原 著 論 文

全部床義歯付着細菌叢の細菌構成

星野 悦郎 佐藤ミチ子

Predominant Microorganisms of plaque on Complete Dentures

Etsuro Hoshino and Michiko Sato

Abstract : The aim of this study is to clarify the microbial constitution of denture plaque with the adoption of the anaerobic glove box system. Anaerobic incubation of the samples taken from five edentulous patients (74~80 yr-old) always gave a higher recovery than aerobic one, suggesting that conditions in the plaque were anaerobic. Of total 185 isolates, 90 (49%) were obligate anaerobes, and the predominant bacteria were among *Veillonella* (23%), *Bifidobacterium* (7%), *Lactobacillus* (5%), *Actinomyces* (5%) and *Eubacterium* (3%). Among facultative isolates (51%), *Streptococcus* (31%) and *Lactobacillus* (16%) were common. No strains of *Candida* were isolated. The bacterial composition of denture plaque was somewhat different from that of plaque on teeth.

Key words : anaerobes, denture plaque, obligate anaerobes, oral bacteria, oral microorganisms

緒 言

義歯床に接する粘膜面に炎症が生ずる、いわゆる義歯性口内炎の主たる原因の1つに、義歯に付着する微生物の作用がある。その病原菌として *Candida* が注目されている¹⁻⁵⁾が、義歯付着微生物叢を構成する主たるものは細菌であること^{3,6,7)}が明らかにされている。一方、口腔内で生息する微生物の種類は、口腔内の状況によって変化すると考えられ、特に嫌気性菌に対する大きな影響が、歯の萌出と喪失によってもたらされると考えられる。義歯付着微生物叢に関する従来の報告では、好気的な実験方法を用いているものが多く、空気にさらされると傷害される偏性嫌気性菌が無視されていた可能性がある。そこで、偏性嫌気性菌に留意した実験方法により、

義歯性口内炎の病因の検討のため、さらには、口腔各部の微生物叢の検討の一環として、義歯付着微生物叢の菌構成を検討した。

実験材料と実験方法

全部床義歯に付着した細菌叢は、本学歯科補綴科外来患者(74~80歳の無歯顎の男女5人)から採取した。付着した微生物叢に接する粘膜は、臨床的に正常であった。微生物叢を付けたまま、嫌気ガスを充満させたガラス容器に入れ、乾燥しないように湿度を高めた状態で、実験室に運び、できるだけ早く嫌気グローブボックスに搬入した。義歯床のある領域の微生物叢を、滅菌したスクレーラーなどを用いて全層にわたって採取し、表層のみ採取することのないように留意し、試料とした。重量測定(2.4~10.5 mg)後、ガラスホモゲナイザーを用いて、1 mlの滅菌緩衝液中で、均一懸濁液とした。連続10倍希釈後、希釈液の0.1 mlを、BHI-(綿羊)血液寒天培地⁸⁾に接種し、嫌気グローブボックス中、および5%炭

新潟大学歯学部口腔細菌学教室(主任:星野悦郎教授)
Department of Oral Microbiology, Niigata University
School of Dentistry (Director: Prof. Etsuro Hoshino)
昭和63年1月22日受付

酸ガスを加えた大気中で、培養した。また、微生物叢の内で多数を占める菌を同定する目的で、適切に希釈された試料を嫌気培養して得られたコロニーすべてを分離した。菌種の同定は、VPI および Bergey の manual¹⁸⁻¹¹⁾ に従った。

結 果

すべての試料で 1 mg 当りの全生菌数は、嫌気培養によるもの (100%) が、好気培養によるもの (3~88%, 平均 50%) よりも有意に多く (Paired t test, $p < 0.05$, Table 1), 義歯床に付着した細菌の圧倒的多数が新鮮分

Table 1 Bacterial recovery from plaque of complete dentures

	(colony forming units/mg wet sample)	
	Anaerobic incubation	Aerobic incubation
1.	4.3×10^7	1.1×10^6
2.	1.3×10^8	8.2×10^7
3.	1.9×10^8	8.2×10^7
4.	8.2×10^6	7.2×10^6
5.	1.8×10^8	9.7×10^7

* Significant ($p < 0.05$; paired t test)

