

平成30年5月31日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20497

研究課題名(和文) 抗菌剤リチャージャブルポリマー粒子の義歯床用レジンへの応用

研究課題名(英文) Application of antimicrobial-rechargeable polymer particles to denture base resins

研究代表者

北川 晴朗 (Kitagawa, Haruaki)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：50736246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、塩化セチルピリジニウム(CPC)の徐放とリチャージが可能なCPC担持ポリマー粒子を配合したMMA系の義歯床用レジンを試作し、CPCリチャージ特性、真菌に対する抗菌性、および物性をin vitroにて評価した。その結果、CPC担持ポリマー粒子を20(wt)%配合すれば、PMMAレジンの曲げ強さを低下させることなく、リチャージによってCPC溶出を維持することができ、Candida albicansの付着を抑制できることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：In this study, cetylpyridinium chloride (CPC)-loaded polymer particles, that can release CPC continuously by recharging, were incorporated into a commercial PMMA denture base resin, and their CPC-recharge profiles, antifungal properties, and flexural strengths were evaluated in vitro. Incorporation of CPC-loaded polymer particles at 20(wt)% was effective to maintain CPC-release from the PMMA resin by recharging, and achieve inhibitory effects against adherence of C. albicans on the surface, without hampering the flexural strength of resin.

研究分野：歯科生体材料学

キーワード：抗菌性 薬剤徐放 ポリマー 義歯

1. 研究開始当初の背景

デンチャープラークの堆積は、微生物感染に起因するさまざまな感染性疾患を惹起することから、義歯床用材料が抗菌性を備えていることは有益である。しかし、義歯床用レジンに抗菌成分を直接配合する従来の試みでは、一時的な抗菌性は得られるものの、長期的な抗菌性には期待ができない。

一方、研究代表者らは、レジン系材料への適用を目的として、親水性モノマー 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) と架橋性モノマー trimethylolpropane trimethacrylate (TMPT) からなる薬剤徐放のための非生体吸収性ポリマー粒子を開発し、これに第4アンモニウム塩系抗菌剤である塩化セチルピリジニウム (CPC) を担持させると、CPC が長期間徐放されることを確認した。そして、CPC 担持 polyHEMA/TMPT 粒子をまず HEMA を含む市販のレジン系根管充填シーラーに配合して、CPC 溶出挙動や抗菌性に関する詳細な検討を行い、本粒子の配合が CPC の長期徐放特性を有するレジン系材料の開発に適していることを明らかにした。しかも、この粒子は、一旦 CPC が溶出した後も CPC をリチャージすることが可能で、リチャージによって一定濃度以上の CPC の溶出を常に維持できることを見出した。そこで、これまでの研究成果をもとに、CPC 担持 polyHEMA/TMPT 粒子を MMA 系の義歯床用レジンに応用すれば、持続的な抗菌性を発揮する義歯床用レジンの実現が可能となるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、CPC の徐放とリチャージが可能な CPC 担持 polyHEMA/TMPT 粒子を義歯床用レジンに応用し、持続的な抗菌性を発揮できる義歯床用レジンを開発することを目的とした。具体的には、CPC 担持ポリマー粒子を配合した義歯床用レジンを試作し、CPC 溶出性とリチャージ特性を検討して、持続的な CPC 徐放を実現するためのリチャージプロトコルを確立した。さらに、試作レジンの真菌に対する抗菌効果と物性を *in vitro* にて評価し、長期的な抗菌性発現機能と臨床使用可能な物性を備えた義歯床用レジンを開発を目指した。

3. 研究の方法

(1) CPC 担持ポリマー粒子配合試作レジンの調製

HEMA と架橋性モノマー TMPT を混合したモノマー混合液に、CPC 粉末を 20(wt)%あるいは 50(wt)%の割合で添加し、加熱重合後粉碎して、平均粒径約 37 μm の CPC 担持ポリマー粒子を作製した(図)。作製した CPC 担持ポリマー粒子を、メタベース M (サンメディカル) の粉材に配合し、液材と練和した。練和物を直径 9 mm、厚さ 2 mm のシリコンモールドに填入後、プラスチックストリップで圧接し、静置保管して、硬化体を作製した。

