

図23は収縮期血圧を同様に表しているが、血圧に明瞭な日内変動は観察されなかった。これは明期にも餌を摂取しているという、日常の観察記録とも一致している。このような収縮期血圧に対し、イチヨウ葉エキスはその3週間の摂取期間を通じ、有意な影響を及ぼさなかった。この結果も、昨年のテイルカフの結果と異なっていた。

D. 考察

本研究では被験食品素材として、イチヨウ葉エキス、杜仲茶、そしてプロポリスを用いた。表3にはその投与量をヒトと比較して示し、且つそれぞれの有用性を示してある。一般的に、イチヨウ葉エキスは循環障害の改善効果が以前より報告されており、その作用の延長上の作用として降圧作用の出現は予想できる。また、杜仲茶は「血圧が高めの方に」という保健用途を標榜する特定保健用食品であり、本研究ではポジティブコントロールとして実験に供した。さらに、プロポリスは免疫関係の機能は報告もしくは標榜されているが、循環器での知見はない。いわゆるネガティブコントロールとして用いた。

本研究のSHRを使用した研究結果を総括すると表4および図24のようにまとめられる。すなわち、生体レベルでの検討では、イチヨウ葉エキスおよび杜仲茶の4週間経口摂取はSHRの加齢に伴う血圧上昇を抑制したが、加齢に伴う血圧上昇の認められないWKYにおいては影響を示さなかった。一方、プロポリスはいずれのラットに対してもその血圧に有意に影響することはなかった。なお、今回用いた被験健康食品素材はいずれもラットの心拍数にはまったく影響しなかった。

さらに組織レベルの検討結果では、イチヨウ葉エキスはSHRの胸部大動脈の内皮依存性弛緩反応を増強し、WKYではそのような作用を示さなかった。杜仲茶も、同様の作用を示したが、

プロポリスはアセチルコリンの最大反応のみを増強した。しかし、このような高濃度における反応は生理的にはあまり意味を持たないと思われる。また、イチヨウ葉エキスがアセチルコリンの濃度作用曲線を左にシフトさせるとともに、その最大反応を増強させたのに対し、杜仲茶は最大反応のみを増強させただけで、左にシフトさせることはなかった。恐らく、このような内皮依存性弛緩反応の増強が、先に記した昇圧抑制の一つ機序であろうと推察されるが、それはイチヨウ葉エキスにおいて特に重要な意味をもつものと考えられる。

そこで、細胞・分子レベルの検討として、血管内皮細胞の重要なシグナル分子であるカルシウムイオンレベルに対する影響について、さらに検討を加えた。その結果、ラットの血管（尾動脈・胸部大動脈）内皮細胞におけるアセチルコリンによるカルシウムイオンレベルの上昇はイチヨウ葉エキス4週間摂取により有意に増強されていることが、明らかとなった。また、杜仲茶およびプロポリスではこのような作用は認められなかった。

以上の結果より、イチヨウ葉エキスは降圧作用を示し、その降圧作用の機序の一つに内皮機能の増強もしくは内皮機能低下の防止が関与していることを示唆された。一方、杜仲茶では、降圧効果は確認できたが、その機序としては内皮機能の増強以外の因子の関与が示唆された。

表4 被験健康食品素材の投与量比較と有用性

	GBE	杜仲茶	プロポリス
一日の投与量	325mg/kg	3250mg/kg	325mg/kg
ヒト摂取目安	160-240mg	52.5g	0.1-0.5g
動物/ヒト(倍)	81-122	約3.7	39-195
有用性の標榜	脳末梢循環の改善	血管拡張 副交感神経興奮作用 降圧作用	抗菌作用 抗酸化作用 抗腫瘍作用 免疫機能亢進

前述したように、イチョウ葉エキスは循環障害の改善効果が以前より報告されており、また、杜仲茶は血圧を志向した特定保健用食品である。そして、プロポリスは一般的に循環器への作用の報告は少ない。本研究結果はそれぞれの背景に対し大きな矛盾はないといえる。

このように被験食品素材が有すると考えられる有用性と本研究結果は一致しており、正常および病態動物を用いた、本評価法の実践性が示された。さらに、各レベルでの知見を総合的に解析することにより機序を類推する手がかかりも得られることが明らかにされた。

表3 自然発症高血圧ラットに対する被験食品 4 週間経口摂取の影響

実験レベル	測定項目	イチョウ葉エキス	杜仲茶	プロポリス
生体	血圧	血圧上昇の抑制	血圧上昇の抑制	影響せず
	心拍数	影響せず	影響せず	影響せず
組織	血管平滑筋弛緩反応	影響せず	影響せず	影響せず
	内皮依存性弛緩反応	血管拡張の亢進	血管拡張の亢進?	ほとんど影響せず
	心臓(変時変力)	影響せず	影響せず	影響せず
細胞・分子	内皮細胞内Ca ²⁺ 動態	Ca ²⁺ 動員の促進	影響せず	影響せず
背景	標榜されている有用性	末梢循環改善・血液凝固抑制など	血圧改善を標榜した特定保健用食品	血圧への有用性は標榜されていない
考察	本研究の結論	降圧作用の可能性 機序は内皮機能亢進	降圧作用の可能性 機序は不明?	循環器へ作用する可能性は低い

自然発症高血圧ラットに対する被験食品1ヶ月経口摂取の影響

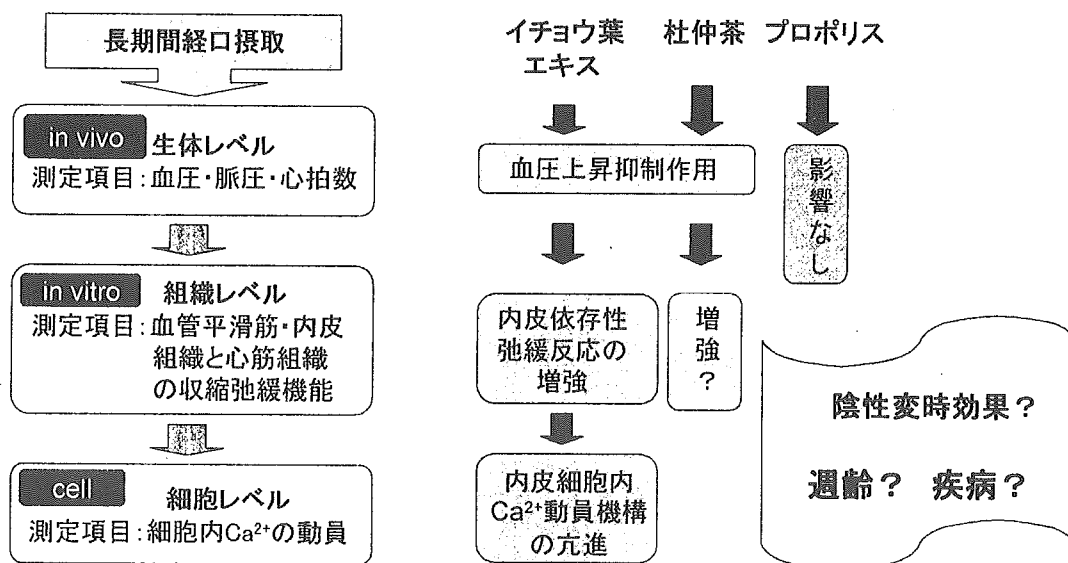


図24 被験健康食品素材の有用性スクリーニングの結果

一方、テレメトリーによる循環動態連続測定による、イチョウ葉エキス3週間経口摂取の実験において、血圧への影響は観察されなかった。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。このようなモデル動物に対し、昨年結果ではイチョウ葉エキスは7週齢より16週間摂取させることにより収縮期血圧の上昇を軽度抑制した。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、本研究におけるSHRの結果と一致している。しかしテレメトリーとの間には小さくない相違があり、その理由として、週齢の違いと種差が考えられる。即ち1) 今回のSHRも前年度のSHRcpも血圧が上昇する時期のラットを用いて実験を行った。しかし、今回は高血圧がすでに確立されている27週齢以後のラットを使用している。したがって、イチョウ葉エキスや杜仲茶は高血圧発症のプロセス、即ち内皮細胞由来の弛緩機能の低下に対して抑制的に影響するという可能性が推察される。他の可能性として2) SHRとSHRcpの昇圧機序には種差に基づく何らかの違いがあり、イチョウ葉エキスと杜仲茶はSHRに対して作用しやすいという可能性が考えられるが、その詳細は不明である。これらについては、今後更に検討する必要がある。