Table 2-1 Bacteria isolated from plaque of complete dentures

Total isolates	195 (100%)
Obligate anaerobes	90 (49%)
<i>Veillonella</i>	45 (23%)
<i>Bifidobacterium</i>	14 (7%)
<i>B. adolescentis</i>	11
<i>B. bifidum</i>	2
<i>B. sp.</i>	1
<i>Lactobacillus</i>	10 (5%)
<i>L. cateniforme</i>	2
<i>L. crispatus</i>	2
<i>L. plantarum</i>	6
<i>Actinomyces</i>	9 (5%)
<i>A. israelii</i>	5
<i>A. meyeri</i> (like)	3 (1*)
<i>A. odontolyticus</i>	1
<i>Eubacterium lentum</i>	5 (3%)
<i>Propionibacterium avidum</i> like	2* (1%)
<i>Peptostreptococcus micros</i>	1 (0.5%)
<i>Ruminococcus flavefaciens</i> like	1* (0.5%)
Unidentified	3 (2%)

* No. of isolates with slightly atypical characteristics

Table 2-2 Bacteria isolated from plaque of complete dentures

Total isolates	195 (100%)
Facultatives	95 (51%)
<i>Streptococcus</i>	60 (31%)
<i>S. faecalis</i> (like)	2(1*)
<i>S. facium</i> (like)	1(1*)
<i>S. milleri</i> (like)	11(1*)
<i>S. mitior</i>	1
<i>S. mutans-group</i> like	16*
<i>S. salivarius</i>	29
<i>Lactobacillus</i>	31 (16%)
<i>L. casei</i> ss <i>casei</i>	28
<i>L. plantarum</i>	2
<i>L. brevis</i>	1
<i>Actinomyces</i>	3 (2%)
<i>A. israelii</i>	2
<i>A. odontolyticus</i>	1
<i>Staphylococcus</i> sp.	1 (0.5%)

* No. of isolates with slightly atypical characteristics

離時に偏性嫌気性であった。これは、義歯床付着細菌叢が嫌気的な環境下にあることを示唆している。優勢菌として分離した菌種の同定結果を Table 2 に示した。ここでは、偏性嫌気性菌を嫌気グローブボックス内でしか生育できないものと厳密に定義し、新鮮分離時に偏性嫌気性を示しても、分離同定の過程で、5% 炭酸ガス加大気中で生育不可であることが 3 回以上確認できないものは通性嫌気性菌とした。総計 185 株のうち偏性嫌気性菌は 90 株 (49%) で、*Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* が多く検出された。一方、通性嫌気性菌は 95 株 (51%) で、*Streptococcus* (特に, *Str. salivarius*), *Lactobacillus* が多かった。*Candida* は、分離菌の中には見られなかった。そこで試料原液 0.1 ml を選択培地 (カンジダ GS 培地; 栄研化学) に接種し好気培養したところ、5 例中 3 例で全くコロニーが生育せず、2 例で総菌数の 0.005% および 0.000003% (試料湿重量 1 mg 当り, 390 および 6 個のコロニー) を占めていた。

考 察

偏性嫌気性菌に留意した実験によれば、歯垢、唾液、歯周ポケット内容液、う蝕象牙質病巣、感染根管病巣、根尖病巣、骨髄炎病巣などに生息する細菌の圧倒的多数が、偏性嫌気性であることが示されており¹²⁻¹⁴⁾、今回の研究で義歯床付着細菌叢でもその半数が偏性嫌気性菌で

あることが示された。Theilade ら⁷⁾は、全部床義歯に付着する細菌は歯の表面の歯垢と同様であるとしているが、比較に用いられている従来の歯垢細菌の分析結果では、主に通性嫌気性の *Streptococcus*, *Actinomyces* で構成され、*Lactobacillus* はごく僅かであると考えられてきた。しかし、近年の偏性嫌気性菌に留意した実験によれば、空気に曝されることによって傷害されるような偏性嫌気性菌が歯垢に多いことが示されている。したがって、分析方法の異なる結果を比べるべきでない。著者が今回と同様な偏性嫌気性菌に留意した方法で歯垢細菌叢の構成細菌を分析した結果¹⁴⁾ (試料数, 12) と、今回の結果を比較してみると、1. 新鮮分離時に偏性嫌気性を示すものが、どちらでも圧倒的多数を占めている。しかし、分離菌に占める厳密な意味での偏性嫌気性菌の割合は、歯垢では 72% であるが、義歯付着細菌叢では、49% とその比率が低く、通性嫌気性菌の占める割合が高い。2. 歯垢で多くみられる偏性嫌気性の *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Lactobacillus* が少ない。しかし、歯垢と異なり、通性嫌気性の *Lactobacillus* が比較的多く検出された。3. 通性嫌気性菌の *Streptococcus* が多いのは共通していたが、義歯付着細菌で多く見られた *Str. salivarius* は、歯垢ではほとんど見られない。このような点で、全部床義歯付着細菌叢の細菌構成は、歯垢とは、多少異なっていると思われ、むしろ唾液由来の細菌で構成されている可能性が高い。特に、上記 3. の特徴は、従来唾液や舌苔に見られるものである。厳密な比較のためには唾液や舌苔の細菌構成について偏性嫌気性菌に留意した再検討が必要であろう。なお、*Veillonella* の species は、同定に DNA の類似性の検討が必要なため未定であるが、その性状から⁸⁻¹⁰⁾、*V. parvula* と思われる。

