

PEMAとユージノールを基材とした 新しい仮着材の開発

—細胞毒性および殺菌効果について—

岡田 英俊 石田 喜紀 龍方 一朗

川島 功 清浦 有祐¹⁾

Development of a New PEMA and Eugenol-based Temporary Luting Agent

—Its Cytotoxicity and Sterilizing Effect—

Hidetoshi OKADA, Yoshinori ISHIDA, Ichiro RYUKATA,

Isao KAWASHIMA and Yusuke KIYOURA

PEMA and eugenol-based trial agents (PE1.0 and PE1.6) had the dental engineering properties that satisfy the requirements as a temporary luting agent. The purpose of this study was to examine the influence of the trial agents on cytotoxicity to human fibroblasts and their sterilizing effect on *Porphyromonas gingivalis*. As controls, two commercial temporary luting agents, polycarboxylate cement and zinc oxide eugenol cement were used. The specimens were tested for cytotoxicity and sterilizing effect after 24-hour immersion in distilled water or a thermal cycling test. The results obtained were as follows :

1. In the test for cytotoxicity to fibroblasts, the cell viability with PE1.6 was significantly higher than that with the control materials.
2. In the test for sterilizing effect on *Pg*, the trial agents showed 100% inhibition.

key word : temporary luting agent, cytotoxicity, sterilizing effect

緒 言

これまでに著者らはPEMA (ポリエチルメタクリレート) とユージノールを基材とした仮着材を試作して各種実験を行ってきた。試作材は仮着材として十分に満足できる歯科理工学的性質を所業していた¹⁾。仮着材は暫間修復物と支台との維

持だけでなく、インプラント治療における上部修復物とアバットメントの固定にも用いられている。これらの治療における問題点の一つに、歯肉炎やインプラント周囲炎がある。また、試作仮着材の基材であるユージノールは鎮痛、鎮静効果の他に殺菌効果があるという報告もある^{2,3)}。このことから、PEMAとユージノールを基材とする試作材

受付：平成20年12月25日，受理：平成21年2月17日
奥羽大歯学部生体材料科学講座
奥羽大学歯学部口腔病態解析制御学講座¹⁾

Department of Biomaterials Science, Ohu University
School of Dentistry
Department of Oral Medical Science, Ohu University
School of Dentistry¹⁾

表1 実験材料

コード	材料	主成分	メーカー
PE (1.0,1.6)	試作仮着材	粉:PEMA 液:ユージオール	
TES	ハイボンドテンポラリソフト	粉:酸化亜鉛 液:ポリアクリル酸	松風
NED	ネオダインα	粉:酸化亜鉛 液:ユージオール	ネオ製薬工業

が、仮着材としての一般的な所要性質に加え、殺菌効果を有し、さらに生体為害性も小さいことを明らかにできれば、試作仮着材は臨床的に有用な材料として確立できるのではないかと考えた。そこで今回は、試作仮着材のヒト皮膚線維芽細胞に及ぼす影響と歯周病原菌に対する殺菌効果について市販仮着材と比較検討した。

材料および方法

実験に用いた仮着材のコード、主成分およびメーカーを表1に示す。試作仮着材の基材にはPEMAとユージオールを用いた。試作材の粉液比を1.0 (PE1.0)と1.6 (PE1.6)に設定した。比較対照材料として、ポリカルボキレートセメント系仮着材 (以下TES)、酸化亜鉛ユージオールセメント (以下NED)を用いた。各材料の練和および操作を、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ の環境下で行った。練和後の実験試料は温度 37°C 、相対湿度約100%の恒温恒湿中に24時間保管した条件 (以下24h)、冷温槽 (4°C :30秒)と高温槽 (60°C :30秒)のサーマルサイクル試験を2000回負荷した条件 (TH)の2条件とし、以下の試験を行った。

1. 細胞毒性試験

細胞毒性試験はヒト皮膚線維芽細胞由来組織モデル (MATREX, TOYOBO)により、各条件の実験試料80mgを直接作用させて呼吸酵素活性をMTT法により細胞生存率を判定した。各材料を作用させた培養細胞について、酸性イソプロパノール溶液によりフォルマザン色素を抽出し、分光光度計を用いて色素を定量した。蒸留水を作用させた試料をコントロールとして比較し、細胞生存率を算出した。

