

論文の内容の要旨

氏名：鈴木 秀 紀

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Health indicator bacteria that is useful for risk assessment of peri-implantitis

（インプラント周囲炎のリスク評価に有用な健康指標となる細菌）

インプラント周囲炎は *osseointegration* 獲得後に生じる生物学的併発症として、今日の口腔インプラント治療において不可避な併発症である。インプラント周囲炎は歯周炎と同様に細菌感染が主因となり、インプラント周囲支持骨の吸収や周囲軟組織の炎症といった歯周炎と類似した病態を呈する。また、本疾患は歯周炎と同様に無症状で病態が進行する沈黙の疾患である。しかし一方で、歯周炎と比較して本疾患の進行は速く、歯周炎と同様の治療法では効果が限定的であるなどの意見も見られ、支持骨の吸収が進行した重度のインプラント周囲炎ではインプラント体の脱落が生じ患者の QOL を著しく低下させる。本疾患と関連する細菌は、歯周炎と類似しているとの報告もあるが、その詳細については不明な点が多く未だ議論がなされている。そのような中、インプラント治療においては、*Porphyromonas gingivalis* などの歯周病原細菌を定性または定量的に調べる細菌検査が現在も活用されている。しかしながら、健全なインプラント周囲組織においても歯周病原細菌が検出される場合や、細菌検査の結果と実際の臨床所見が一致しない症例も多く、現在の細菌検査の臨床的意義に疑問を持つ声も多い。そのため、我々は Red complex 細菌を病的指標として評価する検査に疑義を抱き、現行の検査とは対照的に健全なインプラント周囲組織状態を反映する細菌群に着目し、それらを健全マーカーとした新しい細菌学的検査のシステム構築を着想した。そこで、健全マーカーとなり得る細菌の検索を試みたところ、口腔常在菌の *Rothia* 属がその候補として挙げられた。本研究の目的は、Multiplex PCR 法を用いた口腔 *Rothia* 属菌の簡易かつ精度の高い新しい同定・検出法を確立し、本菌属がインプラント周囲炎のリスク判定に有用な健全マーカーとなり得るか否かを詳細に調査することだった。また、*Rothia* 属菌の最適な生育環境を確認するために、*in vitro* 実験にて本属菌の酸素要求性についても検討した。さらには、歯周病に最も関与する細菌グループである Red complex と本疾患との関連性についても調査を行った。

初めに、口腔 *Rothia* 属 3 菌種を簡易かつ正確に同定・検出することが可能な Multiplex PCR 法の確立を試みた。*Rothia* 属菌特異的 Primer は、16S rDNA に基づいて設計した。本方法は、3 菌種を正確に検出可能であり、3 菌種が試料中に混在していても正確に検出・判別可能であった。また、代表的な口腔細菌に対しては全く反応しなかった。この結果から、本方法は口腔 *Rothia* 属 3 菌種を同定・検出するのに有用であると判断された。また、本方法による同定と検出方法は、DNA 抽出作業が不要であり、試料採取から結果が得られるまでに要する時間は約 90 分で検出可能であるために簡易性に優れ、高精度かつ迅速に結果が得られる有用な手法であると考えられた。

次に、インプラント健全群 (NPI) 30 名とインプラント周囲炎群 (PI) 30 名からインプラント周囲溝滲出液を採取し、口腔 *Rothia* 属菌選択培地である ORSM に播種・培養を行い、両群における口腔 *Rothia* 属 3 菌種の検出頻度を調査した。その結果、総細菌数、*Rothia dentocariosa* 数および *Rothia mucilaginosa* 数は、両群間で有意差を認めなかったが、NPI における *Rothia aeria* 数は PI と比較して有意な増加を認めた。また、総細菌数に占める口腔 *Rothia* 属菌の割合は NPI において 3 菌種共に高い傾向を示し、特に *R. aeria* は PI と比較して約 100 倍もの高い割合を示した。

また、好気培養と嫌気培養での異なる培養条件での *R. aeria* 認定株と分離株の発育・増殖を比較検討した。その結果、*R. aeria* 認定株と分離株共に好気培養を行った方が顕著に良好な発育・増殖を認めた。次に、半流動培地を用いて、*R. aeria* と偏性嫌気性菌の *P. gingivalis* における発育の違いを *in vitro* にて調査した。*R. aeria* は酸素濃度が高い上層部のみに顕著な発育・増殖を認めたのに対し、嫌気性菌の *P. gingivalis* は、酸素濃度が高い上層部での発育・増殖は認めず、酸素濃度が低い中層部から下層部までの発育・増殖を認めた。以上のことから、浅い健全なインプラント周囲溝は好氣的、すなわち酸素濃度が高いために *R. aeria* にとって好ましい生育環境であるのに対し、本疾患における深い周囲溝は嫌氣的、すなわち酸素濃度が低いために *R. aeria* にとっては好ましくなく、*P. gingivalis* などの偏性嫌気性菌が爆発的に増加する要因となることが窺われた。

さらに、PCR 法を用いて NPI と PI における Red complex 3 菌種の検出頻度を比較検討した。PI で 3 菌種共に高頻度で検出される一方で、NPI においても 3 菌種は少なからず検出される結果となった。以上のことから、Red complex は PI で有意に検出されるが、全 PI 患者から検出されるわけではなく、また NPI でも検出さ

れることを鑑みると、臨床の場で現在実施している Red complex の定性・定量検査は、本疾患のリスク判定や病態把握などの指標としては十分ではないと考えられた。

以上のことから、*R. aeria* の菌数や検出割合をモニタリングすることは、インプラント周囲疾患への移行を予測するのに有用であることが示唆された。このことは、インプラント周囲炎の予防・早期発見にも役立つと考えられた。