

高齢者の口腔微生物叢に関する研究

—70 歳者の口腔状態と口腔微生物叢—

Cross-section and Longitudinal Study on Oral Microbial Flora of Elderly People

石川 正夫 前田 伸子 譽田 英喜 武藤 隆嗣
安藤 雄一 渋谷 耕司 宮崎 秀夫

Masao ISHIKAWA, Nobuko MAEDA, Eiki HONDA, Takatsugu MUTOH,
Yuichi ANDO, Koji SHIBUYA and Hideo MIYAZAKI

口腔衛生学会雑誌 56 巻第 1 号別刷

(平成 18 年 1 月発行)

THE JOURNAL OF DENTAL HEALTH Vol. 56 No.1

(Jan. 2006)

原 著

高齢者の口腔微生物叢に関する研究

—70 歳者の口腔状態と口腔微生物叢—

石川 正夫 前田 伸子* 譽田 英喜** 武藤 隆嗣***
安藤 雄一† 渋谷 耕司 宮崎 秀夫††

概要：70 歳者の口腔状態と口腔微生物叢との関連情報を得ることを目的に、新潟市在住 70 歳者 43 名を対象にベースライン調査した。口腔状態としては保有歯数、義歯装着の有無、唾液分泌速度（唾液量）、唾液緩衝能（緩衝能）、舌苔培養時の pH および舌苔からのメチルメルカプタン（CH₃SH）産生量を、口腔微生物叢としては舌苔の Fusobacteria, Staphylococci, Candida, 唾液中の Mutans streptococci, Lactobacilli ならびに歯肉溝浸出液中の黒色素形成桿菌（BPR）、歯肉溝浸出液中の総嫌気性細菌を調査した。その結果、平均保有歯数は 18.7±8.2 本、義歯装着率は 58.1% であった。さらに、各調査項目間の Spearman の順位相関係数は、舌苔の CH₃SH 産生量が舌苔培養時の pH, Fusobacteria および歯肉溝浸出液中の総嫌気性細菌数との間に正の関連性を示した。義歯装着の有無は Lactobacilli と正の関連性が、Fusobacteria と負の関連性が認められた。唾液量は、緩衝能と正の関連性が認められ、Candida や Staphylococci と負の関連性が認められた。また、回帰分析による舌苔の CH₃SH 産生量は Fusobacteria と正の相関（ $r=0.435, p<0.01$ ）が、唾液量は Candida と負の相関（ $r=-0.357, p<0.05$ ）を示した。ステップワイズ法による重回帰分析により、舌苔の CH₃SH 産生量ならびに唾液量に対する説明変数を調査した結果、舌苔の CH₃SH 産生量に対して舌苔培養液の pH、唾液緩衝能、Fusobacteria および Mutans streptococci が、唾液量に対しては唾液緩衝能と Candida が選ばれた。

1998 年のベースライン調査後、1999、2000 年の調査に連続参加した 25 名については、さらに、口腔状態と口腔微生物叢の経年変化を調べた。しかし、口腔状態の有意な変化は認められず、口腔微生物叢の Lactobacilli および Mutans streptococci に減少が認められた。

以上より、70 歳者の口腔状態として舌苔の CH₃SH 産生量や唾液量に関連する口腔微生物叢として Fusobacteria, Candida の存在が示唆された。また、2 年間の連続調査期間では口腔状態の変化は認められなかったが、口腔微生物叢として Lactobacilli および Mutans streptococci の変化が認められた。

索引用語：高齢者、口腔微生物叢、義歯、舌苔、メチルメルカプタン

口腔衛生会誌 56 : 18-27, 2006

(受付：平成 16 年 6 月 25 日 / 受理：平成 17 年 10 月 4 日)

緒 言

高齢社会に入り、高齢者の口腔と全身健康との関連性に関する調査・研究が活発に行われている。厚生科学研究 8020 データバンク構築事業でも全国 80 歳者約 2,000 名の口腔および全身状態の調査が実施され、口腔状態と全身健康との関連性がより明らかになりつつある¹⁾。Salzman と Peterson は、70 歳を超えると生体の免疫力が低下し、口腔常在微生物に変化を生じ、日和見感染や誤嚥性肺炎が起りやすくなると報告している²⁾。一方、口臭は加齢により増加し³⁾、口臭が歯周病をはじめ多くの全身疾患に関係するのではないかと調査研究が行われており⁴⁻⁸⁾、その発生源として歯周ポケットや舌苔が目目されている^{4,5,8,9)}。特に、高齢者の口臭ではそのほかの部位として、義歯への付着物の影響も示唆され、児玉は有床義歯装着者の義歯付着物を分析した結果、口臭の

が低下し、口腔常在微生物に変化を生じ、日和見感染や誤嚥性肺炎が起りやすくなると報告している²⁾。一方、口臭は加齢により増加し³⁾、口臭が歯周病をはじめ多くの全身疾患に関係するのではないかと調査研究が行われており⁴⁻⁸⁾、その発生源として歯周ポケットや舌苔が目目されている^{4,5,8,9)}。特に、高齢者の口臭ではそのほかの部位として、義歯への付着物の影響も示唆され、児玉は有床義歯装着者の義歯付着物を分析した結果、口臭の

