

Dataquest A.R.T. Gold/Silver

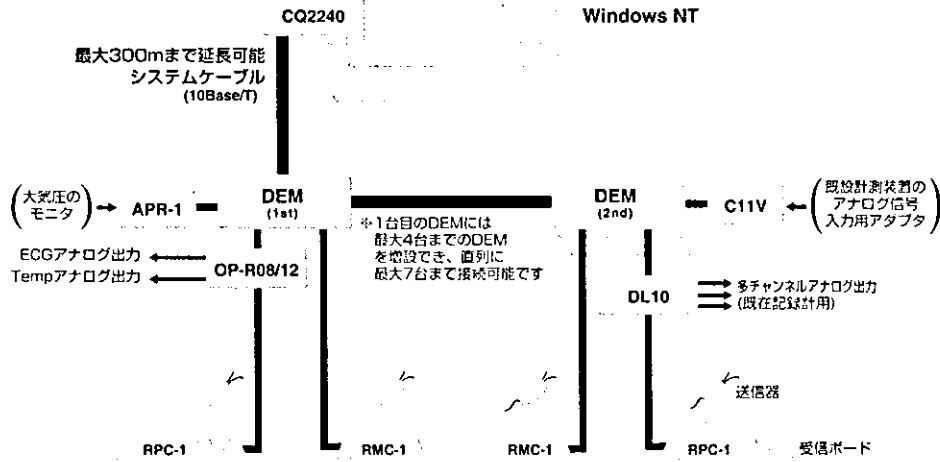


図1 慢性実験テレメトリー自動計測システム構成図

上段より順に、1) データ取得分析システム、2) システム関連装置 (データ変換マトリックス、DEM および大気圧校正装置 APR-1、プライムテック、東京)、3) 実験動物埋め込み型測定送信受信システムを示す。

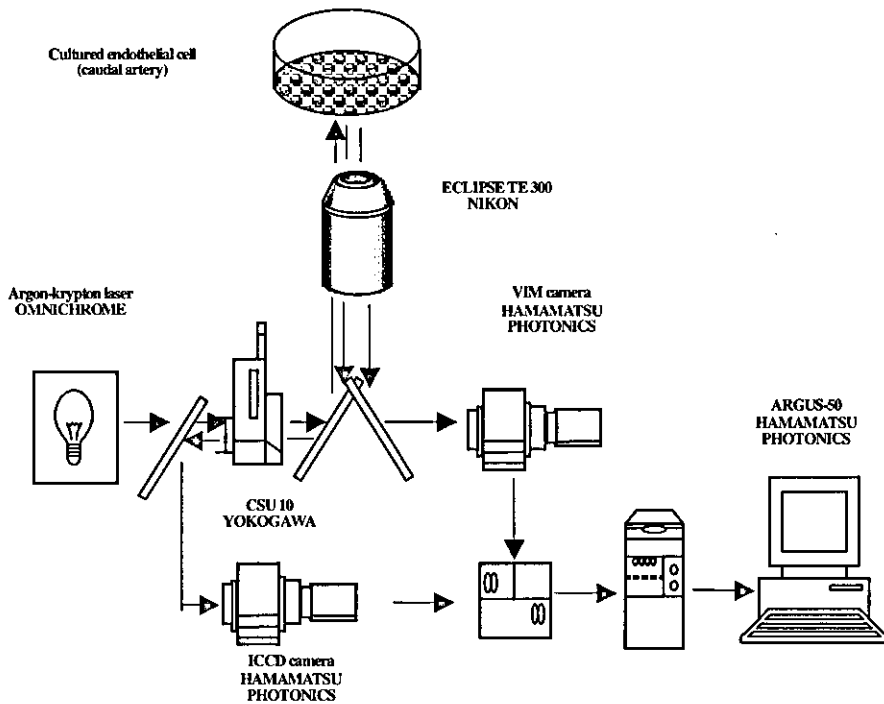


図2 共焦点顕微画像解析システム

C. 研究結果

1. 生活習慣病ラット(SHR-cp)に対するイチョウ葉エキス長期経口摂取の影響

(1) 体重、摂餌量に対する影響

実験期間中のラット1匹あたりの1日平均摂餌量は、コントロール群で23.9g、イチョウ葉エキス投与群で22.9gとイチョウ葉エキス投与群でやや少なく、イチョウ葉エキス投与開始8週目よりコントロール群に比べ有意な体重の減少が認められた(図3)。

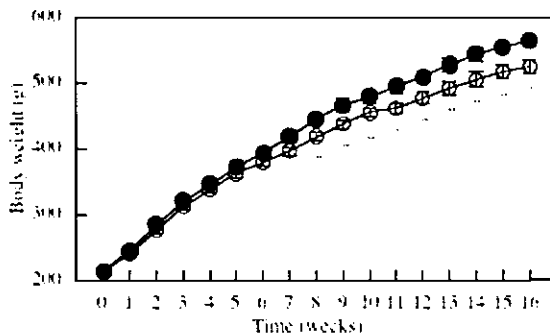


図3 SHR-cpの体重に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control:コントロール(n=8),
○ : GBE:イチョウ葉エキス(n=7),
平均±標準誤差.
*p<0.05 vs. Control.

(2) 心拍数、血圧に対する影響

心拍数(図4A)に対し、イチョウ葉エキス食は有意な影響を示さなかった。SHR-cpの収縮期血圧は実験期間中、加齢とともに漸増したが、この加齢に伴う収縮期血圧の上昇に対し、イチョウ葉エキス食は投与15週目より有意な抑制作用を示した(図4B)。しかしながら、拡張期血圧にはイチョウ葉エキス食による有意な影響は認められなかった(図4C)。

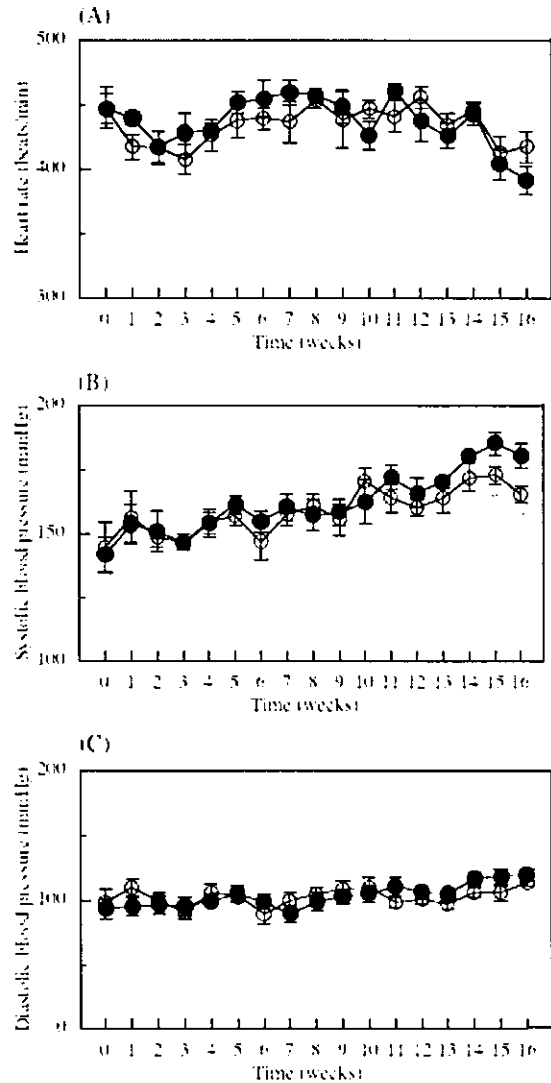


図4 SHR-cp心拍数(Heart rate:A)、収縮期血圧(Systolic blood pressure;B)および拡張期血圧(Diastolic blood pressure;C)におけるイチョウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control:コントロール(n=8),
○ : GBE:イチョウ葉エキス(n=7),
平均±標準誤差.
*p<0.05 vs. Control.

(3) 血糖およびインスリン濃度に対する影響

図5および6は少量の血液での測定が可能な糖尿病患者用センサーを用いて血糖値を測定したイチョウ葉エキス投与期間中の結果である。給餌時、コントロール群とイチョウ葉

エキス群との間に血糖値の有意な差は認められなかった(図5)。12週間イチョウ葉エキスを取らせたラットに対する糖負荷試験において、絶食後糖負荷前の血糖値はイチョウ葉エキス群において有意に高かったが、糖負荷1時間後の最高血糖値はコントロール群とイチョウ葉エキス群との間に有意な差は認められなかった(図6)。

表2はイチョウ葉エキス摂取16週間目(給餌)に血糖および血漿インスリン濃度を測定した結果である。コントロールに比べイチョウ葉エキス群において有意な血糖値の減少が認められた。インスリン濃度はコントロール群とイチョウ葉エキス群の間に有意な差は認められなかったが、低下する傾向が認められた。

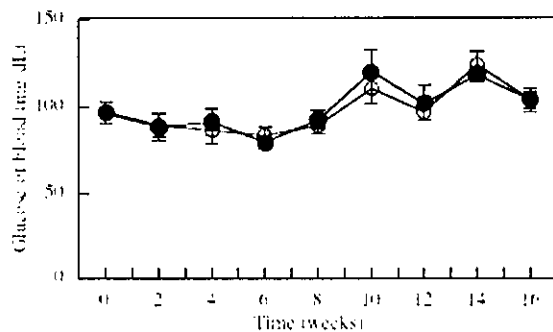


図5 ラット血糖に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control:コントロール(n=8),
○ : GBE:イチョウ葉エキス(n=7).
平均±標準誤差.

