

抗菌性 aPIZASを用いた歯科用アクリルレジンの開発に関する研究

渡 辺 秀 大¹⁾ 稲 葉 啓 太 郎^{*1)} 和 田 悠 希²⁾
 渡 辺 秀 司¹⁾ 佐々木 悠¹⁾ 平 嶺 浩 子³⁾
 佐々木 正 人⁴⁾ 二 瓶 智 太 郎²⁾ 浜 田 信 城¹⁾

¹⁾神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座微生物感染学分野

²⁾神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座クリニカルバイオマテリアル学分野

³⁾神奈川歯科大学大学院歯学研究科高度先進口腔医学講座

⁴⁾株式会社ニッショー化学

(受付：2020年3月4日, 受理：2020年4月1日)

Study on development of dental acrylic resin using aPIZAS

Hidehiro WATANABE¹⁾, Keitaro INABA^{*1)}, Yuuki WADA²⁾, Syuji WATANABE¹⁾,
 Haruka SASAKI¹⁾, Hiroko HIRAMINE³⁾, Masato SASAKI⁴⁾, Tomotaro NIHEI²⁾
 and Nobushiro HAMADA¹⁾

¹⁾Division of Microbiology, Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

²⁾Division of Clinical Biomaterials, Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

³⁾Department of Highly Advanced Stomatology, Yokohama Clinical Education Center of Kanagawa Dental University

⁴⁾Nissho Chemistry Company Limited

Abstract

The purpose of the present study was to evaluate the antimicrobial effects and mechanical properties of acrylic resin containing aPIZAS, a specially processed zinc powder. aPIZAS has been shown to suppress the growth of fungi, bacteria, and algae, and is an antibacterial agent that is used in a wide range of fields. It is also chemically stable and safe. Dental plaque is a causative factor for caries and periodontal disease, and has also been linked to stomatitis, which may serve as a reservoir of potentially infectious pathogens. The prevention of microbial adhesion to denture surfaces is essential for maintaining good oral hygiene and preventing plaque accumulation. *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, and *Candida albicans* were used to assess the antibacterial activity of aPIZAS powder and acrylic resin disks containing aPIZAS. After the addition of aPIZAS powder to the culture medium, viable cell counts were assessed after 1, 3, 6, 9, 12, and 24 hours. Acrylic resin disks containing aPIZAS were placed in the culture medium and cultured for 18 hours. The number of microorganisms adhering to the disks was calculated. The deodorizing activity of acrylic resin disks containing aPIZAS immersed in bacterial solution was also examined. Acrylic resin disks containing 1.0% aPIZAS were confirmed to exert antibacterial and deodorizing effects. Furthermore, their mechanical properties were similar to disks not containing aPIZAS. Thus, acrylic resin containing aPIZAS is very useful as a dental material.

* 責任著者連絡先：〒 238-8580 神奈川県横須賀市稲岡町 82
 神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座微生物感染学分野
 稲葉啓太郎
 TEL: 046-822-8867 e-mail: inaba@kdu.ac.jp

緒 言

歯科領域の二大疾患であるう蝕と歯周病は、いずれも口腔常在菌により惹起されることが明らかにされている^{1,2)}。すなわち、ミュータンス連鎖球菌をはじめとする口腔常在菌とそれらの代謝産物によって構成されるプラーク細菌がう蝕誘発の直接的原因であり、*Porphyromonas gingivalis* をはじめとする嫌気性グラム陰性菌の歯肉縁下における増殖が歯肉の炎症あるいは歯周組織破壊の原因となる^{3,4)}。したがって、プラークを構成する細菌の増殖を抑制することがこれらの疾患の予防に重要であることは明らかである。また、義歯性口内炎は、義歯や床矯正装置などの可撤性床装置と関連した床下粘膜の炎症であり、口腔内の微生物が深く関わり、義歯床粘膜面にみられる *Candida albicans* を主体とするデンチャープラークが重要であることが報告されている⁵⁾。デンチャープラークの主要構成菌は、通性嫌気性グラム陽性球菌と同桿菌であると報告されている⁶⁾。また、義歯性口内炎と *Candida* および *Staphylococcus* との相関やデンチャープラーク中から高頻度に *Candida albicans* を主体とする *Candida* 属の菌種が検出されることが報告されている^{7,8)}。

デンチャープラークの為害性として、義歯性口内炎や口角炎など生体に対する為害作用のみならず、材料に対する侵入やこれに伴う材料の劣化に関わることが考えられる⁹⁾。このような材料の劣化に伴いデンチャープラークの堆積が助長されることが懸念される。また、義歯研磨時あるいは調整時におけるデンチャープラーク中の微生物の飛散による技工室や診療室の汚染が指摘されている^{10,11)}。

抗菌活性を示す材料として銀や酸化チタン、酸化マグネシウム、酸化カルシウム、酸化亜鉛などが知られており、衛生管理製品や繊維製品の分野では、樹脂組成物に抗菌・殺菌性を付与した製品の開発・研究が行われている^{12,13)}。歯科領域では、抗菌性ゼオライトや銀を吸着させたアバタイト系抗菌剤を床用レジンに添加した報告がある^{14,15)}。今後の超高齢化社会における全身管理との関係においても口腔細菌の増殖を長期に阻害する歯科材料の開発は必要であると考えられる。しかし、銀は高価であること、酸化チタンは光照射が活性に関与すること、酸化マグネシウムや酸化カルシウムは水和反応の進行によって抗菌活性が低下することが欠点となっている。そのため、われわれは比較的安価であり、光照射を必要としない酸化亜鉛に着目した。酸化亜鉛を特殊加工した aPIZAS は、防菌防黴剤として住建材や塗料、日用品に用いられており、生体

に対して安全性が認められている。

本研究では、機械的性質を劣化させず、かつ優れた抗菌性を有する床用レジンを開発する目的で、アクリルレジンに aPIZAS を添加し、その機械的性質とともに抗菌性と消臭効果について比較検討した。

実験材料および方法

1. 試供菌株および培養条件

神奈川歯科大学口腔科学講座微生物感染学分野保存の *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) Ingbritt 株、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) ATCC 33277 株、*Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 10231 株を用いた。*S. mutans* の培養にはブレインハートインフュージョン (BHI) プロス (Becton Dickinson Co., NJ, U.S.A.) にイーストエストラクト (5 mg/ml) (Becton Dickinson Co.), ヘミン (5 µg/ml) (和光純薬, 大阪, 日本), ビタミン K₁ (10 µg/ml) (和光純薬) を添加した培地 (BHI-YHK 培地), *P. gingivalis* の培養には 5% ヒツジ脱繊維血を含む BHI 血液寒天培地 (BHI 血液平板) を用いて嫌気条件下 (70% N₂, 15% H₂, 15% CO₂) (ANX-1; HIRASAWA, 東京, 日本) 37°C で培養した。*C. albicans* の培養には普通寒天培地 (日水製薬株式会社, 東京, 日本) を用いて好気条件下 37°C (アルプ株式会社, 東京, 日本) で培養した。

