

## 鶴見大学大学院歯学研究科博士学位論文

## 内容の要旨および審査の結果の要旨

氏名(本籍)	黒岩哲良(東京都)
博士の専攻分野	博士(歯学)
学位記番号	甲第491号
学位授与年月日	平成31年3月14日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科専攻	鶴見大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯学専攻
学位論文題目	Antibacterial, Hydrophilic Effect and Mechanical Properties of Orthodontic Resin Coated with UV-Responsive Photocatalyst (紫外光応答型光触媒コーティング歯科矯正用レジンの抗菌/親水性効果および機械的性質) [Materials] 2018;11(6). doi:10.3390/ma11060889. Impact Factor: 2.467 (2017); 5-Year Impact Factor: 3.325 (2017) 平成30年5月25日発行
論文審査委員	主査 教授 鶴本明久 副査 教授 前田伸子 副査 教授 友成博

## 内容の要旨

良好な口腔環境の維持は、矯正治療後の保定においても重要である。一般的に矯正治療後の歯列および咬合はプレートタイプのリテーナーにより保持されることが多い。これらの装置は、口腔内で使用されるため、装置表面にバイオフィームが形成されう蝕や歯周病のリスクとなる。バイオフィームの形成を抑制することが重要である。バイオフィームの形成過程では、初期に表面に付着する菌(初期定着菌)の抑制が重要であり、歯周病菌などはこれらの菌が存在しないとバイオフィームを形成出来ない。細菌がリテーナーに付着するのを防ぐことが非常に重要である。歯科用消毒、義歯洗浄剤、抗菌剤と樹脂の混合、および防腐剤コーティングなど様々なアプローチが採用されているが、問題点が指摘されているため、微生物のコロニー形成を防止するための新規で代替的な方法が必要である。近年、光触媒が環境浄化材料として注目され、空気清浄機、塗料、カテーテルなどの医療機器を含む自己洗浄コーティングなどの様々な分野に適用されている。光触媒酸化チタンは、有害物質の酸化分解や親水性効果を示し、バイオフィームの形成抑制が期待できる。本研究の目的は、紫外光応答型光触媒酸化チタンコーティングを歯科矯正材料(歯科矯正用レジン)に施し、抗菌とセルフクリーニング効果、およびその物性について検討することである。

## 【材料と方法】

矯正用即時重合レジン(オーソクリスタル)で作成した試験片上にスピンコーティング法を用いて、紫外線応答型光触媒酸化チタンを塗布した。光触媒 TiO<sub>2</sub> (NRC350A, 360C)を用いた。試験片上に保護接着層である NRC350A を塗布し、その上に光触媒層である NRC360C を塗布した。コーティングの有無は SEM を用いて確認を行った。光源は紫外光領域である 352 nm 発光ライトを使用し、光照射の有無で抗菌活性を調べた。照射間距離は 10 cm (照射強度 1.0 mW/cm<sup>2</sup>)で行った。抗菌試験は ①コート(有)照射(有) ②コート(有)照射(無) ③コート(無)照射(有) ④コート(無)照射(無)の4つの試料に分けて行った。供試細菌として、*Streptococcus oralis* ATCC 35037 (*S. oralis* ATCC), *Streptococcus oralis* GTC 276 (*S. oralis* GTC), *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (*S. mutans*), *Streptococcus sobrinus* ATCC33478 (*S. sobrinus*), *Streptococcus gordonii* ATCC 10558 (*S. gordonii*), *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556 (*S. sanguinis*) および *Streptococcus mitis* MRS 08-31 (*S. mitis*) を用いた。供試細菌を前培養し、遠心分離を行った。菌体を OD<sub>540</sub> = 1.0 に調整した(37°C, 16時間)。

