

唾液抗菌作用を食品成分でサポートする

～納豆菌を用いた抗歯周炎効果の検討～

螺良修一

歯学99 春季特集号（平成24年3月）別刷

【研究成果と臨床応用】

唾液抗菌作用を 食品成分でサ ポートする ～納豆菌を用いた抗菌周 炎効果の検討～

螺良 修一 *Shuichi Tsubura*

日本歯科大学新潟生命歯学部生化学講座
宇都宮市・螺良歯科医院

キーワード：
唾液／納豆菌／抗菌作用

はじめに

唾液中の抗菌作用は主に有機成分（タンパク質やペプチド）が主導している。健康者の口腔内では唾液タンパク質によって口腔常在菌叢の安定性がコントロールされていると思われる。理由の一つに、唾液分泌量／分泌速度が低下した人は口腔疾患発症／進行の危険度が高まる、という報告がある¹⁾。そのような高リスク者に対し、現行の歯科臨床では除菌効果の高い薬剤を口腔内洗浄に用いたり、家庭での含嗽が一般的である。

ところで口腔内微小生態系保護という観点では、薬剤の長期使用は好ましくない。常在菌叢変化に伴う日和見感染症や薬剤耐性は勿論、頻回の使用で口腔粘膜表層を傷めるなど、直接的ダメージも考慮しなければならないからだ。薬剤に代わり、薬剤と同等の効果が期待できる食品素材の中から発酵食品の代表格「納豆」に着目、主成分である納豆菌を配合した素材で唾液抗菌作用を補えるか検討し、臨床応用を目指した。現在進行中かつ“研究”と呼ぶには脇が甘く恥ずかしい限りではあるが、本稿でその一部を紹介し、臨床研究者諸兄からご指導を仰ぎたい。

口腔内微生物と唾液タンパク質の関わり

唾液タンパク質の役目は消化、潤滑、抗菌作用等だが、微生物学の分野から見れば「口腔内微小生態系の維持・安定」となる。私たちの口腔内は生涯を通じて数百種類（約700種～800種との説が多い）の微生物が住みつき（口腔常在菌）、それらは互いに手と手を取り合って（共凝集）、時には粘着性の高いコロニーを形成する（バイオフィーム）こともある。バイオフィーム内微生物の一部は唾液タンパク質（主に糖タンパク）から栄養を受け代謝を繰り返す。一方で唾液タンパク質（主に抗菌タンパク）は微生物の淘汰に関わっている。つまり唾液タンパク質は口腔内微生物を増やす役目と減らす役目を担っている不思議な立場ということになる。

研究とその成果：納豆菌洗口液の抗菌周炎効果

歯科医療が口腔微小生態系と共存するための概念と

は「口腔内の善玉菌を増やし、悪玉菌を減らす」ことが絶対唯一と信じる。そのための素材を探しながらたどり着いたのが、枯草菌 *Bacillus Subtilis* DB9011という微生物である。この微生物は群馬県の土壤中から分離されたもので、分類上「特殊納豆菌」と命名された。この菌に関する国際特許は(株)AHC（群馬県前橋市）が所有している。*Bacillus Subtilis* DB9011は土壌の改良や家畜の健康維持の目的で農業畜産の分野で長年使われてきた実績があり、人体向けには表皮の保湿や美肌用ローションの成分として市販されている。

納豆菌は腸の中で悪玉菌を鎮める力（有害菌生育抑制作用）や粘膜を保護し腸を整える働き（整腸作用）など、腸内で働く健康に有益な菌と考えられてきた。最近の研究では悪玉菌毒素に対抗する力（プロテアーゼ活性）や免疫系を高める力（白血球機能向上）なども立証されている^{2,3)}。腸内と口腔内は身体の中では共に消化器系として兄弟関係にあり、多数の菌が生息し（常在菌叢を持つ）粘液性の分泌液で常に潤っている。腸内に効果があるのなら口腔内にも一定の効果が期待できるかもしれない・・・と仮説を立て、*Bacillus Subtilis* DB9011含有洗口液 DM0507を用いた抗歯周炎効果を検討した。

DM0507とは *Bacillus Subtilis* DB9011の菌体外抽出発酵上清成分である（図1）。予備実験で培地上の抗菌活性を調べると様々な菌に対する発育抑制効果が確認できた（図2）。DM0507についても、DB9011同様、(株)AHCが特許を所有している。

