

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462930

研究課題名(和文) プロテインビーズを含有した治癒促進効果を持つティッシュコンディショナーの開発

研究課題名(英文) Development of the tissue conditioner with the healing promotion effect that contained protein beads

研究代表者

黒木 唯文 (KUROGI, Tadafumi)

長崎大学・病院(歯学系)・助教

研究者番号：70404225

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：研究当初より、プロテインビーズの入手が困難となり、新たな治癒促進効果を持つ素材の検討を余儀なくされた。結果、治癒促進効果を持つ材料の発見には至らなかった。市販ティッシュコンディショナーに関する基礎的データの収集の結果、市販ティッシュコンディショナーは種類によって、細胞毒性が異なる結果を得た。既存の市販ティッシュコンディショナーは、まだまだ改良の余地が存在する。本研究期間に、臨床研究の構築を行い、新規開発材料の臨床応用のための臨床研究の基礎を築くことができた。今後も、本研究を継続し、新しいティッシュコンディショナーの開発を行っていく予定である。

研究成果の概要(英文)：The acquisition of protein beads became more difficult at first, and a study was forced to examination of the material with a new healing promotion effect. It did not lead to the discovery of materials with a result, a healing promotion effect. As a result of collection of basic data about the commercial tissue conditioner, the commercial tissue conditioner got the result that varied in cytotoxicity by a kind. As for an existing commercial tissue conditioner has the forecast of improvement still more. For current study period, I built the clinical study and was able to build the basics of clinical study for clinical applications of new development materials. I continue this study and am going to develop a new tissue conditioner in future.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：有床義歯補綴学 ティッシュコンディショナー 創傷治癒促進

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎えた現在、高齢者の増加に伴い義歯使用患者の増加も予想される。義歯使用患者の中には、義歯の不適合により床下粘膜に褥瘡性潰瘍を形成することがある。その際、歯科医師は、義歯床内面に暫間的にティッシュコンディショナーをリラインして粘膜調整を行う。これまで、国内国外において、ティッシュコンディショナーの開発や理工学的性質および機能的効果に関する研究は数多く存在する。また、現在市販材料の中には抗菌剤を含有した製品も存在する。しかしながら、治癒促進物質（成長因子）の徐放性を有するティッシュコンディショナーは開発されていない。私自身、平成21年度、平成24年度科学技術研究補助金により、創傷治癒促進物質を徐放する粘膜調整材の開発を行ってきた。しかしながら、未だ新しいティッシュコンディショナーの開発には至っていない。

## 2. 研究の目的

治癒促進物質に関して、体内における様々な成長因子の影響が創傷治癒の舞台において有効な物質であることは分子生物学の分野では発見されている。それら成長因子は、プロテインビーズとして固定化された製品が存在する。一方、臨床の現場では、ティッシュコンディショナーを長期使用する患者の義歯を目の当たりにし、それら義歯は、材料の劣化も著しく、多くのプラークが付着した汚染された義歯となっている。これら、ティッシュコンディショナーの欠点とされてきた成分の溶出を利用して、創傷治癒を促進する薬効が期待できる成分を徐放することができたら、義歯によって潰瘍を生じ、痛みを悩む患者の救いとなると考えた。そこで本研究は、構成成分に抗菌性を有する物質を含有して、プロテインビーズによる創傷治癒促

進サイトカインを徐放する新しいティッシュコンディショナーの開発を目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) 試作ティッシュコンディショナー（プロテインビーズ含有）の細胞に与える影響の検討：試験材料として4種類の市販ティッシュコンディショナー製品A,B,C,Dと製品Bに関しては付属のコーティング剤を塗布したものの5種類を用いた。各試料はメーカー指示に従い混和の際、プロテインビーズ含有製剤（フィブラストスプレー）液を混和した後、直径6.0 mm、高さ2.0 mmの円柱状に成型した。ヒト歯肉線維芽細胞は、24穴プレートに1.0 mlの10%ウシ胎児血清（FBS, HyClone Laboratories）を含有したDulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, SIGMA)中に20000個播種し、48時間培養した。準備された各試料をポアサイズ8.0 μmのポリエチレンテレフタレート（PET）メンブレンを有するセルカルチャーインサートの中に入れ、培養液中へ浸漬した。（図1）浸漬後さらに24時間培養後、Cell Counting Kit-8（同仁化学研究所）を用いて細胞生存率をWST法にて検討した。

