



令和2年9月10日

報道機関 各位

東北大学大学院歯学研究科

口腔常在菌バイヨネラ属の健康増進への応用可能性 亜硝酸塩産生が細菌性口腔疾患や循環器疾患などの予防に寄与

【発表のポイント】

- ・ 亜硝酸塩は、抗菌作用・血管拡張作用があり、う蝕といった細菌性口腔疾患や循環器疾患などの予防効果をもたらすものと思われま
- ・ 口腔常在菌である口腔バイヨネラ属の亜硝酸産生活性が、嫌気、酸性、高乳酸、高硝酸塩環境で増強することが分かりました。
- ・ 口腔・全身の健康増進への応用可能性が期待されます。

【概要】

近年、口腔内細菌により、緑黄色野菜や唾液に含まれる硝酸塩が代謝されて抗菌作用・血管拡張作用を持つ亜硝酸塩が生じ、それが、う蝕といった細菌性口腔疾患や循環器疾患などの予防に寄与している可能性に、注目が集まっています。しかし、その産生に関する代謝的特徴は不明でした。

東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野の高橋信博教授、鷲尾純平講師および Dimas Prasetyanto Wicaksono 歯科医師らの研究グループは、口腔常在菌バイヨネラ属の持つ亜硝酸塩産生活性が酸性、嫌気、高乳酸、高硝酸塩環境で増強すると同時に、口腔バイヨネラ自身は亜硝酸塩に対し高い耐性を持つことを明らかにしました。これらの知見から、口腔バイヨネラ属による亜硝酸塩産生を高め、口腔と全身の健康増進に応用する方法が示唆されました。

本研究成果は、令和2年8月7日付で米国微生物学会誌の一つ Applied and Environmental Microbiology 誌に掲載されました。

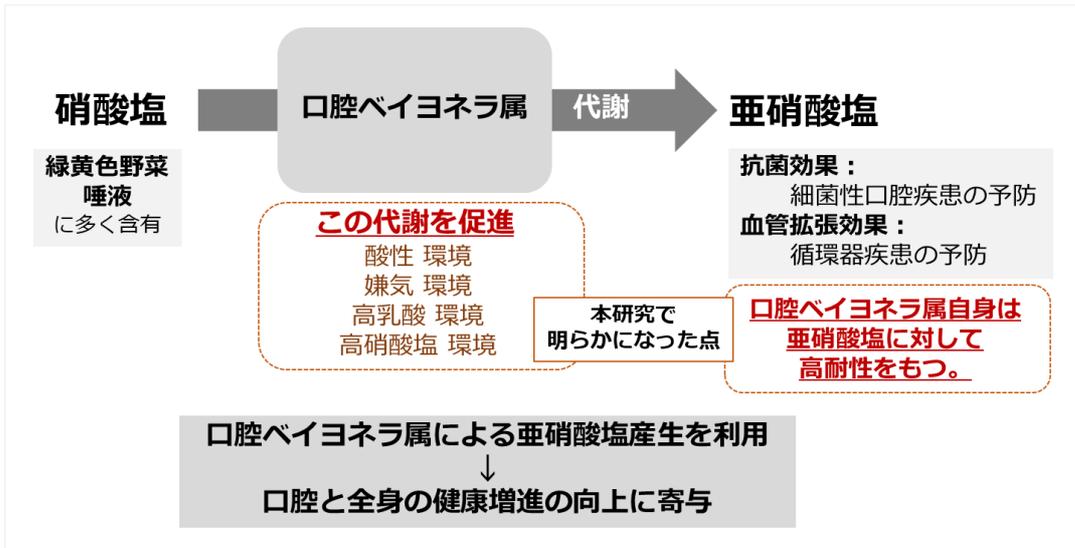


図 本研究の概要

【研究の背景】

近年、緑黄色野菜や唾液に多く含まれる硝酸塩が、口腔内細菌により代謝・還元され、亜硝酸塩が産生されることに注目が集まっています。

亜硝酸塩は、抗菌作用と血管拡張作用を持つことが知られており、口腔内細菌により産生された亜硝酸塩が、他の口腔細菌の増殖や働きを抑え、う蝕などの細菌性口腔疾患を抑制する可能性が考えられます。また、血管拡張効果により、狭心症や心筋梗塞などの全身疾患の予防に寄与している可能性も考えられています。

口腔バイヨネラ属は、そのような亜硝酸産生能（硝酸還元能）を持つ口腔細菌の一つとして知られています。また、健康な人の口腔内にも多く存在する常在菌です。しかしながら、その亜硝酸産生に関わる詳細な代謝機構、また常に変化する口腔環境により、その代謝が受ける影響についても不明でした。