氷上で調整した細菌懸濁液を試料表面に直接滴下し、UV照射を0, 15, 30, 60, 90, 120, 150 および180分行った。照射後、各細菌懸濁液をPBSで連続希釈し、スパイラルマシーンをを用いて各細菌の希釈液をMS寒天培地に播種し、37℃, 48時間、嫌気条件下で培養後にコロニー数をカウントした。

物性の評価には、0, 200, 400, 600, 800, 1,000, 1,200時間UV照射を行った試料を用い、クロスヘッドスピード5 mm/min, スパン長50.0 mmの条件で万能試験機を三点曲げ試験を行い、曲げ強さおよび曲げ弾性係数を測定した。

親水性効果は、接触角を測定した。コーティングを施した試料上に水を表面に滴下し、ビデオ画像を撮影、画像解析プログラムを用いて接触角を測定した。30分毎に25℃, 20秒間測定した。

## 【結 果】

### 抗菌試験

全ての菌種において、コート（有）照射（有）およびコート（無）照射（有）が抗菌効果を示し、コート（有）照射（有）がコート（無）照射（有）より有意に高い抗菌効果が認められ、UVA照射により光触媒の抗菌効果が発揮されたことを示している。また、菌種間において抗菌活性の効果の差が認められ、UVAに対する口腔細菌の感受性の差も示された。

### 三点曲げ試験

UV照射後の試料の曲げ強さは、照射された試料間に有意差がなく、すべての試料は、必要基準値（国際規格ISO 歯科矯正用レジンの使用基準値）より有意に高い値を示した。照射による影響は小さいことが示された。

同様に、曲げ弾性率に関しても照射された試料間に有意差がなく、すべての試料は、必要基準値（国際規格ISO 歯科矯正用レジンの使用基準値）より有意に高い値を示した。

### 接触角

照射前の時点からコート（有）とコート（無）間で接触角に差が認められた。コート（有）群の接触角度は時間とともに減少し、コート（無）と比較して有意差が認められた。

## 【考 察】

本研究は、UVA照射後の*S. mutans*, *S. sobrinus* および初期定着菌に対するTiO<sub>2</sub>コーティングの抗菌活性を検討した。TiO<sub>2</sub>コーティングとUVAを併用した群が、最も細菌数の大幅な減少を示した。*S. oralis* および*S. sanguinis*に対する抗菌活性は、過去の報告より強い抗菌活性が得られた。*S. mutans*に対する抗菌活性は、以前の報告と同じ傾向であったが、本研究よりも細菌数の大幅な減少が認められる報告もあった。過去の報告と同様に、光触媒反応は、UV照射20分後に細菌数の減少が認められ、照射時間の増加に伴い急速な減少を示した。細菌による減少数に差が認められるが、全ての細菌においてUV照射90分で十分な抗菌活性が得られた。また、UVA照射単独群においても細菌数の減少が認められ、UVA自体の細胞傷害効果と関連していると考えられる。

光触媒分解の主なメカニズムは、ヒドロキシルラジカルの細菌細胞壁に対する破壊である。これは、ラジカルが脂質過酸化を引き起こすことで細胞質膜を損傷し、透過性を増加させる。TiO<sub>2</sub>の抗菌効果は細胞質膜の障害に基づく報告されている。細菌の種類によっては、減少数に差が認められた。その理由は、細菌の種類や細菌の感受性により、ヒドロキシルラジカルの細菌に対する影響が変化すると考えられる。TiO<sub>2</sub>コーティングの様々な細菌に対する抗菌活性は、主に細胞壁の構造と密度、細菌の種類によって決定される。今回の結果では、*S. mutans*はUVAに対して最も耐性があった。*S. sobrinus* および*S. oralis*はUVAに非常に感受性が高かった。細菌間のUVAに対する感受性の反応の原因には、いくつかの要因が存在する可能性がある。UV損傷を誘発するのに関与する種々の活性酸素種の生成は種によって異なることがある。さらに、DNAに起因する損傷に対する防御機構および修復方法は、細菌によって異なる。生体分子への酸化的損傷および保護機構の相殺は、細菌間のUVA感受性の差が根底にある。しかし、UV照射に対する*S. oralis* および*S. sobrinus*の感受性が高い理由は不明である。UVAに対する口腔細菌の感受性および機序を理解するためには、さらなる研究が必要である。

