

齲蝕関連遺伝子の母子伝播について
-齲蝕発症要因と *gtf* との関係-

吾妻 昭夫

大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学
(主指導教員：宮沢 裕夫 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

The spread of mothers and children for dental caries related genes
-Relationship with dental caries detection and glucosyltransferase-

AKIO AZUMA

*Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University
(Chief Academic Advisor : Professor Hiroo Miyazawa)*

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

緒 言

齲蝕は個々の口腔内環境、遺伝的要因、食生活要因など相互に影響を受ける多因子性疾患であり、その発症、進行原因を明確に突き止めることは困難であり、予防法は多種多様である。

Keys は齲蝕の成因を宿主、細菌、口腔環境の 3 因子に簡素化し齲蝕の発症には感受性を有する条件にある菌が存在すること、齲蝕原生菌が歯面に定着していること、齲蝕誘発性食品の存在により口腔細菌を定着させるプラークがあること的主要因が十分に充たされたときに発症するとしている^{1,2)}。従って予防上の指標も相互に作用する 3 つの要因の改善を目標に多くの報告がなされてい

る。

従来から口腔内細菌と齲蝕との関係は「齲蝕の有無」, 「原因菌数」, 「原因菌の種類」との相関³⁾ および「母から子への伝播に関する疫学研究」などの分析が行なわれ、ミュータンスレンサ球菌が齲蝕の主要な原因菌として密接な関連⁴⁻⁷⁾が明らかとなり、分子生物学的により詳細な分析が行われている。また、母子伝播（感染）についてもミュータンスレンサ球菌が乳歯萌出前に検出されており、血清型、バクテリオシンパターン、DNA パターンが母親と一致することが過去により示され、子どもの口腔から検出されるミュータンスレンサ球菌は主に母親の唾液を介して伝播し、定着したものと考えられ、生後間もない時期から母子

伝播を生じることが示されてきている³⁾。

ミュータンスレンサ球菌は7菌種に分類されているが、口腔疾患に関わる *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* の4菌種が主に基礎研究や疫学的調査の対象となっている^{6,8)}。4菌種の内、*Streptococcus mutans* (以下 *S. mutans*) と *Streptococcus sobrinus* (以下 *S. sobrinus*) はヒトの口腔内に棲息し齲蝕発症に関係する^{6,9,10)}。しかし、口腔への両菌の定着状況・時期は依然不明な点が多く、ミュータンスレンサ球菌を分子生物学的に分析する必要性が求められている。特にプラークサンプルからミュータンスレンサ球菌を含む多菌種の口腔レンサ球菌を同時に高い特異性と感度で同定できないことが原因の一つとされている^{9,10)}。

本研究では母子の齲蝕関連細菌の *gtf* 遺伝子と環境要因との関連を示す報告¹¹⁾が少ないことに着目し、母子感染経路と重症齲蝕の発症に関する遺伝子レベルでの細菌学的関連について菌種特異的なDNA配列に基づくミュータンスレンサ球菌をReal-time PCR法を用いてプラーク中の *S. mutans* と *S. sobrinus* から遺伝子分析を行った。

なお、本研究は松本歯科大学倫理委員会の審査を経て承認(許可番号No.0013)を得た。また、被験児とその保護者に対して事前に十分な説明を行った上で、自由意思に基づく同意を得て実施した。

対象と方法

1. 対象ならびに診査方法

対象は松本歯科大学病院小児歯科に通院する3歳から6歳までの乳歯列期小児と養育者(保護者)である母親とした。診査は同一検診者が十分な照明下で患児を仰臥位にし、齲蝕や修復物等を各歯・各歯面別に厚生省歯科疾患実態調査の基準に従って視診型診査を行ない、齲蝕罹患状態を齲蝕重症度指数(caries severity Index 以下、CSI)¹²⁾で評価した。また、遺伝子分析の試料として全歯面を1分間刷掃後滅菌生理食塩水(5ml)で含嗽しその含嗽液をブラッシング歯垢として採取した。これらの対象の中からdft=0, CSI=0に該当する8組の母子を「無齲蝕群」、dft>12, CSI>15の7組の母子を「重症齲蝕群」

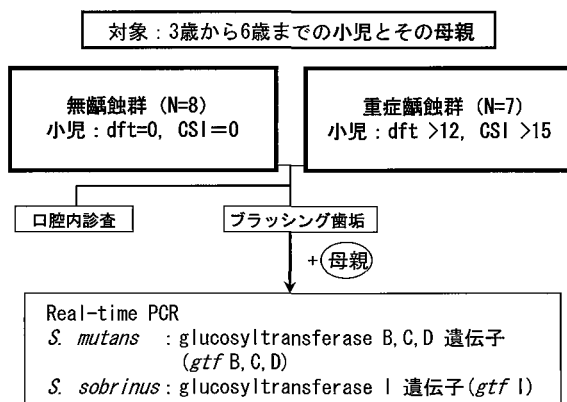


図1: 対象および方法

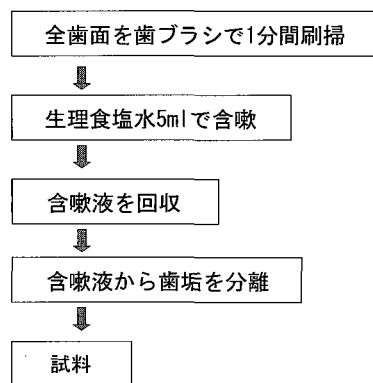


図2: ブラッシング歯垢採取方法

○対象児の条件

1. 乳歯列期小児
2. 全身疾患 (一)

