

自己評価報告書

平成23年 4月 9日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2011

課題番号：20592477

研究課題名 (和文) 定量的層別マッピング法による口腔バイオフィームへの介入効果の評価に関する研究

研究課題名 (英文) Study for evaluating the effects of interventions on oral biofilms using quantitative technique for layer specific analysis

研究代表者

加藤 一夫 (KATO KAZUO)

愛知学院大学・歯学部・准教授

研究者番号：60183266

研究分野：口腔衛生学

科研費の分科・細目：歯学・社会系歯学

キーワード：口腔バイオフィーム、層別マッピング分析、定量的評価、プラークコントロール

1. 研究計画の概要

フッ化物製剤の局所応用や probiotic な機能性食品の摂取など、歯科疾患のリスクを低減させる化学的・生物学的プラークコントロールの効果を、定量的層別マッピング法を利用して歯垢細菌叢のコントロールという観点から評価することの有効性を検討する。

2. 研究の進捗状況

- (1) 定量的層別マッピングの手法で調整した試料を用いて、歯垢内のグルカンと歯垢容積の分布を評価する方法を検討した。試料を硫酸で加熱処理し、グルカンを D-グルコースに加水分解し、pH を調整後、固定化酵素メンブレン法でグルコースを定量した。層別マッピング法で算出可能な試料体積でグルコース量を補正し、歯垢内のグルカン濃度分布を作成することが可能であった。
- (2) 定量的 PCR 分析にも適した DNA の純度や濃度を確保するため、グラム陽性菌からの genomic DNA の抽出方法を検討した。市販の DNA 精製キットによる抽出に、lysozyme と mutanolysin による前処理と凍結乾燥を利用した濃縮処理を加えることにより、層別マッピングの手法で調整した微量の試料から、Real-time PCR 用のプライマーと蛍光プローブを使ったレンサ球菌の密度分布を評価することが可能となった。
- (3) エナメル質とグラスアイオノマーセメント (GIC) に堆積した歯垢内のグルカン、バイオマス、*S. mutans* の分析から、GIC による局所的歯垢 F⁻濃度の上昇という depth-specific な環境変化が歯垢生態系におよぼす影響を検討した。*S. mutans* の

検出率やグルカン分布から、*S. mutans* の検出された歯垢の層別分画の一部で、バイオマスに比して多量のグルカンが検出され、GIC 上の歯垢内でも glycosyl-transferase によるグルカン合成が生じることが示唆された。

- (4) 水流圧洗浄器によるバイオフィーム除去効果の評価方法とその有効性を検討した。水流圧洗浄器で洗浄したエナメル質スラブと未洗浄のスラブの表面を白金蒸着し包埋した後、EPMA を用いてバイオフィームの断面の反射電子像を撮影し、バイオフィームの厚みから洗浄効果を評価する方法を開発した。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

現在、「Quantitative evaluation of oral biofilm removing capacity of a dental water jet using an electron probe microanalyzer」というタイトルで Archives of Oral Biology に投稿中であり、今後「Distribution profiles of Streptococcus mutans within dental plaque harvested before and after stannous fluoride gel treatment」および「Streptococcal distribution within plaque formed on enamel with glass-ionomer cement」というタイトルで続けて論文を投稿する予定であり、ほぼ計画に沿って進展している。

4. 今後の研究の推進方策

厚く堆積させた口腔バイオフィームを試料として、化学的・生物学的プラークコントロールによる介入が及ぼす齲蝕関連菌の密度

分布やバイオマス中の成分分布の変化から、バイオフィルムの depth-specific な構造と関連した研究を進めてきた。今後は、バイオフィルムの構造そのものを破壊する物理的プラークコントロールの介入について評価できるような、薄い状態の口腔バイオフィルムを層別に分析する方法を探っていく。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Kazuo Kato, Kiyomi Tamura, Haruo Nakagaki, Distribution profiles of cariogenic streptococci within dental plaque treated with stannous fluoride gel. *Cariology today*, 5:26~28, 2009, 無.

[学会発表] (計10件)

- ① Kazuo Kato, Kiyomi Tamura, Tran Thu Thuy, Haruo Nakagaki, Profiles of glucan and plaque mass volume within dental plaque treated with sucrose rinse (Preliminary study), 8th ICAAPD (International Conference of Asian Academy of Preventive Dentistry), 2008.11.6., Jeju Korea
- ② Tran Thu Thuy, Kazuo Kato, Haruo Nakagaki, Yoshiaki Kawamura, Takuichi Sato, Streptococcal distribution within plaque formed on enamel with glass-ionomer cement, 56th Annual Meeting of JADR (Japanese Association for Dental Research), 2008.11.29., Nagoya Japan
- ③ Kazuo Kato, Tran Thu Thuy, Kiyomi Tamura, Shoichi Sakakibara, Youki Ou, Haruo Nakagaki, Profiles of biomass volume and glucan within dental plaque grown on enamel and glass-ionomer cement, 56th ORCA (European Organisation for Caries Research) Congress, 2009.7.3., Budapest Hungary
- ④ Kazuo Kato, Kiyomi Tamura, Shoichi Sakakibara, Youki Ou, Haruo Nakagaki, Influence of Sweetened Gum Chewing on Profiles of Biomass Volume and Glucan within Dental Plaque, 57th ORCA Congress, 2010.7.9., Montpellier France
- ⑤ 加藤一夫、田村清美、榊原章一、王陽基、松本 侑、藤田果奈、中垣晴男、ジェット水流による口腔バイオフィルム除去効果の評価に関する研究、第59回日本口腔衛生学会、2010.10.8. 新潟

- ⑥ Kazuo Kato, Oral biofilm: Approaches to reduce cariogenicity, The 33rd Scientific Meeting on Research and Continuing Education in Odonto-Stomatology, Faculty of Odonto-Stomatology, Ho Chi Minh University of Medicine and Pharmacy, 2011.4.4., Ho Chi Minh City Vietnam (招待講演)

[図書] (計1件)

- ① Kazuo Kato, edited by T. Sasano & O. Suzuki, Springer, *Interface Oral Science* 2009, 2010, 435 (237-239, 267-268, 271-272)