イチョ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¹⁾や内皮依存性の血管弛緩作用^{2,3)}などが報告されている。この血管に関する報告は、イチョ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、イチョ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⁴⁻⁹⁾。恐らくケルセチンがイチョ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するという報告は見当たらない。更に、このような内皮への長期的な影響が血圧のような全身的な変化として現れるという知見は、健康食品の有用性の研究に重要なほう構成を示すものと思われる。

一方、27週齢という比較的高齢のSHRcpにおいて、イチョウ葉エキスはその心拍数を低下させる作用を示した。このような作用は高血圧が確立していない若齢ラットでは観察されていないが、高齢の生活習慣病ラットにおける心臓への作用は、循環機能ひいては生命維持にとって重要であり、見過ごすことのできない作用である。今後、有用性の観点ばかりではなく、安全性の点からもこの作用については追求する必要がある。

以上の結果より、自然発症高血圧動物を用いた長期経口摂取の実験系において、加齢にともなう血圧の上昇に対する、イチョウ葉エキスと杜仲茶の有用性が、本スクリーニングシステムにより検出された。更に組織・細胞を使用した実験結果から、イチョ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に関連することが示された。また、高血圧が確立された後では、心臓に対して抑制的に働く可能性も示された。

今後の研究展開としてはイチョウ葉エキスの作用機序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 (Ca²⁺、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必要がある。そして、本スクリーニングシステムを確立するために、本データを指針として、他の循環器をターゲットとした健康食品素材のスクリーニングを行う必要もある。

また今年度は時間の関係で遂行できなかったが、イチョウ葉エキスの血流量の増加作用に対する血球細胞の関与の可能性について解明する必要がある。特に赤血球の変形能と細胞内Ca²⁺動態に対するイチョウ葉エキス長期投与の影響についても検討し、関与が大きければ他の被験健康食品素材についてもスクリーニングしたい。

E. 結論

1. 生体レベルに対する4週間経口摂取の影響

イチョウ葉エキスと杜仲茶はSHRの加齢に伴う血圧の上昇を抑制した。プロポリスは影響しなかった。

2. 組織レベルに対する4週間経口摂取の影響

イチョウ葉エキスと杜仲茶はSHRの胸部大動脈の内皮依存性弛緩反応を増強した。プロポリスは大きな影響を示さなかった。

3. 細胞レベルに対する4週間経口摂取の影響

イチョウ葉エキスはSHRの胸部大動脈において、アセチルコリンによる内皮細胞内カルシウムレベルの上昇を増強した。杜仲茶とプロポリスには有意な作用は認められなかった。

4. SHRcpの循環パラメータに対するイチョウ葉エキス3週間経口摂取の影響

イチョウ葉エキスは心拍数を低下させたが、収縮期血圧には影響しなかった。また、活動量にも影響しなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kubota Y, Tanaka N, Kagota S, Nakamura K, Kunitomo M, Umegaki K, Shinozuka K.

Effects of Ginkgo biloba extract on blood pressure and vascular endothelial response by acetylcholine in SHR.

J. Pharm. Pharmacol. 2006; 58 (2): 243-9.

2) Kubota Y, Tanaka N, Kagota S, Nakamura K, Kunitomo M, Umegaki K, Shinozuka K.

Effects of Ginkgo biloba extract feeding salt-induced hypertensive by acetylcholine in Dahl rats rats.

Biol. Pharm. Bull. 2006; 29 (2): 266-9.

3) Kagota S, Yamaguchi Y, Tanaka N, Kubota Y, Kobayashi K, Nejime N, Nakamura K, Kunitomo M, Shinozuka K

Disturbances in nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate system in SHR/NDmcr-cp rats, a model of metabolic syndrome.

Life Sci. 2006; 78: 1187-1196

2. 学会発表

1) メタボリックシンドロームラットの腎動脈におけるNOおよびEDHFの産生バランス

籠田智美、窪田洋子、禰占奈美江、中村一基、国友 勝、篠塚和正

2005年4月27-28日、第5回日本NO学会、(札幌)

2) Balance between EDHF and NO released from renal arteries of SHR/NDmcr-cp rats, a model of metabolic syndrome

Satomi Kagota, Yoko Kubota, Namie Nejime, Kazuki Nakamura, Masaru Kunitomo, Kazumasa Shinozuka

2005, 5/31-6/4 Symposium on Mechanism of vasodilation & EDHF (Antwerp, Belgium)

3) P2Y 受容体を介した内皮細胞間物質透過促進機構

禰占奈美江、籠田智美、窪田洋子、中村一基、国友 勝、橋本道男、篠塚和正
2005, 6/24 第 107 回日本薬理学会近畿部会 (金沢)

4) ラット赤血球における細胞内カルシウムイオンレベルに対する ATP の影響

遊道桂子、田中直子、禰占奈美江、籠田智美、窪田洋子、中村一基、国友 勝、篠塚和正
2005, 6/24 第 107 回日本薬理学会近畿部会 (金沢)

5) 生活習慣病モデルラットの循環器系機能に及ぼすイチョウ葉エキスの影響

窪田洋子、籠田智美、中村一基、国友 勝、篠塚和正
2005, 9/2-3 第 41 回高血圧関連疾患モデル学会 (札幌)

6) 生活習慣病モデルラット胸部大動脈における血管弛緩反応減弱に対する降圧薬の効果

籠田智美、窪田洋子、中村一基、国友 勝、篠塚和正
2005, 9/2-3 第 41 回高血圧関連疾患モデル学会 (札幌)

7) 高血圧・肥満自然発症ラット (SHR/NDmcr-cp) に対するニコランジルの影響

鄭 炯美、田淵正樹、禰占奈美江、窪田洋子、籠田智美、東野英明、橋本道男、篠塚和正
2005, 10/4-5 第 33 回薬物活性シンポジウム (新潟)

8) SHR/NDmcr-cp (cp/cp) ラットの循環動態に対するイチョウ葉エキス食摂取の影響

佐藤麻由子、窪田洋子、籠田智美、禰占奈美江、中村一基、国友 勝、梅垣敬三、篠塚和正
2005, 10/29 第 55 回日本薬学会近畿支部 (西宮)

9) 生活習慣病モデルラットの尾動脈におけるプリン作動性交感神経伝達調節機能の減弱に対する降圧薬の影響

禰占奈美江、籠田智美、田中直子、窪田洋子、鄭 炯美、中村一基、国友 勝、篠塚和正
2005, 11/11 第 108 回日本薬理学会近畿部会 (西宮)

10) SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) の交感神経伝達機能に対するニコランジルの影響

Effect of nicorandil on sympathetic neurotransmission in SHR/NDmcr-cp
鄭 炯美、田淵正樹、禰占奈美江、窪田洋子、籠田智美、東野英明、橋本道男、篠塚和正
2006, 3/8-10 第 79 回日本薬理学会年会 (横浜)

11) 生活習慣病モデルラット大動脈に生じる NO 産生能亢進に対する各種降圧薬の効果

Effects of antihypertensive drugs on enhanced nitric oxide production in aortas of SHR/NDmcr-cp (cp/cp) rats, a new animal model of metabolic syndrome
籠田智美、窪田洋子、禰占奈美江、山口 優、中村一基、国友 勝、篠塚和正
2006, 3/8-10 第 79 回日本薬理学会年会 (横浜)

12) ラットにおけるニカルジピンの降圧作用に対するイチョウ葉エキス短期投与の影響

Effects of short-term *Ginkgo biloba* extract feeding on hypotensive action of nicardipine in rat
窪田洋子、梅垣敬三、禰占奈美江、籠田智美、中村一基、国友 勝、篠塚和正
2006, 3/8-10 第 79 回日本薬理学会年会 (横浜)

