

## 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口腔科学講座 小椋有香子に対する最終試験は、  
主査 向井義晴教授、副査 石井信之教授、副査 木本克彦教授により、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 向井 義晴 教授

副 査 石井 信之 教授

副 査 木本 克彦 教授

論 文 審 査 要 旨

Antimicrobial photodynamic therapy using a plaque  
disclosing solution on *Streptococcus mutans*

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学講座 小椋 有香子

(指 導： 吉野 文彦 准教授)

主 査 向井 義晴 教授

副 査 石井 信之 教授

副 査 木本 克彦 教授

## 論文審査要旨

学位申請論文である「Antimicrobial photodynamic therapy using a plaque disclosing solution on *Streptococcus mutans*」は、歯垢染色剤として広く使用される Phloxine B (PhB) を光増感剤に用いて、光重合コンポジットレジンに使用される青色 LED 照射の抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy: aPDT) の *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) に対する効果について検討した論文である。

抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy: aPDT) とは、PDT を微生物に応用した方法である。光感受性色素に染色された微生物に色素の励起波長をもつ LED やレーザー光を照射することで産生される活性酸素種は強い酸化力があり、染色された微生物を殺菌する能力を持つ。歯科では、歯周病治療に応用されつつある方法である。一方齲蝕予防に目を移してみると、臨床ではシーラントが広く用いられているが、その前処置として小窩裂溝などの狭小部に存在するバイオフィルムを完全に除去することは困難である。*S. mutans* は齲蝕病原菌の主たる菌であるが、aPDT による殺菌作用は十分に研究されていない。本論文は、*S. mutans* を殺菌し小窩裂溝の無菌化を達成することを最終目的として、*S. mutans* に対し歯垢染色液に含まれる光感受性色素である Phloxine B (PhB) と青色 LED 照射を用いた aPDT による新たな齲病病原菌殺菌のための基礎実験であり、これまでに国内外で報告はなく、新規性のあるテーマであると評価した。

研究方法の概略は以下のとおりである。まず、紫外可視分光法 (UV-Vis) 測定を用い、PhB の吸収波長スペクトルの解析を行った。次に PhB 光励起で生じる活性酸素種 (ROS) を電子スピン共鳴法を用いて測定した。*S. mutans* を通法に従い培養後、PhB を作用させ青色 LED 照射による aPDT 作用を Colony Forming Unit (CFU) で評価した。また、aPDT による *S. mutans* の酸化障害評価は、ROS による酸化修飾で生じるカルボニル化タンパク測定により行った。統計分析手法は、PhB の濃度による ROS 生成測定ならびに CFU の測定結果には Two-way ANOVA ならびに Tukey の多重比較検定、L-ヒスチジンによる ROS の消失測定には t 検定を用いている。これらの方法は、既存の方法に基づいており、妥当なものである。

結果として、PhB の吸収波長は 450~570nm であり使用した光照射器のピーク波長が 475nm であることから本照射器が PhB を光励起する可能性が確認できた。また青色 LED は PhB を光励起させ一重項酸素 ( $^1\text{O}_2$ ) を生成し、生成量は照射強度および色素濃度依存的に増加した。さらに  $^1\text{O}_2$  は特異的消去剤の L-ヒスチジン添加で有意に消去された。10J の青色 LED 単独または PhB 単独処置では CFU に変化を認めなかったが、LED+PhB 処置では CFU の有意な低下を認めた。また、本処置により *S. mutans* にカルボニル化タンパクの有意な増加が認められた。以上の結果は適切な方法で導きだされた明快なものであると判断した。

本論文によって、*S. mutans* への酸化障害が青色 LED と PhB の両方を使用することによってもたらされることが初めて明確になり、高く評価できる。また、本研究結果は aPDT をシーラント前処置として用いることで、除去不可能なバイオフィルム中に存在する齲蝕病原菌の殺菌を可能にすることが示唆されるものであり、今後の研究発展が期待できる。

本審査委員会では、歯垢染色液に用いられる他の色素を使用した場合あるいは齲蝕検知液を使用した場合の本法の有効性、本研究で使用した光照射器と臨床で使用する光照射器との比較、ならびに臨床応用への可能性について口頭試問を行った。その結果、十分な回答が得られることを確認した。さらに、この新しい知見は今後の齲蝕予防手段として期待でき、臨床応用へつなが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。