(財)ライオン歯科衛生研究所

* 鶴見大学歯学部口腔細菌学教室

** 国立長寿医療センター

*** 鶴見大学歯学部歯科麻酔学教室

† 国立保健医療科学院口腔保健部

†† 新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座予防歯科学分野

表1 被験者の内訳

項目	1998年	1999年	2000年
年齢	70歳	71歳	72歳
男	15名	9名	9名
女	28名	16名	16名
合計	43名	25名	25名

原因となりうる複数の悪臭成分を検出している¹⁰⁾。このような口臭をはじめとするさまざまな悪臭成分が、高齢者の家族をはじめ介護する人たちの日常業務を困難なものにしていることを指摘する報告もある^{11,12)}。したがって、高齢者とかかわりをもつ人々がともに健康を維持し快適な社会生活を営むうえで、高齢者の口腔状態と口臭産生に関与する微生物などを含めた口腔微生物叢についての関連性情報を得ることは有用であると考え、70歳者の口腔状態と口腔微生物叢について調査を行った。

調査対象および方法

1. 被験者

被験者は、新潟市在住の70歳者で、厚生科学研究「口腔保健と全身的な健康状態の関係」の参加者のなかから無作為抽出した43名(男性15名, 女性28名)である。また、経年調査は1998年のベースライン調査から2000年までの2年間にわたる3回の調査にすべて参加した25名(男性9名, 女性16名)である。被験者の内訳を表1に示す。

2. 実験方法(試料採取および検査項目)

口腔状態として保有歯数、義歯装着の有無、唾液量、唾液緩衝能、舌苔培養時のpH、舌苔のCH₃SH産生量を調べた。また、口腔微生物叢は、舌苔のCandida, StaphylococciおよびFusobacteria、唾液中のLactobacilli, Mutans streptococciさらに歯肉溝内の黒色色素産生細菌(Black pigmented rods; BPR)および総菌数(CFU)を調べた。

1) 保有歯数と義歯装着の有無の判定

保有歯数は健全歯、未処置歯、処置歯の合計とした。義歯装着の有無は、Class 0が義歯非装着、Class 1は義歯装着者とした。

2) 唾液量と唾液緩衝能の評価

武藤らの方法¹³⁾に従い、唾液採取用チューブ(Salivette[®], Sarstedt, Germany)を用い、チューブ内の滅菌綿を口腔内で3分間咀嚼させて刺激唾液を採取した。採取後の唾液チューブの重量から採取前の唾液

チューブの重量を引いたものを3分間の唾液量とした。

さらに、このチューブは3,000 rpm, 10分間遠心分離後、得られた唾液上清試料10 μlを唾液緩衝能評価キット(Dentobuff strip[®], Orion, Finland)に滴下し、キットに添付された判定表を一部改変して緩衝能を評価した⁸⁾。3分後の変色で、Class 1;(黄), Class 2;(黄緑), Class 3;(緑), Class 4;(青緑), Class 5;(青), Class 6;(唾液滴下後、速やかに青に変化したもの)に分け、Class 6が最も緩衝能が高く、Class 1が最も低いと評価した。

3) 舌苔のCH₃SH産生量の評価

舌苔のCH₃SH産生量は石川らの方法¹⁴⁾に準じて行った。舌中央奥の部位より舌苔を滅菌マイクロスポイトで一掻き採取し、ただちに0.05% L-メチオニンを含んだTodd Hewitt Broth培地2.5 mlを入れた試験管に懸濁し、5℃, 48時間冷暗保存した後、嫌気置換後シリコン栓で密栓し、37℃, 24時間培養した。培養後、試験管内の気相(ヘッドスペース)0.5 mlをFPD検出器装着のガスクロマトグラフ(島津GC-9A, 京都)に注入し、気相中CH₃SH量(ng/ml)を調べた。また、CH₃SH測定後、培養液のpHをpHメーター(HORIBA 101型, 堀場製作所, 京都)で測定し評価に用いた。

4) 舌苔中微生物の評価

舌苔のCandida, Staphylococciの測定は武藤らの方法¹³⁾に従った。Candidaは被験者の舌左半分より滅菌綿棒を回転させながら、10秒間舌面を擦過したものを試料とし、Candida培養用キットの培地(Dentocult CA[®], Orion)に塗抹し、25℃, 48時間培養後、発育したコロニー数を測定し、Candidaとした。

Staphylococciは被験者の舌右半分よりCandidaと同様の方法で試料を採取し、ブドウ球菌用選択培地(マンニット食塩培地, 栄研化学, 東京)に塗抹した後、37℃, 48時間培養後に発育したコロニー数をStaphylococciとした。

Fusobacteriaは舌中央奥の部位より舌苔を滅菌マイクロスポイトで一掻き採取し、ただちに0.05% L-メチオニンを含んだTodd Hewitt Broth培地(DIFCO, アメリカ)2.5 mlに懸濁・分散後、同培地で10~1,000倍まで希釈し、各希釈液100 μlを変法FM培地(日水製薬, 東京)に塗抹し、37℃, 5日間嫌気培養(窒素:水素:二酸化炭素が8:1:1の混合ガス)後、コロニー別に純培養シグラム染色と、アピケンキシシステム(日本ビオメリュー, 東京)でFusobacteriaと同定されたコロニー数をFusobacteriaとした。

