

学位申請論文

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野

71421086

笠原 紗也子

原著

原稿総紙数 33 枚 (本文, 文献, 表題脚注)
図 8 枚 (図 1~図 3, 図 5~図 9)
写真 1 枚 (図 4)
表 1 枚 (表 1)
別刷数 50 部
連絡先 笠原 紗也子
(勤) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・
再建学講座 歯科保存修復学分野 電話内線 6672
(住) 〒700-0827 岡山市北区平和町 6-28
電話 (086) 223-7255
表題 クロルヘキシジン配合セルフエッチングアドヒーズの
Streptococcus mutans に対する抗菌性について
所属氏名 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座
歯科保存修復学分野
笠原紗也子

クロルヘキシジン配合セルフエッチングアドヒーズブの

Streptococcus mutans に対する抗菌性について

笠原 紗也子

Antibacterial properties for *Streptococcus mutans*

of the chlorhexidine combination self-etching adhesive

Sayako Kasahara

(平成 24 年 12 月 14 日受付)

緒言

近年の歯科領域において接着修復材料の進歩はめざましく、研究開発が進んでいる。現在、主に使用されている接着修復材料としてコンポジットレジンとガラスイオノマーセメントがあげられる。そのうちのガラスイオノマーセメントはフッ素を徐放することから歯質の再石灰化を促進し強化することが知られているが、コンポジットレジンよりも接着力・耐久性・審美性に劣り応用可能な症例にも制限がある。1970 年代に総山らが提唱して以来、コンポジットレジン接着修復は現代の歯科臨床にまたたく間に普及した。2000 年に FDI (Federation Dentaire Internationale) が最小の侵襲で歯科治療を行う Minimal Intervention (MI) の概念を発表してから後、よりコンポジットレジンの需要は高まり現在の歯科臨床

においては欠かせない歯科材料となっている¹⁾。

しかし現代の修復治療後の修復物における 10 年の推定生存率はコンポジットレジン 60.4%，その他の修復物でも 4/5 冠 60.5%，メタルインレー 67.5%，メタルクラウン 55.8%，メタルブリッジでは 31.9%という報告があり修復物は 10 年に満たない期間で再治療または抜歯に至ることが報告されている^{2, 3)}。再治療または抜歯に至る原因の一つとして問題視されている二次う蝕の発症抑制を修復材料からも積極的に取り組むことは長年の歯科材料における大きな課題である。

修復物の辺縁破折や窩縁エナメル質の破折，修復接着材の劣化や接着界面における象牙細管内のコラーゲン変性などにより引き起こされる修復物と歯質との接着力の低下はう蝕原性細菌が侵入し増殖する隙間を生じる⁴⁻⁸⁾。またう蝕除去後の象牙質細管中にう蝕原性細菌が残留した場合，修復材の接着力を低下させやすく歯質と修復材の間に隙間を生じう蝕原性菌が増殖する原因となる⁸⁾。他にも様々な二次う蝕の原因となる因子は臨床において多くみられる。

二次う蝕の原因となる様々な因子のうちコンポジットレジンの微小漏洩については，接着界面部分において材料の顕著な劣化に起因することが過去において報告されている^{9, 10)}。またコンポジットレジン修復処置においてテクニカルエラーによる被着面への唾液や血液，歯肉溝浸出液による汚染は接着界面における修復材料の接着力低下に影響を与える大きな因子である¹¹⁾。そのため接着システムの簡略化は臨床における歯面処理中のテクニカルエ

ラーの減少と同時にチェアタイムの短縮へとつながる。

従来のエッチング、プライミング、ボンディングの3ステップを行う接着システムから1ステップで歯面への処理と接着が可能なセルフ・エッチング・プライミング・ボンディングレジジンが数多く研究・開発され¹²⁻¹⁵⁾、生物学的機能（バイオアクティブ）を併せ持つ接着材料についても研究されている¹⁶⁻¹⁷⁾。バイオアクティブの中でもう蝕原性菌への抗菌性を持つ接着修復材料開発への関心は高く、抗菌性モノマーである MDPB (12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide) を含有したメガボンド FA (クラレノリタケデンタル) といった商品が販売され臨床においても使用されている。

欧米諸国では、う蝕除去後にクロルヘキシジン（以下 CHX）を含む前処理材（CAVITY CLEANSER, BISCO）を用いての窩洞面の清掃・消毒が一般的に行われている。わが国においても CHX を洗口剤や歯面清掃剤に配合した商品が利用されている。CHX は広範囲の微生物に抗菌性を示し、特にグラム陽性菌・陰性菌に有効であることから *Streptococcus mutans*（以下 *S. mutans*）に対する抗菌性、プラークの形成抑制効果があることが報告されている¹⁹⁻²²⁾。

またう蝕原性菌は修復物と歯質の間の空隙が狭ければ増殖せず生菌数が少なくなり、緊密に修復されていれば細菌が生活し存在していても増殖せず 10 年の経過観察においても良好な臨床成績をあげていたこと^{6,32)}、コンポジットレジン修復前に歯面を CHX にて前処理を行った場合、象牙細管内のコラーゲン変性を抑えコンポジットレジンの接着力の低下を

抑制する可能性があることが過去において報告されている²³⁻³³⁾。CHXによる前処理は、う蝕原性菌である *S. mutans* に対して抗菌性を示し、コンポジットレジンの辺縁微小漏洩を防止する可能性があることが示唆されている。

様々な CHX を応用した研究が行われているが、接着材に CHX を配合し光硬化した後の抗菌性に対する報告は少ない。そこで本研究では、CHX を配合したセルフエッチングアドヒーシブシステムを有する試作接着材 (CHSEA) を用いて *S. mutans* に対する抗菌性を未重合と重合後について検討した。

材料および方法

1. CHSEA の作製

Chlorhexidine diacetate salt (SIGMA) を試作セルフエッチングアドヒーシブ (表 1) に配合し攪拌器 (VORTEX-GENIE2, scientific Industries) を用いて十分に攪拌させ CHSEA を作製した。Chlorhexidine diacetate salt を配合しないセルフエッチングアドヒーシブを 0wt%CHSEA とし、0~5wt%の CHSEA を作製し実験に使用した。

2. 供試菌, 培地および培養方法

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔微生物学分野保存の *S. mutans* GS5 株を本研究に

供した。

培地はTryptic Soy Broth - Yeast (Tryptic Soy Broth, Bacto™ Yeast Extract, BD, 以下TSBY) を用いた。Anaero Pack 角型ジャー (三菱ガス化学株式会社) と Anaero Pack・ケンキ (三菱ガス化学株式会社) を用い、供試菌株をTSBYで37℃, 24時間嫌気前培養した。嫌気培養のすべてにAnaero Pack 角型ジャーとAnaero Pack・ケンキを使用している。菌液は前培養した供試菌株をTSBYで37℃, 5時間嫌気培養し 9.5×10^9 colony forming unit (CFU) /ml に調整し、これを被検菌液として実験に供した。

3. 抗菌試験

1) 未重合 CHSEA による *S. mutans* に対する抗菌性評価

ディスク拡散法にて未重合の0~5wt%CHSEAの*S. mutans*に対する抗菌性を検討した。*S. mutans* 培養菌液 (4.75×10^9 CFU) を TSBY 寒天平板培地に播種しその上に直径6mm厚さ1mmの滅菌ペーパーディスクに未重合CHSEAを5 μ l含浸させ、コントロールとしてCHXを配合したPBS (D-PBS (-), Wako) を5 μ l同様に含浸させ静置した。配置を図3)に示す。

