The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	セルフケア予防材料へのS-PRGフィラー応用による Streptococcus mutansのう蝕原性抑制効果の検討
Author(s)	北村, 崇洋
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/87966
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　北 村 崇 洋　）	
論文題名	セルフケア予防材料へのS-PRGフィラー応用による*Streptococcus mutans*のう蝕原性抑制効果の検討

論文内容の要旨

【緒言】

*Streptococcus mutans*はグラム陽性通性嫌気性細菌であり、う蝕の主要な原因細菌として知られている。*S. mutans*はスクロースから粘着性グルカンを産生し、歯面にバイオフィルムを形成することによりう蝕を誘発する。そのため、新しいう蝕予防法を提案する上では、*S. mutans*の増殖能やバイオフィルム形成能に対して高い抑制効果を有するセルフケア予防材料の開発が望まれる。

Surface Pre-Reacted Glass-ionomer（S-PRG）フィラーは、多機能性ガラスコアと表面改質層の間に安定したグラスアイオノマー相が形成された３層構造からなるバイオアクティブ機能性ガラスである。S-PRGフィラーは、グラスアイオノマー相からフッ化物イオン（F^-）、ナトリウムイオン（Na^+）、ホウ酸イオン（BO_3^{3-}）、アルミニウムイオン（Al^{3+}）、ケイ酸イオン（SiO_3^{2-}）およびストロンチウムイオン（Sr^{2+}）の6種類のイオンを徐放することにより、*S. mutans*のう蝕原性を抑制することが明らかとなっている。

これまでに、S-PRGフィラーを応用した様々な歯科材料が開発され、そのイオン徐放性によりバイオアクティブ効果が発現するという多数の報告が認められるものの、セルフケア予防材料に着目した検討はほとんど行われていない。本研究では、セルフケア予防材料である歯ブラシの植毛部であるモノフィラメントおよび歯面清掃用の歯磨きペーストへのS-PRGフィラー応用による、*S. mutans*のう蝕原性に対する抑制効果を検討することとした。

【材料および方法】

１．使用菌株および培養条件

供試菌として、*S. mutans*の標準株であるMT8148株を用いた。MT8148株はBrain Heart Infusion（BHI）液体培地にて37°Cで18時間培養後、1.0×10^7 CFU/mLに調整したものを実験に使用した。

２．S-PRGフィラー含有モノフィラメントを用いたう蝕原性抑制効果の分析

１）S-PRGフィラー含有モノフィラメントの作製

モノフィラメントの主原料であるナイロンまたはポリエステルにS-PRGフィラーを配合し、直径200 μmのモノフィラメントを紡糸した。モノフィラメントには、配合可能な最大量のS-PRGフィラー（ナイロン20wt%、ポリエステル1.4wt%）を加えた。各実験における対照群として、S-PRGフィラー非含有のモノフィラメントを用いた。

２）モノフィラメントに対する*S. mutans*の付着能の分析

1%スクロース含有BHI液体培地で調整した供試菌液にモノフィラメントを浸漬し、37°Cで18時間培養することにより、供試菌をモノフィラメントに付着させた。その後、超音波処理によりモノフィラメントから菌を剥離させた。剥離後の菌液をMitis Salivarius Bacitracin（MSB）寒天培地に播種して37°Cで48時間培養後、菌のコロニー数を計測した。

３）モノフィラメントに対する*S. mutans*の剥離能の分析

２）と同様の方法で供試菌を付着させた後、5秒間のボルテックスにより菌をモノフィラメントから剥離させた。その後、モノフィラメントを取り出してPBSに浸漬させ、超音波処理によりモノフィラメントに残存した菌を全て剥離させた。これらの剥離後の菌を含む懸濁液をそれぞれMSB寒天培地に播種して37°Cで48時間培養後に菌のコロニー数を計測し、モノフィラメントに付着した菌の総数に対する、ボルテックス後に残存した菌の割合を算出した。

４）モノフィラメント静置時の経時的菌数変化の分析

２）と同様の方法を用いて、供試菌をモノフィラメントに付着させた。その後、培養液からモノフィラメントを取り出し、4時間まで経時的に室温で静置した。各静置時間後にモノフィラメントをPBSに浸漬し、超音波処理により全ての菌を剥離させた。剥離後の菌を含む懸濁液をMSB寒天培地に播種して37°C48時間培養後に菌のコロニー数

を計測し、静置されたモノフィラメントに存在する菌数を測定した。

３．S-PRGフィラー含有歯磨きペーストを用いたう蝕原性抑制効果の分析

１）*S. mutans*の増殖能に対する抑制効果の分析

*S. mutans*菌液にS-PRGフィラー含有歯磨きペースト（PRGジェルペースト）を0.001%、0.01%、0.1%、1%、10%の濃度となるよう添加し、37°Cで1.5時間から24時間まで培養した。その後、菌液をMSB寒天培地に播種し、37°Cで48時間培養後に菌のコロニー数を計測した。