2. aPIZAS 含有アクリルレジンディスクの作製

本研究では、抗菌剤として用いられている酸化亜鉛を主成分とする aPIZAS 粉末 (株式会社ニッショー化学, 茨城, 日本) をそれぞれ 1.5%, 1.0%, 0.5% 配合したアクリルレジンのディスクを作製し、実験に用いた。直径 17.5 mm, 高さ 50 mm の円柱状のシリコン型をフラスコに埋没した。ベイシングレジン (山八歯材工業株式会社, 愛知, 日本) の粉 20 g と液 8.6 ml を混和し、室温にて 20 分間放置した。餅状になったアクリルレジンを填入し、油圧プレス (TD-607; 吉田製作所, 東京, 日本) を用いて、40 kg/cm² の圧力をかけ固定した。フラスコを水槽 (イボ-1; 白水貿易株式会社, 大阪, 日本) に浸漬し加熱、沸騰後 30 分で重合完了とした。水中からフラスコを取り出し、室温にて 30 分間放置後、さらに水中に入れ完全に冷却させて重合したアクリルレジンの掘り出しを行った。掘り出した円柱状のアクリルレジン厚さは 1.2 mm となるように自動回転切断機 (ISOMET 11-1180 Low Speed Saw; Buehler LTD., IL, U.S.A.) にて切断した後、上下面を耐水研磨紙 #1000 にて研磨し、直径 17.5±0.5 mm, 厚さ 1.0±0.2 mm に調整したものをアクリルレジンディスクとした。作製した試験片は精度 0.001 mm のマイクロメーター (Mitutoyo; 株式会

社シナノ製作所, 東京, 日本) にて直径2カ所, 厚さ5カ所計測し, 平均値より体積 V を算出した。また, 試験片をデシケータ内で乾燥させ, 24時間で0.2 mgの質量域になるまで, 電子天秤 (AUW120D; 島津製作所, 東京, 日本) にて繰り返し秤量を行い, 恒量となった時点で37°Cの水中に浸漬した。

3. 吸水性試験

アクリルレジンドィスク作製後, 37°Cの水中に1日間, 7日間, 28日間保管した。各保管期間後に水中から取り出し, 乾いたタオルで表面の水分をふき取り, 空気中で15秒間振った後, 1分後に秤量し, 質量を m_1 とした。秤量後, 各試験片は再びデシケータ内で乾燥させ, 恒量となった質量を m_2 とした。得られたデータより, 次式に従って吸水量を求めた。なお, 試料は各群5個とした。

$$W_{sp} = m_1 - m_2 / V$$

W_{sp} : 吸水量 ($\mu\text{g}/\text{mm}^3$) m_1 : 水中浸漬直後の試験片の質量 (μg) m_2 : 試験片の乾燥質量 (μg) V : 試験片の体積 (mm^3)

4. 3点曲げ試験

板状のシリコン型をフラスコに埋没した。室温 (25°C) にて15分間放置し, 石膏を硬化させた。ベイシングレジン (の粉10 g と液4.3 ml を混和し, 室温に15分間放置した。餅状になったアクリルレジンを填入し, 油圧プレスで $40 \text{ kg}/\text{cm}^2$ の圧力をかけ固定した。フラスコを水槽に浸漬し加熱, 沸騰後30分で重合完了とした。水中からフラスコを取り出し, 室温にて30分間放置後, さらに水中に入れ完全に冷却させて重合したアクリルレジンの掘り出しを行った。掘り出した板状のアクリルレジンは, 横25 mm, 厚さ3 mm となるように耐水研磨紙 #600 にて研磨し, 縦3 mm となるように自動回転切断機にて切断した。小型卓上試験機 EZ Test (島津製作所) を用いて, 支点間距離20 mm, クロスヘッドスピード1 mm/min で3点曲げ強さ試験を行い, 分析ソフト (TRAPEZUM2, 島津製作所) により曲げ強さと曲げ弾性率を算出した。なお, 試料は各群15個とした。

5. aPIZAS 粉末による口腔細菌に対する抗菌性試験

波長550 nmで吸光度0.6に調整した *P. gingivalis*, *S. mutans*, *C. albicans* の培養菌液に1%濃度となるよう aPIZAS を加えた。aPIZAS が沈殿しないようスターラーにて攪拌しながら培養し, 経時的に生菌数測定を行った。

6. aPIZAS 粉末による臭気試験

波長550 nmで吸光度0.6に調整した *P. gingivalis* の培養菌液10 μl を直径6 mmの滅菌濾紙に含ませた。濾紙を aPIZAS 粉末とともにスペリアチューブ CT-07

(アズワン株式会社, 大阪, 日本) に入れ, パラフィルム (Bemis Company, Inc., WI, U.S.A.) で密閉した。aPIZAS 粉末は2.0 g, 1.0 g, 0.5 g とし, ポジティブコントロールとして *P. gingivalis* 培養菌液含有の濾紙のみ, ネガティブコントロールとして aPIZAS 粉末1.0 gのみを用いた。回転培養機 ローテーター RT-30 mini (タイテック株式会社, 埼玉, 日本) にて転倒攪拌を行い, 1時間後に OralChroma CHM-1 (NISSHA エフアイエス株式会社, 大阪, 日本) を用いてスペリアチューブ内のメチルメルカプタン (CH_3SH) 量を測定した。

7. aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクへの付着性試験

P. gingivalis, *S. mutans*, *C. albicans* の培養菌液100 μl を加えた液体培地5 ml にアクリルレジンドィスクを浸漬し, 18時間培養した。培養後, 1%リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で3回洗浄した。PBS 5 ml に浸漬させ, Transsonic T780 (Elma Schmidbauer GmbH, Gottlieb Daimler Straße, Germany) を用いて1分間の超音波処理によりアクリルレジンドィスクから細菌を剥離した。剥離した細菌懸濁液を希釈して寒天培地へ塗抹, 培養を行い, 生菌数を測定した。

8. aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクによる臭気試験

P. gingivalis の培養菌液へアクリルレジンドィスクを浸漬し, 2日間培養を行った。培養後, アクリルレジンドィスクを滅菌蒸留水で3回洗浄し, スペリアチューブに入れ, パラフィルムで密閉した。回転培養機 ローテーター RT-30 mini にて転倒攪拌を行い, 2日後にアクリルレジンドィスクを新しいスペリアチューブへ移し替えて密封し, 再度転倒攪拌を行った。24時間後に OralChroma CHM-1 を用いてスペリアチューブ内のメチルメルカプタン (CH_3SH) 量を測定した。

