

口腔内乳酸菌叢の解析と口腔ケアへの植物乳酸菌の応用

広島大学大学院医歯薬学総合研究科・教授 杉山 政則

■ 目的

う蝕(虫歯)の主な原因菌として、*Streptococcus(S.) mutans* 及び *S. sobrinus* が知られている。これら細菌の産生する不溶性多糖に口腔内細菌が付着してできる「バイオフィーム」が歯面に形成されると、バイオフィーム内の細菌の生成する酸で歯面の pH が局所的に下がり、う蝕ができ易くなる。本研究では、ヒト口腔内に生息する乳酸菌叢を解析すると共に、当研究室保存の植物乳酸菌株及び口腔内から分離された細菌について、バクテリオシン産生性やバイオフィーム形成阻害の調査などを通じ、口腔ケアへの乳酸菌の利用技術開発を目指す。

■ 方法

口腔内細菌は、広島大学病院・小児歯科を受診した患児の歯面及びう蝕病巣から分離した。分離株の同定は、16S rDNA 塩基配列決定後、相同性検索により行った。また、分離株のバクテリオシン産生能は寒天拡散法にて評価した。他方、*S. mutans* MT8148R のバイオフィーム形成に及ぼす乳酸菌の影響を調べるため、所定濃度のスクロースを含む BHI 培地(全量 200 μ L)の入った 96 穴プレートに *S. mutans* および各乳酸菌(各 1×10^4 CFU/mL)を植菌した。好気または嫌気条件下にて静置培養した後、1(w/v)%ゲンチアナバイオレット溶液にて染色し、 A_{590nm} の値からバイオフィーム形成度を評価した。

■ 結果および考察

米粉から単離されたバクテリオシン生産性植物乳酸菌の一株は、*Enterococcus(E.) mundtii* と同定された。また、本株の産生するバクテリオシンは、*S. sobrinus*、*Listeria monocytogenes*、*E. avium* 及び *E. faecium* に対して抗菌活性を示した。一方、50 人の患児の歯面及び 3 人の患児のう蝕病巣から、それぞれ 152 株及び 24 株の乳酸菌を分離し、前者は 110 株、後者は 23 株について同定した。その結果、dmf 歯率(虫歯を経験した歯の数)の高い患児では *Lactobacillus* 属が多く検出され、特に *Lb. fermentum*、*Lb. gasseri*、*Lb. salivarius* が多かった。しかしながら、dmf 歯率の低い患児からは、う蝕罹患率の低い *S. salivarius* や *S. mitis* が検出された。また、う蝕病巣からは、*S. mutans* と *Lb. fermentum* 及び *Lb. casei* が分離された。上記 152 株にバクテリオシン生産性は認められなかった。

他方、*S. mutans* MT8148R のバイオフィーム形成能は、米粉由来植物乳酸菌の一株と共培養した場合に限り、好気・嫌気環境にかかわらず、著しく阻害された。ただし、米粉由来植物乳酸菌の一株と近縁の *E. mundtii* 15-1A の阻害活性はわずかであった。また、米粉由来植物乳酸菌の一株の培養液上清には *S. mutans* に対する抗菌活性は認められなかった。更に、MT8148R 株に対して抗菌活性を示すバクテリオシン生産株 *Lb. brevis* 174A を共培養させた場合には、バイオフィーム形成阻害は認められなかった。今後、米粉由来植物乳酸菌の一株によるバイオフィーム形成阻害作用についての解析を進める。

■ 結語

歯面より分離された乳酸菌群と、う蝕の罹患率との関連性を調査した結果、う蝕率の高い患児からは *Lb. fermentum* が多く検出され、低い患児からは *S. salivarius* が検出された。また、いずれの口腔内分離株も *S. mutans* のバイオフィーム形成を阻害しなかったが、米粉から単離された米粉由来植物乳酸菌の一株は、*S. mutans* と共培養するときに限り、*S. mutans* のバイオフィーム形成を阻害することを発見した。