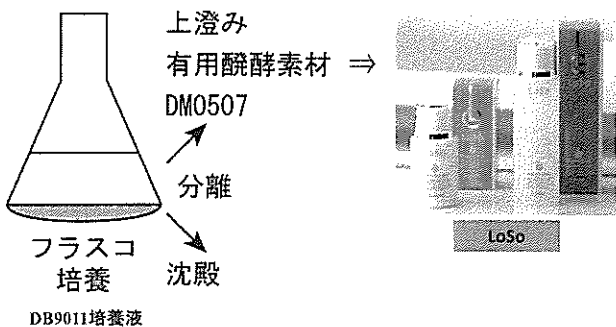


図1 納豆菌抽出液 DM0507の精製過程と、DM0507配合液 LOSO™

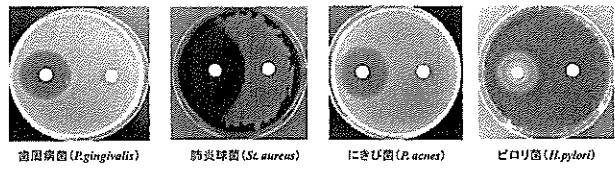


図2 DM0507液の抗菌効果 48時間培養寒天培地
左側：DM0507ディスク
右側：滅菌精製水ディスク

次に毎日の臨床で頻要する対歯周病各種マーカーを評価の指標とし、54名の患者に協力いただいたデータを次に示す。残存歯数、歯周ポケットレベル、年齢、基礎疾患など条件をそろえた慢性歯周炎患者の歯周初期治療が一段落したタイミングでAとBグループに分け、AグループはDM0507洗口液を、BグループはNeosterine-Green™洗口液を、朝晩の食事後30分以内に各20秒間づつ、1ヵ月間毎日含嗽した。その結果、PD（歯周ポケット深さ）、BOP（測定時出血）、GI（歯肉指数）にAB両グループ大差は認められなかったが、BANA スコア（Red-complex：メジャーな歯周病原菌種の菌体外酵素を陰性陽性で判定）ではAグループが有意な改善を認めた（表1）。

表1 BANA テスト

	口腔内 対歯周病菌酵素活性測定		
	開始時	1ヵ月後	%治療率
納豆菌群	1.52±0.51	0.30±0.47	83.3
薬液群	1.56±0.51	0.93±0.68	42.6 p<0.01
BANA スコア	0：陰性 1：弱陽性 2：強陽性		

唾液およびプラーク中の微生物残留をマルチプレックスPCR法⁴⁾を用い遺伝子レベルで調べた。その結果、Aグループでは菌のバンドがほぼ消失（検出感度以下）したのに対し、Bグループは1ヵ月経ってもバンドが残った（図3）。