9. 統計学的分析

統計学的分析は, Tukey の検定により, 統計解析ソフト エクセル統計 Bellcurve for excel 2.15 (社会情報サービス, 東京, 日本) を用いて行った。有意水準は, $P < 0.05$ および $P < 0.01$ とした。

結 果

1. 吸水効果

直径17.5 mm, 厚さ1.0 mmの円板状アクリルレジンドィスクに対し, 吸水性試験を行った (図1)。水中1日間保管において, aPIZAS 未配合アクリルレジンドィスクの吸水量は, $15.3 \pm 0.4 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 0.5%含有アクリルレジンドィスクが $15.1 \pm 0.5 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 1.0%含

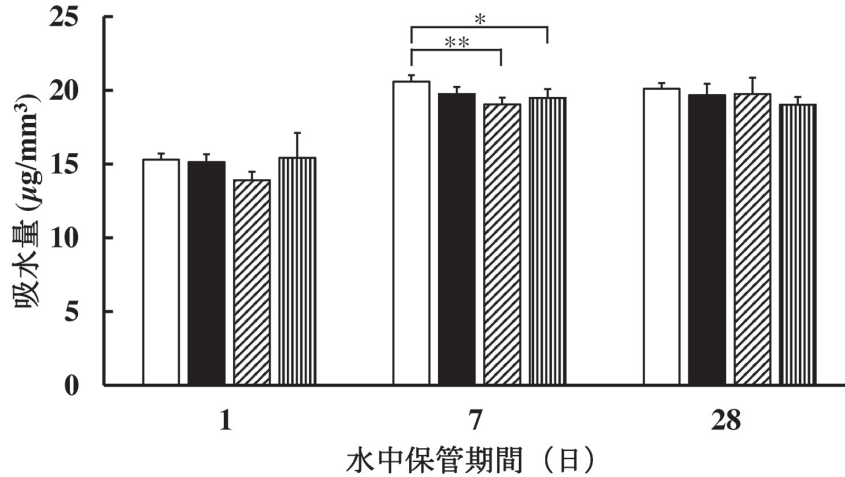


図1 aPIZAS含有アクリルレジンの吸水量

アクリルレジンドィスクを37°Cの水中に1日間、7日間、28日間保管した。水中保管前後の質量を比較し、吸水量を求めた。水中1日間保管および28日間保管の群ではいずれの含有率においても有意差は認められなかった。□, aPIZAS未配合; ■, 0.5%含有; 斜線, 1.0%含有; 縦線, 1.5%含有 n=5, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, Tukeyの検定

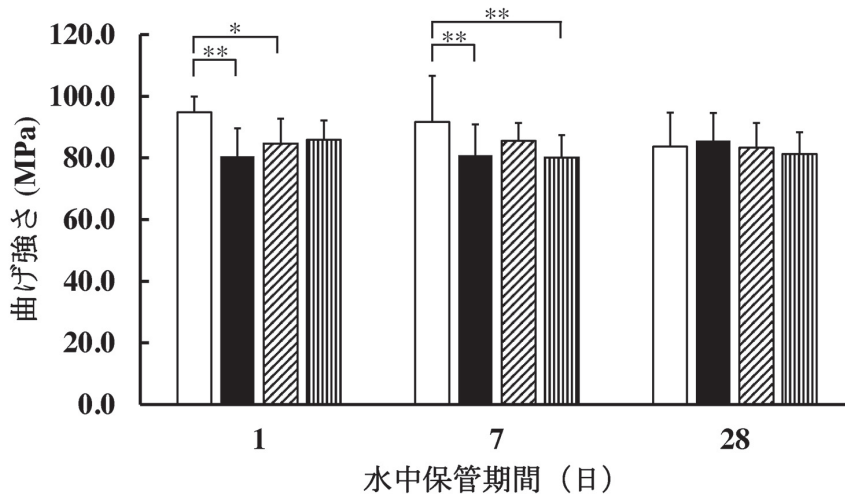


図2 aPIZAS含有アクリルレジンの曲げ強さ

アクリルレジンドィスクを37°Cの水中に1日間、7日間、28日間保管した。各保管期間後に試験片を取り出し、寸法計測後3点曲げ試験を行い、曲げ強さを測定した。水中28日間保管では、群間に有意差は認められなかった。□, aPIZAS未配合; ■, 0.5%含有; 斜線, 1.0%含有; 縦線, 1.5%含有 n=5, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, Tukeyの検定

有アクリルレジンドィスクが $13.9 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 1.5%含有アクリルレジンドィスクが $15.4 \pm 1.7 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ であった。水中7日間保管において、aPIZAS未配合アクリルレジンドィスクの吸水量は、 $20.6 \pm 0.4 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 0.5%含有アクリルレジンドィスクが $19.8 \pm 0.5 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 1.0%含有アクリルレジンドィスクが $19.0 \pm 0.5 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 1.5%含有アクリルレジンドィスクが $19.5 \pm 0.6 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ であった。水中28日間保管において、aPIZAS未配合アクリルレジンドィスクの吸水量は、

$21.1 \pm 0.4 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 0.5% aPIZAS含有アクリルレジンドィスクが $19.7 \pm 0.8 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジンドィスクが $19.8 \pm 1.1 \mu\text{g}/\text{mm}^3$, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジンドィスクが $19.0 \pm 0.5 \mu\text{g}/\text{mm}^3$ であった。1日間保管および28日間保管した群内においては、各群有意差は認められなかった。しかし、7日間保管した群においては、未配合アクリルレジンドィスクと比較し、aPIZASを1.0%と1.5%含有したアクリルレジンドィスクは有意に低い値を示した。ま

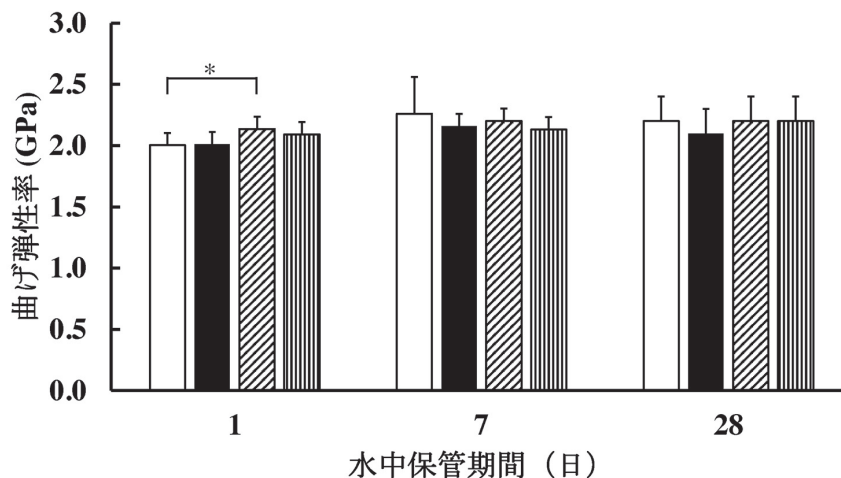


図3 aPIZAS含有アクリルレジンの曲げ弾性率

アクリルレジンドィスクを37°Cの水中に1日間、7日間、28日間保管した。各保管期間後に試験片を取り出し、寸法計測後3点曲げ試験を行い、曲げ弾性率を測定した。水中7日間保管および28日間保管では、群間内に有意差は認められなかった。□, aPIZAS未配合; ■, 0.5%含有; 斜線, 1.0%含有; 縦線, 1.5%含有 n=5, *P<0.05, **P<0.01, Tukeyの検定

