

抗菌ガラス添加型ポリエーテルエーテルケトン材料の義歯床用材料への応用を目的
とした曲げ特性と真菌付着能の評価

Evaluation of bending properties and adherence of *Candida albicans* to Antibacterial
Glass-added Polyether Ether Ketone as a denture base material

日本大学大学院松戸歯学研究科 顎口腔機能治療学専攻
吉崎 聡

(指導：小見山 道 教授)

I 【Abstract】

II 【緒言】

III 【方法および材料】

実験 1：各材料を用いた曲げ特性の評価

実験 2：各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討

IV 【結果】

実験 1：各材料を用いた曲げ特性の評価

1. PEEK とアクリルレジンの比較
2. 抗菌ガラス添加型 PEEK と PEEK およびアクリルレジンの比較

実験 2：各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討

1. PEEK とアクリルレジンの比較
2. 抗菌ガラス添加型 PEEK と PEEK の比較
3. 走査電子顕微鏡を用いた *C. albicans* に対する抗菌ガラスの効果の検討

V 【考察】

VI 【結語】

VII 【参考文献】

VIII 【Tables and Figures】

I **【Abstract】**

Background

The aim of this study was to verify the clinical efficacy of antibacterial glass-added polyether ether ketone (PEEK) as a denture base material by using the three-point bending test and adhesion test of *Candida albicans* (*C. albicans*). Furthermore, the effect of antibacterial glass on *C. albicans* was examined using a scanning electron microscope (hereafter referred to as SEM).

Materials&Methods

The materials used for three-point bending test and adhesion test of *C. albicans* were PEEK (VESTAKEEP® DC4470, hereafter referred to as VK). In addition, five types of PEEKs (VESTAKEEP®D4, hereafter referred to as VK+DL) with different concentrations of antibacterial glass (DL-7900, hereafter referred to as DL) were used. Five types of VK+DL polymers with DL addition rates of 3 (VK+DL3%), 5 (VK+DL5%), 7.5 (VK+DL7.5%), 10 (VK+DL10%), and 15% (VK+DL15%) were manufactured. Two acrylic resins used were heat-curing resin (Shofu Urban®, hereafter referred to as UR) and injection-type multipurpose resin (Procast DSP®, hereafter referred to as PC) as VK comparison materials.

Three-point bending test

The three-point bending test was conducted using a precision universal testing machine, and the conditions were in accordance with ISO20795-1. The evaluation items were bending strength, flexural modulus, and 0.05% proof stress.

Adhesion test of *C. albicans*

The *C. albicans* adherence test was performed by adding *C. albicans* to liquid medium containing each specimen and shaking the culture. After culturing, the test specimen was immersed in sterilized physiological saline, ultrasonically dispersed in order to obtain a bacterial solution. The bacterial solution was seeded on each designated agar medium and amount of attached bacteria was calculated from colonies that grew after the culture.

Observation of the effect of DL on *C. albicans* using SEM

Furthermore, the effect of DL on *C. albicans* was examined using a SEM. Cell Desks were immersed in normal liquid medium that had been autoclaved and divided into three groups: a control group, Micafungin group, and antibacterial glass group. *C. albicans* was added to each three groups and cultured with shaking. After the culture, in the Micafungin group, Micafungin was added to a final concentration of 0.1% and allowed to act for 5 minutes. In the antibacterial glass group, antibacterial glass was added to a final concentration of 1% and allowed to act for 24 hours. Cell Desks of each group were fixed according to a usual method, and then observed by SEM.

Results

Three-point bending test

PEEK (VK) exhibited significantly higher flexural strength, flexural modulus, and 0.05% proof stress than acrylic resin. In addition, PEEK (VK) and PEEK combined with antibacterial glass at various concentrations (new polymers) met ISO20795-1 standard.

Adhesion test of *C. albicans*

VK showed no significant difference compared to UR and PC. In addition, PEEK combined with antibacterial glass at various concentrations (new polymers) showed significantly lower *C. albicans* adhesion compared to the conventional PEEK.

Observation of the effect of antibacterial glass on *C. albicans* using SEM

In the control group, the *C. albicans* cells had an elliptical shape and the surface layer was smooth. In contrast, *C. albicans* cells on the Cell Desks of the Micafungin group were elliptical and exhibited rough surface layers. The cells of the antibacterial glass group showed similar surface deformations as those observed in the Micafungin group.

Conclusions

These results suggest that PEEK resin is more promising for clinical applications as a denture resin than acrylic resin. In addition, PEEK with antibacterial glass showed bending strength that could be applied clinically like the conventional PEEK, and it was revealed that the growth of adhering *C. albicans* was suppressed.

II 【緒言】

現在、義歯床用材料としてアクリルレジンが最も広く用いられているが¹⁾、機械的強度についてはやや不足している点が見受けられる。そのため義歯床の破折防止の観点から、強度を確保する目的で義歯床を厚く製作することがあるが、これは発音障害や異物感を発生させる原因として知られている²⁻³⁾。また、金属床義歯はアクリルレジン床義歯と比べて十分な機械的強度を持ち、薄く製作することが可能であるが、金属アレルギーを持つ患者には使用が難しい。

そこで高い機械的強度を持ち、メタルフリーである義歯床用材料として、ポリエーテルエーテルケトン（以下 PEEK）に注目した。PEEKは、生体適合性に優れ、高い機械的強度を持つ不溶性の熱可塑性ポリマーであり、整形外科手術において金属代替の生体材料として使用されてきた高分子材料である⁴⁾。歯科領域においては、射出成形法のほかCAD/CAMによる補綴装置の製作が可能であり、他にもインプラント上部構造、支台築造のポストコア材料およびブリッジ、矯正用ワイヤー、局部床義歯のクラスプ等への応用が広く検討されている⁵⁻¹⁰⁾。

しかしながら、PEEKの適切な床の厚さを検討するために、厚さによる機械的強度の違いを検討した報告は認めない。厚さの違いによる機械的強度の変化を検討することは、PEEKを義歯床用材料として臨床応用した場合の義歯床の厚さの設定の一助になると考える。