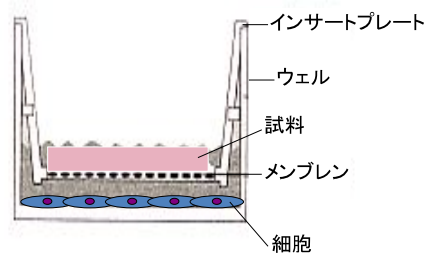


図1 セルカルチャーインサート使用法

(2) 市販ティッシュコンディショナーのアルコール溶出量の検討：市販ティッシュコンディショナー製品A,B,C,D,Eの5種類を用いた。各試料はメーカー指示に従い混和後、重量1.0 mgに成型した。各試料を褐色ビン中

に蒸留水 100ml、37 で浸漬し、24 時間ごとに新たな蒸留水 100ml の入った褐色ビンに移し、24 時間後、3 日後にそれぞれ、褐色ビンより試料を取り出し、ヘキサン 5 ml を加え、十分に震盪を加え、10 分間静置した後、上澄み液を採取し、ガスクロマトグラフィー (GCMS-QP5050A 島津製作所) を用いてアルコール溶出量の定量を行った。

(3) 市販軟質リライン材が細胞に与える影響の検討 (細胞毒性試験の再検討のため行った): 試験材料として 4 種類の市販軟質リライン材、製品 A, B, C, D と製品 B に関しては付属のコーティング剤を塗布したものの 5 種類を用いた。各試料はメーカー指示に従い混和した後、直径 6.0 mm、高さ 2.0 mm の円柱状に成型した。ヒト歯肉線維芽細胞は、24 穴プレートに 1.0 ml の 10 %ウシ胎児血清 (FBS, Hy Clone Laboratories) を含有した Dulbecco 's modified Eagle 's medium (DMEM, SIGMA) 中に 20000 個播種し、48 時間培養した。準備された各試料をポアサイズ 8.0 μm のポリエチレンテレフタレート (PET) メンブレンを有するセルカルチャーインサートの中に入れ、培養液中へ浸漬した。(図 1) 浸漬後さらに 24 時間培養後、Cell Counting Kit-8 (同仁化学研究所) を用いて細胞生存率を WST 法にて検討した。

(4) 臨床研究 (新規開発材料を臨床研究に用いるための基礎) 研究計画書の作製から、患者説明書、同意書、その他書類作り、倫理委員会への提出。承認を受ける。承認後から実施。

#### 4. 研究成果

(1) 試作ティッシュコンディショナーの細胞に与える影響の検討に関して、公表できるような結果を得ていない。研究開始当初に、プロテインビーズの生産販

売の中止という事態により、新しい構成成分の発見に至らなかった。

(2) 市販ティッシュコンディショナーのアルコール溶出量は、製品により溶出量は異なっていた。溶出量は異なっていたものの、溶出時間は類似した傾向で、浸漬 24 時間でほとんどのアルコールが溶出していた。製品 A のみ 2, 3 日後に溶出量が増える傾向を示した (図 2)。過去報告済み。

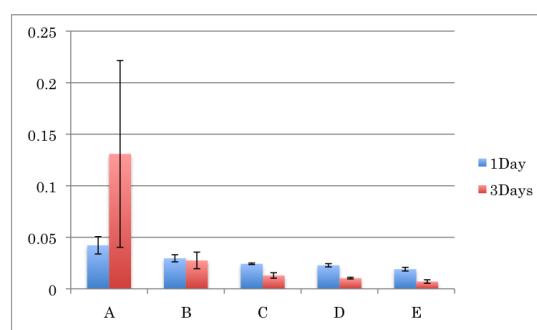


図 2 アルコール溶出量

(3) 市販軟質リライン材が細胞に与える影響は、リライン材のタイプ、重合様式、構成成分の違いにより、細胞毒性に違いがあることを確認した (図 3)。本研究で用いた細胞毒性試験に関して妥当性が確認された。