表2 血糖および血漿インスリン量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

	Control	GBE
グルコース (g/dL)	0.30±0.03	0.23±0.05*
インスリン (ng/mL)	87.7±20.1	62.7±4.5

Control : コントロール (n=8),
GBE : イチョウ葉エキス (n=7).
平均±標準誤差.

* p<0.05 vs. Control

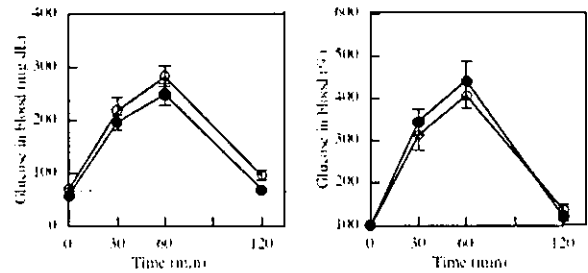


図6 糖負荷試験におけるイチョウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control:コントロール(n=8),
○ : GBE:イチョウ葉エキス(n=7).
平均±標準誤差.

* ** p<0.05, 0.01 vs. Control

(4) 尿中グルコース、蛋白量に対する影響

イチョウ葉エキス摂取期間中(5~15週)の尿中グルコース量は、コントロール群に比べイチョウ葉エキス群で有意に低下していた(図7)。また、24時間に排泄された尿中蛋白量は13週目より有意ではないがイチョウ葉エキス群において増加傾向が認められた(図8)。

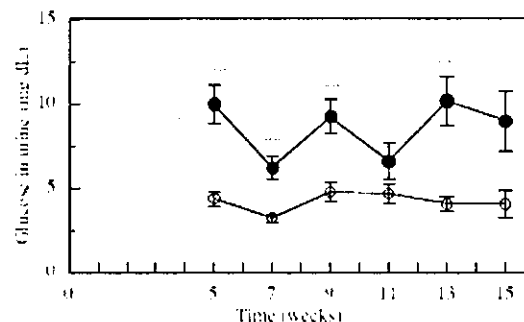


図7 ラット3時間尿中グルコースに対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control:コントロール(n=8),
○ : GBE:イチョウ葉エキス(n=7).
平均±標準誤差.

*** p<0.05, 0.01 vs. Control

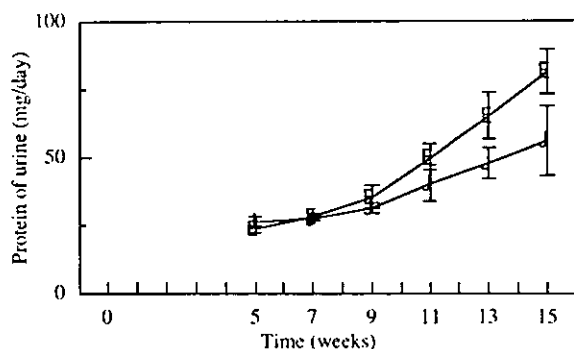


図8 ラット 24 時間尿中総蛋白量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control:コントロール(n=8),
○ : GBE:イチョウ葉エキス(n=7).
平均±標準誤差.

(5) 臓器重量に対する影響

表3は、イチョウ葉エキス 16 週間反復摂取後ラットの体重、摘出肝臓、心臓、腎臓および副腎重量に対するイチョウ葉エキスの影響を示したものである。体重 100 g あたりの肝臓重量比および体重 1 kg あたりの副腎重量比において、イチョウ葉エキスによる有意な増加が認められた。心臓および腎臓重量においては、イチョウ葉エキス長期投与による有意な変化が認められなかった。

表3 体重、肝臓、心臓、腎臓および副腎重量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

	Control	GBE
体重 (g)	579.9±8.15	536.6±13.0*
肝臓 (g) / 100 (g)体重	4.02±0.06	6.12±0.16**
心臓 (g) / 100 (g)体重	0.273±0.005	0.278±0.008
右腎臓(g) / 100 (g)体重	0.232±0.005	0.236±0.008
左腎臓(g) / 100 (g)体重	0.238±0.006	0.234±0.005
右副腎(g) / 1 (kg)体重	0.033±0.002	0.047±0.004*
左副腎 (g) / 1 (kg)体重	0.034±0.004	0.053±0.003**

Control : コントロール (n=8)、GBE :
イチョウ葉エキス (n=7). 平均±標準誤差.
*,** p<0.05, 0.01 from control.

(6) その他血液中各種パラメーターに対する影響

表4は、16 週間イチョウ葉エキス摂取後ラットの血清中 GOT、GPT および血漿中コレステロール、HDL-コレステロール、アルブミン、グロブリン、クレアチニン、総蛋白に対するイチョウ葉エキスの影響を示したものである。血漿中総コレステロール、HDL-コレステロール、アルブミンはイチョウ葉エキス食により有意に増加し、グロブリンには低下が認められた。血清中 GOT、GPT および血漿中クレアチニン、総蛋白量は、イチョウ葉エキス群とコントロール群に有意な変化は認められなかった。

表4 血液中の各種パラメーターに対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

	Control	GBE
GOT (Karmen)	184.9±15.7	190.1±10.7
GPT (Karmen)	171.4±14.8	182.3±11.9
総コレステロール (g/dL)	0.12±0.01	0.17±0.01**
HDL-コレステロール (mg/dL)	70.2±2.49	102.7±3.18**
アルブミン (g/dL)	4.05±0.05	4.62±0.09**
グロブリン (g/dL)	2.33±0.06	2.00±0.12*
クレアチニン (mg/dL)	0.62±0.03	0.67±0.02
総蛋白 (g/dL)	6.38±0.07	6.62±0.12

Control : コントロール (n=8),
GBE : イチョウ葉エキス (n=7).
平均±標準誤差.

*** p<0.05, 0.01 vs. control.

(7) 血漿中の TBARS 量に対する影響

表5は、16 週間イチョウ葉エキス摂取後ラ

表5 血中 TBARS 量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

	Control	GBE
TBARS (nmol/mL)	3.09±0.70	3.10±0.58

Control : コントロール (n=8),
GBE : イチョウ葉エキス (n=7).
平均±標準誤差.

ットの血漿中 TBARS 量を酸化ストレスのマ

カーとして測定したものである。コントロール群とイチョウ葉エキス群の間に有意な変化は認められなかった。

(8) 血漿中の NO 量に対する影響

表6は、16週間イチョウ葉エキス摂取後ラットの血漿中 NO 量を測定したものである。コントロール群とイチョウ葉エキス群の間に有意な変化は認められなかった。

表6 血中 NO 量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

	Control	GBE
NO (μ M)	26.7 \pm 3.8	24.2 \pm 3.0

Control : コントロール (n=8),

GBE : イチョウ葉エキス (n=7).

平均 \pm 標準誤差.

(9) 血漿中のカテコールアミンに対するイチョウ葉エキス反復摂取の影響

16週間イチョウ葉エキス摂取後ラットの血漿中のノルアドレナリンおよびアドレナリン量を表7に示す。その結果、イチョウ葉エキス食による影響は認められなかった。

表7 血漿中カテコールアミン量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

	Control	GBE
ノルアドレナリン (ng/mL)	1.02 \pm 0.15	1.28 \pm 0.13
アドレナリン (ng/mL)	1.00 \pm 0.14	1.51 \pm 0.26

Control : コントロール (n=8),

GBE : イチョウ葉エキス (n=7).

平均 \pm 標準誤差.

(10) 血漿中のプリン量に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

16週間イチョウ葉エキス摂取後ラットの血漿中のプリン量(ATP, ADP, AMP, ADO)を図9に示す。その結果、ATP およびADPはコントロール群に比べイチョウ葉エキス群では有意に高い値を示した。AMP ではイチョウ葉エ

キス投与による影響は認められず、ADO ではコントロール群に比べイチョウ葉エキス群では有意に低い値を示した。

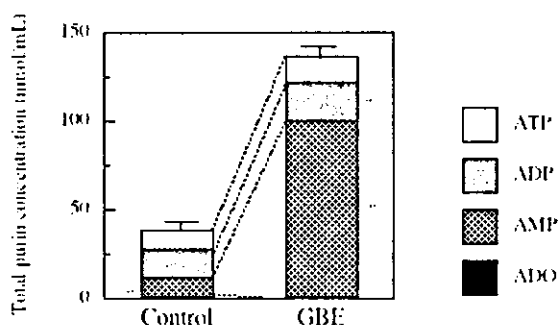


図9 プリン化合物に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

Control: コントロール(n=8), GBE: イチョウ葉エキス(n=7). 平均 \pm 標準誤差.

