

## 研 究

3歳児およびその母親におけるミュータンスレンサ球菌の  
検出状況と乳歯う蝕との関連山口 直彦<sup>1)</sup>, 田中とも子<sup>2)</sup>, 佐藤 勉<sup>2)</sup>

## 〔論文要旨〕

3歳児(174名,うち2組双子)とその母親の唾液中ミュータンスレンサ球菌の検出状況と乳歯う蝕との関連性,および同菌の感染源について検討し,以下の結論を得た。

1. dt(未処置のう蝕乳歯), mt(う蝕による喪失乳歯)とft(処置されたう蝕乳歯)はいずれも0の者がもっとも多く, dmft(う蝕経験歯)では0の者が85.6%を占めていた。
2. 母児174組中, ミュータンスレンサ球菌が児のみ検出された群は18組, 母親のみが62組, 母児とも検出は19組, 母児いずれも未検出は75組であった。
3. 母児ともに検出された19組では, 9組で同一の遺伝子型を有する同菌が確認された。
4. dtあるいはdmftと児のミュータンスレンサ球菌比率, ftと母親のミュータンスレンサ球菌比率との間に有意な相関が認められた。
5. 乳歯う蝕に影響する要因についてのロジスティック回帰分析では, オッズ比が母親のミュータンスレンサ球菌比率で1.416, 現在歯数で1.321, 児におけるミュータンスレンサ球菌比率で1.283であった。

**Key words:** 乳歯う蝕, ミュータンスレンサ球菌, 母子感染

## I. 緒 言

う蝕の発症には, 口腔内のミュータンスレンサ球菌が関与しており, なかでもヒトにおいては *Streptococcus mutans* と *Streptococcus sobrinus* が主要な原因菌として考えられている<sup>1)~3)</sup>。さらに疫学的研究により, 両菌を共に保有している者はそれぞれを単独に保有している者に比べて, う蝕罹患のリスクが高いことも示されている<sup>4)~6)</sup>。通常, 胎児は無菌状態にあるが, 出生直後よりさまざまな細菌の感染を受ける。乳幼児の口腔細菌を調べた研究では, レンサ球菌に関するものが多くみられる。それらの報告によ

ると, 出生直後から乳幼児期にかけてもっとも高率に検出される細菌は, *Streptococcus mitis* であり, 歯が萌出していない対象者からはミュータンスレンサ球菌が検出されなかったという<sup>7)8)</sup>。Caufieldら<sup>9)</sup>はミュータンスレンサ球菌保有者の出現時期が生後19~31か月の1年間に集中しており, 多くは母親の唾液を介して児に伝播すると報告している。

従来, ミュータンスレンサ球菌の検出には, ChapmanのMitis-Salivarius(MS)寒天培地, TYCSB(trypticase yeast extract cystine agar)やGTSB培地などの基礎培地に, バシトラシン(0.2 units/ml)とスクロース(終濃度: 20%)

Relationship between the Detection of Mutans Streptococci in 3-year-old Children and Mothers and Dental Caries of Deciduous Teeth

[1661]

Naohiko YAMAGUCHI, Tomoko TANAKA, Tsutomu SATO

受付 04. 9.27

採用 05. 2.23

1) 日本歯科大学歯学部衛生学講座(歯科医師) 2) 日本歯科大学歯学部衛生学講座(研究職)

別刷請求先: 佐藤 勉 日本歯科大学歯学部衛生学講座 〒102-8159 東京都千代田区富士見1-9-20

Tel/Fax: 03-3261-8796

を添加した選択培地<sup>10)12)</sup>が一般に用いられてきた。しかし、それらの培地上にはミュータンスレンサ球菌以外のバシトラシン耐性レンサ球菌等が発育する場合もあることから、ミュータンスレンサ球菌の検出状況を把握する際に煩雑な同定操作を行う必要がある。また、ミュータンスレンサ球菌の母子感染を調べる方法として、培養法には限界がある。

本研究は、3歳児とその母親の唾液中ミュータンスレンサ球菌の検出状況と乳歯う蝕との関連性、および同菌の感染経路について検討した。分離培地には、最近著者らが開発した改良ミュータンスレンサ球菌選択培地<sup>13)</sup>を用い、検出された一部の細菌については遺伝学的な検索を行った。