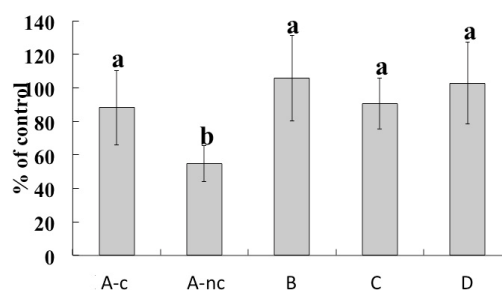


図 3 市販軟質リライン材の細胞毒性

(4) 臨床研究に関して 3 種類の異なった研究に参画した。長崎大学病院倫理委員会で承認を受け、実施した。今後新規材料の臨床応用に関する臨床研究の計画、実施に役立つものとする。

## まとめ

本研究の肝である、プロテインビーズが序盤で生産、販売中止の事態に陥り、試作ティッシュコンディショナーの製作に困難を要した。治癒促進物質は、成長因子である FGF しかないと考えていたが、ティッシュコンディショナーへの含有方法が発見できずに終了となった。抗菌物質として、植物から生成されるティートゥリーオイルに着眼し、抗菌性に関して有効性は確認済みである。

今回の研究期間に当初の仮説は実現不可能となった。しかしながら、臨床研究の分野を経験したことで、今後、新規材料の開発における臨床応用に近づいたことは間違いのない。今後も、新規ティッシュコンディショナーの開発を継続する予定である。

## 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 3 件)

Kimoto S, Kawai Y, Gunji A, Kondo H, et al. (32 人中 26 番目) Study protocol for a multi-center, randomized controlled trial to develop Japanese denture adhesive guidelines for patients with complete dentures: the Denture Adhesive Guideline trial: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 17: 506, 2016. DOI 10.1186/s13063-016-1612-x 査読有

Takase K, Watanabe I, Kurogi T, Murata H. Evaluation of glass transition temperature and dynamic mechanical properties of autopolymerized hard B11direct denture reline resins. *Dent Mater J* 34, 211-218, 2015. 査読有

Okuyama Y, Shiraishi T, Yoshida K, Kurogi T, Watanabe I, Murata H. Influence of composition and powder/liquid ratio on setting characteristics and mechanical properties of autopolymerized hard direct denture reline resins based on methyl methacrylate and ethylene glycol dimethacrylate. *Dental Materials Journal* 33 (4), 522-529, 2014. 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

黒木唯文, 吉田和弘, 田中利佳, 稲光宏之, 小関優作, 児玉浩太, 村田比呂司: 歯科用金属アレルギー患者の実態—過去 30 年間に長崎大学病院歯科材料アレルギー外来を受診した患者データの解析—. 第 23 回日本歯科医学会総会, 2016.10.21,22 福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

山田真緒, 高瀬一馬, 黒木唯文, 三海正人, 村田比呂司: 積層培養したヒト線維芽細胞およびヒト表皮角化細胞に及ぼす義歯安定剤の影響. 第 125 回日本補綴歯科学会学術大会, 2016.7.9 石川県立音楽堂(石川県・金沢市)

江越貴文, 林 太郎, 黒木唯文, 渡邊郁哉, 村田比呂司: シリコン系軟質リライン材と義歯床用金属との接着強さに対する水中浸漬時間が与える影響. 第 65 回日本歯科理工学会学術講演会, 2015.4.12 仙台市情報・産業プラザ(宮城県・仙台市)

稲光宏之, 高瀬一馬, 黒木唯文, 村田比呂司: HEMA および TEGDMA の破骨細胞分化に及ぼす影響. 第 64 回日本歯科理工学会学術講演会, 2014.10.4. アステールプラザ(広島県・広島市)

江越貴文, 徳田江里, 林 太郎, 黒木唯文, 中村康司, 浪越建男, 渡邊郁哉, 村田比呂司: シリコン系軟質リライン材と義歯床用金属との接着に対する水中浸漬時間による影響. 日本歯科補綴学会九州支部学術大会, 2014.8.24. 福岡県歯科医師会館(福岡県・福岡市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

なし

取得状況(計 0 件)

なし

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒木 唯文 (KUROGI, Tadafumi)

長崎大学・病院(歯学系)・助教

研究者番号：70404225

(2)研究分担者

江越 貴文 (EGOSHI, Takafumi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科 (歯学系)・

助教

研究者番号：70706150