* $p < 0.05$ vs. control.

2. 血管弛緩反応に対するイチョウ葉エキス長期摂取の影響

(1) ラット摘出胸部大動脈におよぼす影響

ラット胸部大動脈に対するイチョウ葉エキスの16週間反復投与の影響について検討した。図10Aは16週間反復投与後に摘出した胸部大動脈におけるフェニレフリンの収縮反応をコントロール群とイチョウ葉エキス群について比較したものである。その結果、イチョウ葉エキス投与ラットの胸部大動脈において、フェニレフリンによる収縮作用が有意ではないが減弱する傾向が観察された。

図10Bは 10^{-7} Mのフェニレフリンで収縮させた胸部大動脈におけるアセチルコリンの弛緩作用をコントロール群とイチョウ葉エキス群について比較したものである。その結果、 3×10^{-7} Mのアセチルコリン濃度からイチョウ葉エキス群の弛緩作用の有意な増大が観察された。更に、アセチルコリンの最大弛緩率はコントロール群(63.2 \pm 3.4%)に比べイチョウ葉エキス群(79.5 \pm 5.5%)において有意に増大していた。一方、 10^{-7} Mのフェニレフリンで収縮

させた胸部大動脈におけるニトロプルシドナトリウムの弛緩反応には、イチヨウ葉エキス食による有意な影響は認められなかった(図 10C)。更に、一酸化窒素合成酵素阻害薬である N^G -Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 存在下、フェニレフリンで収縮させた胸部大動脈におけるニトロプルシドナトリウムの弛緩反応においてもイチヨウ葉エキス投与による有意な影響は認められなかった(図 10D)。

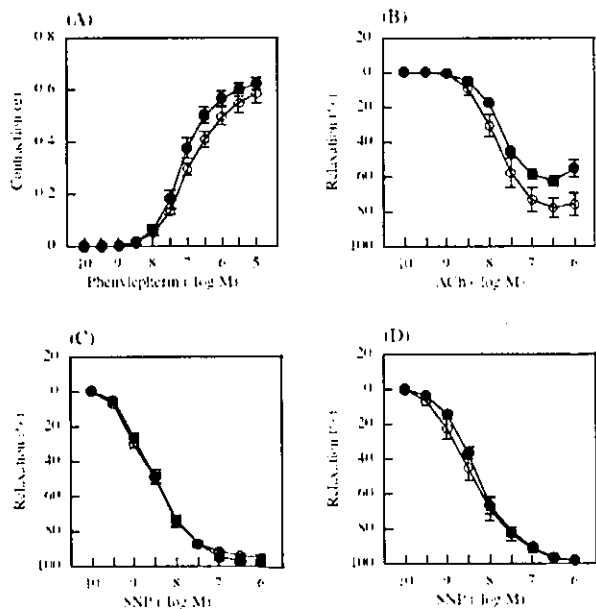


図 10 ラット摘出大動脈標本におけるフェニレフリンの収縮作用(A)、アセチルコリン (ACh) (B)、ニトロプルシドナトリウム(SNP)(C)および L-NAME 作用後 SNP(D)の弛緩作用に対するイチヨウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control: コントロール(n=6),
○ : GBE: イチヨウ葉エキス(n=6).
平均±標準誤差.
*p<0.05 vs. Control.

3. 医薬品の代謝機能に対するイチヨウ葉エキス長期摂取の影響

これまでの研究により、イチヨウ葉エキス長期摂取が肝重量とチトクローム P-450 量を有意に増加させるとともに、グルタチオンS-トランスフェラーゼ活性を増加させることを明らかにし、更にチトクローム P-450 の分子種

(特に CYP2B1/2) が誘導されることを明らかにした。この酵素が代謝する医薬品としてジヒドロピリジン系のカルシウム拮抗薬(ニカルジピンなど)がよく知られている。そこで、イチヨウ葉エキスの長期摂取と医薬品(ニカルジピン)の相互作用を明らかにするために、ニカルジピンの降圧作用を検討した。

(1) ニカルジピンの降圧作用におよぼす影響

図 11 は、コントロール群とイチヨウ葉エキス群に抗高血圧薬のニカルジピン(30 mg/kg)を経口投与した時の降圧作用を示したものである。

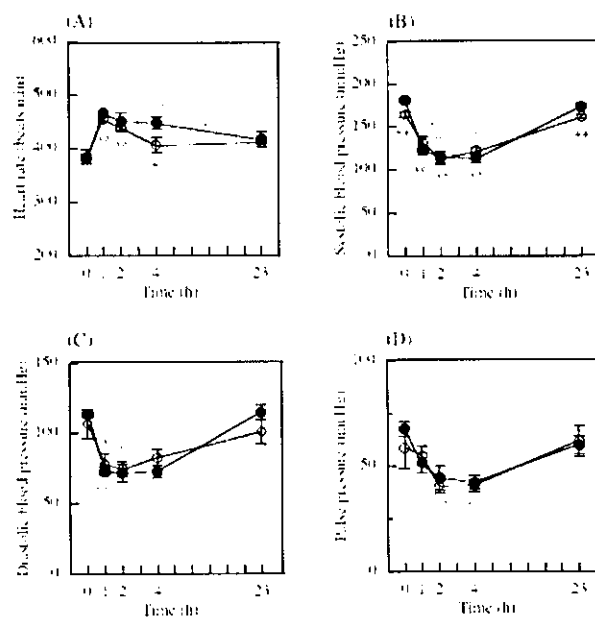


図 11 ラット心拍数 (Heart rate;A)、収縮期血圧 (Systolic blood pressure;B)、拡張期血圧 (Diastolic blood pressure;C) および脈圧 (Pulse pressure;D) におけるイチヨウ葉エキス長期摂取の影響

● : Control: コントロール(n=8),
○ : GBE: イチヨウ葉エキス(n=7). 平均±標準誤差.
*** p<0.05, 0.01 vs. 0hr Control,
p<0.05, 0.01 vs. 0hr GBE,
+++ p<0.05, 0.01 Control vs. GBE.

図 11 は、コントロール群とイチヨウ葉エキス群に高血圧治療薬のニカルジピン（30 mg/kg）を経口投与した時の降圧作用を示したものである。イチヨウ葉エキス群におけるニカルジピンの拡張期血圧（C）および脈圧（D）は、コントロール群に比べ有意に減弱していたが、収縮期血圧（B）はニカルジピンにより影響されなかった。ニカルジピンによる心拍数（A）の増加もコントロール群に比べイチヨウ葉エキス群において減少した。

4. 生活習慣病ラット(SHR-cp)に対するイチヨウ葉エキス短期経口投与の影響

SHR-cp を用いた研究により、イチヨウ葉エキス長期摂取が加齢に伴う血圧の上昇を抑制すること、その抑制に内皮依存性弛緩反応の亢進が関与している結果を得た。そこで、次にテレメトリー装置を用いて SHR-cp の循環パラメーターに対するイチヨウ葉エキス一日投与（100 mg/kg/day, p.o.）の影響をまず検討した。図 12 上段に示すように、10 匹のラットの心拍には明らかな日内変動リズムが観察された。このような心拍に対し、イチヨウ葉エキスはなんら著しい影響を示さなかった。イチヨウ葉エキスは、収縮期血圧ならびに拡張期血圧にも有意な影響を示さなかった（図 12 中段および下段）。

5. ddY 系マウスの心拍数、血圧および血流量に対するイチヨウ葉エキス腹腔内投与の影響

SHR-cp を用いたこれまでの研究では、イチヨウ葉エキス投与長期摂取が加齢に伴う血圧の上昇を抑制したが、一回の経口投与ではこのような作用を検出できなかった。そこで次に、マウスを用いイチヨウ葉エキスの一回腹腔内投与の影響を検討した。投与量は 100 mg/kg/day とした。なお、比較のためのポジティブコントロールとして杜仲茶投与の影響も同様（100mg/kg/day）に検討した。 図

13 に示されているようにイチヨウ葉エキス投与群において、イチヨウ葉エキス投与70分後から血流量が有意に増加した。しかし、杜仲茶では全く影響が認められなかった。

図 14 は投与90分後の収縮期血圧（左）拡張期血圧を示したものである。イチヨウ葉エキスは、長期摂取の場合と同様に収縮期血圧を有意に低下させた。一方、杜仲茶は収縮期血圧には影響せず、拡張期血圧を著明に低下させた。イチヨウ葉エキスも杜仲茶も心拍数には影響しなかったが、杜仲茶は有意に脈圧を増加させ、イチヨウ葉エキスも脈圧を増加させる傾向を示した（図 15）。

