

発酵食品による齲蝕予防の可能性 - 発酵乳（ヨーグルト） -

相原 英孝
愛知学泉大学

Possibility of the caries prevention with the fermented foods - Fermented milk (Yogurt) -

Hidetaka Aihara

キーワード：齲蝕 caries, 発酵食品 Fermented foods, 発酵乳 Fermented milk

1. はじめに

齲蝕（虫歯）は、口腔内の pH が低下すると細菌叢に含まれるカルシウムとリン酸が不飽和状態になり、歯に含まれるカルシウムとリン酸が溶け出して、脱灰が起こる。しかし、この脱灰は一時的なもので、唾液が歯に接触すると唾液中のカルシウムとリン酸が沈着して、再石灰化を引き起こす。*Streptococcus mutans* に感染すると pH の低下が続き、脱灰が続き齲蝕が起きると考えられている^{1,2)}。

そこで、歯磨きにより *Streptococcus mutans* を取り除き、再石灰化を速やかに行うことで齲蝕を防止する方法がとられている。しかし、*Streptococcus mutans* は不溶性グルカン所謂歯垢を形成して、歯の表面に常在している。そこで、この *Streptococcus mutans* を根本的に取り除くことが齲蝕防止に関して有効な手段と考えられる。

日本では、厚生労働省によると歯科保健対策により小児期において、乳歯の齲蝕は明らかに減少かつ軽症化の傾向を示し、永久歯の一人平均齲蝕歯数も、20 歳頃まで減少傾向が認められるなど着実に成果が上がってきている。しかし、現在でも 13 歳で齲蝕有病者率が 90%を越えていることも事実である³⁾。

今までの日本における齲蝕予防は、糖分の摂取を控え、歯磨きなど消極的なものであった。しかし、*Streptococcus mutans* の増殖を抑える積極的な方

法が、2012 年に九州大学大学院農学研究院と鹿児島大学大学院歯学総合研究科、国立長寿医療研究センター口腔疾患研究部とバイオベンチャーとの共同研究により日本で開発され、2012 年 12 月 19 日九州大学記者クラブにて発表されたネオナisinを含むオーラルピース⁴⁾であるが、まだ、普及していない。これは、乳酸菌が産生する抗菌性物質のバクテリオシンのネオナisinを利用したものである。

バクテリオシンは、乳酸菌が産生する抗菌性ペプチドである⁵⁾。これは、生産菌の類縁種に対して抗菌性を示し、一般的に無味無臭、低 pH で安定、121℃、10 分以上の耐熱性を有し、微量（nM 濃度）で抗菌性を示す。さらに、ペプチドのため、腸管内で消化酵素により分解され、耐性菌の出現は起こり難く、安全性の高い抗菌物質として注目されている。

バクテリオシンのナisin A は、1928 年に発見され、広く世界中で食品保存料として使用されている⁵⁾。日本では、2009 年 3 月 2 日食品保存料として認可された⁶⁾。

発酵食品のバクテリオシンについて、多くの報告がある。恩田によると、乳・肉製品を主とした食品から多くのバクテリオシン産生乳酸菌が発見され、また、日本の代表的な発酵食品で有る味噌からもバクテリオシン産生乳酸菌が見つけられている。その応用についても報告がある^{7,8,9)}。

また、フナ寿司などの長い期間保存する発酵食品

の保存性にバクテリオシンが関与している可能性も示唆されている¹⁰⁾。

このように、発酵食品に含まれているバクテリオシンは、様々な形で食品の保存性向上に役立ち、その応用についても検討されている。

乳酸菌が産生するバクテリオシンは、近縁の乳酸菌に対して抗菌性を示すことがその特徴であることから、齧蝕の原因細菌に対しても抗菌性を示す可能性が高い。*Streptococcus mutans*の産生するバクテリオシン（ミュータシン）が齧蝕を防ぐ可能性も報告されている¹¹⁾。

そこで、齧蝕の発現に関与している *Streptococcus mutans* に対する抗菌性を示すバクテリオシンを含む発酵食品を検索する。

2. 材料と方法

Streptococcus mutans に対する抗菌性を示すバクテリオシンを含む発酵食品の検索

発酵食品としては、市販されている発酵乳（ヨーグルト）、乳酸菌飲料を用いる。

齧蝕菌として使用した *Streptococcus mutans* の TypStrain である JCM5075 (ATCC 25175) は、理化学研究所 バイオリソースセンター 微生物材料開発室 (JCM) より入手した。培養は、ペプトン15g、ダイズペプトン5g、塩化ナトリウム5gを1ℓの蒸留水に溶解し、pH7.2に調製し、121℃、15分の条件で高圧蒸気滅菌して使用した。必要に応じて、15gの寒天を加えて、寒天培地として使用する。