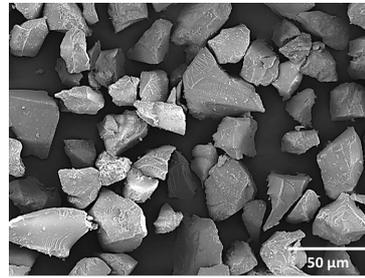


図. 作製した CPC 担持ポリマー粒子の走査型電子顕微鏡像.

(2) CPC 溶出性の評価

試作レジン滅菌蒸留水 1 mL に浸漬し、溶出した CPC の濃度を高速液体クロマトグラフィにて経時的に測定した。

(3) 真菌に対する CPC の有効濃度確認

Candida albicans に対する CPC の最小発育阻止濃度を micro dilution assay にて測定し、溶出させる CPC の有効濃度を確認した。

(4) リチャージ特性の評価

滅菌蒸留水中で CPC を一定期間溶出させた試作レジンに 1 時間浸漬して CPC のリチャージを行った後、滅菌蒸留水に再浸漬して溶出 CPC 濃度を再測定した。この行程を 3 回繰り返し行った。

(5) 抗真菌性の評価

作製直後または上記のリチャージ特性の評価に準じて CPC をリチャージした硬化レジンに 1×10^7 CFU/mL の *C. albicans* の菌液 1 mL に浸漬して 2 日間培養後、レジン表面への *C. albicans* の付着状態を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。

(6) 曲げ試験

長さ 64 mm、幅 10 mm、厚さ 3.3 mm の板状試料を作製し、試料作製直後あるいは 14 日間水中浸漬後、クロスヘッドスピード 5 mm/min、支点間距離 50 mm で 3 点曲げ試験を行った。

4. 研究成果

(1) CPC 溶出性およびリチャージ特性

CPC 担持ポリマー粒子を 20(wt)%あるいは 50(wt)%配合したいずれの試料とも、CPC の溶出は 4 日間持続したが、50(wt)%配合試料では 20(wt)%配合および粒子非配合の試料に比べて、常に、有意に高い濃度の CPC 溶出が認められた ($p < 0.05$, Tukey's HSD test)。つづいて、CPC を 3 日ごとにリチャージしたところ、いずれの配合率においても *C. albicans* に対する最小発育阻止濃度 (1.6 $\mu\text{g/mL}$) 以上の CPC 溶出が維持されることが分かった。また、リチャージ後でも、粒子を 50(wt)%配合したレジンでは、20(wt)%配合に比べて常に高い濃度の CPC 溶出が維持された。

(2) 試作レジンの抗真菌性

作製直後のコントロールレジン表面では、*C. albicans* が密に付着した状態が観察されたのに対して、20(wt)%および50(wt)%配合レジンでは、*C. albicans* の付着菌数が明らかに少なかった。

溶出試験に準じて8日間水中浸漬を行いながらCPCをリチャージした試料においても、20(wt)%および50(wt)%配合レジン表面への*C. albicans*の付着が抑制された。すなわち、CPC担持ポリマー粒子を配合した試料では、CPCのリチャージによる持続的なCPC溶出によって、*C. albicans*の付着を一定期間抑制できることが分かった。

(3) 曲げ試験

水中浸漬前の曲げ強さは、20(wt)%および50(wt)%配合レジンともにコントロールとの間で有意差は認められなかった。

14日間水中浸漬を行うと、50(wt)%配合レジンではコントロールと比べて曲げ強さが有意に低下したが、20(wt)%配合レジンでは曲げ強さの低下は認められなかった。したがって、50(wt)%という高い濃度で粒子を配合すると、レジンからの高濃度のCPC溶出が得られやすい一方、吸水が生じやすくなりPMMAの曲げ強さを低下させたものと考えられる。