6. ヒトおよびラットの赤血球の変形能および細胞内カルシウムレベルの測定方法の検討

5 ミクロンの細孔を有するフィルターを経路に装着した灌流装置を用いて、赤血球の灌流パイロット試験を行った結果、赤血球による灌流圧上層が再現性よく測定可能となった。同時に ATP 存在下で赤血球による灌流圧上昇が増強されることを観察した。ATP は赤血球において、その変形能を低下させることが知られており、このことから赤血球の変形能の変化を感度良く測定していることが確認された。一方、ヒトおよびラットの赤血球に蛍光プローブのカルシウムグリーンをローディングすることにより、非刺激時の蛍光イメージ画像の取得には成功した。しかしながら、薬液注入による赤血球の移動により、刺激時のカルシウムレベルの変動を捉えるところまでは到達していない。今後、移動を最小限に押さえる方法について検討を重ねる予定である。

更に、現在血管組織の平滑筋および内皮のカルシウム変動を細胞レベルで測定する方法を開発しており、腸間膜動脈および内頸動脈で両細胞のカルシウム動態の画像取得に成功している。前者からは末梢血管の、後者からは脳血管の情報を得られるものと考えられる。

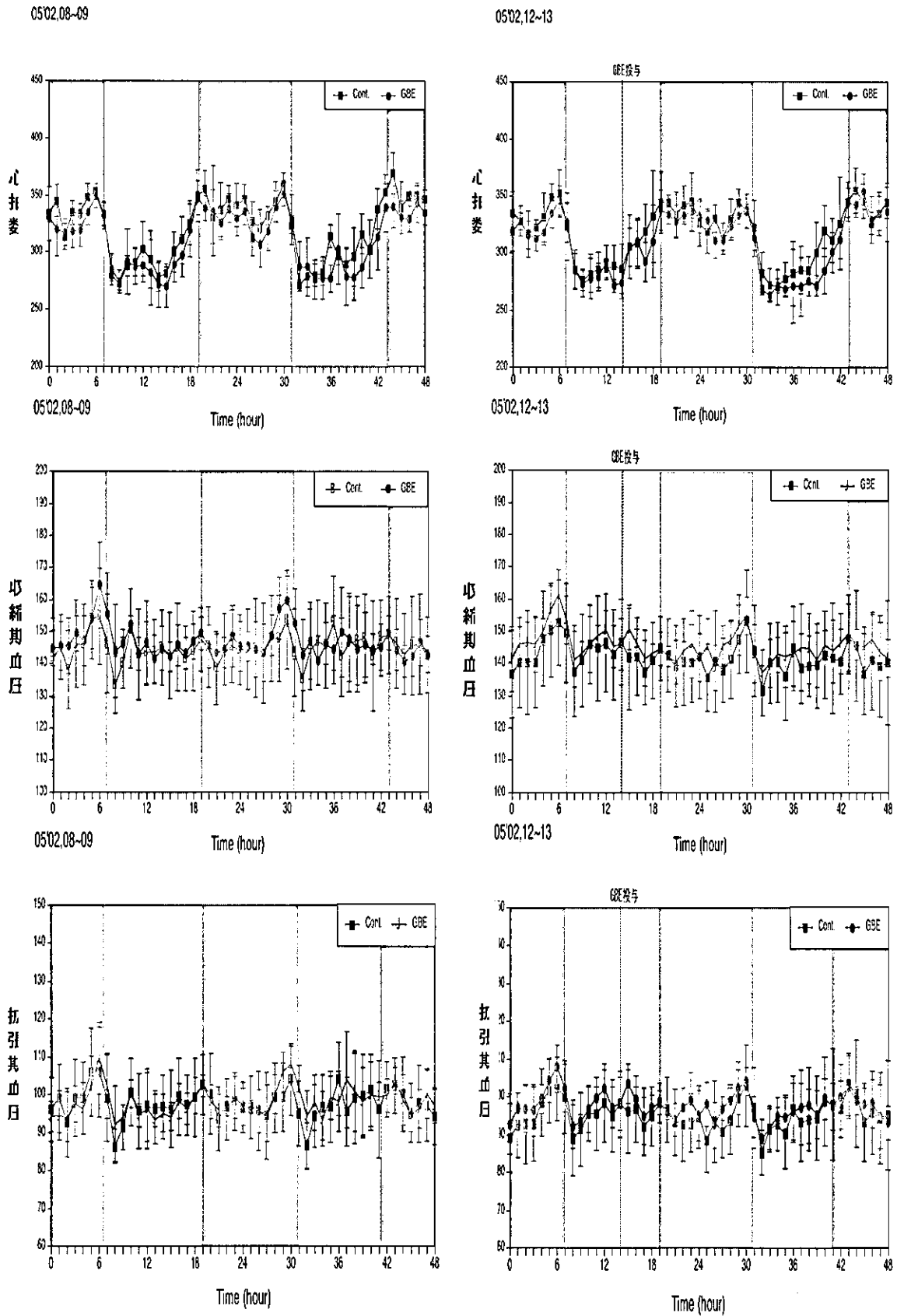


図12 SHR/NDmcr-cpの心拍数(上段)、収縮期血圧(中段)、拡張期血圧(下段)に対するイチヨウ葉エキス(100mg/kg p.o/day)一日経口投与の影響。破線部で投与(各群5匹)

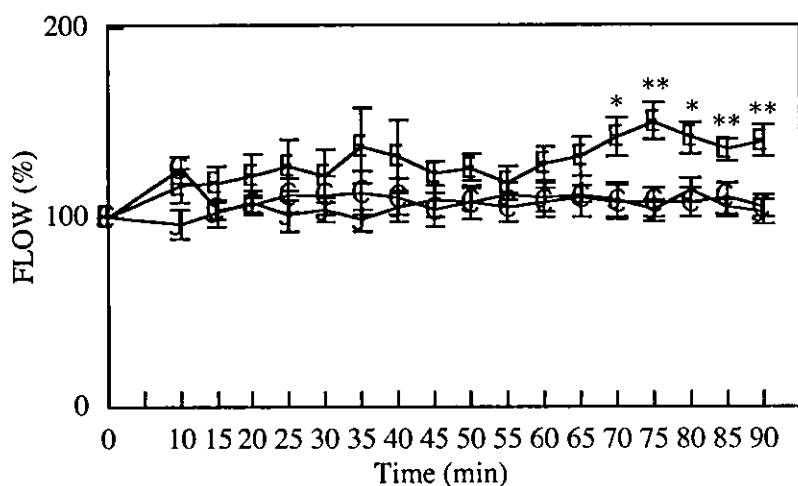


図 13 マウス血流量に対するイチョウ葉エキスおよび杜仲茶の影響

●; コントロール (n=8), ○; イチョウ葉エキス (n=8), △; 杜仲茶 (n=8). 平均±標準誤差.

*,** p<0.05, 0.01 vs. コントロール.

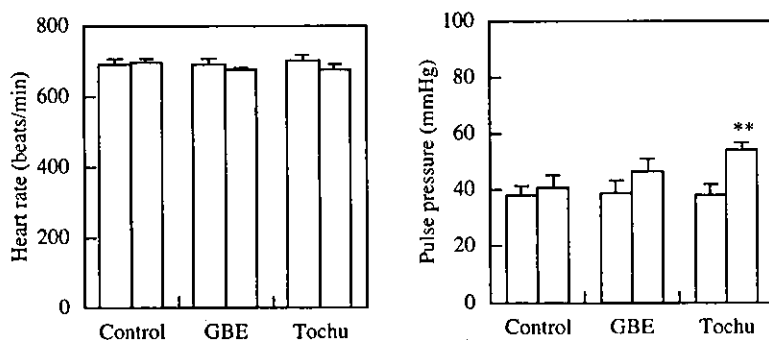


図 14 マウス心拍数(Heart rate)、脈圧(Pulse pressure) に対するイチョウ葉エキスおよび杜仲茶の影響

■; 投与前, □; 投与後. Control; コントロール (n=8), GBE; イチョウ葉エキス (n=8), Tochu; 杜仲茶 (n=8).

平均±標準誤差. ** p<0.01 vs. コントロール.

