



Title	poly-HEMA/TMPTハイドロゲルを用いた抗菌剤の長期徐放システムの開発
Author(s)	北川, 晴朗
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/34370
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (北 川 晴 朗)

論文題名

poly-HEMA/TMPTハイドロゲルを用いた抗菌剤の長期徐放システムの開発

論文内容の要旨

【研究目的】

医科歯科領域で用いる組織再建用材料に抗菌性を付与する試みにはいくつかの方法があるが、なかでも、水溶性の抗菌剤を配合し、その溶出によって効果を発揮させる手法については、古くから多くの研究がなされてきた。しかしながら、この方法では、初期の強い抗菌作用は得られるものの、効果発現が短期間に限られ、持続的な抗菌性を付与することができないという問題点がある。

そこで本研究では、組織再建用材料に適用する抗菌剤のリザーバーとして、新規の非生体吸収性ハイドロゲルを作製し、水溶性抗菌剤の担持とリチャージを行うことにより、長期的な抗菌剤の徐放を可能とするシステムの開発を試みた。すなわち、親水性モノマー2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)と架橋性モノマーtrimethylolpropane trimethacrylate (TMPT)からなるハイドロゲルを試作し、カチオン系抗菌剤である塩化セチルピリジニウム(CPC)を組み合わせて、その担持・徐放性およびリチャージ特性を*in vitro*系にて評価することを目的とした。

【材料および方法】

I. poly-HEMA/TMPTハイドロゲルの作製とCPCの溶出性の評価

1. poly-HEMA/TMPTハイドロゲルの作製と特性解析

HEMAとTMPTを10/90 (H10)、30/70 (H30)、50/50 (H50)、70/30 (H70)、または90/10 (H90)の重量比で混合し、重合させた後に粉碎して平均粒径500 μm の5種のpoly-HEMA/TMPTハイドロゲル粒子を作製した。

1) 吸水率および疎水度の測定：各ハイドロゲル粒子を純水に96時間浸漬後に重量測定を行い、吸水率を算出した。また、純水あるいは70%イソプロパノール水溶液に各ハイドロゲル粒子を36時間浸漬し、水の吸収率に対するイソプロパノールの吸収率から疎水度を求めた。

2) 表面電荷の測定：各ハイドロゲル粒子を細粉化し、ゼータ電位の測定を行った。

2. 浸漬法によるCPCの担持と溶出性の評価

各ハイドロゲル粒子30 mgを500 $\mu\text{g/mL}$ のCPC水溶液30 μL に24時間浸漬し、CPCを担持させた。その後、浸漬液中に残留したCPC量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC)により測定し、各ハイドロゲル粒子のCPC担持率を算出した。つづいて、CPCを担持させた各ハイドロゲル粒子を純水に浸漬し、12～72時間静置保管後、溶出したCPC濃度をHPLCにて測定した。

3. CPC担持機序の検討

CPCを担持させたハイドロゲル粒子を、非イオン性界面活性剤Triton X-100水溶液、NaCl水溶液、または尿素水溶液に浸漬し、溶出CPC濃度を測定することにより、CPC担持への疎水性相互作用、静電的相互作用および水素結合の関与について検討した。

II. poly-HEMA/TMPTハイドロゲルのCPCリチャージ特性の評価

1. 口腔細菌および真菌に対するCPCの最小発育阻止濃度 (MIC)測定

Streptococcus mutans、*Lactobacillus casei*、*Enterococcus faecalis*、*Candida albicans*に対するCPCのMICを測定し、口腔細菌および真菌に対するCPCの有効濃度の確認を行った。

2. poly-HEMA/TMPTハイドロゲルのCPCリチャージ特性の評価

H30またはH50ハイドロゲル粒子を500 $\mu\text{g/mL}$ のCPC水溶液に浸漬してCPCを担持させ、純水中で一旦CPCを溶出させた。その後、500 $\mu\text{g/mL}$ のCPC水溶液に各ハイドロゲル粒子を24時間再浸漬し、再度、純水中への溶出CPC濃度を測定した。

また、500 μ g/mLと5 mg/mLの二種の濃度のCPC水溶液を用いてH50にCPCを担持させ、純水中に浸漬して一旦CPCを溶出させた後、担持に用いたのと同じ濃度のCPC水溶液に5分間、6時間、または12時間浸漬した場合の溶出挙動を比較検討した。

3. 重合前添加法によるCPCの担持と溶出性の評価

HEMA50%/TMPT50%モノマー液に0.5、5、または10 (wt)%となるようにCPC粉末を添加し、重合させた後に粉碎してCPC担持ハイドロゲル粒子を作製した。各ハイドロゲル粒子からの純水中へのCPC溶出濃度をHPLCにて測定するとともに、0.5%CPC添加試料については、0.5%水溶液への浸漬によってCPCを担持させた場合と溶出挙動を比較した。

4. 重合前CPC添加ハイドロゲル粒子のリチャージ特性の評価

上記3のようにして作製した0.5%CPC添加ハイドロゲル粒子を純水に浸漬してCPCを一旦溶出させた後、500 μ g/mLのCPC水溶液に5分間浸漬してCPCのリチャージを行い、再度、CPC溶出濃度を測定した。