前培養した *Streptococcus mutans* を 10ml に対して、一白金耳接種しさらに、表1に示したそれぞれの試料を 10000rpm×20min の遠心分離により上澄みを取り、ADVANTEC DISMIC-25CS PORESIZE0.45 μm で除菌を行い、2ml 加えた。37℃で 24 時間培養後、培地の濁りによって増殖を判定した。

今回は、除菌などの操作を考慮し、液状の飲むヨーグルトを主に試料として用いた。

3. 結果と考察

培地にそれぞれの試料を加えた後の pH を表2に示した。

図1に示したように、除菌試料が *Streptococcus mutans* の増殖を抑制した場合、菌数の増加による濁りが全く認められなかった。一般的に、細菌増殖を判定する簡易的な方法として、OD at 660nm での吸光度（濁度）によって判定される。今回の試料において、十分に攪拌しても全く濁りがなく増殖が認められなかったと判断した。増殖が認められなかった試料は、タカナシ乳業の信州八ヶ岳高原のドリンクヨーグルトと明治乳業の明治ブルガリアのむヨーグルトプレーンの2つの試料であった。

試料の pH は、発酵乳が多く、4付近がほとんどを占めるが、ビフィズス菌が使用されている Yakult ミルミルは、pH 5.04 と若干 pH が高く、乳酸菌で無

表1 試料

発酵乳
1. 信州八ヶ岳高原のドリンクヨーグルト
2. ヤスダヨーグルト
3. カスピ海ヨーグルト
4. 森永ビフィダス
5. 明治ブルガリアのむヨーグルトプレーン
6. Yakult ミルミル
乳製品乳酸菌飲料
7. ダノンビオフィバーイン
乳酸菌飲料
8. KAGOME ラブレ Light

表2 試料 pH、培地 pH

	試料 pH	除菌試料添加後の培地 pH
1	4.02	<u>5.20</u>
2	4.02	5.40
3	4.13	5.60
4	4.30	5.45
5	4.28	5.57
6	4.05	<u>5.28</u>
7	5.04	除菌不可
8	3.55	5.44

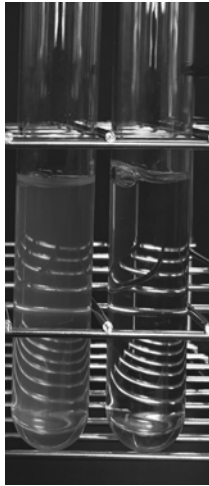


図1 増殖抑制の判定

いビフィズス菌を使用している事が関係していると考えられる。

Streptococcus mutans の増殖に対する抑制効果が認められたタカナシ乳業の信州八ヶ岳高原のドリンクヨーグルトと明治乳業の明治ブルガリアのむヨーグルトプレーンの2つの試料の除菌試料添加後の培地 pH が、それぞれ、5.20, 5.28 と低い値を示した。

一般的に微生物は、酸性領域で増殖が抑えられることが知られているが、乳酸菌は酸性領域でも増殖できる性質を持っている。本実験で得られた全く増殖が見られない現象は、pH の低下によるものとは、考え難い。

発酵乳は、乳酸菌の乳酸発酵により産生された乳酸により pH が低下し、乳中のカゼインの等電点 (pH 4.6) に近づくことにより、独特な食感を示す。

発酵乳と言えば、ヨーグルトが連想される。乳製品に関する国際規格 (FAO/WHO) によると、ヨーグルトは、「*Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* の作用により、規定された乳および乳製品を乳酸発酵して得た凝固製品をいい、任意添加物の添加は、随意である。最終製品中には、これらの微生物が多量に存在していなければならない。」と規定されている。

しかし、日本では、ヨーグルトという名称は一般名であって、法規的な種類別名称は発酵乳である。乳および乳製品等に関する省令 (乳等省令) では、発酵乳は「乳またはこれと同等以上の無脂乳固形分を含む乳類を乳酸菌または酵母で発酵させ、糊状または液状にしたもの、またはこれらを凍結したもの」と定義し、その成分規格は、「無脂乳固形分8%以上、