G. 参考文献

- 1) 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
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Chiesi M, Schwaller R. Inhibition of constitutive endothelial NO-synthase activity by tannin and quercetin. *Biochem. Pharmacol.* 1995;49(4):495-501.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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（食品の安心・安全確保推進 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

—主に口腔における保健機能を有する食品の評価方法の確立—

健康食品の口腔における再石灰化能の評価に関する検討

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 昨年度に引き続き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。近年、定量的可視光励起蛍光法（QLF™法）が導入され、エナメル質の脱灰ならびに再石灰化の臨床に応用されている。そこで、歯科医師による視診における白斑の検出精度をQLF法と比較して評価した。上顎左右前歯の唇側面を写真撮影し、さらにQLF™法で撮影した。2名の歯科医師が白斑を写真判定し、QLF™法の数値と比較した結果、判定者によってQLF™法の数値と異なる場合もあり、一致する場合もあるため、今後は写真を用いた歯科医師の白斑診断の訓練が必要と思われた。また、前年度の研究より、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、食品成分の再石灰化促進効果の標準評価法として有用であることを示唆した。そこでヒト唾液浸漬試験（Human Saliva Immersion Test; HSI試験）とQLF法を組み合わせたシステムの有用性を検討した結果、ヒト唾液浸漬法HSIとQLF™法からなる体外試験系は、唾液単独処理を対照とした食品成分の再石灰化促進効果の評価に応用可能であること、その所要日数は3日であること、QLF™法は鋭敏で、唾液単独による再石灰化を24時間で検出可能であること、高溶解性カルシウム食品素材配合ガムの咀嚼刺激唾液は唾液単体に比較して有意なミネラル濃度回復を示し、高い再石灰化促進能をもつことが確認された。さらに、口臭予防のための健康食品の機能評価を電子嗅覚装置を用いて検討した。官能スコアにより2群に分けた被験者の口臭を評価したところ、揮発性硫化物以外の口臭関連物質も口臭に寄与すること、口臭関連物質のうち、硫化水素、メチルメルカプタン、トリメチルアミンは歯周病有病歯率および舌苔スコアと関連性をもつことがわかり、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、揮発性硫化物以外の口臭関連物質の情報を加えて評価できる電子嗅覚装置測定法が有用であることが示された。

A.研究目的

1. 白斑検出精度の比較：齲窩（実質欠損）を伴わないエナメル質に限定する脱灰は臨床的には白斑あるいはCOとされている。近年、定量的可視光励起蛍光法（QLF™法; Inspektor DentalCare BV, The Netherlands）が導入され、エナメル質の脱灰（白斑あるいはCO）ならび

に再石灰化の臨床における定量的評価方法として歯科医師の視診と併用すると検査精度が上昇すると考えられている。そこで、歯科医師による視診における白斑の検出精度をQLF法と比較して評価した。

2. 再石灰化実験：前年度の研究より、定量的可視光励起蛍光法（QLF™法; Inspektor DentalCare BV, The

の作用であるため、食品成分の再石灰化促進効果は、唾液のそれと比較することが必須である。ゆえにヒト唾液を評価系に応用することが理想的となる。そこで、再石灰化促進物質の機能評価のための代替評価系(体外試験法)として、ヒト唾液浸漬試験(Human Saliva Immersion Test; HSI 試験)とQLF法を組み合わせたシステムの有用性の確認を目的とする。

3. 口臭評価:多くの研究により口臭の主な原因物質は、歯周病細菌によって産生される揮発性硫化物であると報告されているが、口臭と歯周病の関連性についての研究結果は必ずしも一致していない。われわれの研究でもまた、舌苔の歯周病細菌は揮発性硫化物とは強く関連するが、官能試験との間には弱い関連性しか認められなかった。これらの結果は、口臭関連物質は揮発性硫化物以外にもある可能性を示唆している。本研究では、口臭予防のための保健用機能性食品の評価をするために、揮発性硫化物以外の情報を含めた新たな口臭の指標を開発することを目的とした。

B. 研究方法

1. 白斑検出精度の比較:上顎左右前歯の唇側面を写真撮影し、さらにQLF™法で撮影した。2名の歯科医師(判定者1、判定者2)が白斑を写真判定し、QLF™法の数値と比較した。

2. 再石灰化実験:概要を図1に示す。材料には牛エナメル質ブロックを用い、最初に0.1M乳酸溶液(pH4.5)により37°Cで48時間脱灰して人工的に初期齲蝕病巣を形成した。この段階で、エナメル質表面の半側を透明なネイルバーニッシュで被覆しベースライン領域とした。この試料を、次のいずれかの唾液に37°Cで24時間、浸漬し、HSI試験とした(n=6/群)。

- A) 健常成人6名から採取したパラフィン咀嚼刺激全唾液
- B) 高溶解性カルシウム食品素材(リン酸化オリゴ糖カルシウムPOs-Ca、江崎グリコ)配合ガム(ポスカム、江崎グリコ)咀嚼刺激全唾液

C) BにNaFを最終濃度1ppmFとなるよう添加した唾液

HSI試験終了後、試料のベースラインの脱灰部とHSI試験歯面との蛍光減少率 ΔF (%)の差($\Delta \Delta F$, %)を計測した(図2)。この評価では $\Delta \Delta F$ が大きいほど再石灰化が促進されたことを意味する。

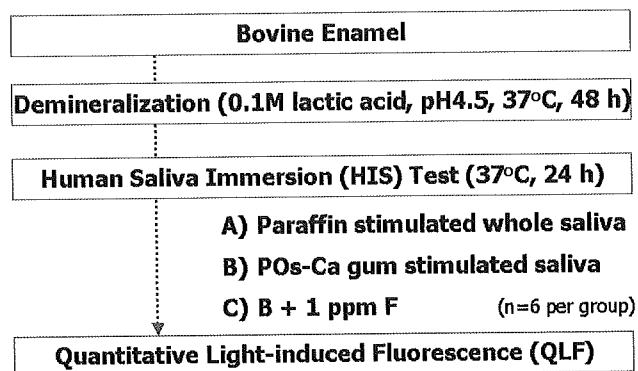


図1 方法の概要

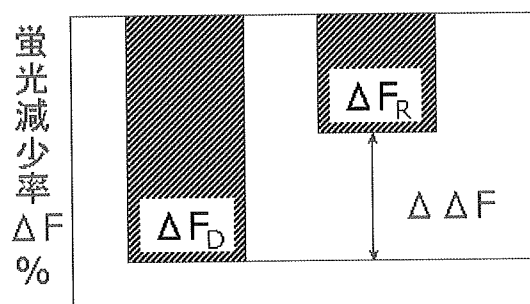
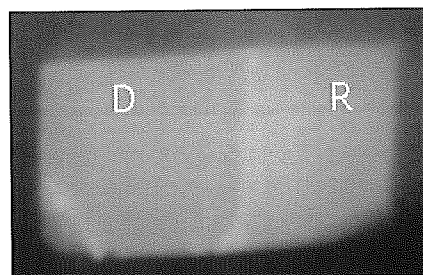


図2 再石灰化評価の計測パラメータ

3. 口臭評価:対象者は、大阪大学歯学部附属病院口臭外来を受診した患者79名に官能スコアが2未満の職員11名を加えた90名(男28名、女62名、平均41.6歳)とした。口臭の評価は、官能スコア、呼気中の揮発性硫化物濃度を対数変換(logVSC)したもの、および電子嗅覚装置(FF-2A、島津)によって測定される総臭気指数の3種類を用い、口臭関連物質の臭気強度は、におい物質(硫化水素、メチルメルカプタン、ア