表 2 70 歳者 (1998 年 : ベースライン時) の各調査項目の平均値

		男女 (n = 43)
		平均 ±SD
口腔状態		
保有歯数		18.7 ± 8.2
義歯装着率 (%)		58.1
唾液量 (ml/3 分間)		2.8 ± 1.9
唾液緩衝能 (Class 分類値)		4.0 ± 1.2
舌苔 CH ₃ SH 産生量 (ng/ml)		37.5 ± 58.5
舌苔培養時の pH		6.3 ± 0.4
口腔微生物叢		
Fusobacteria (CFU)	舌苔	2.43 × 10 ⁵ ± 2.69 × 10 ⁵
Candida (CFU)	舌苔	8.8 ± 17.0
Staphylococci (CFU)	舌苔	100.0 ± 229.5
Lactobacilli (CFU/ml)	刺激唾液	4,467.5 ± 6,297.5
Mutans streptococci (Class)	刺激唾液	0.9 ± 0.9
BPR (CFU)	歯肉溝浸出液	2.75 × 10 ⁵ ± 4.97 × 10 ⁵
歯肉溝細菌総コロニー数 (CFU)	歯肉溝浸出液	1.59 × 10 ⁶ ± 2.72 × 10 ⁶

BPR : 黒色色素産生嫌気性桿菌

5) 唾液中微生物の評価

Lactobacilli は, 採取した刺激唾液試料 40 μl を本菌培養キットの培地 (Dentocult LB[®], Orion) に塗抹した後, 37°C, 48 時間培養後に発育したコロニー数を Lactobacilli とした。

Mutans streptococci は刺激唾液試料 20 μl を本菌培養用キット (Dentocult SM[®], Orion) 付属のストリップに滴下し, 培地内に挿入後, 37°C, 48 時間培養後, 判定基準に従って, Class 0 (10⁵CFU/ml 未満 : コロニーがほとんど認められない), Class 1 (10⁵CFU/ml 未満 : わずかにコロニーが認められる), Class 2 (10⁵~10⁶CFU/ml), Class 3 (10⁶CFU/ml~) の 4 段階に分類し評価した。

6) 歯肉溝内の黒色色素産生細菌 (Black pigmented rods ; BPR) および総菌数の評価

試料は下顎左側第一大臼歯近心舌側歯肉溝を第一選択, 欠損の場合は反対側同名歯を採取部位とした。滅菌ペーパーポイント #40 (PIRCE, 東京) を歯肉溝内に 30 秒間挿入し, ただちに 1 ml の GAM プロス (ニッスイ, 東京) 内に浸漬したものを試料原液とした。試料原液はソニケータ (Branson Ultrasonic, Danbury, USA) を用いて 30 秒間, 超音波処理後, サーマミキサーで攪拌し, 10 倍段階希釈にて 10⁻⁵ まで希釈した。各希釈液 100 μl を 5% 綿羊脱繊維素血液 (日本バイオテスト研究所, 東京), 5 μg/ml ヘミンおよび 1 μg/ml メナジオン添加ブルセラ HK 寒天平板培地 (極東製薬工業, 東京) に塗抹し, 嫌気

培養装置 MIP 1025 (Forma Scientific, Marietta, USA) 内で, 窒素 : 水素 : 二酸化炭素が 8 : 1 : 1 の混合ガスの条件下で 37°C, 7 日間培養を行い, 黒色コロニーおよび総コロニーを計測し, それぞれから BPR と総菌数を算出した。

3. 統計分析

ベースライン調査時 (1998 年) の各項目は, Spearman の順位相関係数検定または回帰分析により相関性を調べた。また, 舌苔の CH₃SH 産生量および唾液量については, 前進ステップワイズ法による重回帰分析を適用し説明変数の取捨選択を行った。

1998 から 2000 年までの経年調査は, 一元配置分散分析により行った。分析ソフトは JMP V 5.1 (SAS インステイチュートジャパン) または 4 Steps エクセル統計¹⁵⁾ を用いた。

結 果

1. ベースライン調査時の口腔状態と口腔微生物叢

ベースライン調査時の口腔状態として保有歯数, 義歯装着率, 唾液量, 唾液緩衝能 (Class 分類), 舌苔培養時の pH, 舌苔の CH₃SH 産生量, さらに, 口腔微生物叢 (コロニー数 : CFU) を平均化しまとめた結果を表 2 に示した。

また, 表 2 で示した各項目間について Spearman の順位相関係数を調べた結果を表 3 に示した。

表3 70歳時(1998年)の調査項目間のSpearmanの順位相関係数

(n = 43)