2. 殺菌性試験

今回の実験において口腔内細菌であり、歯周炎

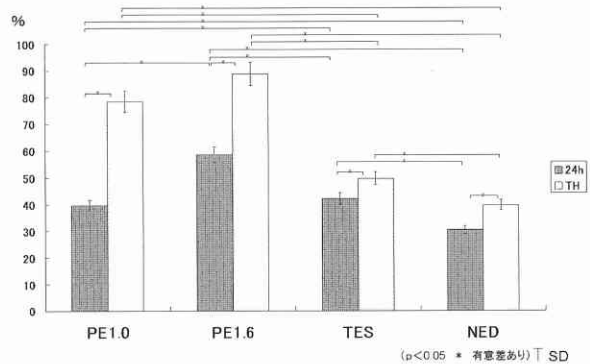


図1 細胞生存率

の原因菌でもある *Porphyromonas gingivalis* 381株 (口腔病態解析制御講座 口腔細菌学研究室保存 以下Pg)を用いた。Pgの培養はヘミン-メナジオンを添加したGAMブイヨンにより 37°C 嫌気条件下で行った。Pgが増殖した菌液を各直径10mm、高さ4mmの円筒状実験試料上に1ml滴下し、24時間嫌気培養させた。培養した菌液を原液 $\sim 10^{-8}$ まで希釈し10% sheep blood, ヘミン-メナジオン, カナマイシンを添加した寒天培地に各 $100 \mu\text{l}$ 接種し、1週間嫌気培養を行った。その後、培地上に形成されたコロニー数をカウントし、CFUを算出した。実験試料に作用させていない同条件のものをコントロールとして比較した。

結果

1. 細胞生存率

細胞生存率の結果を図1に示す。各材料で24h条件よりもTH条件で値が有意に大きかった。24h条件における比較では、PE1.6が他の材料よりも有意に値が大きかった。また、PE1.0, TES間では値に有意差が認められなかったが、NEDよりもPE1.0, TESは値が有意に大きかった。TH条件における比較では、PE1.0, PE1.6間では値に有意差が認められなかったが、両者は他の材料よりも有意に値が大きかった。また、NEDよりもTESの値が有意に大きかった。

2. Pgの抑制率

各材料のPgに対する抑制率の結果を図2に示す。全ての条件で100%の抑制が認められた。

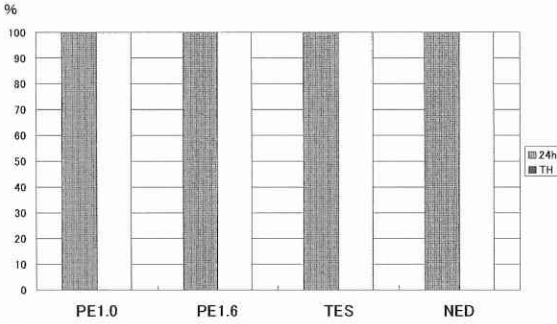


図2 *Pg*の抑制率

考 察

これまでの研究から、PEMAとユージノールを基材とする試作材は、仮着材として優れた材料の性質を有していることが明らかとなった¹⁾。しかし、基材であるユージノールは歯髄の鎮静作用や細菌発育防止効果がある^{2, 3)}反面、細胞毒性もあるといった報告もされている⁴⁾。

そこで今回は、試作材のヒト線維芽細胞モデルに対する影響と、歯周病の原因菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* に対する殺菌作用について検討した。

試作仮着材であるPE1.0, PE1.6は24hよりもTHで細胞生存率が大きかった。試作仮着材とNEDはユージノールを液成分に用いているが、その細胞毒性については、poison ivy mechanism, benzyl radical mechanismおよびphenol mechanismといった作用によって生じるといった報告がされている⁴⁾。試作仮着材は水中に浸漬すると硬化体からユージノールが溶出することは前報¹⁾で報告した。材料自体が水中で膨縮するサーマルサイクル試験においても、試験中に浴槽で試作仮着材のユージノールの溶出は大きく生じたと推察された。したがって、TH条件では材料内に残留するユージノール自体が24h条件より少なくなっているため、細胞生存率が大きくなったと考えられた。