学部附属病院口臭外来を受診した患者79名に官能スコアが2未満の職員11名を加えた90名(男28名,女62名,平均41.6歳)とした。口臭の評価は,官能スコア,呼気中の揮発性硫化物濃度を対数変換(logVSC)したもの,および電子嗅覚装置(FF-2A,島津)によって測定される総臭気指数の3種類を用い,口臭関連物質の臭気強度は,におい物質(硫化水素,メチルメルカプタン,アンモニア,トリメチルアミン,プロピオン酸,ブチルアルデヒド,酢酸ブチル,トルエン)を基準とし,各臭気指数として表した。口腔保健要因は,歯周病の指標として歯周ポケット深さ(PPD)を用い,舌苔付着状態の指標として舌苔スコア(TCS)を,歯垢付着状態の指標として歯垢指数(Pl.I)を用いた。PPDは最も深い点が4mm以上の場合を歯周病有病歯とし,TCSは視診にて舌苔の広がりや厚みをそれぞれ0~3で評価し,両者の積を用いた。

C.結果および考察

1. 白斑検出精度の比較:結果を図3に示す。判定者1は白斑なしと判定した者の ΔF は,ありと判定した者の ΔF よりも多く,判定者の精度に疑問が示されたが,判定者1の ΔQ は,白斑なしと判定した者の平均値が,ありと判定した者の平均値よりも少なく,QLFTM法の数値に近かった。判定者2は白斑なしと判定した者の ΔF が,ありと判定した者の ΔF よりも少なく,判定者の精度に問題がなかった。判定者2の ΔQ は,白斑なしと判定した者の数値が,ありと判定した者の数値よりも少なく,QLFTM法の数値に近かった。

判定者によってQLFTM法の数値と異なる場合もあり,一致する場合もあるため,今後は写真を用いた歯科医師の白斑診断の訓練が必要だと思われた。

2. 再石灰化実験:結果を図5に示す。ポスカム咀嚼唾液(B群)ならびに1ppmF添加ポスカム咀嚼唾液(C群)の試料はいずれも,唾液単独(A群)より

も有意に高い $\Delta \Delta F$ 値を示し,このことから,ポスカム咀嚼唾液は明らかにエナメル質の再石灰化を促進することが確認された。とくに,C群は唾液単独の約3倍のミネラル濃度回復(再石灰化)を示し,高溶解性カルシウム食材と低濃度フッ化物の組合せが,再石灰化に有効である可能性が示唆された。

3. 口臭評価:被験者を官能スコアによって2群に分けたところ,酢酸ブチルおよびトルエン以外の6種類の臭気指数は,官能スコアが2以上の群で有意に高い値を示した。そして,これらの臭気指数は,官能スコア,logVSCおよび総臭気指数との間にそれぞれ有意の正の相関を示したことから,揮発性硫化物以外の口臭関連物質もまた口臭に寄与することが示唆された。また,3種類の口臭評価を従属変数とし,8種類の臭気指数を独立変数として重回帰分析を行ったところ,官能スコアと総臭気指数は,硫化水素,メチルメルカプタン,トリメチルアミンおよびブチルアルデヒドの影響を受け,logVSCは硫化水素とメチルメルカプタンの影響を受けることが明らかとなり,官能スコアと総臭気指数は口臭関連物質を包括して評価していると考えられた。次に,口臭関連物質の臭気指数と口腔保健要因との関連性を調べたところ,硫化水素,メチルメルカプタン,トリメチルアミンは歯周病有病歯率とTCSと関連していたが,アンモニア,プロピオン酸,ブチルアルデヒドはPl.Iの影響も受けていた。以上の結果より,電子嗅覚装置による臨床評価はヒト嗅覚による評価と類似しており,口臭の臨床評価として有用であることが示唆された。

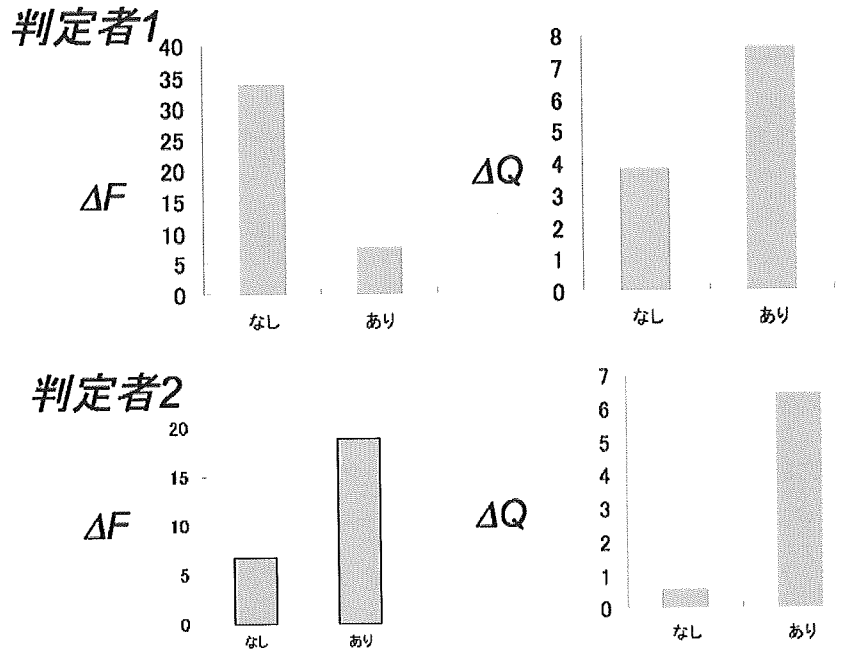


図3 判定者1、判定者2の白斑の写真判定の結果とQLF™法の数値の比較

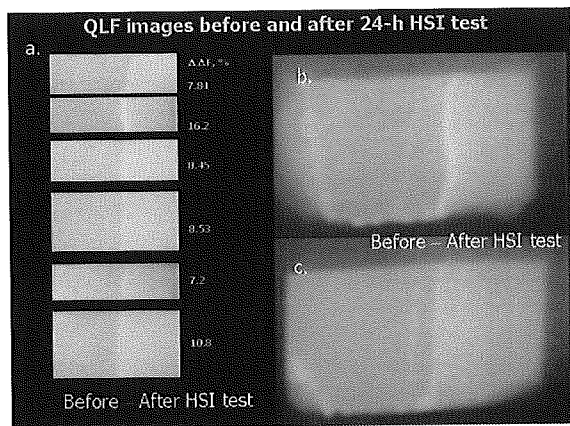


図4 HSI試験前後のQLF画像 ; a=A群(6例)、b=B群(1例)、c=C群(1例);各画像とも左半側がベースラインの脱灰歯面、右半側が24時間HSIテスト直後

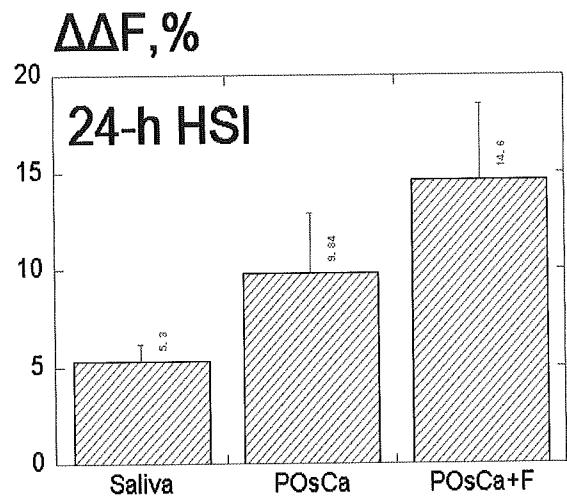


図5 24時間HSI試験後のΔΔF値

D. 結論

1. 白斑検出精度の比較: QLF を用いた測定は視診と一致する場合もあるが、診査者によっては一致しない場合もあった。この不一致は、カラー写真を用いた歯科医師の白斑判定訓練の必要性が存在することを示唆している。

2. 再石灰化実験: (a) ヒト唾液浸漬法 HSI と QLF からなる体外試験系は、唾液単独処理を対照とした食品成分の再石灰化促進効果の評価に応用可能である。

(b) その所要日数は3日(脱灰48時間、HSI24時間)であった。(c) QLFは鋭敏で、唾液単独による再石灰化を24時間で検出可能な感度を有した。(d) 24時間のHSIで検討した結果、高溶解性カルシウム食品素材配合ガムの咀嚼刺激唾液は唾液単体に比較して有意なミネラル濃度回復を示し、高い再石灰化促進能をもつことが確認された。

3. 口臭予防のための保健用機能性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、揮発性硫化物以外の口臭関連物質の情報を加えて評価できる電子嗅覚装置測定法が有用であることが示された。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Takeuchi H, and Hanada N: Physicochemical and Immuno-logical Research to Reduce the Dental Caries Epidemic -A Paradigm Shift in the Role of a Caries Vaccine. *Journal of Oral Sciences* 47: 243-252, 2005.

