

機関番号：30110

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791860

研究課題名（和文）ホタテ貝殻の歯科材料への再利用

研究課題名（英文）Reuse of dental materials by scallop shells.

研究代表者 泉川 昌宣（IZUMIKAWA MASANOBU）

北海道医療大学・歯学部・助教

研究者番号：30433428

研究成果の概要（和文）：ホタテ貝殻の歯科材料への応用を目的として、難治性根尖性歯周炎の原因菌である *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* の培養菌液にホタテ貝およびホッキ貝焼成貝殻粉末を添加したところ、ホタテ貝焼成粉末での強い殺菌効果が得られた。

研究成果の概要（英文）：we investigated the sterilizing effect of fired scallop shells and Surf clam on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*, bacteria that cause intractable apical periodontitis, with the intention of incorporating scallop shells into dental materials for their antibacterial effect. Strong bactericidal effect was obtained fired scallop powder.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000円	300,000円	1,300,000円
2010年度	900,000円	270,000円	1,170,000円
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000円	570,000円	2,470,000円

研究分野：歯学

科研費の分科・細目：歯内

キーワード：ホタテ 焼成カルシウム 抗菌性 廃棄物 北海道

1. 研究開始当初の背景

北海道の特産品であるホタテ貝やホッキ貝等の貝類は、食品として供給された後で貝殻が大量に廃品として残り、それらは産業廃棄物として扱われる。

これまで、年間20万トン以上の貝殻が適正に処理されずに堆積され、その廃棄物量は年々増加傾向にある。また、沿岸の漁場では、海底への有機物堆積に起因するとみられる硫化物発生

や低酸素化により海中の環境が悪化するなどの海洋環境問題が深刻化している。近年、貝殻の処理にかかる経費節減のために、貝殻の再利用がさまざまな分野において積極的に試みられている。焼成貝殻は建築分野においてホルムアルデヒドの吸着作用を利用して建材や塗料に応用されつつある。また、大腸菌やMRSA等に対する抗菌性を有することから食品の消毒にも利用が試みられている。さらには形成外科分野に

においても 700℃で焼成された貝殻の粉末を用いた骨セメントへの応用に関する研究が行われている。

2. 研究の目的

今回われわれは、ホタテ貝殻の歯科材料への応用を目的として、難治性根尖性歯周炎の原因菌である *Enterococcus faecalis* および *Candida albicans* に対するホタテ焼成貝殻の殺菌効果について検討をおこなった。

3. 研究の方法

(1)焼成貝殻粉末の調製

ホタテ貝およびホッキ貝を 1200℃、1 時間焼成後に粉碎し、75 μm 試験篩にて篩分けをおこなったものを実験に供した。

(2)焼成貝殻溶液の分析

各焼成貝殻粉末を 0.1%の割合で生理食塩水に混和しホタテ貝溶液およびホッキ貝溶液とした。対照として 0.1%水酸化カルシウム溶液 (Ca(OH)₂ 溶液)および生理食塩水を用いた。各溶液の pH は、pH/ION METER (Horiba) にて測定した。また、カルシウム C テスト(Wako)を用いて各溶液中のカルシウム濃度の測定をおこなった。

(3)焼成貝殻溶液の殺菌効果

① *E. faecalis* および *C. albicans* を BHI 液体培地中にて 37℃好氣的条件下で震盪培養したものを菌液として使用した。各溶液および菌液を 9:1 の割合で混和し、37℃、好氣的条件下で 10, 20, 30 分間培養をおこなった。培養後、菌を遠心分離により回収し、BHI 寒天培地に播種した。24 時間後にコロニー数を計測し、コントロール群 (生理食塩水) を 100%として比較検討した。

② 高圧蒸気滅菌を行った BHI 寒天培地を 45℃まで冷却し、0.2(w/v)~1.6%の濃度にホタテおよびホッキ貝殻粉末、水酸化カルシウムを懸濁した平板培地を作成した。100,000 倍希釈した *E. faecalis* 菌液を 100 μl 播種し、37℃、18 時間

好氣条件化にて培養し、菌の増殖の有無を観察した。

③ホタテおよびホッキ貝殻粉末を 5(w/v)%で滅菌整理食塩水中に懸濁し、pH7.4 に調製した。各懸濁液および菌液を 9:1 の割合で混和し、37℃、好氣的条件下で 30 分~72 時間振盪培養をおこなった。培養後、回収し、BHI 寒天培地に播種した。24 時間後にコロニー数を計測し、コントロール群 (生理食塩水) を 100%として比較検討した。

4. 研究成果

(2)焼成貝殻溶液の分析

各焼成貝殻溶液中の pH は 12~13 で Ca(OH)₂ 溶液と違いはなかった。また、カルシウム濃度はホタテ貝溶液 11.2 μg/ml、ホッキ貝溶液 11.3 μg/ml、Ca(OH)₂ 溶液 8.9 μg/ml であった。

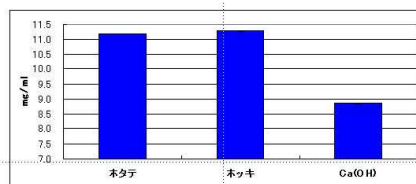


図1. Ca 濃度測定 n=3

	平均値
ホタテ	12.81
ホッキ	12.87
Ca(OH) ₂	12.84

表1. pH 測定

(3)焼成貝殻溶液の殺菌効果

①ホタテ貝溶液、ホッキ貝溶液および Ca(OH)₂ 溶液を *E. faecalis* 菌液と 20 分間培養後の残存菌数はそれぞれ 12%, 76%, 85%で、ホタテ貝溶液は他の群に比べて有意に殺菌効果が高かった (Tukey's multiple comparison test, p<0.05)。しかし、*C. albicans* に対しては各群間で有意差はみられなかった。