○齲蝕重症度指数(CSI)算出法

	スコア	齲蝕重症度指数 CSI (Caries Severity Index)
健全歯	0	= $\frac{\text{総スコア}}{2 \times (\text{総萌出歯数})} \times 100$
C ₁ , C ₂ , C ^{''}	1	
C ₃ , C ₄	2	
修復歯、C ₀	0.5	

齲蝕重症度指数 (Caries Severity Index)	重症齲蝕群 CSI > 15 無齲蝕群 CSI = 0 (non caries児)
------------------------------------	---

図3: CSI算出法

とし計15組の母子を実験対象とした(図1, 2, 3)。

2. ミュータンスレンサ球菌の遺伝子分析

ミュータンスレンサ球菌の中から齲蝕の原因菌である *S. mutans* と *S. sobrinus* の glucosyltransferase (以下 酵素: GTF, 遺伝子: *gtf*) に着目した。 *S. mutans* は染色体上に非水溶性グルカン合成酵素 GTF B と水溶性グルカン合成酵素 GTF C, GTF D の3種の *gtf* を持つ。また、

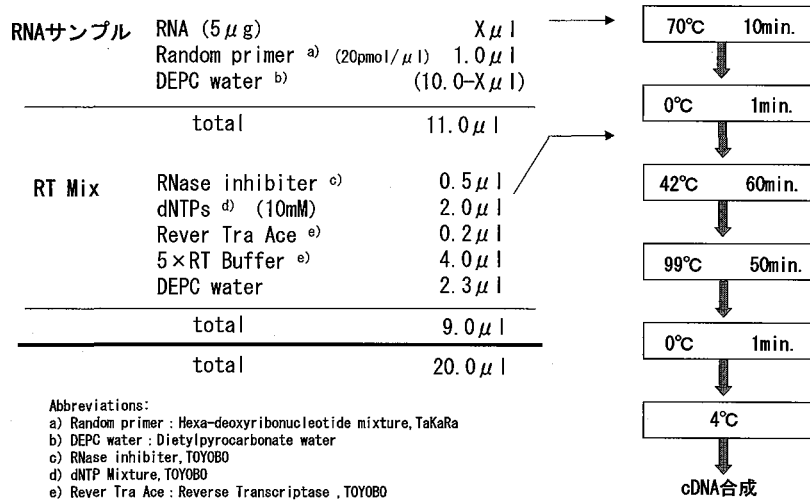


図4 : cDNA 合成方法

S. sobrinus は染色体上に非水溶性グルカン合成酵素 GTF I と水溶性グルカン合成酵素 GTF U, GTF T および GTF S の4種の *gtf* を持つ。本研究では齲蝕の発症と重症度に関連する遺伝子として *S. mutans* では glucosyltransferase B (以下, *gtf* B), glucosyltransferase C (以下, *gtf* C), glucosyltransferase D (以下, *gtf* D) の3種, *S. sobrinus* では glucosyltransferase I (以下, *gtf* I) の1種について遺伝子発現を分析し齲蝕との関連ならびに母子伝播について検討を行った(図1)。

遺伝子分析には定量分析を可能にした方法である Real-time PCR 法 (MJ Japan, kk : Optico ; SYBR Green 法) を用いて行った。

3. 実験方法

採取したブラッシング菌垢から RNA Isolation Kit (Gentra 社, USA) を用いて RNA 抽出を行った。RNA 抽出後 Cloned DNase I (RNase-free) (TaKaRa 社, Japan) にて DNase 処理を施し, その後 PCR (Polimerase chain reaction) を行い電気泳動から抽出物に DNA の混入がないことを確認した。これらの RNA サンプルと RT Mix を調製し, cDNA 合成を行った(図4)。Real-time PCR に用いる cDNA の定量はバイオフォトメーター (Eppendorf 社, Germany) を用いて260nm の吸光度から測定し定量を行った後, テンプレート量を10ng に統一するよう希釈して付属マニュアルに従い Real-time PCR 法を行った。また, コントロール標準株として *S. mutans* では Ingbritt, *S. sobrinus* では274を用い,

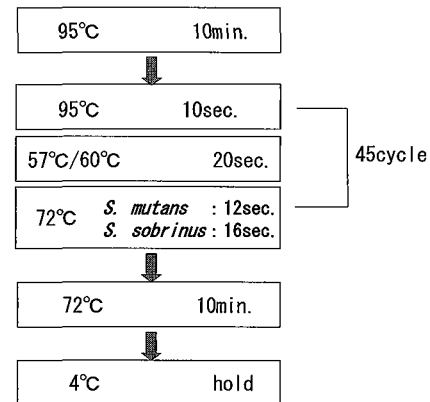


図5 : Real-time PCR 条件 (SYBR Green 法)

同方法で cDNA を合成した。

プライマーは, *S. mutans* の *gtf* B は197bp, *gtf* C と *gtf* D は300bp, *S. sobrinus* の *gtf* I は442bp, 内部標準として *S. mutans* では *recA*-300bp, *S. sobrinus* では16s rRNA-323bp を用いた¹³⁾。なお, それぞれの標準株でプライマーの有効性を判定した後, Real-time PCR を用いて最適アニーリング温度の設定を行い, *gtf* C と *gtf* D は57°C, *gtf* B と *gtf* I は60°C で実施した(表1)。

Real time PCR の条件は95°C/10分→95°C/10秒→57°C・60°C/20秒→72°C/*S. mutans* : 12秒, *S. sobrinus* : 16秒の3手順を45サイクル行った(図5)。Real-time PCR では発現量を正確に測定するため標準株の cDNA を段階希釈し検量線を求めた。また, 目的とする産物が増幅されていることを確認するために, 内部標準である *S. mutans* における組換え修復遺伝子 recombination A

