第９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：令和2年2月15日（土）13:30〜17:30

会場：TKPガーデンシティ—仙台駅北ANNEX

第8回口腔保健用機能性食品研究会・総会

日　時：令和2年2月15日（土）13:30〜17:00, 懇親会17:30〜

会　場：TKPガーデンシティ—仙台駅北ANNEX　カンファレンスルーム2A

大会長：東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野　髙橋信博 教授

**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31年度活動報告

　　　　　（2）平成31年度会計報告

　（3）会計監査報告

　（4）令和2年度活動計画案

　（5）令和2年度予算案

６．その他

７. 議長解任

８．閉会の辞

**平成３１年度活動報告**

　　　　１．第8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) 食品開発展2019ポスター展示

　　　　４．理事会の開催

**平成３１年度会計報告**

　　　　別紙

**令和２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・研究会開催

　　　　７. 他機関との連携

**令和２年度予算案**

　　　　別紙

**令和２年度理事会役員名簿**

新理事長挨拶

**研究会**（特別講演14:15〜15:15　休憩　一般講演15:45〜17:00）

**【特別講演】**　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　座長　高橋信博先生

「食を支える幅広い口腔の機能と全身の健康への影響」

東北大学大学院歯学研究科　国際歯科保健学分野　相田潤

食事は人が生きるうえで欠かせない行為であり、生命の根幹的な楽しみを生み出すものである。口腔の咀嚼機能や嚥下機能は、食べることに欠かせない。長い人生の大部分は、歯の健康が咀嚼機能の維持に寄与する。歯の喪失の主原因はう蝕と歯周病であり、これらの予防が重要である。また歯を喪失した場合には、歯科治療で欠損部位の回復をすることが望ましい。高齢期においてオーラルフレイルが進行した段階では、嚥下機能を維持することが食べることに必要となる。要介護認定を受けていない比較的健康な高齢者においても、嚥下機能の低下は誤嚥性肺炎を引き起こして死亡率を高める可能性があり、健康なうちから嚥下機能を維持させておく必要がある。口腔の健康状態の低下は、特に高齢者において栄養摂取を減少させて体重低下を引き起こし、死亡率を高める可能性がある。

また視野を広げると、口腔の持つ社会的機能も、食を支えている可能性があることが分かる。口腔の健康は、人と会って話したり笑ったりとコミュニケーションに寄与している。そのため高齢者において、歯がなく、そして義歯も利用していないと、閉じこもりのリスクが高まることが報告されている。近年の研究で、ひとりで食事をする「孤食」の習慣のある人で、うつ病のリスクが高まり、さらに死亡率が高まることが報告されている。口腔の健康状態が良好なことは、人と会って笑って話をして食事をすることにためらいを生じさせず、社会的および身体的な健康状態の維持に寄与している可能性がある。

こうした口腔の食を支える幅広い機能は、全身の健康状態の維持に寄与していると考えられる。実際高齢者において、現在歯数が多い程、要介護状態になりにくく、健康寿命が長いことが報告されている。本講演ではこうした食を支える幅広い口腔の機能の維持・増進の重要性とそれを守るための方策について考えたい。

＜相田　潤先生ご略歴＞

2003年　北海道大学歯学部卒業

2004年　国立保健医療科学院専門課程修了

2007年　北海道大学大学院歯学研究科博士課程修了

2007年　東北大学大学院歯学研究科助教

2010年　 University College London客員研究員

2011年〜 東北大学大学院歯学研究科准教授

2012年〜2019年 宮城県保健福祉部 参与（歯科医療保健政策担当）兼務

2014年〜 東北大学大学院歯学研究科臨床疫学統計支援室室長 併任

専門分野は歯科疫学、公衆衛生学と社会疫学。現在、歯科疾患の健康格差や口腔と全身の健康の研究、ソーシャル・キャピタル、東日本大震災の健康影響などの研究に従事。

＜メモ＞

【一般講演】

1. ニプル（哺乳瓶用乳首）を通した、口腔から液体ミルク内への流入

涌井杏奈，佐野拓人，河内美帆，佐藤拓一（新潟大学大学院保健学研究科検査技術科学分野 臨床化学）

鷲尾純平，安彦友希，真柳 弦，高橋信博（東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野）

【背景と目的】乳児用液体ミルクは、開封すればすぐに飲ませることができ、常温で保存できるという使用上の大きなメリットがあり、諸外国では広く普及している。日本においては、東日本大震災の時に、救援援助物資として諸外国から提供されて好評を博したものの、日本では長年、食品衛生法に基づく厚生労働省令に「液体ミルク」の規格基準がなく、認可が遅れていたが、2019年4月から、日本のメーカーによる製造・販売が開始された。使用上のメリットから、日本でも広く普及していくものと考えられる。

