

機関番号：16101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20592271

研究課題名（和文） エリスリトールを用いた新しく安全な義歯洗浄剤の開発

研究課題名（英文） Development of new and safer denture cleanser with Erythritol

研究代表者 柏原 稔也 (KASHIWABARA TOSHIYA)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：90274232

研究成果の概要（和文）：

本研究は、糖アルコールの一種であるエリスリトールと殺菌剤を組み合わせた新しく安全な義歯洗浄剤を検討することであった。カンジダバイオフィームを用いて、エリスリトール入りの殺菌剤の効果を検討したところ、エリスリトール濃度依存的に効果が見られた。エリスリトール配合殺菌剤の生体での効果をPCR法による歯周病関連細菌数によって調査した結果、その差はわずかであったものの、効果が見られた。口腔内のプラークに対してエリスリトールを配合した殺菌剤は効果的であり、有効な義歯洗浄剤になると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of the present study was to develop a new and safer denture cleanser with "Erythritol", one of sugar alcohols for preventing dental caries, periodontal disease, stomatitis and aspiration pneumonia through dental and denture plaque control.

In vitro experiment, candidal biofilm formation and assessment of sterilized effect were established. An *in vitro* *Candida albicans* biofilm was formed on a plastic coverslip coated with type I collagen following two methods and were compared: 1) yeast nitrogen base (YNB) /100 mM glucose medium supplemented with 2.5 mM *N*-acetylglucosamine (GlcNAc); and 2) BHI medium. The former method was employed in this experiment. The quantitative CFU counting in SEM images was employed as the assessment of sterilized effect. The enhancement of the fungicidal effect was evaluated using microbial assay after treating the biofilm with the test solutions (sugar alcohols: erythritol, xylitol, and sorbitol, each containing BTC solution). No fungicidal effect was observed with sugar alcohols without BTC. The fungicidal effect of erythritol-containing BTC increased with the erythritol concentration. Further, the level of enhancement of erythritol was the highest in three sugar alcohols. Sugar alcohols, especially erythritol, enhanced the fungicidal effect of sterilized agents toward *in vitro* candidal biofilms. *In vivo* experiment, the sterilized effect of the solution with and without erythritol on the sterilization of periodontal pocket was evaluated by Randomized Control Trials and PCR test. The sterilized effect of the solution with erythritol was somewhat higher.

The sterilized solution with sugar alcohols, especially erythritol would be a safe and effective denture cleanser.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：エリスリトール 糖アルコール カンジダ 義歯洗浄剤

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の到来に伴い、高齢者の口腔粘膜疾患が増加しており、その中でも口腔カンジダ症の増加が注目されている。義歯床下はカンジダの増殖に適した場所といわれ、デンチャープラークの中には多くのカンジダが検出される。一方、介護保険制度の導入により、高齢者の口腔ケアにおける関心も高まっており、その予防・治療対策の重要性は一段と増している。さらに、臓器移植、免疫抑制能を有するウイルス感染の増加等の環境下での真菌感染症は年々増加しており、真菌の中でも、カンジダによる感染が最も多いと報告されている。表在性真菌症はそれほど問題にならない場合が多いと考えられているものの、深在性のカンジダ症は重篤になる場合もあり、白血病やAIDSの直接的な死因にはカンジダ感染症があげられている。また、カンジダは病原性の強い細菌のリザーバーとなり、誤嚥性肺炎に影響を与えることも指摘されている。このような口腔のカンジダをはじめとする微生物を制御するためには、義歯をはじめとする医用、歯科用材料（メディカル・デンタルデバイス）への付着抑制と適切な含嗽、薬剤塗布が考えられる。

糖アルコールの一種である「エリスリトール」は、最近になって、微生物の集合体（バイオフィーム）に容易に浸透し、この集合体を破壊する効果が示された。エリスリトールは、キシリトールなどと同様、糖アルコールに分類され、果実、キノコ、ワイン、醤油、味噌などの発酵食品に含まれる天然の糖質であり、ぶどう糖を原料としたぶどう糖発酵甘味料でもある。性質としては、味質の改善、冷涼感が高い、非う触性、糖代謝に影響を与えない、カロリーゼロ、高い安全性などの特徴を備えている。このエリスリトールに注目した歯磨剤、洗口剤が考案され、我々はその開発の一翼を担った。その研究過程のなかで、我々はこのエリスリトールがカンジダバイオフィームにも浸透し、殺菌剤の効果を高めることを発見した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、メディカル・デンタルデバイス洗浄法および誤嚥性肺炎予防のための義歯、口腔、支台歯への微生物付着（とくにカンジダ）制御法を開発することを目的として、糖アルコールの一種である「エリスリトール」と殺菌剤を組み合わせた新しく安全な義歯洗浄剤を開発することである。また、我々が長年注目してきた強電解水（機能水）

