

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 科学研究費助成事業

## 研究成果報告書



平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20458

研究課題名(和文)被災高齢者の口腔内環境改善の取組み-光ナノ触媒の義歯への応用-

研究課題名(英文)Action of the intraoral environmental improvement of the suffering elderly person -Application to the denture of the nano photocatalyst-

研究代表者

桑原 淳之(kuwabara, atsushi)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：30634638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年の大規模災害時の被災高齢者に対する口腔内環境を改善するために、高齢者に多く装着されている義歯材料に光ナノ触媒を応用し抗菌効果獲得を目的とした。実験には、常温重合レジンに二酸化チタンナノ粒子を1-3%混合し試料片を作製し、光照射の有無の条件下で、表面粗さ、三点曲げ、カンジダ菌の抗菌試験を行った。結果は、光照射の有無において、表面粗さ試験、三点曲げ試験、抗菌試験で有意差は認められなかった。今回の条件では、優位な抗菌作用は認められなかったが、光照射を行ったナノ粒子含有試料片のカンジダ菌の減少傾向はみられた。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to apply the nano photocatalyst to denture materials, and to acquire an antibacterial effect to improve the intraoral environment of the suffering elderly person at the time of the recent large-scale disaster. For the experiment, the sample piece which mixed 1-3% of titanium dioxide nanoparticles with normal temperature polymerization resin was made. And, under a condition of having light irradiation or not, the surface roughness examination, three points of bending tests, the antibacterial examination of Candida albicans were performed. As for the result, the significant difference was not recognized in the surface coarseness examination, three points of bending tests, the antibacterial examination in having light irradiation or not. By the experiment, the effective antibacterial action was not accepted, but the tendency to decrease of light Candida albicans of the irradiated nano photocatalyst component sample piece was just confirmed.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：セルフクリーニング 義歯 高活性酸化チタン光触媒ナノ粒子 カンジダ菌

## 1. 研究開始当初の背景

近年、地震や大雨などによる大規模災害が頻発しており、被災地における高齢者の歯科保険医療需要は増大している。避難生活が長期化すると災害関連疾病の口腔粘膜疾患（口内炎、口腔カンジダ症、ウイルス性口内炎）などへの対応が必要となる。また、誤嚥性肺炎や呼吸器感染症などの全身災害関連病の予防として口腔ケアや口腔機能向上訓練などが重要となる<sup>1)</sup>。阪神淡路大震災では、65歳以上の高齢者において肺炎が発生し、その原因に口腔内環境悪化による誤嚥性肺炎が含まれている可能性も指摘されている<sup>2)</sup>。

*Candida albicans* による義歯の汚染は、致命的な疾患を誘発する危険性が指摘されている<sup>3)</sup>。また、震災時は、支援物資の菓子パンやジュースが大量に与えられ、口腔内環境が悪化が懸念されることから、口腔ケアと同時に義歯に対しての清掃が重要となる。通常、義歯清掃は機械的の清掃法や化学的の清掃法を併用して行われるが、より効果的におこなうためには正しい方法での練習が必要となる<sup>4)</sup>。しかしながら、被災直後などは、衣食住の確保が最優先であり、また、インフラの破損により十分な水の確保や電源の確保が困難な状況が予想されるため、口腔ケアや義歯洗浄が優先して行われていないのが現状である。従って、より簡便で、特別な機器や薬液を使用しない義歯洗浄法が求められている。

## 2. 研究の目的

現在まで、二酸化チタンやアパタイト被覆型二酸化チタンを、歯科用高分子材料（義歯用レジン）に応用させる研究は行われている<sup>5)6)</sup>。アパタイト被覆型二酸化チタンを義歯用レジンの中に 5wt% 含ませ、紫外線 A (UVA) を一定時間照射することにより、*Candida albicans* に対して有意な抗真菌性の効果を示し、同時に、臨床使用のために十分な機械的強度を有していることが示唆されている。また、アパタイト被覆型二酸化チタンをフッ化物で強化したフッ素化アパタイト被覆型二酸化チタンを義歯用レジンに含ませ、一定時間紫外線 A (UVA) を照射した場合は、より優れた *Candida albicans* に対する抗真菌性を示し<sup>5)6)</sup>、機械的強度も、最少限の低下で留まっていたことから<sup>5)6)</sup>、紫外線照射を行うことによって、アパタイト被覆型二酸化チタンを含有した義歯用レジン、義歯を衛生的に保つセルフクリーニング効果を有している材料であることを報告している。しかしながら、これらのアパタイト被覆型二酸化チタンの含有した義歯用レジン、一定期間（6 時間）の紫外線照射を必要としている。この条件では、紫外線を照射するブラックライト照射機などの特殊な装置が必要

であり、また、セルフクリーニング効果を向上させるためには長時間の紫外線照射を行う必要がある。これら問題点が解決するためには、ブラックライト照射機などの特別な機器を必要としない新たなセルフクリーニング効果を有した歯科用高分子材料の開発が求められている。そこで本研究は、可視光でも高い光触媒効果を有する、高活性酸化チタン光触媒ナノ粒子を歯科用高分子材料に応用し、より高いセルフクリーニング効果を有した新規医療生体材料の性質を解析し、高齢者や被災高齢者の口腔衛生状態の改善を目的とする。

