

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792267

研究課題名(和文)小児の朝型・夜型傾向とう蝕発生：生活習慣調査と遺伝子発現解析

研究課題名(英文)Morningness-eveningness and caries risk in children

## 研究代表者

西出 真也(Nishide, Shin-ya)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：40451398

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：生活習慣の乱れはリズム障害を引き起こし、さらには様々な疾患のリスクを高めると考えられる。本研究は生活リズムがう蝕発症に及ぼす影響を明らかにする目的で行った。16歳以下の小児に対し記録用紙を配布した調査により、夕食の時刻および就寝時刻が遅い子ほどう蝕が多い結果が得られた。唾液中ミュータンスレンサ球菌数を定量すると、遅い時間帯ほど菌数が多く、う蝕発生リスクが時刻に依存して変化することが示された。以上の結果を日本小児歯科学会にて発表した。また英文学術雑誌に投稿すべく現在論文を執筆中である。今後は今回得られたデータを患者さんや歯科医療関係者をはじめ広く社会に伝えていきたい。

研究成果の概要(英文)：Disruption of circadian rhythms causes various disorders such as metabolic and inflammatory diseases. I did this project to examine the effects of temporally habits of life on the development of dental caries. I had children under sixteen years old record the time of meal, get-up and go-to-bed for a week. The number of caries in their mouth shows significant correlations with time of dinner and time of go-to-bed. The number of S. Mutans, a pathogenic bacterium for dental caries, in saliva varied in the time of day, suggesting the physiological mechanism of the development of caries in children who stay up and eat late at night. I gave presentations the results above in the conference of the Japanese society of pediatric dentistry. I prepare for submission to an academic journal and I would also like to inform the result to dentists, co-dental stuffs and others in the world.

研究分野：小児歯科学

キーワード：う蝕予防 概日リズム 生活習慣

### 1. 研究開始当初の背景

近年、社会の24時間化が進み、深夜であっても買物や外食をし、テレビやインターネットなどの娯楽を一日中利用することができるようになった。このことは多様な生活スタイルの選択を可能にしたが、一方で生活リズムの乱れは不眠症など健康障害の原因となっている。夜型の生活習慣は、特に小児期においてう蝕発生のリスクを高めると考えられるが、これまで実験的に示した研究はない。夜間の糖類摂取はう蝕を誘発するが、その原因の一つとして概日リズムによる夜間の唾液分泌量の低下が挙げられる。

### 2. 研究の目的

概日リズムとは24時間周期で変化する地球環境に適応するため、ホルモンや唾液分泌等にみられる約24時間周期のリズムであり、哺乳類では視床下部視交叉上核にその中枢が存在する。周囲の環境に対する同調は、主として網膜から視交叉上核への明暗情報の伝達により達成されるが、食事スケジュールや新生児期における母親の影響など視交叉上核を介さない適応機構も存在する。概日リズムの環境リズムからの乖離は睡眠障害の原因となることが知られている。一方、唾液腺の時計遺伝子発現にはリズムがあり、食事スケジュールに対して適応することや、視交叉上核リズムにより自律神経を介して支配されることが示されている。唾液分泌リズムは唾液腺リズムにより制御されると考えられることから、申請者は概日リズムの攪乱はう蝕の発生を誘発するのではないかと考えた。

申請者はこれまでに、発達期マウスのリズムは外的刺激に対する反応性が高いこと、新生児ラットのリズムは母親による保育の影響を受けること、ラット時計遺伝子リズムは発育に伴い変化し、離乳期において成獣のパターンが形成されることを明らかにしてきた。これらの結果から、小児は成人より就寝・起床や食事の時間など環境の影響を受けやすく、概日リズムが攪乱されやすいと考えられる。

### 3. 研究の方法

#### 実験1

北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科外来を受診した16歳以下の全身疾患のない患者229名を被験者とした。研究は当院自主臨床研究審査委員会の審査・承認の下で行った。