一方、*Candida albicans*（以下 *C. albicans*）はヒト口腔、腸管、皮膚などに常在する真菌であり、日和見感染微生物の一種である¹¹⁾。*C. albicans*は義歯装着者口腔からの検出頻度が高く、義歯性口内炎を惹起することが知られている¹²⁾。これは従来の義歯床用材料で製作した義歯床粘膜面に対する*C. albicans*の付着能が高いことに起因する¹³⁾。*C. albicans*は誤嚥性肺炎および肺カンジダ症など、呼吸器系の感染症と密接に関連していることも報告されており¹⁴⁾、口腔カンジダ症の予防は口腔内環境の改善のみならず、全身疾患の予防につながる。PEEK表面への*C. albicans*付着能を評価することは、義歯床用材料として用いた場合に義歯性口内炎の予防や治療の観点から重要であると考えられる。義歯性口内炎の予防方法の一つとして、義歯床用材料への抗菌剤の添加があるが、抗菌剤は有機系抗菌剤と無機系抗菌剤に大別される。有機系抗菌剤は抗菌効果の持続性、加工操作による変質あるいは生体刺激性における問題があると指摘されている¹⁵⁾。一方、無機系抗菌剤は有機系抗菌剤がもつ欠点を解消するものとして注目されて

おり、現在多くの分野に応用されている。無機系抗菌剤の中に抗菌ガラスがあり、液体中において亜鉛イオンおよび銀イオンを溶出することで抗菌性を発揮する。抗菌ガラスをPEEKに応用することができれば、材料表面への*C. albicans*付着能を改善することができる可能性がある。

本研究ではPEEKと抗菌ガラスの義歯床材料への応用を目的として、曲げ特性の評価、および*C. albicans*付着能の評価を行った。さらに*C. albicans*に対する抗菌ガラスの効果を、走査電子顕微鏡（以下SEM）を用いて検討した。

III 【材料および方法】

1.材料

三点曲げ試験および *C. albicans* 付着試験には、PEEK（VESTAKEEP[®]DC4470G，ダイセルエボニック社，東京，以下VK），および抗菌ガラス（DL-7900，日本電気硝子株式会社，滋賀，以下DL）添加型PEEK（VESTAKEEP[®]D4，ダイセルエボニック社，東京，以下VK+DL）を用いた。

VK+DLはDLの添加率を3%（VK+DL3%），5%（VK+DL5%），7.5%（VK+DL7.5%），10%（VK+DL10%），および15%（VK+DL15%）とした5種を作製した。

アクリルレジンは、加熱重合型レジン（松風アーバン[®]，株式会社松風，京都，以下UR）と、注入型多目的レジン（プロキャストDSP[®]，株式会社GC，東京，以下PC）の2種を用いた。実験に用いた各材料をTable 1に示す。

2.試験体寸法

試験材料は、メーカーの指示に従い、VKおよびVK+DL5種は射出形成法、URは加熱重合法、PCは流し込み法により常温重合にて作製した。三点曲げ試験の試験体寸法は、ISO20795-1に準じて長さ64 mm，幅10 mm，厚さは3.3 mmとした¹⁶⁾。さらにVK，UR，およびPCにおいては、PEEKとアクリルレジンにおける、厚さの違いによる機械的強度の変化を検討することを目的として、長さ64 mm，幅10 mm，

厚さ 2.0 mm および 1.0 mm の試験体を作製した。試験体は、各 10 試験体を作製した (n=10)。試験体の研磨は、ISO20795-1 に準じて流水下にて #600 の SiC 耐水研磨紙で行った。試験前に 37°C にて 48 時間、蒸留水中に浸漬した¹⁶⁾。

C. albicans 付着試験の試験体寸法は、長さ 10 mm、幅 10 mm とし、厚さは 2.0 mm とした。試験体は、3 種の材料にて各 3 試験体を作製した (n=3)。試験体表面粗さの条件を揃えるため、Sato らの方法を参考に¹³⁾ 流水下にて #800 の SiC 耐水研磨紙で研磨を行った。三点曲げ試験および *C. albicans* 付着試験の試験体寸法を Fig. 1 に示す。

3. 供試菌株と使用培地

供試菌株は日本大学松戸歯学部感染免疫学講座で保管されている *C. albicans* (ATCC 90029) を用いた。培養液は Bacto™ Brain Heart Infusion (BHI, Becton, Dickinson 社製) 液体培地と普通寒天培地組成から寒天を除いた液体培地 (0.5% ブイヨン, 1.0% ペプトン, 0.5% 塩化ナトリウム) を普通液体培地として用いた。*C. albicans* の生菌数の算定には BHI 寒天培地およびカンジダ GE 培地 (ニッスイ社製) を用いた。

培養条件は、恒温振盪培養器 (Bio-Shaker® BR-30LF, タイテック株式会社, 埼玉) を用いて、振盪速度 120 r/min, 37°C にて培養した。

4. 実験方法

1) 実験 1 : 各材料を用いた曲げ特性の評価

各材料を用いた曲げ特性の評価は三点曲げ試験にて行った。精密万能試験機 (AG-100kNG X/R, 島津製作所, 京都) を使用し、条件は歯科用途で用いられる義歯用の高分子と共重合高分子基材に対する要求事項を規定した ISO20795-1 に準じて、支点間距離 50 mm, クロスヘッドスピード 5 mm/min とした¹⁶⁾。三点曲げ試験における評価項目を以下に記す。

(1) 評価項目

三点曲げ試験より曲げ強さ, 曲げ弾性率, および弾性限の目安として 0.05% 塑性変形時の応力 (0.05%

耐力) を求めた。破折した試験体においては、破折点での荷重量での曲げ強さ、曲げ弾性率及び 0.05%耐力を測定した。破折しなかった試験体においては、最大荷重量での曲げ強さ、曲げ弾性率及び 0.05%耐力を測定した。曲げ強さは、以下の公式を用いて算出した。

$$\text{曲げ強さ} = 3PL/2bh^2$$

P : 最大荷重量 (N) L : 支点間距離 (mm) b : 試料の幅 (mm) h : 試料の厚さ (mm)