表1：プライマー

	プライマー配列	bp	アニーリング温度
<i>S. mutans</i> <i>gtf B</i>	CACTATCGGGCGTTACGAAT CAGCAATTTGGAGCAAGTCA	197bp	60°C
<i>S. mutans</i> <i>gtf C</i>	CAAAAAGGGGCATTGCTTTA CACATTACCACCGCATCAA	300bp	57°C
<i>S. mutans</i> <i>gtf D</i>	ATGGCAATGGGATGACTTTC TGACTCCACTGGCATCAAAA	300bp	57°C
<i>S. sobrinus</i> <i>gtf I</i>	CCAAATCGGTAATGGCGAAATCTTGA ATGGAGTGATTTTCCATCGGTACTTG	442bp	60°C
<i>S. mutans</i> <i>rec A</i>	CAACTGTCGCTCTTCATGCT GACTCATCATGCGTGCTTGT	300bp	60°C
<i>S. sobrinus</i> 16s rRNA	ACCGCATAAGAGGAGTAACT GGTACCGTCACTGTGTAAGC	323bp	60°C

コントロール標準株：*S. mutans* - Ingbritt
S. sobrinus - 274

(*recA*)¹⁴, *S. sobrinus* における16S rRNA¹⁴)に基づくプライマー配列を作成した(表1)。なお、発現量は手技上の誤差を考慮し、1サンプルにつき同時に3回行い、平均値から算出した。発現量は内部標準と各サンプルの *gtf* 発現量を計算式 $[2^{-\Delta CT(target/内部標準)}]$ ¹³ に当てはめ、比率で表した。

結果

1. *gtf* の発現

1) *gtf B*

無齲蝕群では *gtf B* は母親のみ4例(50.0%)に発現し、重症齲蝕群では *gtf B* は重症齲蝕児3例(42.9%)、母親6例(85.7%)で3組の母子に発現が認められた(表2, 3, 図6, 10)。

2) *gtf C*

無齲蝕群では *gtf C* は母親のみ1例(12.5%)に発現し、重症齲蝕群では認められなかった(表2, 3, 図7, 10)。

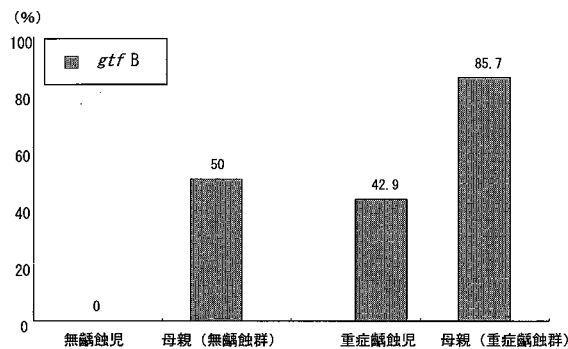


図6：*gtf B* の発現状況

3) *gtf D*

無齲蝕群では無齲蝕児6例(75.0%)、母親8

表2：無齲蝕群の *gtf* 発現状況

サンプル	<i>gtf</i>	<i>gtf B</i>	<i>gtf C</i>	<i>gtf D</i>	<i>gtf I</i>
1	無齲蝕児			△	
	母親		●	●	
2	無齲蝕児			△	
	母親	●		●	
3	無齲蝕児			△	
	母親	●		●	
4	無齲蝕児			△	
	母親	●		●	
5	無齲蝕児			△	
	母親			●	
6	無齲蝕児			△	
	母親	●		●	
7	無齲蝕児				
	母親			●	
8	無齲蝕児				
	母親			●	

表3：重症齲蝕群の *gtf* 発現状況

サンプル	<i>gtf</i>	<i>gtf B</i>	<i>gtf C</i>	<i>gtf D</i>	<i>gtf I</i>
1	重症齲蝕児			△	
	母親	●		●	
2	重症齲蝕児			△	
	母親			●	
3	重症齲蝕児	△		△	
	母親	●		●	●
4	重症齲蝕児	△		△	
	母親	●		●	
5	重症齲蝕児			△	
	母親	●		●	
6	重症齲蝕児	△		△	
	母親	●		●	●
7	重症齲蝕児			△	
	母親	●		●	

