

第 14 回  
口腔保健用機能性食品研究会

タイムスケジュール  
&  
講演要旨

日時: 令和 6 年 12 月 14 日(土) 14:00~16:30

会場: 大阪歯科大学天満橋学舎

西館 7 階 共用会議室

大会長: 大阪歯科大学口腔インプラント学講座 教授 馬場俊輔 先生

## タイムスケジュール

- 14:00～ 開会 〈大会長 馬場駿輔先生〉
- 14:05～14:50 特別講演 〈座長：馬場駿輔 先生〉
- 「食品成分を活用した口腔細菌バランス改善」  
南部 隆之 先生  
(大阪歯科大学 歯学部 微生物学講座 講師)
- (休憩)
- 15:10～16:10 一般演題 〈座長：永田 英樹 先生〉
1. 「口腔マイクロバイオーームによるアセトアルデヒド産生・分解およびその関連細菌の探索」  
佐藤 知佳 先生  
(東北大学大学院歯学研究科 口腔生化学分野)
  2. 「各種メーカーの濃い茶ペットボトル飲料内の微生物プロファイリング」  
今井 真奈美 先生  
(新潟大学 大学院保健学研究科 臨床化学研究室)
  3. 「口腔微生物に対するミツバチ製品の抗菌効果」  
真下 千穂 先生  
(大阪歯科大学 歯学部 微生物学講座)
- 16:15 (一般講演終了後)～ 研究会からのご連絡 〈理事長 高橋信博先生〉
- 16:25 閉会 〈理事長 高橋信博先生〉

※なお本年は、都合により総会はありません。次年度以降に、まとめて報告予定です。ご了承ください。

# 抄録

## 【特別講演】

### 食品成分を活用した口腔細菌バランス改善 南部 隆之

大阪歯科大学 歯学部 微生物学講座

私たちの口腔内には、数百種類、数千億個の細菌が生息しており、これらの蓄積がさまざまな口腔および全身疾患の引き金となっています。これまで、コッホの原則に基づき、疾患病巣からの細菌の分離培養によって疾患原因菌を特定する取り組みが進められてきました。しかし、いまだに特定の細菌を標的とした疾患治療法の確立には至っていません。近年、細菌叢解析という革新的な解析手法の登場により、口腔微生物研究は大きな転機を迎えています。日本国内でも疾患の「原因細菌叢」を特定するための複数のプロジェクトが進行中です。これらの *in vivo* 解析では、細菌叢を構成するすべての細菌種を包括的に追跡できる一方で、被験者の飲食や生活習慣などによるノイズを完全に排除することは困難です。そこで私たちは、口腔内の細菌叢構成を維持したまま培養可能な細菌叢培養モデルを構築し、*in vitro* 研究として介入による口腔細菌叢の変化を高精度に解析しています。第10回研究会では、「一酸化窒素による口腔細菌叢の変化」というタイトルで、細菌叢バランスの変化について一般講演を行いました。今回は、それ以降の研究成果として、「特定のアミノ酸と光照射」および「鶏卵抗体」を用いた口腔細菌バランス改善の試みについてご紹介します。

#### 《略歴》

- 1998年 広島大学生物生産学部卒業
- 2000年 広島大学大学院生物圏科学研究科博士課程(前期)修了
- 2000年 日本学術振興会特別研究員(DC1)
- 2003年 岡山大学大学院自然科学研究科博士(後期)課程修了 博士(理学)
- 2003年 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部助手
- 2007年 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部助教
- 2008年 大阪歯科大学歯学部助教
- 2010年 大阪歯科大学歯学部講師
- 2023年 大阪歯科大学教育情報センター副所長

## 【一般演題1】

### 口腔マイクロバイオームによるアセトアルデヒド産生・分解およびその関連細菌の探索

○佐藤知佳<sup>1,2</sup>、鷲尾純平<sup>1</sup>、互野亮<sup>1,3</sup>、江副和子<sup>1</sup>、五十嵐薫<sup>2</sup>、高橋信博<sup>1</sup>

- 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 頭蓋顔面先天異常学分野
- 3, 東北大学大学院歯学研究科 分子・再生歯科補綴学分野

#### 【背景】

近年、口腔マイクロバイオーム(OMB)構成細菌がエタノールを代謝する際に産生するアセトアルデヒドが、口腔・咽頭・上部消化管がんのリスク因子となることが注目されている。一方、我々の先行研究において、一部の口腔細菌がエタノール代謝の際、アセトアルデヒドと共に酢酸を産生することが明らかとなり、アセトアルデヒドが口腔細菌によりさらに分解されることが示唆された。そのため、OMBによる発がんリスクを評価するには、アセトアルデヒド産生能だけではなくアセトアルデヒド分解能を合わせて評価する必要があると考えられる。しかし、OMBによるアセトアルデヒド分解能に関する知見はほぼない。そこで、我々は、アセトアルデヒド産生能および分解能を有する細菌のスクリーニング法の確立と、アセトアルデヒド分解能の高い菌種の探索を試みた。

