

令和 6 年 6 月 15 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K17123

研究課題名（和文）分散型ナノ材料を利用した新規抗菌性義歯の創製

研究課題名（英文）Creation of novel antibacterial dentures using dispersed nanomaterials

研究代表者

田代 悠一郎（Tashiro, Yuichiro）

大阪歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：50823514

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本申請研究では、TNTを利用することで細菌付着を抑制し、義歯の機械的性質を劣化させない新規義歯用材料を開発することで、高齢者の患者においても口腔内の清掃状態を管理し、患者のQOLを維持できる補綴材料の提供を目指す。PMMAに導入されたTNTにより義歯床用レジンに抗菌性が付与され、しかも義歯床用材料として性質が損なわれないことも示唆された。今後、TNTを分散させる手法が必要になると推察される。この成果を応用することで更なる新たな抗菌性歯科材料の開発が可能となり、今後ますます進む高齢社会において、義歯使用患者のQOLの向上に寄与することが可能であると期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TNTは、チタンを主要材料としているインプラント治療において研究が進んでおり、国内・海外にて多く行われている。しかし、チタニアナノチューブを義歯材料に応用している研究は少ない。国内外において、医療技術の発達から高齢者は増加傾向にあり、それに伴い義歯装着者は増加しているため、義歯に関する研究は今後重要視されるようになると思われる。今まで、既存のアクリルレジン内に含まれる粒子の大きさ等の改善は行われてきているが、義歯材料自体に他材料を追加して、義歯材料の欠点を改善することは従来の材料を継続的に使用している歯科界において新たな改革であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study aims to develop a new denture base material that can be used to maintain the quality of life of elderly patients by controlling the adhesion of bacteria and not deteriorating the mechanical properties of the denture. The results suggest that the TNTs introduced into PMMA impart antibacterial properties to denture base resin and that its properties as a denture base material are not impaired. In the future, a method for dispersing TNTs will be necessary. The application of these results will enable the development of new antimicrobial dental materials, which will contribute to the improvement of the quality of life of denture patients in an aging society.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：義歯 TNT

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会の中で、有病者や要介護者の増加により、在宅医療の介入は増加の一途を辿っている。平成 23 年歯科口腔保健法の導入からもわかるように、「在宅歯科診療の推進」が重視されており、在宅歯科医療で口腔内を清潔に保つことは重要な役割である。しかし、在宅歯科治療という特殊な環境下における口腔衛生管理は最も困難である。不潔な状況になると、義歯・補綴装置への細菌等の付着が義歯性口内炎、口角炎等を引き起こし、ひいては誤嚥性肺炎のような全身疾患に関与する危険性を有している。また、現在のコロナ禍において、高齢者の在宅歯科診療の利用が増加傾向にある。介助者と被介助者が長時間密接する状況が困難になってきており、いかに自立出来るかということが重要である。例えば義歯装着者であれば、誰でも義歯の清掃を短時間で簡便にできるように、今後は義歯の材料を改善する必要があると考える。そして、被介助者は、自分で何か出来たという達成感を感じることができれば前向きな気持ちを持つことが出来る。在宅歯科診療という特殊な環境下で、高齢者の口腔衛生管理を向上させ、QOL を維持するためには洗浄効果の高い新たな洗浄剤と衛生面を向上させるための新たな歯科材料の開発が期待される。我々の研究チームは水晶振動子マイクロバランス（以下、QCM とする）法を応用し、義歯表面を模倣した新規バイオセンサの開発に成功し、一般的に義歯材料として使用される材料であるアクリックレジンには表面性状だけでなく、化学的組成からも金属と比較しても汚れやすい材料であることを明らかにし、海外論文誌にて報告した。

QCM センサを使用した義歯への汚れの吸着メカニズムに対する電位差の評価を行ったところ、レジン床義歯表面は positive charge しており、唾液関連タンパク質の吸着は避けられないという結果を得た。

本申請者は FUJITU のカルシウムヒドロキシアパタイトにチタンイオンを導入した新光触媒を義歯材料に填入する試みを行い、令和 2-3 年度の科学研究補助金 若手研究を受諾した。細菌付着を抑制するという結果を示したが、義歯材料表面に均一に分散させるのは困難であり、義歯材料に填入する材料そのものに改善を加えなければ、高齢患者の口腔内を管理するのは不可能という学術的「問い」にたたされる。

2. 研究の目的

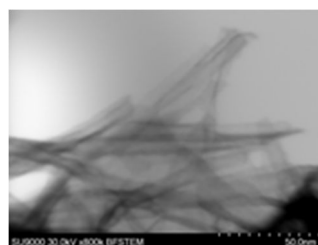
TNT は、低温化学プロセスで合成可能、テンプレートなしで自己組織的に生成、高比表面積を有する、アナターゼ型酸化チタンを基本骨格とするといった特徴がある。これまで、TNT が優れた色素増感型太陽電池材料として働き、高い発電効率を示すことや、カチオンドープにより導電性と耐熱性が同時に改善できるなどが示されており、その可能性はエネルギー創製環境対策材料や新しい高機能デバイス等、さまざまな応用が期待されている。TNT を用いるメリットとしては、ミクロ・ナノ構造の細胞の足場が形成される、超親水性を有する、酸化物を構成する、高比表面積に起因した高イオン吸着能を有する、といったことがあげられ、インプラント埋入周囲組織の硬組織の形成に必要とされる骨髄細胞の接着、増殖、分化に有効であると考えられる。しかし、TNT は粉末状であり、義歯床材料に均一に配置するのは不可能である。自己生体材料の作製には幹細胞をはじめとする細胞、増殖因子、足場の 3 要素が必要であり、細胞が生育する環境を与える足場材料として、生体の環境を模したゲル材料の開発が世界的に注目されている。共同研究者である京都工芸繊維大学の田中准教授は様々な材料に対する高分子の合成技術の開発に携わっており、新しい機能性材料の開発に関わっている。我々は TNT 表面にポリアクリルアミドの修飾に成功し、TNT 水溶液の生成に成功した。この性能は表面積を増大させると効能も比例的に増大させることができるため、今回は TiO₂ 粉末を水酸化ナトリウム水溶液で化学処理を行い形成される、内径 5 nm、外径 8 nm、長さ 100 nm のチューブ構造（チタニアナノチューブ）を用いて、抗菌効果をより発揮できるようにした。また、この反応機構により、物質の強度も増強することができる。そのため、人体に為害性がなく、安価で自浄作用だけで汚れをつきにくくする義歯床用材料の開発、そして義歯床用材料の増強は学術的独自性であると考えられる。