【結果および考察】

I. poly-HEMA/TMPTハイドロゲルの作製とCPCの溶出性の評価

- 5種のハイドロゲル粒子とも、HEMAの割合が増加するに従い吸水率は増加する傾向を示した。一方、疎水度もHEMAの割合の増加とともに増大し、H30～H90のハイドロゲル間で有意差が認められた。表面電荷については、すべてのハイドロゲルが負の値を示したが、H50、H70、H90はH10、H30よりも有意に高い値であった。
- 浸漬法でCPCを担持させたハイドロゲル粒子は、すべて93%以上の高い担持率を示したが、担持後に水洗を行うと、H10、H30では担持率が大きく減少した。これに対して、疎水度が高かったH50、H70、およびH90では水洗後も高い担持率が維持されたままであった。
- 担持後非水洗のハイドロゲル粒子では、最初の12時間の溶出濃度はH10、H30で高く、H70、H90で低い結果となった。溶出持続時間は、H30、H50が他より長かった。担持後に水洗した場合、H10、H30の最初の12時間の溶出濃度は大きく低下した。これらに対し、H50では、水洗、非水洗で初期の溶出濃度に変化はなく、いずれの場合も48時間まで溶出が持続した。
- 5種のハイドロゲル粒子とも、溶出媒にTriton X-100水溶液を用いると純水に比べてCPC溶出が増大し、とくにH50、H70、H90では顕著な増加が認められた。一方、NaCl水溶液、尿素水溶液中では、溶出量が減少するか、純水の場合と変わらなかった。

これらの結果より、試作したハイドロゲルへのCPCの担持には主に疎水性相互作用が関与しており、溶出性の点では、5種のハイドロゲルのうちでH50が最も適した特性を有していることが分かった。

II. poly-HEMA/TMPTハイドロゲルのCPCリチャージ特性の評価

- いずれの菌種に対しても、CPCのMIC値は1.6 μ g/mL以下であった。
- CPC水溶液への再浸漬により、H30、H50ともにCPCの溶出が回復し、とくにH50では2 μ g/mLを超える持続的な溶出が維持された。500 μ g/mLのCPC水溶液の場合、5分間のリチャージではCPCの持続的な溶出は得られなかったが、5 mg/mLのCPC水溶液を用いると、5分間のリチャージでも1.6 μ g/mLのCPCの溶出が維持できることが確認された。
- 0.5%CPC粉末を重合前に添加したハイドロゲル粒子では、CPCの溶出が20日間まで認められ、同濃度のCPC水溶液への浸漬法による担持に比べて溶出持続時間が大きく延長した。また、5および10%CPC粉末の重合前添加では、120日間におよぶ長期的なCPCの溶出が認められた。
- 重合前添加法でCPCを担持させたハイドロゲル粒子においても、CPC水溶液への浸漬により溶出濃度が回復し、しかも、500 μ g/mLのCPC水溶液による5分間のリチャージでも2 μ g/mLを超えるCPCの持続的な溶出が維持できることが確認された。

【結論】

新規に作製した非生体吸収性のpoly-HEMA/TMPTハイドロゲル粒子をCPC水溶液に浸漬することにより、CPCの担持と徐放が可能であり、とくに、HEMA50%/TMPT50%の組成のハイドロゲルがCPCの担持と溶出に最も適していることが分かった。また、一旦溶出が生じたハイドロゲル粒子をCPC水溶液に再浸漬してリチャージすることで、有効濃度のCPCの持続的な溶出を維持できることが明らかとなった。

さらに、HEMA50%/TMPT50%モノマーの重合前にCPC粉末を添加してCPCを担持させると、CPCの初期溶出期間が大きく延長し、これにCPC水溶液でのリチャージを併用すれば、長期的な抗菌剤の徐放システムが実現できることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (北 川 晴 朗)			
	(職)	氏	名
論文審査担当者	主 査	教授	今里 聡
	副 査	教授	竹重 文雄
	副 査	准教授	和田 孝一郎
	副 査	講師	権田 知也

論文審査の結果の要旨

本研究は、組織再建材料に持続的な抗菌性を付与するための抗菌剤のリザーバーとして、HEMA と架橋性モノマーTMPT からなる新規の非生体吸収性ハイドロゲル粒子を作製し、水溶性抗菌剤である塩化セチルピリジニウム(CPC)を組み合わせて、その担持・徐放性およびリチャージ特性を *in vitro* 系にて評価したものである。

その結果、作製したハイドロゲル粒子を CPC 水溶液に浸漬することにより、CPC の担持と徐放が可能であり、また、一旦溶出後に CPC 水溶液に再浸漬することで、持続的な溶出を維持できることが明らかとなった。さらに、HEMA/TMPT モノマーの重合前に CPC 粉末を添加して担持させると初期溶出期間が大きく延長し、これに CPC 水溶液でのリチャージを併用すれば、長期的な抗菌剤の徐放システムが実現できることが示唆された。

以上の研究成果は、持続的な抗菌効果の発現を可能とする新たな抗菌剤徐放システムを提示するものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。