



Title	根尖孔外バイオフィルムモデルの開発
Author(s)	呉本, 勝隆
Citation	大阪大学歯学雑誌. 2015, 60(1), p. 7-8
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/60667">https://hdl.handle.net/11094/60667</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

# 根尖孔外バイオフィームモデルの開発

呉 本 勝 隆\*

(平成 27 年 7 月 23 日受付)

## はじめに

日常の臨床において、通常の根管治療を行っても治癒しない難治性の根尖性歯周炎に遭遇することがある。従来、慢性期の根尖病巣では宿主の免疫応答によって細菌は駆逐されるため、病巣内では細菌は生息できないと考えられていた<sup>1)</sup>。一方、根尖孔外のセメント質表層や根尖病巣内から細菌が検出され、それらが根尖性歯周炎の難治化に関与することを示唆する報告がなされたが<sup>2)</sup>、検出された細菌は歯周ポケットや瘻孔を経由したコンタミネーションである可能性を否定する概念は存在せず、宿主免疫反応が働く根尖病巣内で細菌が生息できるというセオリーは一般的に受け入れられることはなかった。

しかし、私の研究グループは、難治性根尖性歯周炎に罹患した歯の根尖孔外を走査型電子顕微鏡で観察し、高頻度で細菌バイオフィームが形成されていることを報告した<sup>3)</sup>。すなわち、破折や穿孔、歯内一歯周病変などが関与しない根尖性歯周炎の難治化には、根尖孔外に形成されたバイオフィーム（根尖孔外バイオフィーム）が関与していることが示唆された。

## 根尖孔外バイオフィームに対する 化学的制御法の開発

バイオフィームは一般に、抗生剤等の薬剤に対して抵抗性を示す。そのため、根管からの機械的除去が不可能な根尖孔外バイオフィームの対応の第一選択としては歯根端切除術のような外科的歯内療法が選択さ

れてきた。私の研究グループは、根尖孔外など機械的除去が困難なバイオフィームに対する新たな戦略として、新規の化学的制御法を開発を目指している。これまでに、*in vitro*において、クオラムセンシングを制御する物質の1つであるアシルホモセリナクトンの類似化合物3種類がバイオフィーム抑制作用を示すことや<sup>4)</sup>、マクロライド系抗生物質であるアジスロマイシンが抗バイオフィーム効果を持つことを報告した<sup>5)</sup>。これら*in vitro*で得られた結果を臨床に応用するための次のステップとして、*in vivo*での検討が必要であり、そのためには*in vivo*根尖孔外バイオフィームモデルの開発が必要と考えた。

## ラットにおける根尖孔外バイオフィームの形成

我々の以前の研究結果<sup>6)</sup>から、根管内に細菌感染が持続した状態で、根尖孔を越えて過剰に根管充填されると、そのガッタパーチャポイントが足場となり根尖孔外にバイオフィームが形成されると仮説を立てた。そこで、その仮説を立証するために、ラットの臼歯に根尖孔を越えてガッタパーチャポイントを挿入し根尖孔外バイオフィームの形成を試みた。

その結果、根尖孔外までガッタパーチャポイントが挿入された歯牙の根尖孔外にはバイオフィームの形成が認められ、ガッタパーチャポイントを挿入しなかった対照歯からは根尖孔外バイオフィームの形成が認められなかった(図1)<sup>7)</sup>。このことから、ラットにおける根尖孔外バイオフィームモデルが確立したと考えられた。

