

## 学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	分子腫瘍学
学籍番号	12D738	氏名	多田彩乃
論文題目	Cleansing effect of acidic L-arginine on human oral biofilm		

(論文要旨)

**【目的】**

歯面に付着するプラーク (Dental plaque) は、主に微生物やその代謝産物、唾液由来のタンパク質などさまざまな物質を含む構造物であり、う蝕や歯周疾患の原因となる。また、dental plaqueの蓄積は単純な口腔局所の問題ではなく、糖尿病や心疾患、早産などのリスク因子となる細菌の供給源と考えられている。また、有病者や高齢者において肺炎の予防に口腔ケアが有効であることが報告され、口腔ケアへの関心が高まっている。近年、塩基性アミノ酸であるL-arginineが、口腔細菌のarginine deiminase系の作用を受けることで口腔内pHの低下を防ぎ、う蝕予防に有効であることが報告されている。一方、L-arginineはタンパク質の可溶化作用を示すことも知られており、凝集しやすい抗体等の製造にも利用されている。本研究では、ヒト唾液中細菌由来のバイオフィルムに対するL-arginineの洗浄効果を検討した。

**【方法】**

クエン酸緩衝液を用いてアミノ酸溶液を作製した。まず、*Streptococcus mutans* GS5株を含むBHI+1%sucrose培地とL-arginine溶液を混合し、バイオフィルムアッセイを行った。健常者より提供を受けた唾液をBHI+1%sucrose培地へ20%量添加した後、嫌気培養してバイオフィルムを形成させ、このバイオフィルムを各々0.5 MのL-arginine、L-lysine、L-alanineまたはL-glycineで洗浄した。その後、クリスタルバイオレットで染色し、残存バイオフィルム量を比較した。また、模擬的う蝕原性バイオフィルムとして唾液に*S. mutans* GS5を混合したバイオフィルムに対する効果も同様に調べた。ディスク上に唾液を用いて形成させたバイオフィルムをL-arginineで洗浄した後、洗浄液を回収した。ディスクは生理食塩水で洗浄後、細断し、超音波処理によって付着菌を遊離させた。それぞれの分画に含まれる細菌群を16S rDNA遺伝子を標的とした Illuminaシークエンスによって解析した。

**【結果】**

クエン酸緩衝液を用いてpH3.5-7.0に調整した0.25 M L-arginine溶液の*S. mutans*バイオフィルムに対する効果は、pH3.5で有意に高かった。0.5 MのL-arginine、L-lysine、L-alanineまたはL-glycineを用いて健常者の唾液由来のバイオフィルムを洗浄した結果、pH3.5に調整したL-arginineの洗浄効果が最も高かった。0.5 MのL-arginine (pH3.5)は、健常者の唾液由来のバイオフィルムをクエン酸緩衝液と比較して有意に除去した。*S. mutans*を唾液に混合することにより作製した模擬的う蝕原性バイオフィルムに対しても、L-arginineは高い洗浄効果を示したが、クエン酸緩衝液にも同様に洗浄効果を認めた。さらに、ディスク上に形成させたヒト唾液由来のバイオフィルムを生理食塩水、クエン酸緩衝液またはL-arginineで洗浄した後、ディスク上に残存した細菌群とディスクより剥離した細菌群を解析した。その結果、クエン酸緩衝液は*Streptococcus*属により洗浄効果を示し、酸性化L-arginineは非特異的にバイオフィルムを構成する細菌群を除去していることが示された。

**【考察および展望】**

以上の結果より、酸性化L-arginineによる洗浄は、生理食塩水、クエン酸緩衝液や他のアミノ酸溶液による洗浄と比較し、唾液由来バイオフィルムを有意に除去した。酸性化L-arginine溶液は、洗口剤などの効果を高める添加剤としての有用性が期待できる。

掲載誌名	BMC Oral Health 第 卷, 第 号		
(公表予定) 掲載年月	平成27年 12月 掲載受理	出版社(等)名	BioMed Central
Peer Review	有 無		

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。