対照材料であるTESとNEDが示す細胞毒性は以前からある報告^{5, 6)}と同様の結果であった。試作材は対照材料よりもTH条件で細胞生存率が有意に大きかった。試作材とNEDはともに液成分としてユージノールを用いている。このことか

ら、実験結果における両者の相違に関しては、液成分だけでなく粉末成分も影響を及ぼしていると考えられた。TES, NEDは粉末主成分が酸化亜鉛であるが、亜鉛イオンも細胞毒性に影響を及ぼすと報告されている⁷⁾。また、試作材の主成分であるPEMAは、細胞毒性が小さいとの報告⁸⁾があり、粉末成分自体が細胞に与える影響は小さいことが推察されることから、対照材料よりも細胞生存率が大きくなったものと考えられた。

*Pg*に対する殺菌性は実験に用いた材料そして24h, TH各条件の全てで認められた。試作材の殺菌性はユージノールの溶出によって生じたものと考えられた。また、TES, NEDは従来から報告³⁾されている結果と同様であった。

一般的に材料が細胞に及ぼす影響において、生存率と細菌に対する殺菌性を両立することは困難であると考えられる。試作仮着材は今回用いた対照材料との比較において、*Pg*に対する殺菌性は同等で、一方、ヒト皮膚線維芽細胞由来組織モデルにおける細胞生存率は有意に大きな値を示した。したがって、試作仮着材は適応部位周辺の組織に対する侵襲が少なく、さらに歯肉炎、歯周炎の予防をも期待できることから、市販仮着材よりも仮着材として有用な性質を所持していることが示唆された。

結 論

PEMAとユージノールを基材とする試作仮着材のヒト線維芽細胞モデルに対する影響と、歯周病の原因菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* に対する殺菌作用について検討した結果、以下の結論が得られた。

1. 試作仮着材におけるヒト線維芽細胞の生存率は24h条件よりもTH条件で大きく、また、各条件で対照材料よりも大きな値を示した。
2. 試作仮着材の *Pg* に対する抑制率は24h条件, TH条件ともに100%であった。

本論文の要旨は、第48回日本歯科理工学会学術講演会(平成18年10月 名古屋)において発表した。

文 献

- 1) 岡田英俊, 石田喜紀, 野口博志, 長山克也: PEMAとユージノールを基材とした新しい仮着材の開発. 歯科器 **24**; 431-438 2005.
- 2) Thomas, P. A., Bhat, K. S. and Mohan K. K. : Antibacterial properties of dilute formocresol and eugenol and propylene glycol. Oral Surg **49**; 166-170 1980.
- 3) 太田安昭, 太田功正, 奥田克爾, 高添一郎: 形成充填材の抗菌性について. 歯科学報 **84**; 83-88 1984.
- 4) 柏木康志: Eugenolおよびオルト二量体 (bis-eugenol) の細胞障害性に関する研究. 明海大歯誌 **29**; 176-188 2000.
- 5) 赤尾 勝, 青木秀希, 山本喜子, 渥美公則: アパタイトーポリアクリル酸による歯科用セメントの細胞毒性. 医器材研報 **20**; 19-23 1986.
- 6) 横山和泰, 今井弘一: 各種合着用セメントの細胞回復度を与える影響 (*in vitro*). 歯科器 **9**; 703-719 1990.
- 7) 藤沢盛一郎, 増田英一: 歯科用セメント類の溶出性と牛血清アルブミン結合性から見た*in vitro*の生物学的評価. 歯理工誌 **20**; 142-150 1979.
- 8) 田中持郎, 橋本典也, 中村正明, 鈴木一臣: ビニルエステル/ポリマー系軟性樹脂組成物 (第4報) - ビニルエステル/PEMA系の重合反応性と重合体の細胞毒性 -. 歯科器 **26**; 88 2007.

著者への連絡先: 岡田英俊, (〒963-8611)郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部生体材料学講座
Reprint requests : Hidetoshi OKADA, Department of Biomaterials Science, Ohu University School of Dentistry
31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan