

**研究者：西俣はるか**（所属：長崎大学大学院 医療科学専攻 小児歯科学分野）

**研究題目：授乳期における *Bifidobacterium* の存在と哺乳齲蝕との関連性**

#### 目 的：

小児歯科において、低年齢児は協力状態が悪いことが多いため、齲蝕治療が必要とならないよう、齲蝕予防を行うことが重要である。そのためには齲蝕の原因を明確にしておく必要があるが、哺乳齲蝕についてはその原因が不明で予防法が確立されていない。

哺乳齲蝕とは、母乳を長期間摂取している乳幼児の上顎乳前歯に発症する重症齲蝕のことであり、一般齲蝕の原因菌である Mutans streptococci (MS) が口腔内に定着する2~3歳より前に発症する。そのため、哺乳齲蝕はMS以外が原因で発症する可能性が指摘されている。この発症のメカニズムとして考えられるのが、MSが代表するバイオフィルム型脱灰によるものではなく、酸蝕症を由来とするものである。母乳中の乳糖から酸を産生能する菌としては、*Lactobacillus* や *Bifidobacterium* が口腔内に存在することが発表されている。我々は、このうち後者に着目し、哺乳齲蝕との関連性の有無を明らかにすることを最終目的としている。具体的には、まず当院小児歯科室の母親教室を受診した8ヶ月の乳児の唾液を採取し、唾液から口腔内細菌の分離を試みる。その後、MSや*Bifidobacterium* が授乳期である被験児の口腔内にどの程度存在するのか細菌学的に定量を行い、被験児のDMFTとの関係性の考察を経年的に行う。

今回は、その研究の第一段階として、8か月児の口腔内細菌叢の解析と口腔内診査、および生活環境について調査し、プロフィール作製を行った。

#### 対象および方法：

対象は2012年5月~2013年1月の間に当院小児歯科の母親教室を受診した8か月児、28名（男児11名、女児17名）。

唾液サンプルは、Salimetric社製 Salimetrics Children Swab を口腔内に60~90秒留置し唾液を浸透させた後、同社製の Swab Strong Tube にセットし、遠心（3500rpm, 15分）にて回収した。回収後、サンプルは生理食塩水にて1000倍、10000倍、100000倍に希釈し実験に使用した。

MS培養には、バシトラシン、Chapman Tellurite Solution およびスクロースを添加した Mitis-salivarius 寒天培地（MSB寒天培地；Difco）を、*Bifidobacterium* 培養には、TOSプロピオン酸寒天培地（ヤクルト薬品工業）を用いた。

唾液採取時には、全被験児の保護者に生活環境や哺乳瓶の使用状況について聞き取り調査を行い、実験結果との関連性について検討を行った。

なお、今回の実験を行うにあたって、長崎大学倫理委員会の承認および保護者の同意を得た。各対象菌の培養については以下の通り。

## 1. MS の培養

希釈したサンプルを各々 MSB 寒天培地に播種し、37°Cで3日間ガスパック（アネロパック・ケンキ<sup>®</sup>；三菱ガス化学）による嫌気培養を行った後、平板上に認められたコロニー数を算定し唾液 1ml 中の菌数判定を行った。

## 2. *Bifidobacterium* の培養

希釈したサンプルを各々 TOS プロピオン酸寒天培地上に播種し、37°Cで3~5日間ガスパック（アネロパック・ケンキ<sup>®</sup>；三菱ガス化学）による嫌気培養を行った後、平板上に認められたコロニー数を算定し唾液 1ml 中の菌数判定を行った。

### 結果および考察：

今回対象とした8か月児には乳歯の未萌出の被験児も萌出後の被験児のいずれも存在したが、咬合面を有する歯種が萌出している被験児はおらず、齲蝕所見を認めた被験児もいなかった。また、全被験児から MS は検出されなかった。

*Bifidobacterium* の検出量は乳歯未萌出の被験児では、9名中未検出3名、最大値  $3.8 \times 10^6$ CFU/ml、中央値  $8 \times 10^4$ CFU/ml、乳歯萌出後の被験児では、19名中未検出3名、最大値  $3.6 \times 10^6$ CFU/ml、中央値  $1.5 \times 10^5$ CFU/ml であった。乳歯未萌出と乳歯萌出後の被験児の菌数測定結果の分布を以下に示す（Fig.1）。