	菌数	義菌	唾液量	緩衝能	CH ₃ SH	pH	Fuso	Lacto	Mutans	Candida	Staph	BPR	総コロニー数
菌数	1.000												
義菌	- 0.619**	1.000											
唾液量	0.050	- 0.006	1.000										
緩衝能	0.292	- 0.110	0.402**	1.000									
CH ₃ SH	0.063	- 0.002	- 0.206	- 0.135	1.000								
pH	0.019	0.165	- 0.340*	- 0.263	0.813**	1.000							
Fuso	0.211	- 0.353**	- 0.151	- 0.171	0.433**	0.423**	1.000						
Lacto	- 0.354*	0.505**	0.097	0.247	- 0.028	0.078	- 0.295	1.000					
Mutans	- 0.322*	0.247	0.035	0.071	- 0.080	- 0.099	- 0.333*	0.542**	1.000				
Candida	- 0.193	0.186	- 0.477**	- 0.119	- 0.004	0.191	0.066	0.314*	0.025	1.000			
Staph	- 0.042	- 0.067	- 0.545**	- 0.056	- 0.055	0.121	0.039	- 0.210	- 0.196	0.410*	1.000		
BPR	- 0.041	- 0.027	- 0.124	- 0.054	0.217	0.097	0.094	0.052	0.098	- 0.067	- 0.048	1.000	
総コロニー数	- 0.152	0.048	- 0.069	0.062	0.315*	0.244	0.072	0.126	0.042	- 0.085	- 0.051	0.804**	1.000

菌数:保有菌数, 義菌:義菌装着の有無, 唾液量:唾液分泌速度, 緩衝能:唾液緩衝能, CH₃SH:舌苔のCH₃SH産生量, pH:舌苔培養後のpH, Fuso:Fusobacteria
 Lacto:Lactobacilli, Mutans:Mutans streptococci, Staph:Staphylococci, BPR:黑色色素産生嫌気性桿菌, 総コロニー数:歯肉溝細菌総コロニー数
 *: p < 0.05, **: p < 0.01

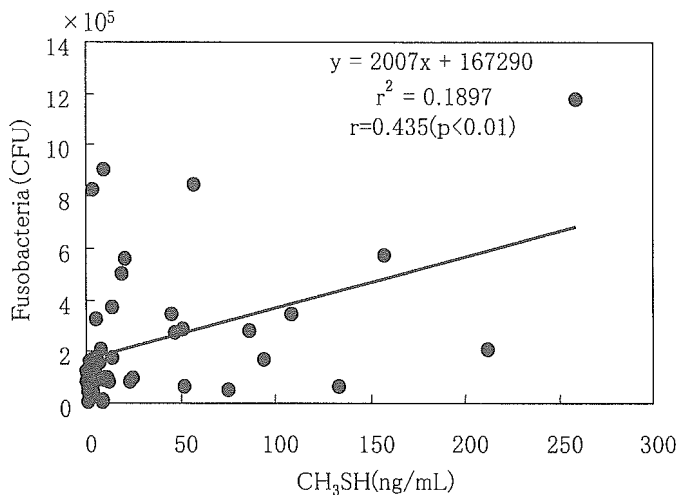


図1 70歳者舌苔のCH₃SH産生量とFusobacteria(CFU)との関係 (n = 43)

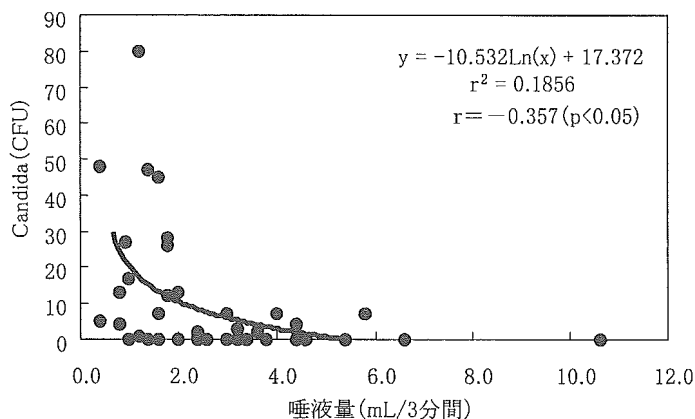


図2 70歳者の唾液量と舌苔Candida (CFU)との関係 (n = 43)

各項目の順位相関係数は、舌苔のCH₃SH産生量とその培養液のpH($r = 0.813$, $p < 0.01$), Fusobacteria($r = 0.433$, $p < 0.01$)ならびに歯肉溝浸出液中の総コロニー数($r = 0.315$, $p < 0.05$)が有意な相関を示した。また、義歯装着とFusobacteria($r = -0.353$, $p < 0.01$), Lactobacilli($r = 0.505$, $p < 0.01$)との関連性が認められた。

唾液量は唾液緩衝能と正の相関($r = 0.402$, $p < 0.01$)を示したが、Candida($r = -0.477$, $p < 0.01$), Staphylococci($r = -0.545$, $p < 0.01$)に対しては負の相関を示した。

微生物間ではLactobacilliとMutans streptococci($r = 0.542$, $p < 0.01$)およびCandida($r = 0.314$, $p < 0.05$)に正の相関が認められた。さらに、CandidaとStaphylococci($r = 0.410$, $p < 0.05$)、ならびにBPRと歯肉溝浸出

