

最終試験の結果の要旨

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 将人に

対する最終試験は、主査 木本 茂成 教授、副査 三辺 正人 教授

副査 合田 征司 教授 により、論文内容ならびに関連事項につき口頭試問を

もって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 木本 茂成 教授

副 査 三辺 正人 教授

副 査 合田 征司 教授

論 文 審 査 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)

主 査 木本 茂成 教授

副 査 三辺 正人 教授

副 査 合田 征司 教授

論文審査要旨

本論文は、口腔内環境に近似した齲蝕モデルを作成する一環として、多種細菌で構成されるポリマイクロバイアルバイオフィームモデルを使用して、その培養期間や糖供給のタイミングによる pH と細菌叢の変化を観察した論文である。

歯冠部齲蝕の減少傾向が認められる一方で、増加傾向を示す根面齲蝕の発症メカニズムは十分に解明されていない。本研究は、多菌種で構成されるバイオフィームを使用して、培養期間、糖供給のタイミングによる pH の変化、さらに細菌叢の変化を観察することで、口腔内に近似した環境下における活動性齲蝕・非活動性齲蝕病原性バイオフィームモデルの構築を目的として行われた。このような口腔内の環境を再現したモデルの構築は、科学的根拠に基づく根面齲蝕の予防や治療に有効な評価法の開発につながると期待される。ポリマイクロバイアルバイオフィームに関する研究の進展は、今後の歯科臨床に貢献することが明白であり、その研究目的は高く評価できる。

本論文で用いられた成人刺激唾液を用いたポリマイクロバイアルバイオフィームモデルは、Exterkate らによる先行研究において確立された方法である。口腔内環境を再現することを目的として、異なるタイミングでスクロースを添加し、pH の変化、real-time QPCR 法による全細菌数の分析、さらに次世代シーケンサーによるバイオフィーム構成の比較・検討を行っている。また、単一唾液サンプルからのバイオフィーム作製という制約の中で、細菌叢の比較には主成分分析、ならびにクラスター解析を用いており、適切な解析手法が用いられている。このように、本論文における研究方法の組み立ては理論的であり、また本学研究倫理審査委員会による承認を受けて実施され、十分な倫理的配慮もなされている。

本論文では以下のような結果が得られた。

1. 異なる期間においてスクロースの供給を行った結果、いずれの群もスクロース添加時には pH は 4.1~4.2 で推移し、非添加時には pH 6.2~6.5 を示し、培養期間の経過による pH の変動はなかった。
2. 全細菌数の測定の結果、糖質供給の期間と培養期間に一致して細菌数の増加が認められた。
3. 細菌叢の構成としては、*S. mutans* は糖質添加 96 時間の control 群においてのみ認められ、培養途中で糖質非添加期間のある群において *Veillonella* 属が、また全培養期間で糖質供給がある場合には *S. salivarius* が著明に増加していた。
4. 主成分分析およびクラスター解析の結果、糖質非添加での培養期間のある群では細菌叢の構成が異なっていた。

このような結果を受けて、考察においては *S. salivarius* の産生物質による *S. mutans* のクオラムセンシング抑制について言及している。また、培養期間中で糖質非添加期間を設定した場合にバイオフィーム中で *Veillonella* 属が優位となったことについては、スクロース供給を絶つことにより、*S. salivarius* の優位性が減弱し、歯周病関連細菌の増加を促

す菌の増殖を生じたと考察している。さらに一旦絶ったスクロース供給を再開しても細菌叢中の *S. salivarius* の優位性は回復しないという興味ある知見が得られたことにより、さらなる研究の遂行が望まれる。

以上のように、本研究においてポリマイクロバイアルバイオフィームを使用して初期齲蝕誘発環境をシミュレートして、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は、これまでの報告にない新しい知見であり、今後の生体環境を再現した齲蝕誘発の機序の解明と齲蝕予防に関する道筋を示した点は高く評価できる。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して口頭試問を行ったところ、十分な回答が得られることを確認した。さらに、ポリマイクロバイアルバイオフィームを用いた齲蝕誘発モデルの開発は、今後の歯科医療の発展への貢献が期待できるとの結論に至った。そこで、本審査委員会は申請者が博士（歯学）の学位に十分値するものと認めた。