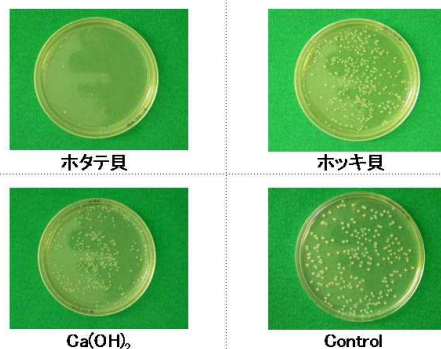
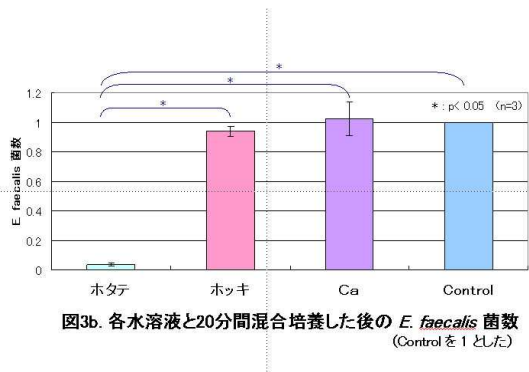


図3a 各水溶液と *E. faecalis* を20分間混合培養した結果の代表例



②ホタテおよびホッキ貝殻粉末、水酸化カルシウム0~0.4%添加群では *E. faecalis* の発育阻止が認められなかった。0.8%添加群ではホタテ貝殻粉末添加の60%、ホッキ貝殻粉末添加の20%に *E. faecalis* の発育阻止が認められた。1.6%添加群ではすべての群で発育阻止が認められた。

寒天培地希釈法

濃度 (%)	菌増殖の有無 (n=5)
ホタテ	
0%	+++++
0.2%	+++++
0.4%	+++++
0.8%	++
1.6%	---
ホッキ	
0%	+++++
0.2%	+++++
0.4%	+++++
0.8%	++
1.6%	---

+ : 増殖あり
- : 増殖なし

③pH7.4 に調節した懸濁液での培養では、コントロール群と比較して菌の発育抑制が認められた。

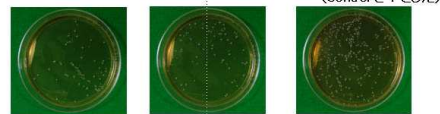
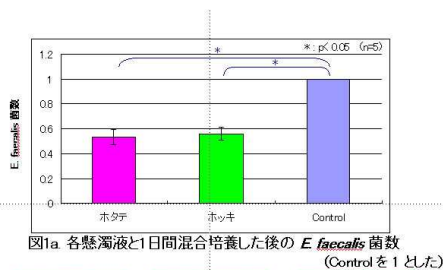


図1b. 各懸濁液と *E. faecalis* を1日間混合培養した結果の代表例

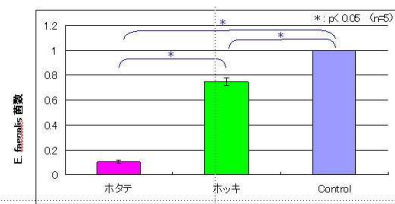


図2a. 各懸濁液と2日間混合培養した後の *E. faecalis* 菌数 (Controlを1とした)

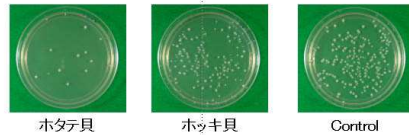


図2b. 各懸濁液と *E. faecalis* を2日間混合培養した結果の代表例

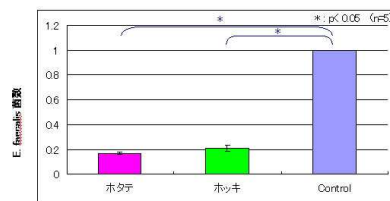


図3a. 各懸濁液と3日間混合培養した後の *E. faecalis* 菌数 (Controlを1とした)

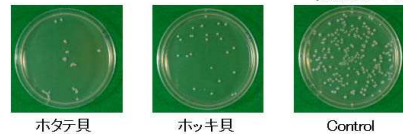


図3b. 各懸濁液と *E. faecalis* を3日間混合培養した結果の代表例

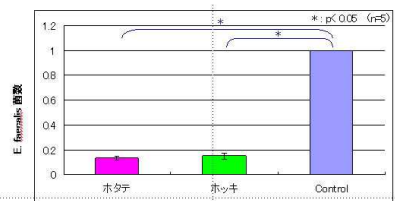


図4a. 各懸濁液と4日間混合培養した後の *E. faecalis* 菌数 (Controlを1とした)

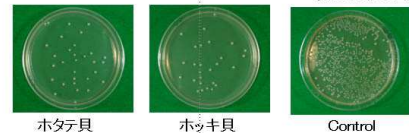


図4b. 各懸濁液と *E. faecalis* を4日間混合培養した結果の代表例

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 1 件）

泉川昌宣 ホタテ貝殻の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌作用について 日本歯科保存学会 2010 年度春季学術大会（第 132 回） 2010 年 6 月 4 日 熊本市国際交流会館

6. 研究組織

(1) 研究代表者

泉川 昌宣 (IZUMIKAWA MASANOBU)

研究者番号：30433428

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：