細菌付着物が、義歯床粘膜面に大量に存在すれば、歯頸部の歯垢が歯肉炎の発症に関与している¹⁵⁾ように、これに接する粘膜に炎症を起こしうると考えられる。義歯性口内炎の病因と考えられてきた *Candida* は、今回の研究ではほとんど見られず、たとえ義歯に付着した *Streptococcus* の上に *Candida* が付着しやすい¹⁶⁾としても、付着 *Candida* の絶対数は少ない^{3,6,7)}と思われる。したがって、今後 *Candida* の特異的な病原性の探求とは別に、細菌性の病因の検討が必要であろう。

結 論

義歯性口内炎の病因の検討、および全歯喪失後の口腔内細菌叢の検討の目的で、無歯顎患者 5 人の全部床義歯

粘膜面付着微生物を調べた。(1) 嫌気グローブボックスシステムを用い、できるだけ空気にさらさないように処理した試料中の圧倒的多数の細菌は、新鮮分離時に偏性嫌気性を示した。また、多数を占める菌として分離した細菌 (計 195 株) の約半数 (90 株) が、厳密な意味での偏性嫌気性菌であり、*Veillonella*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* が多く検出された。一方、通性嫌気性菌では *Streptococcus* (特に *Str. salivarius*), *Lactobacillus* が多かった。*Candida* は、分離菌の中にはみられなかった。(2) 同様な方法によって分析された歯垢細菌叢の細菌構成とは、多少異なっていた。

科学研究費 (星野, 一般 A, 61440076) による本研究の一部への援助、試料採取に際しての本学歯科補綴科の協力に感謝致します。また、論文作成に当たり本学部石岡教授にご助言頂いたことを付記します。

文 献

- 1) Danvenport, J.C.: The oral distribution of *Candida* in denture stomatitis, Br Dent J, 125: 151~156, 1970.
- 2) Olsen, I.: Denture Stomatitis. Occurrence and distribution of fungi, Acta Odontol Scand, 32: 329~333, 1974.
- 3) Budtz-Jørgensen, E.: The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis, Scand J Dent Res, 82: 151~190, 1974.
- 4) 玉本光弘: デンチャーブラークのカンジダに関する研究 (第 1 報) デンチャーブラークのカンジダ叢と義歯性口内炎との関係, 広大歯誌, 16: 242~249, 1984.
- 5) Shakir, B.S., Martin, M.V. and Smith, C.L.: Induced palatal candidosis in the wistar rat, Arch oral Biol, 26: 787~793, 1981.
- 6) Budtz-Jørgensen, E., Theilade, E., Theilade, J. and Zander, H.A.: Method for studying the development, structure and microflora of denture plaque, Scand J Dent Res, 89: 149~156, 1981.
- 7) Theilade, E., Budtz-Jørgensen, E. and Theilade, J.: Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with healthy oral mucosa, Arch oral Biol, 28: 675~680, 1983.
- 8) Holdeman, L.V., Cato, E.P. and Moore, W.E.C.: Anaerobe Laboratory Manual, 4th Ed., Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 1977.
- 9) Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974.

- 10) Krieg, N.R. and Holt, J.G. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1984.
- 11) Sneath, N.S., Mair, N.S., Sharp, M.E. and Holt, J.G. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1986.
- 12) Hoshino, E., Echigo, S., Yamada, T. and Teshima, T. : Isolation of *Propionibacterium acnes* from sclerosing osteomyelitis of mandibles, *Jpn J Oral Biol*, 26 : 306~309, 1984.
- 13) Hoshino, E. : Predominant obligate anaerobes in human carious dentin, *J Dent Res*, 64 : 1195~1198, 1985.
- 14) 星野悦郎, 佐藤ミチ子 : 口腔領域からの *Eubacterium* の分離, *歯基礎誌*, 29 (抄録集) : 162, 1987.
- 15) L, H., Theilade, E. and Jensen, S.B. : Experimental gingivitis in man, *J Periodontol*, 36 : 177~187, 1965.
- 16) Verran, J. and Motteram, K.L. : The effect of adherent oral streptococci on the subsequent adherence of *Candida albicans* to acrylic *in vitro*, *J Dent*, 15 : 73~76, 1987.