曲げ弾性率は、以下の公式を用いて算出した。

$$\text{曲げ弾性率} = FL^3/4dbh^3$$

F : 荷重変形曲線上の比例関係にある点の荷重量 (N)

d : 荷重Fでの変形量 (mm)

2) 実験 2 : 各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討

各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討は、Sato らの方法¹³⁾を一部改変して行った。材料は 2 群に分けて検討を行った。PEEK および アクリルレジン 2 種を A 群、PEEK および 抗菌ガラス添加型 PEEK 5 種を B 群とし、A 群は BHI 液体培地、B 群は普通液体培地にそれぞれ浸漬した。A 群および B 群を高圧蒸気滅菌し、*C. albicans* を 1.0×10^6 CFU/ml となるように加え、A 群は 72 時間、B 群は 24 時間振盪培養した。培養後、各材料を試験管から取り出し、滅菌生理食塩水 (0.9% NaCl) にて洗浄を行い、軽度に付着している菌を除した。各材料を滅菌生理食塩水にて浸漬後、強固に付着している菌を超音波 (Sonicator®, 50 W, 20 sec, 20 kHz, 有限会社大岳製作所, 東京) にて分散し、バイオフィーム菌液とした。菌液を 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 7.2) で 10 倍段階希釈し、各種培地に播種した。A 群は BHI 寒天培地へ、B 群はカンジダ GE 培地へ播種し、48 時間、37°C にて好気培養した。培養後、発育した集落から各材料に付着していた菌数 (CFU/test piece) を算定した。実験回数は 3 回行った。

さらに SEM を用いて *C. albicans* に対する抗菌ガラスの効果の検討を、西山らの方法¹⁷⁾を一部改変して行った。*C. albicans* を付着させる試料として、セルタイト C-1 セルデスク LF® (住友ベークライト, 東京, 滅菌済製品, 以下セルデスク) を用いた。抗真菌効果の比較には、真菌の細胞壁合成阻害薬であるキャン

ディン系抗真菌薬のミカファンギン（ファンガード点滴用 25mg，アステラス製薬，東京）を滅菌生理食塩水（0.9% NaCl）で 0.1mg/ml の濃度に調整したものをミカファンギン溶液として使用した。

高圧蒸気滅菌を行った普通液体培地にセルデスクを無菌的に浸漬し，コントロール群，ミカファンギン作用群および抗菌ガラス作用群に分けた。各試験管に *C. albicans* を 1.0×10^6 CFU/ml となるように加え，24 時間振盪培養した。培養後，ミカファンギン作用群は，ミカファンギンを最終濃度 0.1% となるように添加し，5 分間培養，抗菌ガラス作用群は，抗菌ガラスを最終濃度 1% となるように添加し，24 時間培養した。その後，各群のセルデスクを試験管から取り出し，4% グルタルアルデヒドにて 1 時間固定を行い，上昇エタノール系列にて脱水した。その後 t-ブチルアルコール置換後，凍結真空乾燥機（ES-2030，日立製作所，東京）にて凍結乾燥し，イオンコーター（IB-5，エイコー，東京）を用いて Pt-Pd にて蒸着した（7 mA，3 分）。試料の観察は SEM（S-4300，日立，東京）にて加速電圧 7 kV で行った。

5. 統計分析

1) 各材料を用いた曲げ特性の評価

三点曲げ試験で得られた曲げ強さ，曲げ弾性率，および 0.05% 耐力の結果を，各試験体厚さおよび，各材料にわけて，各測定項目ごとに平均値を算出し，実験群間の差の検出は一元配置分散分析後，Tukey の多重比較を有意水準 5% にて行った。

2) 各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討

PEEK およびアクリルレジン 2 種において，試験体に付着した *C. albicans* の菌数の平均値を算出し，実験群間の差の検出は，Steel-Dwass の多重比較を有意水準 5% にて行った。PEEK と抗菌ガラス添加型 PEEK においては，抗菌ガラス添加率と *C. albicans* 付着の菌数の関係について，Spearman 順位相関係数を用いて検討した。

IV 【結果】

各材料を用いた曲げ特性の評価

1) 曲げ強さ

PEEK(VK)とアクリルレジン (UR, PC) を比較した曲げ強さを、各試験体厚さおよび、各材料において Fig. 2 に示す。各試験体厚さで比較を行うと、すべての厚さで VK は、UR および PC と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 2A)。同材料間で比較を行うと、VK は厚さ 3.3 mm にて、2.0 mm および 1.0 mm と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。UR は厚さ 3.3 mm にて、2.0 mm および 1.0 mm と比較し有意差を示さなかった。また、PC は厚さ 3.3 mm にて、1.0 mm と比較し有意に高い値を示したが ($p < 0.05$)、2.0 mm とは有意差を示さなかった (Fig. 2B)。

VK および VK+DL 5 種を比較した曲げ強さを、Fig.3 に示す。VK+DL10%および 15%は VK と比較して有意に低い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 3)。一方、VK+DL3%、5%および 7.5%は VK と比較して有意差を示さなかった (Fig. 3)。

2) 曲げ弾性率

VK, UR および PC を比較した曲げ弾性率を、各試験体厚さおよび、各材料において Fig. 4 に示す。各試験体厚さで比較を行うと、すべての厚さで VK は UR および PC と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 4A)。同材料間で比較を行うと、VK, UR および PC は厚さ 3.3 mm にて、2.0 mm と比較すると有意差を示さなかった (Fig. 4B)。一方で VK, UR および PC は厚さ 1.0 mm にて、3.3mm および 2.0mm と比較し有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 4B)。

VK および VK+DL 5 種を比較した曲げ弾性率を Fig. 5 に示す。VK+DL10%および 15%は VK と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 5)。一方、VK+DL3%、5%および 7.5%は VK と比較して有意差を示さなかった (Fig. 5)。

3) 0.05%耐力

VK, UR および PC を比較した 0.05%耐力を, 各試験体厚さおよび, 各材料にわけて Fig. 6 に示す。各試験体厚さで比較を行うと, すべての厚さで VK は UR, PC と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)

