

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月 15日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592456

研究課題名（和文） 自己洗浄能を有する義歯床用レジンの開発

研究課題名（英文） Development of denture base material having a self-cleaning ability

研究代表者

坂井 貴子（SAKAI TAKAKO）

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：60128022

研究成果の概要（和文）：光触媒材料を混入したティッシュコンディショナーの *E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus* および *C.albicans* に対する抗菌・抗真菌試験を行った。作製した光触媒含有試料表面に各菌液を滴下後、0-、2- 及び 4 時間の紫外線照射を行い、CFU 法により抗菌・抗真菌効果を判定した。すべての含有試料で、CFU 値は紫外線照射により有意に減少した。CFU 値は光触媒含有量の増加、紫外線照射時間の増加に伴い減少した。このことから試料は光触媒機能を獲得したことが推測できた。

研究成果の概要（英文）：This study examined the antimicrobial/antifungal ability of a tissue conditioner containing a photocatalyst for *E.coli*, *S.aureus*, *S.mutans* and *C.albicans*. Powders containing a photocatalyst were mixed with liquid to make test specimens. Test specimens inoculated by each microorganism were irradiated by ultraviolet light for 0-, 2- and 4 hours. The antimicrobial/antifungal effects were evaluated by the CFU technique. The CFU values of each microorganism for tissue conditioners containing a photocatalyst showed significant decrease following UV-irradiation. The improvement on antimicrobial/antifungal effects was concomitant with the increase of the mixing ratio and the irradiation time. Therefore, the results indicated that tissue conditioners containing a photocatalyst might have photocatalytic ability.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
10年度	1,400,000	420,000	1,820,000
11年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：光触媒、抗菌。義歯床用レジ

## 1. 研究開始当初の背景

近年、口腔ケアが全身疾患の予防に重要な

役割を果たすことが歯学領域のみならず、医学領域でも認識されはじめた。義歯装着によ

り口腔内環境が悪化することは数多く報告されている。そこで、義歯装着者にはブラシによる清掃に加え、義歯洗浄剤の使用を指導するが、メンテナンス時に義歯が清潔に保たれていることは少ない。これは義歯の材料学的問題と形態の複雑さによるものである。義歯装着者の中には手指に障害のある者や要介護者も少なくないことから簡単に清掃できる義歯が必要である。義歯への細菌の付着を防ぐため粘膜面の滑沢化、義歯床表面への親水性付与、床用レジンへの抗菌剤混入が報告されたが、まだ実用化にいたっていない。

## 2. 研究の目的

研究の目的は清掃性のよい床用レジンを作製することである。床用レジンに材料学的に細菌が付着しやすいため、清潔に保つのが困難であることが知られている。また義歯の形状が複雑であるため、細部にわたる清掃が困難である。義歯装着者には高齢者が多く、要介護者も多い。清掃性の良い材料を開発することは、手先の器用さが失われても、介護者でも義歯を清掃することが容易になる。

光照射により細菌とその産生物を分解する能力を床用レジンに付与することによりこの目的を達成することができると考えた。光触媒は与えられた光エネルギーにより電子と正孔を生成し電子は $O_2$ と、正孔は $H_2O$ と反応して表面に $O_2^-$ と $-OH$ を発生させる。 $-OH$ が表面の有機物から電子を獲るため有機物は $H_2O$ と $CO_2$ に分解され、新たな有害物質を産生しない。義歯床用材料が光触媒機能を獲得すると洗浄のためにランプ以外には特殊な機械や薬剤を必要としないため、介護施設で同時に大量の義歯の洗浄が行える。義歯床用レジンのなかでティッシュコンディショナーは機械的清掃ができないため不潔になりやすい材料である。今回は光触媒含有ティッシュコンディショナー試料を作製し、抗菌・抗真菌効果を検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 試料作製