た、すべての群で1日間保管と比較して7日間保管および28日間保管で吸水量の有意な増加が認められた。

2. 曲げ強さ

縦3mm, 横25mm, 厚さ3mmの板状アクリルレジに対して3点曲げ強さ試験を行い、曲げ強さを算出した(図2)。水中1日間保管において、aPIZAS未配合アクリルレジンの曲げ強さは、 94.8 ± 5.3 MPa, 0.5% aPIZAS含有アクリルレジが 80.5 ± 14.9 MPa, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジが 84.6 ± 11.0 MPa, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジが 85.8 ± 6.3 MPaであった。水中7日間保管において、aPIZAS未配合アクリルレジの曲げ強さは、 91.6 ± 9.2 MPa, 0.5% aPIZAS含有アクリルレジが 80.9 ± 10.0 MPa, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジが 85.5 ± 9.0 MPa, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジが 80.1 ± 7.3 MPaであった。水中28日間保管において、aPIZAS未配合アクリルレジの曲げ強さは、 83.7 ± 8.1 MPa, 0.5% aPIZAS含有アクリルレジが 85.6 ± 5.9 MPa, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジが 83.3 ± 8.0 MPa, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジが 81.3 ± 7.0 MPaであり、水中28日間保管では群間内に有意差は認められなかった。

3. 曲げ弾性率

縦3mm, 横25mm, 厚さ3mmの板状アクリルレジに対して3点曲げ強さ試験を行い、曲げ弾性率を算出した(図3)。水中1日間保管では、aPIZAS未配合の曲げ強さは、 2.0 ± 0.1 GPa, 0.5% aPIZAS含

有アクリルレジが 2.0 ± 0.1 GPa, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジが 2.1 ± 0.1 GPa, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジが 2.1 ± 0.1 GPaであった。水中7日間保管では、aPIZAS未配合の曲げ強さは、 2.3 ± 0.3 GPa, 0.5% aPIZAS含有アクリルレジが 2.2 ± 0.1 GPa, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジが 2.2 ± 0.1 GPa, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジが 2.1 ± 0.1 GPaであった。水中28日間保管では、aPIZAS未配合の曲げ強さは、 2.2 ± 0.2 GPa, 0.5% aPIZAS含有アクリルレジが 2.1 ± 0.2 GPa, 1.0% aPIZAS含有アクリルレジが 2.2 ± 0.1 GPa, 1.5% aPIZAS含有アクリルレジが 2.2 ± 0.1 GPaであった。水中1日間保管では、未配合アクリルレジと比較し、1.0% aPIZAS含有アクリルレジは有意に高い値を示した。水中7日間、および28日間保管では群間内に有意差は認められなかった。

4. aPIZAS粉末による抗菌効果

一昼夜培養した*P. gingivalis*菌液に1%濃度になるようにaPIZAS粉末を添加し、生菌数を測定することで抗菌効果を検討した。*P. gingivalis*に対する効果は、粉末を添加しない場合では、実験開始時に $2.0 \times 10^9 \pm 1.0 \times 10^7$ CFU/mlであった生菌数が24時間後に $5.8 \times 10^9 \pm 7.6 \times 10^9$ CFU/mlと変化した。aPIZAS粉末を添加した場合には、6時間後で $3.9 \times 10^8 \pm 1.5 \times 10^8$ CFU/mlに減少し、12時間後の生菌数は、確認されなかった(図4)。*S. mutans*においては、粉末を添加しない場合では、実験開始時に $1.0 \times 10^9 \pm 1.5 \times 10^8$ CFU/ml

