第6回口腔保健用機能性食品

研究会・総会

議事次第

&

講演要旨

日時：平成29年1月29日（日）13:00〜18:30

　　　会場：鶴見大学会館　地下メインホール

第６回口腔保健用機能性食品研究会・総会

日時：平成29年1月29日（日）13:00〜13:45

　　　　　　　会場：鶴見大学会館メインホール

　　　　　　　大会長：鶴見大学歯学部　花田信弘先生

　　議　事　次　第

　　　　１．開会の辞

　　　　２．理事長挨拶

　　　　３．議長選出

　　　　４．議長挨拶

５．議事

　（1）平成28年度活動報告

　　　　　（2）平成28年度会計報告

　（3）会計監査報告

　（4）平成29年度活動計画案

　（5）平成29年度予算案

６．その他

７. 議長解任

８．閉会の辞

　　平成28年度活動報告

　　　　１．第5回総会・研究会開催

　　　　２．ホームページの維持・情報発信

　　　　３．会員募集

　　　　　　(1) ホームページ

　　　　 (2) ifia/Japan2016食品展ポスター展示

　　　　 (3) 食品開発展2016ポスター展示

　　　　４．理事会の開催

　　　　５．消費者庁食品表示企画課との面談

　　　　６．機能性表示食品への申し入れ

　　平成28年度会計報告

　　　　別紙

　　平成29年度活動計画案

　　　　１．会員募集

　　　　２．HPにおける情報発信・交換

　　　　３．機能性表示食品、トクホへの提言

　　　　４．理事会開催

　　　　５．企画講演会の開催

　　　　６．総会・講演会開催

　　平成29年度予算案

　　　　別紙

講演会（14:00〜15:00,休憩,15:10〜17:10）

【特別講演】 　　　　　　　　座長　花田信弘先生

14:00 サイクロデキストラン（環状イソマルトオリゴ糖）の生産法の開発と

　　　 様々な機能

　　　　　　　　　農業・食品産業技術研究機構 食品研究部門　舟根和美先生

--------------------------休憩10分-----------------------------------

【一般口演】　　　　　　　　　　　　　座長　高橋信博先生、永田英樹先生

15:10 口腔*Bifidobacterium*属のグルコースおよびラクトース代謝とフッ化物

 による抑制効果

　　　　　　 東北大学大学院歯学研究科 口腔保健発育学講座　馬目歩実先生

15:30 *Haemophilus influenzae*に対するプロバイオティクス候補菌

 *Lactobacillus crispatus*の効果

 　　　　　　　　　　　 鶴見大学歯学部 探索歯学講座 曽我部 薫先生

15:50 ペットボトルの口の部分に付着する細菌の量および構成（*A pilot study*）

 新潟大学医学部保健学科 検査技術科学専攻 曾田彩花先生

16:10 アルカリイオン飲用水のう蝕バイオフィルムに対する影響

　 　　鶴見大学歯学部 国際口腔保健学寄附講座　マティン カイルール先生

16:30 マナマコの抗真菌成分（サポニン）の分析法

 岩手生物工学研究センター 生物資源研究部　矢野　明先生

16:50 乳タンパク質ラクトフェリンとラクトパーオキシダーゼの口臭抑制

 および口腔内細菌叢改善作用

 森永乳業株式会社 素材応用研究所 中野　学先生

懇親会（17:15〜18：30）当大学会館1F センタープラザ

講演要旨

【特別講演】

サイクロデキストラン（環状イソマルトオリゴ糖）の生産法の開発と様々な

機能

農業・食品産業技術研究機構食品研究部門　酵素研究ユニット 舟根和美

サイクロデキストランは、7分子以上のグルコースがα-1,6結合で連なった環状イソマルトオリゴ糖でありCIと略される。デキストラン培地でCI生産菌を培養すると、CIグルカノトランスフェラーゼ（CITase）を菌体外に生産し、培養液中にCIを蓄積する。工業的にも、乳酸菌でショ糖からデキストランを生産し、次いでCITaseを作用させてCI生産される。一方CI生産菌は澱粉からもCIを生成する。菌自身が持つ高転移性のα-グルコシダーゼでα-1,6グルコース鎖を合成し、さらにCITaseによりCIを生産する。