## Ⅱ. 対象者および方法

### 1. 対象者

対象者は、平成14年12月から平成15年2月に神奈川県Y市が実施した3歳児健康診査を受診した男児76名、女児98名（うち2組双子）およびその母親172名である。調査を実施するにあたり、母親に調査目的と方法を文書と口頭にて説明し、同意を得た。なお、今回の対象者の主たる養育者はすべて母親であった。なお、本研究は日本歯科大学歯学部倫理委員会の承認を受けている。

### 2. 口腔内診査および唾液採取

児の口腔内診査は、ミラーと短針を用いて視診型で行い、dt（未処置のう蝕乳歯）、mt（う蝕による喪失乳歯）とft（処置されたう蝕乳歯）を求めた。唾液の採取は母親と児にそれぞれ滅菌綿棒を30秒間しゃぶらせることにより行った。滅菌綿棒を直ちに輸送用培地に入れ、3時間以内に培地へ接種し、培養を開始した。唾液の採取は、朝食または朝の口腔清掃後2時間以上経過した時点でを行った。

### 3. 細菌培養および菌数測定

唾液中のミュータンスレンサ球菌の算定には改良型ミュータンスレンサ球菌選択培地（ビー・エム・エル、東京）を、総レンサ球菌数の算定にはMS寒天培地（日本ベクトンディ

ッキンソン、東京）を使用した。細菌の綿棒からの回収は、綿棒を3mlの滅菌生理食塩水入りの試験管に移し、ダイレクトミキサーで15分間振動させることにより行った。ついで、この細菌浮遊液を滅菌生理食塩水で連続10倍段階希釈した。希釈液0.1mlをスパイラル装置（グンゼ産業、東京）で培地上に塗布し、アネロパックとアネロパック角型ジャー（三菱ガス化学、東京）を用いて、48時間の嫌気培養を行った。発育したコロニー数の計測はコロニーカウンター（吉川興業、東京）を使用して行った。なお、総レンサ球菌数に占めるミュータンスレンサ球菌の割合（以後、ミュータンスレンサ球菌比率とする）を算出した。

## 4. 検出細菌の遺伝学的検索

児とその母親から検出されたミュータンスレンサ球菌の遺伝子型解析を、厚生労働省感染症研究所に委託した。

## 5. 統計解析

dmftとミュータンスレンサ球菌比率の相関性およびミュータンスレンサ球菌比率の母児間における相関性については、ピアソンの相関係数で有意性を求めた。さらに、関連要因を分析する目的でロジスティック回帰分析を行った。いずれの分析においても、Wald検定により危険率5%未満にて統計学的有意差ありとした。

## Ⅲ. 結 果

### 1. dt, mt, ftおよびdmft

児における現在歯数は $19.8 \pm 0.67$ （16～20）本であった。表1にdt, mt, ftおよびdmftの度数分布を示した。dt, mtおよびftはいずれも0の者がもっとも多く、dmftでは0の者が

表1 dmftの度数分布表

| う蝕経験<br>歯数(本) | d   | m   | f   | dmf |
|---------------|-----|-----|-----|-----|
| 0             | 149 | 170 | 172 | 149 |
| 1, 2          | 12  | 4   | 1   | 12  |
| 3, 4          | 6   | 0   | 0   | 6   |
| 5, 6          | 6   | 0   | 1   | 5   |
| 7～            | 1   | 0   | 0   | 2   |

85.6%を占めていた。

## 2. ミュータンスレンサ球菌の検出状況

ミュータンスレンサ球菌の検出状況について、児のみ検出された群（A群）、母親のみ検出された群（B群）、母児ともに検出された群（C群）および母児ともに検出されない群（D群）の4群に分類した。その結果、D群（75組）が最も多く、ついでB群（62組）、C群（19組）、A群（18組）の順であった（図1）。