納豆菌含嗽を1ヵ月続けた症例では、歯肉腫脹の改善が認められた。（図4）。

納豆菌含嗽液は歯周病菌等を静菌的に減少させることで抗微生物効果を示すと考えられる。以上の成果を2009年に論文として⁵⁾、また2010年のIADR（パルセ

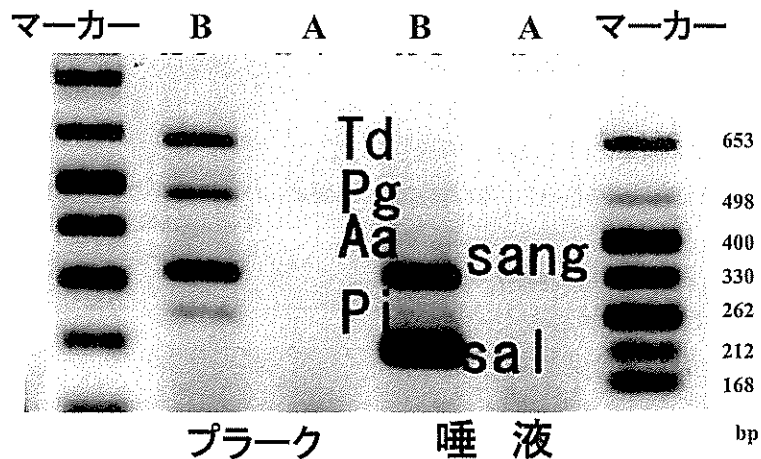


図3 PCR (遺伝子増幅) 検査
A: DM0507使用者 B: ネオステリン使用者

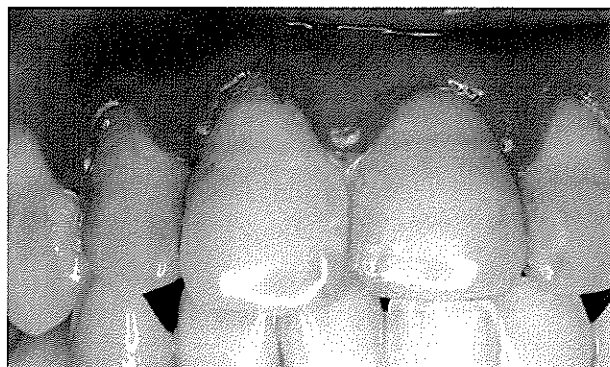


図4 (左) 臨床例 DM0507 使用前所見
35歳男性 診断「ストレス関連歯周炎症」

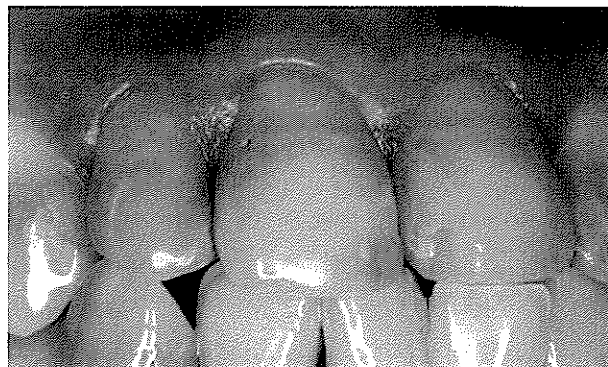


図4 (右) 臨床例 DM0507 1カ月使用後所見

ロナ) に⁶⁾それぞれ発表した。

臨床応用: Oract™ から VITALREX™ へ

(株)AHCは2009年、*Bacillus Subtilis* DB9011配合の口腔用タブレット「Oract™」を商標登録し、試作品を完成、普及販売に臨んだ(図5)。

当初基礎研究の素材そのままに唾液抗菌能代替洗口液として販売する計画もあったが、液体のまま長期保管できないこと、含嗽法では場所が限られること、含嗽困難な高齢介護者には不向きであるなどの理由で断念、タブレットに方針転換した。“場所を選ばず誰で

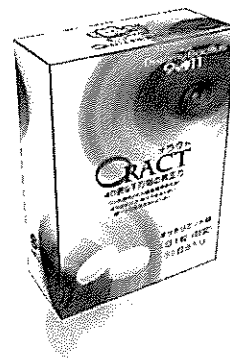


図5 Oract™

も簡単に扱える”にはチュアブル型のタブレットが好都合だ。さあ、これでスタート地点に立てた・・・期待と不安を抑え、流通部門の確定まで事態を見守ることになった。

ある日 Oract™ の販売を中止する残念な連絡が届いた。事情は多々あるが、最大の理由は流通に関する権利やコストの問題だ。Oract™ に関しては歯科関連の数社（名前は出せないがメジャーな企業）が手を挙げてくれたものの、企業の提案は私共の願いとかけ離れたものだった…例えば高額製品なら企業は儲かるが特定の人しか使えない。(株)AHC は Oract™ の発売を保留し、甘味料としてキシリトールに代わり還元パラチノースを用いる等、コストダウンも含めた製品改良を行い2011年に新しい *Bacillus Subtilis* DB9011納豆菌配合タブレット VITALREX™ を完成させた（図6）。

現在 VITALREX™ は(株)AHC が商標登録を済ませ、首都圏の相談薬局が中心となり販売網の構築が進んでいる。チュアブル型のタブレットは飴のように「舐める」ことで唾液分泌を促進するきっかけになるし、一定時間口腔内にとどまることで持続的抗菌作用が期待できる。唾液機能を補充する、という点では洗口液

よりタブレットが適しているかもしれない。VITALREX™ に関する治験は論文にまとめ、現在投稿中である⁷⁾。

提言：現代医療の矛盾

現代の歯科医療は“お口の殺菌・消毒”のキャッチコピーのもと、除菌のために多くの薬剤を扱っている。テレビや週刊誌では魅力的なフレーズで薬用マウスウォッシュなどデンタルケア商品の購入を呼び掛ける。医院でも家庭でも口腔内は薬の恩恵を受けている・・・がしかし、私は矛盾感や違和感から離れられない、「薬を使い過ぎてははいまいか?」。もちろん、化膿性炎症の早期改善や菌血症コントロールのために抗生物質製剤や含嗽薬を投与するガイドライン医療には反対しない。私も日常臨床ではガイドラインに沿った診療を行いつつ、新しい考え方を組み入れていきたいと考えている。

化学薬品の台頭で、私たちの本来あるべき自己治癒力…口腔局所では唾液から得られる様々な恩恵…を減退させ、口腔内微小生態系を破壊してしまうのなら、それは残念なことだ。可能な限り薬品に頼らない医療でありたいが、最近“薬を減らす”どころか、逆行する困った事例が増えてきた。一部の開業医が“歯周病菌を洗い流す”名目で特殊な薬液を朝な夕なに使うよう推奨している。この流れは一つのビジネスモデルとして多くの開業医からもてはやされ、国内では民間療法的な洗口液ブームが起きている。口腔内の微小生態系を安易に破壊してまでの医療介入は生命科学の立場で本当に正しいのか、私は自問自答しながら毎日の臨床に向かい合っている。諸兄はいかがお考えであろう？