２）ウシエナメル質を用いた*S. mutans*のバイオフィルム形成能の分析

ウシエナメル質表面（6 ㎜四方）にPRGジェルペーストを用いて１分間の機械的歯面清掃を行った。一方、ジェルペーストを用いずに歯面清掃したものを対照群とした。その後、ウシエナメル質を*S. mutans*菌液に浸漬して37°Cで18時間培養後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて歯片表面に形成されたバイオフィルムの厚さを計測した。

４．統計学的分析

二群間比較はStudentの*t*検定を用いて行い、多群間比較は一元配置分散分析の後、Bonferroni法を用いた。有意水準は全て5%以下とした。

【結果】

１．S-PRGフィラー含有モノフィラメントを用いたう蝕原性抑制効果の分析

１）モノフィラメントに対する*S. mutans*の付着能の分析

S-PRGフィラー非含有のモノフィラメントでは、材質（ナイロン製およびポリエステル製）に関係なく約1.0×10^6 CFUの*S. mutans*の付着を認めた。一方、S-PRGフィラー含有ナイロン製およびポリエステル製のモノフィラメントに付着した*S. mutans*菌数は、それぞれ5.1×10^4 CFUおよび2.4×10^5 CFUであり、S-PRGフィラー非含有モノフィラメントよりも低下した。

２）モノフィラメントに対する*S. mutans*の剥離能の分析

菌の剥離試験後において、ナイロン製のS-PRGフィラー非含有モノフィラメントには約55%、ポリエステル製には約40%の*S. mutans*が残存していた。それに対して、S-PRGフィラー含有モノフィラメントでは、剥離試験後に残存した*S. mutans*はナイロン製とポリエステル製でともに2%以下まで低下した。

３）モノフィラメント静置時の経時的菌数変化の分析

S-PRGフィラー非配合モノフィラメントでは、静置直後に約1.0×10^6 CFUの*S. mutans*の付着を認めた後に緩やかに菌数が低下し、4時間後の菌数はナイロン製で1.2×10^5 CFU、ポリエステル製で1.5×10^5 CFUであった。一方、S-PRGフィラー含有モノフィラメントでは、静置直後に約1.0×10^5 CFUの*S. mutans*を認めたが、静置4時間後にはナイロン製とポリエステル製のいずれにおいても*S. mutans*の付着は全く認められなくなった。

２．PRGジェルペーストを用いたう蝕原性抑制効果の分析

１）*S. mutans*の増殖能に対する抑制効果の分析

供試菌の増殖能はPRGジェルペーストの濃度依存的に抑制され、0.1%以上のPRGジェルペースト存在下において明らかな抑制効果を認めた。特に、1%のPRGジェルペースト存在下では6時間、10%のPRGジェルペースト存在下では1.5時間で、全ての*S. mutans*が死滅した。

２）ウシエナメル質を用いた*S. mutans*のバイオフィルム形成能の分析

PRGジェルペーストを用いずに歯面清掃を行ったウシエナメル質では、約50 μmの厚さのバイオフィルムの形成が認められた。それに対して、PRGジェルペーストを用いて機械的歯面清掃を行ったウシエナメル質では、バイオフィルムの形成はほとんど認められなかった。

【考察】

本研究において、S-PRGフィラー含有のナイロン製およびポリエステル製モノフィラメントは、*S. mutans*の付着能を抑制するだけでなく、付着した*S. mutans*は剥離しやすく除菌されやすいことが明らかになった。また、PRGジェルペーストは*S. mutans*の増殖能を抑制し、PRGジェルペーストで歯面清掃を行ったウシエナメル質表面では、*S. mutans*によるバイオフィルム形成能が抑制された。これらのことから、S-PRGフィラーを応用したセルフケア予防材料は、*S. mutans*に起因したう蝕の発症を予防することができる有効な手段となり得ることが示唆された。今後は、セルフケア予防材料に応用したS-PRGフィラーが*S. mutans*のう蝕原性を抑制する詳細なメカニズムの解析や、他のセルフケア予防材料への応用展開を視野に入れながら、さらなる検討を行っていく予定である。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　北村崇洋　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教授	仲野　和彦
	副 査　教授	天野　敦雄
	副 査　准教授	山口　哲
	副 査　講師	住友　倫子

論文審査の結果の要旨

本研究は、S-PRG フィラーを応用したセルフケア予防材料における *Streptococcus mutans* のう蝕病原性に対する抑制効果を検討したものである。その結果、S-PRG フィラー含有のナイロン製およびポリエステル製モノフィラメントは、持続的にイオンを徐放することにより *S. mutans* の付着能を抑制するだけでなく、付着した *S. mutans* の剥離能を促進し、時間経過とともに *S. mutans* の生存率を低下させた。また、S-PRG フィラー含有の PRG ジェルペーストは、スクロースの存在の有無にかかわらず *S. mutans* の増殖能を抑制するとともに、*S. mutans* によるスクロース依存性の不溶性グルカンの合成およびバイオフィルム形成能を抑制した。

本研究の結果は、S-PRG フィラーを応用したセルフケア予防材料が *S. mutans* の病原性に対する抑制効果を有することを明らかにし、う蝕の予防に有効な新規材料の研究に重要な示唆を与えるものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。