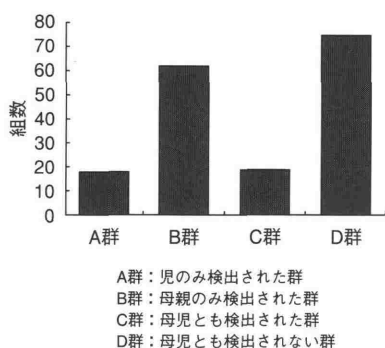


図1 ミュータンスレンサ球菌の検出状況

表2 児におけるミュータンスレンサ球菌比率の度数分布表

| 比率 (%)      | 人数               |
|-------------|------------------|
| 0 以上 0.4未満  | 162<br>(うち0は139) |
| 0.4以上 0.8未満 | 5                |
| 0.8以上 1.2未満 | 1                |
| 1.2以上 1.6未満 | 0                |
| 1.6以上 2.0未満 | 0                |
| 2.0以上14.0未満 | 6                |

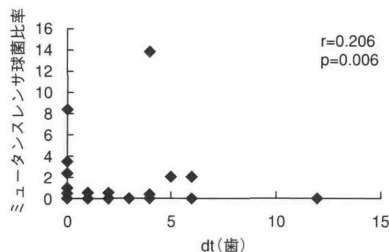


図2 dtと児におけるミュータンスレンサ球菌比率の関連

## 3. ミュータンスレンサ球菌の遺伝学的解析

母児ともにミュータンスレンサ球菌が検出されたC群の19組について、同菌の遺伝学的解析を行った。その結果、19組中9組（47.4%）において同一の遺伝子型を有するミュータンスレンサ球菌が確認された。

## 4. ミュータンスレンサ球菌比率

表2と表3に、母親と児におけるミュータンスレンサ球菌比率の算出結果を示した。児では比率0の者が全体の79.9%を占めていたが、母親では0の者が55.2%、0.01から0.20未満の者が31.4%であった。

## 5. dmftとミュータンスレンサ球菌比率との関連

乳歯う蝕とミュータンスレンサ球菌との関連を調べた結果、児ではdtとdmftにおいて、母親ではftにおいてミュータンスレンサ球菌比率との間に有意な相関が認められた（図2～4）。また、ミュータンスレンサ球菌比率は母児間で有意な相関がみられなかった（図5）。

表3 母親におけるミュータンスレンサ球菌比率の度数分布表

| 比率 (%)      | 人数              |
|-------------|-----------------|
| 0 以上 0.4未満  | 154<br>(うち0は95) |
| 0.4以上 0.8未満 | 8               |
| 0.8以上 1.2未満 | 5               |
| 1.2以上 1.6未満 | 1               |
| 1.6以上 2.0未満 | 0               |
| 2.0以上10.0未満 | 4               |

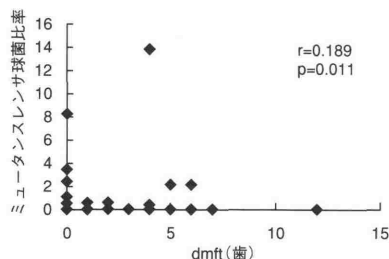


図3 dmftと児におけるミュータンスレンサ球菌比率の関連

## 6. ロジスティック回帰分析

児におけるミュータンスレンサ球菌比率との間に有意な関連が認められた dmft の有無について、影響を与えている要因を検討する目的で、ロジスティック回帰分析を行った。その結果、現在歯数、児におけるミュータンスレンサ球菌比率および母親におけるミュータンスレンサ球菌比率に関するそれぞれの粗オッズ比 (粗 OR) は、いずれも有意性はないものの 1 を超えていた。さらに、交絡の影響を除去するため、前述の 3 項目すべてを使用した多変量調整済み OR を求めたところ、もっとも大きい OR は母親に