以上の操作をクリーンベンチ内で無菌的に行った。ろ紙に含ませた未重合時CHSEAとPBSのCHX配合濃度を図3に示す。その後37℃, 24時間嫌気培養し現れた阻止円の直径を1試料につき2か所測定した。統計処理を行い、有意差の検定にはone-way ANOVAおよびTukey methodsを用いた。

2) 重合 CHSEA による *S. mutans* に対する抗菌性の検討

(1) 重合 CHSEA の作製

各濃度の未重合 CHSEA を直径 6 mm, 厚さ 1mm の円形のモールドに流し込み, 片面 2 分間ずつ光照射器 (Blue shot, SHOFU) を用いて重合した CHSEA を作製した。その後, 表層の未重合層を 80%エタノールでふき取った。

(2) 重合 CHSEA の滅菌

重合後の CHSEA を各 CHX 濃度別に封入式ハイゼックスフィルムに個別包装し, EOG 滅菌器 (クリーンパック, DC-77 型, 新鋭) を用いて酸化エチレン 10%と炭酸ガス 90%に混合したガスにて滅菌を行った。そして 37°Cの保温庫で 24 時間保管後, 個別包装の封を一部破りクリーンベンチ内で 48 時間ガスを放出させてから実験に供した。

(3) CHSEA 浸漬水の作製

12 穴平底マルチウェルプレート (MULTIWELL™ 12WELL, BD) を用いて隣り合わないように各濃度の重合 CHSEA 1.2 g を滅菌水 3 ml に浸漬させた。また, 重合 CHSEA を浸漬していない穴には滅菌水 3ml を注入し乾燥を防いだ。浸漬期間を 1 週間 (1W), 2 週間 (2W), 3 週間 (3W) 浸漬群, 1 週間浸漬後水交換し 1 週間浸漬させた群 (1W→1W), 1 週間ごとの水交換を 2 回繰り返した後 1 週間浸漬させた群 (1W→1W→1W) とした。CHSEA 浸漬水は, マルチウェルプレートから浸漬水のみを採取し実験に使用した。

(4) 重合 CHSEA 浸漬水による抗菌性の検討

CHSEA 浸漬水 900 μ l に 10 倍濃縮 TSBY を 100 μ l 加え 1000 μ l の試験液を作製し、そのうちの 980 μ l に 20 μ l の菌液 (1.9×10^3 CFU) を加え攪拌させた後に 37°C, 24 時間嫌気培養を行った。24 時間後, TSBY にて 10 倍段階希釈法を用いて希釈し TSBY 寒天平板培地に 100 μ l 塗抹した。そして 37°C, 24 時間嫌気培養後に培地上にみられる集落数を計測した。統計処理を行い, 有意差の検定には two-way ANOVA および Tukey methods を用いた。

結 果

CHSEA による抗菌性

1) 未重合 CHSEA による *S. mutans* に対する抗菌性

0~5wt% の未重合 CHSEA, CHX 配合 PBS を含んだろ紙により形成される阻止円を観察した写真を図 3 に示す。CHX 無配合の 0wt% では CHSEA, PBS とともに阻止円は観察されなかったが CHX 配合濃度 0.01wt% からわずかに阻止円が確認され, 1wt% までは濃度依存的に阻止円の形成がみられた。1~5wt% では CHSEA, PBS どちらも阻止円の大きさに差はみられなかった。また各 CHX 濃度の CHSEA, PBS の阻止円直径を one - way ANOVA および Tukey methods による統計処理を行った結果, 0.01~1wt% では各濃度間における差が認めら

れた ($p < 0.05$, 図 4)。一方 1~5wt%間では CHSEA, PBS いずれにおいても各濃度間における差は認められなかった ($p > 0.05$, 図 5)。

2) 重合 CHSEA による *S. mutans* に対する抗菌性

0~5wt%の CHX 配合 CHSEA 浸漬期間を 1 週間群 (1W), 2 週間群 (2W), 3 週間群 (3W), 1 週間浸漬後水交換し 1 週間浸漬させた群 (1W→1W), 1 週間浸漬ごとの水交換を 2 回行った後 1 週間浸漬させた群 (1W→1W→1W) として *S. mutans* の生存コロニー数について検討した結果を two-way ANOVA および Tukey methods により統計処理した (図 6, 7, 8, 9)。浸漬期間 1W, 2W, 3W において比較検討したところ CHX 配合濃度が高い程また浸漬間が長い程 *S. mutans* の生存コロニー数は減少する傾向を示した (図 6, 7)。1W の結果より CHX 配合濃度が高い程 *S. mutans* の生存コロニー数は減少する傾向を示した。*S. mutans* の生存コロニー数が最も少なかったのは 4wt%と 5wt%であり, 浸漬間による差はなかった (図 7)。2W では 3wt%以上, 3W では 2wt%以上で 4wt%以上の CHX 配合濃度の CHSEA 水における *S. mutans* の生存コロニー数と同等であった (図 6)。

次に 1 週間群 (1W), 1 週間浸漬後に水交換し 1 週間浸漬させた群 (1W→1W), 1 週間ごとの浸漬水交換を行い 1 週間浸漬させた群 (1W→1W→1W) では, 1 週間ごとに滅菌水を交換する度 *S. mutans* のコロニー数と抗菌性がみられる CHX 配合濃度は高くなる傾向 (図 8, 9) がみられたが各浸漬期間において生存する *S. mutans* の生存コロニー数は CHX の配合濃度依存的に減少していた (図 8)。1W では CHX 配合濃度 1wt%以上, 1W→1W では

2wt%以上, 1W→1W→1W では3wt%以上において *S. mutans* の生存コロニー数は減少していた (図 8)。

考 察

欧米諸国では、修復治療前にう蝕除去後の窩洞面を清掃・消毒するため CHX を含有する前処理材 (CAVITY CLEANSER, BISCO) が普及し一般的に使用されている。CHX は陽イオン性化合物であり、低濃度では細胞膜に障害を与え細胞質成分の不可逆的漏出や酵素阻害を起し、高濃度では細胞内のたん白質や核酸の沈着を起すことにより抗菌作用を示す。広範囲の微生物に対し作用するが、特にグラム陽性菌・陰性菌に対して有効でありプラークの形成抑制効果があることが報告されている¹⁹⁻²²⁾。

近年の研究ではコンポジットレジン修復後の接着界面において象牙質の露出コラーゲン線維が MMP (Matrix Metalloproteinases) によって加水分解され接着力の低下を起していることが報告されている⁸⁾。また CHX が象牙質のコラーゲン MMP 活性を抑え接着修復材の劣化を防ぎ長期間の歯質接着性を保つ可能性があることが報告されている^{23, 25, 26, 29)}。

過去の研究において PMMA レジンセメントに CHX を配合し硬化後ディスク拡散法にて *S. mutans* に対する抗菌性を確認したことが報告されている³¹⁾。本研究においても、CHX 配合濃度 0~5wt%の未重合 CHSEA の *S. mutans* に対する抗菌性をディスク拡散法を用い

て検討した。CHX 配合濃度 0wt%の CHSEA と PBS は阻止円が形成されず、また 0.01wt% 以上の CHSEA と CHX 配合 PBS における阻止円の幅に有意差はみられなかった。このことからセルフエッチングアドヒーズに CHX を配合しても未重合では、CHX そのものの抗菌性を阻害しなかったと考えられる。CHSEA と CHX 配合 PBS いずれにおいても 0.01~1wt% までは濃度依存的に阻止円の拡大が認められ、1wt%以上の CHX 配合濃度では CHSEA と CHX 配合 PBS の阻止円は拡大しなかった。このことから 5 μ l の CHSEA, CHX 配合 PBS 中の CHX が寒天平板培地に浸透・拡大するには限界があり、今回の実験においては限界 CHX 量は 1wt%だったと思われる。

