



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	CPC配合製剤使用後における経時的口腔内CPC濃度変化の解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	國井, 理恵子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15946号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92517
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Rieko_Kunii_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 國井理恵子

学位論文題名

CPC 配合製剤使用後における経時的口腔内 CPC 濃度変化の解析

キーワード（5つ）高速液体クロマトグラフ法分析，塩化セチルピリジニウム，唾液，
経時的濃度変化，遠心分離

塩化セチルピリジニウム（別名：セチルピリジニウムクロリド[CPC]）はカチオン系界面活性剤であり，エンベロープを有するウイルスに抑制効果を示すと考えられている．武田ら（2022）はヒト唾液を用いた研究において，CPC が SARS-CoV-2 に対して，25 ～ 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で抗ウイルス作用を発揮することを報告した．そこで本研究では，市販の CPC 配合製品を使用したのちに唾液中に含まれる CPC 濃度を明らかにすることで，SARS-CoV-2 の抑制に有効と期待されている CPC 濃度が唾液中でどのくらい長く維持されるかを検討することとした．

初めに，セチルピリジニウムクロリド（MP Biomedicals, Inc.）を蒸留水 高速液体クロマトグラフ用（富士フイルム和光純薬株式会社）にて 0.0005% ～ 0.25% に希釈し，孔径 0.45 μm フィルターにてろ過後，HPLC 機器（Chromaster; 日立ハイテクサイエンス株式会社）にて分析し，検量線を作成した．分析には Inertsil ODS-3V バリデーションカラム（内径 4.6 mm，長さ 150 mm，粒子径 5 μm ; GL サイエンス）を用いた．分析条件は移動層 0.1M NaClO_4 / acetonitrile (30 : 70, v/v)，カラム温度 40 $^{\circ}\text{C}$ ，流速 1.0 mL/min，試料注入量 20 μL ，分析時間 40 分，UV-VIS 検出器波長 258 nm で行った．

次に，使用した CPC 配合洗口剤のモンダミンハビットプロ（アース製薬株式会社）に対して孔径 0.45 μm フィルターろ過を行い，CPC 検量線作成時と同条件にて HPLC 分析を行った．

唾液の採取は，成人の被験者 4 名を対象に，朝食前に行った．洗口剤使用直前の指示として，実験開始 1 時間前より水を除く飲食を停止するように指示した．次に歯磨剤を使用せずに 3 分間ブラッシングを行ってもらい，水道水で 1 回洗口後，安静状態で 3 分間唾液を採取させた．これらを行った後，洗口剤 12 mL にて 30 秒間洗口を行い，吐出物を全量回収した．吐出した時点を 0 分とし，0 分後，15 分後，および 30 分後にそれぞれ 3 分間唾液を採取した．操作性向上のための試料精製として遠心分離を行い，遠心分離が試料中の CPC 濃度に与える影響についての検討を行った．

CPC 濃度が 0.0005 % ～ 0.25 % の範囲で検量線を得た．また，洗口剤に含まれる CPC 濃度は

0.05071%を示した。洗口剤使用後の唾液試料について、吐出物に対して遠心分離を行った群より平均で0.020%、未分離の群より平均で0.022%のCPCが算出された。一方、0分後に対して遠心分離を行った群より平均で0.0010%、未分離の群より平均で0.0011%のCPCが算出された。唾液中のCPC濃度の推移では、吐出物と0分後の群との間に有意差が認められた。また、遠心分離群と未分離群ではCPC濃度に有意差はみられなかった。被験者ごとの結果では、最長で30分後の試料中より洗口剤の成分が検出された。

本研究の結果、全ての被験者においてCPC配合洗口剤使用後の唾液中において、吐出物および0分後の試料中には洗口剤の成分を示すピークが検出された。一方、被験者ごとの結果では、最長で30分後の試料中より洗口剤の成分が検出された。今回の実験では洗口という刺激によって安静時から刺激時唾液の特性へと変化し、唾液分泌量の上昇により唾液中のCPCが希釈された可能性がある。

唾液採取時にはすべての試料に浮遊物が認められたため、試料精製のために遠心分離を行ったが、CPC濃度に有意差はみられなかったことから、洗口剤中のCPCは唾液中の液体部分では遠心力に影響されることなく一定の濃度を維持していたと考えられる。さらに、吐出物中のCPC濃度はSARS-CoV-2の抑制に有効と期待されている範囲を超えていたが、0分後の検出結果はいずれも期待される濃度の範囲外であった。以上より、使用直後からCPC濃度の急激な減少が生じた可能性が考えられる。そして、今回使用した洗口剤中のCPC濃度と比較すると、遠心分離の有無に関わらず吐出物中のCPC濃度は半減していた。このことから、実際はより高濃度のCPCが唾液中に存在していた可能性が考えられる。唾液は99%以上が水分で構成されており、多数の電解質、免疫グロブリン、タンパク質、酵素、ムチン、窒素化合物、リン脂質が含まれている。そのためCPCがウイルス由来のみならず、口腔内に存在する脂質二重膜とタンパク質に対しても吸着を生じるかを明らかにする必要があると考える。

以上より、SARS-CoV-2の抑制に有効と期待されている濃度が唾液中で維持される時間は30分以内である可能性が示唆された。今後は唾液中の固形成分よりCPCを分離するための前処理を追加することでCPC回収率が向上されれば、より正確に持続時間の観察をすることができる可能性があると思われる。

本研究での実験方法では、CPC配合洗口剤使用後の唾液中において、吐出物および0分後の試料中には全ての被験者からCPC配合洗口剤の成分が検出された。また、遠心分離の有無で唾液試料中の洗口剤のCPC濃度に有意差は認められなかった。