しかしながら、日本での普及にあたっては、1）高コスト、2）短い賞味期限、3）開封後に飲み残しを保管する可能性がある、といった課題がある。最後の飲み残しの観点については、飲み残した際の口腔からの唾液の流入や汚染、健康への影響が懸念される。メーカーは飲み残しは廃棄するよう推奨しているが、その根拠となると明確ではないようである。乳児用食品の食べ残しや飲み残しの細菌汚染についての情報（論文）が乏しいのも現状である。

そこで、本研究では、乳児用液体ミルクを哺乳瓶用乳首を使って飲んだ場合、口腔からどの程度口腔細菌が流入するのか、という点に着目した。すなわち、乳児用液体ミルクを飲み残した場合、口腔細菌がどの程度流入し、また、飲料物内で増殖するか、といった点について、口腔に多い嫌気性菌に留意した実験環境下で精密に解析することで、細菌の流入の程度および細菌構成について明らかにすることを目的とした。本研究では、乳児用液体ミルク同様、哺乳瓶用乳首を用いて飲み、飲み残す可能性のある一般に市販される乳児用飲料物（ビーンスターク）も用いて研究を行った。

【方法】健康な男女10名 (19~24歳) を被験者とした。インフォームドコンセントを得た後、市販の乳児用飲料物（ビーンスターク）、乳児用液体ミルクを哺乳瓶に哺乳瓶用乳首を装着し、飲んでもらった。乳児用飲料物（ビーンスターク）は飲んだ直後、哺乳瓶用乳首の内側を滅菌綿棒で擦過し、緩衝液1.0ｍL中に懸濁し、10倍連続希釈した。またその飲み残した直後の飲料物も試料とし、緩衝液を用いて10倍連続希釈を行った。乳児用液体ミルクは飲み残した直後の飲料物、さらに飲み残しを4℃で3時間、12時間、24時間保存した後の飲料試料とした。それぞれの液体について、10倍連続希釈を行った。それぞれの試料をCDC血液寒天平板に接種し、37℃で7日間嫌気的に培養を行った。各被験者から採取した唾液も試料とし、同様に希釈、培養を行った。

培養後、細菌量 (CFU/mL) を算出し、各コロニーからDNAを抽出した。16S rRNA遺伝子を細菌のユニバーサルプライマー (27F, 1492R) を用いてPCR増幅した。各PCR産物を制限酵素*Hpa*Ⅱを用いて処理し、アガロースゲル電気泳動をすることによって各細菌のグループ分けした (PCR-RFLP法)。各細菌グループの代表株をシークエンス解析した後、データベースと照合し、99％を超える相同性のものを同一菌種とし、細菌種を同定し、細菌種のリストを作成した。

【結果】乳児用飲料物（ビーンスターク）について、細菌量（CFU/ｍL）は哺乳瓶用乳首の内側、飲み残し後の飲料物でそれぞれ (1.4 ± 1.6) ×103，(1.4 ± 1.7) ×104であった。細菌の構成は、哺乳瓶用乳首の内側では*Streptococcus* (53.3%), *Veillonella* (18.8%), *Schaalia* (9.4%) が、*Prevotella* (5.8%), *Gemella* (5.4%), *Actinomyces* (2.5%), *Eubacterium* (1.4%)に続き優勢菌種として得られた。一方、飲み残し後の飲料物では *Streptococcus* (35.7%), *Schaalia* (23.3%), *Veillonella* (14.0%) が優勢であり、続いて*Prevotella* (5.0%), *Actinomyces* (3.5%), *Propionibacterium* (2.7%), *Olsenella* (2.7%), *Cutibacterium* (2.3%) が主な構成であった。