本申請研究では、細菌付着を抑制し、義歯の機械的性質を劣化させない新規義歯用材料を開発することで、高齢者の患者においても口腔内の清掃状態を管理し、患者の QOL を維持できる補綴材料の提供を目指す。

3. 研究の方法

(1) 試料作製

TNT は低温化学合成法により作製する（右図）共同研究者の京都工芸繊維大学にて TNT 表面に親水性ポリマーを修飾する。現在、ポリアミドの修飾に成功しているが、今後生体材料として作成するため、随時その他の生体適合性を持つ親水性ポリマーの修飾にチャレンジする。一般的に義歯床用材料として使用されているポリメチルメタクリレート（PMMA）に酸化チタンナノチューブを配合し、義歯床用材料として利用する。配合する酸化チタン



ナノチューブの配合率および UV 照射の有無において、各種試験材料の作製を大学院生の協力のもと行う。

(2) 表面解析

試料の微細構造の観察には、実験群および対照群の純チタン金属表面を走査型電子顕微鏡 (SEM, S-4000, 島津), 走査型プロ - プ顕微鏡 (SPM, SPM-9600, 島津) を使用して X, Y および Z 方向に 2 μm の範囲をスキャンした。試料表面における元素分析を X 線電子分光分析装置 (XPS, PHI x-tool, アルバックファイ) にて行った。

(3) 抗菌性の評価

黄色ブドウ球菌を対象に抗菌性の評価を行った。各配合濃度の試験片の上に黄色ブドウ球菌を播種、培養後 LIVE/DEAD 染色を利用した蛍光顕微鏡による観察とクリスタルバイオレット染色に吸光度測定を利用し、バイオフィーム形成量を測定した。

(4) QCM 測定

タンパク質附着性を水晶振動子マイクロバランス(以下, QCM)装置を用いて評価した。QCM 装置用の市販の Au QCM センサ上に水酸基ポリマーを付与した TNT を成膜して TNT-PMMA QCM センサを作製し, QCM 測定を実施した。液相中での測定を行い, 対象はウシ血清アルブミン(以下, BSA)を滴下後の QCM センサの共振周波数の減少量を測定した。得られた周波数減少量から Sauerbrey の公式により各センサ表面に付着した BSA 量を計算した。

(5) 圧縮破壊試験

機械的物性の評価に圧縮破壊試験を実施した。実験には応力測定器を応用した油圧プレス機を用い各試験片の破壊に要した応力を記録した。

(6) 細胞毒性試験

MTT 法により細胞毒性を評価した。各試験片を培養液に浸漬し、抽出液を作製後 V79 ハムスター細胞に曝露、24 時間後に吸光度測定により細胞生存率を評価した。

4. 研究成果

表面観察により 10ppm 含有の TNT-PMMA はレジン表面に TNT と思われる粉末が点在しているのが確認された。また, SPM 観察で確認したところ同様の変化が認められた。また, XPS 解析では TNT と推察される Ti, Na, O の元素の存在が確認された。

LIVE/DEAD 染色による蛍光顕微鏡観察から, TNT-PMMA では TNT の配合濃度が高くなる程, 観察される生存黄色ブドウ球菌が減少する傾向が認められた。この結果は吸光度測定によるバイオフィーム形成量の評価からも裏付けられ, TNT の配合濃度が高い程バイオフィーム形成は抑制されることが示された。同様に, QCM 測定による BSA 附着性の評価から, TNT の配合率が高い程 BSA の附着量が小さくなるという結果が得られた。これらにより, TNT を PMMA に配合することでタンパク質の PMMA 表面への附着, および最近の附着も抑制され TNT-PMMA に抗菌性を持たせることに成功したと考えられる。圧縮破壊試験の結果では, 各配合濃度の TNT-PMMA で強度に有意差が認められなかった。また, 細胞毒性試験では PMMA に TNT を配合しても細胞への為害性は確認されなかった。

以上の結果より PMMA に導入された TNT により義歯床用レジンに抗菌性が付与され, しかも義歯床用材料として性質が損なわれないことも示唆された。今後, TNT を分散させる手法が必要になると推察される。この成果を応用することで更なる新たな抗菌性歯科材料の開発が可能となり, 今後ますます進む高齢社会において, 義歯使用患者の QOL の向上に寄与することが可能であると期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tashiro Y, Naito T, Matsumoto T, Miyake A, Komasa S
2. 発表標題 Application of QCM method to improved titanium surface evaluation
3. 学会等名 International Dental Materials Congress 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田代悠一郎, 松本卓巳, 三宅晃子, 小正 聡, 前川賢治
2. 発表標題 PMMAにチタンアパタイトを導入し抗菌性を付与した新規義歯床用材料の創製
3. 学会等名 第36回日本口腔リハビリテーション学会学術大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------