



Title	イオン交換機序を利用した抗菌性レジンの開発に関する研究
Author(s)	江原, 篤
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41530">https://hdl.handle.net/11094/41530</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	江原 あつし
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 14541 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	「イオン交換機序を利用した抗菌性レジンの開発に関する研究」
論文審査委員	(主査) 教授 恵比須繁之  (副査) 教授 伊集院直邦 助教授 大嶋 隆 助教授 岡崎 正之

## 論文内容の要旨

## [研究目的]

プラークや菌の付着を阻止することを目的として、レジンに抗菌性を付与する試みが以前より行われているが、そのほとんどはレジンに混入させた抗菌剤の溶出によって抗菌効果を発現させるものである。このため、一時的には強い抗菌性が得られるものの、抗菌剤の放出に伴い抗菌性が減弱する。本研究では、溶出型の欠点を補うために、イオン交換機序で陽イオン性抗菌成分を吸脱着させ、レジン周囲が酸性環境に傾くと抗菌成分が溶出し、薬剤溶出後には抗菌成分の再吸着により抗菌性を回復できる新しいタイプの抗菌性レジンの開発を企画し、この試作レジンにおける抗菌成分の吸脱着能およびレジンの抗菌性について検討した。

## [研究方法]

## 1. レジンの調製

triethylene glycol dimethacrylate とイオン交換基として methacrylic acid を加えたモノマー成分に、陽イオン性抗菌成分である cetylpyridinium chloride (CPC) を溶解させ、光重合触媒を添加し、試作レジン (A-レジン) を調製した。また、CPCを含有しないコントロールレジン (N-レジン) および CPC の代わりにコロイダルシリカを添加したコントロールレジン (S-レジン) を調製した。そして、それぞれのレジンを光重合させて円板試料とし実験に供した。

## 2. 試作レジン試料における CPC の吸脱着の測定

A-レジン試料を pH あるいは NaCl 濃度の異なる溶液中に浸漬したときの CPC の脱着量を測定した。また、レジン試料を CPC 水溶液中に浸漬し、CPC の吸着を試みた後、試料を pH4 の 0.1M クエン酸・クエン酸ナトリウム緩衝液に24時間浸漬したときの CPC の脱着量を測定した。なお、CPC の定量は高速液体クロマトグラフィーにて行った。

3. *in vitro* における抗菌性の評価

*Streptococcus mutans* MT8148菌液を A- および S- レジン試料上に接種し、静置培養した。菌液を BHI broth 中に回収し、適宜希釈後、BHI 寒天平板上に接種し、嫌気および静置培養後、菌数を計測した。

1 % sucrose 含有の BHI broth にて調製した *S.mutans* MT8148菌液中にレジン試料を懸垂し、37°Cで24時間培養した後、試料表面へのグルカンを介した菌体の付着の状態を走査電子顕微鏡にて観察した。また 1N NaOH 中にレジン表面の付着物を回収し、分散、超音波処理後、550nm での吸光度を測定した。

#### 4. *in vivo* における抗菌性の評価

ビーグル犬の下顎臼歯部に全身麻酔下にて全部被覆冠の支台歯の形成を行った。即時重合レジンにてクラウンを作製し、このクラウンの頬舌側歯頸部に A- レジンを填入・重合した。コントロールとしては、A-レジンの充填を行わなかったものを用いた。クラウンは装着 7 日後に除去し、滅菌生理食塩水にて洗浄後、クラウンの頬舌側歯頸部より 5 mm × 5 mm のレジン片を採取し、表面に付着した菌量を測定した。