## 3. 研究の方法

実験には、常温重合レジン（プロベースコート、Ivoclar Vivadent）に高活性酸化チタン光触媒ナノ粒子（ナノウエーブ製）を 1%、2%、3% で配合し、通法に従い練和・重合させ試験片（長方形プレート（65 mm x 10 mm x 3 mm）と（円体プレート（20 mm x 30 mm x 1.5 mm））を作製し、#400・#1000 の耐水ペーパーにより表面を研磨し、48 時間水中保管し、使用した。試料は、通常の常温重合レジン（Control）とし、ナノ粒子を 1%（nano1%）、2%（nano2%）、3%（nano3%）配合した試料を用いた。光源には LED ライト（YN600L Yongnuo）とブラックライト（FPL27BLB 三共電気、LK-H451B Twinbird）を用いて、試料から 30 cm の距離から照射を行った。力学的試験として 2 時間の LED ライト照射前後の状態の、表面粗さ測定（n=6）（Surfcom 590A, Seimitsu, Tokyo, Japan）、三点曲げ試験（n=6）（EZ-S, Shimadzu Corp.）を行った。三点曲げ試験は、クロススピード 1 mm/min、算出された曲線グラフのピーク値を最大値とした。

セルフクリーニング効果を確認するために、カンジダ菌を用いた抗菌試験を行った。カンジダ菌を培養、継代し、培地に播種し培養後コロニー数をカウント出来る細菌数を決定し、実験を行った。実際のカンジダ菌数は  $10^{-5} \sim 10^{-6}$  とし、試験片（円体プレート（20 mm x 30 mm x 1.5 mm））を使用した（n=3）。円体プレート上に、カンジダ菌を 300  $\mu$ l 播種し、光照射を行う群と行わない群に分け、2 時間後、10  $\mu$ l 回収し、48 well のホイールプレート中の 1% グルコース・ブイヨン液体培地で  $10^{-5} \sim 10^{-6}$  希釈し、希釈したカンジダ菌を普通寒天培地上に広げ、37℃ で 48 時間培養を行い、培養後、コロニー数をカウントした。

統計分析は Tukey 法にて有意差（p<0.05）の有無を検定した。

## 4. 研究成果

表面粗さ試験（n=6 Ra）では、LED 照射前

Control 0.254  $\mu\text{m}$ 、nano1% 0.44  $\mu\text{m}$ 、nano2% 0.328  $\mu\text{m}$ 、nano3% 0.46  $\mu\text{m}$ 、LED 照射後 Control 0.282  $\mu\text{m}$ 、nano1% 0.34  $\mu\text{m}$ 、nano2% 0.344  $\mu\text{m}$ 、nano3% 0.396  $\mu\text{m}$ 、となった(table 1)。全ての条件群で優位差は確認されなかった( $p<0.05$ )。

	表面粗さ (Ra)	
	LEDなし	LEDあり
Control	0.254 $\pm$ 0.056	0.282 $\pm$ 0.091
nano TiO <sub>2</sub> 1%	0.44 $\pm$ 0.204	0.34 $\pm$ 0.061
nano TiO <sub>2</sub> 2%	0.328 $\pm$ 0.147	0.344 $\pm$ 0.128
nano TiO <sub>2</sub> 3%	0.46 $\pm$ 0.046	0.386 $\pm$ 0.099

Table1

三点曲げ試験 (n=6 N) では、LED 照射前 Control 174.8N、nano1% 154N、nano2% 162.8N、nano3% 164.9N、LED 照射後 Control 241.4N、nano1% 185.9N、nano2% 175.8N、nano3% 180.4N となった(Figure 1)。全ての条件群で優位差は確認されなかった( $p<0.05$ )。

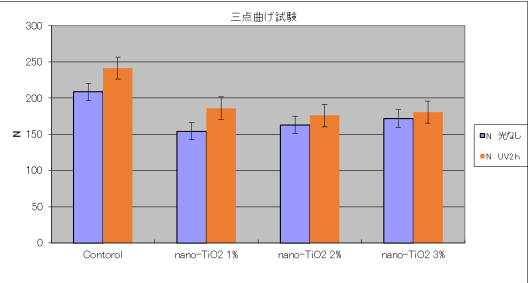


Figure1

カンジダ菌を使用した抗菌試験では、LED 照射前のコロニー数は Control 131.6 個、nano3% 106.3 個、LED 照射後のコロニー数は Control 32.3 個、nano3% 42.3 個となった(Figure 2)。また、ブラックライトを用いた場合では、紫外線照射前のコロニー数は Control 411.6 個、nano3% 357 個、LED 照射後のコロニー数は Control 445 個、nano3% 335.3 個となった(Figure 3)。LED ライトと紫外線共に、有意差は認められなかった( $p<0.05$ )。