生活習慣記録用紙 No. 66

月/日 時 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24時 曜日

睡眠  
 食事  
 歯磨き (歯磨き粉を歯に記入)  
 歯磨き (歯磨き粉が水中に記入)

記入上の注意

- ・食事や間食が1時間以上にわたった場合は、おおよそ中央の時刻を記入してください。
- ・飲み物だけの食事、間食は記入不要です。
- ・寝たままの状態で起き上がって活動しない限り、睡眠時間に含めてください。
- ・遠足などの学校行事、旅行、パーティ、普段しない運動など、特別な行事があった場合は適宜欄に記入してください。

記入欄

< 図 1 > 被験者に配布した記録用紙

本研究への参加にあたり患者の保護者に口頭で説明の上、自由意思による同意が得られた者に対して調査を行った。生活習慣記録用紙を配布し、就寝時刻、起床時刻、食事時刻、間食時刻とその内容、歯磨きの時刻・時間を8日間、長期休暇や旅行、学校行事のない時期に家庭で記録するよう依頼した。

#### 実験2

北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科外来を受診したHellmanのIIAおよびIIC期の全身疾患のない患者20名を被験者とした。研究は当院自主臨床研究審査委員会の審査・承認の下で行った(承認番号:自013-393)。本研究への参加にあたり患者の保護者に口頭および書面で説明の上、自由意思による同意が得られた者に対して調査を行った。

被験者に唾液採取用容器、漏斗、採取時刻記録用紙および輸送用発泡スチロール箱、保冷剤、宅配便の着払い伝票を渡し、唾液採取日を打ち合わせの上、自宅に持ち帰ってもらった。

被験者の家庭において夕食直後を1回目とし以後1時間おきに就寝まで唾液を採取してもらった。唾液採取後は被験者宅の冷蔵庫にて保管してもらい、翌朝当日中に到着するように大学に配送してもらった。

唾液サンプル到着後ただちにTYCSB培地およびGAM寒天培地に播種し、それぞれ全嫌気性菌およびミュータンスレンサ球菌を37にて嫌気培養した。培地を24時間後および48時間後にデジタルカメラで撮影し、コロニー計測ソフトにより解析した。



< 図 2 > 唾液分析システム概要

#### 4. 研究成果

##### 実験 1.

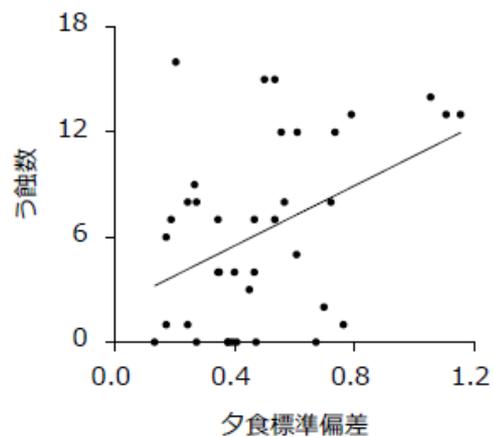
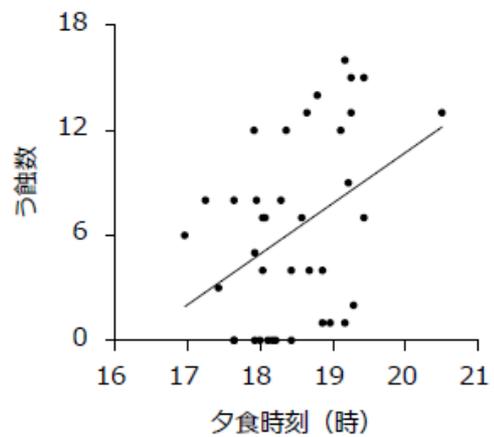
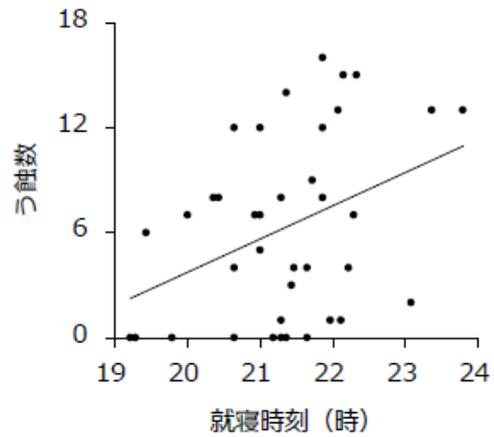
79 名の被験者より有効な回答を得た（平成 25 年 1 月 30 日現在）。被験者の内訳は、年齢  $7.2 \pm 3.5$  歳（平均値  $\pm$  SD、1~16 歳）；男児 48 名、女児 31 名；居住地は札幌市 72 名、その他 7 名であった。すべての回答項目において年齢、性別、回答時期による差は認められなかった。3 食のうちいずれかを欠食しているものは 17 名であった。

