HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Assessment of antimicrobial and biocompatible effects ofAu25(Capt)18 clusters photoexcited by blue LED [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	宮田, さほり
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12603号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65624
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Saori_Miyata_review.pdf, 審査の要旨



Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　氏　名　宮田　さほり

審査担当者
主査　教授　柴田　健一郎
副査　教授　吉田　靖弘
副査　准教授　菅谷　勉

学　位　論　文　題　名

Assessment of antimicrobial and biocompatible effects of $Au_{25}(Capt)_{18}$ clusters photoexcited by blue LED

（　カプトプリル保護金クラスターの青色 LED 光照射による抗菌効果と生体親和性の評価　）

審査は，審査担当者全員の出席の下，申請者より提出論文の概要の説明が行われ，審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

近年，光増感剤の光励起によって発生する一重項酸素（$^1O_2$）の抗菌効果を利用した抗菌的光線力学療法（aPDT）が注目されている。これは抗菌薬投与に代わり，様々な歯科治療に有効な治療法として発展する可能性を持っている。今回，新規の光増感剤として金原子 25 個からなる直径 0.9 nm のカプトプリル保護金クラスター粒子（$Au_{25}(Capt)_{18}$）を創製した。本研究では金クラスターの aPDT への応用を目指し，金クラスターを青色 LED によって光励起した際の細菌の増殖抑制効果と生体細胞に対する傷害活性について検討した。

金クラスターは，塩化金酸とカプトプリルの混合溶液に，水素化ホウ素ナトリウム還元剤を添加して作製し，青色 LED にはペンキュアー（モリタ，420-480 nm）を使用した。金クラスターへの光照射による $^1O_2$生成を確認後，抗菌性の評価として，金クラスターを *S. mutans*（Sm）懸濁液へ添加（0，5，50，500 μg/mL）して 1 分間の光照射を行い，SEM，TEM，蛍光免疫染色，濁度測定，WST-8 assay，lactate assay を行った。その結果，500 μg/mL 金クラスター添加と光照射を行った群で，培養 24 時間後より細菌の増殖抑制効果がみられた。同様に，*A. actinomycetemcomitan*s（Aa）ならびに *P. gingivalis*（Pg）に対する増殖抑制活性を濁度の変化で評価した結果，両菌種に対しても抗菌活性が確認された。また，NIH3T3 細胞および MC3T3-E1 細胞に対する細胞傷害活性を SEM 観察，蛍光免疫染色，WST-8 assay，LDH-assay を行った。その結果，両細胞共に培養 24 時間には死細胞は認められず，高濃度（50，500 μg/mL）で処理した群において，培養 4 日目から細胞の増殖抑制が観察された。

次に，金クラスターの抗菌活性と細胞傷害活性を，aPDT として臨床的に使用されているメチレンブルー（MB）と比較した。その結果，Aa ならびに Pg に対する抗菌活性は金クラスター（500 μg/mL）と MB（10 μg/mL）でほぼ同等であったが，細胞傷害活性は金クラスターに比べて MB が遥かに強く，高濃度 MB（100 μg/mL）添加では細胞死が確認された。

これらの結果から，金クラスターへの青色 LED 照射によって細菌の増殖が抑制されること，生体細胞は培養初期には傷害が生じないが，高濃度の金クラスター添加と繰り返しの光照射により増殖が抑制されることが明らかとなった。

審査者から以下のような質問がなされた。

１．金クラスターの特徴について。
２．一重項酸素の発生の仕組みは。
３．保護材に使用したカプトプリルとはどんな物質か。
４．カプトプリル以外の保護材はあるのか。
５．光照射を行っていない群でも抗菌効果が出ているのはなぜか。
６．実際に菌の増殖とバイオフイルム量を定量的に調べるならやコロニーカウントや全糖量の測定が良いのではないか。
７．金クラスターとMBとを比較をする場合に，各重量濃度で$^1O_2$の発生量も測定しておくべきではなかったのか。
８．抗菌的光線力学療法は実際に臨床で使用され，効果があるとされているのか。

これらの質問に対して，申請者は適切で，論理的に回答したことから，本研究の内容を中心とした専門分野はもとより，関連分野について十分な理解力と知識を有していることが確認された。本研究の内容は，歯科医学の発展に十分貢献するものであり，審査担当者全員は学位申請者が博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認めた。