また、本実験では重合後の CHSEA を滅菌水に浸漬することで *S. mutans* に対する抗菌性を確認した。浸漬期間 1W, 2W, 3W においては CHX 配合濃度が高い程また浸漬期間が長い程 *S. mutans* の生存コロニー数は減少する傾向がみられる (図 6, 7)。1W の結果より CHX 配合濃度が高い程 *S. mutans* の生存コロニー数が減少していた。1W から 3W にかけて *S. mutans* の生存コロニー数が減少したのは浸漬期間が長い程、重合 CHSEA から放出される CHX が累積したためと思われる (図 6, 7)。 *S. mutans* の生存コロニー数が最も少なかったのは 4wt%と 5wt%であり浸漬期間による差はみられなかった (図 7)。

2W では 3wt%以上、3W では 2wt%以上で 4wt%以上の CHX 配合濃度の CHSEA 水における *S. mutans* の生存コロニー数と同等であった (図 6)。このことから 2W では 3wt%以上から、

3Wでは2wt%以上において4wt%以上の重合CHSEAから放出されたCHXと同等の*S. mutans*への影響力を持つCHX量が放出されたと考えられる。

浸漬期間1週間群(1W), 1週間浸漬後水交換し1週間浸漬させた群(1W→1W), 1週間浸漬ごとの水交換を2回行った後1週間浸漬させた群(1W→1W→1W)においては1週間ごとに滅菌水を交換する度,*S. mutans*のコロニー数と増殖抑制が可能なCHX配合濃度は高くなる傾向(図8, 9)がみられたが各浸漬期間において生存する*S. mutans*の生存コロニーはCHX配合濃度依存的に減少していた(図8)。1WではCHX配合濃度1wt%以上, 1W→1Wでは2wt%以上, 1W→1W→1Wでは3wt%以上において*S. mutans*の生存コロニー数は減少していた(図8)。

すなわち重合後CHSEAは1週間で水中へ多量のCHXを放出し, その後も継続して微量にCHXを水中へ放出し続けるが3週間*S. mutans*の増殖を抑制するには3wt%以上のCHXの配合が必要であったと思われる。

過去におけるCHXをレジンセメントに配合し硬化させた後水中浸漬させた実験³⁰⁾でも水中浸漬期間初期でCHXが多量に放出されていたことが確認されており, また2週間以上の抗菌性を保つためにはCHX配合濃度3wt%以上が必要であったことが報告されている。本研究のセルフエッチングアドヒーズによる結果と同様の傾向が示唆されていた。

過去の論文においてCHXの歯面処理は抗菌性¹⁸⁻²¹⁾のみならず接着修復材料の長期接着性を向上させる²²⁻³¹⁾可能性が示唆されている。本研究においても未重合と重合後のCHSEAよ

る *S. mutans* の抗菌性が示唆された。現段階では *S. mutans* への効果が確認されている CHX の配合濃度は高く、また接着材に CHX を配合した場合の接着強さ、耐久性など物性に関して判明していない点が多い。今後、臨床での応用に関して理工学的な性質に対してもさらに検討を行っていく予定である。

結 論

CHSEA は未重合・重合後においても腐原性菌である *S. mutans* の増殖を抑制したことが確認された。CHSEA の未重合における抗菌性は接着修復物の被着面の無菌化が期待され、また重合後における抗菌性は歯質と修復物との接着界面からの細菌の侵入を抑制する可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始ご懇切なるご指導と御校閲を賜った岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野 吉山昌宏教授に深甚なる感謝の意を示します。また、

研究の遂行に際し多大な御教示，御示唆を頂いた岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野 西谷佳浩准教授ならびに口腔微生物学分野 大原直也教授に謹んで感謝の意を表します。

さらに，本研究に貴重なご協力を頂きましたサンメディカル株式会社 井波千鶴様，小里達也様，また研究を進めるにあたりご配慮を頂いた岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野ならびに岡山大学病院むし歯科の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 吉山昌宏, 伊藤博夫, 十河基文 : MI コンセプトのコンポジットレジン修復. MI 時代歯科知識—プラークコントロールサイエンス&プラクティス—, 47-62, 2009
- 2) 青山貴則, 相田 潤, 竹原順次, 森田 学 : 臼歯部修復物の生存期間に関連する要因. 口腔衛生誌, **58**, 16-24, 2008
- 3) G, Moncada, . E, Fernández, . J, Martín, . C, Arancibia, . I, Mojör, . VV, Gordan: Increasing the Longevity of Restorations by Minimal Intervention: A Two-year Clinical Trial. *Operative Dentistry*. **33-3**, 258-264, 2008
- 4) 小林久紀, 富谷順三, 松尾堯司, 藤井佐代子, 清水建彦, 藤井弁次 : 窩縁部の処理

- 方法とコンポジットレジン修復の辺縁封鎖性. 日歯保存誌, **21**(3), 413-418, 1978
- 5) 笠間 茂: コンポジットレジン充填窩縁部の継時的変化に関する研究 3) 各種窩縁形態における窩壁適合性について 付. 臨床経過観察. 日歯保存誌, **21**(3), 59-72, 1978
- 6) 吉川孝子, 田上順次: コンポジットレジンの接着強さに及ぼす象牙細管の影響. 日歯保存誌, **55**(1), 103-108, 2012
- 7) 向井義晴, 齊藤正寛, 寺中敏夫, 岩本次男, 久保田隆朗, 佐藤貞雄, 鈴木祥井: ヒト象牙質中に存在するリン蛋白分解酵素に関する研究. 歯基礎誌, **33**, 61-69, 1991
- 8) 鈴木敏光: 修復物辺縁の微小漏洩に関する細菌学的研究. 日歯保誌, **25**(2), 294-311, 1982
- 9) 川口 稔, 福島忠男, 宮崎光治: 歯科用コンポジットレジンの劣化因子. 歯科材料・機器, **13**(2), 116-121, 1994
- 10) 秋元尚武, 横山 元, 桃井保子, 河野 篤: 樹脂未含浸脱灰象牙質の接着に及ぼす影響. 接着歯学, **19**, 16-25, 2001
- 11) Hashimoto, M., Ohno, H., M, Endo, Sano, H., Oguchi, H. : Resin-tooth adhesive interfaces after long-term function, *American Journal of Dentistry*, **14**(4), 211-215, 2001
- 12) 高橋圭: オールインワン接着システムにおけるエナメル質・象牙質接1着へ及ぼす唾液または血液汚染の影響. 岡山歯誌, **28**(1), 1-14, 2009
- 13) 木津喜 出, 奈良陽一郎, 田中久義: 口腔内環境を想定した複合ストレスがオールイン

ワンアドヒーシブシステムの微小漏洩と接着強さに及ぼす影響. 日歯保存誌, 47(2), 184-205, 2004

14) 柳川敏夫, 伊藤和雄, 和久本貞雄: 4META 系 Bonding Agent と UDMA をベースとするコンポジットレジンシステムの接着性について—MMA/TBB-O 起媒方式の Bonding Agent の開発—, 歯科材料・器機 7 (3), 419-424, 1988

15) 押川亮宏, 花岡孝治, 海老原 敬, 倉田茂昭, 榎本貢三, 近藤行成, 好野則夫, 寺中敏夫: 歯科用接着材の接着性ならびに耐久性についての研究 — 2 報 種々な機能性モノマーの歯質接着性および耐久性—, 歯科材料・器機, 27(3), 246-255, 2008