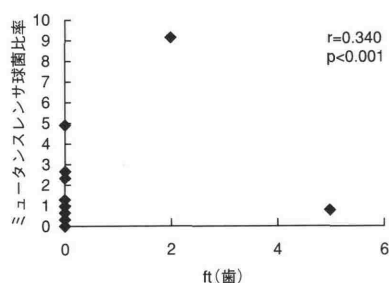


図4 ftと母親におけるミュータンスレンサ球菌比率の関連

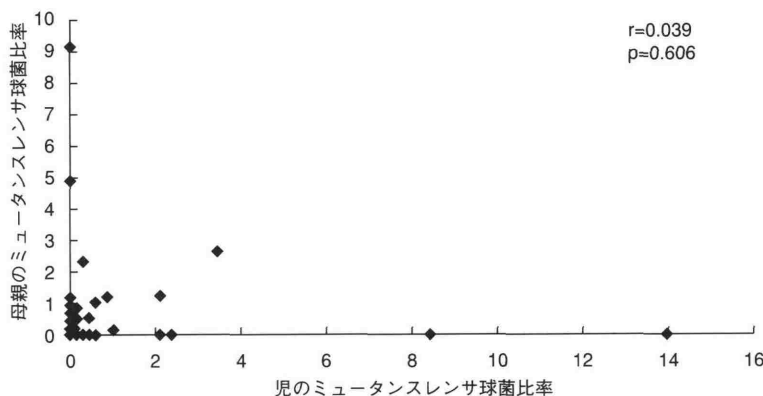


図5 児および母親におけるミュータンスレンサ球菌比率の関連

におけるミュータンスレンサ球菌比率の1.416, ついで現在歯数の1.321, 児におけるミュータンスレンサ球菌比率の1.283であった (表4)。

## Ⅳ. 考 察

う蝕は、歯面上に形成されるプラーク内に棲息する耐酸性乳酸発酵菌により歯が脱灰される感染症である。う蝕の発症や進行にはさまざまな要因が関与しているが、その初期段階は原因菌の歯面への定着である。乳児において *S. mutans* や *S. sobrinus* などのミュータンスレンサ球菌が検出される時期は、生後19～31か月の間に集中していることが報告されている<sup>9)</sup>。この時期における乳歯は未成熟であることから耐酸性が弱く、う蝕原因菌により脱灰されやすい。したがって、乳児では特にこの時期におけるミュータンスレンサ球菌に対する感染予防が重要となってくる。

今回の調査結果において、dmftが0の児は85.6%であり、平成11年歯科疾患実態調査<sup>14)</sup>における63.6%という結果に比べ明らかに高値であった。したがって、研究対象となった児集団の口腔状態は全国レベルでみると良好と考えら

表4 dmftに関連する要因のロジスティック回帰分析

|                     | 粗オッズ比 |             |         | 多変量調整済みオッズ比 |             |         |
|---------------------|-------|-------------|---------|-------------|-------------|---------|
|                     | OR    | 95%CI       | p-Value | OR          | 95%CI       | p-Value |
| 現在歯数                | 1.322 | 0.600～2.910 | 0.489   | 1.321       | 0.601～2.904 | 0.489   |
| 児におけるミュータンスレンサ球菌比率  | 1.302 | 0.964～1.757 | 0.085   | 1.283       | 0.962～1.711 | 0.090   |
| 母親におけるミュータンスレンサ球菌比率 | 1.445 | 0.935～2.234 | 0.097   | 1.416       | 0.931～2.155 | 0.104   |

れた。3歳児におけるミュータンスレンサ球菌の検出率に関する全国データはないが、本調査において78.7%の児から同菌が検出されなかったことや、ミュータンスレンサ球菌比率がdtおよびdmftと有意に相関していることから、この時期におけるミュータンスレンサ球菌の感染防止がう蝕予防につながることを示唆された。Alaluusuaら<sup>15)</sup>は、ブラーク中の総レンサ球菌数に占めるミュータンスレンサ球菌の割合が、カリエスフリー群に比べ重度う蝕群で高値を示すことを報告している。さらに安細ら<sup>16)</sup>は、口腔健康状態の改善後、対象者のブラーク量や唾液中総レンサ球菌数には全く変化がみられなかったが、ミュータンスレンサ球菌比率が低下することを報告している。また、近年開発された3DS (Dental Drug Delivery System) とよばれるう蝕予防を目的とした除菌療法<sup>17)</sup>も、ミュータンスレンサ球菌比率をコントロールするものである。したがって、う蝕リスク評価のためのミュータンスレンサ球菌レベルの算定には、ミュータンスレンサ球菌比率が有用と考えられた。

ミュータンスレンサ球菌の感染は主たる養育者が母親の場合、その唾液を介して児に伝播すると考えられている<sup>9)18)19)</sup>。本研究において、母児ともにミュータンスレンサ球菌が検出されたケースは19組(11%)であった。そこで、これらの対象者において検出されたミュータンスレンサ球菌について、遺伝学的な検索を行ったところ、9組が同一の遺伝型を有することが確認された。このことより、母児ともにミュータンスレンサ球菌が検出された児のおよそ半数は、母親から伝播されたものと考えられた。また、母親という主たる養育者以外からの感染が、母親からの場合と同様な確率で起こりうる可能性が示されたことから、感染予防策は多岐にわたる必要性があるものと考えられた。母親以外の感染源として、児が養育されている環境を考慮する必要があるとの報告<sup>20)23)</sup>もみられることから、今後、家族構成員、保育園や幼稚園への通園状況についても検討する予定である。

