

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 4月 1日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究 B

研究期間：2009～2011

課題番号：21791831

研究課題名（和文） 口腔カンジダ症への歯科補綴物の関与についての検討

研究課題名（英文） Effects of Candida dimorphism on denture resin base adhesion

研究代表者

馬谷原 光織 (MAYAHARA MITSUORI)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：30384184

研究成果の概要（和文）：

【背景】カンジダは義歯性口内炎のようなカンジダ関連病変を引き起こすことが知られており、近年では原因不明である舌痛症もカンジダの関連病変と指摘される。本研究成果は病因となる *C. albicans* が菌糸型に変化を制御することにより、口腔内におけるカンジダ関連病変を効率的に抑止する治療方法に結びつくことを示した。すなわち慢性的にカンジダ関連に悩まされる患者は、既存のカンジダ除去治療を受けたのちに、9-12時間間隔で口腔内清掃をおこなうことで口腔内残留のカンジダほぼ全ての問題を改善できる可能性がある。この発見は、慢性化したカンジダ関連疾患患者が、既存の薬物療法や物理的な対処（義歯の再製）のみならず、患者自身で疾病を制御できる道筋を見いだすものである。

研究成果の概要（英文）：

The existence of *Candida*-associated conditions such as denture stomatitis has long been known. Recent evidence, however, has also confirmed BMS to be a *Candida*-associated condition. Our results showed that proliferative suppression of Mycelial-Type *C. albicans* was the regimen that was effective for a *Candida*-related disease. As for the patients, it is recommended after existing *candida* removal treatment that we conduct intraoral cleaning every 9-12 hour. As for this discovery, the chronic *Candida*-related disease patients find the route that can control disease in the patient as well as existing pharmacotherapy and physical coping.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：口腔カンジダ症, 義歯性口内炎, 義歯表面性状, 口腔内環境

1. 研究開始当初の背景

近年舌痛症はカンジダ関連病変の1つともいわれており (Terai 2006; 上川 2006). 舌痛を訴える患者のおよそ46%が関与し, 抗真菌薬投与で改善されたという報告もある (佐藤ら 2004). われわれの検討でも舌痛症患者 63 例のうち, カンジダが認められ, 抗真菌薬の投与により症状が改善したのは 28 例(44%)であった. また 65 歳以上の舌痛症患者の義歯装着者の占める割合は非装着者の約3倍であったことを報告した. (2008) 口腔カンジダと舌痛症の関連に関する報告は増えているが, 口腔カンジダと義歯との関連において, 義歯へのカンジダの付着, バイオフィーム形成と舌痛症との関連は明らかにされていない. また, 歯科材料の種類によるカンジダ付着の違いを検討している研究は散見されるが (野村 1995, Nikawa 1998, He 2006,) 歯科材料の表面性状との関連を検討した研究はない. また義歯以外の補綴物と口腔カンジダの付着との関連も検討されていない.

2. 研究の目的

本研究の目的はカンジダの歯科材料への付着と除菌について基礎的な検討をおこない, 得られた結果をどのように臨床へ反映させるか考えることである. これまでカンジダが義歯に付着する際に, 常温・加熱重合などの重合様式やレジンの種類が与える影響はすでに報告されているが, われわれの予備的実験 (2008) における SEM 観察で, 同一レジン片でも粗造部にカンジダが多数付着がみられ, レジン種類のみではなく, 表面性状がカンジダに与える影響, 特に粗造性をパラメータとした基礎的研究に重点をおく. 最終的に舌痛を訴える患者の標準的な診断および治療法の確立と口腔カンジダ症を誘発しにくい歯科材料の開発をめざす.

3. 研究の方法

1. カンジダ標準株の歯科補綴物に対する付着, 表面性状との関連の検討

使用済み (廃用) 義歯や, ブリッジ, インプラントを菌液に浸漬し付着部位を検討する

①どのような部位(人工歯, クラスプ, 修理部位, 研磨・非研磨)に, カンジダが付着するか②付着しやすい部位の, 材料性状(レジン, 金属), 表面荒さ (Ra 値), 形態を検討する

2. カンジダ標準株の付着状態とその除菌について「基準試料」作成し検討する補綴物部位, 素材ごとに菌数と付着状態の関連と除菌について検討する① レジン種類と表面荒さを変化させた基準試料を用いて菌数と付着状態の関連を検討する② 金属種類と表面荒さを変化させた基準試料を用いて菌