(Fig. 6A)。同材料間で比較を行うと, VK, UR および PC は厚さ 3.3 mm にて, 2.0 mm および 1.0 mm と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 6B)。

VK および VK+DL 5 種を比較した 0.05%耐力を Fig. 7 に示す。VK+DL10%および 15%は VK と比較して有意に低い値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 7)。一方, VK+DL3%, 5%および 7.5%は VK と比較して有意差を示さなかった (Fig. 7)。

4) 各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討

C. albicans 付着試験における PEEK およびアクリルレジン 2 種の材料に付着していた菌数の平均値を Fig. 8 に示す。材料に付着した *C. albicans* は VK で 1.28×10^3 CFU/test piece, UR で 1.31×10^3 CFU/test piece, PC で 1.29×10^3 CFU/test piece であった。VK に対する *C. albicans* の菌数は UR および PC と比較して有意差を示さなかった (Fig. 8)。

PEEK および抗菌ガラス添加型 PEEK 5 種における *C. albicans* 付着菌数の比較を散布図として Fig. 9 に示す。VK+DL に付着した *C. albicans* の菌数は抗菌ガラス添加率の増加に伴い, VK と比較して減少する傾向を示し, 抗菌ガラス添加率と *C. albicans* の付着量は有意な負の相関関係を認めた ($\rho = -0.89, p < 0.01$) (Fig. 9)。

C. albicans に対する抗菌ガラスの効果の検討について, コントロール群, ミカファンギン作用群, 抗菌ガラス作用群の *C. albicans* の SEM 画像を Fig. 10 に示す。コントロール群のセルデスクに付着した *C. albicans* の形状は楕円形を呈し, 細胞の表面構造は平滑であった (Fig. 10)。一方ミカファンギン作用群のセルデスクに付着した *C. albicans* の形状はコントロール群と同様だが, 細胞の表面構造は粗造であった (Fig. 10)。また抗菌ガラス作用群のセルデスクに付着した *C. albicans* はミカファンギン作用群と類似した表面構造が認められた (Fig. 10)。

V 【考察】

義歯床用材料は、口腔内で様々な応力を受けており、機能時に変形を生じる。Iwata は義歯床用材料に求められる機械的特性は、機能時の変形をなくするために、高い曲げ強さおよび曲げ弾性率（剛性）が必要と述べている¹⁸⁾。ISO 規格においても、義歯用高分子材料は、試験体寸法厚さ 3.3 mm、長さ 64 mm、幅 10 mm にて、曲げ強さ 65 MPa 以上、曲げ弾性率 2,000 MPa 以上が必要とされている¹⁶⁾。さらに局部床義歯機能時は、主に義歯床およびクラスプに荷重が加わる。咬合圧による過度な荷重負担は、義歯床に塑性変形を生じさせ、粘膜障害や義歯の維持力が低下の原因となる¹⁸⁾。つまり義歯床用材料は咬合時の負担に耐えられる耐力が必要である。Song-Yu らは、日本人の平均年齢 70.5 ± 0.5 歳の咬合圧の平均値は 39.5 ± 7.6 MPa と報告している¹⁹⁾。また、Hidaka らは平均年齢 24.0 ± 6.3 歳の咬合圧の平均値は 41.2 ± 3.8 MPa であると報告している²⁰⁾。咬合時の塑性変形を防ぐには、それ以上の耐力が求められることから、40 MPa 以上の 0.05%耐力が咬合時の塑性変形を防ぐために必要であると考えられる。

以上のことから、三点曲げ試験にて曲げ強さ 65 MPa 以上、曲げ弾性率 2000 MPa 以上、0.05%耐力 40 MPa 以上を示せば、義歯床用材料として応用可能な曲げ特性を持つと仮定し、材料の厚さの違いによる機械的強度の変化を検討することを目的とし、試験体寸法の厚さを変えた 3 種類の試験体（3.3 mm、2.0 mm、1.0 mm）にて、PEEK（VK）、およびアクリルレジン（UR、PC）を評価した。

その結果、試験体厚さ 3.3 mm における曲げ試験において、VK、UR および PC はこの曲げ強さ、曲げ弾性率および 0.05%耐力の条件を満たした。さらに VK は UR および PC と比較してより高い数値でこの条件を満たした。そして試験体厚さ 2.0 mm、1.0 mm においても、VK、UR および PC は 65 MPa 以上の曲げ強さ、および 2,000 MPa 以上の曲げ弾性率の条件を満たしていたが、VK は UR および PC と比較して高い値で条件を満たした。また試験体厚さ 3.3 mm と 2.0 mm の曲げ弾性率は有意差を認めなかった。一方で、PEEK とアクリルレジンの試験体厚さ 1.0 mm は、3.3 mm および 2.0 mm と比較し有意に高い値を示した。0.05%耐力においては UR および PC は、厚さ 3.3 mm の試験にて 40 MPa 以上の値を示したが、厚さ 2.0 mm、1.0 mm では条件を満たさなかった。一方、VK は厚さ 3.3 mm および 2.0 mm にて条件を満たした。

アクリルレジンは、メタクリル酸エステル $[\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)(\text{COOR})]$ 、R:アルキル基]の重合体で、代表的な

材料としてポリメタクリル酸メチル (PMMA, R:CH₃) がある。Ali らは、アクリルレジンは、耐熱性に優れ、強度、剛性が大きく、脆性を示すと報告している²¹⁾。UR および PC の曲げ強さおよび曲げ弾性率は、仮定した条件を満たしていたが、試験中に破折したことから、強度や剛性がある反面、脆性を示しており、Ali らの報告²¹⁾ と一致していた。

一方 PEEK は、芳香族ポリエーテルケトンのひとつでベンゼン環をエーテル基とケトン基で連結した構造の半結晶性ポリマーであり、機械的特性、化学的安定性、耐熱水性、難燃性、電気特性に優れている²²⁻²³⁾。芳香族ポリエーテルケトンはケトン基が多いほど結晶融点とガラス転移温度が高くなり、エーテル基が多いほど樹脂は強靱になることから、PEEK はエーテル基が多く、強靱であるといえる²²⁾。

