



Title	レジンモノマーと口腔細菌の増殖との関連性に関する研究
Author(s)	高橋, 雄介
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/43667
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	高橋雄介
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 16925 号
学位授与年月日	平成14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	レジンモノマーと口腔細菌の増殖との関連性に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 恵比須繁之 (副査) 教授 祖父江鎮雄 講師 中川 一路 講師 寺岡 文雄

論文内容の要旨

【研究目的】

コンポジットレジン硬化体からは未重合モノマーが溶出することが知られているが、そのうち、とくに TEGDMA をはじめとするエチレングリコール系モノマーによって引き起こされる問題の一つとして、最近、ある特定の口腔細菌の増殖が促進されることが報告され、この現象が歯質-修復物界面での細菌増殖による歯髄への為害作用の発現やコンポジットレジン表面における易プラーク付着性に関与する可能性が指摘されている。しかしながら、レジンモノマーがいかなるメカニズムで細菌の増殖を促進するかは明らかにされておらず、本作用の詳細については不明な点が多い。そこで本研究では、*Streptococcus sobrinus* および *Streptococcus sanguis* の二種の口腔レンサ球菌を対象として、コンポジットレジン用各種モノマー存在下での培養系で、吸光度、生菌数、菌体 ATP 量を測定するとともに、形態学および化学的解析を併用することにより、菌増殖促進作用を有するとされているレジンモノマーが口腔細菌の増殖に具体的にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

【研究方法】

1. 各種モノマー存在下での培養系における吸光度、生菌数、菌体 ATP 量の測定

五種のモノマー、Bis-GMA、UDMA、TEGDMA、DEGDMA、EGDMA を DMSO に溶解させた後、BHI 液体培地に加え、各モノマーをほぼ最大濃度で含有する培地 (Bis-GMA: 0.05mg/mL、UDMA: 0.01mg/mL、TEGDMA、DEGDMA、EGDMA: 1.0mg/mL) を調整した。*Streptococcus sobrinus* B13あるいは *Streptococcus sanguis* ST3R を 1×10^6 CFU/mL の濃度で各モノマー添加培地に接種して 37°C で培養を行い、OD₅₅₀での吸光度を、2時間ごとに48時間まで計測した。また、この実験においてモノマー非添加のコントロールと比較して相対的な吸光度上昇が認められた三種のエチレングリコール系モノマーについては、塗抹寒天平板法による生菌数 (CFU 数) 測定と ATP アナライザーによる菌体 ATP 量の測定を、2時間ごとに24または48時間まで行った。さらに、培地への TEGDMA 添加濃度を 1.0~0.01mg/mL の間で変化させた場合の吸光度と生菌数についても測定した。

2. 走査型電子顕微鏡 (SEM) による形態学的分析

S. sobrinus あるいは *S. sanguis* を各モノマーを添加した BHI 培地で培養し、2時間ごとに菌液を採取して、遠沈処理により沈殿物を回収した。試料を Half-Karnovsky 溶液に浸漬して固定した後、上昇アルコール系列による脱水、

t-ブタノール置換、凍結乾燥を行い、SEMにて観察した。

3. フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) および熱分解ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC-MS) による分析

1.0mg/mL の TEGDMA 存在下で24時間培養した *S. sobrinus* 菌液あるいは *S. sanguis* 菌液をカコジル酸緩衝液にて遠沈洗浄後、0.025% サフラニンにより染色した。カコジル酸緩衝液でさらに洗浄した後、500rpm、5分間の遠沈処理による二層分離をくり返してサフラニン非染色の菌体以外の粉末成分を回収し、FT-IR および熱分解 GC-MS により成分の同定を行った。

4. 抗菌剤に対する感受性試験

1.0mg/mL の TEGDMA 存在下で18時間培養を行った *S. sobrinus* あるいは *S. sanguis* を用いて、トリクロサン、クロルヘキシジンジアセテート、ペンゼトニウムクロライド、ヘキサデシルピリジニウムクロライドの四種の殺菌剤の最小発育阻止濃度 (MIC) と最小殺菌濃度 (MBC) を測定し、モノマー非添加で培養した菌の場合と比較した。

【結果】

1. Bis-GMA あるいは UDMA を添加した場合は、両菌ともに、48時間の培養期間を通じて、吸光度の値にモノマー非添加のコントロールとの間で有意差は認められなかった。一方、DEGDMA あるいは TEGDMA を添加した条件では、*S. sobrinus* では培養開始後12時間以降において、*S. sanguis* では培養開始後14~18時間以降において、コントロールと比較して吸光度の値が有意に増加した。EGDMA を添加した場合は、培養開始後24時間まではコントロールの値を有意に下回ったものの、48時間後にはコントロールよりも有意に高い値を示した。一方、CFU 数と菌体 ATP 量については、両菌ともに、DEGDMA あるいは TEGDMA を添加した場合、培養期間を通じてコントロールと有意差が認められないか、下回る結果となった。EGDMA については、CFU 数、菌体 ATP 量とも24時間まではコントロールを下回り、48時間後の CFU 数にはコントロールと有意差が認められなかった。さらに、添加する TEGDMA の濃度が0.5mg/mL 以上の場合には、コントロールと比べ有意な吸光度上昇が認められたが、CFU 数についてはすべての濃度でコントロールと有意差が認められなかった。

2. Bis-GMA あるいは UDMA を添加した条件では通常のレンサ球菌像が観察されたのに対し、エチレングリコール系モノマー存在下では、吸光度の相対的上昇に一致して、疎な構造物が菌体を取り囲むように存在している様子が観察された。

3. 菌体周囲構造物から得られた FT-IR のスペクトルパターンおよび熱分解 GC-MS におけるパイログラムと主ピークのマススペクトログラフパターンは、すべて TEGDMA ポリマーのものと一致していた。

4. TEGDMA を添加した条件で培養した菌では、四種の殺菌剤すべてにおいて、MIC と MBC の上昇が認められた。

【考察および結論】

エチレングリコール系モノマーの存在下で *S. sobrinus* または *S. sanguis* を培養すると、以前の報告と同様に、定常期における吸光度の相対的な上昇が認められたものの、CFU 数および菌体 ATP 量についてはモノマー非添加の場合を上回ることにはなかった。また、エチレングリコール系モノマー添加条件における培養では、吸光度の上昇に伴って、菌体周囲にモノマーの重合体が形成されることが分かった。これらのことから、エチレングリコール系モノマー存在下での培養系における吸光度の相対的な上昇は、菌体周囲における添加モノマーの重合体の形成に起因するものであり、従来報告されているような細菌の増殖促進による結果ではないことが明らかとなった。

また、菌体周囲にモノマー重合体が形成されることにより、抗菌剤への感受性が低下することから、モノマー重合体が細菌にとっては外来因子に対するバリアーとして機能する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、歯科臨床において頻用されているコンポジットレジンからの溶出モノマーが特定の口腔細菌の増殖を促

進するという過去の報告の正当性を検証することを目的に、コンポジットレジンモノマーと二種の口腔レンサ球菌の増殖との関連性について検討したものである。その結果、モノマーによって細菌の増殖が促進されるのではなく、細菌の増殖過程で菌体周囲にモノマーの重合体が形成されること、またこの現象によって抗菌剤に対する細菌の感受性が低下することが示された。

以上の研究結果は、コンポジットレジンからの溶出モノマーが口腔細菌の定着に及ぼす影響を明らかにしていく上で貴重な知見を提供するものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。