

平成21年5月8日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592201

研究課題名（和文） 口腔ケアのための抗菌物質デリバリーシステムの開発

研究課題名（英文） New bactericide delivery system for oral care

研究代表者

谷本 一郎（TANIMOTO ICHIRO）

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：00280686

研究成果の概要：

口腔内の二大感染症であるう蝕と歯周病を効果的に予防するため、歯面にとどまる殺菌剤と新規担体の組み合わせを開発した。塩化セチルピリジニウム(CPC)とリン酸化プルランの混合物は、リン酸化アパタイト表面に吸着し、う蝕原性細菌・歯周病原細菌に対して抗菌作用を発揮することが明らかになった。新規物質であるリン酸化プルランの安全性をラットの肝臓で確かめ、有害性が少ない物質であることを確認した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：歯周病学・保存修復学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：保存修復学，口腔感染症，口腔ケア，バイオフィルム

1. 研究開始当初の背景

う蝕・歯周病という口腔内感染症は歯を喪失する最たる原因であり、その予防は口腔内だけでなく、全身の健康へも寄与する。しかし、現在の主な予防法は感染源の機械的除去であり、時間と労力の問題から十分な対策が行き

届かないのが現状である。一方、化学的な除去手段である殺菌剤は、歯面に吸着しないため、殺菌効果の持続性がない。そこで、簡易で確実な口腔ケアのために、抗菌剤を効果的に使用するドラッグデリバリーシステムを創製した。担体として天然多糖のプルランにリ

ン酸基を導入したリン酸化プルランを新たに合成した。リン酸化プルランは、歯質に吸着する特性があるうえにマイナス荷電であり、プラス荷電の抗菌剤を引き寄せる性質が期待される。これを担体として、殺菌剤である塩化セチルピリジニウム (CPC) と組み合わせ、歯面に吸着した混合物が効果的な殺菌作用を持つかどうかを明らかにしようとした。

2. 研究の目的

リン酸化プルランとCPCの組み合わせが効果的な抗菌物質デリバリー機能を発揮できるかを確かめるために、以下の項目を調べた。

- (1) う蝕原性細菌、歯周病原細菌に対する抗菌作用
- (2) 生体細胞に対する為害性
- (3) ハイドロキシアパタイトへのこの物質の吸着する挙動

以上の項目を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) リン酸化プルランと塩化セチルピリジニウム (CPC) を各種濃度で組み合わせ、ハイドロキシアパタイト表面に適用し、洗浄後う蝕原因菌もしくは歯周病原菌の菌液に浸漬し、ハイドロキシアパタイト表面の細菌増殖を走査型電子顕微鏡での観察と 16S rRNA の定量で評価した。う蝕原因菌として *Streptococcus mutans* 854S, 歯周病原細菌として *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 を用いた。

(2) リン酸化プルランの安全性の検証

ラットの肝臓に、リン酸化プルラン 0.01%とCPC 0.01%を作用させ、類洞の拡張を指標に組織為害性をしらべた。陰性対照には蒸留水、陽性対照には水酸化カルシウム製剤を用いた。

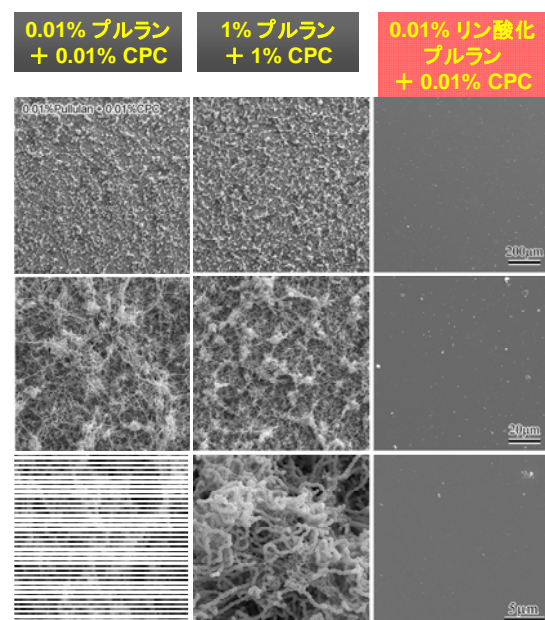
(3) 担体との組み合わせによるアパタイト表面へのCPCの送達ならびにその表面からの

徐放を、水晶発振子マイクロバランス法 (QCM) によって評価した。なお、QCM装置におけるセンサーはアパタイトを用い、ごく微量な質量の変化を測定した。測定は、試料室に蒸留水を1分間 (0-1分) 流した後、試験溶液を3分間 (1-4分) 流し、再び蒸留水を流して洗浄 (4-7分) した。この過程の水晶振動子の振動数変化をもとに、CPCならびに担体とCPCの混合物のアパタイト表面への吸着特性ならびにアパタイト表面からの解離特性を経時的に分析した。

