

# ココアは口腔の健康維持に貢献する

前田 伸子 (鶴見大学歯学部口腔細菌学教室)

はじめに

う蝕と並んで歯科の二大疾患の一つである歯周病は歯を支える歯周組織（歯肉、歯根膜、セメント質、歯槽骨）が歯周病原菌によって破壊されていく慢性の感染症である。発症の初期には自覚症状がほとんどないために気づかないままに病態が進行し、歯を喪失する結果になる。他国と比べて日本人の発症率は高く、40歳代以降の成人のおよそ80%が罹患しているため国民病という捉え方もされている。

歯周病の原因となる細菌は複数あり（表1）、これらは多彩な病原因子を持つが（表2）、これらが歯周病を引き起こす共同体（バイオフィルム）として、歯周組織に定着し、病気を引き起こす。しかし、歯周組織にこれらの細菌が存在することだけで感染症が成立するわけではなく、歯周組織局所の状態や宿主の全身状態あるいは生活習慣などが発症を進展させる因子として存在する。また、いったん成立した歯周病の病態の進行には歯周病原菌の歯周病原因子よりもこれに抵抗するために起こった炎症や免疫反応が深く関わってくる。すなわち、歯周病は外から感染するいわゆる病原体による感染症とは明らかに異なる特徴を示し（表3）、原因となる細菌の病原性そのものよりも、それに対応する宿主の反応によって病態が進行する特殊な感染症である。しかし、歯周組織に歯周病

表1 歯周病のタイプと歯周病関連細菌

歯周病のタイプ	歯周病関連細菌
妊娠性／思春期性歯肉炎	<i>Prevotella intermedia</i>
急性壊死性歯肉炎	<i>Prevotella intermedia</i> , <i>Treponema denticola</i>
慢性歯周炎	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythensis</i> <i>Treponema denticola</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i>
侵襲性歯周炎	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i>

表2 歯周病関連細菌の病原因子

病原的働き	病原因子
*付着に関わる因子	線毛、莢膜、リポ多糖体 (LPS)
*組織破壊に関わる因子	コラゲナーゼ、ジンジバイン
*宿主の生体防御の抑制／回避に関わる因子	莢膜、免疫グロブリン分解酵素 白血球毒素

\*この他、歯周病関連細菌はバイオフィルムを形成する。バイオフィルム形成により抗菌薬に対し抵抗性を示す。あるいはバイオフィルム内でお互いの病原因子を遺伝子レベルでやり取りしたり、増幅したりすることがある。

表3 口腔感染症の特徴

特 徴	説 明
* 複数の細菌が関与する	個々の細菌よりも複数の細菌の共同体として病原性を発揮する
* 細菌の置き換わりが起こる	病態の進行に伴いメインの病原性細菌が置き換わる
* 潜伏期が明確でない	感染症の発症がなくても口腔感染症の原因となる細菌が存在するため、感染症発症の時期が特定できない
* 免疫反応が治癒に結びつかない	とくに歯周病や根尖性歯周炎では免疫反応が防御的に働くよりも局所を障害する方向へ働く

原菌が増加することが発症の直接原因であることは間違いなく、歯周病の予防も治療もこれらの歯周病原菌の増加を防ぐあるいは増加した歯周病原菌を排除することによって可能となる。

我々は生活習慣病の一つとしても注目される歯周病を薬品(消毒薬や抗菌薬)ではなく、食品で予防あるいは治療することを目的として多年にわたり、研究を行ってきた。そのなかで、ココアに代表的な3種の歯周病原菌に対する抗菌効果を見いだした。本報告ではココアパウダーの*in vitro*の抗菌効果とボランティアを対象に行ったココア飲料の歯周病原菌および口臭抑制効果について紹介する。

#### ココアパウダーの*in vitro*抗菌効果試験

実験に供した歯周病原菌と口腔常在性レンサ球菌は表4に示した。口腔常在性レンサ球菌と *F. nucleatum*はBrain Heart Infusion (BHI) 液体培地 (Difco)、*P. gingivalis*および *P. intermedia*はBHI液体培地を基礎培地として5% yeast extract, 0.05% L-cysteine, 1% hemin-menadione溶液を添加した培地で37℃、4~7日間嫌気培養後、 $10^5 \sim 10^6$ 個になるように新しい培地で調整し菌液を作成した。それぞれの被験菌液にココアパウダー懸濁液を最終濃度が1%あるいは3%になるように混合し、37℃嫌気条件下で1~6時間培養した。この結果、ココア懸濁液を加えた場合、全ての被験菌の生菌数は濃度依存性的および時間依存的に減少した(図1)。一方、ココアパウダー懸濁液は口腔常在性レンサ球菌の生菌数には影響を与えなかった(図2)。さらにココアパウダー中のどの成分が主に抗菌成分として関与するのかを調べるために本懸濁液よりn-ヘキサン抽出画分と50%メタノール画分を分画し(図3)、もっとも抗菌効果が強かった *P. gingivalis*に対する抗菌効果を検討した。その結果、ポリフェノールを含む50%メタノール画分に顕著な抗菌効果が認められた(図4)。以上の結