CIはう蝕菌のグルカン合成酵素を強く阻害し、抗プラーク作用を示す。近年この性質を利用したCI入りの甘味料、水歯磨き、ペットの口臭予防補助食品などが製造販売された。CIは、物質を可溶化、安定化させる包接能も有する。CIは上記水歯磨きに抗菌成分として含まれるホップの苦みをマスキングする包接剤の役割も果たす。CIの包接能の開発は、グルコース10分子のCI-10に強い包接能を見出してから進歩した。高分子のCI（環状イソマルトメガロ糖、C-IMS）、さらに分岐を導入したアンカー型C-IMSを開発し、これらは難溶性イソフラボンの可溶化に顕著な効果を示した。

CIの発見から20年以上経過したが、ようやく生産法と用途開発が実用レベルに近づいたところである。今後CIが広い分野で応用されていくことを期待したい。

経歴

研究経歴：北海道大学では、ネズミチフス菌のチオ硫酸代謝、食研勤務後は、微生物のセリンプロテアーゼ、放線菌の二次代謝産物生産誘導因子の研究を経て、平成4年頃から主に微生物が生産するグルカン類と、これを生産あるいは分解する糖質関連酵素（グルカンスクラーゼ、環状イソマルトオリゴ糖グルカノトランスフェラーゼ、デキストラナーゼ、α-グルコシダーゼ、ブランチングエンザイムなど）の研究に従事し、現在に至る。

学歴・職歴

昭和58年3月　北海道大学農学部農芸化学科　卒業

昭和60年3月　北海道大学大学院農学研究科修士課程　修了

昭和60年4月　農林水産省　食品総合研究所　農林水産技官として採用

平成6年4月　　同　主任研究官

平成7年3月　　北海道大学より　博士（農学）取得

平成7年3月~平成8年4月 　米国ミシガン州立大学　長期在外研究員　併任

平成11年9月　日本応用糖質科学会奨励賞受賞（*Leuconostoc mesenteroides* 由来のデキストラン合成酵素の構造と機能の解明）

平成15年4月　茨城大学、東京農工大学、客員助教授　併任

平成19年4月　独立行政法人農業・食品産業技術研究機構食品総合研究所　上席研究員

　　　　　　 茨城大学、東京農工大学、客員教授　併任

平成20年4月　農研機構食品総合研究所　発酵細菌ユニット　ユニット長

平成28年4月　農研機構食品研究部門　酵素研究ユニット　主席研究員

現在に至る

＜メモ＞

口腔*Bifidobacterium*属のグルコースおよびラクトース代謝とフッ化物による抑制効果

○馬目歩実1,2、安彦友希2、川嶋順子3、福本敏1、高橋信博2

1東北大学大学院歯学研究科 口腔保健発育学講座 小児発達歯科学分野

2東北大学大学院歯学研究科 口腔生物学講座 口腔生化学分野

3東北メディカル・メガバンク機構 地域医療支援部門 地域口腔健康科学分野

【目的】 *Bifidobacterium*属は主要な腸内細菌として知られているが、近年、小児の重度齲蝕患者（Early childhood caries：ECC）から高頻度に分離されることが報告され、ECCとの関連性が着目されている。そこで本研究では、口腔内を模した環境における、*Bifidobacterium*属の酸産生活性およびフッ化物によるその抑制について検討した。

【方法】本実験では*Bifidobacterium longum* および*Bifidobacterium dentium*、対照として代表的な齲蝕関連菌である*Streptococcus mutans*を用いた。酸産生活性の測定と、フッ化物による抑制効果の検討にはpH-stat法（pH 7.0および5.5）を用いた。菌懸濁液を調整後、糖（グルコース（Glu）とラクトース（Lac））およびフッ化物を添加し、酸産生活性を測定した。さらに、その時の最終代謝産物を、高速液体クロマトグラフィーを用いて定量分析した。フッ化物の抑制効果は50％阻害濃度（IC50）で評価した。