16) 西山典宏, 岩井仁寿, 藤田光, 岩井啓寿, 高橋治好, 矢口剛宏, 池見宅司: 4-META 添加ワンステップボンディング剤の開発, 日本歯科理工学会誌, 30(4), 259-265, 2011

17) 宮内貴弘: バイオアクティブ修復材料によるう蝕象牙質の再石灰化. 日歯保存誌, 52 (6), 469-482, 2009

18) 海老原 敬, 花岡孝治, 岡田周策, 寺中敏夫: 抗菌性モノマーMDPB 配合試作接着システムからのフッ化物および臭化物イオンの象牙質への拡散. 神奈川歯学, 39(1) , 21-29, 2004

19) Idris, Mehdawai, . Ensanya, A, . Abou, Neel, . Sabeel, P, . Graham, Palmer, . Vehid, Salih, . Jonathan, Pratten, . Dave, A, Spratt, . Anne, M, Young. : Development of remineralizing,

antibacterial dental materials. *Acta Biomaterialia*, **5**, 2525-2539, 2009

20)吉明直人, 音琴淳一, 藤川謙次, 佐野裕士, 伊藤公一, 村井正大 : Viadent®および Chlorhexidine のプラーク抑制効果, 日歯周誌, **28**(1), 235-243, 1986

21)関野諭, 相羽玲子, 相羽寿史, 塚原武典, 田代俊男, 岡本浩 : 各種洗口剤のプラーク形成抑制効果に関する研究, 日歯周誌, **43**(3), 283-288, 2001

22) Yoshikai, Nomura, . Hirokai, Takeuchi, . Noboru, Kaneko, . Khairul, Matin, . Ritsuko, Iguchi, . Yoshihiro, Toyoshima, . Yoshiharu, Kono, . Takuji, Ikemi, . Susumu, Imai, . Toshiki, Nishizawa, . Kazui, Fukushima, . Nobuhiro, Hanada : Feasibility of eradication of mutans streptococci from oral cavities. *Journal of Oral Science*, **46** (3) , 179-183, 2004

23) J Autio-Gold : The Role of Chlorhexidine in Caries Prevention, *Operative Dentistry*, **33**(6), 710-716, 2008

24) Mobarak, EH. , El-Korashy, DI. , Pashley, DH. : Effect of chlorhexidine concentrations on micro-shear bond strength of self-etch adhesive to normal and caries-affected dentin.

Amer. J. Dent. , **23** (4), 217-22, 2010

25) Ferenshteh, Shafiei, DMD, . MS, Mahtab, Memarpour, DMD. : Effect of chlorhexidine application on long-term shear bond strength of rein cements to dentin, *Journal of Prosthodontic Research*, **54** , 153-158, 2010

26) F, Darabi, . M, Eftekhari. : Effect of Chlorhexidine on Microleakage of Composite

Restorations. *J.Dent.* , **6**. 2009.

27) Renl e Gendron, . Daniel, Grenier, . Timo, Sorsa, . Denis Mayrand : Inhibition of the Activities of Matrix Metalloprpteinases 2, 8, and 9 by Chlorhexidine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 437-437, 1999,

28) Lorenzo, Breschi, . Annalisa, Nazzoni, . Fernando, Nato, . Marcela, Carrilho, . Erika, Visintini, . Leo, Tjaderhane, . Alessandra, Ruggeri, Jr, . Franklin, R, Tay, . Elettra, De, Stefano, Dorigo, David H. , Pashly : Chlorhexidine stabilizes the adhesive interface :A 2-year in vitro study. *Dent. Mater.* , **26**, 320-325, 2010

29) Nerurkar, MJ, . Zentner, GM. , Rytting, JH. : Effect of chloride on the release of CHX salts from methyl methacrylate: 2-hydroxyethylmethacrylate copolymer reservoir devices. *J Control Release*. **33**, 357-63, 1995

30) MG, Brackett. , FR, Tay. , WW, Brackett. , A, Dib. , FA, Dipp. , S, Mai. , DH, Pashley: In Vivo Chlorhexidine Stabilization of Hybrid Layers of an Acetone-based Dentin Adhesive, *Operative Dentistry*, **34**(4), 379-383, 2009

31) Tae-Yub, Kwon. , Su-Hyung, Hong, , Young, Kyung, Kim. , Kyo-Han, Kim. : Antibacterial Effect of 4-META/MMA-TBB Resin Containing Chlorhexidine. *J. Biomed Mater. Res. B.* , 92B. 561-567, 2010.

32) N, Hiraishi. , C, K, Y, Yiu. , N, M, King. , F, R, Tay. , : Chlorhexidine release and

antibacterial properties of chlorhexidine-incorporated polymethyl methacrylate-based resin cement.

Wiley InterScience, DOI. , 10. 1002 / jbm. b, 31633, 2010.

33) Mertz-Fairhurst, EJ, . Curtis, JW Jr, Ergle, JW, . Rueggeberg, FA, . Adair, SM. :

Ultraconservative and cariostatic sealed restorations : Result at year 10, *J Am Dent Assoc*, **129** (1) ,

55-66, 1998

表題脚注

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復

学分野

(主任：吉山昌宏教授)

本論文の一部は、2012年6月の第136回日本歯科保存学会学術大会において発表
した。

付図説明

図 1 Chlorhexidine diacetate salt (クロルヘキシジン二酢酸塩 水和物)

図 2 ディスク拡散法

S. mutans 菌液 (約 4.75×10^9 CFU) を TSBY 寒天平面培地上に播種
直径 6 mm のペーパーディスクを寒天培地上に静置
阻止円帯の直径を 2 点計測

図 3 CHSEA と CH 配合 PBS により観察される阻止円

CHX 配合濃度 0~1% の未重合 CHSEA により観察される阻止円 (a), CHX 配合濃度 0~5% の未重合 CHSEA により観察される阻止円 (b), CHX 配合濃度 0~1% の PBS により観察される阻止円 (c), CHX 配合濃度 0~5% の PBS により観察される阻止円 (d)

図 4 0~1% CHX 配合量における CHSEA と CHX 配合 PBS による阻止円直径の比較



図 5 0~5% CHX 配合量における CHSEA と CHX 配合 PBS による阻止円直径の比較



図 6 1 週間浸漬 (1W), 2 週間浸漬 (2W), 3 週間浸漬 (3W) における各 CHX 配合濃度の CHSEA 浸漬水が *S. mutans* の生存に及ぼす影響①
(各週の中での各 CHX 配合濃度浸漬水を比較した図)

図7 1週間浸漬(1W), 2週間浸漬(2W), 3週間浸漬(3W)における各CHX配合濃度のCHSEA浸漬水が*S. mutans*の生存に及ぼす影響②

(各濃度CHX浸漬水を1W, 2W, 3W間で比較した図)

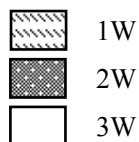


図8 1週間浸漬(1W), 1週間浸漬後水を交換, 1週間浸漬(1W→1W), 1週間浸漬ごとの水交換を2回行った後, 1週間浸漬(1W→1W→1W)における各CHX配合濃度のCHSEA浸漬水が*S. mutans*の生存に及ぼす影響①

(各週の中での各CHX配合濃度浸漬水を比較した図)

図9 1週間浸漬(1W), 1週間浸漬後水を交換, 1週間浸漬(1W→1W), 1週間浸漬ごとの水交換を2回行った後, 1週間浸漬(1W→1W→1W)における各CHX配合濃度のCHSEA浸漬水が*S. mutans*の生存に及ぼす影響②