年齢と睡眠時間帯・睡眠時間の間に相関が認められ、高年齢になるにつれて夜型になり、睡眠時間が短くなる傾向があった。

次に、Hellman の IIA および IIC 期の被験者 41 名（2~7 歳；小学生 4 名、幼稚園児 16 名、保育園児 12 名、その他・不明 9 名）の記録項目と齲蝕経験歯数の関係を解析した。その結果、睡眠時間、夕食時刻、間食回数は齲蝕経験歯数と有意な相関があった（表 1、図 3）。また、夕食時刻と間食回数の間には有意な相関は認められなかった。

	平均値 $\pm$ SD	$\rho$ 値	P 値
睡眠時間帯 (時)	$2.7 \pm 1.1$	0.300	0.057
睡眠時間 (時間/日)	$9.9 \pm 0.8$	-0.308	0.050
夕食時刻 (時)	$18.5 \pm 0.8$	0.349	0.025
間食回数 (回/日)	$1.2 \pm 0.5$	0.411	0.008
歯磨き回数 (回/日)	$1.7 \pm 0.7$	0.023	0.889
歯磨き時間 (分/日)	$5.0 \pm 3.3$	-0.075	0.656

< 表 1 > 各生活習慣の齲蝕経験歯数に対する相関



< 図 3 > 生活習慣とう蝕数の相関

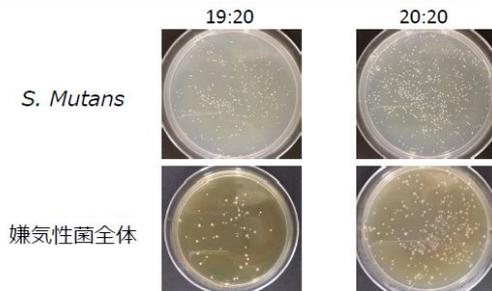
##### 実験 2

18 名の被験者より分析可能な唾液サンプルを得た。被験者の内訳は、年齢  $5.4 \pm 1.9$  歳（平均値  $\pm$  標準偏差、以下同様、年齢範囲 2~10 歳）；男児 14 名、女児 4 名；IIA 期 13 名、IIC 期 5 名；居住地は全て札幌市であった。初回採取時刻は  $19.3 \pm 0.6$  時、採取回数は 4 回 1 名、3 回 10 名、2 回 7 名であった。dft は  $5.0 \pm 4.8$ 、齲蝕罹患率は 13 名、このうち歯髄処置経験者は 8 名であった。

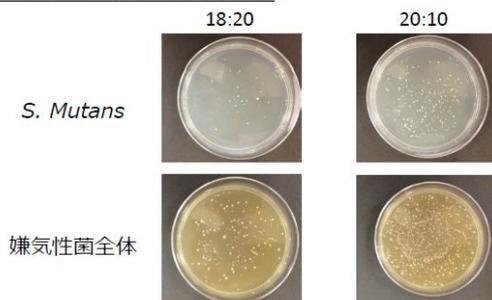
全被験者データを用いた唾液採取時刻とコロニー数の相関分析の結果、24 時間後および 48 時間後の GAM 培地（全嫌気性菌）のコロニー数と唾液採取時刻の間に有意な正の相関

