



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Development of the tissue conditioner containing CPC-Montmorillonite as a new antimicrobial agent. A pilot study on antimicrobial activity and biocompatibility. [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	直江, 翼
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13043号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70471
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Tsubasa_Naoe_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 直江 翼

学位論文題名

Development of the tissue conditioner containing CPC-Montmorillonite as a new antimicrobial agent. A pilot study on antimicrobial activity and biocompatibility.

（ 新規抗菌材 CPC-Montmorillonite 含有粘膜調整材の抗菌性及び

生体適合性 ）

粘膜調整材は、義歯床下粘膜の機能的形態回復や動的印象などを目的として義歯床粘膜面に使用される歯科材料であり、粘膜に直接接触するため、機械的性質に加えて、生体適合性が求められている。しかし、その粘性や表面粗さから粘膜調整材表面にプラーク等が付着しやすいという問題があり、近年、汚染された粘膜調整材の使用により、高齢者において誤嚥性肺炎などの呼吸器感染症が惹起されることが報告されている。*C. albicans*、*S. aureus*、*S. mutans* は、義歯床粘膜面に顕著に認められ、特に *C. albicans* や *S. aureus* は誤嚥性肺炎の主惹起菌であることが知られている。これらの細菌付着を防止する目的で、抗菌性物質を粘膜調整材に添加し、抗菌性を有する粘膜調整材の開発に関する研究がなされているが、色調や金属アレルギー等の問題のため、未だ実用化には至っていない。また、粘膜調整材の抗菌性や物性に関しては、多くの研究がなされているが、生体適合性に関する報告は少ない。本研究において、我々は、CPC(塩化セチルピリジニウム)に注目した。CPC は、現在、歯磨剤や洗口液といった医薬品に含有されており、安全性の高い抗菌剤として広く用いられている。また「のど飴」といった食品としても用いられていることから、その安全性も確認されている。CPC の抗菌性は、CPC が細菌の負に荷電した表面に付着し、細菌の電荷バランスを崩すことにより発現されることが報告されている。しかし、CPC を単に粘膜調整材に添加しただけでは、CPC の溶出により抗菌性が持続しないことが考えられることから、粘土や化粧品に用いられるモンモリロナイトに着目した。すなわち、モンモリロナイトに CPC を担持させることにより長期的に抗菌性を発揮しうるのではないかと考え、新規抗菌剤 CPC モンモリロナイト(以下 CPC-Mont)を開発した。本研究の目的は、CPC-Mont 含有粘膜調整材を試作し、物性、抗菌性及び生体適合性を明らかにすることである。

CPC-Mont 含有粘膜調整材の組成は、粉材としてポリブチルメタクリレートとポリエチルメタクリレートに CPC-Mont を 2% 配合したものを用い、液材としてセバシン酸ブチルにエタノールを 7% 配合したものを使用した。重量粉液比は 1.5 と規定した。

物性試験としては、最初に、JIS-T6519 に基づいて義歯床用短期弾性裏層材としてのちょう度測定試験・針入れ測定試験を行った。ちょう度測定試験では基準値内にすべて収まったが、針入れ試験の結果は基準外であった。そのため、市販されている粘膜調整材を対照として、水中下に 2 時間浸漬しておいた粘膜調整材と室温で 2 時間放置した粘膜調整材について、硬さを比較する試験を行った。市販されている粘膜調整材と有意差は認められず、CPC-Mont 含有粘膜調整材市販の粘膜調整材と同等の硬さを有していることが明らかとなった。

また、抗菌性試験として *Candida albicans* IFM40009, *Staphylococcus aureus* FDA209P を用い、粘膜調整材付着した微生物の生菌数及び試料浸漬液の抗菌性を培養法で調べた。さらに、抗菌性の再賦活化を目的とした CPC リチャージ溶液の効果について同様の試験を行った。