(各濃度CHX浸漬水を1W, 1W→1W, 1W→1W→1W間で比較した図)

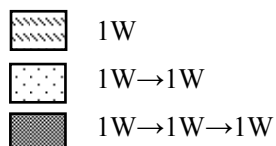


表1 本実験に使用した材料

名称	組成
[接着システム] 試作セルフエッチングアドヒーシブ	4-META, UDMA, MMA, HEMA, 多官能モノマー, 水, カンファーク ノン, 芳香族アミン, その他

*4META= 4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride

*UDMA= urethane dimethacrylate

*MMA= methyl methacrylate

*HEMA= 2-hydroxyethyl methacrylate

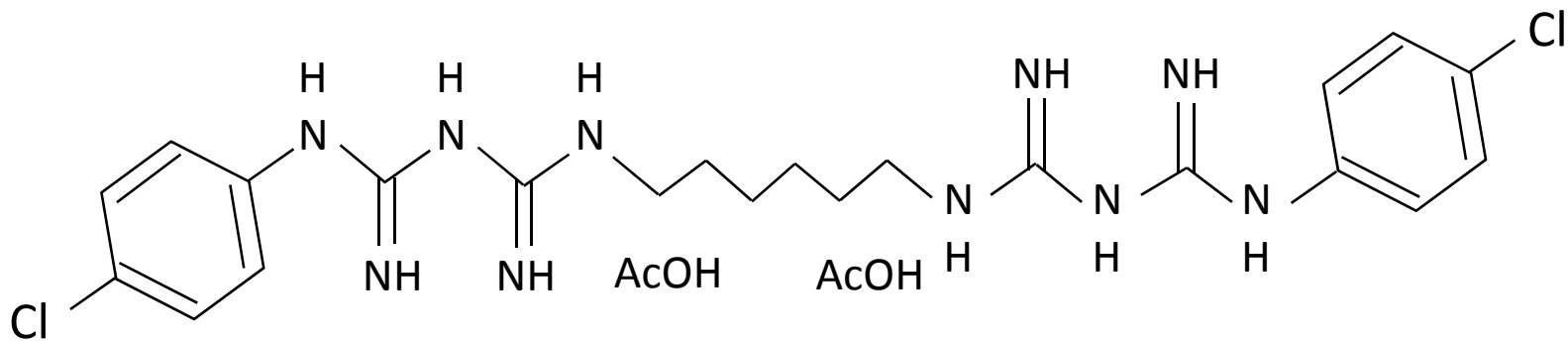


図1 Chlorhexidine diacetate salt

(クロルヘキシジン二酢酸塩水和物)