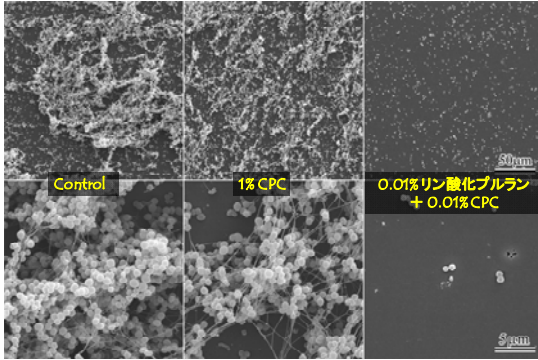
4. 研究成果

(1) リン酸化プルランのみ、CPCのみではハイドロキシアパタイト表面の細菌増殖を抑制できなかったが、0.01%リン酸化プルラン、0.01%CPCの組み合わせで前処理したハイドロキシアパタイトでは *S. mutans*, *A. actinomycetemcomitans* とともに増殖が抑制された。

S. mutansに対する抗菌効果

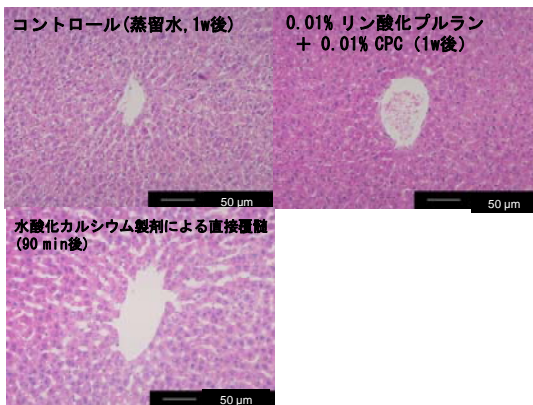


A. actinomycetemcomitans に対する抗菌効果



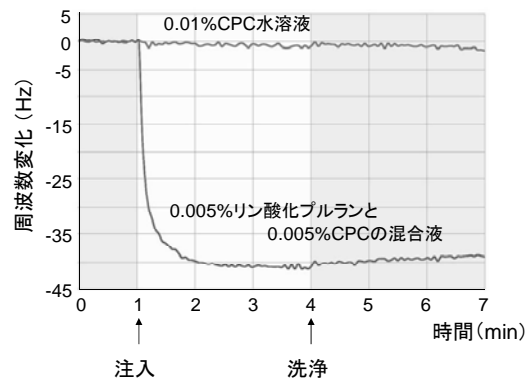
以上の結果から、リン酸化プルランには抗菌性が無いこと、CPC のみでは洗浄により容易にハイドロキシアパタイト表面から拡散してしまい抗菌作用が期待できないことがわかった。リン酸化プルランはCPCをハイドロキシアパタイトへ運ぶ担体としての機能を有しており、CPCを引き寄せたリン酸化プルランがハイドロキシアパタイト表面に滞留することで抗菌効果を発揮していることが示唆された。

(2) リン酸化プルランと CPC は効果的な抗菌作用を発揮するそれぞれ 0.01% の濃度では類洞の拡張を引き起こさず、生体為害性が少ないことがわかった。



(3) アパタイト表面への抗菌物質の吸着・徐放を QCM で調べた結果、CPC 溶液のみではほとんど周波数が変化しなかったのに対し、CPC とリン酸化プルラン溶液では周波数が著

しく低下した。周波数が低下するということは、センサー表面に物質が付着して全体の質量が増加したことを示している。この結果から CPC とリン酸化プルラン溶液は、CPC 溶液のみと比べてハイドロキシアパタイト表面に多量に吸着することが明らかとなった。吸着は溶液注入後、急速に進行し 1 分後には定常状態となっている。定常状態後、再び蒸留水を流した (4-7 分) ところ、周波数が徐々に戻って (増加し) いく傾向が確認できた。



リン酸化プルランの担体効果をみた QCM では、CPC とリン酸化プルランの複合体は、CPC のみと比べてハイドロキシアパタイト表面に多量に吸着することが明らかとなり、洗浄により周波数が徐々に戻ることから、本剤はハイドロキシアパタイト表面から徐々に離脱することが示唆された。周波数の増加は吸着の際の変化にくらべ、ゆるやかであり CPC の放出が緩慢に徐々に起こっていることが判明した。

以上の結果から CPC とリン酸化プルランの組み合わせは、歯面に吸着し持続的に抗菌作用を発揮する理想的なデリバリーシステムとなりうることが示唆された。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計1件)

- ① 難波尚子, 吉田靖弘, 松浦香織, 伊東孝,
前田博史, 新井英雄, 鈴木一臣, 高柴正
悟
抗菌物質デリバリー機能を有したう蝕・
歯周病予防剤の開発
日本歯科保存学会第128回春季学術大会
2008/6/6, 新潟

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷本 一郎 (TANIMOTO ICHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 00280686

(2) 研究分担者

塩見 信行 (SHIOMI NOBUYUKI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 90432632

成石 浩司 (NARUISHI KOJI)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号: 00346446

高柴 正悟 (TAKASHIBA SYOGO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 50226768

前田 博史 (MAEDA HIROSHI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教
授

研究者番号: 00274001

(3) 連携研究者

該当なし