まずは CPC が粘膜調整材中においても本当に抗菌性を示すのかを確認するために、CPC 入りの粘膜調整材、及び CPC のみを抜いた粘膜調整材を用意し浮遊菌・付着菌に対する抗菌性試験を行ったその結果、*C. albicans* 及び *S. aureus* どちらも浮遊菌・付着菌に対して CPC 入りの粘膜調整材のみが明らかに有意な抗菌性を示したため、CPC の抗菌性が示された。次に他市販粘膜調整材と比較した抗菌性を見るために GC 社製粘膜調整材とニッシン社製粘膜調整材を用いて粘膜調整材における浮遊菌・付着菌を測定した。その結果、CPC 入りの粘膜調整材が他市販粘膜調整材と比較して *C. albicans* と *S. aureus* の両方に対して有意な抗菌性を示すことがわかった。

次に CPC 入りの粘膜調整材がどれくらいの期間に渡って抗菌性を保つのかを測定するために、4 週間継続した抗菌性を測定した。粘膜調整材を PBS 溶液に浸漬し、その PBS 溶液を 1 週間ごとに交換することで、抗菌性の持続について 4 週間まで調べた。その結果、*C. albicans* と *S. aureus* の両方に対して、抗菌性は約 1 週間持続し、その後抗菌性は徐々に低下していくことがわかった。また、*S. aureus* に対して特に強い抗菌性を示していた。最後に、CPC-Mont 含有粘膜調整材は 1 度抗菌性を失った後も 2% CPC 溶液に浸漬することによりその抗菌性が再賦活（リチャージ）する特性がある。その特性を用いて、抗菌性の再賦活化実験を行った。2 週間にわたって十分量の PBS 溶液に浸漬し抗菌性を低下させた CPC-Mont 含有粘膜調整材をチャージ溶液に浸漬した場合と PBS 溶液に浸漬した 2 群を用いて検証した。その結果、浮遊菌・付着菌全てにおいてリチャージ液に浸漬した粘膜調整材において有意な抗菌性が示された。

生体適合性に関する細胞毒性試験として、試料を 24 時間及び 1 週間浸漬した培地に対する線維芽細胞 NIH-3T3 ならびに上皮細胞 Ca9-22 の培養 24 時間後の細胞生

存率をWST-1法にて測定した。対照としては、GC社製粘膜調整材を用いた。24時間浸漬した培地における細胞生存率は、いずれの細胞においても対照に比較して有意に低かったが、1週間浸漬した培地における細胞生存率は、対照との間に有意差を認めなかった。

生体適合性に関して組織反応を観察するため、10週齢雄性Wistar系ラットを用いて背部皮下埋入試験(2週間)ならびに下唇粘膜貼付試験(1日間)を行い、組織学的に検索した。対照としてGC社製粘膜調整材を用いた。下唇粘膜貼付では、CPC-Montならびに対照群ともに、粘膜表面が平坦となっていたが炎症反応は認められなかった。皮下に関しては、CPC-Montにおいては、毛細血管の拡張、円形細胞の軽度な浸潤等の軽微な炎症反応が観察されたが、対照群との差は認めなかった。

以上の結果から、新規抗菌剤CPC-Mont含有粘膜調整材は、物性に関しては臨床で使用されている粘膜調整材と同等の粘稠性を示すとともに、優れた抗菌性を有していることが示された。また、細胞毒性試験において、24時間浸漬した培地における細胞生存率では対照群との間に有意差があったが、1週間浸漬した培地では差が認められなかった。これは、CPCが培地中に徐放されていることを示唆しており、抗菌性試験における1週間後の抗菌性の低下と関連しているものと推測された。

今回の研究から、新規に開発されたCPC-Mont含有粘膜調整材は、臨床で使用されている粘膜調整材と同等の物性ならびに生体適合性を有するとともに、高い抗菌性を発揮することが示された。今後は臨床試験を行い、臨床応用に向けて製品化を進めていきたい。