液中の総コロニー数($r = 0.804$, $p < 0.01$)の間にも正の相関が認められた。一方、FusobacteriaとMutans streptococci($r = -0.333$, $p < 0.05$)は負の相関性を示した。

2. 回帰分析による調査

舌苔のCH₃SH産生量とFusobacteriaの関連性について回帰分析により調べた結果を図1に示した。その結果、舌苔のCH₃SH産生量とFusobacteriaの間には有意な正の相関($r = 0.435$, $p < 0.01$)が認められた。

また、唾液量とCandidaの関連性について回帰分析により調べた結果を図2に示した。その結果、唾液量とCandidaの間には有意な負の相関($r = -0.357$, $p < 0.05$)が認められた。

表4 70歳者舌苔からのCH₃SH産生量, 唾液量に対する説明変数

応答変数	決定係数	採択された説明変数	p値
CH ₃ SH (ng/ml)	0.554	舌苔培養時のpH	0.0003
		Fusobacteria	0.003
		唾液緩衝能 (4&5-6)*	0.0148
		Mutans streptococci	0.0443
		Candida	0.083
唾液量 (ml/3分間)	0.402	唾液緩衝能 (1-2&3)*	0.0343
		Candida	0.0102
		Staphylococci	0.0635

ステップワイズ回帰の設定 (説明変数追加時のp値: p < 0.250)

説明変数: 現在歯数, 義歯装着, 唾液量, 唾液緩衝能, 舌苔培養時のpH, Fusobacteria, Lactobacilli, Mutans streptococci, Candida, Staphylococci, BPR, 歯肉溝浸出液中総コロニー数

*: 応答変数における平均の差が最大になるような2グループを表示

表5 継続受診者の口腔状態と口腔微生物叢の経年変化

項目	(n = 25)			Probability
	1998年	1999年	2000年	
歯数	18.0 ± 8.2	17.8 ± 8.2	17.6 ± 8.4	
義歯装着率	56%	48%	56%	
CH ₃ SH (ng/ml)	35.9 ± 61.9	30.9 ± 47.6	33.0 ± 84.4	
pH	6.3 ± 0.4	6.1 ± 0.2	6.6 ± 0.3	
緩衝能 [#]	4.1 ± 1.2	4.6 ± 1.3	4.9 ± 1.3	
Lactobacilli (CFU)	157 ± 201	358 ± 376	77 ± 106	**
Mutans streptococci [#]	1.0 ± 0.9	0.5 ± 0.7	0.4 ± 0.7	*
Candida (CFU)	10 ± 20	3 ± 8	34 ± 90	
Staphylococci (CFU)	116 ± 277	23 ± 41	22 ± 56	

[#]: Class分類 (一元配置分散分析), *: p < 0.05, **: p < 0.01

3. ステップワイズ法による調査

舌苔のCH₃SH産生量と唾液量を応答変数とし, 説明変数の取捨選択を前進ステップワイズ法により行った. その結果, 表4に示すように, 舌苔からのCH₃SH産生量は決定係数が0.554で, 説明変数としてFusobacteria以外に舌苔培養時のpH, 唾液緩衝能, Mutans streptococciならびにCandidaが選ばれた. また, 唾液量に対しては決定係数0.402で説明変数として, Candida, Staphylococciのほかに唾液緩衝能が選ばれた.

4. 経年調査による各検査項目の推移

1998年のベースライン調査から, 1999, 2000年までの3回の調査に連続参加した25名について, 口腔状態および口腔微生物叢の推移を調べた結果を表5にまとめた.

その結果, 現在歯数は調査開始時の18.0 ± 8.2歯が1年後に17.8 ± 8.2歯, 2年後に17.6 ± 8.4歯に減少した. しかし, 義歯装着率に大きな変化はなかった. また, 舌苔からのCH₃SH産生量, 舌苔培養時のpHも有意な変化は認められなかった. 一方, 唾液中のLactobacilliは調査年と歯数との間に有意な変化が認められ (p < 0.01), Mutans streptococciは経年的に減少する傾向が認められた (p < 0.05). 舌苔からのStaphylococciも経年的に減少傾向を示したが, 有意な差ではなかった. Candidaは1年後より2年目にかけて増加する傾向が示唆された.

考 察

口腔微生物叢の加齢による変化をPercivalら¹⁰⁾は義歯

装着のない健康な 20 から 80 歳代で調査し、70 歳以上の唾液中 Lactobacilli, Staphylococci が増加し、80 歳以上で唾液および歯垢中の Yeast が最も多く検出されたと報告している。Marsh ら¹⁷⁾は、部分義歯者を含めた 20 から 80 歳代で Mutans streptococci, Lactobacilli, Staphylococci, Yeast のほかに、*A. viscosus*, *A. naeslundii*, Enterobacteria, Spirochetes, 黒色色素産生嫌気性細菌について調査を行い、義歯装着者に Mutans streptococci, Staphylococci および Lactobacilli が増加すること、Spirochetes や黒色色素産生嫌気性細菌は減少傾向を示すこと、さらに、Yeast と Lactobacilli の割合が 20 から 39 歳群に比べ 80 歳以上の義歯装着群で高いことを報告している。Fure ら¹⁸⁾は、55, 65 および 75 歳の義歯装着者を含む被験者で、唾液分泌速度(唾液量)、唾液緩衝能および安静時唾液と刺激唾液のう蝕原性細菌数を調べ、唾液緩衝能が安静時と刺激時の唾液量と相関すること、高齢群ほど Mutans streptococci と Lactobacilli が増加傾向を示したと報告している。さらに、Theilade ら¹⁹⁾は、口腔粘膜が健康な義歯装着者からのデンチャープラークは、個人差が大きいものの歯垢中の微生物叢と類似していたと報告している。以上の横断研究の報告から、口腔微生物叢の加齢による変化は 20 から 65 歳未満の成人期、中年期に比べ、65 歳以上の老人期以降に変化が起りやすいと考えられた。そこで、年代間の変化ではなく高齢者の口腔状態と口腔微生物叢について経年的に調べることが重要と考えた。

