

## 論文内容の要旨

### Effects of tongue cleaning on bacterial flora in tongue coating and dental plaque: a crossover study

—舌苔とプラーク細菌叢に対する舌清掃の効果：クロスオーバー研究—

(BMC Oral Health 平成 26 年 1 月)

まつい みき  
松井 美樹

#### I. 研究目的

舌苔とは、舌背の中央から舌根部にかけて堆積する微生物、剥離上皮、唾液成分などからなる凝集物で、舌苔細菌は、口臭の主要な原因因子であることが明らかにされている。しかしながら舌苔除去の細菌学的影響はプラーク細菌叢に対してのみならず、舌苔細菌叢についても不明な点が多い。そこで本研究では健常成人を対象に、舌苔およびプラーク細菌叢に対する舌清掃の効果を交叉研究によって検討した。さらに舌苔とプラーク除去後に再構築する細菌叢の変化を総細菌量、*Fusobacterium nucleatum* 量から定量的に検討することを目的とした。

#### II. 研究方法

本研究への協力に同意した歯周病に罹患していない健常成人で 30 名（平均年齢  $23.7 \pm 3.2$  歳）を対象に、以下の交叉研究を行った。

1) ベースライン時の舌苔付着量を Winkel Tongue Coating Index (WTCl) で評価した後、舌背の後方 1/4 部分の舌苔を、滅菌マイクロスパーテルを用いて擦過、採取した。プラークは両側下顎第一大臼歯と第二小臼歯から採取した。両試料の湿重量を採取後直ちに測定した。2) 被験者を無作為に舌清掃群と対照群に分け、舌清掃群のみディスポーザブル舌クリーナーを用いて WTCl が 0 になるまで舌清掃を行った。ベースライン日から 3 日後および 10 日後に同様に WTCl 評価および舌苔、プラーク試料を採取した。3) 3 週の期間をあけて、舌清掃群と対照群を入れ替えて同様の実験を行った。

採取した舌苔およびプラークから DNA を精製し、16S rRNA 共通領域および *F. nucleatum* 特異的プライマーを用いた real-time PCR を行った。検量線から得られた 16S rRNA と *F. nucleatum* のゲノム重量をそれぞれテンプレート中の総細菌量、*F. nucleatum* 量とし、採取全試料中及び試料 1 mg 当たりの各細菌量を算出した。

#### III. 研究成績

舌清掃群の WTCl スコアは 3 日目にはベースラインレベルまで回復していたが、舌苔中総細菌量は 3 日目にベースラインより有意に低い状態を保っていた。また、プラーク中の総細菌量はプラーク除去 3 日後および 10 日後にもベースラインに対して有意に低かったがその変動に舌清掃群と対照群間の差は観察されなかった。このことはパラメーター相互の関連性についての主成分分析からも確認された。さらにプラークと舌苔中の総細菌量と *F. nucleatum* 量にはいずれの測定時点、いずれの群においても、極めて高い相関が認められた。

#### IV. 考察及び結論

本研究結果から、舌清掃に関する以下の点が明らかになった。まず、real-time PCR による精密な測定を行った場合、機械的舌清掃は、従来培養法によって観察されていたよりも長期間、細菌を減少させる効果を有する。しかしながら、そのような微量な変化が口腔保健全体に寄与するかはいまだ不明である。次に、舌苔とプラークの細菌量は、定常状態においても、再構築段階においても全く関連がなく、舌清掃によってプラーク形成が抑制されることはない。さらに、視診によって評価される舌苔付着量は舌苔中の細菌量を正確に反映するものではない。以上に加え、総細菌量と *F. nucleatum* 量は舌苔においてもプラークにおいても、また定常状態においても、再構築段階においても極めて高い関連を呈し、このことは舌苔、プラークとも、量が増すに従って歯周病原性が高まることを示唆していた。これらのことから、プラークと舌苔の細菌量を減少させ、歯周病原性を抑制するためには、舌清掃と口腔清掃の両方が必要であることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

##### 論文審査担当者

主査 准教授 稲葉大輔（口腔医学講座予防歯科学分野）  
副査 教授 木村重信（微生物学講座分子微生物学分野）  
副査 特任准教授 岸 光男（口腔医学講座予防歯科学分野）

機械的な舌清掃はその口臭抑制効果が一般に認められているものの、歯垢や舌背上の細菌叢に対する影響については明らかにされていない。本研究で著者は、交叉研究という研究デザインと、定量的 PCR 法を用い、バイアスの少ない試料採取条件で、舌清掃の有無による歯垢と舌苔の総細菌量の変動を高感度に捉え、比較観察した。さらに、歯周病関連細菌のひとつである *Fusobacterium nucleatum* を定量することで、それら細菌叢の質的変動も検討した。その結果、以下の知見を得た。

1. 定量的 PCR 法を用いた正確な細菌量の測定結果から、これまで培養法で報告されていた以上に長期間、舌清掃による舌背上の細菌量の減少は維持されていた。
2. 歯垢除去後の歯垢中細菌量の回復に舌清掃の有無は関連していなかった。さらに主成分分析により、歯垢中と舌苔中の総細菌量の変動は互いに独立であった。これらのことから、少なくとも除去後 10 日目までの歯垢の回復過程については舌清掃の影響はないことが示された。
3. 視診による舌苔スコアや舌苔湿重量は必ずしも細菌量を反映していなかった。
4. 歯垢中と舌苔中の *F. nucleatum* 量は除去前後、舌清掃の有無にかかわらず、総細菌量と強い関連を呈し、歯垢のみならず舌苔も成熟に伴い *F. nucleatum* 量が増すことが示された。

これらの知見は、回復過程における歯垢と舌苔の独立性を示しており、口腔全体の細菌量を減じるためには歯磨きと舌清掃の両方を行う必要があることを示唆しており、今後の歯科保健指導に関する根拠のひとつとなるものと考えられる。また、臨床的意義のみならず、本研究成果は歯面、粘膜への細菌の凝集体付着のプロセス解明に関する重要な知見となることから学術的意義も高く、学位に値するものと評価した。

## 試験・試問結果の要旨

本研究の目的、概要について説明がなされ、研究結果および関連事項についての試問を行った結果、的確な解答が得られた。また、今後の研究にも意欲を示すとともに幅広い経験と知識を有し後進への指導能力も備えているものと思われることから、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと判定した。

### 参考論文

- |   |  |              |
|---|--|--------------|
| 1. The effect of eating sea cucumber jelly on Candida load in the oral cavity of elderly individuals in a nursing home.<br>(Yano A, 他 6 名と共著) | Marine Drugs<br>第 11 巻 12 号<br>4993 頁～5007 頁 | 平成 25 年 12 月 |
| 2. 歯周炎を有さない若年者の口臭に対する歯肉の状態と歯垢および舌苔中細菌の関与<br>(松井 美樹, 他 1 名と共著)   | 岩手医科大学歯学雑誌<br>第 38 巻 3 号                     | 平成 26 年 1 月  |