glucose and sorbitol metabolism in *Streptococcus mutans* cells exposed to air. *Oral Microbiol Immunol* 15: 325-328, 2000.
- Hu JP, Takahashi N, Yamada T: *Copidis Rhizoma* inhibits growth and proteolytic activity of oral bacteria. *Oral Dis* 6: 297-302, 2000.
- Iwami Y, Takahashi-Abbe S, Abbe K, Takahashi N, Yamada T, Kano N, Mayanagi H: The time-course of acid excretion, levels of fluorescence dependent on cellular NADH and glycolytic intermediates of *Streptococcus mutans* cells exposed and not exposed to air at the coexistence of glucose and sorbitol. *Oral Microbiol Immunol* 16: 34-39, 2001.
- Takahashi-Abbe S, Abbe K, Takahashi N, Tamazawa Y, Yamada T: Inhibitory effect of sorbitol on sugar metabolism of *Streptococcus mutans* in vitro and on acid production in dental plaque in vivo. *Oral Microbiol Immunol*. 2001 (in press).
- Saito K, Takahashi N, Yamada T, Horiuchi H.: Effects of glucose on formation of cytotoxic end-products and proteolytic activity of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *J Periodontal Res*. 2001 (in press).
- 鈴木昭:耳下腺唾液の口腔内クリアランスに及ぼす影響. 一特に上顎臼歯における唾液の流れについてー 小児歯誌、39 : 190-197, 2001

下記の論文については、印刷中のため、別刷を添付していない。

Takahashi-Abbe S, Abbe K, Takahashi N, Tamazawa Y, Yamada T: Inhibitory effect of sorbitol on sugar metabolism of *Streptococcus mutans* in vitro and on acid production in dental plaque in vivo. *Oral Microbiol Immunol.* 2001 (in press).

Saito K, Takahashi N, Yamada T, Horiuchi H.: Effects of glucose on formation of cytotoxic end-products and proteolytic activity of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *J Periodontal Res.* 2001 (in press).

鈴木昭:耳下腺唾液の口腔内クリアランスに及ぼす影響.一特に上顎臼歯における唾液の流れについて— 小児歯誌、39：190－197, 2001

20001117

これ以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので P.33  
の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。