(2) Usui Y, Imai S, Saito N, Hanada N, and Uematsu H. Effect of 3.8% Ag(NH₃)₂F solution as an anti-caries agent on dentin in artificial mouth model system using *Actinomyces naeshundii*. *J Dental Health*, 2005; 55:186-193.

(3) Hayashida A, Imai S, Hanada N, Hoshi K, and Uematsu H. Relationship between breath odors and odor emission sources in the elderly investigated using the electric nose. *Japanese J Gerodontology*, 2005; 20:3-9.

(4) Yano A, Onozuka A, Asahi-Ozaki Y, Imai S, Hanada N, Miwa Y, and Nisizawa T. An ingenious design for peptide vaccines. *Vaccine*, 2005; 23:2322-2326.

(5) A Nonaka, M Tanaka, H Anguri, H Nagata, J Kita and S Shizukuishi (2005) Clinical Assessment of Oral Malodor Intensity Expressed as Absolute Value Using an Electronic Nose. *Oral Diseases* II (Suppl. I), 35-36.

2. 学会発表

(1) Inaba D, Tamura K, Minami K, and Yonemitsu M: Effects of Phosphoryl Oligosaccharide Calcium (POs-Ca) on Enamel Remineralization as measured by Quantitative Light-induced Fluorescence, 52nd Congress of the European Organisation for Caries Research (ORCA), Indianapolis, USA, July, 2005.

(2) Inaba D, Sato T, Hakozaki M. and Yonemitsu M: Salivary Tests for Mass Screening of Periodontal Disease, 53rd Japanese Association of Dental Research, Okayama, Japan. November, 2005.

(3) Minami K, Inaba D, Kamasaka H, and Yonemitsu M: Phosphoryl-Oligosaccharide Calcium enhanced Remineralization of Plaque-covered Enamel in vitro. 53rd Japanese Association of Dental Research, Okayama, Japan. November, 2005.

(4) Yamamoto Y, Nishida N, Tanaka M, Hayashi N, Nakayama K, Morimoto K, and Shizukuishi S: Effect of Active Smoking on Salivary Periodontitis-related Biomarkers. 53rd Japanese Association of Dental Research, Okayama, Japan. November, 2005.

(5) Kanagawa H, Ojima M, Yamagami C, and Shizukuishi S: Patient's Personality and Compliance with Advices on Periodontal Health. 53rd Japanese Association of Dental Research, Okayama, Japan. November, 2005.

(6) 武内博朗、的場一成、西川原総生、

奥田健太郎、泉福英信、花田信弘：歯周病関連菌由来バイオフィルムの光学的検出評価法の検討. 第54回日本口腔衛生学会総会, 東京, 10月, 2005.

(7) 金子昇、泉福英信、花田信弘、宮崎秀夫：高齢者における唾液中抗 PAc (361-386) IgA 抗体. 第54回日本口腔衛生学会総会, 東京, 10月, 2005.

(8) 稲葉大輔、田村光平、南健太郎、米満正美: QLFTM 法による食品成分の再石灰化促進能評価. 第54回日本口腔衛生学会総会, 東京, 10月, 2005.

G.知的財産権の出願・登録状況
特になし。

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究

—主に口腔における保健機能を有する食品の評価方法の確立—

人工口腔装置による健康食品のエナメル質脱灰能の評価法に関する検討

分担研究者 今井 奨 国立保健医療科学院口腔保健部 室長

研究協力者 岸 光男 岩手医科大学歯学部予防歯科学講座 講師

研究要旨:昨年度に引き続き人工口腔装置による健康食品の機能評価について検討した。成分の異なる2種のシュガーレスキャンデー(A, B)の抽出液をガイドラインに沿って調製し、その抽出液の人工バイオフィーム形成量、人工バイオフィーム下 pH、エナメル質脱灰性について検討した。両キャンデーともに発酵性糖質を含まないためエナメル質歯片上に人工バイオフィームを形成しなかったが、キャンデーBでは、緩衝能の高い培地を用いているにもかかわらず、pH6.0から5.2の間を推移したため、顕著なエナメル質歯片の脱灰が起こった。しかし、キャンデーAではpH7.3付近を推移したため、エナメル質歯片の脱灰は起こらなかった。このように、同じシュガーレスと表示されたキャンデーでもその他の成分によってはエナメル質脱灰性を示すキャンデーも存在するため注意が必要である。

一方、口腔内細菌叢の変化を評価する際のベースラインデータとしてヒト舌苔中の2種のう蝕原性細菌と4種の歯周病原性細菌の分布をPCR法により検討した。舌苔からの歯科疾患関連細菌の検出率を4群（歯周病健全者群、歯周病経験者群、85歳有歯顎者群、85歳無歯顎者群）間で比較した。*P. gingivalis*と*T. denticola*は85歳有歯顎者群と歯周病経験者群で最も検出率が高く、歯周病健全者群と85歳無歯顎者群ではいずれも有意に低い検出率を示した。また、*T. forsythensis*と*P. intermedia*は、歯周病健全者群、歯周病経験者群、85歳有歯顎者ではほぼ同等の検出率を呈したのに対し、85歳無歯顎者群で有意に低い検出率を示した。*S. mutans*の検出率では、4群間に統計学的な有意差は認められなかった。これらの基礎データは食品摂取前後の口腔内細菌叢の解析に有用となると思われる。

A. 研究目的

昨年度に引き続き、健康食品、機能性食品のう蝕原性評価技術の確立のため、in vitroでの人工口腔装置を用いた評価系、特にエナメル質脱灰能の評価法について検討した。近年、食品のもつ第3次機能、すなわち健康の維持・増進に役立つ保健機能が注目されてきて、いろいろな機能をもった食品が多数創出されてきている。このような機

能性食品の中には、歯科領域においてその機能が注目されている食品も多数含まれている。2006年3月現在、33品目のガム、キャンデーなどの機能が科学的に証明され、特定保健用食品として厚生労働省に認可されている。しかし、これは特定保健用食品全体（567品目）の5.8%にすぎない。従来は非う蝕原性であることが機能として認められていたが、最近ではそれに加えて再

石灰化機能が認められた特定保健用食品が主流となっている。このような状況下で問題になっているのが食品のもつ機能性の評価方法である。食品のもつ腐蝕性、あるいはエナメル質脱灰性は動物やヒト被験者による in vivo 試験と in vitro 試験を組み合わせで評価しているのが現状であるが、動物やヒト被験者を用いた in vivo の方法には倫理的、時間的、経済的制約があり、一般的評価系とするには限界がある。そこで、in vitro の方法で、従来の in vivo の結果をできるだけ反映できるような腐蝕性、あるいはエナメル質脱灰能評価方法を考案できればさまざまな制約を解決できると期待される。

また、健康食品などを継続摂取すると口腔細菌叢にその影響が現れることも考えられる。それらの継続的摂取により、口腔内細菌叢が影響を受け、腐蝕性の低い歯垢に変化していくといった、食品の口腔細菌叢へのよい影響や、逆に代用甘味料の過剰摂取が口腔内細菌叢に及ぼす望ましくない効果も考慮しなければならない。非発酵性甘味料の継続摂取が口腔内常在菌であるレンサ球菌や乳酸桿菌を減少させ、口腔細菌叢の糖発酵性細菌と非発酵性細菌のバランスが崩れるなどの可能性も考えられる。それゆえ、食品の継続摂取が口腔細菌叢に及ぼす影響を評価する方法の確立は今後の重要課題である。そのため残存歯数などの口腔内状況を問わず採取できる舌苔を口腔内細菌叢の指標とすることを考案した。