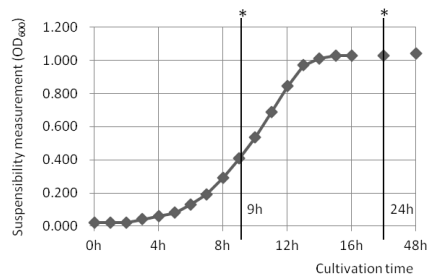
数と付着状態の関連を検討する③基準試料にカンジダを付着させ, 刷掃, 振動, 洗浄薬, 抗菌薬による除菌を検討する

3. 患者からのカンジダ株による歯科材料への付着, 表面性状との関連の検討. 患者口腔内のカルチャースワブと生理食塩水の含嗽液から患者株培養を行う. 特徴的な症例を選び, 1, 2 の成果を併せ臨床応用可能な除菌方法について検討する. ① 患者株カンジダは歯科材料「基準試料」にどのように生着しているか② 基準試料にカンジダを付着させ, 刷掃, 振動, 洗浄薬, 抗菌薬による除菌を検討する③ 基準試料上にどのような加工をすることで除菌ができるかを検討する

4. カンジダの付着を防止する補綴物の形態と表面性の検討これまで1~3. の結果から, 効率的に除菌ができる表面加工や理想的な補綴物 (義歯, インプラント, ブリッジ) の加工基準を設定する. ①治療に効果的な部位, もしくは全体にコーティング (塗布型レジン等) ②長期間効果が維持できる素材やその加工方法③効果的な補綴物 (再) 作成方法, について検討する

4. 研究成果

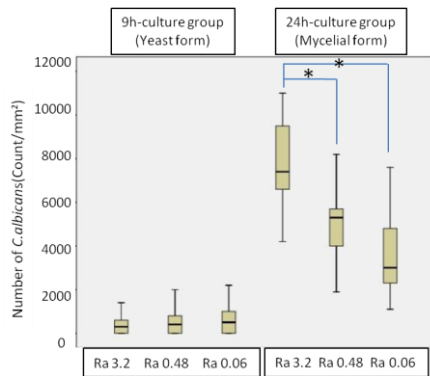
C. albicans の増殖は, BHI 液体培地 (*C. albicans* 未播種) をコントロールとして, 菌液の濁度の分光光度計 OD600 (Mini Poto 5, 東京硝子器械株(株), 東京)で測定した. 濁度は培養開始後 16 時間までは 1 時間ごとに測定し, その後は 24 時間と 48 時間を測定した. 増殖曲線はこれらの濁度測定結果を基に作成した.



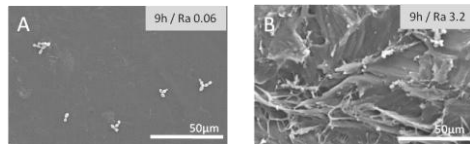
この増殖曲線をもとに, 対数増殖期 (9 時間) と安定期 (24 時間) の菌液を選んだ.

1) 菌糸型群, 酵母型群における Ra3.2 群, Ra0.48, Ra 群, 0.06 群の単位面積 (mm²) あたりの平均 *C. albicans* の平均付着数 (撮影領域 5 箇所 (#1~5)) は, 酵母型群で 440~624 個/mm² の範囲にあり, 菌糸型群で 3576~7872 個/mm² の範囲であった. 酵母型群では各 Ra 群間で有意な差が見られず, 菌糸型群では,

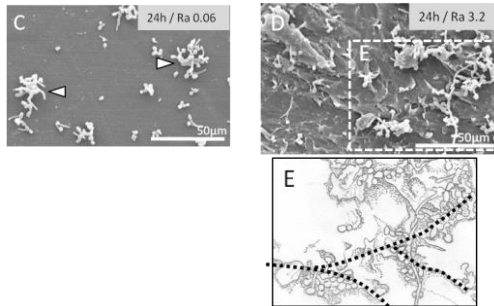
Ra0.48 群あるいは Ra0.06 群と比較して、Ra3.2 群の *C. albicans* 付着数は有意 ($p>0.01$) に大きかった。



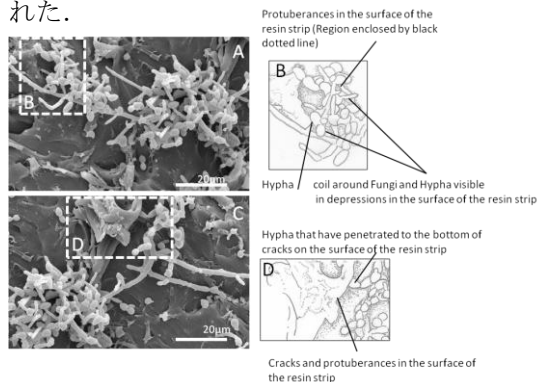
2) SEM 弱拡大の観察から、酵母型群は Ra0.06 群では数個の菌体が菌塊を形成し散在していた (Fig. 4), Ra3.2 群でも菌塊は局在せず散在していた (Fig. B).