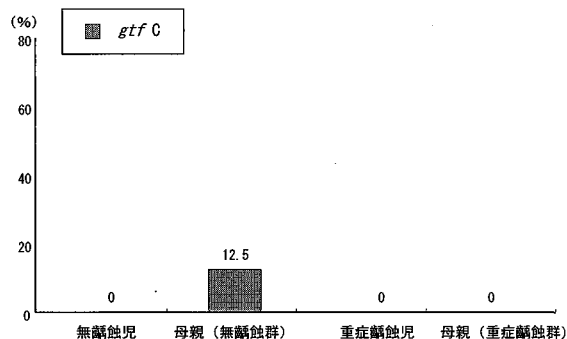


図7: gtf Cの発現状況

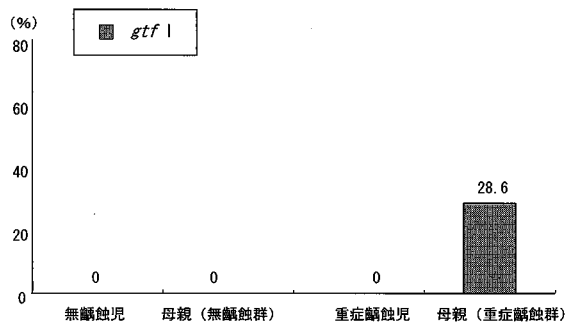


図9: gtf Iの発現状況

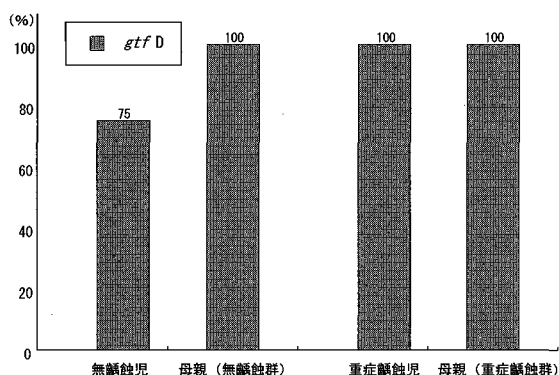


図8: gtf Dの発現状況

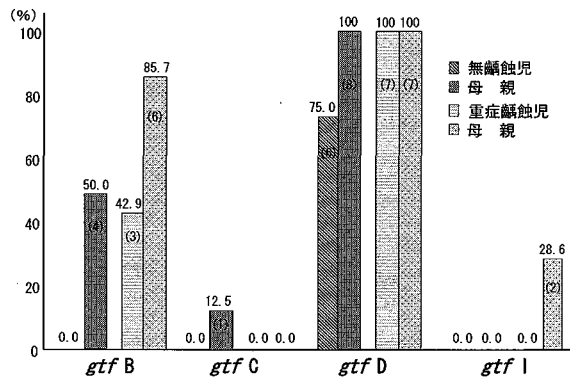


図10: 無齲蝕群と重症齲蝕群の gtf 発現状況

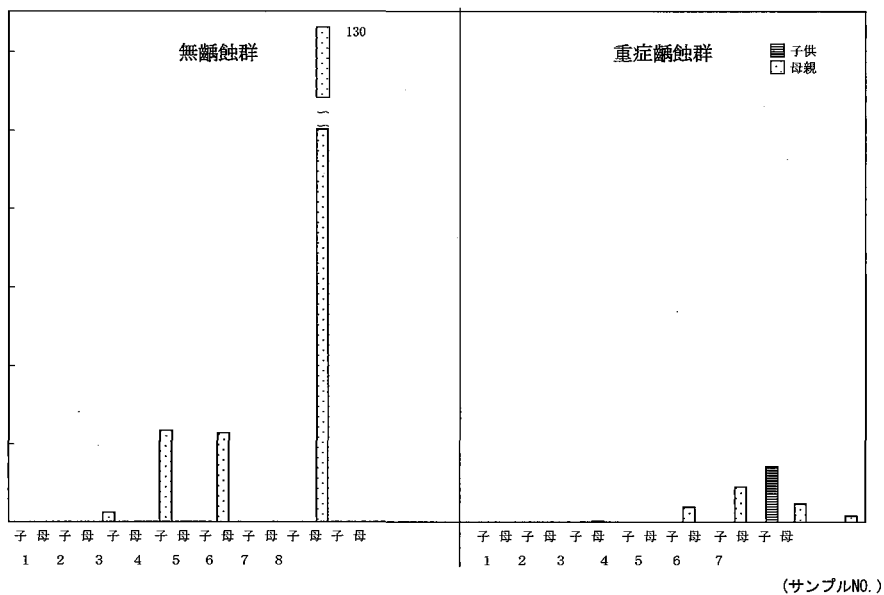


図11: gtf B 発現量 (比率)

例 (100.0%) に発現し、重症齲蝕群では重症齲蝕児とその母親7組 (100.0%) に発現が認められた (表2, 3, 図8, 10).

4) gtf I

無齲蝕群では母子共に認められなかった。一方、重症齲蝕群では母親のみ2例 (28.6%) に発現が認められた (表2, 3, 図9, 10).

2. gtf の発現量 (比率)

1) gtf B

gtf B の発現量は重症齲蝕群と比較して無齲蝕群の母親の方が高い発現比率を示した。また、重症齲蝕児の発現比率は低率であった。

さらに、重症齲蝕群の母子ともに発現が認められても、その子どもの発現比率が認められたのは

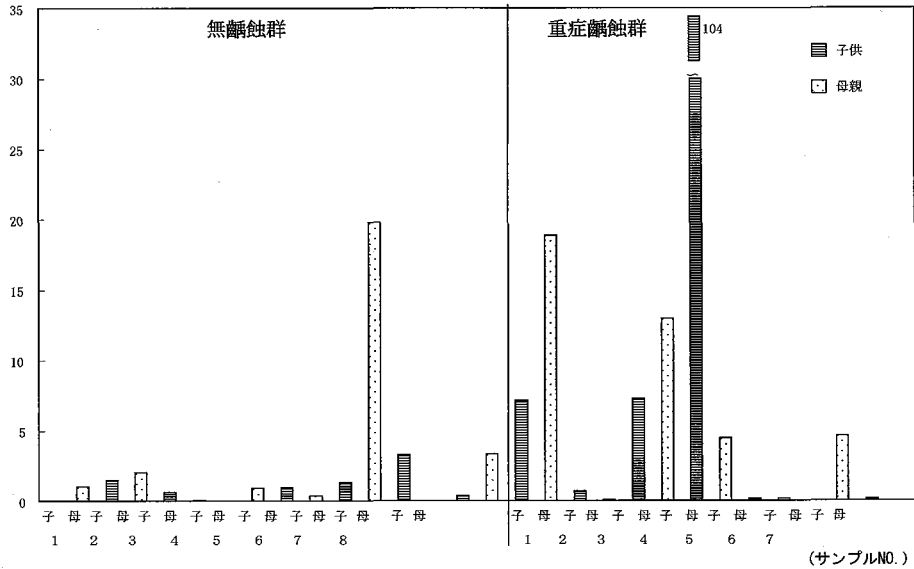


図12: gtf D 発現量 (比率)

2 サンプルのみであった (図11).