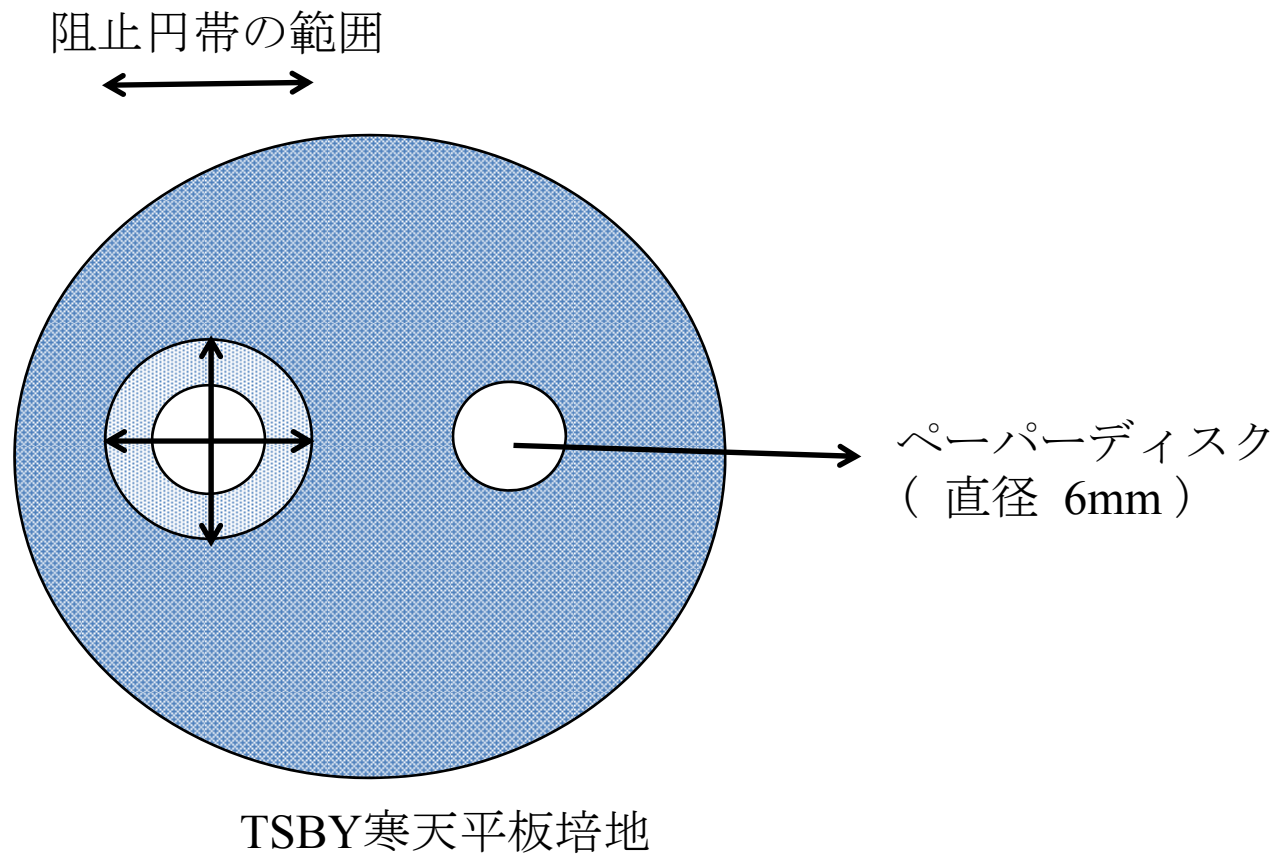


図2 ディスク拡散法

S. mutans 菌液 (約 4.75×10^9 CFU) をTSBY寒天平面培地上に播種
直径6 mmのペーパーディスクを寒天平面培地上に静置
阻止円帯の直径を2点計測

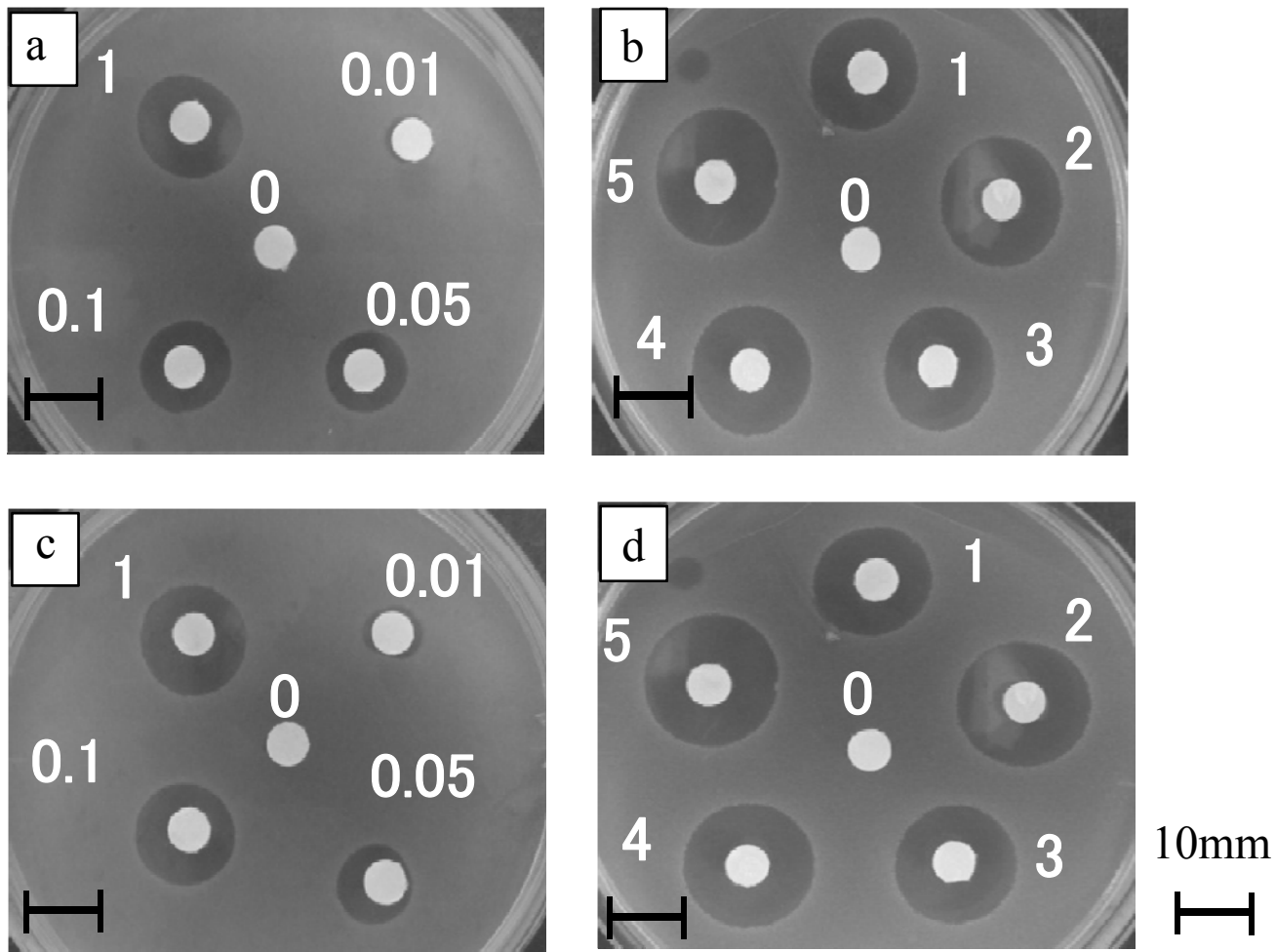


図3 CHSEAと配合PBSにより観察される阻止円

CHSEA (a, b) , CHX配合PBS (c, d) , 数字はCHXの配合濃度を示す

- a. CHX配合濃度0～1wt%の未重合CHSEAにより観察される阻止円
- b. CHX配合濃度0～5wt%の未重合CHSEAにより観察される阻止円
- c. CHX配合濃度0～1wt%のPBSにより観察される阻止円
- d. CHX配合濃度0～5wt%のPBSにより観察される阻止円