今回の 70 歳者は在宅者の実態調査であり、2 年間連続参加した 25 名については、縦断的にも調べた。そのなかでベースライン時の口腔状態として保有歯数は 18.7 ± 8.2 本であり、1999 年(平成 11 年)全国歯科疾患実態調査の 70 歳者の現在歯数 14.3 本に比べて高いことから、生活行動や口腔保健に対する意識の高さが示唆された。また、武藤²⁰⁾、譽田ら²¹⁾による糖尿病患者(平均 54 歳)、施設入居者(79~82 歳)に対する同一方法での調査結果に比べ、舌苔中 Candida ならびに Staphylococci がいずれも少ない傾向を示したことから、年齢以外に疾病やライフスタイルが口腔状態や口腔微生物叢へ影響することも示唆された。

譽田らは施設入居者の口腔衛生指導を目的に、舌苔からの CH₃SH 産生量の口腔ケアによる効果についても調査・確認しているが、70 歳者の舌苔からの CH₃SH 産生量は、施設入居者の口腔衛生指導後の値と同レベルであり、口臭への影響²²⁾は低いと思われた。また、舌苔の CH₃SH 産生量との関連が高い口腔微生物として Fusobacteria が確認された($r=0.435$, $p<0.01$)が決定係数は

0.19 であり、Fusobacteria 以外に共存する CH₃SH 産生細菌の関与も示唆された。渋谷は口腔由来の揮発性硫黄化合物の H₂S, CH₃SH を産生する微生物として Fusobacteria 以外に、Porphyromonas, Prevotella をはじめ Veillonella などのグラム陰性嫌気性細菌を報告している²³⁾。そのなかで舌苔には Veillonella が多く存在することから²⁴⁾、いくつかの H₂S, CH₃SH 産生に関する微生物の可能性も考えられた。さらに、歯肉溝内の BPR を含む細菌のなかにも歯周病由来の口臭産生細菌として舌苔の CH₃SH 産生系に関する可能性も示唆された²⁵⁾。

唾液量に対する説明変数として、唾液緩衝能、Candida および Staphylococci などが示唆されたが、唾液量と唾液緩衝能との関係については、Ericsson²⁶⁾をはじめ Heintze らの報告²⁷⁾があり、唾液分泌速度と唾液緩衝能との関連性を、さらに刺激唾液量と唾液緩衝能との相関を報告している。今回採取した唾液も刺激唾液であり、類似した結果になったとも思われた。また、唾液量の多い 70 歳者ほど口腔内 Candida が減少傾向を示したが($r=-0.357$, $p<0.05$)、Torrens らも同様の結果を口腔乾燥症患者で報告しており²⁸⁾、唾液量の減少は全身健康に対する悪影響に繋がると考えられる。

微生物間においても、Mutans streptococci, Staphylococci, Lactobacilli, Candida など糖類を好んで代謝し酸を産生する微生物は、酸性環境下で比較的生育しやすく、口腔内でも共生関係にあると考えられており²⁹⁾、今回の結果も Lactobacilli と Mutans streptococci, Candida をはじめ Staphylococci と Candida などは正の関連性が認められた。

ステップワイズ法による重回帰分析により、舌苔からの CH₃SH 産生量または唾液量を応答変数とし説明変数の候補選択を試みたところ、CH₃SH 産生量に対する変数として、舌苔培養時の pH, Fusobacteria のほか Mutans streptococci が選ばれ、Candida との関連性も示唆された。また、唾液量とは、Candida 以外の口腔微生物として Staphylococci が選ばれ、口腔状態が Fusobacteria, Candida などの口腔微生物叢や全身健康に対しても影響を及ぼす可能性が示唆された。

今回の調査の尺度は連続、順序、名義の 3 つの尺度が含まれ、解析手法として、Spearman の順位相関係数検定、重回帰分析、ステップワイズ法による重回帰分析を用いたが、手法の違いによる異なる結果も得られた。しかし、舌苔の CH₃SH 産生量は舌苔培養液の pH ならびに Fusobacteria といずれの解析でも有意な関連性が認められた。同様に、唾液量は Candida と関連性が認められた。これらの結果から 70 歳者の口腔状態として、口腔か

表6 応答変数（舌苔のCH₃SH産生量，唾液量）と関連する説明変数（統計手法間の比較）

(n = 43)