光触媒としてPHOTOHAP(太平化学産業株式会社、大阪)を使用した。PHOTOHAPはハイドロキシアパタイトの結晶の一部をチタンに置換した光触媒アパタイトで、直径 $3.78\mu m$ 、比表面積 $41.59m^2/g$ の不溶性の白色粉末である。光触媒アパタイトをティッシュコンディショナーII(株式会社松風、京都)ポリマーに5wt%、10wt%、15wt%、20wt%の割合で混入攪拌後、高さ1mmの隔壁を付与したガラス板上で重合させた。室温で4時間放置した後、コルクカッターで直径24mmの円板にくりぬき、滅菌水中に24時間保存した。その後、逆性せっけん中に5分間、滅菌水中に5分間浸漬し、20分乾燥したものを実験試料

とした。

### (2) 抗菌・抗真菌試験

*E. coli* (NBRC3972)、*S. mutans* (UA159)、*S. aureus* (FDA209P)、および*C. albicans* (ATCC10231)を各々の培地で培養後濃度調整したものを被験菌液とした。

暗所下で6穴ディッシュの各穴に置いた試料上に $300\mu l$ の菌液を滴下し、20cm上方から紫外線を照射した(352nm、FL15BLB、東芝、東京)。試料を3群に分け、0時間照射群、2時間照射群および4時間照射群とし、照射終了後、菌液を回収した。*C. albicans*のみは20cmの照射距離では有意な効果が得られなかったので照射距離を10cmとし、照射時間や抗真菌試験の操作は他菌液の群と同様に行った。照射後回収した菌液に、試料ごとにそれぞれの培養液 $2700\mu l$ を加えて懸濁後、希釈したものを寒天培地に播種し、24時間培養の後コロニー数を測定した。紫外線照射を行わず暗所下で同様の実験を行ったものをコントロールとした。測定結果は一元配置分散分析、多重比較検定(Scheffe法)を用いて統計解析を行った。

### (3) 抗菌・抗真菌効果の持続性

抗菌抗真菌試験と同様の試料を作製し、0時間照射群、2時間照射群、4時間照射群に分け、毎日紫外線照射を行った。重合1日後、3日後、5日後、7日後、14日後に菌液を滴下し紫外線照射を行った。照射後回収した菌液に、試料ごとにそれぞれの培養液 $2700\mu l$ を加えて懸濁後、希釈したものを寒天培地に播種し、24時間培養の後コロニー数を測定した。紫外線照射を行わず、暗所下で同様の実験を行ったものをコントロールとした。測定結果は一元配置分散分析、多重比較検定(Scheffe法)を用いて統計解析を行った。

### (4) 機械的性質の検討

#### ① 表面形状の観察

$5\times 5mm$ の試料を作製し、金蒸着の後、走査型電子顕微鏡(JSM-5400LV、JEOL社、東京)による表面形状の観察を行った(加速電圧20V)。

#### ② 重量変化の測定

直径 $6.5mm$ の試料を作製した。4時間後の重量を測定し、滅菌水中に浸漬した。試料を滅菌水から取り出し30秒間清潔なペーパータオルで拭き、15秒間空気中で振った後、天秤皿の上に置き、滅菌水から取り出して1分後に重量を測定した。同様の測定を1, 3, 5, 7, 14日後にも行った。測定結果は一元配置分散分析、多重比較検定(Scheffe法)を用いて統計解析を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 抗菌・抗真菌効果

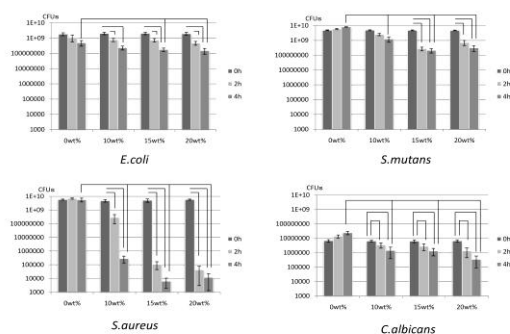
*E. coli* の CFU 値は光触媒含有量の増加、照射時間の増加に伴い減少した。4 時間照射群の 15wt%、20wt%含有試料の CFU 値は 4 時間照射群の非含有試料に対し有意に減少した。10wt%、15wt%、20wt%含有試料では 2 時間照射群と 4 時間照射群はともに非照射群に比べ有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

*S. mutans* の CFU 値は、光触媒含有量の増加、照射時間の増加に伴い減少した。4 時間照射群の 5wt%、10wt%、15wt%、20wt%含有試料の CFU 値は 4 時間照射群の非含有試料に対し有意に減少した。10wt%、15wt%、20wt%含有試料では 2 時間照射群と 4 時間照射群はともに非照射群に比べ有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

*S. aureus* の CFU 値は、光触媒含有量の増加、照射時間の増加に伴い減少した。4 時間照射群の 10wt%、15wt%、20wt%含有試料の CFU 値は 4 時間照射群の非含有試料に対し有意に減少した。10wt%、15wt%、20wt%含有試料では 2 時間照射群と 4 時間照射群はともに非照射群に比べ有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

*C. albicans* の CFU 値は、光触媒含有量の増加、照射時間の増加に伴い減少した。4 時間照射群の 10wt%、15wt%、20wt%含有試料の CFU 値は 4 時間照射群の非含有試料に対し有意に減少した。10wt%、15wt%、20wt%含有試料では 2 時間照射群と 4 時間照射群はともに非照射群に比べ有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

光照射群の CFU 値の変化を下図に示す。



光触媒含有試料の紫外線照射後の CFU 値が非含有試料の CFU 値に対して有意に減少したこと、光触媒の含有量の増加、照射時間の増加に伴い減少したことから、光触媒含有試料は *E. coli*、*S. mutans*、*S. aureus* に対する抗菌性と *C. albicans* に対する抗真菌性を獲得したと考えられる。

抗菌効果は細菌の種類により異なった。酸化チタンに光エネルギーにより生成された電子は  $O_2$  と、正孔は  $H_2O$  と反応し、表面に  $O_2^-$  と  $-OH$  を発生させる。 $-OH$  が表面の有機物から電子を獲るため有機物は  $H_2O$  と  $CO_2$  に分解される。このことから、抗菌効果の違いは細菌の細胞壁の厚さや構造の違いによると考えられている (Kühn et al. 2003, Saito et al. 1992)。グラム陰性菌の細胞壁は陽性菌より薄く粗であるため、分解され易く、一方 *C. albicans* は厚い細胞壁を有するため分解されにくく、また有核細胞であることから容易には殺菌されないと考える。しかしながら本研究ではグラム陽性菌である *S. mutans* と *S. aureus* の CFU 値はグラム陰性菌である *E. coli* より減少量が大きく Kühn らの報告とは異なる。*S. mutans* と *S. aureus* の CFU 値は非照射群でも 15wt%、20wt%含有試料で減少したこと、酸化チタンによる分解は紫外線照射時のみに発揮されるものであることから、ハイドロキシアパタイトの吸着作用によるものと考えた。細菌の付着には細菌表面の疎水性と物質との表面エネルギーが関与することが知られており、Sonokawa らにより *S. aureus* が *E. coli* より付着しやすい特性を持つことが報告されている。以上のことから、本実験で使用した細菌と真菌はハイドロキシアパタイトにより吸着され、紫外線照射により酸化チタンによる分解を受けることが推測された。

##### (2) 抗菌・抗真菌効果の持続性

*E. coli* の CFU 値は 4 時間照射群の 10wt%含有試料で 1 日後に非含有試料に対し有意な減少を示した。4 時間照射群の 15wt%、20wt%含有試料で 1 日後、3 日後に非含有試料に対し有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

*S. mutans* の CFU 値は 4 時間照射群の 10wt%、15wt%、20wt%含有試料で 1 日後、3 日後に非含有試料に対し有意な減少を示した。4 時間照射群の 15wt%、20wt%含有試料で 1 日後、3 日後、5 日後、7 日後、14 日後に有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