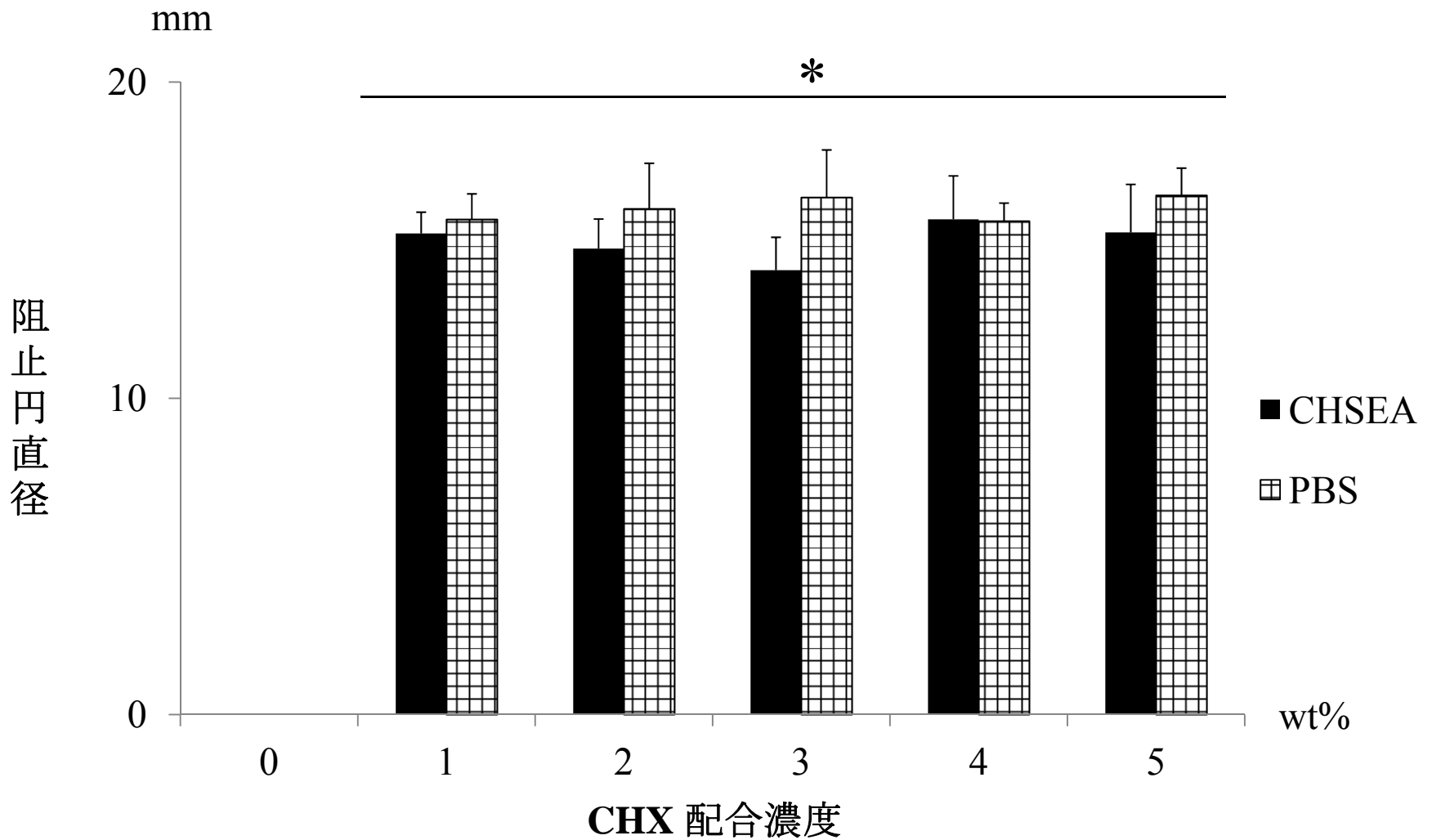


図5 0~5wt% CHX配合量におけるCHSEAとCHX配合PBSによる阻止円直径の比較

(one-way ANOVA and Tukey methods, * : $p > 0.05$), $n = 14$

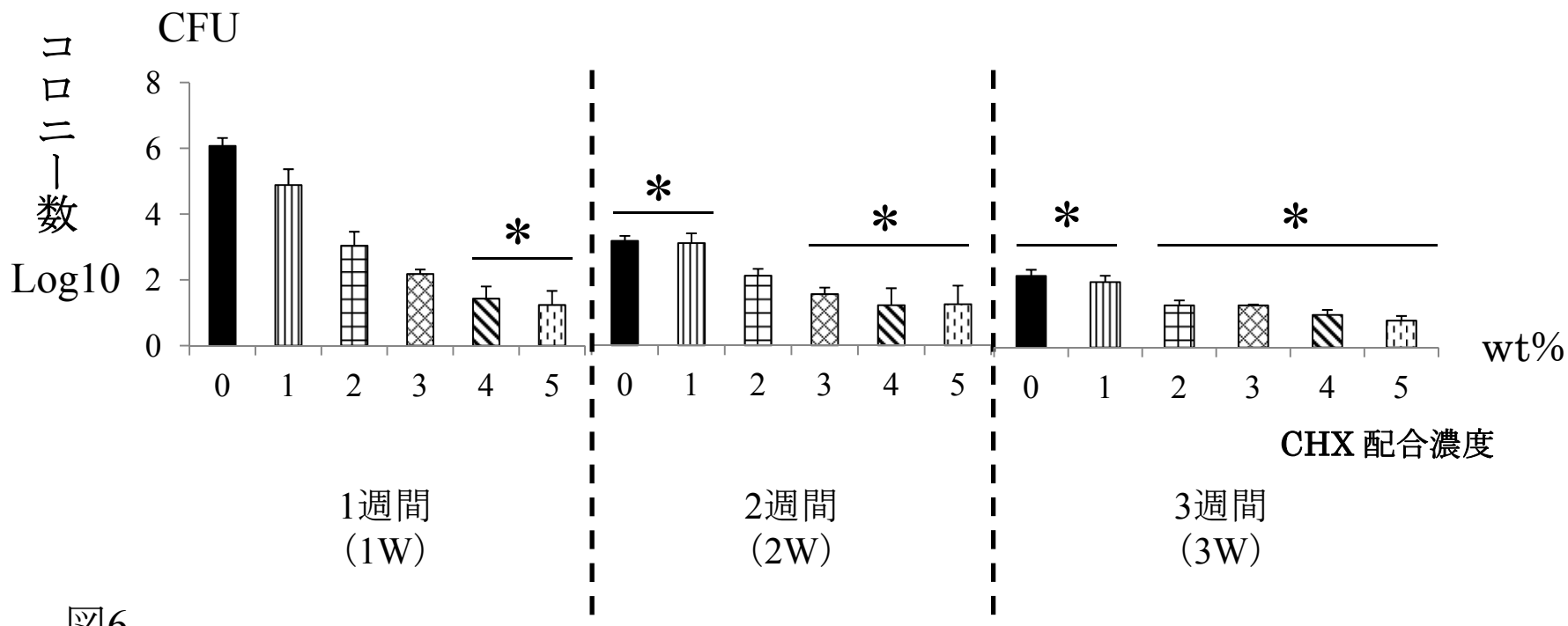


図6

1週間浸漬 (1W)

2週間浸漬 (2W)

3週間浸漬 (3W)

における各CHX 配合濃度のCHSEA 浸漬水が*S. mutans* の生存に及ぼす影響①

(各週の中での各CHX 配合濃度浸漬水を比較した図)

(two-way ANOVA and Tukey methods, * : $p > 0.05$), $n = 6$

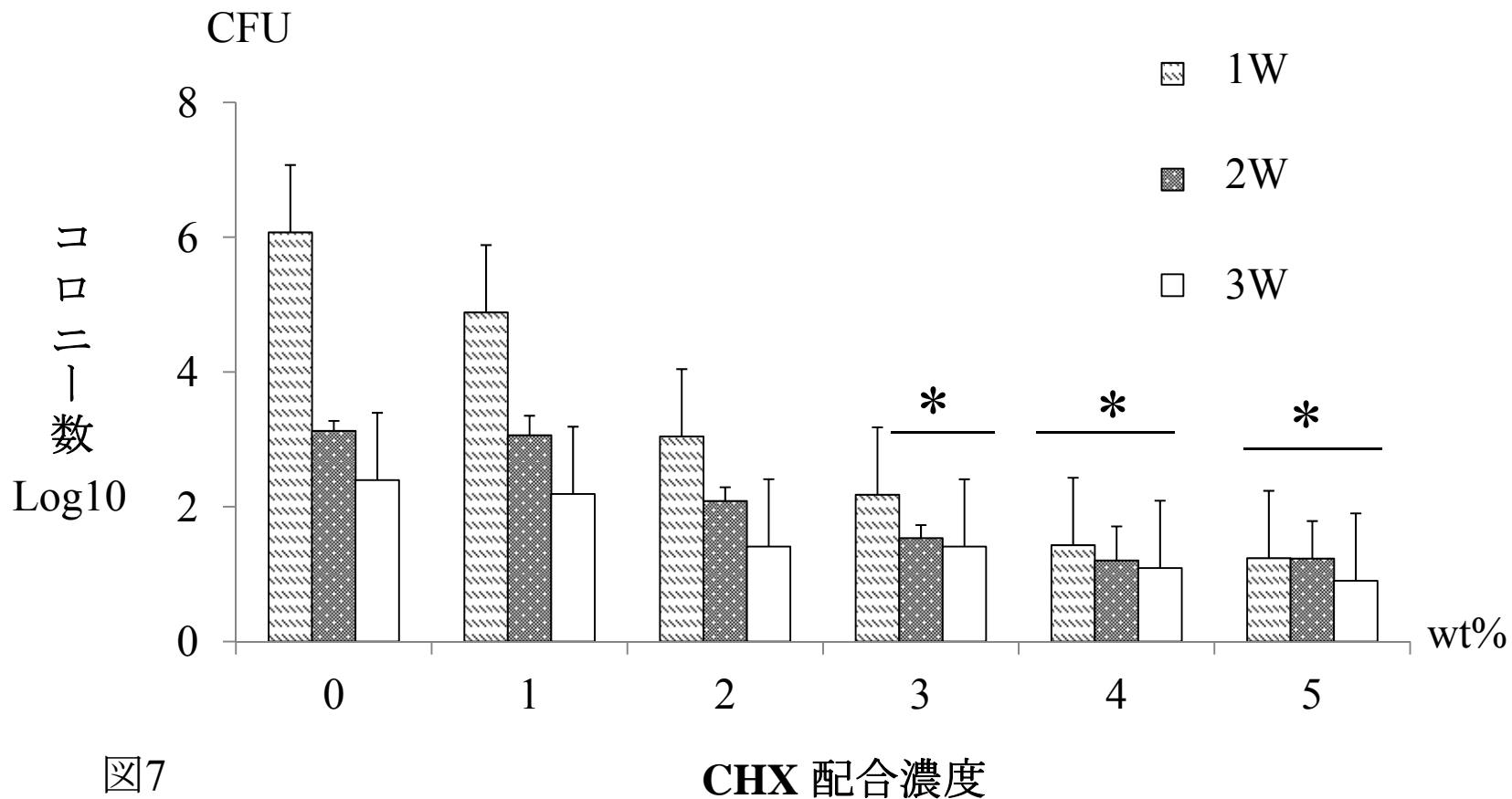


図7

1週間浸漬 (1W)

2週間浸漬 (2W)

3週間浸漬 (3W)

における各CHX 配合濃度のCHSEA 浸漬水が*S. mutans* の生存に及ぼす影響②

(各濃度CHSEA浸漬水を 1W, 2W, 3W 間で比較した図)