菌糸型群では Ra0.06 群で立体的に絡みあう菌塊 (白矢頭) が見られた (Fig. C). Ra3.2 群の菌糸型群では立体的に絡みあう大きな菌塊がレジン床表面の突起部や亀裂部に局在していた (Fig. D, E).



さらに Ra3.2 群の菌糸型群の強拡大像では、レジン片表面の窪み (破線) 内部に絡みつく菌塊が見られ、さらに菌糸をのばす様子が (Fig. A, B) 観察された。レジン床の大きな亀裂面の下部では、亀裂下部 (破線) に菌体増殖する菌体が入り込んだ像 (Fig. C, D) も観察された。



レジン床の Ra の増加と *C. albicans* のレジン床表面への付着数増加に関連について異なる結果が報告されている。なぜ異なる結果が得られたのか考察する過程で 1) 各実験に供された Ra の範囲、2) 検定に用いたのは菌糸型か酵母型かの検討をおこなった。

1) 各実験に供された Ra の範囲について、Radford ら 8) はレジン床の表面粗さと *C. albicans* の関連を、義歯用加熱重合型アクリックレジン (Trevalon 等) を用いて、表面粗さ Ra2.5 μm のレジン床は Ra1.6 μm のレジン床と比較して *C. albicans* 付着数が 2.5 倍であったと報告している。我々が検討した菌糸型群と比較すると Ra3.2 群は Ra0.06 群と比較して *C. albicans* 付着数は 2.2 倍 (3576 ~ /7872 個/mm²) であり、Ra が大きいほど *C. albicans* 付着が多い傾向は同様である。しかし、Bürgers9) らは (Ra0.04 ~ 0.23 μm) レジン床表面 Ra と *C. albicans* 付着に相関が無いと結論づけている。これら Ra の範囲は、我々の検討した Ra0.06 群に近い範囲のみの計測であることから、付着数の多い Ra3.2 群付近の検討が考慮されないため、付着の増加が観察できなかつたと考えた。

2) 付着実験に用いた *C. albicans* の形態について。Radford8) らは 18~20 時間培養の *C. albicans* 菌液を用いており、我々の培養条件から考察すると、菌糸型 *C. albicans* 付着を計測した可能性が高く、我々の結果と同様に Ra が増加すると付着数が増加するという結果が得られたと考えられる。従来の報告では培養時間の報告の記録のみで菌形態を確認していないものが多く、菌糸型、酵母型、その混在を観察しているか不明である。我々の結果から酵母型では Ra が増加しても付着数が変化しなかつた。

本研究の結果、菌糸型 *C. albicans* が Ra3.2 群で優位に付着数が増加する理由として、SEM 観察の結果から、酵母型群では発芽により立体的に絡みあう大きな菌塊を形成するため、レジン表面へ付着する面積が増大する。さらに、Ra3.2 群レジンプレート表面ではレジン片の亀裂部や突起部に発芽した菌糸が複雑に入りこみ、菌糸が絡みつくレジン表面の突起部を獲得し、付着しやすくなることが示唆された。

C. albicans のレジン床表面への付着は、菌糸型である場合は表面粗さ Ra の増加に伴い付着数が増加し、酵母型である場合は表面粗さの影響は認められなかつた。SEM 観察により、菌糸型ではレジン床の粗造面の微細な突起部に菌糸が入り込むことによって付着数が増加すると考えられた。本研究成果は病因となる *C. albicans* が菌糸型に変化を制御することにより、口腔内におけるカンジダ関連病変を効率的に抑止する治療方法に結びつくことを示した。すなわち慢性的にカンジダ

関連に悩まされる患者は、既存のカンジダ除去治療を受けたのちに、9-12時間間隔で口腔内清掃をおこなうことで口腔内残留のカンジダほぼ全ての問題を改善できる可能性がある。この発見は、慢性化したカンジダ関連疾患患者が、既存の薬物療法や物理的な対処（義歯の再製）のみならず、患者自身で疾病を制御できる道筋を見いだすものである。

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2件）

1. *Candida albicans* のレジン床表面付着に表面粗さと培養時間が及ぼす影響：馬谷原光織，片岡竜太，有本隆文，玉置幸道，山口暢章，渡辺友希，山崎善純，五十嵐武，宮崎隆：日本口腔科学会（2010.6）

2. 義歯床用レジンへのカンジダ菌付着に対する表面性状の影響：山口暢章，馬谷原光織，片岡竜太，玉置幸道，宮崎隆：日本歯科理工学会（2009.10）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕 特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬谷原 光織 (MAYAHARA MITSUORI)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：30384184