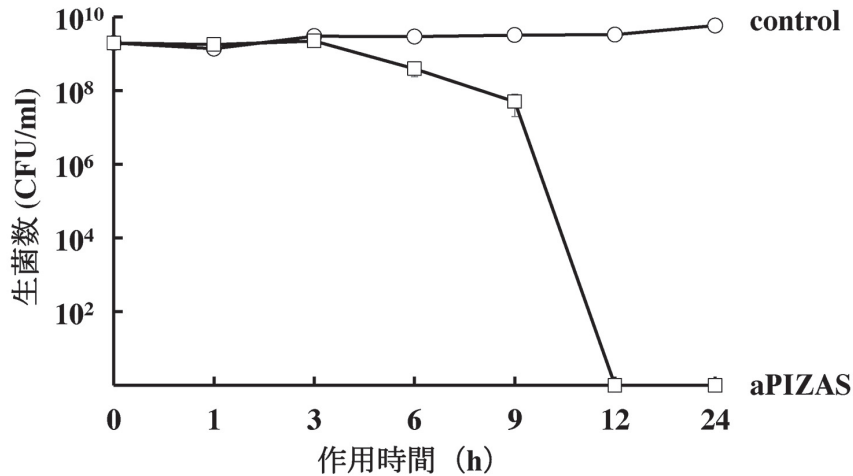


図4 *P. gingivalis* に対する aPIZAS 粉末の抗菌効果

P. gingivalis 懸濁液に 1.0% 濃度の aPIZAS 粉末を添加し、24 時間培養を行った。aPIZAS 粉末の添加により、生菌数の経時的な現象が認められた。○, コントロール; □, aPIZAS

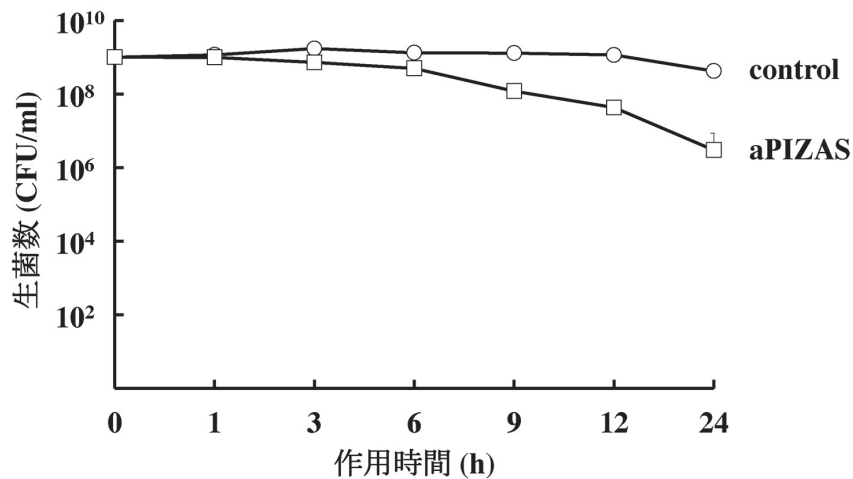


図5 *S. mutans* に対する aPIZAS 粉末の抗菌効果

S. mutans 懸濁液に 1.0% 濃度の aPIZAS 粉末を添加し、24 時間培養を行った。aPIZAS 粉末の添加により、生菌数の経時的な現象が認められた。○, コントロール; □, aPIZAS

であった生菌数が 24 時間後に $4.2 \times 10^8 \pm 3.8 \times 10^7$ CFU/ml と変化した。aPIZAS 粉末を添加した場合には、6 時間後で $5.0 \times 10^8 \pm 6.6 \times 10^7$ CFU/ml に減少し、24 時間後で $3.3 \times 10^6 \pm 5.8 \times 10^6$ CFU/ml に減少した (図 5)。*C. albicans* においては、粉末を添加しない場合では、実験開始時に $3.0 \times 10^7 \pm 7.5 \times 10^6$ CFU/ml であった生菌数が 24 時間後に $9.5 \times 10^8 \pm 3.1 \times 10^7$ CFU/ml となった。aPIZAS 粉末を添加した場合には、6 時間後で $5.9 \times 10^7 \pm 1.8 \times 10^7$ CFU/ml となり、24 時間後で $1.8 \times 10^8 \pm 3.6 \times 10^7$ CFU/ml となり、aPIZAS 粉末無添加に比較して生菌数の減少が認められた (図 6)。

5. aPIZAS 粉末による消臭効果

aPIZAS 粉末と *P. gingivalis* 培養菌液 10 μ l を含ませた濾紙をスベリアチューブ内に入れて密閉し、1 時間後に揮発性硫化物であるメチルメルカプタン量を測定した (表 1)。その結果、ポジティブコントロールの aPIZAS 粉末を含まず *P. gingivalis* 培養菌液含有濾紙のみでは 664.3 ± 201.2 ppb 検出され、aPIZAS 粉末 0.5 g 添加で 11.0 ± 19.1 ppb、aPIZAS 粉末 1.0 g 添加で 1.7 ± 2.9 ppb、aPIZAS 粉末 2.0 g 添加で 4.6 ± 8.1 ppb 検出された。尚、ネガティブコントロールの aPIZAS 粉末のみでは、メチルメルカプタンは検出されなかった。

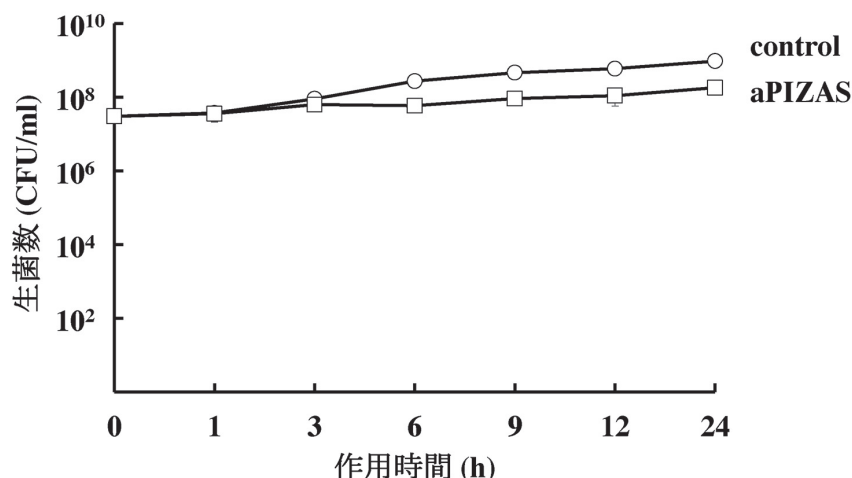


図6 *C. albicans* に対する aPIZAS 粉末の抗菌効果

C. albicans 懸濁液に 1.0% 濃度の aPIZAS 粉末を添加し、24 時間培養を行った。生菌数の経時的な減少は認められなかったが、aPIZAS 無添加の場合と比較して減少が認められた。○, コントロール; □, aPIZAS

表1 aPIZAS 粉末の消臭効果

添加量 (g)	CH ₃ SH (ppb)
2.0	4.6 ± 8.1
1.0	1.7 ± 2.9
0.5	11.0 ± 19.1
positive control	664.3 ± 201.2
negative control	0.0 ± 0.0

6. aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクへの付着抑制効果

aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクを菌懸濁液に浸漬して培養後、ディスク表面に付着した細菌を剥離し、生菌数を測定した (図 7)。 *P. gingivalis* において、aPIZAS 未配合アクリルレジンドィスクへの付着菌数は、 $1.5 \times 10^7 \pm 2.8 \times 10^6$ CFU/ml、0.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $7.4 \times 10^6 \pm 2.7 \times 10^6$ CFU/ml、1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $8.2 \times 10^6 \pm 2.4 \times 10^6$ CFU/ml、1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $1.3 \times 10^7 \pm 2.9 \times 10^6$ CFU/ml であった。未配合アクリルレジンドィスクと比較し、0.5% および 1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクにおいては、細菌の付着率が 53.4%、58.9% へ減少した。1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクにおいては、96.0% と減少率は低下した。 *S. mutans* において、aPIZAS 未配合アクリルレジンドィスクへの付着菌数は、 $1.7 \times 10^6 \pm 1.9 \times 10^5$ CFU/ml、0.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $1.1 \times 10^6 \pm 2.2 \times 10^5$ CFU/ml、

1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $1.1 \times 10^6 \pm 5.2 \times 10^5$ CFU/ml、1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $1.3 \times 10^6 \pm 8.5 \times 10^5$ CFU/ml であった。未配合アクリルレジンドィスクと比較し、0.5%、および 1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクにおいては、細菌の付着率は 62.5%、67.9% へ減少した。1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクにおいては、79.1% と減少率は低下した。 *C. albicans* において、aPIZAS 未配合アクリルレジンドィスクへの付着菌数は、 $4.1 \times 10^5 \pm 3.2 \times 10^4$ CFU/ml、0.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $1.7 \times 10^5 \pm 5.8 \times 10^3$ CFU/ml、1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $1.2 \times 10^5 \pm 4.0 \times 10^4$ CFU/ml、1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクが $3.2 \times 10^5 \pm 2.6 \times 10^4$ CFU/ml であった。未配合アクリルレジンドィスクと比較し、0.5%、および 1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクにおける細菌の付着率は、42.6%、29.5% へ減少した。1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクにおいては 78.7% と減少率は低下した。

7. aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクによる消臭効果

aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクを *P. gingivalis* の菌液へ浸漬し培養、アクリルレジンドィスクに吸着した揮発性硫化物であるメチルメルカプタン量を測定した (表 2)。aPIZAS 未配合アクリルレジンドィスクでは 465.7 ± 112.2 ppb、0.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクでは 215.0 ± 24.0 ppb、1.0% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクでは 55.0 ± 20.8 ppb、1.5% aPIZAS 含有アクリルレジンドィスクでは 4.0 ±

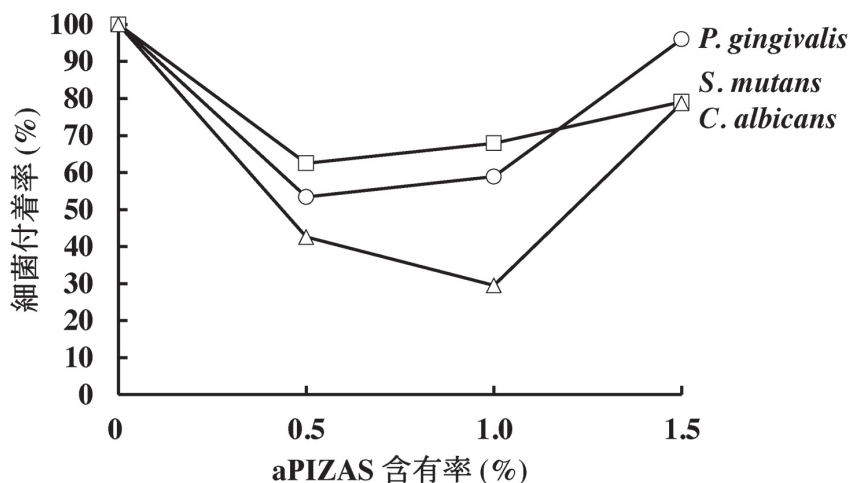


図7 aPIZAS含有アクリルレジンディスクへの付着性試験

aPIZAS含有アクリルレジンディスクを口腔細菌の懸濁液に浸漬させて培養を行った。18時間後、ディスク表面に付着した細菌を超音波処理で剥離して、生菌数を測定した。0.5%および1.0% aPIZAS含有アクリルレジンでは、濃度依存的に付着菌数が減少した。○, *P. gingivalis*; □, *S. mutans*; △, *C. albicans*

表2 aPIZAS含有アクリルレジンディスクの消臭効果

含有率 (%)	CH ₃ SH (ppb)
1.5	4.0 ± 6.9
1.0	55.0 ± 20.8
0.5	215.0 ± 24.0
control	465.7 ± 112.2

6.9 ppb となり、aPIZAS含有濃度に依存してメチルメルカプタン量の減少が確認された。

考 察

ZnO (酸化亜鉛: Zinc Oxide) は、白色の粉末状材料であり、毒性がないことから、紫外線からの防御のために日焼け止めに一般的に使われている¹⁶⁾。歯科治療で使用している歯科材料であるリン酸亜鉛セメント、酸化亜鉛ユージオールセメントやカルボキシレートセメントにも酸化亜鉛が含まれている。aPIZASは、酸化亜鉛を特殊加工したもので、特許を取得しているため、その作製方法を明らかにされていない。aPIZASは多くの企業で採用され、(財)日本食品分析センターなど各種公的機関で安全性が証明されている。また、環境庁「水環境保全に向けた取組みのための要調査リスト」の全300化学物質と「環境ホルモン(内分泌攪乱作用を有すると疑われる物質)実態概況調査」における全70化学物質(重金属3種を含む)を含んでいないことが明らかにされている¹⁷⁾。なお、

“aPIZAS”という名称は、2020年に新名称“Adox”に変更されているが、本論文では、aPIZASとして表記した。

従来の抗菌剤による抗菌・殺菌の手法には、抗菌性を有する銀などの金属微粒子をゼオライトなどの多孔質材中に固定化などした無機系抗菌剤や、第4級アンモニウム塩、フェノール類などの有機系抗菌剤を用いる方法がある¹⁸⁻²⁰⁾。しかし、有機系抗菌剤は、材料が高価であることや生体にとって有害物質を含有していることなどの問題点が指摘されている。そのため、生体への安全性及び材料の汎用性を考慮し、かつ生体にとって不可欠なミネラル元素であるマグネシウム及び亜鉛などを含むセラミックス微粒子に注目し、これら微粒子自身による抗菌性の有無についての研究が行われ、酸化マグネシウム、酸化カルシウム、酸化亜鉛に抗菌性が見いだされている。これらセラミックス微粒子の形状や結晶性に対する抗菌作用機序として、粒子形状、比表面積、化学的組成及び結晶性などの粉末特性が抗菌作用に及ぼすことが報告されている^{21,22)}。

これまでに、修復物表面へのプラーク付着を抑制する目的で、修復材料に抗菌性を付与する試みがなされてきた²³⁻²⁶⁾。特にコンポジットレジンに関しては、クロールヘキシジンを用いた研究が多く報告されている。しかし、これらの研究はすべて単に薬剤をコンポジットレジンに練り込んだだけの物で、修復物から周囲に溶出して来る薬剤によって抗菌性が発揮される。したがって、当初は強い抗菌性を示すものの、徐々に抗菌性は低下し薬剤の溶出が止まると抗菌性が消失す

る。しかも、薬剤消失後に水分などが浸入し、物性が低下して変色の原因になる。また、修復物から溶出した薬剤は、プラーク細菌叢のみならず他の細菌叢にまで影響をおよぼす可能性がある。

近年、口腔微生物の全身疾患への関与が注目され、菌血症、感染性心内膜炎、糖尿病、リウマチや誤嚥性肺炎等に口腔微生物が密接に関与することが報告されている²⁷⁾。

義歯表面に唾液中の糖タンパクを主体とするペリクルを介して、口腔レンサ球菌が付着しマイクロコロニーを形成する。一部の細菌はシュクロース依存的に不溶性のグルカンを産生して、義歯表面に強固に付着する。さらに、血液成分や細菌間の共凝集により、さまざまな細菌が定着して多彩な菌叢をもつデンチャープラークが形成される^{28,29)}。厚生労働省が公表した2018年人口動態統計月報年計(概数)によると、日本の全死亡者に占める構成割合は、悪性新生物27.4%、心疾患15.3%、老衰8.0%、脳血管疾患7.9%、肺炎6.9%などとなっている。誤嚥性肺炎は、2.8%であり、2018年では約3万8千人が亡くなっており、高齢者においてはきわめて重要な疾患の一つとなっている³⁰⁾。口腔微生物は口腔内疾患だけでなく、誤嚥性肺炎などの原因ともなる。義歯は口腔微生物の温床の一つであり、効果的な義歯清掃や口腔清掃が誤嚥性肺炎の発症に不可欠であることは言うまでもない。高齢者では一般に易感染要因が増大し、起炎菌として、肺炎球菌、インフルエンザ菌、緑膿菌が多いとされ、さらに誤嚥性肺炎では嫌気性菌が多いと言われている³¹⁾。この発症と義歯に付着している菌との関係について強く示唆されている³⁾。さらに、高齢者での義歯性口内炎の発症率は高く、この発症にはデンチャープラークが深く関わりを持つことが明らかにされ、実際、義歯性口内炎患者の義歯粘膜面からは、高頻度でカンジダが検出されている。