VK の曲げ強さ、曲げ弾性率および 0.05%耐力の値は、すべての試験体厚さにて UR および PC と比較して有意に高い値を示していることからアクリルレジンより高い機械的強度を持つことが示された。以上のことから、VK は UR および PC と比較して、厚さを薄くしても高い曲げ強さ、高い曲げ弾性率および高い 0.05%耐力を持つことが示唆された。すなわち、PEEK を用いて製作された義歯は、高い機械的強度を示すことから、床の厚さを薄く作製できる可能性があり、患者の QOL の向上に寄与することが期待される。

PEEK に添加した抗菌ガラス(DL)は平均粒径 10 μm、組成 ZnO-B₂O₃-Ag₂O の粉末状無機材料で、化学的に安定した酸化物であり、耐熱性に優れる²⁴⁾。抗菌ガラスを抗菌剤として注目した理由として、PEEK に抗菌材料を添加する場合、射出形成時の融解温度約 300 度に耐熱性を持つ材料である必要がある。抗菌ガラスは無機材料の特徴である優れた耐熱性から、PEEK の射出形成時の融解温度約 300 度にて抗菌効果を損なうことなく添加が可能であり、PEEK に添加する抗菌剤として適している。一方で、無機材料は曲げ弾性率は高く、曲げ強さや破壊靱性値が低い傾向にあり、塑性変形が起こると破断しやすい特徴を持つ²⁵⁾。

そこで、抗菌ガラス添加率の異なる 5 種類の抗菌ガラス添加型 PEEK を作製 (VK+DL3-15%) し、機械的強度に影響を与えない添加率の基準を、試験体厚さ 3.3 mm で、VK および VK+DL 5 種にて評価した。その結果、PEEK および抗菌ガラス添加型 PEEK 5 種は、曲げ強さ、曲げ弾性率および 0.05%耐力の評価基準を満たした。一方、VK+VK10%および 15%は曲げ強さおよび 0.05 耐力において、VK と比較

して有意に低い値を示し、曲げ弾性率にて有意に高い値を示した。これは抗菌ガラスの添加率が上昇したことで、曲げ弾性率は高く、曲げ強さおよび破壊靱性値が低いという無機材料の特徴が VK+DL10%および 15%に影響を及ぼしたためと考える。このことから、PEEK に対する 10%以上の抗菌ガラスの添加は、PEEK の機械的強度に影響を与えることが示唆された。

各材料表面の *C. albicans* 付着能に関する検討は、PEEK およびアクリルレジン 2 種を A 群、PEEK および抗菌ガラス添加型 PEEK 5 種を B 群とし、*C. albicans* 付着試験にて評価した。A 群の *C. albicans* 付着量は、VK は 1.28×10^3 CFU/test piece、UR は 1.31×10^3 CFU/test piece および PC は 1.29×10^3 CFU/test piece であり、材料間の付着菌数に有意差は認められなかった。B 群にて抗菌ガラス添加型 PEEK は抗菌ガラス添加率の増加に伴い、*C. albicans* の付着率が低下することが明らかとなった。

義歯床用材料は高分子材料が使用されることが多く、高分子材料は口腔内で異物であるとともに、低エネルギー表面（疎水性）であるため、微生物の付着が起りやすい。DLVO 理論では、高分子材料表面には反発力として作用する静電的エネルギーと、引力として作用するファンデルワールス力のエネルギー曲線が存在する¹²⁾。2つのエネルギー曲線には第一の極小と第二の極小と呼ばれる2つのエネルギー的に安定する部分と、その間にエネルギーバリアという部分が存在し、通常微生物は第二の極小にて可逆的に付着する。さらに *C. albicans* の場合、Agglutinin-like sequence (Als) family タンパク質など、数十 nm ほどの非常に径の小さい構造物がエネルギーバリアを通過し、ポリマー架橋と呼ばれるメカニズムで固体表面への微生物の付着は起こる¹²⁾。*C. albicans* 付着試験は VK、UR および PC の各材料に付着した *C. albicans* を超音波分散し、BHI 平板培地へ接種し、培養後発育した集落から算定している。算定した菌数にて、VK は UR および PC と比較して有意差を示さなかったことから、PEEK もアクリルレジンと同じく高分子材料であるため、同様の付着機構により *C. albicans* と付着し、付着能に有意差が認められなかったと考えられる。PEEK とアクリルレジンの表面における *C. albicans* 付着能は同程度であり、PEEK とアクリルレジンの材料間において、付着の差は認められない可能性が示唆された。

一方、抗菌ガラス添加型 PEEK の *C. albicans* 付着試験において、PEEK に対する抗菌ガラスの添加は *C. albicans* の付着菌数を下げ、抗菌ガラス添加率と *C. albicans* 付着率に負の相関関係を認めた。これは、*C. albicans* に対して抗菌ガラスは付着を抑制、あるいは付着した *C. albicans* に対して抗真菌効果を発揮して

いることが考えられる。

抗菌ガラスは酸化亜鉛および酸化銀が含まれており、液体中にて金属イオンを溶出することで抗菌効果を発揮する²⁴⁾。一般に金属イオンは抗菌性を示すことが知られているが、中でも亜鉛イオンおよび銀イオンは強い抗菌性を示す。亜鉛イオンは表面から過酸化水素水を発生させることで抗菌性を示す。過酸化水素水は細胞膜を透過し、細胞内に存在する金属イオンと反応して反応性の高いヒドロキシラジカルを生じ、殺菌作用を発現すると考えられている²⁶⁾。銀イオンは細胞内に取込まれて抗菌性を発揮し、取込まれた銀イオンはタンパク質等に結合しその機能を阻害する²⁷⁾。また銀は酸化されても瞬時に還元される性質を持ち、電子を放出してイオンとなっても、瞬時に電子を受け取り金属に戻る。この常にイオン状態と金属状態の間を行き来することで銀の表面は電気的なエネルギーを有している。この電気的なエネルギーが真菌の細胞壁に影響することで、抗真菌効果を発揮しているとの報告もある²⁸⁾。