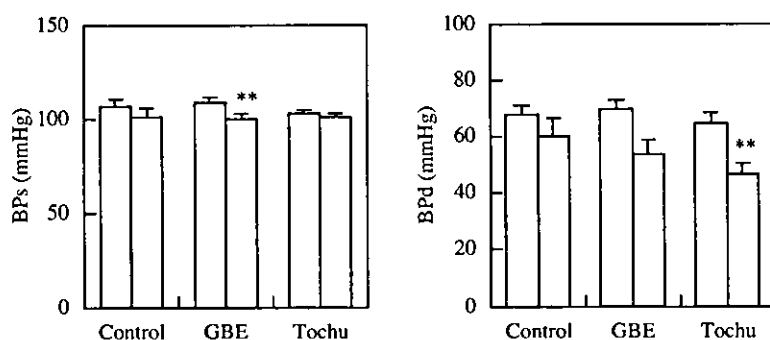


図 15 マウス収縮期血圧(BPs)、拡張期血圧(BPd)に対するイチョウ葉エキスおよび杜仲茶の影響

■; 投与前, □; 投与後. Control; コントロール (n=8), GBE; イチョウ葉エキス (n=8), Tochu; 杜仲茶 (n=8).

平均±標準誤差. ** p<0.01 vs. コントロール.

D. 考察

生活習慣病ラット (SHR/NDmcr-cp) は米国衛生医学研究所より日本に導入された高血圧・肥満自然発症ラットであり、米国衛生医学研究所の SHR/N-cp の一系統である。症状的には SHR/N 由来の自然発症高血圧と corpulent(cp)由来の著名な肥満が表現型として認められ、高炭水化物飼料による飼育により、ヒトのインスリン非依存型糖尿病類似の代謝障害、高インスリン血症、高脂血症、耐糖能低下、および糖尿が起こることが認められており、ヒトにおける肥満・高血圧・糖尿病・高脂血症が合併するメタボリックシンドロームのモデルとして注目されている。

肥満の原因遺伝子としてはレプチン受容体遺伝子の細胞外ドメイン 763 番目の Tyr の変異が同定されているが^{1,2)}、高血圧は多因子遺伝で、第一染色体等にその原因遺伝子領域が存在することが報告されている³⁾。

このようなモデル動物に対し、イチヨウ葉エキスは収縮期血圧の上昇を軽度に抑制した。これは加齢に伴う高血圧の進展を予防する効果のあることを示唆するものと考えられる。イチヨウ葉エキスについてはヨーロッパを中心に多くの研究が行われており、末梢の動脈閉鎖症の改善などヒトでの有用性も証明され、臨床的にも利用されている。その薬理作用としては、血小板活性化因子 (PAF) の阻害による抗血栓作用⁴⁾や内皮依存性の血管弛緩作用^{5,6)}などが報告されている。この血管に関する報告は、イチヨウ葉エキスを摘出血管へ直接適用してその作用を検討した結果であり、イチヨウ葉エキスの構成成分のひとつであるケルセチンに内皮細胞を刺激して内皮由来血管弛緩因子を遊離することが報告されておる⁷⁻¹²⁾。恐らくケルセチンがイチヨウ葉エキスの血管拡張作用の一端を担っているものと考えられる。しかしながら、本研究のような長期摂取により血管内皮細胞の機能自身が亢進という報告は見当たらない。更に、このような内皮機能への影響は血

圧のような全身的な変化としてあらわれるのではなく、局所的な循環改善効果としてあらわれる可能性を本研究結果は示唆している。

実際に、マウスに腹腔内投与した場合、降圧作用が報告されている杜仲茶では拡張期血圧が低下するが、イチヨウ葉エキスでは拡張期血圧は低下傾向を示すのみで、有意ではなかった。一方、イチヨウ葉エキスは局所血流量を増加させたが、杜仲茶は血流量にはまったく影響しなかった。杜仲茶は血管平滑筋に直接作用して弛緩反応を惹起することが報告¹³⁾されているが、このような作用により、確実な血管拡張と血圧降下が起こるものと推察される。一方、イチヨウ葉エキスは内皮細胞由来血管弛緩因子 (一酸化窒素) の遊離を介した間接的なものであり、抵抗血管に対し調節的な作用を示すものと考えられる。そして、このような作用点の相違が血圧と局所血流に対する両被験食品の作用の違いに関連しているのかもしれない。

テレメトリーによる循環動態連続測定による、イチヨウ葉エキス一回経口投与の実験において、影響は観察されなかった。このことは、マウスの結果とも一致しており、血圧への影響は短期投与では、イチヨウ葉エキスの場合十分ではないことを示している。しかしながら、ラットにおける血流への影響については定かではない。今後、血流への影響や長期投与した場合の作用の経時的推移などを検討する必要がある。また、長期投与による内皮細胞の機能変化をシグナル分子レベルで解明することも重要と思われる。

以上の結果より、病態動物を用いた長期経口摂取の実験系により加齢にともなう SHR-cp の血圧の上昇に対する、イチヨウ葉エキスの軽度の抑制作用を検出した。更に組織を使用した実験結果から、イチヨウ葉エキスのこの作用が内皮細胞の一酸化窒素産生機能に対する促進的な影響を及ぼすことが示された。

このような結果に、腹腔内投与や一回経口投与の実験結果を組み合わせることにより、長期投

与の重要性が示唆された。

今後の研究展開としてはイチヨウ葉エキスの作用をより詳細に解明するために、内皮細胞のムスカリン受容体と共役する細胞内シグナル (Ca^{2+} ・一酸化窒素合成酵素・そのメッセンジャーの発現など) に対する影響を、共焦点画像解析装置などを使って追求する。またイチヨウ葉エキスの血流量の増加作用に対する血球の関与の可能性について解明するために、赤血球の変形能と細胞内 Ca^{2+} 動態に対するイチヨウ葉エキス長期投与の影響についても検討する。

イチヨウ葉エキスのスクリーニング完了後、そのデータを指針として他の健康食品のスクリーニングを行う。

E. 結論

マウスの血圧および局所血流量に対し、GBEの腹腔内投与は、軽度の血圧低下作用と血流増加作用を示した。

加齢にともなうSHR/NDmcr-cpの血圧上昇に対し、GBEの長期経口投与は軽度の抑制作用を示した。

GBEを長期経口投与されたラットの摘出血管において、アセチルコリンによる弛緩反応が増強され、ニトロプルシドによる弛緩反応には影響が認められなかった。

以上の結果より、GBEは内皮細胞の一酸化窒素産生機能に対し、促進的な影響を及ぼすこと、これが降圧機序の一因をなしているものと推察された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Anti-hypertensive effects of brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 31: S29-S30 (2004)

2. Pretreatment of *Ginkgo biloba* extract weakens hypnosis action of phenobarbital and its plasma

concentration in rats *J. Pharmacy and Pharmacology* 56: 401-405 (2004)

3. Induction and recovery of hepatic drug metabolizing enzymes in rats treated with *Ginkgo biloba* extract. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 953-957 (2004)

4. 老齢ラットの循環機能に対するイチヨウ葉エキス4週間反復投与の影響 *日本食品化学学会誌*, 11: 81-85 (2004)

5. ラットにおける糖尿病治療薬トルブタミドとイチヨウ葉エキスの相互作用に関する検討 *臨床薬理*, 35: 209S (2004)

2. 学会発表

1. 食塩負荷脳卒中易発症高血圧ラットの胸部大動脈に生じる NO-cGMP 系弛緩反応減弱のメカニズム : 籠田智美, 田中直子, 窪田洋子, 中村一基, 篠塚和正, 国友 勝, 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 2004. 3.

2. ラット赤血球のカルシウムイオンレベルに対するATPの影響: 遊道佳子, 田中直子, 窪田洋子, 籠田智美, 中村一基, 国友 勝, 篠塚和正, 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 2004. 3.

3. 血管内皮細胞におけるニコランジルによるATP遊離促進作用は細胞膜・ミトコンドリア膜のATP感受性Kチャンネル開口による細胞内Ca増加に依存する : 橋本道男, 田中直子, 藤井由巳, 窪田洋子, 田辺洋子, 国友 勝, 紫道治, 篠塚和正, 第77回日本薬理学会年会, 大阪, 2004. 3.

