

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：13101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24087

研究課題名(和文)細菌付着を減弱するジフテリア菌表層糖脂質誘導体を用いたバイオフィーム制御剤の開発

研究課題名(英文) Sulfated vizantin leads biofilm detachment by affecting bacterial adhesion.

研究代表者

長谷川 泰輔 (Hasegawa, Taisuke)

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：80844472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：バイオフィーム剥離効果を有する、ジフテリア菌表層糖脂質(TDCM)をリード化合物として合成されたビザンチンを歯面コーティング剤として応用した場合の抗バイオフィーム効果を検証した。ビザンチン処理をしたハイドロキシアパタイト(HA)ディスク上では、初期付着菌の増殖に影響を与えることなく、菌種非特異的に菌体表面性状を変化させるとともに、付着関連遺伝子に影響を与えることで、付着菌数が抑制されることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、抗菌成分に頼らない口腔バイオフィーム制御法開発の一環であり、化学的制御法の弊害を減少させるとともに、口腔バイオフィームを易剥離性とすることで、口腔ケアの省力化に貢献できると考えられる。近年では要介護者を支える家族や介助者の負担が増加しており、口腔ケアの省力化実現の可能性は、支える人の心身の負担軽減に寄与し得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We verified the anti-biofilm effect of vizantin which was synthesized from diphtheria surface glycolipid (TDCM) as a lead compound. It causes detachment of *Streptococcus mutans* biofilm without affecting bacteria viability. On hydroxyapatite (HA) discs coated by vizantin, bacterial adhesion to HA surface by early colonizer was suppressed. Because bacteria cell surface properties were changed non-specifically without affecting the growth of the bacteria, the gene expressions in relation to bacterial adhesion were changed in the presence of vizantin.

研究分野：う蝕学分野

キーワード：バイオフィーム ビザンチン 初期付着菌群 菌体表面性状 付着関連遺伝子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔バイオフィルムのコントロールは機械的な除去が基本であるが、化学的コントロールがその補完的役割を果たしている。殺菌成分を含む洗口液併用により、デンタルプラークの付着抑制効果や歯肉炎予防効果の向上といった効果が期待できる一方で、化学的コントロールの弊害作用についても明らかとなってきた。殺菌成分による方法では、いかに口腔バイオフィルムに対して優れた浸透性を発揮し、細菌を死滅させられるかが焦点となっていた。しかし、申請者らのグループは殺菌成分作用後も付着界面にバイオフィルム構造が残存し、バイオフィルム再形成の足場となることを報告しており、また、殺菌成分の感受性の違いによる口腔細菌叢の変化の可能性や sub-MIC 量の抗菌剤使用によりバイオフィルム形成を促進させる細菌種が存在することが報告されている。申請者らのグループは殺菌成分に頼らない口腔バイオフィルム制御戦略への転換の必要性について提言してきた。

申請者らはピザンチン(ジフテリア菌表層糖脂質誘導体)に着目し、ピザンチンがう蝕病原性細菌である *S. mutans* に対して、細菌増殖およびバイオフィルム形成に影響を与えることなく、抗バイオフィルム効果を示すことを見出した。また、ピザンチンは菌種非特異的に菌体表面性状を親水性に変化させることで菌種非特異的に細菌付着を抑制することを確認しており、ピザンチンの初期定着菌群に対する菌体表面性状の変化および、付着関連遺伝子発現の変化がバイオフィルムの付着減弱効果に関与すると推定している。

2. 研究の目的

ピザンチンは、殺菌効果を示すことなく、細菌の付着を減弱し、高い抗バイオフィルム効果が得られる可能性がある。歯面コーティング材として応用することで、特に初期定着菌群の付着を抑制できる可能性がある。本研究は、これまでのピザンチンによる抗バイオフィルム効果について歯面コーティング剤として応用したときの抗バイオフィルム効果を検証することを目的とした。

