

氏名	福 光 恭 子
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博甲第 1579号
学位授与の日付	平成9年3月25日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	矯正装置装着によるデンタルプラーク細菌叢の変遷
論文審査委員	教授 下野 勉 教授 村山洋二 教授 福井一博

## 学位論文内容の要旨

### 【目的】

微生物生態学的にみると、口腔内環境は物理的にも供給される栄養物の面でも異なる部位を含んでおり、各々の部位には異なった微生物種が存在していると推察される。このような口腔内の微生物環境は歯科的処置によって更に複雑化し、微生物叢遷移の一因になると考えられるが、歯科的処置の中でも特に歯科矯正治療は口腔内の環境変化をもたらしているといえる。また、特定細菌の動態は他のデンタルプラーク細菌との相互関係で決まるので、細菌の環境応答を理解するには一宿主(宿主)における環境変化前後のプラーク細菌叢の変化をみるのが重要である。更に、口腔環境の変化による細菌叢の変遷は動的かつ連続的な変化であるので、長期にわたる経時的な細菌叢分析が必要である。

本研究は、口腔内の環境変化によって生ずる細菌の動態を種および菌株レベルでみることを目的として、矯正装置装着がもたらすプラーク細菌叢の動態を同一被験者について長期間にわたって分析したものである。

### 【材料と方法】

#### 1. 被験者とデンタルプラーク採取

被験者は26歳・女性で、DMFT指数は3、上顎前歯部に軽度の叢生がみられた。矯正治療にはプラークの付着性を考慮して、金属製のブラケットと結紮線を一貫して使用した。プラークは上顎中・側切歯の歯頸部唇面(歯頸側1/3)から、歯肉縁上プラークのみを採取した。プラーク採取の際はブラッシングを7.5日間停止させ、その間に蓄積するプラークを経時的(0.5, 1.5, 3.5, 7.5日目)に計4回採取してそれぞれのサンプルの細菌叢を分析した。分析は、矯正装置装着6.5か月前と1か月前、装置装着1か月後、2か月後および10か月後の計5回行った。プラーク採取以外の期間は、日常的なブラッシングを指示した。

#### 2. 細菌叢の分析

採取したサンプルは嫌気ボックス内で分散・希釈して血液寒天培地に接種し、5日間嫌気培養した。その後各サンプルにつき約50菌株、総計941菌株を分離して一連の鑑別試験を行い、属レベルで同定した。鑑別試験は、Virginia Polytechnic InstituteのAnaerobe Laboratory Manualに従って行った。分離株のうち、*Actinomyces*については種々の糖類の発酵性と菌体脂肪酸組成を分析し、種レベルで同定した。また、*Actinomyces viscosus*と同定された菌株については、全菌体をドデシル硫酸ナトリウム(SDS)-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)し、菌体タンパク質のプロファイルによってタイプ分けを行った。

## 【結果】

### 1. 細菌属レベルでみた細菌叢の変動

総計 941 の分離株は, *Actinomyces* (43%), *Streptococcus* (35%), *Staphylococcus* (14%), *Neisseria* (4%), *Peptostreptococcus* (2%), *Haemophilus* (2%) の 6 つの属に分類された。矯正装置装着前および装着 1 か月後までは, プラーク形成過程の初期(0, 1 日目)において *Actinomyces* の割合が低く, プラークの蓄積に伴いその割合が増加した。一方, 装置装着後 2 か月以降では, プラーク形成初期から *Actinomyces* が高い割合で存在した。

### 2. *Actinomyces* 種の動態

*Actinomyces* 分離株は種レベルで同定すると, *A. viscosus* (*Actinomyces* の 52%), *A. israelii* グループ(24%), *A. odontolyticus* (8%), *A. naeslundii* (6%), *A. georgiae* (5%), *A. denticolens* (1%) 及び 2 つの未知種(4%) に類別された。プラークの優勢菌種は, 装置装着前および装着 2 か月後の時点までは *A. viscosus* であったが, 装置装着 10 か月後では *A. israelii* グループなどに変化した。

