

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18615

研究課題名（和文）口腔内細菌叢が与える全身への影響とMPCポリマーによる抑制効果の網羅的検証

研究課題名（英文）Bioinformatics analysis of denture plaque using sequencing

研究代表者

池谷 賢二（Ikeya, Kenji）

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：30783344

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究により，上顎全部床義歯装着患者の口腔内細菌叢の特徴を明らかにすることができた．また上顎全部床義歯装着患者に対し特殊洗口単剤を使用すると，デンチャープラークの付着を約30%抑制することが明らかになった．特殊洗口単剤の使用前後の細菌叢の比較では，*Streptococcus*属は有意に増加し，*Haemophilus*属と*Capnocytophaga*属は有意に減少していることが認められた．しかしながら特殊洗口単剤の使用前後のデンチャープラーク内細菌叢の多様性評価では，多様性，多様性ともに有意な変化はなく，デンチャープラーク細菌叢内の多様性は保たれていたと考えられる．

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により，上顎全部床義歯患者の口腔内細菌叢やデンチャープラーク内細菌叢の解明の足がかりとなる結果が証明できた．以前の研究では，口腔内細菌やデンチャープラークを網羅的に評価することが難しく，細菌単体での培養による評価が主流であったが，シーケンス解析を用いることで口腔内細菌叢だけでなく，デンチャープラーク内細菌叢も網羅的に解析することができた．また特殊洗口単剤の使用は簡易的であるにも関わらず，デンチャープラークの付着を抑制することがわかった．そのため実際に習慣的に使用することで，口腔内細菌に起因する全身への影響を抑制することができる可能性が示唆された．

研究成果の概要（英文）：This study suggests that quality of the denture plaque might be classified into three groups regard to its biodiversity and that biodiversity in bacterial flora might be associated with denture hygiene status.

Photoreaction MPC polymer coating suggests that denture plaque accumulation on complete denture was not only inhibited but was also changed to immature plaque without changing of bacterial flora. These results suggest that photoreaction MPC polymer might be bacteriostatic in action against inhibiting the denture plaque accumulation.

研究分野：バイオマテリアル

キーワード：デンチャープラーク シーケンサー

## 1. 研究開始当初の背景

現在、我が国の高齢化は28.4%と世界で最も高く、それに伴い可撤性義歯治療の需要も増え続けている。義歯に伴う重要な問題点として、残存歯や粘膜への為害作用の他に、特にプラーク内の細菌を誤嚥することで発症する誤嚥性肺炎が挙げられる。さらに高齢化に伴い要介護者や認知症患者も増加し、義歯を含む口腔衛生状態はますます悪化している。誤嚥性肺炎を予防するためには、口腔ケアに努めることはもちろんのこと、感染経路である口腔内からの可撤性義歯を介した感染リスクを軽減させることが重要である。また感染リスクの解明に用いる次世代シーケンサーは、膨大な遺伝子配列からマイクロバイオームの実態解明が可能であり、誤嚥性肺炎のような「複数の原因菌が共存的に働き」、「常在菌バランスが崩れること」で発症する疾患の解明に非常に有効である。そのためデンチャープラークを網羅的に解析し、MPC (メタクリロイロキシエチルホスホリルコリン) ポリマーによる特異的な反応を検証することは口腔内細菌関連疾患の解明と予防に非常に有効であると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の独創性として、汚れをとるのではなく、“汚れない義歯”の開発を目指している。そこでMPCの優れた生体親和性、細菌付着抑制効果に着目し、これらの特徴を活かした義歯表面へのプラークの付着抑制から口腔内のみならず全身的な健康の増進を図ることを試みる。また次世代シーケンサーは近年普及している新技術であり、細菌解析に応用することで、デンチャープラーク内の細菌叢を解析し、MPCによるプラーク付着の細菌叢変化を解明することができる。細菌叢と全身状態の関連を解明することで、誤嚥性肺炎だけでなく全身疾患の発症リスクを解明することができ、リスクに応じた口腔衛生を行うことが可能となる。本研究はその臨床試験で得られた知見を基盤として細菌叢と全身疾患との関連の解明を目指すものである。本研究の成果により、患者の口腔衛生の向上はもちろんのこと、高齢者や要介護者の健康増進に対して多大な貢献が期待できる。