C. albicans 付着試験では抗菌ガラス添加型 PEEK は抗菌ガラス添加率の増加とともに *C. albicans* の付着の低下が認められた。これは抗菌ガラスの添加が抗菌ガラス添加型 PEEK の *C. albicans* 付着能に影響を与えていることを示唆している。そこで *C. albicans* に対する抗菌ガラスの効果の検討を目的とし、SEMにて形態学的検討を行った。

コントロール群（未処理）の *C. albicans* の形状は楕円形を呈し、細胞の表面構造は平滑であった。一方で、ミカファンギン作用群および抗菌ガラス作用群の *C. albicans* は、形状は楕円形を呈するが、表面構造は粗造であり、細胞壁が変形していることを示す所見がみられた。ミカファンギンを *C. albicans* に作用させた場合、細胞壁の形成異常を引き起こし、死滅させることが知られている²⁹⁾。抗菌ガラス作用群の *C. albicans* の表面構造は、ミカファンギン作用群と類似していたことから、抗菌ガラスから溶出した亜鉛イオンおよび銀イオンは *C. albicans* の細胞内に取込まれて抗真菌効果を発揮している可能性があると考えられる。

本研究では、実際の口腔環境に関わる因子について考慮していない。今後、義歯床材料として VK+DL を臨床応用するためには、唾液などの影響や口腔内で義歯が受ける応力など、口腔内環境を考慮した更なる研究を行う必要と考える。

VI 【結語】

本研究は抗菌ガラス無添加 PEEK の義歯床用材料の応用を目的とし、三点曲げ試験および *C. albicans* 付着試験を行い、以下の結論を得た。

PEEKは、アクリルレジンと比較して高い機械的強度を示し、義歯床を2.0mm程度まで薄く製作できる可能性が示唆された。抗菌ガラスの添加は*C. albicans*の付着抑制効果を示し、PEEKに対する7.5%までの抗菌ガラスの添加はPEEKの機械的強度を維持できる可能性が示唆された。

VII 【参考文献】

- 1) 川良 美佐雄, 小見山 道, 木本 統, 小林 紀彦, 三浦 延亜, 小林 喜平: 加熱重合型床用アクリルレジンの重合ひずみ I. 平板ダンベル型試験体の流水下急冷, 日本補綴歯科学会雑誌, 37: 669-677, 1993.
- 2) 古谷 暢子, 吉仲 正記, 池邊 一典, 小野 高裕, 野首 孝祠: 実験用口蓋床の厚さと材質が味覚閾値に及ぼす影響, 日本補綴歯科学会雑誌, 48: 67-73, 2004.
- 3) 古谷 暢子, 吉仲 正記, 小野 高裕, 野首 孝祠: 実験用口蓋床が厚さの弁別能に及ぼす影響, 日本補綴歯科学会雑誌, 47: 20-27, 2003.
- 4) Kurtz SM, Devine JN: PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants, *Biomaterials*, 28: 4845-4869, 2007.
- 5) Lee WT, Koak JY, Lim YJ, Kim SK, Kwon HB, Kim MJ: Stress shielding and fatigue limits of poly-ether-ether-ketone dental implants, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 100: 1044-1052, 2012.
- 6) Lee KS, Shin JH, Kim JE, Kim JH, Lee WC, Shin SW, Lee JY: Biomechanical Evaluation of a Tooth Restored with High Performance Polymer PEKK Post-Core System: A 3D Finite Element Analysis, *Biomed Res Int*, DOI: 10.1155/2017/1373127. 2017
- 7) Stawarczyk B, Eichberger M, Uhrenbacher J, Wimmer T, Edelhoff D, Schmidlin P: Three-unit reinforced polyetheretherketone composite FDPs: Influence of fabrication method on load-bearing capacity and failure types, *Dent Mater J*, 34: 7-12, 2015.
- 8) Maekawa M, Kanno Z, Wada T, Hongo T, Doi H, Hanawa T, Ono T, Uo M: Mechanical properties of orthodontic wires made of super engineering plastic, *Dent Mater J*, 34: 114-119, 2015.
- 9) Tannous F, Steiner M, Shahin R, Kern M: Retentive forces and fatigue resistance of thermoplastic resin clasps, *Dent Mater J*, 28: 273-278, 2012.
- 10) Stawarczyk B, Beuer F, Wimmer T, Jahn D, Sener B, Roos M, Schmidlin PR: Polyetheretherketone-a suitable material for fixed dental prostheses?, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 101: 1209-1216, 2013.
- 11) 山口 英世: 病原真菌と真菌症, 4版, 40-41, 南山堂, 東京, 2007.

- 12) 二川 浩樹, 牧平 清超, 江草 宏, 福島 整, 川端 涼子, 浜田 泰三, 矢谷 博文: 口腔カンジダの付着およびバイオフィルム形成, 日本医真菌学会雑誌, 46: 233-242, 2005.
- 13) 佐藤 薪, 大島 朋子, 前田 伸子, 大久保 力廣: 義歯床用レジンの洗浄法によるバイオフィルム除去効果と表面粗さの変化, 日本補綴歯科学会誌, 5: 174 -183, 2013.
- 14) Nakajima M, Umezaki Y, Takeda S, Yamaguchi M, Suzuki N, Yoneda M, Hirofuji T, Sekitani H, Yamashita Y, Morita H. Association between oral candidiasis and bacterial pneumonia: a retrospective study. Oral Dis. DOI : 10.1111 / odi.13216. 2019.
- 15) Mizukawa K, Tanaka T, Mega J, Kobayashi T, Watanabe T, Respiratory Diseases in the Elderly . Application of Silver-Inorganic Antimicrobial Reagent for Dental Materials-Part 1 In vivo and in vitro Toxicity Testings for IonpureTM-. Dent Mater J, 32: 679-687, 2013.
- 16) International Organization for Standardization: ISO 20795-1 for Dentistry - Base polymers - Part1, Denture base polymers, Genève, Switzerland, 2013.
- 17) 西山彌生, 蓮見弥生, 山口英世: *Candida glabrata*に及ぼすキャンディン系抗真菌薬micafunginの作用, Med Mycol Res, 2: 21-32, 2011.
- 18) Iwata Y: Assessment of clasp design and flexural properties of acrylic denture base materials for use in non-metal clasp dentures, J Prosthodont Res, 60: 114-122, 2016.
- 19) Song-Yu X, Rodis OM, Ogata S, Can-Hu J, Nishimura M, Matsumura S: Postural stability and occlusal status among Japanese elderly, Gerodontology, 29: 988-997, 2012.
- 20) Hidaka O, Iwasaki M, Saito M, Morimoto T: Influence of clenching intensity on bite force balance, occlusal contact area, and average bite pressure, J Dent Res, 78: 1336-1344, 1999.
- 21) Ali IL, Yunus N, Abu-Hassan MI: Hardness, flexural strength, and flexural modulus comparisons of three differently cured denture base systems, J Prosthodont Res, 17: 545-549, 2008.
- 22) 府川伊三郎, 白鳥 直行: 旭化成株式会社 ARCレポート : 先端用途で成長するスーパーエンブラ・PEEK 上, https://arc.asahi-kasei.co.jp/report/arc_report/pdf/rs-1002.pdf (2019年8月1日 アクセス).
- 23) 佐竹義克, 甲藤卓之: 「ケトン系樹脂」, 高分子, 39: 100-101, 1990.