本分担研究は、人工バイオフィーム形成量、人工バイオフィーム直下での pH 低下およびエナメル質脱灰度を同時に測定できる人工口腔装置を用いて、歯科領域での本装置の有用性を検討することを目的とする。また、舌苔中細菌叢の分布のベースラインデータを取得するための疫学調査を行い、同時に口腔内状況との関連を検討することと、定期的口腔ケアという、薬品を使用しない緩やかな介入が舌苔細菌叢に及ぼ

す影響を検討し、食品の長期摂取による影響のモデルとし口腔内細菌叢に及ぼす影響を評価できる方法の確立を目的とする。

B. 研究方法

1. 人工口腔装置による脱灰度の検討

本装置は人工バイオフィーム形成量、人工バイオフィーム直下での pH 低下およびエナメル質脱灰度を同時に測定できるように構築されている。人工口腔 3 台、送液用ペリスタポンプ 2 台、恒温槽、冷却攪拌器 3 台、6 連 pH レコーダからなる。上部からは 5 本のステンレスチューブを固定したシリコン栓を、下部からはドレイン用チューブと平面 pH 電極を逆さに固定したシリコン栓を装着して密閉した。人工口腔部分のウォータージャケットに温水を循環して装置内部を 37°C に維持した。平面 pH 電極周囲にはテフロン製ホルダーを固定し、そのホルダーにユーティリティークラスを用いて 4 個のウシエナメル質歯片 (3.5mm × 3.5mm × 1.5mm) を固定した。その上部から糖質含有ハートインフュージョン培地、細菌懸濁液、PBS を連続的に滴下した。

試料としてスクロース (対照)、2 種のシュガーレスキャンデー抽出液 (A, B) を用いた。シュガーレスキャンディー (40g) に 10 倍重量の 60°C PBS を加え、ガラス棒で攪拌しながら含有物質を溶かし出し、フィルターで濾過して無菌液とした。細菌として *Streptococcus mutans* MT8148 株と *Streptococcus sobrinus* 6715 株を用いた。各菌株を BHI 培地で 37°C、15 時間培養し、遠心分離 (6,000 rpm、20 min) により集菌し、その菌体を PBS で洗浄 (6,000 rpm、20 min) した後、PBS に懸濁し、500nm での濁度を 1.0 に調整した。pH を連続的に記録しながら 16~20 時間滴下を続け、人工プラーク形成に伴って pH が 4 付近まで低下した時滴下を終了した。

エナメル質歯片上および pH 電極上に形成された人工バイオフィルムを 0.5 N 水酸化ナトリウム溶液で処理して遠心分離し、沈澱した菌体の PBS 懸濁液の濁度を 500 nm で測定して菌体量とした。その上清をフェノール硫酸法によって定量し非水溶性グルカン (WIG) 量とした。エナメル質の脱灰度は実験前後の硬度変化から評価した。エナメル質表面の対称的な 9 点の硬度を Vicker's 硬度計で測定した。実験後にその 9 点の近傍の硬度を測定して実験前後の硬度差 (ΔH) を脱灰度とした。

2. 舌苔細菌叢の疫学的検討

① 対象：85 歳高齢者 165 名 (有歯顎者 93 名、無歯顎者 72 名)、歯周病経験者 21 名 (平均年齢 55.2 ± 12.5 歳)、歯周病健全者 106 名 (平均年齢 22.8 ± 2.60 歳) の計 292 名を対象とした。

② 舌苔細菌叢の検討：滅菌はブラシで舌背から可及的に舌苔を採取後、一定量の舌苔試料からゲノム DNA を抽出し、菌種特異的プライマーを用いた PCR 法により 5 種の歯周病原性細菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*)、2 種の齧蝕病原性細菌 (*S. mutans*, *S. sobrinus*) を検出し、それら細菌の分布の変動要因を分析した。

3. 口腔への保健的介入による舌苔細菌叢の変化の検討

① 対象：岩手県内某リハビリテーション病院に 1 か月間入院した全患者 27 名 (男性 21 名、女性 6 名、平均年齢 58.7 歳)。

② 研究デザイン：入院当日を口腔への保健的介入前、入院 2 か月後を介入後とし、両時点で舌苔採取を行った。

③ アウトカムメジャー：舌苔スコア (視診)、舌苔湿重量、舌苔 1mg 当り細菌数、舌苔中総細菌数、細菌数の定量は

定量的 PCR 法 (ABI PRIZM 7900 system) により行った。

(倫理面への配慮)

研究対象者に事前に研究に関する説明を行ったうえ、同意書を採得した。また、研究計画については岩手医科大学歯学部研究倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

1. 人工口腔装置によるシュガーレスキャンデーのエナメル質脱灰性評価

図 1 はスクロース含有キャンデー (対照) とシュガーレスキャンデー A のエナメル質脱灰性を評価するため、それぞれの抽出液を用いて人工口腔装置を稼働したときの電極面の pH 値の変化を示している。対照では *S. mutans* MT8148 によって形成された人工バイオフィルムの直下の pH が 10 時間くらいから低下し始めて、20 時間後には pH4.8 に達したのに対して、シュガーレスキャンデー A の場合には pH はほとんど変化せず、20 時間後でも pH7.1 であった。シュガーレスキャンデー A の場合のエナメル質脱灰度はスクロースキャンデーの場合に比べて有意に低かった (図 2)。なお、シュガーレスキャンデー A の場合のバイオフィルム量も対照よりも有意に低かった。

また、図 3 はスクロース溶液を対照としてシュガーレスキャンデー B の抽出液を *S. sobrinus* 6715 と共に滴下した場合の電極面の pH 値の変化を示している。対照では人工バイオフィルムの直下の pH が 5 時間くらいから低下し始めて、16 時間後には pH4.2 に達したのに対して、シュガーレスキャンデー B の場合には pH はすぐに 6.0 付近まで低下し、以後 16 時間まで pH5 から 6 の間を推移した。因みにシュガーレスキャンデー B は酸味料とビタミン C を含んでいて、その PBS 抽出液の pH は 4.0 であった。そのため、滴下直後から pH は低下したが、発酵性

糖質を含まないためにバイオフィームはほとんど形成されず、pH 値も5~6の間を推移したにすぎなかった。図4は対照とシュガーレスキャンデーBの場合のエナメル質脱灰度を示している。図から明らかなようにシュガーレスキャンデーBの場合の方が対照よりもエナメル質の脱灰度が有意に大きかった。

2. 舌苔細菌叢の疫学的検討

4種の歯周病原性細菌中、*P. gingivalis* と *T. denticola* が同様の分布傾向を呈した。すなわち、85歳の有歯顎者で最も検出率が高く、歯周病健全者群と85歳無歯顎者はいずれも有意に低い検出率であった。また、*T. forsythensis* と *P. intermedia* が同様の分布傾向にあり、85歳無歯顎者で有意に低い検出率を示した。*S. mutans* の検出率は、4群間に統計学的な有意差は認められず、*S. sobrinus* は、85歳高齢者群で有意に高い検出率であった(図5)。

II 口腔への保健的介入による舌苔細菌叢の変化の検討

舌苔湿重量1mg中の舌苔細菌数は 8×10^7 cellsほどであり、一般に報告されている歯垢の細菌数(2×10^8 cells/mg)とほぼ同様の高度細菌凝集塊であることが確認された。また、一定量の舌苔中の細菌数は保健的介入前後でほぼ不変であった(表1)。

D. 考察

本研究で構築した人工口腔装置は、全体的には比較的簡単なシステムといえるが、う蝕誘発に係わる3つのパラメーター(バイオフィーム形成、pH低下、エナメル質脱灰)を同時に定量的に測定できるように設計された装置であり、中央部の人工口腔部分と周辺部(送液ポンプ、恒温槽、冷却攪拌器、pHレコーダ)から構成されている。ヒト口腔から検出されるミュータンスレンサ球菌の *S. mutans* または *S. sobrinus* 懸濁液をスクロース培地と共