との効果の比較、機能水の使用法の改善、UV-LEDの効果との比較もあわせて検討した。

3. 研究の方法

*in vitro*の研究と臨床研究の2つの面から検討した。

*in vitro*の研究：

使用した被験溶液は以下の通りである。

Code	Contents
Ery20B	Erythritol 20% BTC 0.01%
Ery10B	Erythritol 10% BTC 0.01%
Ery05B	Erythritol 5% BTC 0.01%
Ery20N	Erythritol 20%
Ery10N	Erythritol 10%
Ery05N	Erythritol 5%
Xry20B	Xylitol 20% BTC 0.01%
Xry20N	Xylitol 20%
Sor20B	Sorbitol 20% BTC 0.01%
Sor20N	Sorbitol 20%
BTC	BTC 0.01%
DW	Distilled water
DC	Commercial denture cleanser

効果を見るための *Candida albicans* のバイオフィーム作製法は図1に示す通りである。予備実験では、酵母主体カンジダバイオフィーム作成のためにBHI培地+タイプIコラーゲン celldesk を、菌糸主体カンジダバイオフィーム作成のためのYBNP培地+10%FBS+タイプIコラーゲン celldesk とを比較し、最終的にYBNP培地+10%FBSによる培養法を採用した。

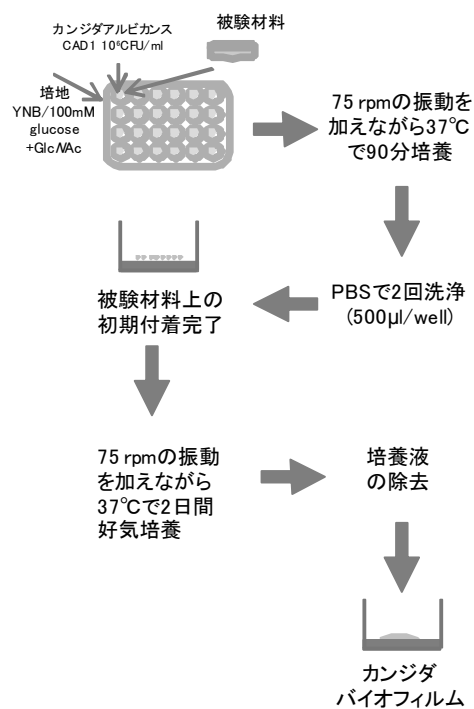


図1 カンジダアルビカンスのバイオフィルムの形成

効果判定法は、スパイラルプレート法およびSEMによる定量的殺菌効果判定法を比較し、SEMによる殺菌効果判定法を確立した。

臨床研究

炎症を起こしている歯について、洗浄前と被験洗浄液 (Ery20B と Ery20N) の洗浄後の歯肉溝内細菌数を定量的PCR法で検討した。患者選択、サンプリングはRCTに準じておこない、検査した細菌は、総細菌数と以下の6種類である。

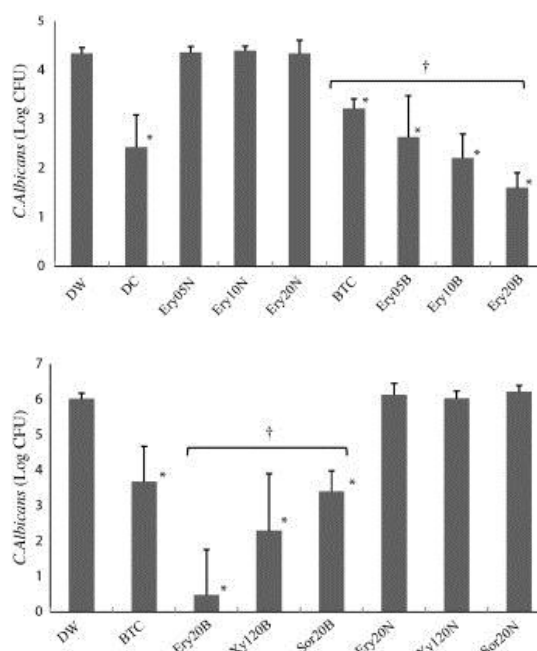
- A. actinomycetemcomitan*
- P. intermedia*
- P. gingivalis*
- T. forsythen (B. forsythus)*
- T. denticola*
- F. nucleatum*

本研究は徳島大学病院倫理審査委員会の承認を受けた後に、患者のインフォームドコンセントを得たのちに実施した。

4. 研究成果

in vitroの研究:

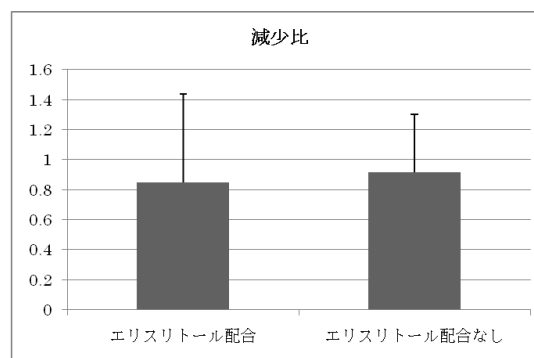
カンジダバイオフィルムに対して、以下のような結果が得られた。



塩化セチルピリジニウム (CPC), トリクロサン (TC) においても、塩化ベンゼトニウム (BTC) と同様なエリスリトールの増強効果が認められた。

in vivoの研究

歯周ポケットをエリトール配合洗浄液と配合していない洗浄液を比べた結果はわずかながらエリトール配合洗浄液の方が総細菌で減少する傾向が見られたものの、総細菌数および6種類の細菌数に有意な差は認められなかった。



さらには、エリスリトール配合殺菌剤だけでなく、紫外線発光ダイオード (UV-LED) のカンジダバイオフィルムへの殺菌効果も検討した。UV-LEDは低コスト、エネルギー効率、長寿命、発光の制御の容易さ、水銀廃棄物の問題などにおいて多くの利点があり、今後ますます消毒の分野に利用されることが考えられる。UV-LED照射の消毒効果を増強する目的で、パルス照射の効果をカンジダと大腸菌のバイオフィルムを用いて評価した。その結

果、UV-LED の照射の効果は、時間依存的におよび強度依存的に増強された。パルス周波数の影響は、100 Hz 付近で極大を示す特性を示した。マンニトール処理の影響も見られ、UV-LED の効果が活性酸素種を介することも示された。また、免疫蛍光染色から UV-LED 照射によって真菌内の一酸化窒素が増加し、バイオフィーム内の真菌死に関係していることも示された。

機能水の効果についても同様な材料と方法で検討するとともに、犠牲腐食法によって機能水による義歯に使用している金属の腐食を防止する方法も考案した。

エリスリトールは、バイオフィームを分散する効果があり、これを配合した殺菌剤は義歯洗剤は効果的であることが示された。あわせて、新しく安全な義歯洗剤方法として、機能水および UV-LED も有効であることが示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Kashiwabara T, Goto T, Sato Y, Tomotake Y, Nagao K, Ichikawa T. A new method to prevent the corrosion of dental metals, during disinfection using functional water: sacrificial protection. J Prosthodont Res. 2010; 54: 147-9.
2. Li J, Hirota K, Yumoto H, Matsuo T, Miyake Y, Ichikawa T. Enhanced germicidal effects of pulsed UV-LED irradiation on biofilms. J Appl Microbiol. 2010;109(6):2183-90.
3. Ichikawa T, Yano Y, Fujita Y, Kashiwabara T, Nagao K. The enhancement effect of three sugar alcohols on the fungicidal effect of benzethonium chloride toward *Candida albicans*. J Dent. 2008;36(11):965-8.
4. 矢納義高, 三宅洋一郎, 市川哲雄. オーラルケアにおけるエリスリトールの有用性. フレグランスジャーナル 2008/6 月号 No. 335 (vol. 36/No. 6)

[学会発表] (計 3 件)

1. 設楽純子, 大熊桂子, 矢納義高, 本釜聖子, 永尾 寛, 市川哲雄. 殺菌剤配合洗口液が口腔衛生状態に与える影響について. 第 59 回 日本口腔衛生学会 2010.10
2. 柏原稔也, 市川哲雄. 犠牲防錆による機能水の効果の減弱について. 日本口腔機能水学会 (2010.03)
3. 柏原稔也, 市川哲雄. 機能水による Methylmercaptan の分解能について. 日本口腔機能水学会 (2009.03)

4. 柏原稔也, 市川哲雄. 犠牲防錆を用いた機能水による歯科用金属の腐食予防. 日本口腔機能水学会 (2008.03)

[図書] (計 1 件)

1. 矢納義高, 市川哲雄. 糖アルコールを用いたバイオフィーム除去の新しい可能性. 新規素材探索 —医薬品リード化合物・食品素材を求めて— 編集 上村大輔 2008.9 シーエムシー出版

2.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: カンジダバイオフィーム除去剤

発明者: 市川 哲雄、矢納 義高

権利者: 徳島大学、花王

番号: 特願 2007-153007

出願年月日: 平成 19 年 6 月 8 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏原 稔也 (KASHIWABARA TOSHIYA)

徳島大学・病院・助教

研究者番号: 90274232

(2) 研究分担者

市川 哲雄 (ICHIKAWA TETSUO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス

研究部・教授

研究者番号: 90193432

(H20→H21: 連携研究者)

本釜 聖子 (HONGAMA SEIKO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス

研究部・助教

研究者番号: 60380078

(H20→H21: 連携研究者)

(3) 連携研究者

三宅 洋一郎 (MIYAKE YOICHIRO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス

研究部・教授

研究者番号: 80136093