乳酸菌数または、酵母数 1ml あたり 1,000 万以上、大腸菌陰性」と規定している¹⁴⁾。

このように、日本では、ヨーグルト (発酵乳) に使用される菌に関して規定は存在しない。本実験で使用した市販の発酵乳、乳製品乳酸菌飲料、乳酸菌飲料に使用されている乳酸菌について、それぞれの HP で確認したが、明治ブルガリアのむヨーグルトプレーン以外では、詳しい菌株までは、確認できなかった。*Streptococcus mutans* に対する増殖抑制効果が認められた信州八ヶ岳高原のドリンクヨーグルトは、タカナシ乳業が発酵乳に使用している *Lactobacillus rhamnosus* GG 以外の乳酸菌が使用されている。

Streptococcus mutans に対する増殖抑制効果が認められた明治ブルガリアのむヨーグルトプレーンは、名称にもあるようにヨーグルトの発祥の地であるブルガリア地方のヨーグルトに利用されている乳酸菌由来の *Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* が使用されている。ヨーグルトに使用される *Lactobacillus bulgaricus* は、バクテリオシン感受性乳酸菌として利用され、バクテリオシン産生についての報告はほとんど無い。それに対して、*Streptococcus thermophilus* は、2株の *Bifidobacterium* に対してバクテリオシンを産生して増殖を阻害する報告がある。

本研究において、市販のヨーグルト (発酵乳) の *Streptococcus mutans* の増殖に対して抑制効果が認められた。更に多くの発酵乳に関して *Streptococcus mutans* に対して抑制効果を検討し、その効果がバクテリオシンによるものかの確認が必要である。普段の食生活で *Streptococcus mutans* により引き起こされる齲蝕を防止する可能性が示唆される。愛知県を中心に利用されている豆味噌も乳酸菌がその製造に重大な役割を演じている。現在、齲蝕の防止は、歯磨きを代表する消極的な方法がとられているが、これからは、歯の健康も食生活により *Streptococcus mutans* の増殖を抑える積極的なものへと代わっていくのではないだろうか。そのためにも、多くの発酵食品や発酵に関わる乳酸菌から、*Streptococcus mutans* の増殖抑制作用について、スクリーニングし、活用出来るバクテリオシン生産乳酸菌を見つけ出すことが重要である。

引用文献

- 1) Hamada, S., and Slade, H. D.: Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*, Microbiol. Rev., 44, 331-384, 1980.
- 2) 鴨井久一（ほか）：『歯科医師・歯科衛生士のための唾液検査ハンドブック』, 高津征男, 118-119 (2008)
- 3) 厚生労働省：
http://www1.mhlw.go.jp/topics/kenko21_11/b6.html
- 4) オーラルピース：<http://oralpeace.com/oralpeace>
- 5) 益田時光（ほか）：ナisin-類希な抗菌物質-ミルクサイエンス, 59, 59-65, (2010)
- 6) 厚生労働省：
<http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/0/8aa11687a2aaf0c4492570650018d5ba?OpenDocument>
- 7) 恩田匠：味噌醸造に存在するバクテリオシン産生乳酸球菌, 日本醸造協会誌, 96, 174-181, (2001)
- 8) 加藤 丈雄：抗菌性乳酸菌スターターカルチャーを利用した味噌醸造
日本食品科学工学会誌, 47, 752-759, (2000)
- 9) 森地敏樹：食品保蔵における乳酸菌の利用, 日本食品科学工学会誌, 49, 207-219, (2002)
- 10) 堀越昌子：近江のなれずし, 日本食品微生物学会雑誌, 28, 9-15, (2011)
- 11) 安福美昭：齲蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* の産生するバクテリオシン(ミューシン)の齲蝕抑制作用に関する研究
2 ミュータシンの抗菌作用を妨げる因子について, 小児歯科学雑誌, 25, 395-403, (1987)
- 12) 井上和春（ほか）：微生物利用技術に関する研究（1）－パン種の乳酸菌と酵母の利用－, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, 4,
- 13) 進賀知加子（ほか）：妊婦における齲蝕原性細菌数と喫煙および食事に関する実態調査, 小児歯科学雑誌, 45, 584-592, (2007)
- 14) 細野明義編：『発酵乳の科学-乳酸菌の機能と保健効果-』森田富子, 58, (2002)
- 15) Shah, Nagendra, Ly Linh: *Streptococcus thermophilus* によって産生される *Bifidobacterium spp.* に対するバクテリオシン Bioscience and Microflora, 1342-1441 Vol.18, 1999