## 3. 研究の方法

### ( 1 ). 新たな MPC コーティング法の検討

- 基礎研究：従来の光感応型 MPC ポリマーの合成方法を改変。
  - ・従来の商品化を目指すため、より効率的に合成可能となる合成経路を検討。
  - ・合成した新しい光感応型 MPC ポリマーの基礎データを採取。
    - 従来のものと比較して変化がないか比較検討。
    - アクリル基盤上でのバイオフィルム抑制能を評価。
- UV 装置の改変
  - ・より臨床に即したコーティング方法を得るための UV 装置開発を目指す。
    - UV-C 照射機能を持ち、かつ臨床で扱えるような小型の装置を目指す。
  - ・実際の義歯の形態を用いて十分にコーティングが行えるかを評価。

### ( 2 ). デンチャープラーク形成抑制能の評価：臨床研究

- ・臨床の場面で従来と同程度のコーティング能を有しているかを評価する。
  - 次世代シーケンサーを用いたデンチャープラーク細菌叢の解析
    - 対象者：昭和大学歯科病院補綴歯科外来に通院する全部床義歯装着患者
- ・デンチャープラーク中の微生物の種類や構成割合を検出、細菌叢を特定する

## 4. 研究成果

### ( 1 ). 光感応型 MPC ポリマーの改変

これまでの研究で光感応型 MPC ポリマーは基礎的、臨床的にプラークの付着を抑制することが実証されてきた。さらなる基礎実験を繰り返し、光感応型 MPC ポリマーは実用に耐えうる性能を有していることが証明できたため、商品化を目標に研究を進めてきた。

製品化を目指すに際し、従来の光感応型 MPC ポリマーでは、MPC モノマーに対して合成される

光感応型 MPC ポリマーの合成効率が悪く、原材料に対する合成物比率を改善させるため、新しい合成経路を開発すべく、研究を行った。その結果、原材料は変えず、合成経路のみを新規に開発し、光感応型 MPC ポリマーへの合成効率を改善することが可能となった。(特許申請)。

新しく合成した光感応型 MPC ポリマーのコーティング能を調査するため、従来のコーティング評価に沿って比較検討試験を行った。まず基礎実験として、新しく合成した光感応型 MPC ポリマーのマテリアル分析から開始した。その結果、従来の光感応型 MPC ポリマーと同等の評価が得られたため、新しく合成した光感応型 MPC ポリマーを新規に採用していくこととした。

その後バイオフィルム抑制能を評価したところ、従来の光感応型 MPC ポリマーと同程度のバイオフィルム形成抑制能を有していることが示唆された。

またより簡便なコーティングを可能にするため新しく UV-C 照射器を用いて光感応型 MPC ポリマーのコーティング評価を行うこととした。その結果、ややコーティング時間がかかるものの、処理操作はより簡便になり、それでいて同程度のバイオフィルム抑制効果を有していることが証明された。このことから基礎実験としては臨床試験に耐えうる基本性能を有していることが証明されたため、臨床評価を行うこととした。

## (2). 臨床研究

### ・デンチャープラーク形成抑制試験

従来のデンチャープラーク形成抑制試験に従い、新しい光感応型 MPC ポリマーを用いて実際に使用している義歯に対するデンチャープラークの形成抑制能を評価した。デンチャープラーク染色面積評価の結果から、新しい光感応型 MPC ポリマーのコーティング後、2 週間の使用期間においてデンチャープラークの形成を 30%以上抑制していることが示唆された。症例によっては約 80%抑制しているものもあった。このことから実際の臨床使用においても新しい光感応型 MPC ポリマーコーティングはデンチャープラークの付着抑制効果を有していることが証明された。