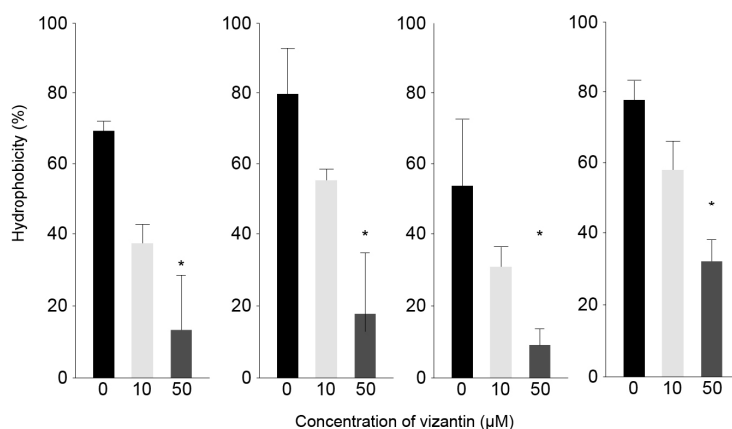
3. 研究の方法

ヒトデンタルバイオフィルムの初期定着菌群である *Streptococcus oralis* ATCC 35037、*Streptococcus gordonii* ATCC 10558、*Actinomyces naeslundii* ATCC 12104 を用いて、ヒト歯肉上皮細胞および線維芽細胞に毒性のない最大濃度 (50 μ M) で処理をした細菌のハイドロキシアパタイト (HA) への付着量を、フローセルモデルを用いて解析した。また、菌体表層の疎水性を Microbial adhesion to hydrocarbons (MATH) test で評価した。さらに、各菌株の付着関連遺伝子の発現動態の解析を行った。また、ヒト唾液由来細菌を用いた *ex vivo* モデルにより、ピザンチン処理をした HA 上にバイオフィルムを形成させ、抗バイオフィルム効果について評価した。

4. 研究成果

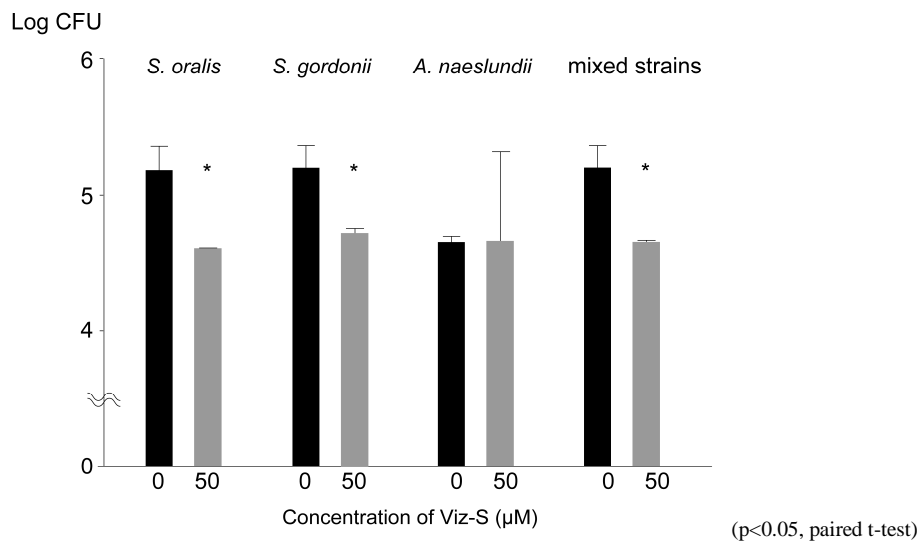
各 ATCC 株に 50 μ M の Viz-S を 10 分作用させたところ、表面性状は親水性に変化し、HA への付着菌数も有意に減少した(下図)。さらに、Viz-S 存在下における付着関連遺伝子発現レベルは、*S. oralis* の *gfr* および *S. gordonii* の一部の付着関連遺伝子の発現が有意に減少した。また、SEM 観察において、ピザンチン処理した HA 上の唾液由来細菌によるバイオフィルム形成は抑制されていた(下図)。

菌体表面性状の変化

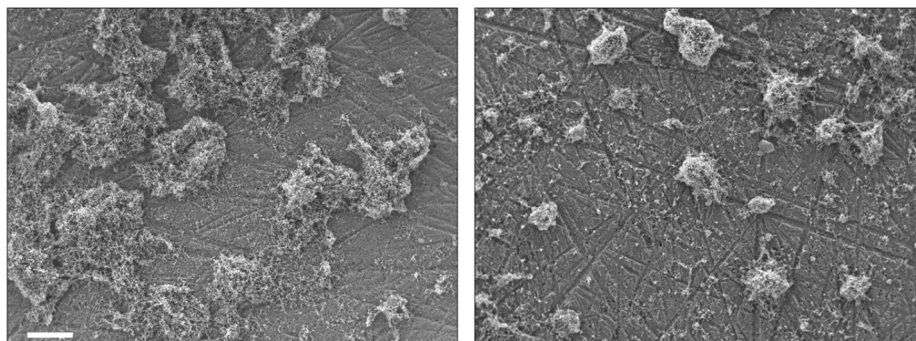


($p < 0.01$, Kruskal-Wallis H test, Dunnett's post-hoc test)