応答変数（説明変数）	Spearmanの順位 相関係数の検定	回帰分析	ステップワイズ 回帰
舌苔のCH ₃ SH産生量			
（舌苔培養液pH）	**	**	**
（Fusobacteria）	**	**	**
（歯肉溝総コロニー数）	*	NS	NS
唾液量			
（唾液の緩衝能）	**	NS	NS
（舌苔培養液pH）	*	NS	NS
（Candida）	**	*	*
（Staphylococci）	**	NS	*

* : p < 0.05, ** : p < 0.01

らのCH₃SH産生にFusobacteriaが，唾液量にCandidaなどの口腔微生物叢が影響することが示唆された。各解析の結果を表6にまとめた。

70歳者は2年間の経年調査で保有歯数が18.0±8.2本から17.6±8.4本にやや減少したが，全国歯科疾患実態調査（1999年）の70と72歳者の保有歯数に比べ多い傾向を示した。また，喪失歯数は年間平均0.20本であり，清田らの同地域の70歳者402名の調査による平均年間喪失歯数0.27本³⁰⁾と比べやや低い発生状況と思われた。また，調査期間中の義歯装着率が1年後にやや減少し，2年後にベースライン調査時と同じ装着率を示した。この原因としては，義歯装着者における義歯への不満や新たな喪失歯による適合度の低下などが義歯装着者の不満を招き，装着率の不規則な増減へと影響したことが考えられた。口腔微生物叢としてMutans streptococciとLactobacilliが調査年と歯数との間に有意な変化が認められた。しかし，Lactobacilliは経年的な減少ではなく，さらに長期の観察が口腔微生物叢の変化を観察するために必要と思われた。

加齢による口腔状態の変化として，歯の喪失，義歯装着，口臭の発生，唾液量の低下など種々の因子が考えられるが，これらの変化は口腔微生物の増減にも影響を及ぼすことが今回の調査で明らかとなってきた。さらに，口腔状態と全身健康との関連性についての微生物学的な調査研究も盛んに行われつつある。

高齢化社会における高齢者の健康維持のために，口腔状態と口腔微生物叢との関連性を含めた，より長期的な縦断調査が必要と思われた。

文 献

- 厚生省科学研究「口腔保健と全身的な健康状態の関係」運営協議会：小林修平編：8020者のデータバンクの構築について。（財）口腔保健協会，東京，2000。
- Salzman RL, Peterson PK : Immunodeficiency of the elderly. Rev Infect Dis 9 : 1127-1139, 1987.
- 上野 正 : 口臭と口腔疾患 その診断と対策. 歯界展望 25 : 439-445, 1965.
- Yaegaki K, Sanada K : Volatile sulphur compounds in mouth air from clinically healthy subjects and patients with periodontal disease. J Periodont Res 27 : 233-238, 1992.
- Ratcliff PA, Johnson PW : The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. J Periodontol 70 : 485-489, 1999.
- ADA Council on Scientific Affairs : Oral malodor. JADA 134 : 209-214, 2003. (Association Report)
- Preti G, Clark L, Cowart BJ et al. : Non-oral etiologies of oral malodor and altered chemosensation. J Periodont 63 : 790-796, 1992.
- Dubowski KM : Breath analysis as a technique in clinical chemistry. Clin Chem 20 : 966-972, 1974.
- 森嶋みどり，石川正夫，渋谷耕司ほか：舌苔のメチルメルカプタン産生能について（第2報）. 口腔衛生会誌 49 : 468-469, 1999.
- 児玉陸雄：義歯付着物中に含まれる臭気物質について. 日大歯学 39 : 433-444, 1965.
- 寺岡加代，石川正夫，渋谷耕司ほか：要介護高齢者における舌苔の揮発性硫化物産生能に関する研究. 口腔衛生会誌 48 : 261-266, 1998.
- 八重垣 健編著：臨床家のための口臭治療のガイドライン，クインテッセンス出版，東京，2000，80頁。
- 武藤隆嗣，菅田英喜，前田伸子ほか：長期療養者ならびに寝たきり者の口腔常在微生物叢に関する研究. 口腔衛生会誌 50 : 351-360, 2000.
- 石川正夫，渋谷耕司，常田文彦：舌苔のメチルメルカプタン産生能について. 第47回日本口腔衛生学会関東地方会抄録集：