(two-way ANOVA and Tukey methods, * : $p > 0.05$), $n = 6$

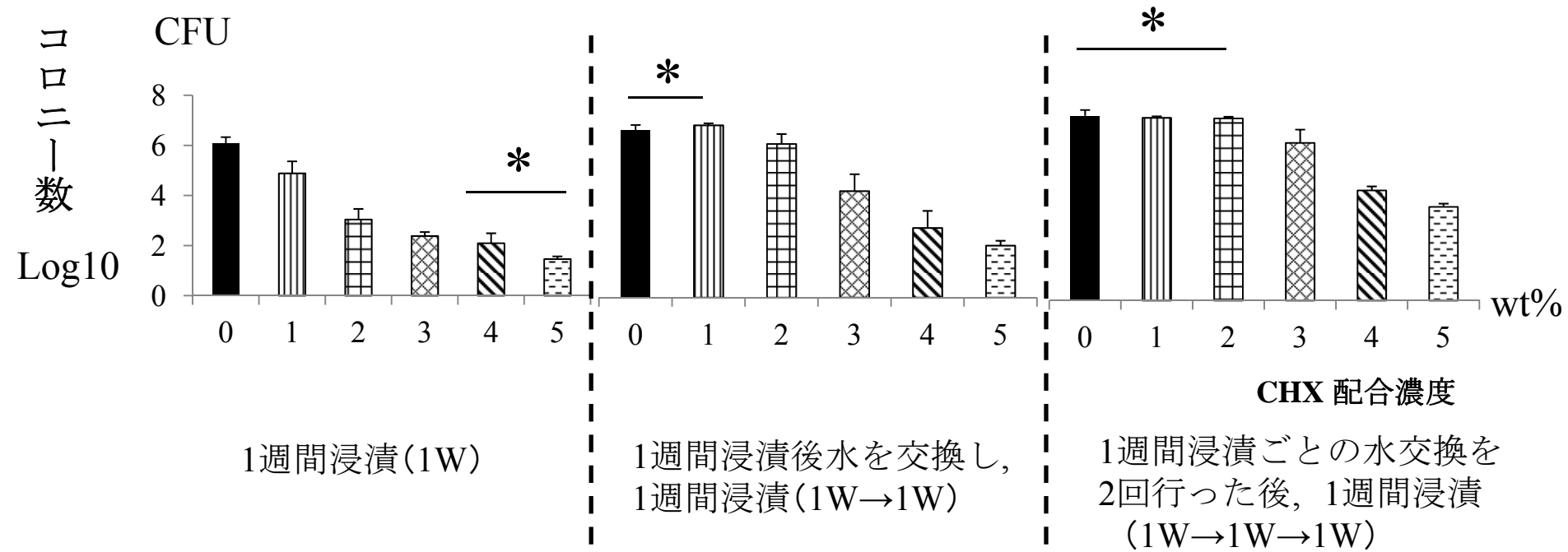


図8

1週間浸漬(1W)

1週間浸漬後水を交換,1週間浸漬(1W→1W)

1週間浸漬ごとの水交換を2回行った後, 1週間浸漬(1W→1W→1W)

における各CHX配合濃度のCHSEA 浸漬水が*S. mutans* の生存に及ぼす影響①

(各週の中での各CHX配合濃度浸漬水を比較した図)

(two-way ANOVA and Tukey methods, * : $p > 0.05$), $n = 6$

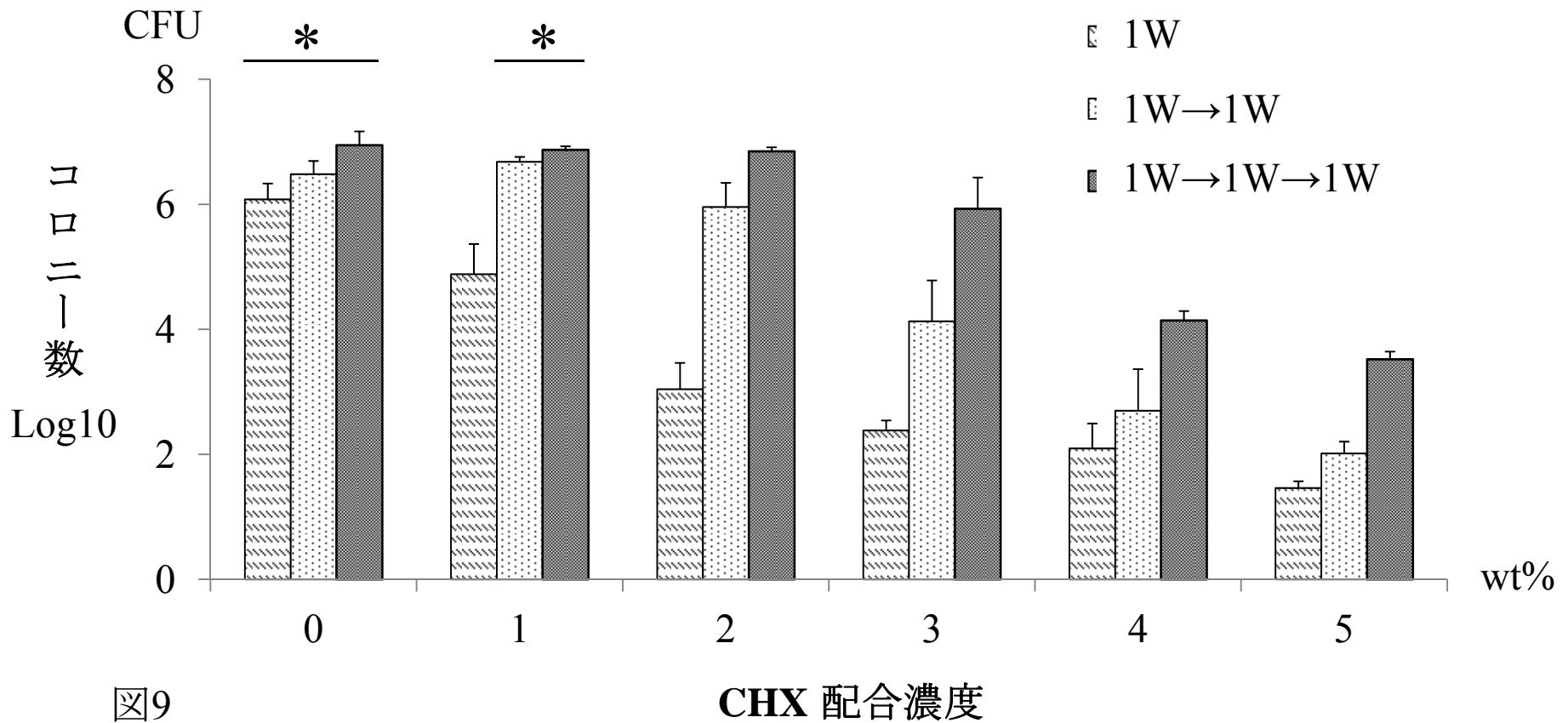


図9

CHX 配合濃度

1週間浸漬(1W)

1週間浸漬後水を交換,1週間浸漬(1W→1W)

1週間浸漬ごとの水交換を2回行った後, 1週間浸漬(1W→1W→1W)

における各CHX配合濃度のCHSEA 浸漬水が*S. mutans* の生存に及ぼす影響②

(各濃度CHSEA 浸漬水を 1W, 1W→1W, 1W→1W →1W間で比較した図)

(two-way ANOVA and Tukey methods, * : p > 0.05), n = 6