一般的に、歯科矯正治療においてう蝕予防は重要であり、う蝕原性細菌として知られる*S. mutans* および*S. sobrinus*に対して光触媒TiO<sub>2</sub>が有効であることが示された。

曲げ強度に関しては、長時間照射しても曲げ強度に大きな差は見られなかった。UV照射された試験片は、ISO 20795-2規格値の要件を満たした。同様に曲げ弾性係数に関しても、長時間照射後も差はなかった。リテーナの推奨使用期間である約2年分の照射を行っても、耐久性は十分な値を示した。

親水性に関しては、光触媒TiO<sub>2</sub>コーティングは、レジン試料表面上の親水性の効果が得られた。本研究では、歯科矯正レジン表面の親水性を向上させることにより、早期定着菌の付着を抑制し、その後の他の細菌の付着を抑制することで、歯

科矯正装置に付着する細菌数を減らすことができる。早期定着菌の抑制は、全身疾患のリスクを低下させる可能性がある。また、食品等の他の汚れの付着を抑制できると考えられる。

#### 【結 論】

紫外光応答型光触媒酸化チタンコーティングは優れた抗菌効果、耐久性、親水性を示し、歯科矯正装置への臨床応用の可能性を示唆した。

#### 審査の結果の要旨

矯正治療後に利用されることの多いプレートタイプのリテーナーへのバイオフィーム形成を抑制することは、装置装着中における口腔内の環境悪化を防御するために極めて重要な要件である。これまでも歯科用消毒剤、抗菌剤および防腐剤コーティングなどが用いられているが、様々の問題点を有している。そこで本研究は、有害物質の酸化分解や親水性効果を示し、バイオフィームの形成抑制が期待できる紫外光応答型光触媒酸化チタンコーティングを応用し、その抗菌性、セルフクリーニング効果さらに材料の物性への影響を検討したものである。

矯正用即時重合レジンの試験片に2種類の二酸化チタンを保護接着層としてNRC350Aを塗布し、その上に光触媒層としてNRC360Cでコーティングした。さらに352 nmの紫外線を適時照射し抗菌性、耐久性、親水性の評価を行った。抗菌性の評価は、コーティングの有無および紫外線照射の有無で4群に分け、初期定着菌として*S. oralis*、*S. gordonii*、*S. mitis* および *S. sanguinis* さらにバイオフィーム形成に重要な *S. mutans* および *S. sobrinus* の供試細菌に対して行った。物性の評価は、紫外線を0から最大1,400時間まで段階的に照射し、三点曲げ試験を行って曲げ強さおよび曲げ弾性係数を測定した。親水性効果については、画像解析プログラムを用いて接触角を測定し評価した。

その結果、TiO<sub>2</sub>コーティングと紫外線照射を併用した群が全ての菌種に対して最大の抗菌活性を示した。また*S. oralis*、*S. gordonii*、の初期定着菌に対しても紫外線照射20分後に細菌数の減少が認められ、照射時間の増加により急速な減少を示した。物性の試験においても曲げ強度、曲げ弾性係数において紫外線照射による影響は認められなかった。また、TiO<sub>2</sub>コーティングによる親水性効果が示された。

以上、本研究は紫外光応答型光触媒酸化チタンコーティング歯科用レジンの優れた抗菌性を実証するとともに親水性によるセルフクリーニング効果さらに長期の紫外線照射への耐久性についても確認しており、歯科矯正治療における臨床的価値は極めて大きい。また、この研究の方法およびこの成果は他の歯科材料への応用が期待でき、歯科医療においても価値の高いものとする。

よって、本論文は博士（歯学）の学位請求論文として十分価値を有するものと判定した。