4. Anti-hypertensive effects of Brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. Kubota, Y., Kobayashi, K., Umegaki, K., Tanaka, N., Kagota, S., Nakamura, K., Kunitomo, M., Shinozuka, K. *Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.*

5. Dysfunction of purinergic regulation of sympathetic neurotransmission in SHR/Ndmcrcp rat (SHR-cp). : Tanaka, N., Nejime, N., Kagota, S., Kubota, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M., Hashimoto, M., Shinozuka, K. *Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.*

6. Characteristics of vasorelaxation responses in the rat model of the metabolic syndrome. : Kagota, S., Tanaka, N., Kubota, Y., Yamaguchi, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M., Shinozuka, K. *Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.*

7. Age-related changes in fatty acid composition of plasma and hippocampus of Wistar-Kyoto and SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) rats. : Hashimoto, M., Kubota, Y., Tanaka, N., Yamaguchi, Y., Fujii, Y., Kagota, S., Shido, O., Kunitomo, M., Shinozuka, K. *Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.*

8. Anti-hypertensive effects of dietary supplements in spontaneously hypertensive rats. : Kubota, Y., Kobayashi, K., Umegaki, K., Tanaka, N., Kagota, S.,

Nakamura, K., Kunitomo, M., Shinozuka, K. *The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.*

9. Change of purinergic prejunctional modulation on NE-release from sympathetic nerves in the caudal artery of SHR/Ndmcrcp rat (SHR-CP). : Tanaka, N., Nejime, N., Kagota, S., Kubota, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M., Hashimoto, M., Shinozuka, K. *The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.*

10. Impaired effect of salt loading on nitric oxide-mediated relaxation system in aortas from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. : Kagota, S., Shinozuka, K., Yamaguchi, Y., Tanaka, N., Kubota, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M. *The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.*

11. Age-related changes in fatty acid composition of plasma and hippocampus of Wistar-Kyoto and SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) rats. : Hashimoto, M., Kubota, Y., Tanaka, N., Yamaguchi, Y., Fujii, Y., Kagota, S., Shido, O., Kunitomo, M., Shinozuka, K. *The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.*

G. 参考文献

1) Takaya K, Ogawa Y, Hiraoka J, Hosoda K, Yamori Y, Nakao K, Koletsky RJ. Related Articles, Links No abstract Nonsense mutation of leptin receptor in the obese spontaneously hypertensive Koletsky rat. *Nat Genet.* 1996 ;14(2):130-1.

2) Takaya K, Ogawa Y, Isse N, Okazaki T, Satoh N, Masuzaki H, Mori K, Tamura N, Hosoda K, Nakao K. Related Articles, Links Abstract Molecular cloning of rat leptin receptor isoform complementary DNAs--identification of a missense mutation in

Zucker fatty (fa/fa) rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996 ;225(1):75-83.

3) Nara Y, Nabika T, Ikeda K, Sawamura M, Mano M, Endo J, Yamori Y. Related Articles, Links Abstract Basal high blood pressure cosegregates with the loci on chromosome 1 in the F2 generation from crosses between normotensive Wistar Kyoto rats and stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;194(3):1344-51.

4) Spinnewyn B, Blavet N, Clostre F, Bazan N and Braquet P. Involvement of platelet-activating factor (PAF) in cerebral post-ischemic phase in Mongolian gerbils. *Prostaglandins* 1987; 34: 337-49

5) Delaflotte S, Auguet M, Defeudis FV, Baranes J, Clostre F, Drieu K, Braquet P. Endothelium-dependent relaxations of rabbit isolated aorta produced by carbachol and by Ginkgo biloba extract. *Biomed. Biochim. Acta* 1984;43:S212-6.

6) Chen X, Salwinski S, Lee TJ-F. Extracts of ginkgo biloba and ginsenosides exert cerebralvasorelaxation via a nitric oxide pathway. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1997;24:958-9.

7) Duarte J, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Jimenez J, Tamargo J. Vasodilator effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 1993;239(1-3): 1-7.

8) Duarte J, Perez-Vizcaino F, Zarzuelo A, Jimenez J, Tamargo J. Inhibitory effects of quercetin and staurosporine on phasic contractions in rat vascular smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 1994;262(1-2):149-56.

10) Chiesi M, Schwaller R. Inhibition of constitutive endothelial NO-synthase activity by tannin and quercetin. *Biochem. Pharmacol.* 1995;49(4):495-501.

11) Zhao XY, Gu ZL. Effects of quercetin on production and release of endothelin and cGMP from cultured endothelial cells. *Chung Kuo Yao Li*

Hsueh Pao 1996;17(5):442-4.

12) Zhao X, Gu Z, Attele AS, Yuan CS. Effects of quercetin on the release of endothelin, prostacyclin and tissue plasminogen activator from human endothelial cells in culture. *J. Ethnopharmacol.* 1999;67(3):279-85.

13) Namba T, Hattori M, Yie J, Ma Y, Nomura Y, Kaneko S, Kitamura Y, Koizumi T, Katayama K, Lu W. Studies on Tu-Chung leaves (I). Pharmacological effects of the water extract *in vivo*. *J. Med. Pharm. Soc. Wakan-Yaku.* 1986; 3: 89-97.

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
分担研究報告書

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究
—食品の口腔における有効性評価方法の確立—
食品の口腔における再石灰化能の評価方法

分担研究者 花田信弘 国立保健医療科学院口腔保健部 部長
研究協力者 稲葉大輔 岩手医科大学歯学部予防歯科学講座 助教授
研究協力者 雫石 聡 大阪大学大学院歯学研究科予防歯科学教室 教授

研究要旨 口腔における健康食品の再石灰化能の評価について検討した。本年度はミネラル濃度の評価方法として、う蝕診断法に実用化された「定量的可視光励起蛍光法」(Quantitative Light-induced Fluorescence; QLFTM法)の特性を検討した。再石灰化処理を変えて調製したウシエナメル質を準備し、それらのミネラル濃度をQLF法ならびに従来法であるマイクロラジオグラフィ(TMR)により測定した。両者を比較したところ、QLF法のミネラルパラメータである蛍光減少率 ΔF (%)はTMR法のミネラル喪失量 ΔZ (vol%・ μm)と有意かつ高い相関を示すことが確認された($r=0.98$; $p<0.01$)。QLF法はTMR法と同様の精度で歯質のミネラル量を測定できる定量性を有しており、食品の再石灰化促進効果の標準評価法として、また、食品機能評価の簡素化を進める手段として有用であることが示唆された。また、口臭予防のための健康食品の評価を行うための口臭の指標を開発するため、被験者より歯肉縁下プラークおよび舌苔サンプルを採取した。同時に、歯周ポケットプロービング深さ、付着プラーク量、舌苔付着量、官能試験、ガスクロマトグラフィ検査、電子嗅覚装置検査等のデータを採取して検討した。その結果、口臭予防のための健康食品の評価法として、官能試験やガスクロマトグラフィの他、Real-time PCR法や電子嗅覚装置測定法が応用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

食品の再石灰化促進効果に関する評価方法と審査基準の設定にあたっては、被検食品(または成分)による歯質試料の処理方法とともに、歯質ミネラル濃度の評価方法の標準化と最適化が重要となる。さらに、そのミネラル評価方法は、精度と感度および再現性が高く、しかも容易であることが望ましい。このような観点から、本年度はミネラル濃度の評価方法として、近年、う蝕診断法として開発された「定量的可視光励起蛍光法」(Quantitative Light-induced Fluorescence; QLFTM法)の特性と有用性を検討した。

また、現在、臨床の場における口臭の評価法として、主に、ヒトの嗅覚を利用した官能試験と特定の口臭原因物質を測定するガスクロマトグラフィによる分析が用いられている。官能試験は、判定者の主観的影響を受けたり、嗅覚

が順応を起こす可能性が指摘されており、ガスクロマトグラフィによる分析では、多くの原因物質のうち限定された揮発性硫化物などを測定するにすぎない。本研究では、口臭予防のための保健用機能性食品の評価するための口臭の指標を開発することを目的とした。

B. 研究方法

1. 再石灰化評価方法

材料にはウシ切歯のエナメル質を使用した。新鮮な抜去歯の歯冠頬面を研磨して新鮮なエナメル質平滑面を露出させて実験歯面とした。ついで、実験歯面以外を常温重合レジンに包埋し、さらに、実験面の中央付近に設定した約4x4mmのウインドウ以外を蛍光に影響しない透明パーニッシュ(ネイルコート)で被覆した。はじめにすべての試料を0.1M乳酸ゲル(pH5.0)に37℃で2週間浸漬して人工初期う

蝕を形成した。ついで、次の5群に分け、いずれかの反応処理液に37℃で7日間浸漬し再石灰化処理とした。リン酸化オリゴ糖カルシウム(POs-Ca)は、馬鈴薯デンプン由来のリン酸基を持つオリゴ糖にカルシウムが結合した新しい食品素材で、すでに特定保健用食品として認可されたデンタルガム(ボスカム)の有効成分として応用されている。再石灰化処理終了後、QLF™法(QLF-PRO, Inspektor Dental Care BV, The Netherlands)と平行切片によるtransversal microradiography (TMR; PW1830 generator, Philips, The Netherlands)でミネラルを評価した。QLF™法評価にあたっては、ウインドウに隣接する透明バーニッシュ被覆エナメル質を健全部とした。なお、QLF™法の基礎となったう蝕病巣の蛍光については、1982年にSundstromにより記述された。1994年に蛍光によるう蝕検出理論がde Josselin de Jongにより発表され、専用の装置(QLF-PRO)が開発された。QLF™法は、青色可視光をエナメル質に照射すると、エナメル象牙境付近に由来する緑色蛍光が励起されるが、う蝕病巣がエナメル質にあると、同部を通過する蛍光がミネラル濃度に依存して散乱・減弱するために蛍光強度が低下し、画像上では暗部として観察される原理を応用した手法である(図1)。これまでの研究で、蛍光強度はミネラルと濃度依存的な関係にあることが確認されている。