【結果】酸産生活性は、*Bifidobacterium*属よりも*S. mutans*の方がGluで1.8～3.8倍、Lacで1.4～1.7倍高かった。*S. mutans*の酸産生活性はGluとLacとで変わらなかったが、*Bifidobacterium*属は、GluよりもLacで1.2～2.8倍高かった。フッ化物の酸産生に対するIC50は、*S. mutans*よりも*Bifidobacterium*属の方が5.0～19.4倍高かった。*Bifidobacterium*属の最終代謝産物の約80％は酢酸で、フッ化物を添加してもその比率はほとんど変化しなかった。

【考察】*Bifidobacterium*属は、*S. mutans*と比べて酸産生能は低いもののGluよりもLacからの酸産生が高く、主に酢酸を産生すること、また、その酸産生能はフッ化物に対し抵抗性を示すことが明らかになった。これらの性質がECCの病態と関連している可能性が考えられた。

【略　歴】

鶴見大学歯学部卒業（2012年 3月）

東北大学大学院歯学研究科博士課程入学（2014年 4月）

現在大学院3年目

【主な研究テーマ】

小児齲蝕と*Bifidobacterium*属との関連について

連絡先

所属： 東北大学大学院歯学研究科 口腔保健発育学講座 小児発達歯科学分野

E-mail: ayumi.manome.b7@tohoku.ac.jp

TEL: 022-717-8382

FAX: 022-717-8386

＜メモ＞

*Haemophilus influenzae*に対するプロバイオティクス候補菌*Lactobacillus crispatus*の効果

曽我部薫、岡田彩子、今井奨、花田信弘

鶴見大学歯学部探索歯学講座

目的： *Haemophilus influenzae*（H.i）はグラム陰性嫌気性桿菌で、ヒトの口腔・鼻咽腔から検出され、髄膜炎、慢性閉塞性肺疾患、気管支炎、肺炎を引き起こす。本研究では、口腔領域のプロバイオティクス候補菌を用いてH.iの増殖抑制に関して検証を行う。

方法：供試細菌として、*Haemophilus influenzae* ATCC 9795、*Haemophilus influenzae* GTC 15014 および*Lactobacillus crispatus* YIT 12319（L.c1）、*Lactobacillus crispatus* LBS 17-11、*Lactobacillus fermentum* YIT 12320、*Lactobacillus gasseri* YIT 12321および*Streptococcus mitis* YIT 12322を使用した。試験用サンプルとして、培養上清・中和上清・硫安画分・限外ろ過画分・CPY画分を調製した。プロバイオティクス候補菌の抗菌活性を測定するために、Competition assay、Radial diffusion assayおよびCFUによる解析を行った。また、L.c1培養上清中の有機酸の解析をHPLCで行った。

結果： L.c1培養上清はH.i 2株に対して最も強い抗菌活性を示した。しかし中和上清および硫安画分では抗菌活性が認められなかった。L.c1 培養上清から4種の有機酸が乳酸、酢酸、コハク酸及びプロピオン酸の順に多く検出された。特に乳酸は培養時間に比例して増加し、H.i の増殖抑制の主要な役割を果たしている事が示唆された。実際、乳酸は0.1～1.0Mで明らかにH.iに対して抗菌活性を示した。

考察： プロバイオティクス候補菌であるL.c1の産生する乳酸により、*H. influenzae*の増殖が抑制される事が示唆された。

（この研究は株式会社ヤクルト本社中央研究所との共同研究である）

連絡先：鶴見大学歯学部探索歯学講座

sogabe-k@tsurumi-u.ac.jp

045-580-8462

略歴：

平成22年3月 鶴見大学歯学部　卒業

平成22年4月　 鶴見大学歯学部附属病院　臨床研修歯科医

平成27年3月 鶴見大学大学院歯学研究科　修了

平成27年4月　 鶴見大学歯学部歯科麻酔学講座　学部助手

平成28年4月　 鶴見大学歯学部探索歯学講座　臨床助手

現在に至る

学会：

日本歯科麻酔学会会員

日本口腔衛生学会会員

＜メモ＞

ペットボトルの口の部分に付着する細菌の量および構成（*A pilot study*）

曾田彩花1)、佐藤拓一1)

