

ふ り が な 氏 名	り こうらん 李 江嵐
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 1035 号
学位授与の日付	令和 7 年 3 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学 位 論 文 題 目	<i>Fusobacterium nucleatum</i> 亜種に対して効果的な殺菌作用を 有する赤色光を使用した最適な光線力学療法 (Optimizing Red Light-Based Photodynamic Therapy for Effective Bactericidal Action Against <i>Fusobacterium nucleatum</i> Subspecies)
学位論文掲載誌	Pathogens 第 13 巻 第 11 号 令和 6 年 11 月 19 日
論 文 調 査 委 員	主 査 沖永 敏則 教授 副 査 富永 和也 教授 副 査 野崎 中成 教授

論文内容要旨

グラム陰性嫌気性細菌 *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) は、歯周病の病原体である。*F. nucleatum* は口腔バイオフィルムの成熟に重要な役割を果たすことで、歯周病の発症と進行に大きく寄与している。*F. nucleatum* には、*F. nucleatum animalis* (Fna)、*F. nucleatum nucleatum* (Fnn)、*F. nucleatum vincentii* (Fnv)、*F. nucleatum polymorphum* (Fnp) の 4 つの亜種があり、それぞれの亜種が有する病原性とバイオフィルム形成能力が異なっている。そのため、口腔バイオフィルム中の *F. nucleatum* の量を効率的に制御する方法の開発は非常に重要である。ポルフィリン前駆体である 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) と特定の波長の光を組み合わせた光線力学療法 (ALA-PDT) は、抗生物質耐性を誘発することなく微生物を不活性化できる低侵襲治療である。本研究では、赤色 LED を用いた ALA-PDT による *F. nucleatum* に対する殺菌効果を検討した。また、*F. nucleatum* 亜種におけるポルフィリン蓄積と殺菌効果の違いを調べた。

F. nucleatum 亜種 (Fna, Fnn, Fnv, Fnp) を、さまざまな濃度の 5-ALA を添加した変法 GAM ブイヨン液体培地で 20 時間嫌気培養し、菌液を遠心し、OD₆₀₀=0.4 に調整した。12 穴プレートに調整した Fna、Fnn、Fnv、Fnp を播種し、波長 635 nm の赤色 LED で照射し、変法寒天 GAM プレートにスポットして 2 ～3 日間培養した。培養後、コロニー形成単位を使用して ALA-PDT 照射前後の細菌数を計測した。また、遠心によって得られた細菌に対して、ギ酸を用いて抽出し、37℃で 30 分間培養した。培養により得られた菌液を遠心し、上清を収集し、マイクロプレートリーダー (励起波長は 405 nm) を使用して細菌細胞内のポルフィリンの蓄積を測定した。

赤色 LED を使用した ALA-PDT は、*F. nucleatum* に対して効果的な殺菌作用を示した。5-ALA 濃度 0.01% で最も効果的な殺菌効果が得られ、ALA-PDT の最適な殺菌条件が明らかになった。また、亜種間で異なる殺菌効果が見られた。異なる亜種間での ALA-PDT の殺菌効果は、生成されたポルフィリンの蛍光強度と正の相関関係にあった。これらの結果より、光強度と 5-ALA 濃度を最適化することで、口腔ケアにおける ALA-PDT の効果を大幅に高めることが示唆された。

論文審査結果要旨

本学位論文は、歯周病原細菌に対して、LED を使用した新たな殺菌法を探索した内容であった。歯周病病原細菌の 1 つである *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) は、*F. nucleatum animalis* (*Fna*)、*F. nucleatum vincentii* (*Fnv*)、*F. nucleatum polymorphum* (*Fnp*)、*F. nucleatum nucleatum* (*Fnn*) の 4 つの亜種が存在することが報告されており、それぞれ病原性やバイオフィーム形成能力が異っている。

また、著者の所属する講座では、5-アミノレブリン酸 (5-ALA) と特定の波長の光を組み合わせた光線力学療法 (ALA-PDT) を報告している。この方法は、抗生物質耐性を誘発することなく微生物を不活性化できる低侵襲治療殺菌法である。

このような背景から、本論文では、*F. nucleatum* の 4 つの亜種において、赤色 LED を用いた ALA-PDT の殺菌効果を検討し、*F. nucleatum* 亜種におけるポルフィリン蓄積と殺菌効果の違いを調べていた。

研究結果として、赤色 LED を使用した ALA-PDT は、*F. nucleatum* に対して効果的な殺菌作用を示した。ALA-PDT で同様の殺菌効果を達成するには、赤色 LED が青色 LED よりも高い照射強度を必要とすることが確認されていた。また、*F. nucleatum* におけるポルフィリンの蓄積は、5-ALA 濃度 0.01% で最も効果的な殺菌効果が得られ、5-ALA 濃度に完全に依存していないことが明らかとされていた。さらに、ALA-PDT の殺菌効果は *F. nucleatum* の亜種間で大きく異なることがわかり、これは菌内に蓄積された Uroporphyrin I の量と相関していることが確認された。

以上の内容から、本論文は光強度と 5-ALA 濃度を最適化することで、口腔ケアにおける ALA-PDT の効果を大幅に高めることを証明した点において、博士(歯学)の学位を授与するに値すると判定した。