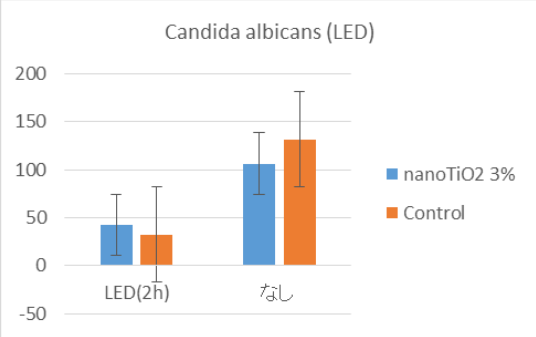


Figure2

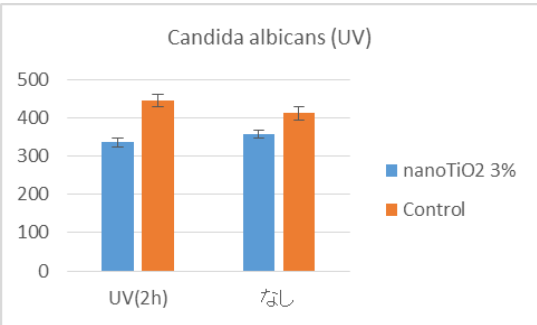


Figure3

大規模災害が発生し、被災者の避難所での生活が長引くと、義歯の汚などに起因する口腔内環境の悪化から、被災高齢者の肺炎が増加するという報告があるように、肺炎になるリスクの高い高齢者、用介護高齢者の誤嚥性肺炎の増加は大きな問題である。

今実験では、可視光でも高い光触媒効果を有する、高活性化チタン光触媒ナノ粒子を歯科用高分子材料に応用し、より高いセルフクリーニング効果を有した新規医療生体材料の性質を解析し、高齢者や被災高齢者の口腔衛生状態の改善を目的とした。

プレ実験の結果から高活性化チタン光触媒ナノ粒子は 3%配合とし、作製した試料片の力学的試験、抗菌試験を行った。力学的試験では、LED による光照射前後で、物性の低下(強度、表面粗さ)は認められなかった。カンジダ菌を用いた抗菌試験では、LED と比較対象としてブラックライトを用いて評価を行った。LED とブラックライト共に照射前後で有意差は認められなかった。しかしながら、細菌コロニー数は減少傾向を示した。

今実験に先立って行ったプレ実験の結果から試料片の力学的特性の低下がほぼ無い高活性化チタン光触媒ナノ粒子の配合率で、高活性化チタン光触媒ナノ粒子を配合した(3%)。過去の報告では、二酸化チタンを 5%や 10%まで配合している実験も報告されている<sup>5)6)</sup>。この場合、材料の力学的特性は多少低下が見られたが、抗菌効果は確認されたため、今実験の抗菌試験での有意差が確認されなかった理由として高活性化チタン光触媒ナノ粒子の配合率の問題が考えられる。また、LED 照射では、照射中に熱の発生が多少あったため、その影響で、LED 照射後、Control と 3%配合共に、コロニー数が減少したと考えられる。熱の発生があることから、LED 照射時間や照射距離の再考も今後改善していかなければならないと考えられる。

今実験では、高活性化チタン光触媒ナノ粒子の配合率や、照射条件から抗菌効果の有

意な差は認められなかったが、力学的特性の劣化は認められず、また、カンジダ菌のコロニー数の減少傾向も確認された。今後、抗菌効果が認められる高活性酸化チタン光触媒ナノ粒子の適正配合率や光の照射時間、義歯用弾性裏装材への適応などを通じて誤嚥性肺炎などを減少させ、歯科医療が被災時医療や高齢者・介護医療の現場に貢献をすることが必要である。

#### 参考文献

1. 田中 彰、大規模災害時における被災高齢者に対する歯科保険医療支援活動、老年歯科医学 Vol.24(2009) No3.3P 284-292.
2. 足立了平、大規模災害における口腔ケアの重要性、災害関連死をふやさないために、月刊保団連、2005； 862 ：35-40.
3. Sumi Y et al, Colonization of dental plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. Arch Gerontol Geriatr, 2007 Mar-Apr; 44(2):119-24. Epub 2006 May 24.
4. McCabe FJ et al, The efficacy of denture cleansers. Eur J Prothodont Restor Dent, 1995 Sep ; 3(5):203-7.
5. Shibata T et al, Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO<sub>2</sub> photocatalyst. Dent Materials J, 2007 May ; 26(3):437-44.
6. Sawada T et al, Self-cleaning effects of acrylic resin containing fluoridated apatite-coated titanium dioxide. Gerodontology, 2014 Mar ; 31(1):68-75. doi: 10.1111/ger.12052. Epub 2013 Apr 15.

#### 5 . 主な発表論文等

( 研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線 )

〔 雑誌論文 〕 ( 計 0 件 )

〔 学会発表 〕 ( 計 0 件 )

〔 図書 〕 ( 計 0 件 )

〔 産業財産権 〕

出願状況 ( 計 0 件 )

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

取得状況 ( 計 0 件 )

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

#### 6 . 研究組織

##### (1) 研究代表者

栗原淳之 ( KUWABARA, Atsushi )

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号 : 30634638