##### [結果および考察]

###### 1. 抗菌成分のレジンに対する吸脱着能

pH ≥ 6.5 では A- レジン試料からの CPC 脱着は測定限界以下であったが、pH ≤ 6 では CPC の脱着を認め、その脱着量は pH の低下に伴い増加した。A- レジン試料を pH 4 の緩衝液中に浸漬すると、浸漬直後より CPC の脱着が起こり、浸漬時間にしたがい脱着量は増加した。また、A- レジンを浸漬している pH 7 の 0.1M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 緩衝液に NaCl を溶解させると、CPC の脱着が生じ、NaCl 濃度の上昇に伴い脱着量は増加した。pH 4 の緩衝液中でいったん CPC を脱着し、pH 4 の環境下では CPC の新たな脱着が起らなくなった A- レジン試料を、0.25% w/w の CPC 水溶液中に 30 分間浸漬した後、pH 4 の緩衝液中に浸漬すると 1.47 ± 0.14 μg の CPC の脱着が起こるようになった。さらに、CPC 水溶液の濃度の上昇および浸漬時間の増加にしたがって、N- レジン試料に吸着し、pH 4 の環境下で脱着する CPC の量は増加した。これの結果より、A- レジンはイオン交換機序により CPC を保持し、周囲環境の変化により CPC を吸着することが示唆された。

###### 2. *in vitro* における試作レジンの抗菌性

BHI で調製した菌液をレジン試料上に接種し、培養すると、S- レジン試料上では菌増殖がみられたのに対し、A- レジン試料上では生菌を認めなかった。またリン酸塩緩衝生理食塩水で調製した菌液で同様の実験を行うと、A- レジン試料上で検出された生菌数は、S- レジン試料上の場合に比べ約 15% 少なかった。この結果から、菌増殖に伴う酸産生により菌液が酸性に傾くと、A- レジンから CPC の溶出が起こり、強い抗菌性が発現することが分かった。一方、菌液が酸性に傾かない場合でも、非溶出型の機序で菌体とレジン表面の接触により抗菌効果を発現する可能性があることが示唆された。また A- レジン試料へのグルカンを介した *S. mutans* 付着は、S- レジン試料の場合に比べて少なく、A- レジンは *S. mutans* の付着に対する強い抑制能を有することが認められた。さらに、A- レジン試料を唾液で処理しても、唾液処理を行わない場合に比べ、付着抑制作用は減弱されないことが分かった。

###### 3. *in vivo* における試作レジンの抗菌性

ビーグル犬の口腔内において、A- レジン表面へ付着した総菌数 ((10.5 ± 6.7) × 10<sup>4</sup> CFU) はコントロール ((14.9 ± 8.5) × 10<sup>6</sup> CFU) に比べ有意に少なく、*in vivo* においても菌付着に対し強い抑制効果を示すことが明らかとなった。*in vitro* での唾液処理でレジン表面に付着した被膜より複雑なペリクルがレジン表面上に形成されても、A- レジンは菌付着に対して抑制効果を発現することが示唆された。

##### [結論]

本研究において試作したレジンは、イオン結合により陽イオン性抗菌剤 CPC を保持する能力があり、う蝕原性細菌の酸産生などによりレジン周囲の環境が酸性に傾くと CPC を溶出することにより強い抗菌効果を発現した。CPC の溶出により抗菌力が低下しても、高濃度の CPC で処理することにより CPC の再吸着が起こり、その抗菌能力が回復するといった性状を示し、従来の溶出型抗菌性レジンの欠点を大きく改善できる可能性が得られた。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は、イオン交換機序を利用した抗菌性レジンの開発を企画し、この試作レジンにおける抗菌成分の吸脱着能およびレジンの抗菌性について検討したものである。その結果、試作レジンはイオン交換機序により陽イオン性抗菌剤 cetylpyridinium chloride (CPC) を保持し、う蝕原性細菌の酸産生などによりレジン周囲の環境が酸性に傾くと CPC を溶出し抗菌性を発現すること、さらに CPC の溶出後、高濃度の CPC で処理することにより CPC の再吸着が起こり、その抗菌能力が回復することを明らかにした。

以上の業績は、う蝕予防における drug delivery system に関して新しい知見を提供するものであり、博士（歯学）の学位請求に値するものと認める。