1) 新潟大学医学部保健学科検査技術科学専攻 臨床化学

石黒和子2)、安彦友希2)、真柳 弦2)、鷲尾純平2)、高橋信博2)

2) 東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野

諸外国で普及している「液体ミルク」は、開封すればすぐに使用でき、常温で保存できるという特徴がある。しかし、昨秋、食品衛生法に基づく厚生労働省令には、「粉ミルク」の規格のみという報道があり、日本における使用解禁のためには、開封後（飲み残し）の常温保存による微生物の増殖など、安全性に関するデータが求められている。そこで、今回、飲料物の飲み残し後の微生物の増殖という基礎的な知見を得るために、飲みかけのペットボトルの口部分から試料を採取し、付着する細菌の量およびその構成を明らかにすべく、予備実験を行ったので、報告する。

市販のペットボトル（お茶）を開封し、口の部分から、少量、直接、飲み（いわゆるラッパ飲み）、そのペットボトルの口の部位を、滅菌綿棒で擦過し、滅菌チューブの壁に塗布し、40 mMリン酸カリウム緩衝液1mLを加えて、試料とした。試料をボルテックスで分散均一化後、連続10倍希釈し、CDC嫌気性菌用ヒツジ血液寒天培地に接種し、1週間、37℃で嫌気培養した。続いて、飲み残しのペットボトルを、お茶の入った状態で、3週間、37℃でインキュベータ内に保管し、同様に擦過し、試料処理を行った。培養後、得られた各コロニーからgenomic DNAを抽出し、PCR増幅を行った。得られたPCR産物を、制限酵素を用いて切断し、電気泳動パターンから細菌種のグループ分けを行った。さらに、PCR産物を精製し得られた塩基配列を相同性検索によってデータベースと照合し、97％超の相同性のものを同一の菌種としてリストを作成した。

その結果、ラッパ飲みした直後のペットボトルの口から、3.5×101　CFU/mLの細菌が得られ、3週間後の試料からは、5.0×102　CFU/mLの細菌が回収された。その細菌構成は、直後の試料では、*Streptococcus*（43%；*S. mitis / oralis, S. australis*, *S. thermophilus*）、*Actinomyces* (29%； *A. odontolyticus*）、*Rothia*（14%；*R. dentocariosa*）、*Neisseria* （14%；*N. mucosa*）であり、3週間後の試料では、*Streptococcus*（80%；*S. mitis / oralis*）、*Staphylococcus*（20%；*S. caprae / capitis*）であった。唾液の細菌構成は、*Streptococcus、Actinomyces*、*Rothia*、*Gemella*、*Neisseria*などが優勢であると文献的に知られており、本研究の結果も、類似の傾向を示したことから、唾液を反映していること、ならびに、3週間後でもそれらが残存（生存）していることが示唆された。

本研究において、飲みかけのペットボトルの口部分から試料を採取し、付着する細菌の量および構成を解析した。その結果、飲んだ直後ならびに長期保存後も、口部分に唾液由来の細菌が残存していることが示された。「液体ミルク」の日本における使用解禁のために、あるいは、「口腔保健用機能性食品」の観点からも、その食品の性状／形状や成分の解析が重要であることは言うまでもないが、その飲料の飲み方や保存（保管）方法についても、ある程度、配慮が必要であると思われた。

連絡先： 新潟大学医学部保健学科　検査技術科学専攻　臨床化学　佐藤拓一

Eメール tak@clg.niigata-u.ac.jp 電話／FAX　025-227-0823

＜経歴：曾田彩花＞

2015年4月　新潟大学医学部保健学科検査技術科学専攻 入学

2015年12月　新潟大学医学部医学科分子生理学教室 技術補佐員 併任

2016年11月 本研究室（臨床化学）にて、口腔細菌学に関する研究を開始、現在、学部2年生

2017年2－3月　米国Forsyth Institute（Drs. C. Kressirer & A.C.R. Tannerの研究室）に短期留学予定

＜経歴：佐藤拓一＞

1989年3月 新潟大学歯学部（歯学科）卒業

1993年3月 同大学院歯学研究科修了、博士（歯学）

その後、日本学術振興会特別研究員PD、ニューヨーク州立大学バッファロー校 ポスドク等を経て、1999年4月から、東北大学大学院歯学研究科（井上フェロー、助手、講師）