そこで我々は、口腔内環境を想定した各種条件下（酸素濃度、pH、乳酸濃度、硝酸濃度等）で、口腔バイヨネラ属の亜硝酸産生活性がどのように変化するのかに関する代謝的特徴を、さらには口腔バイヨネラ自身に対する亜硝酸塩の影響について、詳細に明らかにすることを目的としました。

【方法】

本研究では、2種の口腔バイヨネラ属 (*Veillonella atypica*, *Veillonella parvura*) を使用しました。各菌を通法に従って培養後、菌懸濁液を作成しました。試験管に、菌懸濁液、基質 (1 mM 硝酸カリウム)、乳酸ナトリウム (0-50 mM)、pH を調整するための緩衝溶液 (pH 5 もしくは pH 7) を入れ、好気、嫌気の両環境下、37 度にて代謝させた際の亜硝酸産生量を、グリーンス試験を用いた比色法で測定しました。また、硝酸塩を加えた培地にて培養した菌を用いて、同様に

亜硝酸産生を測定し、その影響を検討しました。併せて、上記の代謝に伴い産生された有機酸などの測定を行い、代謝生化学的・化学量論的な探索を行い、その代謝機構について詳細な検討を行いました。さらに、亜硝酸塩による口腔バイオフィルム形成への影響を調べるため、上記 2 種の口腔バイオフィルム形成菌、及びう蝕関連菌であるミュータンスレンサ球菌 (*Streptococcus mutans*) を 1 種用いて、各培地に亜硝酸塩を添加 (0-100 mM) した際の増殖への影響を検討しました。

【結果】

口腔内環境を想定した各条件下において、硝酸塩を基質とした亜硝酸産生量を測定し、その産生活性を比較したところ、嫌気、酸性、高乳酸の各環境下にて、産生活性がより高くなりました。また、硝酸塩存在下で培養した場合に、亜硝酸産生活性が増加することも明らかとなりました。

さらに、代謝生化学的・化学量論的探索したところ、口腔バイオフィルム形成菌では、嫌気性の乳酸酸化反応と、硝酸塩から亜硝酸への還元反応が、電子の授受を介して共役していることが示されました。この機構により、乳酸存在下で亜硝酸産生活性が増加したものと考えられました。

また、亜硝酸塩による増殖への影響は、*Streptococcus mutans* では 0.5 mM 存在下で有意な抑制がみられたのに対し、口腔バイオフィルム形成菌では 20 mM 以上でようやく有意な抑制が確認され、口腔バイオフィルム形成菌自身の亜硝酸に対する耐性の高さが示されました。

【考察・結論・研究の意義】

本研究を通じ、口腔常在菌として健康な口腔内にも多く生息する口腔バイオフィルム形成菌による亜硝酸産生活性が、酸性、嫌気、高乳酸、高硝酸塩の環境下で増強するという代謝的特徴が明らかになりました。また、口腔バイオフィルム形成菌自身は、亜硝酸塩に対し高い耐性を持つことも明らかになりました。

歯科二大疾患の一つであるう蝕は、口腔細菌の糖代謝によって産生される乳酸などの有機酸が歯表面を酸性にして脱灰することで生じますが、口腔バイオフィルム形成菌はう蝕が生ずる環境、すなわち、乳酸が増え酸性化した環境で亜硝酸塩を効率的に産生すると考えられます。そして、産生された亜硝酸塩は口腔レンサ球菌などの酸産生菌を抑制し、う蝕予防に寄与するとともに、消化管から血流へ吸収されて循環器系の機能改善をもたらすことが期待されます。

本研究の知見から、口腔細菌による亜硝酸塩産生活性が合目的的に調節されていることが明らかにされました。さらに、これらの知見は、口腔・全身疾患の予防効果を高める方法の開発に有用であると考えられます。

【論文題目】

Title : Biochemical characterization of nitrite production from nitrate and its link with lactate metabolism in oral *Veillonella* spp.

Authors : Dimas Prasetianto Wicaksono, Jumpei Washio, Yuki Abiko, Hitomi Domon, Nobuhiro Takahashi

Journal: Applied Environmental Microbiology, 2020 Aug 7; AEM.01255-20.

URL: <https://aem.asm.org/content/early/2020/08/03/AEM.01255-20.long>

DOI: 10.1128/AEM.01255-20

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

口腔生化学分野

教授 高橋 信博(たかはし のぶひろ)

講師 鷺尾 純平(わしお じゅんぺい)

電話 022-717-8294 / 8295

E-mail: OEB@dent.tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

広報室

電話 022-717-8260

E-mail: den-koho@grp.tohoku.ac.jp