飲み残し後の乳児用液体ミルクからは、飲み残し直後、4℃で3時間保存後、12時間後、24時間後それぞれで (1.4 ± 0.9) ×104, (2.7 ± 2.3) ×104, (2.6 ± 2.8) ×104, (4.1 ± 6.6) ×104 CFU/mLの細菌が得られた。その構成は飲み残し直後の液体では、*Streptococcus* (44.1%), *Neisseria* (13.4%), *Veillonella* (10.2%), *Actinomyces* (6.3%), に続き*Schaalia* (4.7%), *Porphyromonas* (4.7%), *Rothia* (3.1%), *Gemella* (3.1%)，*Prevotella* (2.4%)が得られ、飲み残し12時間後では *Streptococcus* (45.6%), *Veillonella* (9.4%), *Schaalia* (6.9%), *Actinomyces* (6.9%) *Rothia* (5.0%), *Prevotella* (4.4%), *Neisseria* (3.1%), *Atopobium* (2.5%), *Gemella* (2.5%) が得られた。

また、被験者の唾液の細菌量は (1.7 ± 2.0) ×108であり、その構成は*Streptococcus* (50.3%), *Shaalia* (9.1%), *Neisseria* (6.4%)が優勢で、その後、*Actinomyces* (5.6%), *Veillonella* (5.3%), *Prevotella* (5.0%), *Rothia* (4.7%), *Gemella* (2.9%), *Propionibacterium* (2.0%)であった。

これらの結果から、乳児用飲料物や乳児用液体ミルクに付着、流入した細菌の構成は、唾液の細菌構成に類似しており、唾液の主要な細菌が哺乳瓶用乳首を通して、飲料物内に流入したことが示唆される。また、乳児用液体ミルクを保存した場合も、飲み残し直後と保存後で細菌量、細菌構成ともに類似していることから、保存による影響はみられなかった。

【考察】哺乳瓶で哺乳瓶用乳首を使って飲料物を飲んだ際には、1mLあたり103程度の*Streptococcus*, *Shaalia*, *Neisseria*等の細菌が飲料物内に流入していることが明らかになった。その細菌構成が唾液と類似していることから、流入した細菌が唾液由来であることを示している。乳児用液体ミルクに関しては、飲み残した直後と4℃・3時間保存、12時間保存、24時間保存後で細菌量が類似しており、一定の時間、冷蔵保存が可能であることが示唆された。

現在、液体ミルクは、乳児のための飲料物としてだけでなく、栄養価の高さから、成人の栄養補給ための飲料としても注目されている。さらに、飲料物の飲み残しの問題は、介護における「吸い飲み」でも起こりうる問題で、成人を対象とした本研究はこの問題解決・対策にも応用が期待できる。

連絡先： 新潟大学大学院保健学研究科検査技術科学分野　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： 涌井杏奈 Anna WAKUI》

2017年2～8月 本研究室 《臨床化学》 にて，卒業研究

2018年3月 日本臨床衛生検査技師会 《会長賞》受賞

2018年4月～ 新潟大学大学院保健学研究科（検査技術科学分野） 大学院生

2018年4月～ （公益財団法人）日本証券奨学財団 《奨学生》に選抜

2018年10～11月 新潟大学派遣留学支援制度（トビタテ！チャレンジ奨学金）にて，米国フォーサイス研究所に短期留学

2019年9月 第59回日本臨床化学会（仙台） 《トラベルアワード》受賞

《経歴： 佐野拓人 Hiroto SANO》

2017年2月～2018年3月　本研究室 《臨床化学》 にて，卒業研究

2018年4月～ 新潟大学大学院保健学研究科（検査技術科学分野） 大学院生

2019年7月 2019年 やずや食と健康研究所 《奨励賞》受賞

2019年9月 第59回日本臨床化学会（仙台） 《トラベルアワード》受賞

《経歴： 佐藤拓一 Takuichi SATO》

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歯学臨床系専攻 修了 《博士（歯学）》，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～2016年3月　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～ 新潟大学大学院保健学研究科・教授

2019年4月～ 新潟大学医学部保健学科・副学科長（国際交流担当）

<メモ>

1. 母乳および新生児の口腔内の細菌叢解析：保管による影響について

佐野拓人，涌井杏奈，河内美帆，佐藤拓一（新潟大学大学院保健学研究科検査技術科学分野）

森山幸枝，西方真弓（新潟大学大学院保健学研究科看護学分野）

鷲尾純平，安彦友希，真柳 弦，高橋信博（東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野）

【目的】産科病棟では、搾乳した母乳を小分けにして保管し、授乳後、残った母乳は再利用せず廃棄するのが一般的となっている。そこで今回、この一般的事項の科学的根拠・知見を得るために、搾乳した母乳を4℃で保管した場合、ならびに哺乳瓶によって新生児に授乳後、さらに4℃に保管した場合について解析し、口腔からの流入の程度・母乳への影響について，細菌学的に考察した。