2) gtf C

gtf C は 1 サンプルに発現が認められたが、発現比率は 0 であった。

3) gtf D

gtf D の発現量は無齲蝕群に比較して、母子ともに重症齲蝕群の方が高い比率を示した。また、母親の発現比率が高いサンプルでは、その子どもの発現比率も高い傾向を示した (図12)。

4) gtf I

gtf I は 2 サンプルに発現が認められたが、発現比率は 0 であった。

考 察

齲蝕は細菌感染を主因とした多因子性の疾患であり、従来から要因分析解明がなされているが、明確な単一の原因解明は難しく、未だ効果的かつ実践的な予防法の指標確立はなされていない。

近年、母親から子どもへの齲蝕関連細菌の伝播が明らかとなり、特にミュータンス連鎖球菌の感染は、その血清型や遺伝子型が母子間で一致する例も多いとされ齲蝕原生細菌の母から子への伝播頻度を減少させることが定着を抑制し、齲蝕発症抑制やリスク判定の指標に寄与すると考えられる。

過去の報告^{15,16)}からは、口腔内の齲蝕原生菌 *S. mutans* の早期感染が小児齲蝕の発症に関わり、小児齲蝕の唯一の予測因子は *S. mutans* の定着

の有無という報告もある。しかしながら小児期では生活環境の影響は著しく、齲蝕発症の予測や齲蝕予防を実践するためには環境要因の改善が必須であり小児自身が齲蝕予防を心がけた生活習慣の習得は困難であることから、齲蝕予防に対する保護者の認識を高めることが小児の生活環境の改善や小児齲蝕予防への一次的に実践すべき事項である事につながると考えられる。

したがって、齲蝕原生菌の遺伝子検索と子どもの環境因子との関連性を分析し、生活環境のリスクファクターを抽出し、明示することは保護者の健康意識を高め、さらには齲蝕予防を含む、より良質な口腔管理へ導くことが可能になると考えられる。

以上のことから本研究では *S. mutans* や *S. sobrinus* の遺伝子解析を中心に分析を行い同時に母子の環境因子についても検討を行った。

1. gtf 発現状況と齲蝕発症との関連

齲蝕原生菌である *S. mutans* および *S. sobrinus* はいずれも複数種の異なる GTF を産生し、スクロースから粘着性非水溶性グルカンを合成することにより、歯面上に付着・増殖し歯質脱灰力の強い齲蝕原生プラークを形成する特性を有している^{18,19)}。また、細菌の酸産生能や齲蝕誘発能は菌種間差があり *S. mutans* の GTF B と *S. sobrinus* の GTF I とでは酸産生能は *S. sobrinus* の方が高いとされている^{19,20)}。

S. mutans は染色体上に非水溶性グルカン合成

酵素 GTF B および水溶性グルカン合成酵素 GTF C, GTF D の 3 種の *gtf* 遺伝子を持つ。また, *S. sobrinus* は染色体上に非水溶性グルカン合成酵素 GTF I と水溶性グルカン合成酵素 GTF U, GTF T および GTF S の 4 種の *gtf* 遺伝子を持ち, それらの発現により菌体外に産生分泌する。

gtf B における過去の報告は CSI 値が高い高齲蝕群では発現量が高く, 発現の有無と発現量は乳歯齲蝕の発症あるいは重症度に関連し, *gtf B* 発現量と齲蝕の関連性を認め, 齲蝕の重症度との深い関連性が指摘されている^{11,16,17}。

本研究では両群の多くの母親に発現が認められたが, 母子ともに発現が認められたのは重症齲蝕のみであった。しかし, *gtf B* の発現量 (比率) では無齲蝕群の母親が重症齲蝕群の母親に比べ高率であったことから *gtf B* は発現の有無が齲蝕発症に強く関与する事が示唆されたが, 齲蝕の重症度については明確な結果が得られなかった。

gtf C は無齲蝕群の母親 1 例のみに発現が認められた, 重症齲蝕群には発現が認められなかったことから齲蝕の発症や重症度との関連は明確にはならなかった。

gtf D は水溶性グルカン合成に関与しており, 直接的に齲蝕原生プラーク形成に関係はないが飢餓環境下では酸産生を可能にするため, 口腔環境条件により大きく左右されている¹⁸。

本研究では両群のほぼ全症例の母子間に *gtf D* の発現が認められ, 発現量 (比率) では重症齲蝕群の子どもに高率に認められ, その母親も高率を示していた。一方, 無齲蝕群では各々の母子間にほぼ相関した発現量が認められたことから *gtf D* は齲蝕発症に関与し, 特に齲蝕の多発や重症度に関与していることが示唆された。

S. sobrinus は 4 種の遺伝子 *gtf I*, *gtf S*, *gtf T*, *gtf U* を有し, 種々の研究報告から *gtf I* は重症齲蝕に関連するとされている²²。

S. sobrinus における付着性水溶性グルカン合成と菌体の固着・集落化は *S. mutans* の場合とは異なり, GTF I 酵素と 3 種の非水溶性グルカン合成酵素の共同作用によりみられる現象で, 過去の報告^{16,17}からも *S. sobrinus* の発現量は重症齲蝕症例であっても *S. mutans* の発現量より低いと考えられているが, 本研究における *gtf I* の発現は重症齲蝕群の母親 2 例のみ (発現量 = 0) で