#### 【方法】

被検者10名の歯面からOMBを採取し、その一定量を11 mM エタノールもしくは1 mM アセトアルデヒドを100  $\mu$ L 含むマイクロチューブに入れ、37°Cで30分間静置後、3-メチル-2-ベンゾジアゾロンによるアセトアルデヒド呈色反応を用いて、アセトアルデヒド産生能・分解能を評価した。また、被検者10名の歯面から採取したOMBを血液寒天培地で好気培養し、各細菌コロニーを分離し、それぞれのコロニーについて、同様にアセトアルデヒド産生能・分解能を評価した。さらに、被験者1名の試料を用いて、アセトアルデヒドの高分解能を示した菌の菌種を16S rDNA シーケンス法にて同定した。

#### 【結果・考察】

今回確立した手法を用いて、OMBおよびその構成細菌のアセトアルデヒド産生能・分解能を同時にスクリーニングすることが可能となった。全被験者のOMB試料において、アセトアルデヒド産生能および分解能が確認されたが、各能力やその割合は、個人差が大きかった。また、各分離菌のほぼ全てがアセトアルデヒド産生能および分解能を持ち、その産生能・分解能は多様性が高く、個人差が大きかった。さらに、アセトアルデヒド分解に寄与する細菌種としては、*Neisseria* や *Streptococcus* 属が主に同定された。

本研究によって、OMBのアセトアルデヒド産生能・分解能のスクリーニング法が確立された。本法を用いることで、アセトアルデヒドを介した発がんリスクの評価が可能とな

った。今後は、各細菌の代謝特性を解明し、アセトアルデヒド代謝に起因する発がんリスクを低減させる手法の開発に貢献したい。

《略歴: 佐藤 知佳 **Chika SATO**》

令和2年3月 九州歯科大学卒業

令和2年4月 東北大学病院勤務(研修医)

令和3年4月 東北大学大学院歯学研究科 博士課程入学  
(頭蓋顔面先天異常学分野)

## 【一般演題 2】

### 各種メーカーの濃い茶ペットボトル飲料内の微生物プロファイリング

○今井真奈美, 宮沢美里, 河内美帆, 涌井杏奈, 佐藤遥菜, 加藤優希, 岡部璃佳, 成瀬悠香, 佐藤奈緒, 諸橋もも子, 浅野七海, 佐藤 彩, 阿部峰士, 佐野拓人, 安彦友希\*, 鷲尾純平\*, 高橋信博\*, 佐藤拓一

新潟大学 大学院保健学研究科 臨床化学研究室

\*東北大学 大学院歯学研究科 口腔生化学分野

【目的】ペットボトル飲料を飲み残した際、口腔からの唾液の流入・汚染が懸念される。各種ペットボトル飲料を対象に、唾液由来細菌の生育のスクリーニング実験を実施してきたが、特に緑茶ペットボトル飲料では *Limosilactobacillus* 属などの旧 *Lactobacillus* 属が生育する例が見られた (Kaku N, Imai M *et al* 2024)。本研究ではカテキンが増量された緑茶ペットボトル飲料にスクリーニング対象を拡げ、保存・再飲用の可能性について探求した。

【方法】インフォームドコンセントを得た、19~25 歳の健康な 10 名から唾液を採取し細菌カウンタ (Panasonic 社) で細菌量を求め、市販の緑茶 (3 種) およびカテキン増量の緑茶 (K 茶, H 茶, A 茶, O 茶, I 茶の 5 種) に唾液 ( $10^3$  台の細菌) を混入させた。37°C で 1 日置いた後、試料を採取し、CDC 血液寒天平板に接種し、37°C で 1 週間、嫌気培養し、16S rRNA シークエンス解析により細菌種の同定を行った。

【結果】緑茶 (3 種) では、 $10^4 \sim 10^5$  台の細菌が生育したのに対し、カテキン増量の緑茶 (5 種) では大半が  $10^1 \sim 10^3$  台に生育が抑えられた。但し、唾液から *Limosilactobacillus* が検出された群で細菌量が比較的多い傾向が見られた。その細菌量が多い群 (3 種の濃い茶) の細菌構成は、K 茶 (*Limosilactobacillus* 98.3%), H 茶 (*Limosilactobacillus* 88.2%, *Lactiplantibacillus* 11.8%), I 茶 (*Streptococcus* 59.4%, *Limosilactobacillus* 27.5%, *Lactiplantibacillus* 10.1%, *Actinomyces* 2.9%) であった。

【考察】今回、カテキン増量の緑茶では細菌が増殖しづらく、ペットボトル飲料の保存および再飲用に適している可能性が示唆された。中には、旧 *Lactobacillus* 属である *Limosilactobacillus* を主体として、通常の緑茶と同程度まで増殖する例があった (K 茶で  $n=4$ ) ことから、唾液中に旧 *Lactobacillus* 属を多く含む人では、カテキン増量の緑茶中であっても細菌が増殖する可能性があり、再飲用に注意を払う必要があるのかもしれない。

【参考文献】 Kaku N, Imai M, *et al*: Molecular microbiological profiling of bottled unsweetened tea beverages: a screening experiment. *J Oral Biosci* **66(3)**: 628-632, 2024.