に電極面に滴下することにより、ミュータンスレンサ球菌のもつグルカン合成酵素(GTF)により徐々に人工バイオフィームが形成され、それに伴ってバイオフィーム直下では糖質の発酵によってつくられる乳酸、ギ酸、酢酸などの有機酸によりpH低下が起こる。本装置の長所は、このpH変化を連続的にモニターできることである。また、電極周辺にエナメル質歯片を装着すると、歯片上にも人工バイオフィームが形成されpH低下が起こると考えられる。歯片でのpH変化は直接測定することができないが、電極と歯片が同一のドーム状液滴の中に存在する微小環境下では歯片上でも電極面と同様のpH変化が起こっていると想定される。事実、電極面と歯片の単位面積当りの人工バイオフィーム量が近似していることがわかっている。人工バイオフィーム量は500nmの濁度で測定した菌体量と、フェノール硫酸法で測定した非水溶性グルカン量とで表すことができる。そして、エナメル質の脱灰度を実験前後の歯片の硬度差から知ることができる。この一連の過程が再現性よく起こっていることは、3台の人工口腔を同一条件で稼動したときに、ほぼ同様のpH低下曲線を示すことから裏付けられる。したがって、健康食品のう蝕原性を検討するような場合、3台の人工口腔のうち、1台をスクロース滴下の対照側とし、2台を実験側とすることで比較検討することができる。

機能性食品素材あるいはそれを含有する健康食品のう蝕原性を評価するための方法にはin vitroおよびin vivoのいくつかの方法があるが、それらにはそれぞれ長所と短所があり、今のところそれらの方法の組み合わせでう蝕原性を評価することが望ましい。本実験で示されたように発酵性糖質を含まず、シュガーレスと表示された食品でも、その他の成分によっては著しい脱灰を引き起こすことがある。したがって、成分の中に酸性物質が含有されている

食品のう蝕原性を評価する場合にはエナメル質の脱灰まで検討する必要があると思われる。そのような評価に本研究で構築した人工口腔装置が有用であることが示唆された。

舌苔は歯周ポケットへの細菌の供給源とする考えがあるが、本研究の85歳無歯顎者で歯周病原性細菌の舌苔中の分布頻度が著明に低率であることから、舌苔は歯垢からの細菌の受容部位にもなっていることが推察された。また、う蝕病原性細菌は歯周病原性細菌のように残存歯数に依存することなく、*S. mutans* はほぼ一定の検出率を呈し、また *S. sobrinus* では高齢者で高い検出率を呈した。これは有床義歯装着者ではさらに効率であった（データ示さず）ことから、我が国の有床義歯装着率の高さが、歯が喪失してなおう蝕病原性細菌が高頻度に定着している要因ではないかと考えられた。

口腔への保健的介入による舌苔細菌叢の変化の検討では、一定量の舌苔中細菌数が歯垢にほぼ匹敵することが明らかになり、その付着量の多さから、舌苔を口腔内細菌叢あるいは細菌量の指標とすることの妥当性が示唆された。一方、介入の効果に対する感度は舌苔総菌数よりも舌苔湿重量の方が高く、定量的PCR法を応用するのであれば、菌種特異的手法が必要と考えられた。

E. 結論

う蝕誘発と深い関わりをもつ3つのパラメーター（バイオフィルム量、バイオフィルム下pH、エナメル質硬度）を同時に測定できる人工口腔装置を構築し、シュガーレス食品のエナメル質脱灰性を調べ、健康食品のう蝕原性評価における本装置の有用性が示唆された。

また、健康食品の継続摂取が口腔内細菌叢に及ぼす効果を検討する際に舌苔を口腔内細菌叢および細菌量の指標とすることの有用性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Usui Y, Imai S, Saito N, Hanada N, and Uematsu H. Effect of 3.8% Ag(NH₃)₂F solution as an anti-caries agent on dentin in artificial mouth model system using *Actinomyces naeslundii*. *J Dental Health*, 2005; 55:186-193.
- (2) Hayashida A, Imai S, Hanada N, Hoshi K, and Uematsu H. Relationship between breath odors and odor emission sources in the elderly investigated using the electric nose. *Japanese J Gerodontology*, 2005; 20:3-9.
- (3) Yano A, Onozuka A, Asahi-Ozaki Y, Imai S, Hanada N, Miwa Y, and Nisizawa T. An ingenious design for peptide vaccines. *Vaccine*, 2005; 23:2322-2326.
- (4) Kishi, M., Abe, A. and Yonemitsu, M.: Relationship between the SF-36 questionnaire and patient's satisfaction following halitosis therapy. *Oral Diseases Vol.11 suppl. 1: 89-91*, 2005.
- (5) Aizawa, F., Kishi, M., Moriya, T., Takahashi, M., Inaba, D. and Yonemitsu, M.: The analysis of characteristics of elderly people with high VSC level. *Oral Diseases Vol.11 suppl. 1: 80-82*, 2005.
- (6) 高橋雅洋, 岸 光男: 舌苔中の歯科疾患関連細菌と口腔内状況との関連性, 口腔衛生会誌, 56, 印刷中.
- (7) 岸 光男: 口臭診療の実際, 岩医大歯誌, 30: 235-243, 2005.

2. 学会発表

- (1) 新井貴子, 林田亜美子, 苗代明, 今井 奨, 花田信弘, 鴨井久一, 沼部幸

博：呼気と歯肉溝滲出液中の歯周病原性細菌量との関連、日本歯周病学会、札幌、2005年9月。

(2) 安藤 歩, 岸 光男, 相澤文恵, 米満正美：成人における短期予防管理プログラムの齲蝕リスクに対する効果, 第59回岩手医科大学歯学会例会, 盛岡, 2005年3月5日。

(3) 阿部晶子, 相澤文恵, 岸 光男, 高橋雅洋, 田村光平, 杉浦 剛, 金沢純一, 米満正美：ミュータンスレンサ球菌の定着時期とう蝕発病との関連, 第54回日本口腔衛生学会総会, 東京, 2005年10月8日。

(4) 岸 光男, 阿部晶子, 杉浦 剛, 高橋雅洋, 晴山婦美子, 相澤文恵, 米満正美：口臭測定を指標とした口腔ケアの評価, 第54回日本口腔衛生学会総

会, 東京, 2005年10月8日。

(5) 高橋雅洋, 岸 光男, 阿部晶子, 杉浦 剛, 田村光平, 米満正美：舌苔と歯垢の歯周病原性細菌定着状況の関連, 第54回日本口腔衛生学会総会, 東京, 2005年10月8日。

(6) 相澤文恵, 岸 光男, 佐々木勝忠, 清水 潤, 米満正美：在宅要介護高齢者の口臭に対する家族介護者の認識とQOL, 第54回日本口腔衛生学会総会, 東京, 2005年10月8日。

H. 知的財産権の出願・登録状況 特になし。

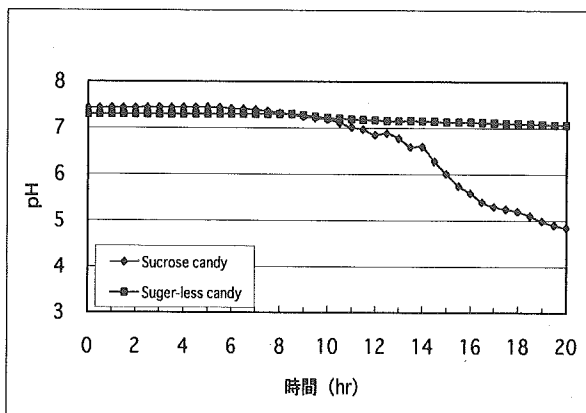


図1. 電極面人工バイオフィilm下 pH の経時変化 (シュガーレスキャンデーA)