重合アクリルレジンへの添加による物性については、吸水性試験、曲げ弾性率により検討した。aPIZAS含有量を0.5%、1.0%と1.5%の3種類で検討した結果、未配合アクリルレジンと同様の曲げ弾性率が得られ、水中7日間および28日間保管において、aPIZAS含有による弾性率に影響しないことが確認された(図1-3)。JIS規格T6501においてアクリルレジンの水中7日間保管における吸水量は $32\mu\text{g}/\text{mm}^3$ 以下と規定されており、すべての値がその範囲内であったため、今回供したaPIZAS含有アクリルレジンには歯科材料として適当であることが示唆された。また、対照群はコントロール群と比較して同等もしくは低い値を示したことから、aPIZASの添加はアクリルレジ

ンの吸水性に大きな影響を及ぼさないことが示唆された。

aPIZASの殺菌作用は、う蝕原性細菌である*S. mutans*、歯周病原細菌*P. gingivalis*、カンジダ症の原因となる*C. albicans*を用いて評価した。その結果、aPIZAS粉末で3菌種に対して殺菌効果が認められ、aPIZASに高い殺菌作用を有することが確認された。特に、真菌である*C. albicans*にも有効に作用する点は、義歯を製作するうえで非常に有効であると考えられた(図4-6)。aPIZAS未配合アクリルレジンディスクへの付着菌数についても、1.0% aPIZAS含有アクリルレジンディスクで付着菌数が最も少なくなった(図7)。1.5% aPIZAS含有アクリルレジンディスクへの付着菌数が増えた理由として、aPIZAS含有量増加による表面性状の変化が関与しているのではないかと推測している。この点に関しては、電子顕微鏡観察などにより確認する必要があるため、今後の検討課題と考えている。

これまでに、塩化亜鉛を含む洗口剤が口臭に有効に作用することが報告されている³²⁾。口臭の主な原因物質は硫化水素(H_2S)、メチルメルカプタン(CH_3SH)およびジメチルサルファイド($(\text{CH}_3)_2\text{S}$)などの揮発性硫化物(volatile sulfur compounds; VSC)であり³³⁾、aPIZAS粉末でメチルメルカプタン量を抑制できるか検討した。その結果、aPIZASは、*P. gingivalis*の産生するメチルメルカプタンを抑制することが明らかになった(表1)。さらに、aPIZAS含有アクリルレジンディスクによる消臭作用を検討し、粉末だけでなく加熱重合したアクリルレジンディスクにおいても消臭効果が確認された(表2)。aPIZAS含有量を増やすことで、消臭効果が高くなることが判明した。

歯科領域の感染症は、口腔内に存在する微生物が原因となるため、これらの微生物の除去や殺菌させる材料の開発が望まれると考えられる。これまでに、主要な抗菌剤としては4級アンモニウム塩やフェノール類などの有機系、抗菌性がある銀イオンや銀ナノ微粒子をゼオライトや活性炭素に担持した複合材料および光学活性を利用した酸化チタンなどの無機系がある。これら抗菌剤および材料は殺菌に対して有効であるが、いくつかの問題が指摘されている。有機系の場合は強い殺菌効果があるが、薬剤に対する耐性菌の出現に伴って使用した有機系抗菌剤の効力が低下することが問題となる。無機系の場合には、酸化チタンにおいては光照射の必要があるために暗所で使用できないこと、銀系においては高価な貴金属であるためにコストが問題となっている。そのため、人体にとって安全性

の高いミネラル元素から構成され、安価な材料であり、暗所において強い抗菌活性を発現する材料が求められる。

本研究では、持続的に抗菌作用と消臭作用を兼ね備えた素材として酸化亜鉛を特殊加工した aPIZAS に注目した。aPIZAS の作製方法は、特許の関係で明らかにされていないが、人体に無害であることが示され、野菜や鮮魚の保存袋などに利用されている¹⁷⁾。酸化亜鉛は、マイクロスケールとナノスケールの両方の製剤で抗菌剤として研究されており、ナノ粒子が抗菌活性を示すことが知られている³⁴⁻³⁹⁾。しかし、抗菌作用の正確なメカニズムはまだ明確に解明されていないが、粒子の表面で生成される活性酸素種 (ROS)⁴⁰⁻⁴²⁾、亜鉛イオン放出⁴³⁾ や膜の機能不全⁴⁴⁾ などが作用機序と考えられている。

一般的に、口腔内の微生物を無菌化することが良いと考えられているが、口腔内を無菌状態にすることは、困難であり新たな感染症を引き起こす可能性がある。また、微生物に対して抗菌性があるということは、口腔内の細胞にも影響すると考えられる。口腔に常在微生物叢の存在によって、外界からの微生物の侵入が抑えられていると考えられる。そのため、本研究で得られた殺菌作用と増殖抑制率の値は、口腔内微生物すべてを排除するものではなく、口腔環境を健全な状態に導くことになると考えている。今後、aPIZAS 含有アクリルレジン of の更なる詳細な検討が必要と考えられるが、歯科領域での aPIZAS を用いることにより、口腔環境の改善と全身疾患の予防に寄与する有用性の高い素材であることは疑いのないものと考えられた。高齢者や易感染性宿主の歯科治療において、義歯を含めた適切な口腔ケアは、健康保持と QOL の向上に必要不可欠と考える。