- 24) 益田 紀彰: 抗菌性能を向上させた抗菌ガラス「DL-7900」, JETI, 63: 114-116, 2015.
- 25) 稲葉 誠二, 藤野 茂: ガラスの機械的性質. NEW GLASS, 23: 46-52, 2008.
- 26) 山本 修, 堀田 幹則, 澤井 淳, 笹本 忠, 小島 博光: 抗菌活性に及ぼす酸化亜鉛粉末特性の影響, JCS-Japan, 106: 1107-1101, 1998
- 27) Matsumura Y, Yoshikata K, Kunisaki S, Tsuchido T: Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate, Appl Environ Microbiol, 69: 4278-4281, 2003
- 28) 白井 昭博, 佐久間 貴子, 前田 拓也, 高麗 寛紀, 青木 美保: 銀担持アクリル繊維を含む抗菌紙の殺菌作用機構, 日本防菌防黴学会誌, 31:173-181, 2003.
- 29) Nishiyama Y, Uchida K, Yamaguchi H: Morphological changes of *Candida albicans* induced by micafungin (FK463), a water-soluble echinocandin-like lipopeptide, J Electron Microsc, 51: 247-255, 2002.

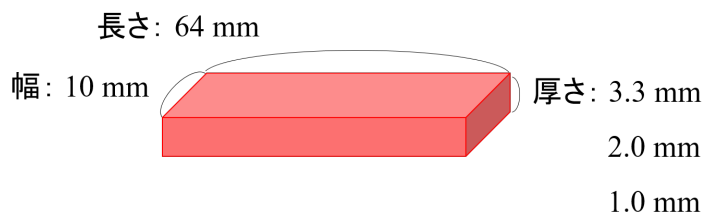
VIII 【Tables and Figures】

Table 1 実験に用いた材料の種類

材料種類	略語	商品名	成形方法
PEEK	VK	VESTAKEEP®DC4470	射出成形
抗菌ガラス(DL) 添加型PEEK	VK+DL3%	VESTAKEEP®D4 DL-7900(3%添加率)	射出成形
	VK+DL5%	VESTAKEEP®D4 DL-7900(5%添加率)	
	VK+DL7.5%	VESTAKEEP®D4 DL-7900(7.5%添加率)	
	VK+DL10%	VESTAKEEP®D4 DL-7900(10%添加率)	
	VK+DL15%	VESTAKEEP®D4 DL-7900(15%添加率)	
アクリルレジン	UR	松風アーバン®	加熱重合
	PC	プロキャストDSP®	常温重合

Fig. 1 三点曲げ試験および *C. albicans* 付着試験の試験体寸法

三点曲げ試験の試験体寸法



*C. albicans*付着試験の試験体寸法

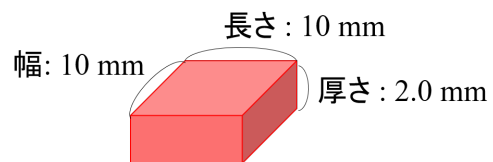
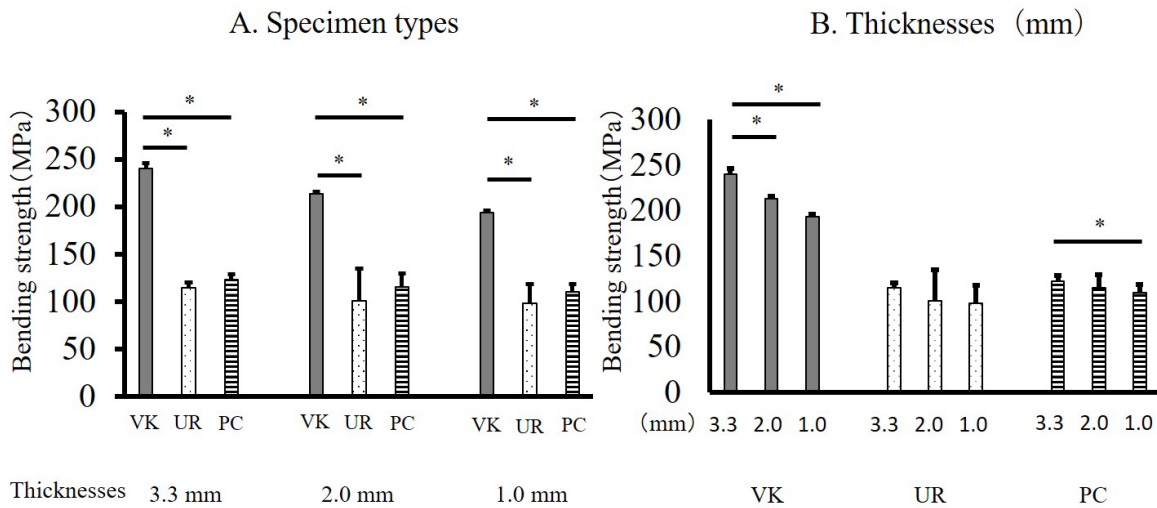