- 19, 1998.
- 15) 柳井久江 : 4 Steps エクセル統計, 星雲社, 東京, 1998.
- 16) Percival RS, Challacombe SJ, Marsh PD : Age-related microbiological changes in the salivary and plaque microflora of healthy adults. J Med Microbiol 35 : 5-11, 1991.
- 17) Marsh PD, Percival RS, Challacombe SJ : The influence of denture-wearing and age on the oral microflora. J Dent Res 71 : 1374-1381, 1992.
- 18) Fure S, Zickert I : Salivary conditions and cariogenic microorganisms in 55, 65, and 75-year-old Swedish individuals. Scand J Dent Res 98 : 197-210, 1990.
- 19) Theilade E, Budtz-Jorgensen E, Theilade J : Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with healthy oral mucosa. Archs Oral Biol 28 : 675-680, 1983.
- 20) 武藤隆嗣 : 糖尿病患者における口腔常在微生物叢に関する研究. 口腔衛生会誌 51 : 77-87, 2001.
- 21) 誉田英喜, 武藤隆嗣, 前田伸子ほか : 高齢者の口腔微生物叢に関する研究 第1報 施設入居者と自宅生活者の比較. 老年歯学 14 : 297-306, 2000.
- 22) Teraoka K, Ishikawa M, Tokita F et al. : The relationship between oral malodor and tongue coating. Fourth International Conference on Breath Odor. The International Society for Breath Odor Research 39, #18 1999.
- 23) 渋谷耕司 : 生理的口臭の成分と由来に関する研究. 口腔衛生会誌 51 : 778-792, 2001.
- 24) Gordon DF Jr, Gibbons RJ : Studies of the predominant cultivable microorganisms from the human tongue. Arch Oral Biol 11 : 627-632, 1966.
- 25) 高橋雅洋, 岸 光男, 阿部晶子ほか : 85歳高齢者における舌苔中の *Porphyomonas gingivalis* と残存菌の関連. 口腔衛生会誌 53 : 412, 2003.
- 26) Ericsson Y : Clinical investigation of the salivary buffering action. Acta Odontol Scand 17 : 131-169, 1959.
- 27) Heintze U, Birkhed D, Bjorn H : Secretion rate and buffer effect of resting and stimulated whole saliva as a function of age and sex. Swed Dent J 7 : 227-238, 1983.
- 28) Torrens RS, Peixoto BC, Caldas MD et al. : Relationship between salivary flow rates and Candida counts in subjects with xerostomia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 93 : 149-154, 2002.
- 29) 大西正男, 浅香次夫 : 口腔内 Candida 数と Lactobacillus 数の関係. 口腔衛生会誌 12 : 168-169, 1962.
- 30) 清田義和, 葭原明弘, 安藤雄一ほか : 70歳高齢者の菌の喪失リスク要因に関する研究. 口腔衛生会誌 52 : 663-671, 2002.

著者への連絡先 : 石川正夫 〒130-8644 東京都墨田区本所 1-3-7 財団法人ライオン歯科衛生研究所
TEL : 03-3621-6480, FAX : 03-3626-4182
E-mail : masaoi@lion.co.jp

Cross-section and Longitudinal Study on Oral Microbial Flora of Elderly People

Masao ISHIKAWA, Nobuko MAEDA*, Eiki HONDA**, Takatsugu MUTOH***,
Yuichi ANDO†, Koji SHIBUYA and Hideo MIYAZAKI††

The Lion Foundation for Dental Health

*Department of Oral Bacteriology, Tsurumi University School of Dental Medicine

**Department of Advanced Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology

***Department of Dental Anesthesiology, Tsurumi University School of Dental Medicine

†Department of Oral Health, National Institute of Public Health

††Division of Preventive Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Science,
Niigata University

Abstract : Aging can affect both oral status and oral microbial flora. The purpose of this study was to investigate the transition of oral microbial flora and to clarify the association between oral status and the oral microbial flora in 70-year-old subjects (n = 43) in 1998. Twenty-five out of 43 subjects were examined over a span of 2 years (1998-2000). Oral status which included the number of remaining teeth, denture usage, salivary flow rate, buffering capacity of saliva and the level of halitosis (CH₃SH producing ability of bacteria on the tongue surface), and microbiological examinations which included the numbers of fusobacteria, staphylococci, and candida on the tongue surface and those of mutans streptococci and lactobacilli in saliva and gingival sulcus black pigmented rods (BPR) were examined. As a result, the average number of holding teeth was 18.7 ± 8.2 and the percentage of denture wearers was 58.1%. There was a positive correlation between the level of halitosis and the number of fusobacteria (r = 0.435, p < 0.01). However, there was a negative correlation between the number of candida and salivary flow rate (r = -0.357, p < 0.05). Using stepwise regression analysis, the pH of the tongue coating culture solution, the number of fusobacteria, the class of mutans streptococci and the buffering capacity of saliva were investigated in relation to the CH₃SH productivity on the tongue surface. As well as the buffering capacity of saliva, the number of candida was investigated in relation to the salivary flow rate.

The results obtained from 25 out of 43 subjects showed the tendency that the numbers of staphylococci, mutans streptococci, and lactobacilli decreased in contrast with the increase of the number of candida and no change was observed in the level of halitosis, the average number of holding teeth and the percentage of denture wearers. The results of this study suggested that the salivary flow rate directly influenced the microbial components of the oral cavity among the elderly and the fusobacteria in the microbial flora of the tongue surface, which may play an important role in halitosis.

J Dent Hlth 56 : 18 - 27, 2006

Key words : Elderly people, Oral microbial flora, Denture, Tongue surface, Methyl mercaptan

Reprint requests to M. ISHIKAWA, The Lion Foundation for Dental Health, 1-3-7, Honjyo, Sumida-Ku, Tokyo 130-8644, Japan

TEL : 03-3621-6480/FAX : 03-3626-4182/E-mail : masaoi@lion.co.jp