結 論

aPIZAS 含有歯科用アクリルレジンについて検討した結果、吸水量、曲げ強さおよび曲げ弾性率に影響せず、かつ抗菌効果および消臭効果を有することが確認された。

利益相反

申告すべき利益相反なし。

文 献

1. Slots J: Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* **6**(5): 351-382, 1979.
2. Socransky SS: Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res.* **49**(2): 203-222, 1970.
3. Lamont RJ, Jenkinson HF: Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* **62**(4): 1244-1263, 1998.
4. Slots J, Genco RJ: Black-pigmented *Bacteroides* Species, *Capnocytophaga* Species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. *J Dent Res.* **63**(3): 412-421, 1984.
5. Davenport JC, Hamada T: Denture stomatitis-A literature review with case reports. *Hiroshima J Med Sci.* **28**(4): 209-220, 1979.
6. Theilade E, Budtz-Jørgensen E, Theilade J: Predominant cultivable microflora of plaque on removable dentures in patients with healthy oral mucosa. *Arch Oral Biol.* **28**(8): 675-680, 1983.
7. Palmqvist S, Unell L, Lindquist B: Denture stomatitis in nursing home patients. *Swed Dent J.* **8**(2): 73-80, 1984.
8. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T: Denture plaque--Past and recent concerns. *J Dent.* **26**(4): 299-304, 1998.
9. 二川浩樹, 牧平清超, 江草 宏ほか: 口腔カンジダの付着およびバイオフィルム形成. *日医真菌会誌.* **46**(4): 233-242, 2005.
10. Katberg JW: Cross-contamination via the prosthodontic laboratory. *J Prosthet Dent.* **32**(4): 412-419, 1974.
11. Kahn RC, Lancaster MV, Kate WJr.: The microbiologic cross-contamination of dental prostheses. *J Prosthet Dent.* **47**(5): 556-559, 1982.
12. 澤井 淳: 金属酸化物の抗菌活性とその応用に関する研究. *防菌防黴.* **37**(7): 501-509, 2009.
13. 山本達雄, 内田真志, 栗原靖夫: 金属を含有させたゼオライトの殺菌について. *防菌防黴.* **19**(8): 425-431, 1991.
14. 酒匂充夫: 抗菌床用レジンに関する研究 - 機械的性質および抗菌性について -. *J Jpn Prosthodont Soc.* **44**(2): 226-233, 2000.
15. 中野田紳一, 二川浩樹, 浜田泰三ほか: 抗菌性ゼオライトの床用レジンへの添加・応用に関する研究. *J Jpn Prosthodont Soc.* **39**: 919-926, 1995.
16. Kim KB, Kim YW, Lim SK *et al.*: Risk assessment of zinc oxide, a cosmetic ingredient used as a UV filter of sunscreens. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* **20**(3): 155-182, 2017.
17. 株式会社ニッショー化学. aPIZAS. <http://nissho-ch.jp/m2.html>. (参照 2020-03-01).
18. 阿部泰彦, 松浦尚志, 岡本耕造ほか: 銀ゼオライト含有ティッシュコンディショナーの抗菌効果. *J Jpn Prosthodont Soc.* **39**(6): 1089-1093, 1995.
19. 大塚督子, 磯本暁子, 中尾美幸ほか: 抗菌加工繊維製品の湿潤, 乾燥条件下における経時的抗菌活性とその評価. *環境感染.* **15**(4): 325-331, 2000.

20. 緒方正裕：フェノール性二量体の抗酸化活性と抗菌活性。薬学雑誌。 **128**(8)：1149-1158, 2008.
21. Sawai J, Igarashi H, Hashimoto A *et al.*: Evaluation of Growth Inhibitory Effect of Ceramics Powder Slurry on Bacteria by Conductance Method. *J Chem Eng Jpn.* **28**(3): 288-293, 1995.
22. Sawai J, Igarashi H, Hashimoto A *et al.*: Effect of Ceramic Powder Slurry on Spores of *Bacillus subtilis*. *J Chem Eng Jpn.* **28**(5): 556-561, 1995.
23. 竹村金造, 阪本有三, Staninec M ほか：一種の Bis-GMA 系複合レジンの抗菌性とクロールヘキシジン配合による抗菌効果。日歯保存誌。 **26**：540-547, 1983.
24. Ribeiro J, Ericson D: In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. *Scand J Dent Res.* **99**(6): 533-540, 1991.
25. Jedrychowski JR, Caputo AA, Kepper S: Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil.* **10**(5): 373-381, 1983.
26. Bapna MS, Murphy R, Mukherjee S: Inhibition of bacteria colonization by antimicrobial agents incorporated into dental resins. *J Oral Rehabil.* **15**(5): 405-411, 1988.
27. 小川智久：口腔細菌がおよぼす全身への影響。モダンメディア。 **63**(8)：179-185, 2017.
28. 市川哲雄, 弘田克彦：感染症予防のためのデンチャープラークコントロール *Candida* spp. と *Helicobacter pylori* を中心として。補綴誌。 **43**(4)：640-648, 1999.
29. 奥田克爾：バイオフィームと全身疾患－薬剤耐性口腔内バイオフィーム感染症への対応－。日口腔外会誌。 **56**(4)：231-239, 2010.
30. 厚生労働省。平成28年人口動態統計月報年計(概数)の概況。 <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai16/index.html> (2017.10.05)
31. 大泉 誠：年齢と義歯装着に伴う口腔内常在菌叢の変動について。補綴誌。 **38**(6)：1195-1204, 1994.
32. Young A, Jonski G, Rölla G *et al.*: Effects of metal salts on the oral production of volatile sulfur-containing compounds (VSC). *J Clin Periodontol.* **28**(8): 776-781, 2001.
33. Tonzetich J: Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. *Arch Oral Biol.* **16**(6): 587-597, 1971.
34. Yamamoto O: Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *Int J Inorg Mater.* **3**(7): 643-646, 2001.
35. Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N *et al.*: Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett.* **6**(4): 866-870, 2006.
36. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJJ: Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Res.* **40**(19): 3527-3532, 2006.
37. Reddy KM, Feris K, Bell J *et al.*: Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Appl Phys Lett.* **90**(213902): 2139021-2139023, 2007.
38. Jeng HA, Swanson J: Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* **41**(12): 2699-2711, 2006.
39. Colon G, Ward BC, Webster TJ: Increased osteoblast and decreased *Staphylococcus epidermidis* functions on nanophase ZnO and TiO₂. *J Biomed Mater Res A.* **78**(3): 595-604, 2006.
40. Sawai J, Kawada E, Kanouet F *et al.*: Detection of Active Oxygen Generated from Ceramic Powders Having Antibacterial Activity. *J Chem Eng Jpn.* **29**(4): 627-633, 1996.
41. Sawai J, Kojima H, Igarashi H *et al.*: *Escherichia coli* Damage by Ceramic Powder Slurries. *J Chem Eng Jpn.* **30**(6): 1034-1039, 1997.
42. Sawai J, Shouji S, Igarashi H *et al.*: Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. *J Ferment Bioeng.* **86**(5): 521-522, 1998.
43. Yang Z, Xie C.: Zn²⁺ release from zinc and zinc oxide particles in simulated uterine solution. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* **47**(2): 140-145, 2006.
44. Zhang L, Jiang Y, Ding Y *et al.*: Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). *J Nanopart Res.* **9**(3): 479-489, 2007.