OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bactericidal and bacteriostatic activity of the antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide(MDPB)against oral bacteria
Author(s)	泉谷, 尚美
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49797
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	泉谷尚美（いずたになおみ）
博士の専攻分野の名称	博士（歯学）
学位記番号	第 22855 号
学位授与年月日	平成21年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	Bactericidal and bacteriostatic activity of the antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against oral bacteria （抗菌性モノマー MDPB の口腔細菌に対する殺菌・静菌特性の解析）
論文審査委員	（主査） 教授 恵比須繁之 （副査） 教授 川端 重忠　准教授 仲野 道代　准教授 北村 正博

論文内容の要旨

【研究目的】

第四アンモニウムに重合性基を導入した抗菌性モノマー12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB)は、未重合状態で抗菌作用を発現すると同時に、重合後にはレジンポリマー鎖に固定化されて接触型の抗菌効果を発揮するという特徴を有しており、種々のレジン系材料への応用の可能性が考えられる化合物である。しかし、未重合状態での MDPB の抗菌性については、う蝕象牙質中に存在する細菌に対して殺菌性を示すことが確認されているものの、まだその詳細についての十分な解析が行われているとは言えず、また、う蝕関連細菌以外の細菌に対する効果も明らかになっていない。そこで本研究では、*Streptococcus mutans* を対象に、MDPB の種々の濃度での殺菌・静菌特性を詳細に検索するとともに、感染根管から分離される細菌に対する MDPB の抗菌効果について検討することを目的とした。

【材料および方法】

1. *S. mutans* に対する殺菌・静菌特性

S mutans NCTC10449 を用いて以下の実験を行った。

1) 最小発育阻止濃度/最小殺菌濃度(MIC/MBC)の測定

MDPB、接着システムに頻用されるレジンモノマー2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)と10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP)、ならびに抗菌剤である Cetylpyridinium chloride (CPC)と Chlorhexidine diacetate (CHX)の MIC/MBC 値を測定し、抗菌力を比較した。

2) 即時殺菌効果の検討

約 1 x 10^3～1 x 10^6 CFU/mL に調整した *S. mutans* 懸濁液に、10～1000 μg/mL の MDPB を 20

～60 秒間接触させた後、プレート培養法にて生菌数を測定した。また、コラーゲンディスク上に *S. mutans* のバイオフィルムを作成し、500 あるいは 1000 μg/mL の MDPB を 20～60 秒間作用させた後、viability staining method にて生死の判定を行い、画像解析により殺菌率を算出した。

3) 低濃度 MDPB による増殖及び代謝抑制効果の検討

約 1 x 10^3 CFU/mL の *S. mutans* を 0.2～8 μg/mL の MDPB を含有する BHI 培地にて培養し、96 時間まで経時的に吸光度を測定して増殖を評価した。また、2～8 μg/mL の MDPB を含有する *S. mutans* の KPB 懸濁液に glucose を添加して培養し、pH 値の経時的測定と、pH stat システムによる酸産生速度の解析を行った。さらに，終末代謝産物をカルボン酸分析計にて定量した。

2. 感染根管分離細菌に対する殺菌特性

Enterococcus faecalis SS497 、*Fusobacterium nucleatum* 1436 、*Prevotella nigrescens* ATCC33563 を使用し、以下の実験を行った。

1) 阻止斑形成試験および MIC/MBC 測定

寒天平板拡散法により、MDPB に対する三種の細菌の感受性を評価した。また、MDPB の MIC/MBC 値を HEMA、MDP ならびに二種の抗菌剤(CPC および CHX)と比較した。

2) 即時殺菌効果の検討

250～1000 μg/mL の MDPB を、約 1 x 10^6 CFU/mL の各細菌懸濁液と 20～60 秒間接触させた後、生菌数を測定した。また、各細菌のバイオフィルムに、500 μg/mL を 60 秒間、あるいは 1000 μg/mL の MDPB を 20～60 秒間作用させ、viability staining method により細菌の死滅状態を評価した。

【結果】

1. *S. mutans* に対する殺菌・静菌特性

1) MDPB の MIC/MBC 値は 7.8/125 μg/mL であり、CPC や CHX よりはわずかに大きいものの、HEMA および MDP と比較すると明らかに小さい値であった。

2) 1 x 10^3 CFU の浮遊菌では、500 μg/mL MDPB と 40 秒間、あるいは 1000 μg/mL MDPB と 20 秒間の接触により殺菌率は 100%となった。2 x 10^4 または 1 x 10^5 CFU の浮遊菌の場合も、1000 μg/mL MDPB と 60 秒間接触することにより 95%以上の細菌が死滅した。一方、バイオフィルム細菌に対しては、1000 μg/mL MDPB を 60 秒間作用させることにより 100%の殺菌率が得られた。

3) 1 または 2 μg/mL MDPB 存在下では、増殖誘導期の延長がみられたが、倍加時間は MDPB 非添加のコントロールと同様であった。4、6、8 μg/mL MDPB 存在下では，誘導期の延長と倍加時間の増加が認められ、6 および 8 μg/mL MDPB の場合、96 時間培養後も吸光度がコントロールの値には達さなかった。酸産生については、8 μg/mL MDPB 存在下で 30 分後に産生速度の有意な低下が生じ、4 または 8 μg/mL MDPB 下で、培養 2 時間以降の pH 低下が有意に抑制された。また、終末代謝産物としての乳酸の産生量の有意な減少が認められた。

2. 感染根管分離細菌に対する殺菌特性

1) 三種の細菌はすべて MDPB に対して感受性を示し、阻止斑の形成が認められた。MDPB の MIC/MBC 値は、三種のいずれの細菌に対しても、CPC や CHX よりはわずかに大きいものの、HEMA および MDP と比較すると明らかに小さい値であった。

2) いずれの細菌においても、500 μg/mL MDPB と 40 秒間または 1000 μg/mL MDPB と 20 秒間の接触で 90%以上の浮遊菌が死滅した。バイオフィルム細菌に対しては、1000 μg/mL MDPB を 60 秒間作用させると三種の細菌とも完全に死滅した。

【考察および結論】

未重合 MDPB は、60 秒以内の短時間で浮遊状態またはバイオフィルム中の *S. mutans* に対して強い殺菌作用を示すことが明らかとなった。また、低濃度の MDPB でも、菌量が少ない場合には *S. mutans* の増殖や代謝を阻害し、乳酸産生を抑制することが分かった。さらに、感染根管から分離される嫌気性細菌に対しても、MDPB は明瞭な抗菌性を示すことが確認された。以上のように、MDPB は、口腔細菌に対して即時的な殺菌効果を発現し、また低濃度でも細菌の増殖と代謝を阻害する特性を備えており、各種生体材料に応用するうえで有用なモノマーであることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、抗菌性モノマーMDPB の未重合状態での殺菌・静菌作用について、*Streptococcus mutans* および 3 種類の感染根管関連細菌を用いて詳細に検索したものである。

その結果、MDPB は、*S. mutans* および感染根管由来の嫌気性細菌に対して強い抗菌性を有し、浮遊菌あるいはバイオフィルム細菌のいずれに対しても短時間で殺菌効果を示すことが分かった。また、MIC 以下の濃度であっても、MDPB が *S. mutans* の増殖や糖代謝を抑制することが明らかとなった。

以上の研究成果は、MDPB の抗菌特性を多面的に明らかにしたことにより、本モノマーが種々の歯科用修復材料へ応用できることを示すものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。