【方法】大学病院で出産1週間以内の、健康な母子12組を被験者とし、インフォームドコンセントを得た後、母乳を滅菌容器に搾乳してもらった。１）搾乳直後（n=12）、２）4℃で12時間、保管した場合（n=4）、さらに、滅菌した哺乳瓶を使用して新生児に、３）授乳した直後（n=12）、および、４）それを4℃で12時間、保管した場合（n=4）、の各例について、母乳1.0 mLを採取し、試料とした。また、新生児の口腔粘膜を滅菌綿棒で擦過し、緩衝液1.0 mL中に懸濁したものも試料とした（n=12）。各試料をボルテックスで分散・均一化後、連続10倍希釈し、CDC血液寒天培地に接種し、37℃で嫌気的に、1週間、培養した。得られたコロニーを基に、細菌量を求め、16S rRNA sequence解析によって同定し，細菌構成リストを作成した。

【結果】搾乳直後および4℃で12時間保管後で、それぞれ、（1.2 ± 1.6）×105および（9.6 ± 9.6）×104 CFU/mLの細菌が得られた。434株および165株を解析し、その主な構成は、搾乳直後で、*Staphylococcus*（208株，47.9%），*Streptococcus*（86株，19.8%），*Cutibacterium*（80株，18.4%），*Corynebacterium*（15株，3.5%）であり、12時間保管後で、*Staphylococcus*（84株，50.9%），*Cutibacterium*（49株，29.7%），*Gemella*（13株，7.9%），*Streptococcus*（11株，6.7%）であった。一方、新生児に授乳した直後および授乳後12時間保管後では、それぞれ、（2.5 ± 1.7）×105および（1.6 ± 2.2）×105 CFU/mLの細菌が得られた。467株および171株を解析し、その主な構成は、授乳直後で、*Streptococcus*（169株，36.2%），*Staphylococcus*（173株，37.0%），*Cutibacterium*（50株，10.7%），*Gemella*（14株，3.0%）であり、授乳後12時間保管後で、*Streptococcus*（69株，40.4%），*Staphylococcus*（55株，32.2%），*Cutibacterium*（40株，23.4%）であった。また、新生児の口腔からは、平均（2.8 ± 2.1）×107 CFU/mLの細菌が得られ、解析した430株の主な構成は*Streptococcus*（259株，60.2%），*Staphylococcus*（77株，17.9%），*Neisseria*（44株，10.2%），*Gemella*（16株，3.7%），*Rothia*（13株，3.0%），*Cutibacterium*（8株，1.9%）であった。

【考察】本研究の結果から、母乳中には元来、一定レベルの細菌が生息していること、さらにそれを4℃で保管した場合でも、細菌の量および構成の点で大きな変化はないことが窺えた。また、哺乳瓶を用いて新生児に授乳した後に残った母乳の解析では、口腔内から逆流し、少なからず細菌叢構成が変化していること、そして4℃で保管した場合でもそれが維持されることも判明した。

連絡先： 新潟大学大学院保健学研究科検査技術科学分野　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： 佐野拓人 Hiroto SANO》

2017年2月～2018年3月　本研究室 《臨床化学》 にて，卒業研究

2018年4月～ 新潟大学大学院保健学研究科（検査技術科学分野） 大学院生

2019年7月 2019年 やずや食と健康研究所 《奨励賞》受賞

2019年9月 第59回日本臨床化学会（仙台） 《トラベルアワード》受賞

《経歴： 涌井杏奈 Anna WAKUI》

2017年2～8月 本研究室 《臨床化学》 にて，卒業研究

2018年4月～ 新潟大学大学院保健学研究科（検査技術科学分野） 大学院生

2019年9月 第59回日本臨床化学会（仙台） 《トラベルアワード》受賞

《経歴： 佐藤拓一 Takuichi SATO》

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歯学臨床系専攻 修了 《博士（歯学）》，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～2016年3月　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～ 新潟大学大学院保健学研究科・教授

2019年4月～ 新潟大学医学部保健学科・副学科長（国際交流担当）

＜メモ＞

③ Green tea-derived epigallocatechin gallate reduced the acid production and promoted the aggregation of *Streptococcus mutans*

Sili Han1,2, Yuki Abiko1, Jumpei Washio1, Yufang Luo1,3, Linglin Zhang2, Nobuhiro Takahashi1

1 Division of Oral Ecology and Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry, Sendai, Japan

2 Department of Cariology and Endodontics, Sichuan University West China School of Stomatology, Chengdu, China

3 Department of Cariology and Endodontics, Fujian Medical University School of Stomatology, Fuzhou, China

Introduction

The prevention of dental caries by the antimicrobial property of green tea-derived epigallocatechin gallate (EGCG) has been considered. However, the detailed antimicrobial mechanism of EGCG is still controversial. Thus, we intended to investigate the underlying mechanism through examining the bactericidal activity of EGCG on *Streptococcus mutans* and its effect on acid production and aggregation of *S. mutans*.