### 3. *A. viscosus* の菌株レベルでの動態

*A. viscosus* は菌体タンパク質のプロファイルによって 16 種類(タイプ I ~ X とその他)の菌株タイプに分類された。装置装着前はタイプ I, タイプ II が大部分を占めたが, 装置装着後にはそれらの優占する割合は減少し, 出現する菌株タイプが多様化した。また, 菌株タイプの動態は, 装置装着の影響を受けずに常に出現するもの, 分析開始時点から出現していたが装置装着 10 か月後では検出されなかったもの, 装置装着後になって初めて出現するものの 3 パターンに分けられた。

## 【考察および結論】

- 0.5 日目と 1.5 日目のプラーク細菌数から, 初期増殖速度と 0 時間目のプラーク細菌数を推定すると, どちらも矯正装置装着後に増加した。このことは, 矯正装置装着という環境変化によるプラーク形成の促進化を示唆しているものと考えられる。
- 矯正装置装着後では, *Actinomyces* の優勢性がプラーク形成過程の初期から成熟期まで一貫してみられ, その主要菌種は *A. viscosus* であった。このような優勢性は *A. viscosus* の高い付着能や共凝集能によるものと推察される。また, 装置装着後の時間経過に伴って出現する *Actinomyces* 種が多様化し, 優勢種が *A. viscosus* から *A. israelii* に変遷した。これはプラークの蓄積に伴う酸化還元電位の低下に起因する変化と考えられる。
- 矯正装置装着前では, 1~2 種類の菌株タイプが常に優勢を示したが, 装置装着後には出現する菌株タイプやそれらの動態が多様化がみられた。これらの変化には定着や他菌種を排除できる性質が関与していることが推察され, 細菌叢の変遷を追究するには菌株タイプレベルでの分析が重要であることが示唆された。

以上のことから, 本研究の被験者においては, 矯正装置装着という口腔内の環境変化によって, プラークの優勢菌である *Actinomyces* 属の動態に変化が生じるだけでなく, プラーク中の *Actinomyces* の種構成や *A. viscosus* の菌株タイプの動態にも影響が及ぶことが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本研究は、口腔内の環境変化によって生ずる細菌の動態を種および菌株レベルでみることを目的として、矯正装置装着がもたらすデンタルプラーク細菌叢の動態を長期間にわたって分析したものである。

プラーク採取の際はブラッシングを7.5日間停止させ、その間に蓄積するプラークを経時的(0.5, 1.5, 3.5, 7.5日目)に計4回採取し、それぞれのサンプルの細菌を分離同定し、プラークの形成過程の細菌叢を解析した。このような解析を矯正装置装着6.5か月前と1か月前、装置装着1か月後、2か月後および10か月後の計5回行い、以下の結果を得た。

1. 矯正装置装着後では、*Actinomyces* の優勢性がプラーク形成過程の初期から成熟期まで一貫してみられ、その主要菌種は *A. viscosus* であった。また、装置装着後の時間経過に伴って出現する *Actinomyces* 種が多様化し、優勢種が *A. viscosus* から *A. israelii* に変遷した。
2. *A. viscosus* の分離株は16種類の菌株タイプに分類され、矯正装置装着前では1~2種類の菌株タイプが常に優勢を示したが、装置装着後には出現する菌株タイプやそれらの動態の多様化がみられた。

以上のことから、本研究の被験者においては、矯正装置装着という口腔内の環境変化によって、プラークの優勢菌である *Actinomyces* 属の動態に変化が生じるだけでなく、*Actinomyces* の種構成や *A. viscosus* の菌株タイプの動態にも影響が及ぶことが示唆された。本研究は、細菌叢の変遷を追究するには菌株タイプレベルでの分析が重要であることを示唆した点で有意義な業績であり、評価されるべきものである。よって、本申請論文は博士(歯学)の学位論文として価値あるものと認めた。