

## [最近のトピックス]

## 口腔バイオフィームにおける薬剤浸透性の評価法

藤田 真理

北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

口腔バイオフィームは菌体外多糖などに囲まれた口腔細菌凝集体が菌面上のペリクルに付着した三次元的集合体であり、抗菌薬や免疫細胞の内部への浸透が困難であることが知られている。近年、口腔バイオフィーム内部への薬剤の浸透・殺菌効果の評価には薬剤作用後のバイオフィーム中の生菌数の測定に加え、膜傷害性を指標とするCalcein-AM (CAM) 染色やLive/Dead染色などの蛍光染色試薬によるバイオフィーム底部の細菌の生死の判定などが応用されている。しかし、この蛍光染色を用いた判定には偽陽性の可能性 (Davey & Hexley, 2011) も報告されており、単独での判断ではなく、いくつかの方法を併用した評価が望ましいとされる。

現在までにCell culture insertを用いた*Pseudomonas aeruginosa*のバイオフィームにおける実際の薬剤浸透性を定量する簡易的定量法 (Shigeta et al., 1997) が報告されているが、近年我々はヘッドスペース固相マイクロ抽出 (HS-SPME) 法 (Osada et al., 2013) を応用したガスクロマトグラフィー質量分析法を用いて*Streptococcus mutans*の既成バイオフィーム中に実際に浸透・残留した天然精油由来テルペンアルコール量を定量する実験系を確立した。その結果から、浸透・残留テルペンアルコール量とバイオフィーム内の抗菌効果における正の相関を明らかにし、薬剤の浸透性によるバイオフィーム抗菌効果を実証している (図)。この方法はサンプル中の揮発性物質を抽出・濃縮して定量するため、実際にバイオフィーム中に残留した成分の定量することができる点が非常に画期的である。

今後、この化学分析法と微生物学的抗菌評価を併用することで、バイオフィームにおける浸透性ならびに抗菌効果を正しく評価することが可能となり、今後のバイオフィームを標的とした口腔ケア製品の開発等にも貢献するものと期待される。

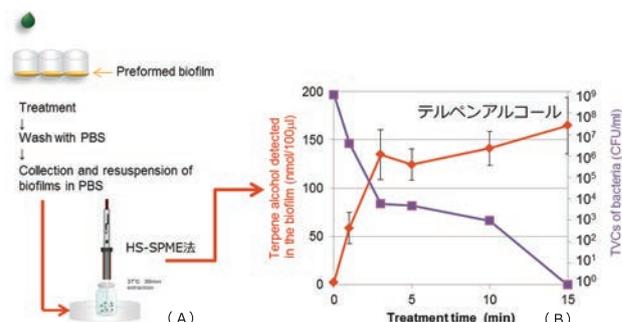


図. バイオフィームに浸透・残留したテルペンアルコールの定量方法 (A) ならびにその浸透量と抗菌効果の相関 (B)

## 参考文献

- Davey HM, Hexley P. Red but not dead? Membranes of stressed *Saccharomyces cerevisiae* are permeable to propidium iodide. *Environ Microbiol* 13 : 163–171, 2011.
- Osada K, Kurihara K, Izumi H, Kashiwayanagi M. Pyrazine analogues are active components of wolf urine that induce avoidance and freezing behaviours in mice. *PLoS One*. 24 : 8(4), 2013
- Shigeta M, Tanaka G, Komatsuzawa H, Sugai M, Suginaka H, Usui T. Permeation of antimicrobial agents through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms : a simple method. *Chemotherapy* 43(5) : 340–345, 1997