Materials and Methods

*S. mutans* NCTC10449 was used in this study. To test the bactericidal activity of EGCG, bacterial colonies were counted after the exposure of bacteria to different concentrations of EGCG. The pH-stat system was used to evaluate bacterial acid production from glucose under anaerobic conditions in the presence and absence of EGCG. The aggregation of planktonic bacteria caused by EGCG was evaluated by optical density at 660 nm. To test the influence of saliva, stimulated saliva was collected from five volunteers and applied to the above experiments.

Results

2 mg/ml EGCG showed no bactericidal activity on *S. mutans* after 5 hours co-incubation, while 1 mg/ml EGCG decreased acid production by *S. mutans* both at pH 7.0 and pH 5.5. 2 mg/ml EGCG caused bacterial cell aggregation and reduced the optical density of cell suspension by 80%. In the presence of saliva, as in the absence of saliva, EGCG repressed the pH fall and caused bacterial aggregation in the bacterial suspension.

Discussion and Conclusion

EGCG can inhibit the acid production and promote the aggregation of *S. mutans*, suggesting its potential to reduce both bacteria-induced demineralization of and bacterial adhesion to the tooth surface and the subsequent formation of cariogenic biofilm. Moreover, stimulated saliva did not influence these properties of EGCG. These results indicate that green tea-derived EGCG has the potential to be used in the oral cavity for preventing dental caries.

《Sili Han》

2018-now, Doctoral course (Double Degree Program), Division of Oral Ecology and Biochemistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry, Sendai, Japan

2017-now, Doctoral course, Department of Cariology and Endodontics, Sichuan University West China School of Stomatology, Chengdu, China

2014-2017, Master course, Department of Cariology and Endodontics, Sichuan University West China School of Stomatology, Chengdu, China

2009-2014, Undergraduate course, College of Stomatology, Zhengzhou University, Zhengzhou, China

＜メモ＞

④ 口腔バイオフィルム中の硝酸還元活性および硝酸還元細菌の網羅的検索 ―成人および小児間の比較―

○佐藤優理亜（鈴木）1,2、鷲尾純平1、佐藤拓一3、Dimas Prasetianto Wicaksono1,4,　福本敏2,5、髙橋信博1

1. 東北大学 大学院歯学研究科 口腔生化学分野

2. 東北大学 大学院歯学研究科 小児歯科学分野

1. 新潟大学 医学部保健学科
2. Department of Pediatric Dentistry, Airlangga University, Surabaya, Indonesia
3. 九州大学 大学院歯学研究院 小児口腔医学分野

【目的】硝酸塩は食事由来の緑黄色野菜等に多く含まれ、体内に取り込まれた後、体内酸化窒素循環により唾液成分として口腔内に還流することから、我々の口腔内に常に存在する。一方、口腔内細菌が硝酸を亜硝酸に還元することが知られている。亜硝酸は、齲蝕や歯周病関連細菌の代謝や増殖を抑制することが示されており、さらには全身の血液循環の改善を通し循環器疾患を抑制する作用についても注目されている。そこで本研究は、成人及び小児の口腔バイオフィルムを対象とし、その硝酸還元活性を測定し、さらにそこに含まれる硝酸還元細菌を網羅的に分離・同定した。

【方法】インフォームドコンセントを得られた成人ボランティア（20-40歳程度）及び東北大学病院小児歯科受診者（5-12歳）から、試料（歯面上プラークと舌苔）を採取し、Griess試薬を用いた通法にて硝酸還元活性を測定した。また、試料を血液寒天培地に播種し、好気・嫌気下培養後、新規開発したGriess試薬含有寒天重層法を用いて、硝酸還元能を持つ細菌コロニーを網羅的に検出し、分子生物学的手法にて菌種を同定した。

