

様 式 C - 1 9、F - 1 9 - 1、Z - 1 9 （共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：3 2 6 2 2

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：1 8 K 1 7 2 9 7

研究課題名（和文）デンチャープラーク内細菌叢に対するMPCポリマーの影響

研究課題名（英文）Analysis of bacteria flora in denture plaque by MPC polymer

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：3 0 7 8 3 3 4 4

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：この研究により，全部床義歯に付着したデンチャープラークの細菌叢はその多様性にもかかわらず，3 つの特異的な構成グループに分類できることが示唆された．さらにそのデンチャープラークの細菌叢は義歯の衛生状況に大きく影響をうけている可能性が示唆された．また光感応型MPCポリマーのコーティングにより，デンチャープラークの形成を抑制することだけでなく，その細菌構成を変えずに幼若化プラークのような構成へ変化させていることが示唆された．これにより光感応型MPCポリマーは静菌的にデンチャープラークの形成付着を抑制している可能性が示唆された．

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究により，全部床義歯に付着したデンチャープラークの細菌叢が特異的な構成をしていることが示唆された．歯を全て喪失した後に製作された全部床義歯に対しても歯に付着する細菌群が多く存在しており，従来の培養方法では解明できずにいた細菌構成を解析することができた．また光感応型MPCポリマーのコーティングにより，デンチャープラークの形成を抑制することだけでなく，その細菌構成を変えずに幼若化プラークのような構成へ変化させていることが示唆された．これにより光感応型MPCポリマーは静菌的にデンチャープラークの形成付着を抑制してい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：光感応型MPCポリマー 次世代シークエンサー デンチャープラーク

1．研究開始当初の背景

我が国では急速に高齢化が進み、可撤性義歯治療の需要は増え続けている。その中で可撤性義歯の使用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、特にプラーク等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。肺炎は我が国の死因第3位である国民の健康維持増進に重要な疾患である。高齢者での誤嚥性肺炎はその死亡率の高さと強く関連している。さらに高齢化に伴い要介護者や認知症患者は増加し、義歯を含む口腔衛生状態はますます悪化している。可撤性義歯の多くはアクリル樹脂を用いて作製されているため、多孔性という物性から細菌付着を生じやすく、長期に使用した義歯では細菌の温床となってしまうケースが見られる。誤嚥性肺炎を予防するためには、その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は近年普及してきている次世代シーケンサーを応用する。膨大な遺伝子配列を解析する次世代シーケンシング反応はマイクロバイオームの実態解明を可能とし、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 ポリマーの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に加え、ポリマーの細菌付着抑制効果をより発展させることを可能にする。

2．研究の目的

義歯の装着による粘膜疾患や誤嚥性肺炎の発症を予防するためには、義歯に付着したデンチャープラーク内に存在する細菌や真菌からの感染防止が重要である。デンチャープラークは非常に強固なバイオフィルムであるため、界面活性剤や発泡剤などの洗浄剤を使用するだけでは完全に除去することは難しく、ブラッシングなどの機械的洗浄が必要である。しかしながら多くの高齢者にとって、複雑な形状の義歯を効果的にブラッシングするといった細かい作業は困難である。また高齢化による要介護者や認知症患者の増加により、義歯を含む口腔衛生管理は周囲のサポートを必要とする社会的な問題にまで発展している。

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。MPC は細胞膜に類似した構造を持つため生体親和性に優れ、人体の持つ様々な機能を侵すことなく効果的にその性質を発揮することが実証されている。またすでに人工関節やコンタクトレンズ、化粧品などとして市販されており、安全で確実な効果が保証された生体材料である。

さらに次世代シーケンサーは近年普及している新技術であり、数十億もの膨大なシーケンシング反応による遺伝子解析に応用されている。本研究では次世代シーケンサーを細菌解析に応用することで、デンチャープラーク細菌叢を解析し、MPC ポリマーによるプラーク付着の細菌叢変化を解明することを目的としている。細菌叢を解明することで、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。またそれに伴って近年さらに増加している国民医療費の軽減も見込まれる。

3．研究の方法

・デンチャープラーク細菌叢の網羅的解析：臨床研究

1) 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

- ・研究に同意を得られた義歯装着患者の義歯床からデンチャープラークを採取する
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
採取部位: 全部床義歯粘膜面

- ・採取したプラーク中の微生物の DNA を抽出し、次世代シーケンス解析を行う
- ・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