表4 被験菌種

歯周病原菌:
Porphyromonas gingivalis ATCC33277
Prevotella intermedia ATCC25611
Fusobacterium nucleatum ATCC25586
口腔常在性連鎖球菌
Streptococcus anginosus ATCC33977
Streptococcus salivarius ATCC7075
Streptococcus sanguinis ATCC10556

図1 歯周病関連菌に対するココアの抗菌効果

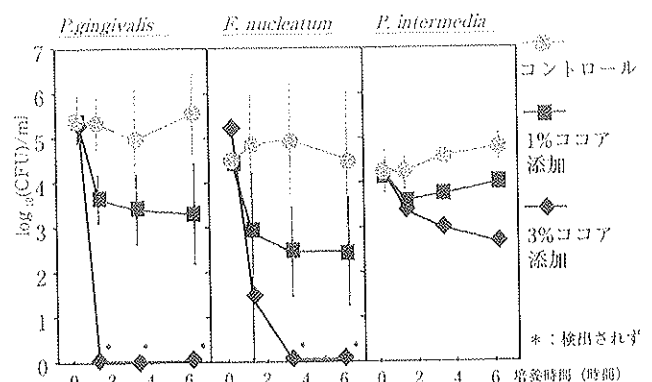
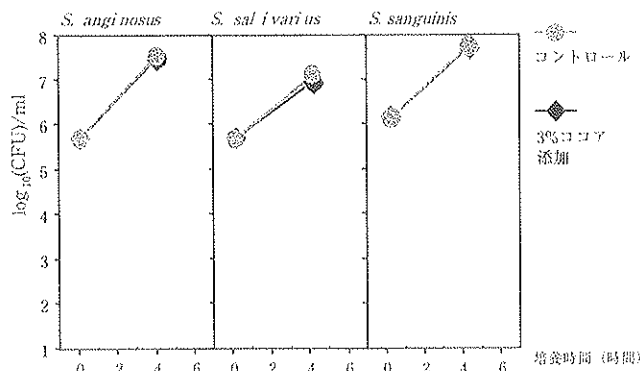


図2 口腔常在性レンサ球菌に対するココアの影響



果からココアは口腔常在性レンサ球菌には影響を与えず、今回調べた3種の菌周病原菌にのみ抗菌性を示し、とくに最も菌周病原性の強い*P. gingivalis*に対する抗菌効果が強いことから菌周病予防食品としての可能性が示唆された。また、ココアの菌周病原菌に対する抗菌効果はポリフェノールであることが示された。

ココア飲料を用いた臨床試験

まず、被験者を選択するために健康ボランティア成人男性50名から唾液を採取し、*P. gingivalis*の存在の有無をPCR法にて確認した。*P. gingivalis*陽性者25名中、本臨床試験参加に同意がいただけた18名を対象に図5で示すプロトコールで臨床試験を行った。また、試験に用いたココア飲料の成分と飲用法は図6に示した。さらに図7に示すように唾液中の総菌数と3種の菌周病原菌 (*P. gingivalis*、*P. intermedia*および*F. nucleatum*) の菌数はPCR法で確認した。その結果、唾液中の総菌数は多少の増減はあるものの、ココア飲料の飲用に関わらず、ほぼ一定の値を示したのに対して、3種の菌周病原菌の総菌数に対する比率はいずれもココア飲用後菌数が減少し、飲用前と後で統計学的に有意な差を示した (図8, 9)。