以上のように、本研究により、CPC担持ポリマー粒子を20(wt)%配合すれば、PMMAレジンの曲げ強さを低下させることなく、リチャージによってCPC溶出を維持することができ、*C. albicans*の付着を抑制できることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

Kamonwanon P, Hirose N, Yamaguchi S, Sasaki JI, Kitagawa H, Kitagawa R, Thaweboon S, Sriksirin T, Imazato S. SiO₂-nanocomposite film coating of CAD/CAM composite resin blocks improves surface hardness and reduces susceptibility to bacterial adhesion. *Dental Materials Journal*. 査読有. 36(1): 88-94, 2017. DOI: 10.4012/dmj.2016-135

Kitagawa H, Takeda K, Tsuboi R, Hayashi M, Sasaki JI, Imazato S. Influence of polymerization properties of 4-META/MMA-based resin on the activity of fibroblast growth factor-2. *Dental Materials Journal*. 査読有. 36(6): 724-730, 2017. DOI: 10.4012/dmj.2016-372

Imazato S, Kitagawa H, Tsuboi R, Kitagawa R, Thongthai P, Sasaki JI. Non-biodegradable polymer particles for drug delivery: A new technology for "bio-active" restorative materials. *Dental Materials Journal*.

査読有. 36(5): 524-532, 2017. DOI: 10.4012/dmj.2017-156

Kitagawa H, Miki-Oka S, Mayanagi G, Abiko Y, Takahashi N, Imazato S. Inhibitory effect of resin composite containing S-PRG filler on *Streptococcus mutans* glucose metabolism. *Journal of Dentistry*. 査読有. 70: 92-96, 2018. DOI: 10.1016/j.jdent.2017.12.017

Tsuboi R, Sasaki JI, Kitagawa H, Yoshimoto I, Takeshige F, Imazato S. Development of a novel dental resin cement incorporating FGF-2-loaded polymer particles with the ability to promote tissue regeneration. *Dental Materials*. 査読有. 34(4): 641-648, 2018. DOI: 10.1016/j.dental.2018.01.007

〔学会発表〕(計6件)

北川晴朗、北川蘭奈、壺井莉理子、竹田かほる、佐々木淳一、今里 聡. CPC担持ポリマー粒子の応用による長期的抗菌効果を備えた根管充填シーラーの開発. 第67回日本歯科理工学会学術講演会、2016年4月16日、福岡市.

Kitagawa H, Kitagawa R, Tsuboi R, Takeda K, Sasaki JI, Imazato S. Development of an antibacterial endodontic sealer containing CPC-loaded polymer particles. 94th General Session & Exhibition of the IADR, June 24, 2016, Seoul (Republic of Korea).

Tsuboi R, Kitagawa H, Takeda K, Sasaki JI, Takeshige F, Imazato S. Release of FGF-2 from 4-META/MMA-based adhesive resins containing non-biodegradable FGF-2-loaded-polymer particles. International Dental Materials Congress 2016, November 5, 2016, Bali (Indonesia).

森田真吉、中山勝矢、山口 哲、北川晴朗、今里 聡. 各種市販MTAセメントの抗菌性および石灰化誘導能. 第69回日本歯科理工学会学術講演会、2017年4月15日、東京都.

壺井莉理子、北川晴朗、佐々木淳一、今里 聡. FGF-2担持ポリマー粒子を配合した4-META/MMA系接着性レジンの組織再生誘導能の評価. 第70回日本歯科理工学会学術講演会、2017年10月14日、新潟市.

Sakai H, Nakanishi K, Tsuboi R, Thongthai P, Kitagawa H, Imazato S. Incorporation of rechargeable antimicrobial-releasing polymer particles into PMMA resins. 第65回国際歯科研究学会日本部会学術大会、

2017年11月18日、東京都。

〔その他〕

<http://web.dent.osaka-u.ac.jp/~techno/research.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

北川 晴朗 (KITAGAWA Haruaki)

大阪大学・歯学研究科・助教

研究者番号：50736246