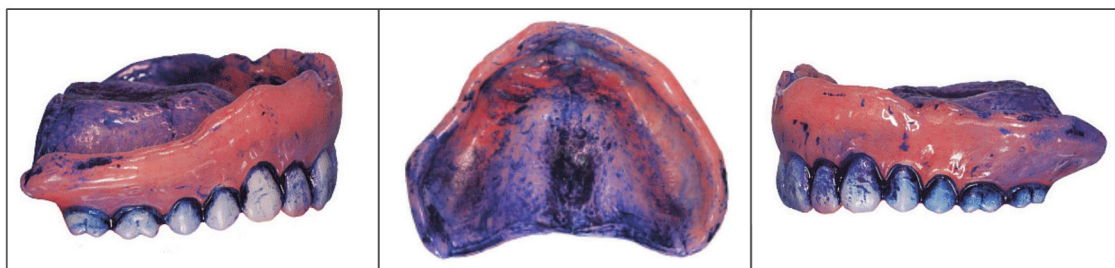
### ・次世代シークエンサーを用いたデンチャープラーク細菌叢の解析

また今回新たに上顎全部床義歯装着者のデンチャープラーク内細菌叢について次世代シークエンサーを用いて調査し、特殊洗口単剤の使用による影響を比較検討した。

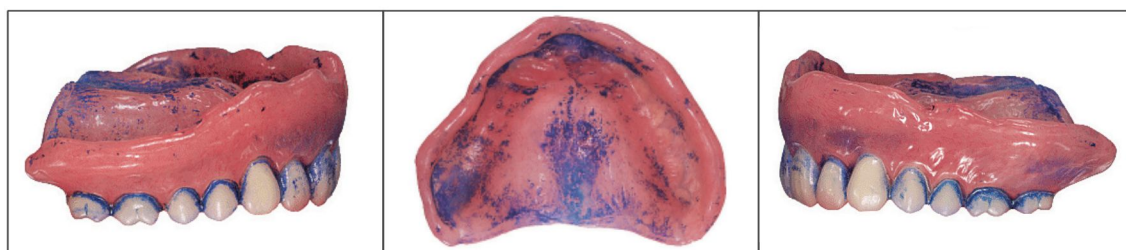
全部床義歯に付着したデンチャープラークの細菌叢を解析したところ、無菌顎であるにも関わらず、口腔内細菌叢の代表である *Streptococcus* 属が大半を占めていることが判明した。また誤嚥性肺炎の原因菌と思われる細菌も多数存在していることが証明された。

特殊洗口単剤の使用により、デンチャープラークの付着抑制効果が証明された。さらにデンチャープラーク内細菌叢への影響を調査したところ、*Streptococcus* 属が有意に増加し、*Haemophilus* 属と *Capnocytophaga* 属は有意に増加していることが証明された。一方で、デンチャープラーク内細菌叢の多様性への影響は否定され、特殊洗口単剤の使用によって細菌叢への悪影響はないことが示唆された。

## デンチャープラーク染色試験：コーティングなし（2 週間使用後）



## デンチャープラーク染色試験：新しい光感応型 MPC ポリマーコーティング後（2 週間使用後）



## 5．今後の展望

本研究により，新しく合成した光感応型 MPC ポリマーは従来のコーティング能を有したまま，より簡便な操作で臨床使用ができる可能性があることが示された．また合成効率を改善したことから経済的にもより現実的になり，実際の商品として使用できる可能性が高くなったといえる．

従来の結果に加え，本研究で示した基礎実験，臨床実験の結果は臨床での使用が可能になったといえるが，まだコーティング後の中，長期的な効果，影響はまだ明らかになっていない．そのため，今後は実際に製品化されたものを使用しつつ，コーティングによるバイオフィルムの影響のみならず，患者に使用した際の中長期的な効果，影響について調査していく予定である．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池谷賢二，馬場一美
2. 発表標題 インプラントオーバーデンチャーのデンチャーブラック抑制法の提案
3. 学会等名 第51回日本口腔インプラント学会学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------