母親のミュータンスレンサ球菌数を児のう蝕リスクとの関連を調べた報告がある。それらによると、母親のミュータンスレンサ球菌レベル

が高い児ではう蝕罹患率が高く、母親のミュータンスレンサ球菌が低下すると児のう蝕発生に対するリスクが低減したという<sup>24)25)</sup>。一方、母親のう蝕罹患状況と児におけるミュータンスレンサ球菌数との間に関連がみられなかったという報告<sup>26)</sup>もみられる。その理由として、う蝕の発症にはミュータンスレンサ球菌の定着以外にも、口腔清掃習慣や糖分摂取状況が関連することをあげている。本研究においては、母親のミュータンスレンサ球菌比率と児のう蝕罹患状況との間に関連はみられず、母親と児のミュータンスレンサ球菌比率との間にも関連はなかった。本研究では、児における口腔清掃や食事摂取状況に関する分析を行っていないことから、児のう蝕罹患状況とミュータンスレンサ球菌比率に関するロジスティック回帰分析を行った。dmftと関連する因子として、児の現在歯数、母児におけるミュータンスレンサ球菌比率を取り上げ分析した結果、いずれにおいても1を超えるORが得られた。さらに交絡因子の影響を取り除く目的で、多変量調整済みのORを算出したところ、母親のミュータンスレンサ球菌比率で1.416、現在歯数で1.321、児のミュータンスレンサ球菌比率で1.283が得られた。このことから、母親におけるミュータンスレンサ球菌のコントロールは本人のみならず、児においてもそのう蝕予防に効果をあげるものと考えられた。

以上のことから、乳歯う蝕の予防には、口腔衛生習慣や糖分摂取に注意することに加え、母親におけるミュータンスレンサ球菌のコントロールや周囲環境からの感染予防が重要であることが示された。

## V. 結 論

1. 児のdt, mtおよびftはいずれも0の者があるよりも多く、dmftでは0の者が85.6%を占めていた。
2. 母児174組におけるミュータンスレンサ球菌の検出状況は、児のみ検出された群(A群)が18組、母親のみ検出された群(B群)が62組、母児ともに検出された群(C群)が19組および母児ともに検出されない群(D群)が75組であった。

3. 母児ともにミュータンスレンサ球菌が検出されたC群の19組について, 同菌の遺伝学的解析を行った結果, 9組に同一の遺伝子型を有するミュータンスレンサ球菌が確認された。
4. ミュータンスレンサ球菌比率については, 比率0の者が児で78.7%, 母親で53.5%であった。
5. 乳歯う蝕とミュータンスレンサ球菌の関連については, 児でdtあるいはdmftとミュータンスレンサ球菌比率, 母親でftとミュータンスレンサ球菌比率との間に有意な相関が認められた。
6. 乳歯う蝕に影響を与えている要因を検討する目的で, ロジスティック回帰分析を行った結果, 多変量調整済みのORは母親におけるミュータンスレンサ球菌比率で1.416, 現在歯数で1.321, 児におけるミュータンスレンサ球菌比率で1.283であった。

