

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	朝原 恵里加
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 Controlled release and antimicrobial activity of cetylpyridinium chloride montmorillonite incorporated into a tissue conditioner (粘膜調整材に配合した塩化セチルピリジニウム担持モンモリロナイトの徐放特性と抗菌活性)			
論文審査担当者			
	主査 教授 加藤 功一		印
	審査委員 教授 太田 耕司		
	審査委員 准教授 田地 豪		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>粘膜調整材は，義歯の不具合で生じた粘膜の変形や傷を健康な状態に戻すことを目的として，義歯に裏装し，数日から2週間使用する軟らかく弾性のある高分子材料である。本材は，アクリル系ポリマーを主成分とする粉材と可塑剤を主成分とする液材を混和することでゲル化する。そのため，本材は，多孔性で粘弾性を有するゆえに微生物（真菌，細菌）が付着しやすく，口腔環境を悪化させ，抵抗力のない高齢者の全身への持続的な感染源となり，誤嚥性肺炎発症のリスク要因となっている。この問題を解決するため，微生物が付着し難く，汚染・劣化を防止できる抗菌性粘膜調整材の開発が行われてきた。当研究室では，無機系抗菌剤である銀ゼオライトを配合した抗菌性粘膜調整材の開発を試みるも，抗菌成分が銀イオンゆえに塩化や硫化により粘膜調整材が黒褐色に変色し，また，抗菌性のコントロールが難しく実用化には至っていない。2015年，広島大学，北海道大学，岡山大学，産業技術総合研究所の共同研究で，新規無機系抗菌剤・塩化セチルピリジニウム担持モンモリロナイト（以下，CPC-Mont）が開発された。Naoeらは，本抗菌剤を応用した抗菌性粘膜調整材のプロトタイプを試作し，抗菌性と生体適合性について検証した結果，実用化への可能性を示唆した。</p> <p>本研究は，Naoeらの研究成果を基に，粘膜調整材の粉材および液材の組成を決定，さらに，粉材に対して無機系抗菌剤CPC-Montを2重量%配合し，粉液比1.5で混和した粘膜調整材におけるCPC-Montからの抗菌成分CPCの徐放特性と抗菌活性との関係を明らかにすることで，抗菌性粘膜調整材の開発・実用化を目的とした。</p> <p>まず実験1として，粘膜調整材に配合したCPC-Montからの抗菌成分CPCの徐放特性について調べた。粘膜調整材を厚さ2mmの円板状に成形，ガラスシャーレの底に貼り付けた後，10mL試験液（蒸留水，0.2M NaCl，0.2M HCl）を添加し，小型恒温振とう培養機内で37℃，毎分77回で24時間振とうした後，溶液回収用PPチューブに全溶液を回収する工程を28日間繰り返した。回収溶液のCPC濃度は，紫外可視分光光度計を用いて波長259nmの吸光度を測定した後，データ処理ソフトウェアOriginを用いて解析し，CPC濃度を算出した。各試験液における28日間のCPC徐放特性は，1日目で最も高い値（蒸留水：0.019 mg/cm²，NaCl：0.019 mg/cm²，HCl：0.011 mg/cm²）を示し，2日目以降漸減する傾向を示した。また，各試験液におけるCPC徐放量の各日での平均値では，1日目（0.016±0.005 mg/cm²）と比較して，2日目（0.008±0.003 mg/cm²）のほうが有意に減少し（Tukey検定，<i>P</i> < 0.001），以降28日目（0.002±0.000 mg/cm²）まで有意差は認</p>			

められなかった。さらに、CPC 累積徐放量は、7 日間 ($0.048 \pm 0.013 \text{ mg/cm}^2$)、14 日間 ($0.070 \pm 0.015 \text{ mg/cm}^2$)、21 日間 ($0.087 \pm 0.016 \text{ mg/cm}^2$)、28 日間 ($0.102 \pm 0.016 \text{ mg/cm}^2$) であった。

以上の結果の考察において、CPC 安全境界値としてヒト 1 日の摂取限界量 8.00 mg (医薬品「CPC 含有トローチ」) を参考値とした。すなわち、上下顎総義歯に抗菌性粘膜調整材を裏装した場合 (最大床面積約 60 cm^2) を想定し、CPC 徐放量を換算すると、1 日目で 0.96 mg、28 日間の累積徐放量で 6.12 mg は、1 日摂取限界量 8.00 mg 以下となり、量的安全性に問題ない CPC 徐放特性であることが明らかとなった。

次に実験 2 として、CPC-Mont を配合した粘膜調整材の抗菌活性について検討した。CPC-Mont 未配合および配合粘膜調整材を直径 20 mm、厚さ 1.6 mm の円板状に成形し、試料とした。保管条件は、試料作製 2 時間経過後に 50 mL の滅菌リン酸干渉生理食塩水 (PBS) 浸漬なし、浸漬 7、14、21、28 日間とし、滅菌 PBS の交換は 7 日間ごとに行った。対象菌は、誤嚥性肺炎への関連およびデンチャープラーク形成への関与を理由とし、日和見感染菌の口腔から *Candida albicans* (IFM40009)、鼻腔から *Staphylococcus aureus* (ATCC6538P)、う蝕原因菌 *Streptococcus mutans* (109c) とした。各試料の各菌 (濁度 OD600 = 0.1 の菌培養液 5 mL) に対する抗菌性試験において、浮遊菌および付着菌の生菌数を測定し、JIS Z 2801/ISO 22196 [細菌の増殖割合が 100 分の 1 以下 (抗菌活性値 2 以上) で抗菌効果あり] により抗菌活性を判定した。*C. albicans* において、いずれの試料も浮遊菌へ抗菌効果を示さず、また、浸漬なし、浸漬 7 日間試料が付着菌に抗菌効果を示したが、浸漬 14 日間試料は抗菌効果の判定基準にわずかに届かなかった。*S. aureus* および *S. mutans* において、浸漬なし、浸漬 7 日間試料が浮遊菌および付着菌を検出せず抗菌効果を示し、また、浸漬 14 日間試料が付着菌を検出せず抗菌効果を示した。

以上の結果より、CPC-Mont 配合粘膜調整材は、いずれの付着菌に対しても 14 日間は抗菌活性を有していることが明らかとなった。また、実験 1 の結果より、CPC 累積徐放量は、1~7 日間で 0.048 mg/cm^2 、8~14 日間で 0.022 mg/cm^2 であったことから、試料の両面積 6.28 cm^2 で換算すると、それぞれの CPC 徐放量 0.30 mg および 0.14 mg が各付着菌に対して抗菌効果を示したと考えられる。

以上より、CPC-Mont 配合粘膜調整材は、2 週間にわたって抗菌活性を維持することが可能であり、抗菌成分 CPC の量的安全性も担保されることから、抗菌性粘膜調整材として臨床応用の可能であることが示唆された。

これらの研究成果は、歯科補綴学をはじめ歯科医学の発展に寄与するものが大きいと評価される。よって審査委員会全員は、本論文が朝原恵里加に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値を有するものと認めた。