

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名

学位論文題目

審査委員 (主査氏名) 有吉 渉

(署名)

有吉 渉

(副査氏名) 中島 啓介

(署名)

中島 啓介

(副査氏名) 竹内 弘

(署名)

竹内 弘

### 学位審査結果の要旨

歯科領域では、直径数 10~100nm の気泡であるナノバブル水 (NBW) の 1 つである  $O_3$ -NBW を用いた臨床的研究が散見される。しかし、 $O_2$  や  $HOCl$  のナノバブル化に関する研究は、ほとんど報告されていない。さらに近年の研究で、口腔疾患の発症と進行に口腔細菌叢が深く関与する「生態学的プラーク仮説」が提唱されている。そこで本研究では、 $O_2$ -NBW および  $HOCl$ -NBW が口腔内細菌叢に及ぼす影響について網羅的解析を用いて検討した。

本研究は、2021 年 10 月から 12 月にかけて 2 ヶ所の歯科医院を受診した 16 名の患者 (平均年齢 : 53.5 歳) を対象に横断研究を行った。除外基準は、1) 急性疾患を有する者、2) 過去 1 ヶ月以内に抗生物質の処方を受けた者、3) 過去 3 ヶ月以内に歯周病治療として局所薬物療法を受けた者、4) コントロール不良の糖尿病を有する者、5) 自己免疫疾患に対するステロイド治療を受けた者、および 6) 唾液分泌低下を有する者とした。臨床評価項目として、プロービング深さ (PD)、プロービング時の出血 (BOP)、および現在歯数を計測した。パラフィンガムを 5 分間噛んだ後、採取した唾液サンプルに  $O_2$ -NBW、 $HOCl$ -NBW またはコントロールとして脱イオン水を曝露させ、通法に従い嫌気培養を行った。細菌 DNA を抽出後、次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 解析による細菌叢解析を行った。NBW 曝露群とコントロール群間の評価には、 $\alpha$  多様性、 $\beta$  多様性および主座標分析 (PCOA) を用いた。群間比較には、PERMANOVA ならびに反復測定 ANOVA を用いた。さらに NBW 曝露による口腔内細菌の相対的存在率の比較のため、Ward 法によるクラスター解析を行った。また、PD 部位数と高感受性細菌の相対的存在率との相関の評価については、スピアマンの順位相関を用いた。

研究の結果、唾液細菌叢の  $\alpha$  多様性および  $\beta$  多様性に、各 NBW の曝露による有意差は認めなかった。しかし、コントロール群と  $HOCl$ -NBW 曝露群との間の *Porphyromonas pasteri* の相対的存在率に有意差が確認された。PCOA の結果に基づいてクラスター化された群のうち、Weighted UniFrac 距離によるクラスター (クラスタ-3) において、 $HOCl$ -NBW 曝露群では、コントロール群と比較して、*P. pasteri* の有意な減少が観察された。さらに、*P. pasteri* の相対的存在率と 4 ミリの PD 部位数との間に有意な相関関係が認められた。

以上の研究結果から、 $HOCl$ -NBW を曝露した唾液では、1) 細菌叢のバランスは維持され、2) 初期の口腔バイオフィーム形成に関わるとされている *P. pasteri* の相対的存在率が減少することが明らかとなり、 $HOCl$ -NBW が歯周病の初期段階の病態制御に効果的であると考えられ、口腔疾患の予防を目的とした新たな洗口液の開発につながる可能性が示された。

本研究内容について申請者の相楽氏に対し、実験の手技 (特に臨床検体の採取方法や細菌の培養方法) の詳細や意義、結果の解釈などについて、主査と 2 名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。また今後、NBW を臨床応用していく上での課題について審査員より、さまざまな示唆を行い、申請者が考える本研究の limitation を踏まえた議論を展開した。本研究は、口腔内細菌叢に強い影響を及ぼすことなく、口腔バイオフィーム形成初期に重要な役割を果たす細菌を制御する新たな手法を提案したものであり、口腔衛生管理などに応用が期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。