2. 口臭評価方法

歯周病細菌のReal-time-PCR法については、各々のサンプル中の総細菌数を、ユニバーサルプライマー/TaqManプロンプセットを用いたりリアルタイムPCR法にて検出した。また、*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. forsythia*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *T. denticola*に対する特異的プライマー/TaqManプロンプセットのデザインおよびその特異性と検出限界を確認し、それら菌種に特異的なリアルタイムPCR用のプライマー

/TaqManプロンプセットを用いてサンプル中の菌数を検出した。

次いで、大阪大学歯学部附属病院口腔保健科に来院した口臭患者29名および職員10名を対象者とし、歯肉縁下プラークおよび舌苔サンプルを採取した。また、同時に、官能試験、ガスクロマトグラフィ検査、歯周ポケットプロービング深さ、付着プラーク量、舌苔付着量等のデータを採取した。

さらに、センサー型電子嗅覚装置による口臭測定については、6つの金属酸化物半導体センサーをもつにおい識別装置(FF-1、島津製作所)を用いた。センサー型電子嗅覚装置の検査法としての有用性を調べるために、被験者78名を対象にして、官能試験を至適基準として、電子嗅覚装置により得られるトップノートスコアとガスクロマトグラフィによる測定結果と比較した。

(倫理面への配慮)

本研究の被験者には予め研究の趣旨を十分説明し、承諾を得た後研究に参加頂いた。

C. 研究結果および考察

1. 再石灰化評価方法

QLF™法のパラメータでミネラルの減少程度を反映する蛍光減少率 ΔF (%)は、TMR法のミネラル喪失量 ΔZ (vol% $\cdot\mu\text{m}$)と直線的な関係にあり、有意かつ高い相関を示すことが確認された(図2; $r=0.98$; $p<0.01$)。

2. 口臭評価方法

Real time PCR法により、歯肉縁下プラークおよび舌苔中の主な歯周病細菌を定量できることを示した。

図3に示すように、ガスクロマトグラフィーにより測定したヒト呼気中の揮発性硫化物量と舌苔の5種の歯周病細菌の比率とは $r=0.88$ と強い正の相関を示し、重回帰分析により調べられた舌苔歯周病細菌の比率により揮発性硫化物量を81%説明できた。これらの結果は舌苔中の歯周病細菌が呼気中の揮発性硫化物産生

に大きく寄与することを示している。

図4に示すように、ヒト呼気を電子嗅覚装置により測定した口臭強度は官能スコア値との間に $r=0.71$ と高い相関係数を示し、また、ROC解析の結果、トップノートスコアによるROC曲線は左上方に突出し、曲線下部の面積は0.879であり、logVSCの0.698より有意に大きく、本法は検査法として優れていることが示唆された。これらの結果は電子嗅覚装置によるトップノートスコアは、口臭の臨床応用として有用であることが示唆された。

D. 結論

QLF™法はTMR法と同様の精度で歯質のミネラル量を評価できる定量性を有しており、食品の再石灰化促進効果の標準評価法として、また、食品機能評価の簡素化を進める手段として有用であることが示唆された。

また、口臭予防のための健康食品の評価法として、官能試験やガスクロマトグラフィーの他、Real-time PCR法や電子嗅覚装置測定法が応用できる可能性が示唆された。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Amarasena N, Ogawa H, Yoshihara A, Hanada N, Miyazaki H. Serum vitamin C-periodontal relationship in community-dwelling elderly Japanese. *J Clin Periodontol.* 32:93-7, 2005.
- (2) Tamaki Y, Nomura Y, Teraoka K, Nishikahara F, Motegi M, Tsurumoto A, Hanada N. Characteristic and willingness of patients to pay for regular dental check-up in Japan, *J Oral Science*, 46:127-133, 2004.
- (3) Nomura Y, Takeuchi H, Kaneko N,

Matin, K, Iguchi R, Toyoshima Y, Kono Y, Ikemi T, Imai S, Nishizawa T, Fukushima K, Hanada N. Feasibility of eradication of mutans streptococci from oral cavities. *Journal of oral science* 46: 179-183, 2004.

(4) Kamasaka H, Inaba D, Minami K, To-o K, Nishimura T, Kuriki T, Imai S, Hanada N, Yonemitsu M. Application of phosphoryl oligosaccharides of calcium (Pos-Ca) for oral Health. *J. Appl. Glycoscience* 51: 129-134, 2004.

(5) Morita E, Narikiyo M, Nishimura E, Yano A, Tanabe C, Sasaki H, Hanada N. Molecular analysis of age-related changes of *Streptococcus anginosus* group and *Streptococcus mitis* in saliva Molecular analysis of age-related changes of *Streptococcus anginosus* group and *Streptococcus mitis* in saliva. *Oral Microbiol Immunol* 19: 1- 4, 2004.

(6) Nomura Y, Tsuge S, Hayashi M, Sasaki, M, Yamauchi, T, Ueda N, Hanada N. A survey on the risk factors for the prevalence of dental caries among preschool children in Japan. *Pediatric Dental Journal* 14: 79-85, 2004.

(7) Nomura Y, Tsurumoto A, Nishigawara F, Motegi M, Hanada N, Kumagai T. Controlling cariogenic bacteria by the regular check-up system. *Pediatric Dental Journal* 14: 95-101, 2004.

(8) Tsuha Y, Hanada N, Asano T, Abei T, Yamaguchi S, Salam MA, Nakao R, Takeuchi H, Kurosaki N, Senpuku H. Role of peptide antigen for induction of inhibitory antibodies to *Streptococcus mutans* in human oral cavity. *Clin Exp Immunol.* 137:393-401, 2004.

(9) Yoshihara A, Seida Y, Hanada N, Miyazaki H. A longitudinal study of the

relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol.* 31:680-4, 2004.

(10) Tada A, Hanada N. Sexual differences in oral health behaviour and factors associated with oral health behaviour in Japanese young adults. *Public Health.* 118:104-9, 2004.

(11) Abdus Salam M, Matsumoto N, Matin K, Tsuha Y, Nakao R, Hanada N, Senpuku H. Establishment of an animal model using recombinant NOD.B10.D2 mice to study initial adhesion of oral streptococci. *Clin Diagn Lab Immunol.* 11:379-86, 2004.

(12) Kuboniwa M, Amano A, Kimura, R. K, Sekine S, Kato S, Yamamoto Y, Okahashi, N, Iida T. and Shizukuishi S. Quantitative detection of periodontal pathogens using real-time PCR with TaqMan probes. *Oral Microbiol. Immunol.*, 19: 168-176, 2004.

(13) Tanaka M, Yamamoto Y, Kuboniwa M, Nonaka A, Nishida N, Maeda K, Kataoka K, Nagata H. and Shizukuishi S. Contribution of periodontal pathogens on tongue dorsa analyzed with real-time PCR to oral malodor. *Microbes Infect.*, 6: 1078-1083, 2004.

(14) Tanaka M, Anguri H, Nonaka A, Kataoka K, Nagata H, Kita J. and Shizukuishi S. Clinical assessment of oral malodor by the electronic nose system. *J. Dent. Res.*, 83(4): 317-321, 2004.

(15) 高田将成、佐藤勉、泉福英信、花田信弘、自立
高齡者と要介護高齡者の口腔微生物叢の比較、口腔
衛生学会雑誌、54 (3) : 178-187,2004

(16) 葭原明弘、清田義和。片山照二郎、花田信
弘、宮崎秀夫、地域在住高齡者の食欲とQOL
との関連、口腔衛生学会雑誌、54 (3) :
241-247,2004

2. 学会発表

(1) Inaba D, Tamura K, Minami K, Yonemitsu M. Effects of Phosphoryl Oligosaccharide Calcium on Enamel Remineralization as measured by Quantitative Light-induced Fluorescence. The 52nd Annual Congress of European Organisation for Caries Research (ORCA), 2005.

(2) Inaba D. Lifestyle of dental professions in Japan: A pilot study. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

(3) Hayashida A, Hoshi K, Sato Y, Ito J, Arai T, Imai S, Hanada N, Uematsu H. Comparison of Sampling Bags Used for Measuring Breath Odor. 6th International Conference on Breath Odor. 2004 April 20-22: Royal College of Surgeons of England, UK. Program P12.