あり, その子どもには認められなかったことから, 齲蝕の重症度に関与するという報告^{17,21,23}) と必ずしも一致しなかった。

したがって, 遺伝子分析からは齲蝕の発症や重症度には *S. mutans* の *gtf B* と D の発現や発現量が主に関与し, 小児期の口腔内では *gtf B* や D の発現量の多寡は口腔環境を反映すると考えられるが, *S. sobrinus* が検出されたとしても *S. mutans* に比べその発現菌数は少なく, *gtf I* 発現による口腔環境への影響は明確にはならなかった。

2. *gtf* と環境要因

gtf 分析に先立ち, 本研究の対象となる母子に齲蝕と環境要因を探るためアンケート調査を実施した (図13)。しかし, 対象数が少ない事からその結果は本文には記載せず, 考察の参考とした。

重症齲蝕群は『保護者の関心度, 意識度』と『食事・間食習慣』の各項目で無齲蝕群に比べ低い傾向が認められた (表 4, 5, 6)。また, 重症齲蝕群の母親自身が歯科治療の受診回数が多い傾向も認められた。

特に「仕上げ磨き」の重要性を保護者が理解していないことや「仕上げ磨き」の実施がなされていない, 間食の誤った与え方や不規則な生活リズムが小児齲蝕の発症や重症度に関連すると考えられた。

以上のことから *gtf B* の母子伝播が認められ, 劣悪な生活環境が加わることで齲蝕発症に関与することが示唆された。さらに, *gtf D* は重症齲蝕群の母子間に相関が認められ, また発現の有無のみの分析では不可能な発現量と重症齲蝕との関係を量的分析 (比率) から求めたことにより, 劣悪な生活環境と齲蝕の多発や重症度に関与している可能性を明らかにすることができた。

したがって, 子供への伝播を抑制するには親の口腔環境を健全にすることが重要であり, アンケート結果から保護者自身の口腔への関心度が低い状況では, その子どもは重症齲蝕に罹患しやすい環境下にあることが推察された。

今後, 保護者の認識度を含めた生活環境の整備と改善が小児の齲蝕発症予防や重症化の抑制効果に寄与し, 健康増進を維持するための重要なアプローチであると考えられた。また, 成長発達期にある小児の生活環境と *gtf* 発現量が齲蝕重症度に関連したことは, 低年齢での齲蝕発症は保護者か

お子様の氏名 性別 男・女 生年月日 H. 年 月 日
下記の質問項目について該当するところ1つに○をつけてください。

(分かる範囲で構いませんので、必ず○を付けてください。)

【お子さんについての質問です。】

- (1) 歯磨き回数は1日何回ですか (0回・1~2回・3回以上)
- (2) いつ磨きますか
毎食後3回・起床時もしくは朝食後と夕食後もしくは就寝前の2回
起床時もしくは朝食後1回・夕食後もしくは就寝前1回
- (3) 1回の歯磨き時間は (1分以内・1~3分・3分以上)
- (4) 歯ブラシの交換時期はどのくらいですか
(約1ヶ月・約1~3か月・約3~6か月・6か月以上)
- (5) 保護者による仕上げ磨きをしますか
(毎日磨く・時々磨く・磨かない)
- (6) 朝食は規則正しく食べますか (規則正しい・不規則・食べない)
- (7) 寝る前に何か食べますか (食べない・時々食べる・よく食べる)
- (8) 1回の食事時間は (15分以内・15~30分・30分以上)
- (9) よくかんで食べていますか
(よくかんでいる・あまりかまない・どちらともいえない)
- (10) 硬い食べ物 (例えば食パンのミミ、するめなど) は好きですか
(はい・いいえ)
- (11) 食事時に何か飲み物のみますか
(必ず飲む・2~3回に1度飲む・ほとんど飲まない)
- * (12) 以降につきましては休日 (保育園以外) についてお答え下さい
- (12) おやつ回数は (0回・1~2回・3回以上)
- (13) おやつ時間を決めていますか (はい・いいえ)
- (14) おやつ量はきめていますか (はい・いいえ)
- (15) おやつを食べながら遊ぶことが多いですか (テレビも含む)
(はい・いいえ)
- (16) ジュース (炭酸飲料を含む) を好んで飲みますか
(1日2回以上・1日1回・2~3日に1回・ほとんど飲まない)
- (17) おやつを食べ過ぎて食事を食べられないことがありますか
(はい・いいえ)

年齢 歳 ヶ月 主な養育者 母・父・祖父・祖母

【保護者の方についての質問です】

- (18) 自分のお口の健康に関心は強い方ですか (はい・いいえ)
 - (19) お子さんのお口の健康に関心は強い方ですか
(はい・いいえ)
 - (20) 自分の歯磨きを面倒だと思いませんか (はい・いいえ)
 - (21) お子さんの仕上げ磨きを面倒だと思いませんか
(はい・いいえ)
 - (22) お子さんの仕上げ磨きを意識し始めたのはいつごろですか
(最初の歯が生えた頃・前歯がそろった頃・奥歯が生えた頃)
 - (23) 仕上げ磨きの時お子さんの状態は
(喜んで磨かせる・普通に磨かせる・嫌がるが磨かせる
嫌がって磨かせない)
 - (24) 自分のお口の中を定期的に歯科医院で診てもらっていますか
(はい・いいえ)
 - (25) お子さんを定期的に歯科医院に連れていっていますか
(はい・いいえ)
 - (26) あなたの口の状態がお子さんのお口に影響を及ぼすと思いませんか (はい・いいえ)
 - (27) むし歯菌が自分の唾液を介してお子さんに移ると思いますか
(はい・いいえ)
 - (28) 自分と同じお箸でお子さんにご飯を食べさせたことがありますか
(はい・いいえ)
 - (29) 次のものはむし歯の原因になると思いませんか
思うものに○をつけてください (複数回答可)
歯の質が弱い・歯垢 (プラーク) ・お口の中の細菌
チョコレート・果物・キシリトール・乳酸菌飲料
 - (30) フッ素はむし歯に効果があると思いませんか (思う・思わない)
- いまだ記入漏れがないかご確認下さい。
ご協力ありがとうございました。