## 文 献

- 1) Shklar IL, Keene HJ, Simonson LG. Distribution and frequency of *Streptococcus mutans* in caries active individuals. J Dent Res 1972 ; 51 : 882.
- 2) Hamada S, Masuda N, Ooshima T, et al. Epidemiological survey of *Streptococcus mutans* among Japanese children : Identification and serological typing of the isolated strains. Jpn J Microbiol 1976 ; 20 : 33-34.
- 3) Masuda N, Tsutsumi, Sobue S, et al. Longitudinal survey of the distribution of various serotypes of *Streptococcus mutans* in infants. J Clin Microbiol 1979 ; 10 : 497-502.
- 4) Köhler B, Bjarnason S. Mutans streptococci, lactobacilli and caries prevalence in 11-and 12-year-old Icelandic children. Com Dent Oral Epidemiol 1987 ; 15 : 332-335.
- 5) Hirose H, Hirose K, Isogai E, et al. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. Caries Res 1993 ; 27 : 292-297.
- 6) Babaahmady KG, Challacombe SJ, Marsh PD, et al. Ecological study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. at sub site from approximal dental plaque from children. Caries Res 1998 ; 32 : 52-58.
- 7) Smith DJ, Anderson JM, King WF, et al. Oral streptococcal colonization of infants. Oral Microbiol Immunol 1993 ; 8 : 1-4.
- 8) Tappuni AR, Challacombe SJ. Distribution and isolation frequency of eight streptococcal species in saliva from pre dentate and dentate children and adults. J Dent Res 1993 ; 72 : 31-36.
- 9) Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants; evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res 1993 ; 72 : 37-45.
- 10) Gold OG, Jordan MV, van Houte J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. Arch Oral Biol 1973 ; 18 : 1357-1364.
- 11) Van Platenstein Helderma WH, Ijsseldijk M, Huis in't Veld JHJ. A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. Arch Oral Biol 1983 ; 28 : 599-603.
- 12) Tranzer JM, Borjesson AC, Kurasz L, et al. GSTB, an alternative to MSB agar. J Dent Res 1983 ; 62(Special Issue) : 241.
- 13) 井田博久, 花田信弘, 佐藤 勉, 他. ミュータンスレンサ球菌選択培地の改良と新検査システムの確立, 花田信弘監修, ミュータンスレンサ球菌の臨床生物学, クインテッセンス出版, 第1版, 東京:2003, 82-97.
- 14) 平成11年歯科疾患実態調査報告, 厚生労働省医政局歯科保健課編, 第1版, 東京:(財)口腔保健協会, 2001, 42.
- 15) Alaluusua S, Matto J, Gronroos L, et al. Oral colonization by more than one clonal type of mutans streptococcus in children with nursing-bottle dental caries. Arch Oral Biol 1996 ; 41 : 167-173.
- 16) 安細敏広, 栗野秀慈. ミュータンスレンサ球菌選択培地の改良と新検査システムの確立, 花田信弘監修, ミュータンスレンサ球菌の臨床生物学, 第1版, 東京:クインテッセンス出版, 2003 : 152-164.
- 17) Takeuchi H, Senpuku H, Matin K, et al. New dental drug delivery system for removing mutans streptococci from the oral cavity : effect on oral

- microbial flora. Jpn Infec Dis 2000 ; 53 : 211-212.
- 18) Berkowitz RJ, Turner J, Green P. Maternal salivary levels of *Streptococcus mutans* and primary oral infection. Arch Oral Biol 1981 ; 26 : 147-149.
- 19) Rogers AH. The source of infection in the intra-familial transfer of *Streptococcus mutans*. Caries Res 1981 ; 15 : 26-31.
- 20) Emanuelsson IR, Wang X. Demonstration of identical strains of mutans streptococci within Chinese families by genotyping. Eur J Oral Sci 1998 ; 106 : 788-794.
- 21) Kozai K, Nakayama R, Tedjosongko U, et al. Intrafamilial distribution of mutans streptococci in Japanese families and possibility of father-to-child transmission. Microbiol Immunol 1999 ; 43 : 99-106.
- 22) 香西克之. 保育園児におけるミュータンスレンサ球菌の伝播様式, 小児歯科臨床 2001 ; 6 : 27-33.
- 23) Tedjosongko U, Kozai K. Initial acquisition and transmission of mutans streptococci in children at day nursery. J Dent Child 2002 ; 68 : 284-288.
- 24) Köhler B, Anderson I. Influence of caries-preventive measures in mothers on cariogenic bacteria and caries experience in their children. Arch Oral Biol 1994 ; 39 : 907-911.
- 25) Isokangas P, Soderling E, Pienihakkinen K, et al. Occurrence of dental decay in children after maternal consumption of xylitol chewing gum, a follow-up from 0 to 5 years of age. J Dent Res 2000 ; 79 : 1885-1889.
- 26) 阿部晶子. 2歳6ヶ月児のう蝕発病と関連要因の追跡調査. 口腔衛生会誌 2004 ; 54 : 17-27.