

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 今 泉 直 也
博士の専攻分野 博 士 (歯 学)
学位記番号 甲 第 515 号
学位授与年月日 令和4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 Analysis of the Effect on Denture Base Metal of Cleaning with Denture Cleanser Using the Quartz
Crystal Microbalance Method
(義歯洗浄剤による金属材料表面における洗浄効果の QCM 解析)
Hygiene 第1巻 第3号 129頁～139頁掲載 2021年12月3日発行
論文審査委員 主査 教授 山 越 康 雄
副査 教授 山 本 雄 嗣 副査 教授 大 久 保 力 廣

内 容 の 要 旨

【緒 言】

近年、口腔衛生状態を改善することによって、誤嚥性肺炎の発症を予防できる可能性が示唆されており、多くの高齢者が装着する義歯の洗浄は、とても重要である。

義歯の洗浄効果の研究は多くなされてきたが、未だにデンチャープラークは多数の細菌やタンパクが密接に関与し、複雑な成分組成を呈しているため、洗浄方法に関して画一した方法は見出されていない。デンチャープラーク形成に関するこれまでの研究報告から、義歯装着後1日目には唾液性タンパクが義歯床表面に付着し、その後に細菌が付着することでデンチャープラークが形成されると考えられる。多くの義歯洗浄に関する研究は細菌を対象として実施されており、唾液性タンパクから構成されるペリクルに対する義歯洗浄剤の洗浄効果に関しては、詳細に評価している基礎的研究はほとんどみられない。

本研究では、水晶発振子マイクロバランス (QCM) 法を用いて、唾液性タンパクの金属材料表面の吸着と、その後の義歯洗浄剤による唾液性タンパクの除去効果について経時的かつ定量的に分析した。QCM 法は、水晶振動子の振動数の違いを測定することで、物質表面へのタンパク質の吸着を検出する簡便な方法である。これまで QCM 法を用いて義歯床用金属材料やインプラント材料に対する唾液性タンパクの吸着量の経時的変化を解析されてきたが、QCM 法を用いて義歯洗浄剤による義歯床用金属材料における洗浄効果を比較検討したのは本研究が初めてである。

【材料と方法】

1) QCM 装置

QCM 法は水晶板の両側に電極薄膜を蒸着し、交流電場を加えると、ある一定の周波数で水晶発振子が振動することを利用しており、電極薄膜上にタンパクなどの物質がナノグラムオーダーで吸着すると物質の質量に比例して振動数が減少し、逆に電極薄膜上からはがれると振動数は増加する。本研究では、周波数 27 MHz の高感度 QCM 装置を用い QCM 解析を行った。義歯床用金属材料を想定し、Au センサーと Ti センサーを用意し、実験温度を 25℃ に設定した QCM 装置に金属センサー一体型のセンサーセルを装着した。吸着させる唾液性タンパクとしてアルブミン (BSA) を用いた。義歯洗浄剤は、界面活性作用の大きい陽イオン界面活性剤である塩化セチルピリジニウムが含有しているデントムースと、過酸化剤とタンパク質分解酵素が含有されているポリドントを使用した。

2) 接触角の測定

センサーセルで用いた金属のぬれ性を評価するために接触角の測定を行った。接触角測定にはUV照射を行ったJIS2種TiシートとAuシートを用いた。各材料において純水に対する接触角を接触角計にて、水滴量0.5 μl の条件で水滴下10秒後に測定し、測定は10回ずつ行った。

3) QCM解析

UV照射したAuおよびTiセンサー一体型のセンサーセル内にBSA溶液10 mg/mlを300 μl 注入し、24時間吸着させ、センサーセル内を蒸留水で洗浄し、溶液を除去、乾燥させることで、BSAをセンサー上に固定した。その後、センサーセル内にリン酸緩衝溶液(PBS, pH=7.4)を450 μl 注入し、振動数が安定した後、各種義歯洗浄剤を50 μl を注入し、攪拌しながら振動数の変化を経時的に2時間測定した。実験は各条件において3回ずつ行った。

BSA固定量はBSA固定前の振動数とBSA固定後の振動数との差をSauerbreyの式に代入することで算出した。BSA除去量は義歯洗浄剤注入前の振動数と義歯洗浄剤注入後1、および2時間後の振動数との差をSauerbreyの式に代入することで算出した。BSA除去率はBSA除去量をBSA固定量で除することで算出した。義歯洗浄剤注入後の振動数の経時的変化は振動数変化曲線として検出した。また、義歯洗浄剤の時間ごとの洗浄効果を検討するため、義歯洗浄剤注入後1時間(以下時間帯①とする)とその後1時間(以下時間帯②とする)のBSA除去率を比較検討した。①の除去率は1時間経過時のBSA除去量を義歯洗浄剤注入時のBSA固定量で除することで算出し、②の除去率は除去量を義歯洗浄剤注入後1時間経過時に残留しているBSA量で除することで算出した。

4) 統計処理

統計処理は、IBM SPSS Statistics Version 23 (IBM Corp, New York City, USA)を用いて一元配置分散分析を行った後に、Tukeyの多重比較を行った。なお有意水準は $\alpha=0.05$ とした。