2016年4月から、新潟大学医学部（保健学科）教授

＜メモ＞

アルカリイオン飲用水のう蝕バイオフィルムに対する影響

〇マティン カイルール1、暁万里子3、岡田彩子2、今井 奨2、根深 研一1、

花田 信弘2、田上順次3

1鶴見大学歯学部国際口腔保健学寄附講座、2鶴見大学歯学部探索歯学講座、

3東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

【目的】う蝕病原性細菌は、不溶性グルカン（WIG）を産生することで、菌体の歯面への付着を強固にし、う蝕バイオフィルムを形成することが知られている。このWIGは、NaOHで溶解することが知られており、*in vitro*の研究において様々な場面で応用されている。そこで我々は、NaOH と同様にOH－を多く含むアルカリイオン飲用水に注目し、アルカリイオン飲用水（AW）のう蝕バイオフィルムの溶解と剥離に及ぼす効果について研究を行った。

【方法】牛エナメル質を切断して作製した試料（4.0×4.0×1.5 mm）表面を、耐水研磨紙で研削後、ダイアモンドペーストにて3 µmまで鏡面研磨した。人工口腔装置（Oral Biofilm Reactor； OBR）内にて、試料上部から*Streptococcus mutans* MT8148（*S. mutans*）懸濁液、1%スクロース含有Heart infusion （HI）およびPBSを8時間滴下し、人工バイオフィルムを形成した。その後、試料は、①0.5 mol/l水酸化ナトリウム pH 13.45（NaOH）、②アルカリイオン飲用水pH 11.45 （AW-high; AWH）、 ③アルカリ飲用水 pH 10.52（AW-low; AWL）および④Mineral water pH 7.52（MW）の4種類の供試用液に浸漬した。尚、アルカリイオン飲用水はアルカリイオン水整水器（TK7705，National，Japan）によって生成した。各供試用液中において、Tissue Lyser（QIAGEN, Germany）を用いて振動（10Hz, 20秒）を加えた後、1分間静置し、それを3回繰り返した。その後、剥離したWIG量の測定に関しては、フェノール硫酸法を用い、分光光度計を用いて測定した。

【結果及び考察】MWと比較しAWの剥離したグルカン量は有意に高く、AWの剥離効果が認められた。剥離したグルカン量は、NaOH群及びAWH群では、MW群と比較して有意に溶解していることがわかった。AWL群に関しても、MW群と比較して有意差はなかったが、同様の傾向を示した。以上よりAWが付着バイオフィルムの溶解除去に有効であることが明らかとなった。アルカリイオン飲用水は，*in vitro*において、*S. mutans*のバイオフィルムを構成するグルカンを溶解することによってバイオフィルムを除去する効果を有することが確認された。

【略　歴】

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野　COE特任講師（2003年10月）

鶴見大学歯学部国際口腔保健学歯学寄附講座　寄附講座教授 　（2015年10月）

【主な研究テーマ】

骨再生、自己免疫疾患、う蝕バイオフィルムおよび機能水

連絡先

鶴見大学歯学部探索歯学講座　 Email: matin-k@tsurumi-u.ac.jp

＜メモ＞

マナマコの抗真菌成分（サポニン）の分析法

岩手生物工学研究センター 生物資源研究部 矢野　明

　マナマコ（*Apostichopus japonicus*）は日本近海に生息する主要な食用ナマコであり、長い食経験を持つ生鮮食品である。マナマコには抗真菌成分として知られるサポニンが含まれ、主要成分としてホロトキシンA, A1, B, B1の4種が報告されている。ホロトキシンの分析時にはアルコール抽出等が実施されてきたが、組織中に多量に含まれるコラーゲン繊維が溶媒で硬化しやすく、凍結乾燥等の手法を用いても破砕が困難であった。サポニン分解の懸念により酸性溶媒の使用もできないことから、より簡易なサポニン分析法が求められていた。