(4) Matin K, Imai S, Hanada N, Tagami J. Biofilm Formation on Resin Composites in an Artificial Mouth System. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

(5) Usui Y, Hinoide M, Imai S, Hanada N, Uematsu H. The efficacy of Ag(NH₃)₂F as an anti-caries agent on dentin in the artificial mouth model system. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

(6) Hanada N. symposium: Prevention of dental caries by elimination of the mutans streptococci. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

(7) Kataoka K, Noda M, Nagata H, Mcghee J.R, Shizukuishi S, Fijihashi K. Nasal CT induces innate mucosal immunity through

TLR2, 4 expression. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

(8) Nishida N, Yamamoto Y, Tanaka M, Hayashi N, Nakayama K, Morimoto K, Shizukuishi S. Effect of passive smoking on salivary biomarkers related to periodontitis. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

(9) 花田信弘、21世紀のデンタルテクノロジー、歯科検査システムの確立、日本歯科医学会平成16年度学術講演会基調講演、2004年、9月、仙台

(10) 花田信弘、誤嚥性肺炎の細菌学的メカニズム、第10回日本摂食嚥下リハビリテーション学会教育講演、2004年9月、新潟

(11) 野村義明、北田加代美、田中とも子、西川原総生、佐藤 勉、鶴本明久、花田信弘、唾液による歯周疾患のスクリーニング、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. P.328

(12) 高田靖、野村義明、西川原総生、玉置洋、花田信弘、東京都豊島区における3年間にわたる歯周疾患検診事業報告 第一報 かかりつけ歯科医院の役割について、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.387.

(13) 武内博朗、早川浩生、奥田健太郎、野村義明、泉福英信、花田信弘、3DSと化学療法との併用による歯周病関連菌の除菌、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.438.

(14) 武内博朗、的場一成、奥田健太郎、神原正樹、花田信弘、*Porphyromonas gingivalis*によるバイオフィルムの光学的手法を用いた臨床検出法の検討、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.439.

(15) 井上一彦、今井奨、武内博朗、岸光男、野村義明、平尾幸憲、花田信弘、歯科医院の衛生環境に関する研究、第一報 現状の歯科医院の衛生環境について、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.407.

(16) 金子昇、葭原明弘、花田信弘、宮崎秀夫、ミュータンスレンサ球菌分離株のグルカン合性能とう蝕との関連、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.442.

(17) 新井貴子、林田亜美子、星桂芳、苗代明、今井奨、花田信弘、鴨井久一、呼気と歯周病スコアおよび歯周病原性細菌との相関性、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.458.

(18) 新井貴子、林田亜美子、星 佳芳、今井奨、花田信弘、鴨井久一、各種におい検出装置を用いた口臭の日内変動に関する検討、第20回日本歯科医学会総会；横浜、2004.10.29-31.

(19) 稲葉大輔、「特定保健用食品の有用性の評価について」口腔環境を考慮した食品の再石灰化試験、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.306.

(20) 岸 光男、稲葉大輔、阿部晶子、南 健太郎、相澤文恵、渡 美子、森谷俊樹、佐藤 保、田沢光正、米満正実、高齢者の歯根面齲蝕に関する追跡調査結果の検討、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.379.

(21) 田附敏良、永野弘之、稲葉大輔、田附良仁、亀谷琢也、亀谷哲也、児童・生徒の咬合力と体力テストの関連性、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.408.

(22) 佐藤 保、橋浦礼二郎、森谷俊樹、稲葉大輔、米満正実、介護老人福祉施設入所者における口腔内気体のVSC-要介護高齢者における口臭と要介護状況の関連-、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.471.

(23) 雫石 聡、「口腔保健医療におけるタバコ対策—これからの日本口腔衛生学会の役割」第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.298.

(24) 大林美由紀、田中宗雄、西田信子、中山邦夫、森本兼義、雫石 聡、ライフスタイル要因と歯周病との関連性に関する縦断研究、第53回口腔衛生学会総会、盛岡、2004.9.17-19. p.360.

(25) 金川裕子、小島美樹、山上千夏、雫石 聰、患者のパーソナリティ（エゴグラム）と口腔清掃のコンプライアンスとの関連性、第 53 回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.396.

(26) 山本裕美子、田中宗雄、西田信子、村瀬亮一、中山邦夫、森本兼義、雫石 聰、唾液ニコチン量と歯周病有病との関連性、第 53 回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.405.

(27) 野中 綾、田中宗雄、安栗秀肇、林 直治、

片岡宏介、喜多純一、雫石 聰、電子嗅覚装置を利用した口臭構成物質の評価、第 53 回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.473.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表1 再石灰化処理

群	処理液
1	未処理 (脱灰のみ)
2	ミネラル溶液 (1.5mM CaCl ₂ , 0.9mM KH ₂ PO ₄ , 20mM HEPES, pH7) のみ
3	ミネラル溶液+ 2ppm F (NaF由来)
4	ミネラル溶液+ 0.1%リン酸化オリゴ糖カルシウム (POs-Ca)
5	ミネラル溶液+ 2ppm F+ 0.1%リン酸化オリゴ糖カルシウム (POs-Ca)

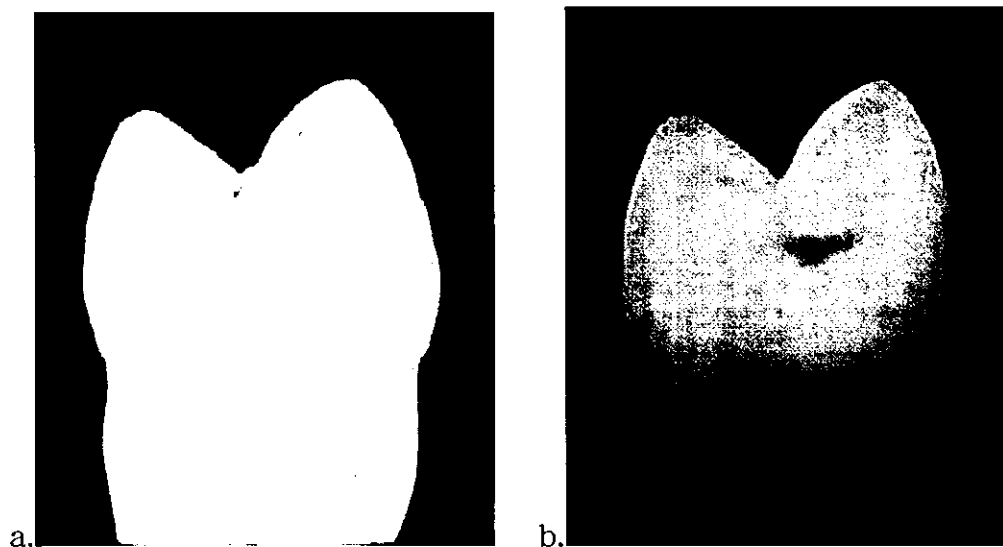


図1 小白歯隣接面の肉眼所見(a)とQLFによる蛍光強調画像 (b; 歯冠中央の暗部が初期齲蝕領域)

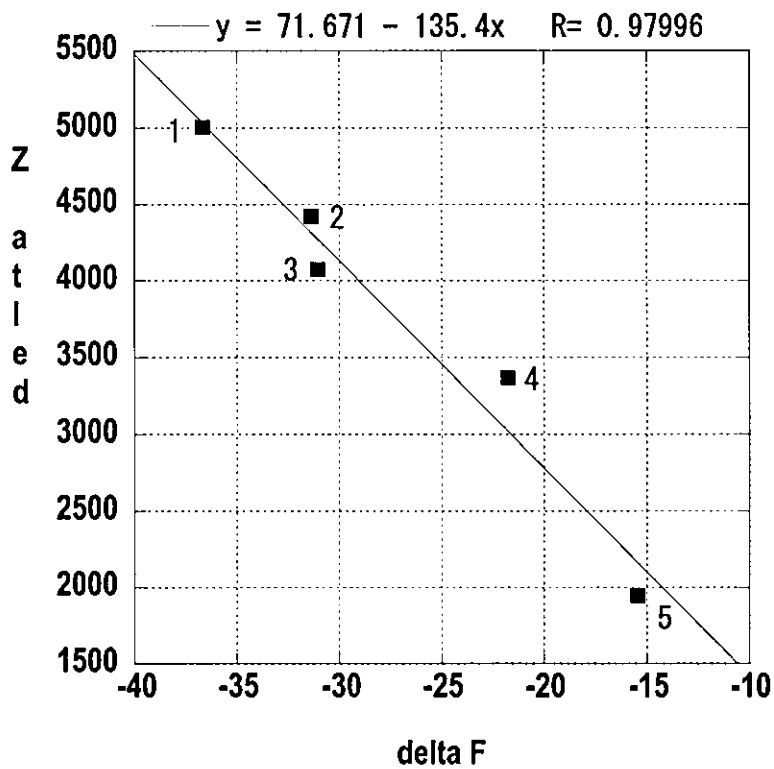


図2 TMR法によるミネラル喪失量 ΔZ (vol%・ μm)とQLF法による蛍光減少率 ΔF (%)の関連性