図13: アンケート内容

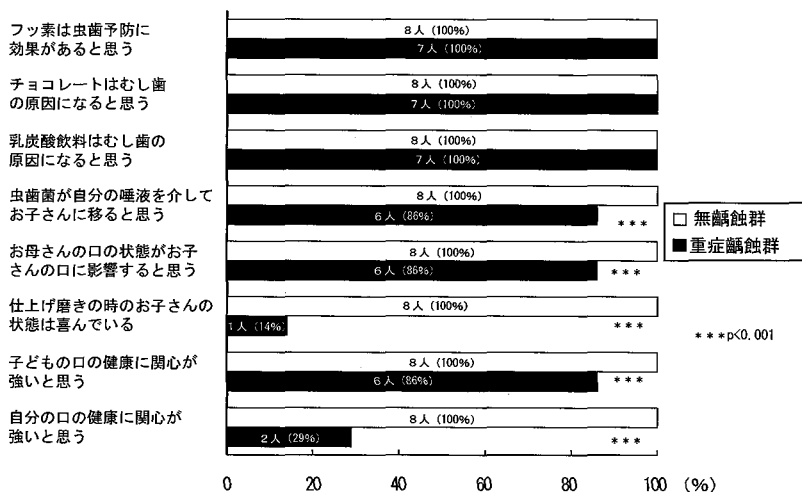


表4: アンケート項目 (保護者の意識度1)

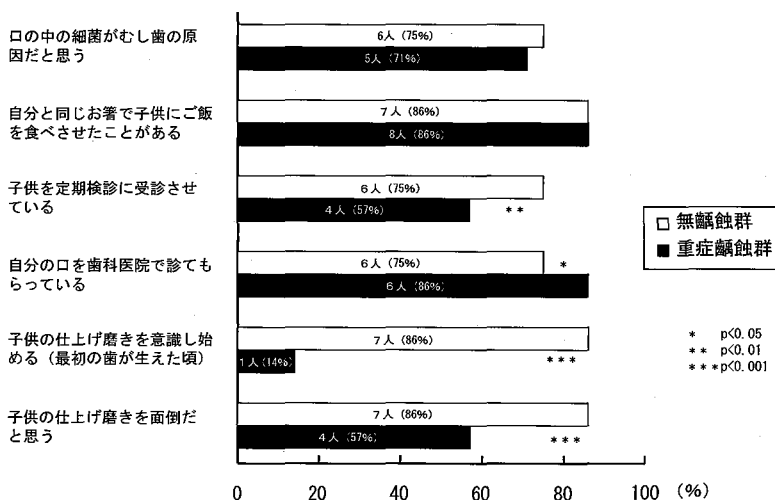


表5: アンケート項目 (保護者の意識度2)

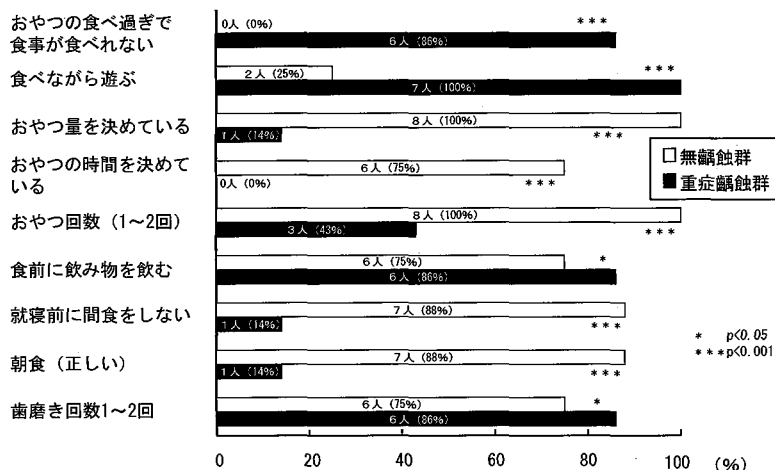


表6：アンケート項目 (口腔衛生習慣, 食事・間食関連)

らの細菌感染が早期に生じていることが考えられ、伝播についてさらに掘り下げて探索することは齲蝕発症抑制につながり、保護者への動機付けと齲蝕予防の指標として臨床応用の可能性が示唆された。

結 論

本研究では齲蝕関連細菌の *gtf* 遺伝子を検索し、母子伝播と重症齲蝕の発症に関する遺伝子レベルでの細菌学的関連について Real-time PCR を用いてプラーク中の *S. mutans* と *S. sobrinus* から遺伝子分析と同定と環境要因との関連を検討した結果、以下の結論を得た。