\* 大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

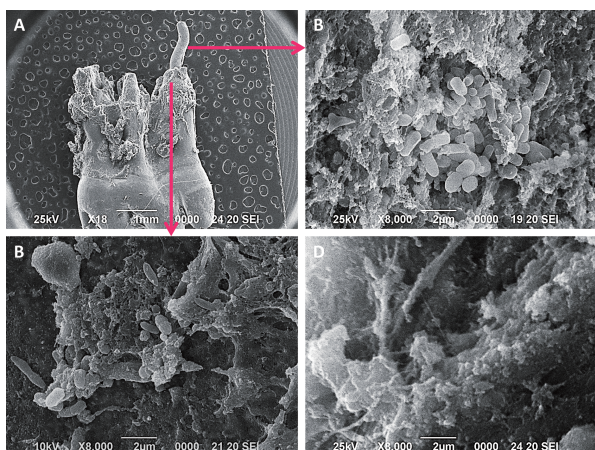


図1 露髄後6週のSEM像。

(A) 被験歯の全体像。

(B, C) 根尖孔外のGP表面と根尖付近セメント質表層の拡大像。ともに根尖孔外バイオフィームが観察された。

(D) 対照歯の根尖付近セメント質表層の拡大像。

バイオフィームは観察されなかった。

露髄後8週のサンプルにおいても同様の像が観察された。

さらに、このモデルを用いて根尖病巣の体積をマイクロCT上で経時的・三次元的に計測した結果、根尖孔外バイオフィームが形成された被験歯では、根尖孔外バイオフィームが形成されていない対照歯に比べて根尖病巣体積が増大することが明らかとなった(図2)<sup>7)</sup>。

このことから、根尖孔外バイオフィームは根尖病巣の拡大に影響を及ぼすことが実験動物により明らかとなった。

### おわりに

今回開発した *in vivo* モデルは、*in vitro* で研究されている抗バイオフィーム剤・薬の効果を臨床応用するための重要な架け橋となる。また、このモデルを基にして、今後、根尖孔外バイオフィームの形成メカニズムや、根尖孔外バイオフィームによって根尖周囲における免疫応答がどのように変化するかを解明することが可能となり、根尖孔外バイオフィームに対する治療法の新たな糸口が得られるものと考えられる。

### 謝辞

本研究の遂行にあたり、多大なる御協力と御助言を頂いた大阪大学大学院歯学研究科歯科保存学教室の教職員各位に厚く御礼申し上げます。

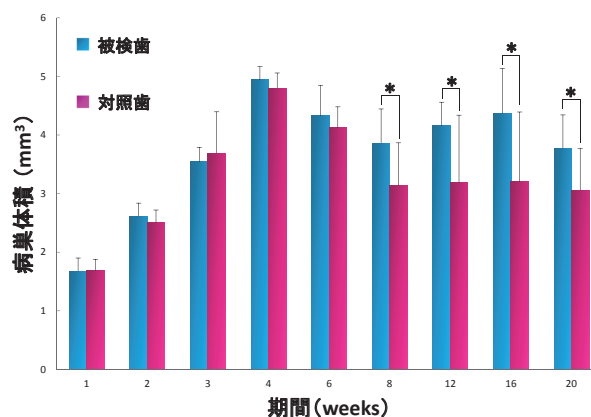


図2 根尖病巣の経時的・3次元計測結果。露髄後8週以降、被験歯の病巣は対照歯に比べ有意に増大した。(Welch's *t* test,  $P < 0.05$   $n = 6$  / time point)

### 文献

- 1) Stashenko, P., Teles, R., D'Souza, R. (1998): Periapical inflammatory responses and their modulation. *Crit Rev Oral Biol Med*, **9**, 498-521.
- 2) Tronstad, L., Barnett, F., Riso, K., Slots J. (1987): Extraradicular endodontic infections. *Endod Dent Traumatol*, **3**, 86-90.
- 3) Noiri, Y., Ehara, A., Kawahara, T., Takemura, N., Ebisu, S. (2002): Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod*, **28**, 679-683.
- 4) Asahi, Y., Noiri, Y., Igarashi, J., Asai, H., Suga, H., Ebisu, S. (2010): Effects of N-acyl homoserine lactone analogues on *Porphyromonas gingivalis* biofilm formation. *J Periodontol Res*, **45**, 255-261.
- 5) Maezono, H., Noiri, Y., Asahi, Y., Yamaguchi, M., Yamamoto, R., Izutani, N., Azakami, H., Ebisu, S. (2011): Antibiofilm effects of azithromycin and erythromycin on *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother*, **55**, 5887-5892.
- 6) Takemura, N., Noiri, Y., Ehara, A., Kawahara, T., Noguchi, N., Ebisu, S. (2004): Single species biofilm-forming ability of root canal isolates on gutta-percha points. *Eur J Oral Sci*, **112**, 523-529.
- 7) Kuremoto, K., Noiri, Y., Ishimoto, T., Yoneda, N., Yamamoto, R., Maezono, H., Nakano, T., Hayashi, M., Ebisu, S. (2014): Promotion of endodontic lesions in rats by a novel extraradicular biofilm model using obturation materials. *Appl Environ Microbiol*, **80**, 3804-3810.