が検出された。TYCSB 培地（ミュータンスレンサ球菌）のコロニー数と採取時刻に有意な相関は検出されなかった。また、歯髄処置経験者のみの解析では TYCSB 培地のコロニー数が時刻と共に増加したのに対し、歯髄処置未経験者は相関を示さなかった<図4、5>。

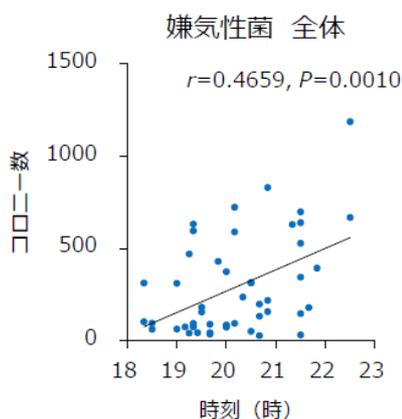
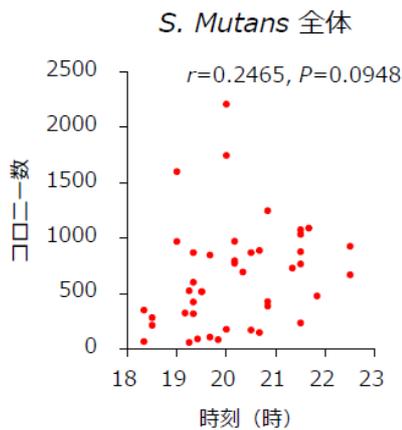
例1：7歳男児 う蝕数=12（重度う蝕あり）



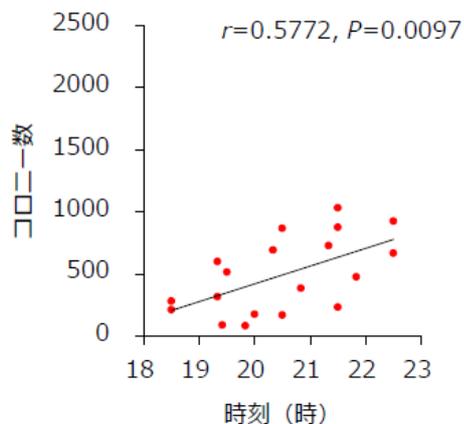
例2：7歳男児 う蝕数=0



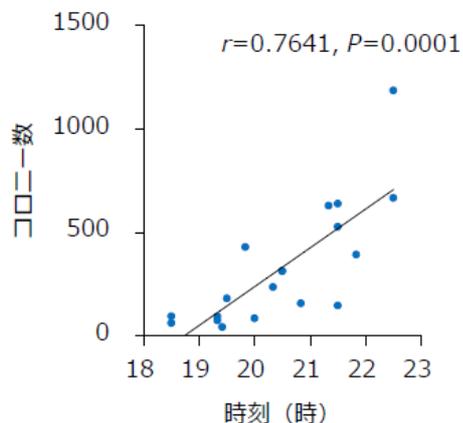
<図4>唾液中ミュータンス菌培養結果



S. Mutans 重度う蝕あり



嫌気性菌 重度う蝕あり



<図5>唾液中ミュータンス菌定量結果

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 2件)

1. 西出 真也、本郷 博久、吉原 俊博、八若 保孝. 唾液中ミュータンス菌の日内変動. 第53回日本小児歯科学会大会 5月21~22日 広島国際会議場、広島県広島市、2015.
2. 西出 真也、大島 昇平、星野 恵、遠藤 一樹、吉原 俊博、八若 保孝. 小児の朝型・夜型傾向と齲蝕発生. 第51回日本小児歯科学会大会 5月23~24日 長良川国際会議場、岐阜県岐阜市、2013.

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

西出 真也 (NISHIDE, Shin-ya)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：40451398