【結果および考察】

本研究では、デントムースおよびポリデントをBSA固定化したAuセンサーおよびTiセンサーに使用することで、義歯洗浄剤の除去挙動および除去率について比較検討を行った。接触角はAuで40.1°、またTiにおいては21.3°であった。Tiの方がAuより有意に小さい値を示したことから、Tiの方がAuよりもぬれ性が高いことが示唆された。一般にタンパクの吸着強さは材料表面のぬれ性が関与していると考えられており、タンパクの金属材料の吸着では、静電的相互作用や水素結合、疎水的相互作用などの因子に加え、水溶液中でのタンパクの3次元的なコンフォメーションなどが影響するとされており、材料へのタンパクの吸着は接触角や表面粗さなど複数の因子の影響が考えられる。

本研究で算出したBSA固定量はAuで1,101 ng/cm²、Tiで1,188 ng/cm²であり、Au、およびTiセンサーのBSA固定量に有意差は認められなかった。2時間経過後の義歯洗浄剤によるBSAの除去率はデントムースにおいて、Auで4.8%、Tiで9.8%であった。また、ポリデントにおいてはAuで15.8%、Tiで69.1%であり、デントムースおよびポリデントにおいてAuよりもTiの方が有意に大きいことが確認できた。義歯洗浄剤の時間帯ごとの除去効果では、デントムースおよびポリデントにおいてTiは時間帯①の方が、②よりも有意に大きい除去率を示し、Auではデントムースおよびポリデントの時間帯ごとの除去率に有意差は認められなかった。この結果から、Tiに固定された唾液性タンパクはAuと比較し、早期に義歯洗浄剤により除去されることが示唆された。しかし、タンパクの吸着機序は複雑であり、不明確な部分が多いため、タンパクの吸着を検討する際には、粗さ、形態、化学的性質、表面エネルギー、ぬれ性、および電荷などの表面特性の影響についてさらに検討する必要がある。

QCM法は簡便かつ物質の着脱が経時的に確認できるという利点はあるが、制約も存在する。その1つとして、金属センサーは、機械的刺激により水晶板を傷つけてしまう恐れがあるため、QCM法単独では機械的洗浄法を解析することは困難である事が挙げられる。そのため、デンチャープラークコントロールの機械的清掃法における除去効果を検討するためには、他のタンパクを定量化できる方法と組み合わせる必要がある。

今後は義歯床用材料として使用されている他の材料のセンサーや、ペリクルを構成している他の唾液性タンパクへの義歯洗浄剤の除去効果を検討することが可能である。また、他の検討方法と組み合わせることでより幅広い知見が得られると考えられる。更に、義歯床用材料と義歯洗浄剤の除去効果の高い組み合わせを見出すことでデンチャープラークを効率的に除去し、義歯性口内炎、および誤嚥性肺炎のリスクを減らすことに役立てる所存である。

【結 論】

27 MHzの高感度 QCM 装置を用いることで、義歯床用金属材料に吸着した唾液性タンパクの固定量と除去率から義歯洗浄剤の効果を確認できた。QCM 法は義歯床用金属材料に対する義歯洗浄剤の唾液性タンパクの除去効果の解析に有効であることが示唆された。

審査の結果の要旨

デンチャープラークは多数の細菌やタンパク質が密接に関与しているため、洗浄方法に関する画一した方法は見出されていない。本研究では、水晶発振子マイクロバランス (QCM) 法を用いて、唾液タンパク質の金属材料表面の吸着と、その後の義歯洗浄剤によるそれらの除去効果について分析することを目的とした。

義歯床用金属材料として Ti および Au を選択し、UV 照射したそれらのシートに対してぬれ性を評価した。次に、Ti および Au センサー一体型のセンサーセルを QCM 装置に装着し、唾液タンパク質としてアルブミン (BSA) を吸着させた。義歯洗浄剤には、デントムースまたはポリデントを使用し、センサーセル内に注入して経時的に 2 時間振動数を測定した。

ぬれ性は Ti の方が Au よりも高いことが示されたが、QCM 解析において、Au および Ti センサー上の BSA 固定量に有意差は認められなかった。義歯洗浄剤注入による 2 時間後の BSA 除去率はデントムースおよびポリデント共に Ti の方が Au よりも有意に高かった。また、両義歯洗浄剤共に Ti は注入 1 時間後の除去効果が 2 時間後のそれよりも有意に高く、Au では注入 1 時間後および 2 時間後の除去効果に差は認められなかったことより、Ti に固定された BSA は Au よりも早い段階で義歯洗浄剤により除去されることが示唆された。

以上より、義歯床用金属材料に吸着した唾液タンパク質の固定量と除去率から義歯洗浄剤の効果を確認することができた。

本研究は、QCM 法を用いて義歯床用金属材料に吸着した唾液タンパク質に対する義歯洗浄剤による洗浄効果を比較検討した初めての研究である。今後、義歯床用材料と義歯洗浄剤の除去効果の高い組み合わせを見出すことでデンチャープラークを効率的に除去し、義歯性口内炎や誤嚥性肺炎のリスク軽減に役立つ可能性がある。

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