2) PMBPAz コーティング義歯のデンチャープラーク細菌叢の変化の解析

- ・同様の患者の義歯に PMBPAz コーティングを施し、同様の細菌叢データを解析する

・MPC ポリマーの改良：基礎研究

- ・MPC ポリマーの改良：残存する細菌種に対して有効な官能基を調査、付与する
- ・MPC ポリマーの最適化：最も効率よく細菌付着を抑制させるためにコーティングにおける要素を見直し、最適化させる

4. 研究成果

・デンチャープラーク細菌叢の網羅的解析：

全部床義歯のデンチャープラークは、口腔内細菌叢と異なり、特異的な細菌叢を有していた（論文投稿中）

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。これは従来耐久性の低かった MPC ポリマーを PMMA 基板に共有結合により強固に結合させることができたからだと思われる。基礎的研究では代表的なプラーク形成細菌である *S.mutans* を用いて基板上でのバイオフィルム形成を抑制することに成功し、さらに義歯洗浄剤に使用される化学物質に対する耐久性も実証された。これらの結果を用いて、実際に患者が使用する有床義歯で比較したところ、光感応型 MPC ポリマーのコーティングにより有意にデンチャープラークの付着を抑制することが確認された。

光感応型 MPC ポリマーはプラークの付着を抑制することを証明したが、プラークをどのように抑制しているのかはわからずにいた。そこで今回次世代シークエンサーを用いることでプラークを構成する細菌叢に着目し、光感応型 MPC ポリマーがどのようにプラークに影響を与えてプラークの形成や付着を抑制するのかを解析することを試みた。次世代シークエンサーにより、全部床義歯に付着するデンチャープラークを構成する細菌叢を解析したところ、口腔内細菌叢とは異なる特異的な細菌叢が存在することが証明された。またこの細菌叢はそれぞれの患者の義歯の状態により異なり、その中でも義歯の清掃状況という衛生状態が最も大きく影響していることが判明した。衛生状態は単にプラークの付着量が異なるだけでなく、構成する細菌叢も影響していることがわかった。光感応型 MPC ポリマーのコーティングにより、デンチャープラークの形成が抑制されるだけでなく、構成する細菌叢が衛生状態のよい細菌叢に近づいていることがわかった。細菌叢の構成自体を変化させず、幼弱なプラークへ変化させていることから光感応型 MPC ポリマーには静菌的な抑制効果がある可能性が示唆された。

・MPC ポリマーコーティングの改良：

・PMBPAz の濃度と MPC ポリマーコーティングの細菌付着抑制効果を測定（特許申請中）

・光照射による波長と照射時間と、MPC ポリマーコーティングの細菌付着抑制効果、コーティングの耐久性を測定（特許申請中）

従来の MPC コーティングは紫外線照射によって PMMA 基盤と共有結合させるため、PMBAz ポリマーを使用していた。この際の PMBPAz ポリマーの濃度は過去の論文を参考に設定しており、この濃度の違いによる細菌付着抑制効果は報告されていなかった。また同様に、使用する UV についての波長と照射時間による影響も報告されていなかった。

今回、従来の PMBPAz ポリマーの濃度と基盤への適用方法の違いによる MPC ポリマーコーティングの細菌抑制効果についての検証を行った。また使用する UV の照射時間と使用する光波長について MPC ポリマーコーティングとの関係性を評価、解析した。

評価については、PMMA 基盤上に条件の異なる MPC ポリマーコーティングを施し、単純な口腔内細菌によるバイオフィルム形成抑制能を評価し、義歯洗浄剤に含まれる化学物質への耐久性和ブラッシングによる機械的な耐久性について評価を行った。

基礎的なデータを得ることができたため、今後特許の申請を控えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 塚原明弘，池谷賢二，岩佐文則，森崎弘史，福西美弥，高橋那奈，桑田啓貴，馬場一美
2. 発表標題 次世代シーケンサーによるデンチャープラーク細菌叢の解析
3. 学会等名 日本補綴歯科学会 第8回学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚原明弘，池谷賢二，岩佐文則，福西美弥，久志本那奈，馬場一美
2. 発表標題 デンチャープラーク細菌叢の16S rRNAメタゲノム解析
3. 学会等名 日本老年歯科医学会 第29回学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsukahara A, Ikeya K, Iwasa F, Morisaki H, Fukunishi M, Takahashi N, Kuwata H, Baba K
2. 発表標題 Analysis of bacterial flora in denture plaque by NGS
3. 学会等名 International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚原明弘，池谷賢二，岩佐文則，森崎弘史，福西美弥，高橋那奈，桑田啓貴，馬場一美
2. 発表標題 MPCポリマーコーティングがデンチャープラーク細菌叢に及ぼす影響
3. 学会等名 第65回昭和大学学士会総会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----