《略歴：今井真奈美 **Manami IMAI**》

2024年3月 新潟大学医学部保健学科 卒業

2024年4月 新潟大学大学院保健学研究科 入学

2020年4月～2024年3月(一財)誠志ツルヤ奨学会・給付型奨学金受領

2024年4月～2026年3月(公財)尚志社・給付型奨学金受領中

《略歴：佐藤拓一 **Takuichi SATO**》

2016年4月～ 新潟大学大学院保健学研究科・教授

2024年4月～ 新潟大学医学部保健学科・副学科長 《国際交流および評価担当》

## 【一般演題 3】

### 口腔微生物に対するミツバチ製品の抗菌効果

○真下千穂、瀧川博樹、南部隆之、円山由郷、沖永敏則

大阪歯科大学 歯学部 微生物学講座

【目的】ミツバチ製品とはミツバチおよびその巣から採れるものの総称である。ミツバチ製品の中でも、はちみつ、プロポリスなどには抗菌活性や抗炎症活性があることは知られており、予てより伝統医学として、呼吸器感染症予防や皮膚疾患の治療などに用いられてきた。近年、これらの効用は、西洋医学に対する補完的医療として注目をおかれている。

現在、口腔においては、う蝕・歯周病などの口腔感染症に対する予防に利用され、口腔内の環境改善への効果が期待されてきている。しかしながら、具体的にどのような成分がどのような微生物に作用するかまでは明らかになっていない。そこで、ミツバチ製品の中でも、特に抗菌活性が高いことが認められている成分を選出し、う蝕および歯周病と関連が深い口腔常在菌への影響を評価した。

【方法】ミツバチ製品由来抗菌物質として、マヌカハニーに含有されているメチルグリオキサール(MGO)およびエタノール抽出プロポリスの成分(EEP)を使用した。EEPはブラジル国バイーア州産グリーンプロポリス EEP を株式会社山田養蜂場本社みつばち研究所より提供を受けた。対象微生物は、*Escherichia coli*、*Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Actinomyces oris*、*Streptococcus mutans*、*Porphyromonas gingivalis*、*Fusobacterium nucleatum* の7種を選んだ。各々の微生物を一晩培養し、菌液をOD<sub>600</sub>=0.1に希釈後、MGO および EEP 50 µg/mlを添加し、24時間の増殖を経時的に観察した。特に抗菌効果が認められた微生物に対して、最小発育阻止濃度(MIC)を算出した。さらに、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析により、歯垢細菌叢に対するMGOの影響、舌苔細菌叢に対するEEPの影響の評価を行った。

【結果】MGO および EEP は *A. oris* と *P. gingivalis* に対して、顕著な抗菌活性を示したので、MICを算出した。MGOの*A. oris* および *P. gingivalis* に対するMICは各々2 mMであった。EEPでは16 µg/ml、8 µg/mlであった。メタゲノム解析の結果、MGO および EEP 共に口腔細菌叢を有意に変動させる結果は得られなかった。

【考察】抗菌薬などを用いた治療などでは種類を問わず多くの細菌を殺してしまうため、個人が保有する常在細菌叢バランスが崩れ、新たな感染症を生む可能性が高い。しかし、ハチミツに含まれる抗菌成分であるMGOやEEPは口腔に添加できる低濃度領域では口腔細菌叢を大きく変化させることはないが、特定の細菌(歯周病原細菌である*P. gingivalis*や初期付着菌である*A. oris*)に対して抗菌活性が認められた結果は注目すべきものである。このことは、抗菌薬や消毒薬とは異なる方法で、口腔細菌叢の良好なバランスを保ちつつ、口腔感染症を予防できる新たな治療法を開発できる可能性があることを示している。

【参考文献】 Takigawa H, Mashimo C, Nambu T, Maruyama H, Okinaga T. Effect of Brazilian propolis from the state of Bahia on oral bacteria. *J Osaka Dent Univ.* **57(1)**: 125-129, 2023.

《略歴：真下千穂 **Chiho MASHIMO**》

1999年7月 京都大学大学院人間・環境学研究科 博士号(人間・環境学)取得

2000年4月 フランス国パスツール研究所・研究員

2005年3月 大阪歯科大学細菌学講座(現・微生物学講座)・講師

《略歴：沖永敏則 **Toshinori OKINAGA**》

2007年3月 九州歯科大学歯学研究科感染分子生物学専攻 修了

2007年4月 米国オクラホマ大学歯学部 Postdoctoral fellow

2015年12月 九州歯科大学感染分子生物学分野講師

2018年6月 大阪歯科大学細菌学講座(現・微生物学講座)・主任教授

以上