

論 文 内 容 要 旨

齶蝕細菌叢をシミュレートした
バイオフィルムモデルの開発
—細菌叢に及ぼすスクロースの影響—

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

う蝕制御修復学講座 石澤 将人

(指 導 : 向 井 義 晴 教 授)

論文内容要旨

本研究では多種細菌から構成される *ex vivo* ポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルを使用して培養期間や糖供給のタイミングによる pH, ならびに細菌叢の変化を観察し, 口腔内環境に近似した活動性・非活動性齲蝕モデル開発の可能性を検討した.

バイオフィルム形成は Exterkate らの方法に従い, 成人刺激時唾液を用いてガラス円板上で行なった. すなわち, 0.2%スクロース含有 unbuffered McBain 培養液に刺激唾液を加えて嫌気条件下で 10 時間培養した後, 5 群に分けてさらに培養を継続した. cont, A および C 群は, 0.2%スクロース含有培養液で, それぞれ 96, 192 および 288 時間まで培養した. B および E 群はスクロース含有培養液を用いて, 96 時間培養を行った後, スクロース非含有培養液でそれぞれ 192 および 288 時間まで培養を行った. D 群は, スクロース含有培養液を用いて 96 時間培養を行った後, スクロース非含有培養液で 192 時間まで, さらに 288 時間まではスクロース含有培養液で培養を行った. 各群において交換時に回収した使用済み培養液の pH を測定した. また各試料の全細菌数を real-time QPCR 法により分析した. さらに各サンプル由来の 16S rDNA から, 次世代シーケンサーを用いて, バイオフィルム構造の比較, 検討を行なった.

培養液の pH は, cont, A および C 群では 4.1~4.4 で推移し, 培養時間の経過による変動は認められなかった. スクロース非含有の培養液に交換した B 群では pH は速やかに応答し 6.2~6.5 で推移した. D 群においてはスクロースの供給を再開させたことにより 4.1~4.4 となり, E 群ではスクロースの供給を絶ち続けたことにより 6.2~6.5 で推移した. 全細菌数は C, D および A 群は他群に比較して高く, E 群は顕著に低かった. *S. mutans* は cont 群のみで認められ (2.42×10^6), その他の群では検出限界以下であった. *Veillonella* 属は B 群 (2.18×10^4) および D 群 (1.06×10^9) のみに認められ, D 群で顕著に高かった. cont, A, および C 群において菌叢の 90%以上を *S. salivarius* が占めた. B, D, および E 群において *S. parasanguinis* が顕著に増加した. 特に E 群では構成している菌叢の 90%以上を占めた. B 群では *G. adiacens*, D 群では *Veillonella* 属(*V. dispar*, *V. tobetsuensis*)の割合が顕著に増加した. また, この 2 群では cont, A, C および E 群と比較して菌叢の *Streptococcus* 属が占める割合が減少していたものの, それらを除くすべての群において *Streptococcus* 属が主な菌叢を構成していた. 主成分解析及びクラスター解析において B, D, および E 群 は他群と比較して異なる細菌叢を示した.

多菌種培養のバイオフィルムモデルを使用して初期齲蝕誘発環境をシミュレートした実験系においてスクロースの添加・非添加により齲蝕関連細菌と歯周病関連細菌の優位性が細かく変化することが確認されたことから, 今後は, 本

モデルの基質にエナメル質や象牙質を使用して実際の脱灰現象を再現し，齲蝕予防材料の効果や使用するタイミングの検討，ならびに効果的な再石灰化療法の開発を推進できると考えられた。