　そこで、タンパク質分解酵素を用いたサポニン抽出／分析法を検討した。複数の酵素製剤について検討を行い、体組織分解効率が高くサポニン抽出に適した条件を決定した。

　本手法を用いて体重数グラムの稚ナマコから体重300g程度のナマコ成体まで、簡易にサポニン分析が実施できることを確認した。現在、同手法で漁獲時期が異なるマナマコのサポニン含有量を調査中である。

（本研究は、「農林水産業の革新的技術開発・緊急展開事業（うち地域戦略プロジェクト）個別・FS型：ナマコ資源安定化と新規需要創出に向けた実証研究」にて実施した。）

略歴

1969年　小田原市生まれ

1992年　東京工業大学　理学部卒

1992-1997年　東京大学大学院　理学系研究科（単位取得退学）

1998年　博士（理学）取得

1997-8年　産業技術総合研究所（旧　工業技術員　生命工学工業技術研究所）ポスドク

1998-2002年　国立感染症研究所　口腔科学部　研究官

2002年-2005年　国立保健医療科学院　口腔保健部　主任研究官

口腔微生物の検査手法、植物による抗体の量産技術開発、ペプチドワクチン開発

2006-2010年　公益財団法人　岩手生物工学研究センター　主任研究員

2011-2014年　同　主席研究員

20015年～　同　生物資源研究部　研究部長

2009年～　岩手医科大学　協力研究員

2011年～　岩手大学　客員教授（大学院連合農学研究科）

岩手にきてから2009年までは担子菌の酵素に関する研究

2010年から現在までは、食品の機能性に関する研究に従事

所属学会

日本栄養食糧学会、日本農芸化学会、日本歯科薬物療法学会、日本作物学会

＜メモ＞

乳タンパク質ラクトフェリンとラクトパーオキシダーゼの口臭抑制および口腔内細菌叢改善作用

　森永乳業株式会社　素材応用研究所　中野　学

ラクトフェリン（LF）とラクトパーオキシダーゼ（LPO）は、乳や唾液に含まれる生体防御成分である。歯周病菌に対し、LFは抗菌作用や抗バイオフィルム作用、LPOは殺菌作用や口臭産生酵素への阻害作用を示す。我々は、LFとLPOを配合した食品用素材（オーラバリア®）を開発し、口臭抑制効果および口腔内細菌叢改善効果を評価した。

口臭の主な原因物質は、硫化水素やメチルメルカプタンなどの揮発性硫黄化合物（VSC）である。健康成人を対象としたランダム化比較試験で、試験またはプラセボ食品の摂取前、10、30分後に呼気中のVSC濃度を評価した。試験群では、摂取10および30分後にVSC濃度が嗅覚閾値を下回り、摂取10分後の総VSC値はプラセボ群に比べて有意に低値を示し、本食品の単回摂取による口臭抑制効果が確認された。

口腔内細菌叢のバランス悪化は齲蝕や歯周病だけでなく、感染症など全身疾患リスクにも関与する。高齢者を対象としたランダム化比較試験で、試験またはプラセボ食品を1日3回8週間摂取してもらい、口腔内細菌を定量PCRおよび次世代シーケンサーで評価した。試験群では総菌数や*Porphyromonas gingivalis*数が減少した一方、口腔衛生の悪化に関与しない菌の割合が増加し、継続摂取による口腔内細菌叢の改善効果が示唆された。以上の結果から、本食品の摂取は日常的な口腔衛生改善方法として期待される。

連絡先

・所属：森永乳業株式会社　素材応用研究所　機能素材開発部

・電話番号：046-252-3045

・FAX番号：046-252-3017

＜略歴＞

　平成16年　北海道大学理学部卒業

　平成18年　北海道大学大学院理学研究科修士課程修了

　同年　　　 森永乳業株式会社入社

　平成22年　森永乳業株式会社食品基盤研究所所属

　平成27年　森永乳業株式会社素材応用研究所所属

　現在　　　 森永乳業株式会社研究本部素材応用研究所副主任研究員

＜所属学会＞

　日本農芸化学会

　日本ラクトフェリン学会

＜メモ＞