HA への付着菌数



SEM 像



Control

50μM

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suzuki Yuki, Ohsumi Tatsuya, Isono Toshihito, Nagata Ryoko, Hasegawa Taisuke, Takenaka Shoji, Terao Yutaka, Noiri Yuichiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Effects of a sub-minimum inhibitory concentration of chlorhexidine gluconate on the development of in vitro multi-species biofilms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biofouling	6. 最初と最後の頁 146 ~ 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/08927014.2020.1739271	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ohsumi Tatsuya, Takenaka Shoji, Sakaue Yuuki, Suzuki Yuki, Nagata Ryoko, Hasegawa Taisuke, Ohshima Hayato, Terao Yutaka, Noiri Yuichiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Adjunct use of mouth rinses with a sonic toothbrush accelerates the detachment of a <i>Streptococcus mutans</i> biofilm: an in vitro study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Oral Health	6. 最初と最後の頁 161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12903-020-01144-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hasegawa Taisuke, Takenaka Shoji, Oda Masataka, Domon Hisanori, Hiyoshi Takumi, Sasagawa Karin, Ohsumi Tatsuya, Hayashi Naoki, Okamoto Yasuko, Yamamoto Hirofumi, Ohshima Hayato, Terao Yutaka, Noiri Yuichiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Sulfated vizantin causes detachment of biofilms composed mainly of the genus <i>Streptococcus</i> without affecting bacterial growth and viability	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Microbiology	6. 最初と最後の頁 361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12866-020-02033-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Naksagoon Traithawit, Ohsumi Tatsuya, Takenaka Shoji, Nagata Ryoko, Hasegawa Taisuke, Maeda Takeyasu, Noiri Yuichiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Effect of water aging on the anti-biofilm properties of glass ionomer cement containing fluoro-zinc-silicate fillers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biofouling	6. 最初と最後の頁 1090-1099
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/08927014.2020.1856371	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 竹中彰治, 長谷川泰輔, 小田真隆, 山本博文, Naksagoon Traithawit, 永田量子, 鈴木裕希, 大墨竜也, 野杵由一郎	4. 巻 63
2. 論文標題 機能性糖脂質ピザンチンによるStreptococcus mutansの付着抑制効果 -表面性状の変化と付着関連遺伝子の発現解析	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本歯科保存学会誌	6. 最初と最後の頁 173-180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 長谷川泰輔, 竹中彰治, 永田量子, 大墨竜也, 野杵由一郎	4. 巻 33
2. 論文標題 In situ デンタルバイオフィルムモデルを用いた歯科修復材料の抗バイオフィルム効果の検討.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BACTERIAL ADHERENCE & BIOFILM	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 長谷川泰輔, 竹中彰治, 小田真隆, 磯野俊仁, Naksagoon Traithawit, 永田量子, 鈴木裕希, 大墨竜也, 野杵由一郎
2. 発表標題 抗バイオフィルム効果を有する結核菌細胞表層糖脂質誘導体ピザンチン(Viz-S)の初期定着菌群に対する付着減弱効果
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会 2019年度秋季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田量子, 大墨竜也, 磯野俊仁, Naksagoon Traithawit, 鈴木裕希, 長谷川泰輔, 竹中彰治, 野杵由一郎
2. 発表標題 Nested PCRアッセイを用いた口腔内Helicobacter pylori の検出.
3. 学会等名 第151回日本歯科保存学会2019年度秋季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naksagoon T, Ohsumi T, Takenaka S, Hasegawa T, Noiri Y
2. 発表標題 Anti-cariogenic Biofilm Effect of Zinc Glass-containing Glass Ionomer Cement After Long-term Water Immersion Using In Vitro MRD Flow Cell Study.
3. 学会等名 The 1st General Meeting of ConsAsia 2019, the Asian-Oceanian Federation of Conservative Dentistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 2)長谷川泰輔, 竹中彰治, 永田量子, 大墨竜也, 野杵由一郎
2. 発表標題 In situデンタルバイオフィームモデルを用いた歯科修復材料の抗バイオフィーム効果の検討.
3. 学会等名 第34回日本バイオフィーム学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naksagoon Traithawit, 大墨竜也, 永田量子, 長谷川泰輔, 竹中彰治, 野杵由一郎
2. 発表標題 フルオロジंकシリケートガラス配合グラスアイオノマーセメントの長期水浸後の抗う蝕原性バイオフィーム効果.
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹中彰治, 長谷川泰輔, Naksagoon Traithawit, 永田量子, 大墨竜也, 野杵由一郎
2. 発表標題 機能性糖脂質ピザンチンのStreptococcus mutansに対する抗バイオフィーム作用の機序の解明.
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会学術大会
4. 発表年 2020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
---------	---------