

Characterisation of a sucrose-independent in vitro biofilm model of supragingival plaque

堤, 康太

<https://hdl.handle.net/2324/1931841>

出版情報：九州大学, 2017, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）



氏 名 : 堤 康太

論文名 : Characterisation of a sucrose-independent *in vitro* biofilm model of supragingival plaque
(歯肉縁上プラークのスクロース非依存的 *in vitro* バイオフィルムモデルの特徴)

区 分 : 甲

論文内容の要旨

プラークは口腔細菌と菌体外マトリックス(EPS)から構成されるバイオフィルム(BF)であり、歯肉縁上プラークの蓄積はう蝕や歯周病を誘発する。近年の日本では砂糖消費量が減少していることから、現代の日本人の口腔内ではスクロース非依存的な歯肉縁上プラークの形成割合が増加していると推察される。しかしながら、スクロース非依存的な歯肉縁上プラークについては殆ど分かっていない。本研究では、スクロース非依存的な歯肉縁上プラークを想定した *in vitro* 多菌種混合 BF モデルの開発に向けて、う蝕原生に影響する BF の組成(細菌、EPS)と機能(酸産生能、付着力、抗う蝕剤に対する感受性)について、スクロース依存的 BF と比較検証することを目的とした。

in vitro 多菌種混合 BF は、歯肉縁上プラークを構成する *Actinomyces naeslundii*、*Streptococcus gordonii*、*S. mutans*、*Veillonella parvula*、*Fusobacterium nucleatum* を 1%スクロース未添加／添加の人工唾液培地にて調製後、24 ウェルプレートに播種し、好気条件下で 24 時間培養することで作製した。細菌構成は、平板カウント法と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーションー共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)法にて評価した。EPS は、走査型電子顕微鏡と蛍光ラベルした EPS の CLSM 観察にて評価した。酸産生能は、培地中 pH 変化と、形成された BF へのグルコース溶液添加後の pH 変化にて評価した。付着力は、マニュアル洗浄(洗浄回数: 0-3 回)または機械的洗浄(振盪強度: 0-1,000 rpm)後の BF 残存量にて評価した。抗う蝕剤に対する感受性は、殺菌剤(グルコンサンクロルヘキジン、塩化セチルピリジニウム)とスクロース依存的なグルカン EPS 分解酵素(デキストラナーゼ)にて評価した。

その結果、両 BF の細菌構成比は異なっていたが、歯肉縁上プラークに似た *Streptococcus* 属優勢な菌構成を示した。非グルカン性 EPS は両 BF において観察されたが、グルカン EPS はスクロース非依存的 BF には殆ど観察されなかった。スクロース依存的 BF に比べて、スクロース非依存的 BF の酸産生能はやや低かったが、両 BF の培地中およびグルコース添加 120 分後の溶液は臨界 pH 5.5 以下を示した。付着力は全体的に両 BF で似た傾向を示したが、1,000rpm の機械的洗浄ではスクロース非依存的 BF が低い傾向を示した。殺菌剤に対して両 BF は高い殺菌剤抵抗性を示したが、スクロース依存的 BF に比べてスクロース非依存的 BF の殺菌剤抵抗性はやや低い傾向を示した。一方、デキストラナーゼは、スクロース非依存的 BF に対して殆ど BF 分解作用を示さなか

った。

以上の結果より、スクロース非依存的 BF は、スクロース依存的 BF と比べて細菌・EPS 構成が異なり、酸産生能、付着力および殺菌剤抵抗性がやや低い傾向を示したものの、スクロース依存的 BF と同様にう蝕原生を有する可能性が示唆された。今回開発した *in vitro* 多菌種混合 BF モデルは、プラークが誘発するう蝕病因論の更なる解明や新たな抗う蝕剤の開発の一助となり得ると考える。