【結果・考察】硝酸還元活性は個人差が大きかったが、舌苔と比べ歯垢の単位湿重量あたりの硝酸還元活性が有意に高かった。硝酸還元活性と硝酸還元菌数との相関については、歯垢においては成人・小児共に嫌気・好気での有意な正の相関が確認され、舌苔においては、小児の好気における硝酸還元菌数で有意な正の相関が確認された。硝酸還元菌は、成人・小児共に、歯垢中では*Actinomyces*属、*Neisseria*属、*Veillonella*属が多く、舌苔でも同様の菌属が多い傾向が見られたが、小児の舌苔ではこれらに加え*Rothia*属も多く検出された。

以上の結果より、バイオフィルム単位湿重量あたりのNO2-産生には、歯垢の寄与が高いことが示された。また、単位湿重量あたりの硝酸還元活性と硝酸還元菌数に正の相関が認められたことから、口腔内の硝酸還元活性は、菌種の違いよりも、硝酸還元菌数によって規定されているものと考えられる。口腔バイオフィルムによる硝酸還元活性は個人差が大きいものの、そこに生息する硝酸還元細菌は菌属レベルで類似していた。本研究で確立した手法や、獲得した新知見は、今後、口腔バイオフィルムの硝酸還元活性と口腔や全身の健康状態との関連性についての研究を行うにあたり、新たな視点や基盤技術として貢献しうることが期待される。

【略歴】

2015.3 　　　　 東北大学歯学部　卒業

2015.4 - 2016.3 　 東北大学病院　研修医

2016.4 ‐ 現在　 東北大学大学院歯学研究科博士課程　（専攻：小児歯科学）

＜メモ＞

⑤ リアルタイム細胞アナライザーを用いたバイオフィルム形成評価について

今井　奨、＊岡田彩子、花田信弘（鶴見大学歯学部探索歯学講座、＊保存修復学講座）

目的：スクロース存在下でミュータンスレンサ球菌のバイオフィルム形成能を評価する方法には幾つかあるが、本研究は動物の付着細胞用に開発されたリアルタイム細胞アナライザー（xCELLigence）によるバイオフィルム形成評価の可能性の検証を目的とする。

方法：使用菌株はStreptococcus mutans ATCC 25175株、Streptococcus sobrinus ATCC 33478株、Streptococcus sobrinus 6715株、使用培地はTryptic Soy broth(TS)、TS without dextroseにスクロースまたはグルコースを加え、それぞれTSSまたはTSGとした。xCELLigenceはACEA Bioscience社製を、プレートは同社のE-Plate 16を使用した。バイオフィルム形成曲線の解析にはRTCA Software 2.0を用いた。

結果：バイオフィルム形成系のスクロース濃度、ミュータンスレンサ球菌濃度を変化させて調べた結果、S. sobrinus最終濁度OD540nm=0.01、TSS最終濃度2.5%の場合、反応7時間からバイオフィルム形成系のシグナルが立ち上がり、18時間で定常状態となった。1.0%TSSの場合は立ち上がり、定常状態とも2.5%TSSと同様であったが付着量を示すCell Indexは約34%と低かった。1%TSG、TSの場合はバイオフィルム形成曲線の立ち上がりは認められなかった。S. sobrinus最終濁度を0.02、0.05と増やすと逆にCell Indexが低下した。S. mutansの場合、S. sobrinusと同様の傾向を示したが全体的にCell Indexは低かった。グルコシルトランスフェラーゼ阻害剤を添加すると濃度依存的にバイオフィルム形成を抑制した。

結論：ミュータンスレンサ球菌のバイオフィルム形成評価にリアルタイム細胞アナライザーは有効であることが示唆された。

＜略歴：今井　奬＞

1971年3月　東京教育大学大学院修了

1971年7月　国立予防衛生研究所歯科衛生部研究員

1981年5月　米ノースウェスタン大学医歯学部研究員（〜1982年7月）

1998年4月 国立感染症研究所 口腔科学部 主任研究官

2007年3月　国立保健医療科学院口腔保健部室長・定年退官

2008年7月　鶴見大学歯学部探索歯学講座講師

2011年8月　口腔保健用機能性食品研究会理事長

2014年3月　鶴見大学歯学部探索歯学講座学内教授・定年退職

2014年4月　鶴見大学歯学部探索歯学寄附講座教授

2016年7月　鶴見大学歯学部探索歯学講座非常勤講師（〜現在）

＜メモ＞

以上