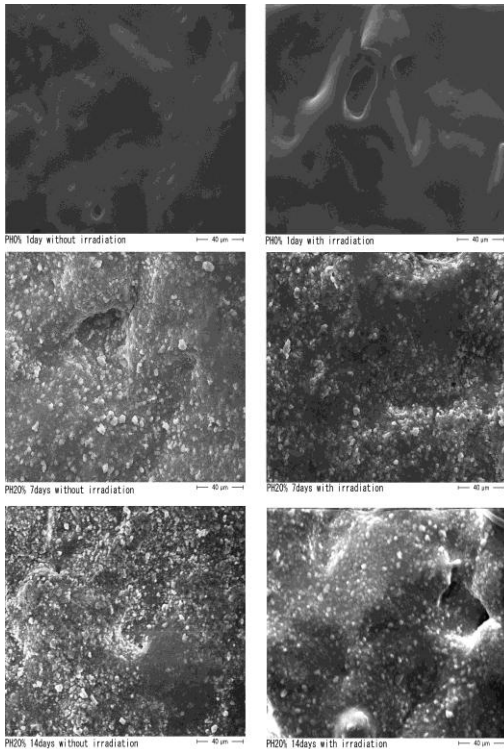
*S. aureus* の CFU 値は 4 時間照射群の 10wt%、15wt%、20wt%含有試料で 1 日後に非含有試料に対し有意な減少を示した。4 時間照射群の 20wt%含有試料で 1 日後、3 日後に有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で重合 1 日目の 2 時間後、4 時間後の CFU 値が有意に減少した。

*C. albicans* の CFU 値は 4 時間照射群の 10wt%、15wt%、20wt%含有試料で 1 日後に非含有試料に対し有意な減少を示した。非照射群ではすべての試料で CFU 値に有意な変化はなかった。

### (3) 機械的性質

#### ① 表面形状の変化

重合 1 日後の試料では表面に直径約 0.4 ~ 4  $\mu\text{m}$  の粒子が分布し分布量は光触媒含有量の増加に伴い増大した。この粒子は 3 日後には分布量が減少した。5 日、7 日及び 14 日後の 15wt%、20wt%含有試料の表面には形状の不均一な大きな粒子が存在し、日数の経過とともに分布が増大した。照射群と非照射群の間には変化に差はなかった。



#### ② 重量変化

すべての試料で光触媒含有試料と非含有試料の間には照射の有無に関わらず有意な差をみとめなかった。

光触媒を混入することで材料は抗菌性を獲得した。光触媒含有量の大きい試料で効果の持続が得られたが、持続日数は細菌により異なり、*C. albicans* では持続性は得られなかった。走査電子顕微鏡による観察では重合 1 日目には表面に光触媒アパタイトが多数分布しているのに対し、5 日目以降、15wt%、20wt%試料表面に大小不整の粒子が分布し、光触媒の分布が認めづらくなった。重合後の試料の変化に伴い、表面に分布する光触媒が減少したか、または、光触媒の活性化が阻害されたことが効果が持続しない原因であると考えた。

### 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 1 件)

Masayuki Uchimaru, Takako Sakai, Ryoji Moroi, Susumu Shiota, Yukie Shibata, Mikito Deguchi, Hidetaka Sakai, Yoshihisa Yamashita and Yoshihiro Terada, Antimicrobial and antifungal effects of tissue conditioners containing a photocatalyst, Dental Materials Journal, 査読有, Vol 30, No 5, 2011, pp 691-699.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 諸井亮司、内丸雅之、坂井貴子、出口幹人、寺田善博、光触媒材料含有粘膜調整材の抗菌・抗真菌効果の持続性、第 120 回日本歯科補綴学会第 120 回記念学術大会、2011 年 5 月、広島
- ② 内丸雅之、坂井貴子、諸井亮司、吉田創介、出口幹人、寺田善博、光触媒材料含有粘膜調整材の抗菌・抗真菌効果、第 118 回日本歯科補綴学会、2009 年 6 月、京都。

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

坂井 貴子 (SAKAI TAKAKO)  
九州大学・大学病院・講師  
研究者番号：60128022

#### (2) 研究分担者

諸井 亮司 (MOROI RYOUJI)  
九州大学・大学病院・助教  
研究者番号：70325471

#### (3) 研究分担者

寺田 善博 (TERADA YOSHIHIRO)  
九州大学・歯学研究院・教授  
研究者番号：30038898