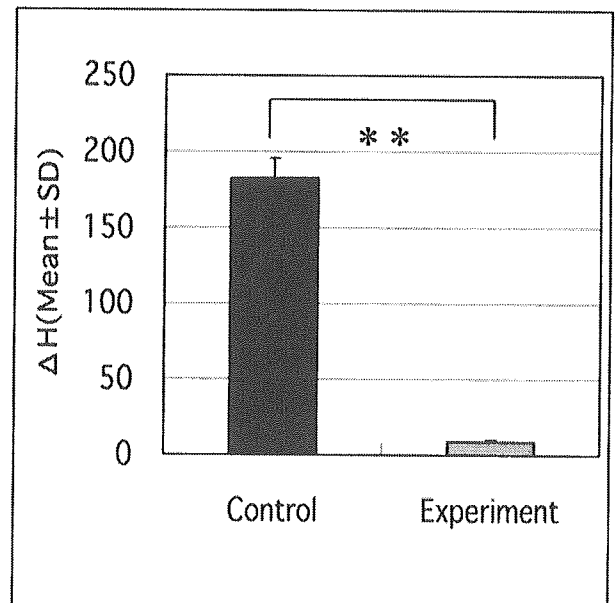


図2. エナメル質の硬度変化 (平均値±SD)
** p<0.01

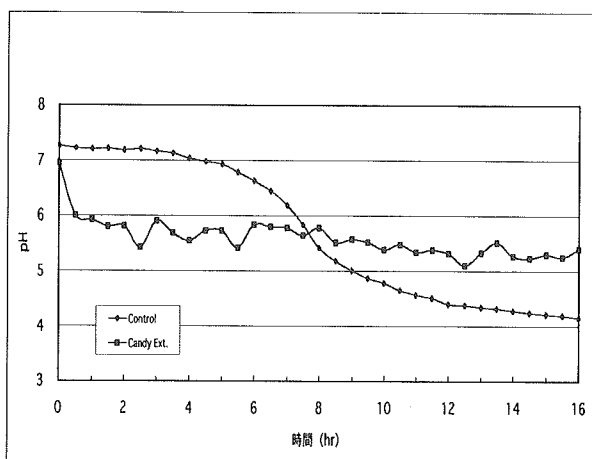


図3. 電極面人工バイオフィilm下 pH の経時変化 (シュガーレスキャンデーB)

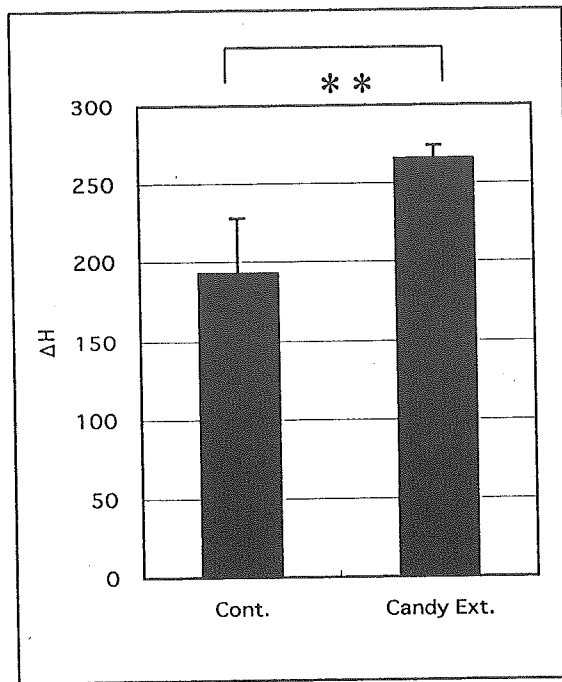


図4.エナメル質の硬度変化(平均値±SD)
**p<0.01

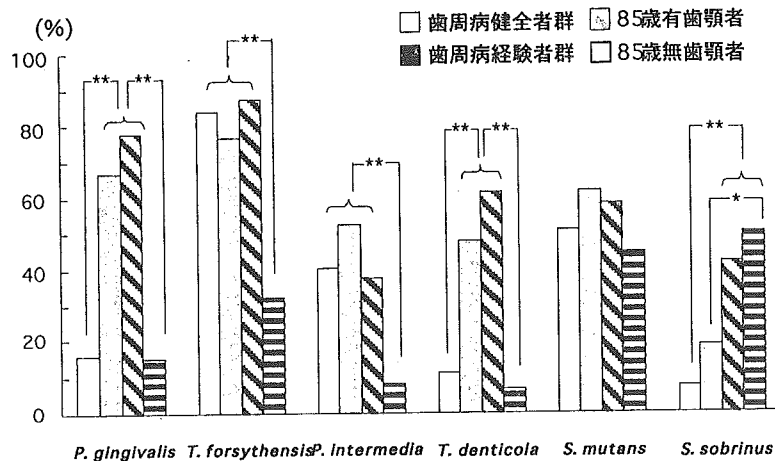


図5. 舌苔からの歯科疾患関連細菌の検出率
*p < 0.05 **p < 0.001 Ryan法による比率の多重比較検定

表1 保健的介入前後の細菌学的指標の比較

舌苔スコア	1.96 ± 0.21	**	1.04 ± 0.17
舌苔湿重量 (mg)	24.4 ± 5.60	†	12.8 ± 1.92
舌苔 1mg中細菌数 (対数平均値)	7.93 × 10 ⁷ (7.4 ± 1.05)		8.87 × 10 ⁷ (7.4 ± 0.85)
舌苔中総細菌数 (対数平均値)	2.82 × 10 ⁹ (8.6 ± 1.47)		1.61 × 10 ⁹ (8.44 ± 0.21)

数値は平均値 ± 標準誤差

*p < 0.05, **p < 0.01 Wilcoxon 順位検定 †p < 0.01: 対応のある検定

厚生科学研究補助金（食品の安全性高度化推進事業）
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（H16-食品-003）

1. 健康食品の酸産生性の評価方法に関する検討
2. 健康食品のバイオフィルム形成に及ぼす影響に関する検討
（DNA マイクロアレイによる口腔微生物叢の検討）

分担研究者 高橋 信博（東北大学大学院歯学研究科・教授）

研究協力者 佐藤 拓一（東北大学大学院歯学研究科・講師）

研究要旨：

1. 現行の「食品の酸産生性検定システム」の信頼性と実用性を考察することで問題点を抽出し、さらに将来における酸産生性評価の位置付けについて考察した。1)・1 システムの信頼性について：現段階で最も科学的に信頼性の高い電極内臓法（プラーク pH テレメトリー法）を採用していることから、「Evidence-based prevention」の実践を行う上で最適と考えられた。1)・2 システムの実用性について：①被験者の確保が容易ではないこと、②被験者の負担が大きいこと、③測定者の負担が大きいこと、④測定システムが高価であること、⑤現在の大学研究室という環境では検定業務が効率的ではないこと等の欠点があり、この克服には専門の検定機関の設置等が必要であると考えられた。2) 将来における酸産生性検定の位置付けについて：今後、歯科健康食品評価が機能性評価にシフトして行くに従って、検定の前段階として「歯表面脱灰を起こさない安全な食品」を選定する「前段階検定」へ変化して行くものと思われる。一方、口腔から食品が摂取される以上、歯表面脱灰の可能性をもつ酸産生性食品はその危険性を明示する必要があると考えられることから、健康食品全体に対して、「前段階検定」としての酸産生性検定が必要になると思われる。その際、酸産生性という評価指標は、新たな評価指標とは異なり、これまでに十分な科学的裏付けがなされていることから、検定コスト削減を視野に入れた簡略化を図ってもよいのではないかと思われた。さらに、歯表面脱灰は酸産生性食品だけではなく酸蝕性食品によっても生ずることから、今後、酸蝕性食品についての検討が必要であると考えられる。
2. 口腔疾患に関連する口腔微生物 24 種を選択し、その 16S ribosomal RNA gene の塩基配列から、各種微生物種特異的 DNA プローブを作成し、これら DNA プローブを特殊紙面上に固定し、DNA マイクロアレイ化を行った。標準口腔微生物株および臨床サンプル（プラーク）を用いて、微生物種特異性ならびに検出感度を検討した。完成した DNA マイクロアレイに対して、標準口腔微生物株を用い、微生物種特異性ならびに検出感度を検討し、概ね良好な結果が得られた。また、DNA マイクロアレイのスポット検出法として採用した色素法は、容易に肉眼で判定できることが明らかになった。