また、乳歯の萌出歯数に関わらず、現在の哺乳瓶使用の有無のみで *Bifidobacterium* の検出量を比較したところ、哺乳瓶を使用していない被験児では、6名中未検出4名、最大値  $1.5 \times 10^5$ CFU/ml、哺乳瓶を使用中の被験児では22名中未検出2名、最大値  $3.8 \times 10^6$ CFU/ml、中央値  $2.5 \times 10^5$ CFU/ml であった。現在の哺乳瓶使用の有無における被験児の菌数測定結果の分布を以下に示す（Fig.2）。

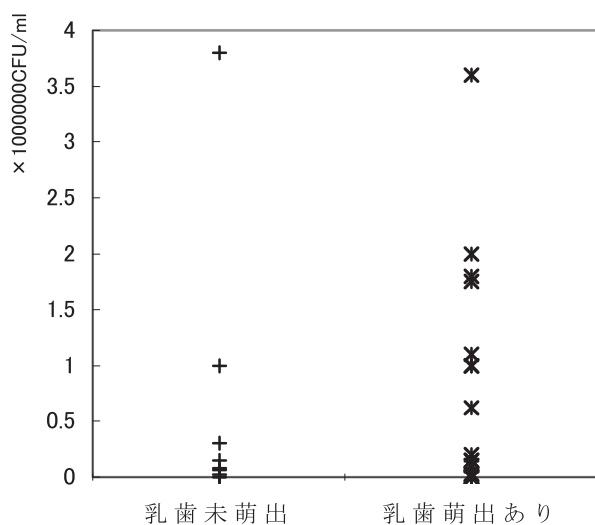


Fig. 1  
乳歯萌出の有無と *Bifidobacterium* 菌数の比較

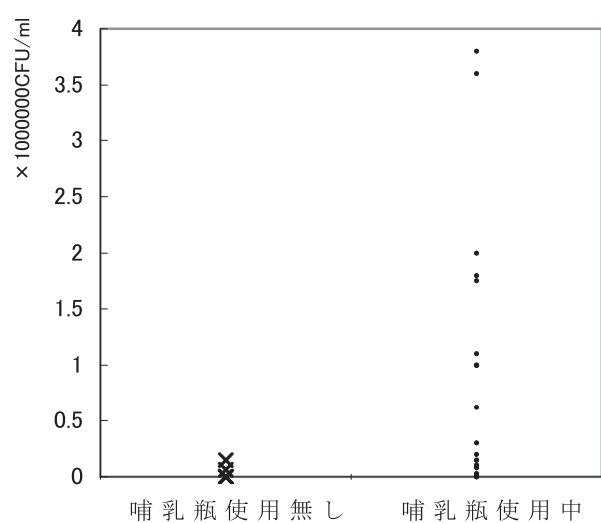


Fig. 2  
現在の哺乳瓶使用状況と *Bifidobacterium* 菌数の比較

通常、齲蝕の原因菌である MS は、口腔内に咬合面を有する菌種の萌出後である 26 か月ごろ定着するとされているが、5~12 か月の幼児の口腔内から検出されたという報告もある<sup>1,2)</sup>。今回の実験において対象とした 8 か月児には、MS が定着するとされる咬合面を有する菌種が萌出している被験児はおらず、実際、全口腔内から MS は検出されなかった。一方で、哺乳齲蝕の所見を認めた被験児もいなかったため、*Bifidobacterium* と哺乳齲蝕の関連についての検討は出来なかった。ただし、今回診査をした歯が萌出後まもないため、あまり菌に暴露されていないことを考慮し、経年的な DMFT や口腔内細菌叢の変化について調査を行っていく必要があると考える。今後も被験児は当科で定期健診を行うため、生活環境や *Bifidobacterium* の菌数変化などについてさらなる検討を行い、哺乳齲蝕の予防法を考える上での一助としたい。

**参考：**

- 1) Fujiwara T, *et al.* Caries prevalence and salivary mutans streptococci in 0-2-years-old children of Japan. *Community Dent Oral Epidemiol*, 19 : 151-154, 1991
- 2) Okada M, *et al.* Late Established Mutans Streptococci in Children over 3 Years Old., *Int J Dent*, 2010

**成果発表：** (予定を含めて口頭発表, 学術雑誌など)

当科母親教室を受診した 8 か月児の口腔内細菌叢：第 51 回日本小児歯科学会, 岐阜, 2013. 5. 23-24