また、被験者18名中、主な口臭原因物質 (揮発性硫黄化合物；硫化水素、メチルメルカプタン、

図5 臨床試験スケジュール

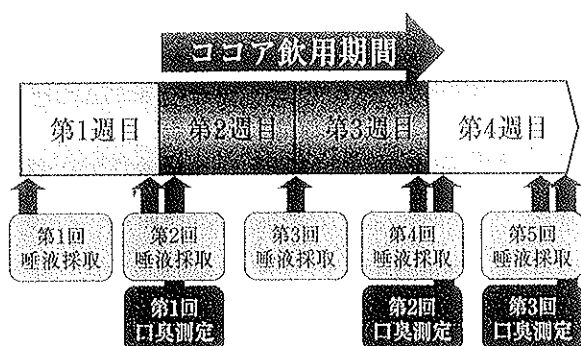


図3 ココアの抗菌性に関する有効成分の分離

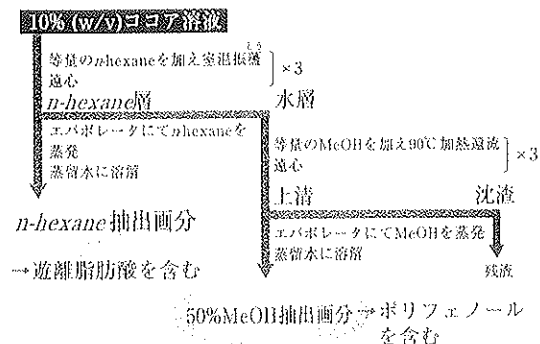


図4 *P. gingivalis*に対するココア中の各成分の抗菌効果

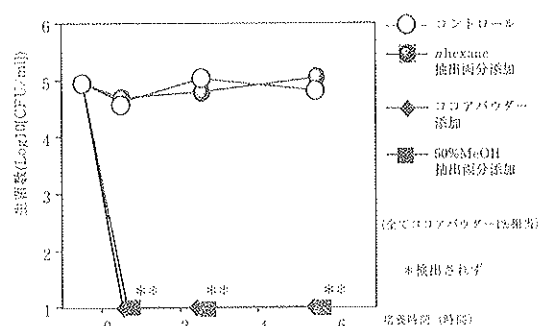


図6 試験に用いたココアの配合と飲用方法

- 配合 (1回分100mlあたり)
- ・純ココア…8g
  - ・スクラロース…0.015g

飲用方法

朝・昼・晩の食後に100ml飲用し、飲用後1時間はうがいや歯磨きを避ける。これを2週間続ける。

図7 唾液中の総菌数と歯周病原菌数測定

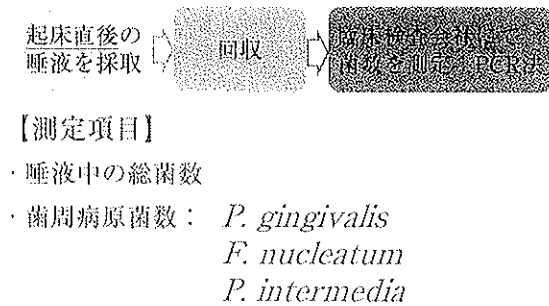


図9 唾液中の総菌数に対する歯周病原菌の比率の変化

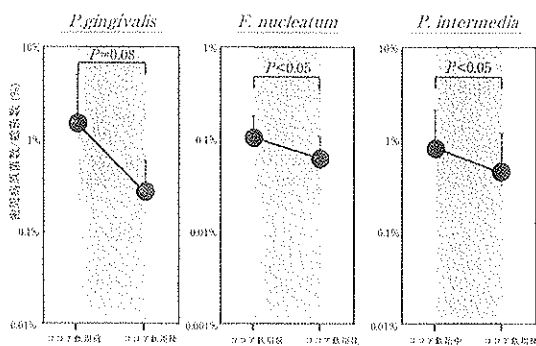


図8 口腔内総菌数の変化(18名の平均値)

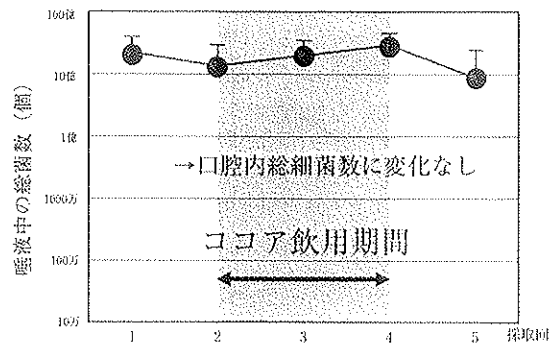
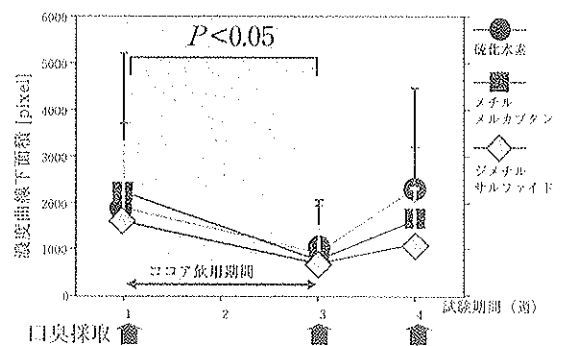


図10 呼気中の口臭原因物質成分の変化



ジメチルサルファイド) が閾値以上の値を示した8名に対して、ココア飲料の口臭に対する影響を見るために飲用前、2週間飲用後、さらに飲用を終了して1週間後の計3回簡易型口臭測定器 (Oral Chroma, Abilit社) で3種の揮発性硫黄化合物量を測定した。図10に明らかなようにココア飲用直後は飲用前に比べて全ての揮発性硫黄化合物量は低下し、飲用前後で有意差が認められたが、飲用終了1週間後には飲用前のレベルに戻っていた。このことからココアは飲用している期間は口臭原因物質のレベルを低下させうることを示唆された。

## 結論

ココアパウダーを用いて行った基礎的な試験 (*in vitro* 抗菌効果試験) および臨床試験の結果からココアが歯周病の予防と歯周病が原因で生じる口臭の抑制にきわめて有効な予防食品となりうることを示された。