おわりに：当講座の歴史と本研究の将来

子供の頃、少々スリキズなら「つばをつけとけば大丈夫」と教わった。先人は唾液が持つ特殊なパワーを経験的に理解し、親から子へ伝えていった。先人が言う“つばの薬”とは抗菌作用を有する唾液タンパク質のことである。唾液の不思議な力を解き明かすべく

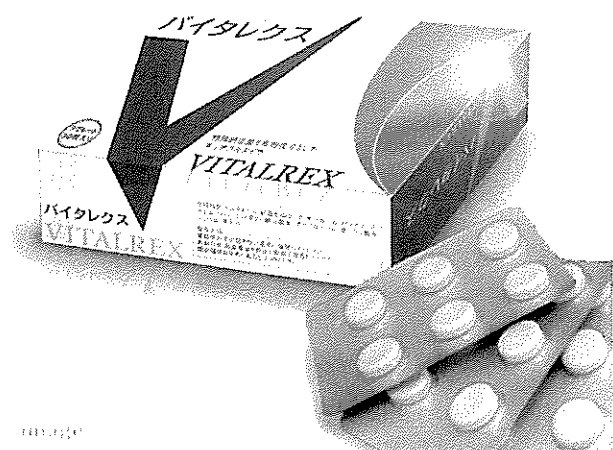


図6 VITALREX™

当講座の初代、真田一男教授は唾液タンパク質構造解析の道を切り開いた。現在は下村浩巳教授の下、唾液腺機能～分泌機構の解明へと研究を発展させ、様々な角度から唾液に関するデータを蓄積させている。私も当唾液研究室で学んだ経験を活かし、臨床医の目線で独創的な仕事をしてみたいと夢を抱き臨床の場へ進んだ。当初は唾液抗菌活性部位に相当する合成ペプチドを口腔保健に活用しようと考えてはみたものの、技術やコスト面で現実的ではなかった。そこで兄弟子の一人がオリブオイルなど天然素材を扱っていたことを思い出し、薬品にこだわらない柔軟な発想に転換した。なお、臨床研究の現状として *Bacillus Subtilis* DB9011 配合ジェルを用いた治験が進行中であり、普及に向けてステップアップしていることを報告しておきたい。

本稿では唾液の免役能（特に抗菌作用）を食品成分で補う取り組みを紹介させていただいた。化学薬品の乱用を危惧する声と共に、納豆菌のような自然の恵みを医療に活かそうという考え方は、医学界のみならず一般社会でも広がりを見せている。おりしも3月の大震災後、国内外数大学数社から「何か役立つモノを作りたい」との申し出を受けた。目的内容は口腔ケアにとどまらず、施設の除菌消毒、保存食の抗菌噴霧液、農地整地など様々で、*Bacillus Subtilis* DB9011の幅広い可能性を感じた。

今後の普及拡大には多くのハードルが待ち受けているだろうが、少しでも前進するよう日々努力し、乗り越えていきたい。本稿に寄稿する機会を下さった本誌編集委員の廣安一彦先生（新潟生命歯学部歯科口腔外科）に心から感謝申し上げたい。

文 献

- 1) Hopcraft MS, Tan C. Xerostomia: an update for clinicians. *Aust Dent J*. Sep; 55(3): 238-44. 2010.
- 2) Paccetz JD, Nguyen HD, Luiz WB et al. Evaluation of different promoter sequences and antigen sorting signals on the immunogenicity of *Bacillus subtilis* vaccine vehicles. *Vaccine*; 25: 4671-80. 2007.
- 3) Brunt J, Newaj-Fyzul A, Austin B. The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Fish Dis*; 30: 573-79. 2007.
- 4) Morikawa M, Chiba T, Tomii N, Imai K. Comparative analysis of putative periodontopathic bacteria by multiplex polymerase chain reaction. *J Periodont Res*; 43(3): 268-74. 2007.
- 5) Tsubura S, Mizunuma H, Ishikawa S, Iizuka T, Iizuka T, et al. The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 28(11): 1353-56. 2009.
- 6) Tsubura S, Mizunuma H, Iizuka T. Effect of probiotics *Bacillus Subtilis* mouth rinsing for periodontitis. 88th IADR general session. 2010.
- 7) Tsubura S, Waki Y, Tsubura T. Probiotic effect of a *Bacillus subtilis* tablet on periodontopathic oral bacteria. In review.