1. *gtf* 遺伝子分析から *S. mutans* の伝播が確認された。しかし、*S. sobrinus* の伝播は明確ではなかった。
2. *gtf B* は重症齲蝕群に伝播が認められ、齲蝕発症に関わることが示唆された。
3. *gtf C* の齲蝕発症要因および伝播との関連は明確ではなかった。
4. *gtf D* は両群に伝播が認められ、母親の発現量とその子どもの発現量に相関が認められ、発現量が多いほど齲蝕の発症と重症度に関連する事が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究において御指導と御校閲を賜りました松本歯科大学大学院健康増進口腔科学講座 宮沢裕夫教授、岩崎 浩准教授に深甚なる感謝の意を表します。また、実験の御指導や種々の御協力を賜りました松本歯科大学小児

歯科学講座非常勤講師 齋藤珠実博士に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 前田隆秀, 朝田芳信, 田中光郎, 土屋友幸, 宮沢裕夫, 渡部 茂: 小児の口腔科学, 学研書院, 東京, 2005, pp.156-61
- 2) 厚生省健康政策局歯科衛生課: 平成11年歯科疾患実態調査報告-厚生省健康政策局調査-, 口腔保健協会, 東京, 1999, pp.13-24.
- 3) Vachirarojpisan T, Shinada T, Kawaguchi Y, Langwechakan P, Somkote T and Detsomboonrat P (2004) Early childhood caries in children aged 6-19 month. Community Dent Oral Epidemiol **32**: 133-42.
- 4) American Academy of Pediatric Dentistry (2004) Clinical guideline on infant oral health care. Ped Dent **26**: 67-70.
- 5) 五十嵐公英, 千田隆一, 桜井 聡, 千葉桂子, 神山紀久男 (1983) 幼児の齲蝕罹患状況と簡易測定法による唾液中 *Streptococcus mutans* 菌数との関連性. 小児歯誌 **21**: 719-27.
- 6) 芳野素子, 峯山 良, 斎藤和子, 下岡正八 (2002) ミューカウント®を用いて分離した小児の *Streptococcus mutans* の多糖体合成能と齲蝕罹患状況との関係. 小児歯誌 **40**: 500-15.
- 7) 藤原 卓, 武井勉, 河野仁美, 笹田英子, 泉谷明, 大嶋 隆, 祖父江鎮雄 (1998) 日本人小児の唾液より分離される *Streptococcus mutans* の諸性状と齲蝕罹患状況との相関について. 小児歯誌 **26**: 556-63.
- 8) Whiley RA and Beighton D (1998) Current classification of the oral streptococci. Oral Microbiol Immunol **13**: 196-216.
- 9) Hamada S and Slade HD (1980) Biology, im-

- munology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*, *Microbiol Rev* **44** : 331-84.
- 10) Loesche WJ (1986) Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* **50** : 353-80.
 - 11) 齋藤珠美 (2006) 乳歯列期における glucosyltransferase 遺伝子発現と環境要因について. *小児歯誌* **44** : 55-6.
 - 12) 下野 勉, 木野 純, 野々村栄二, 森崎市治郎, 増田典男, 松村誠士, 祖父江鎮雄 (1976) 新しい齲蝕活動性試験 (カリオスタット) に関する研究-スナイダーテストとの比較-. *小児歯誌* **14** : 6-18.
 - 13) 株式会社ビー・エム・エル: 歯科検査-PCR法による齲蝕・歯周病関連菌の検出, 東京, 1998, p. 6.
 - 14) Fujiwara T, Hoshino T, Ooshima T and Hamada S (2002) Differential and quantitative analyses of mRNA expression of glucosyltransferases from *Streptococcus mutans* MT 8148. *J Dent Res* **81** : 109-13.
 - 15) Bentley RW, Leigh JA and Collins MD (1991) Intragenomic structure of *Streptococcus* based on comparative analyses of small-subunit rRNA sequences. *Int J Syst Bacteriol* **41** : 487-94.
 - 16) Yoshida A and Kuramitsu HK (2002) *Streptococcus mutans* biofilm formation: utilization of a *gtfB* promoter-green fluorescent protein (*PgtfB gfp*) construct to monitor development. *Microbiol* **148** : 3385-94.
 - 17) Yano A, Kaneko N, Ida H, Yamaguchi T and Hanada N (2002) Real-time PCR for quantification of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett* **217** : 23-30.
 - 18) Nakamura Y, Kuwashima H, Aoki S and Masuhara T (1989) Inhibitory effects of humic acid on insoluble glucan synthesis and cellular adherence of *Streptococcus mutans* (Sobrinus) 6715. *J Oral Biol* **31** : 329-32.
 - 19) Idone V, Brendtro S, Gillespie R, Kocaj S, Peterson E, Rendi M, Warren W, Michalek S, Krastel K, Cvitkovitch D and Spotafora G (2003) Effect of an orphan response regulator on *Streptococcus mutans* sucrose-dependent adherence and cariogenesis. *Infect Immun* **71** : 4351-60.
 - 20) Fukushima K, Okada T and Ochiai K (1993) Production Characterization and Application of Monoclonal Antibodies Which Distinguish Three Glucosyltransferases from *Streptococcus mutans* *Infect. Immun* **61** : 323-8.
 - 21) Hirose H, Hirose K, Isogai E, Miura H and Ueda I (1993) Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries. *Increment Caries Res* **27** : 292-97.
 - 22) 花田信弘 (2003) ミュータンスレンサ球菌の分離同定法, 福島和雄編, ミュータンスレンサ球菌の臨床生物学-臨床家のためのマニュアル-, 62-81, クインテッセンス出版, 東京.
 - 23) 矢野雄一郎, 五十嵐 武, 山本綾子, 井上美津子, 後藤延一, 佐々龍二 (2001) 日本人小児における *Streptococcus mutans* および *Streptococcus sobrinus* の検出頻度と齲蝕罹患率との関係. *小児歯誌* **39** : 27-34.