Fig. 2 PEEKとアクリルレジンを比較した曲げ強さ



A: 各試験体厚さ B: 各材料

(Tukey-Kramers test)

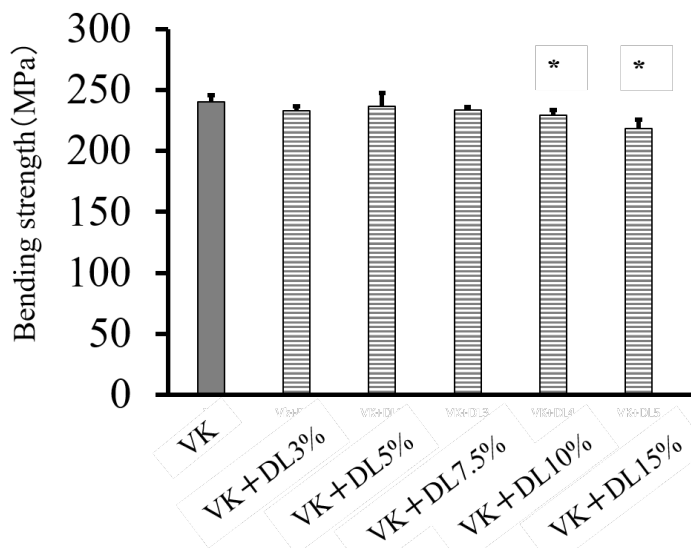
n=10

Mean ± SD

* : p < 0.05

VK: VESTAKEEP®DC4470G, UR: Urban®, PC: Procast DSP®

Fig.3 PEEK と抗菌ガラス添加型 PEEK を比較した曲げ強さ



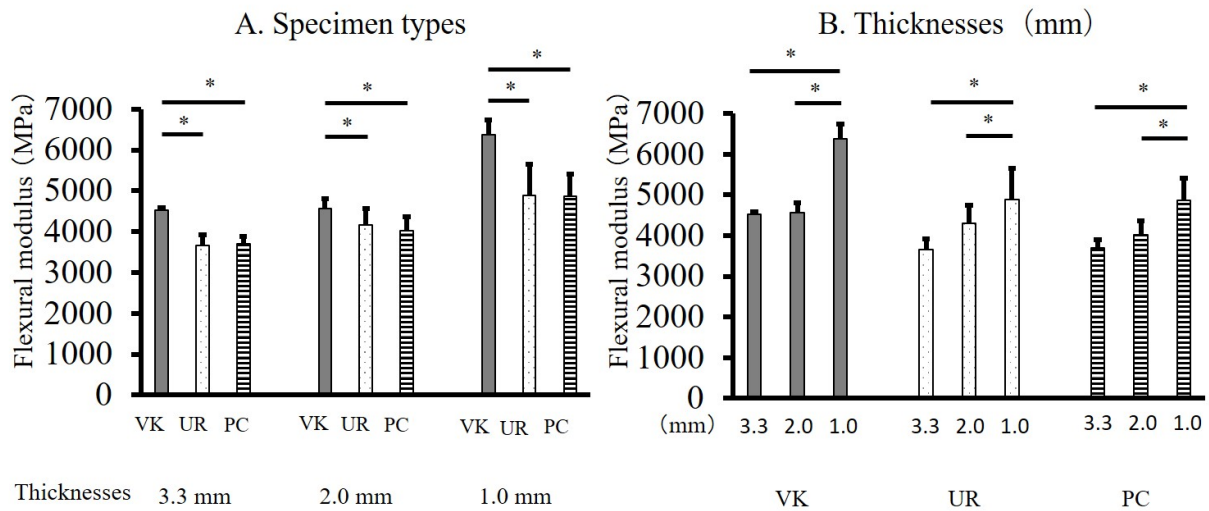
(Tukey-Kramers test)

n=10 Mean ± SD

* : p < 0.05 When compared to VK.

VK:VESTAKEEP®DC4470, VK+DL3%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 3%添加, VK + DL5%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 5%添加, VK+DL7.5%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 7.5%添加, VK+DL10%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 10%添加, VK+DL15%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 15%添加

Fig. 4 PEEK とアクリルレジンを比較した曲げ弾性率



A: 各試験体厚さ B: 各材料

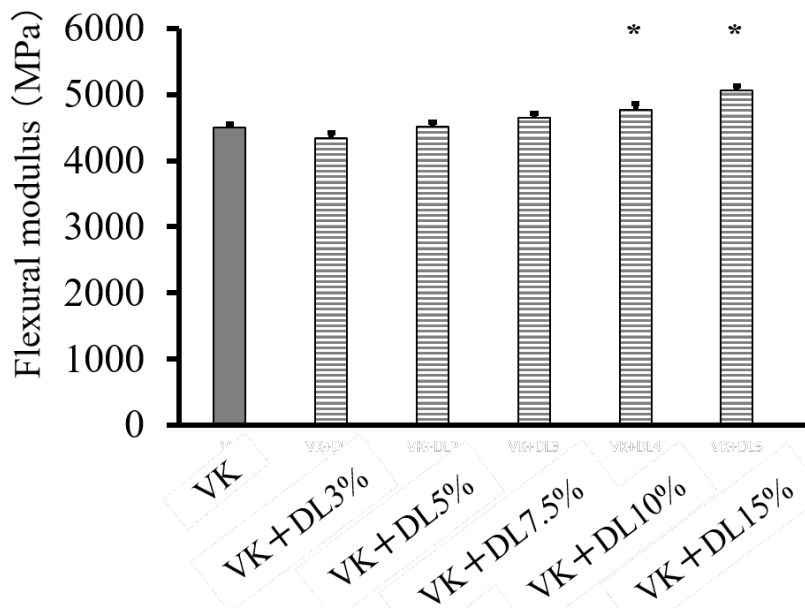
(Tukey-Kramers test)

n=10 Mean ± SD

* : p < 0.05

VK: VESTAKEEP®DC4470G, UR: Urban®, PC: Procast DSP®

Fig. 5 PEEK と抗菌ガラス添加型 PEEK を比較した曲げ弾性率



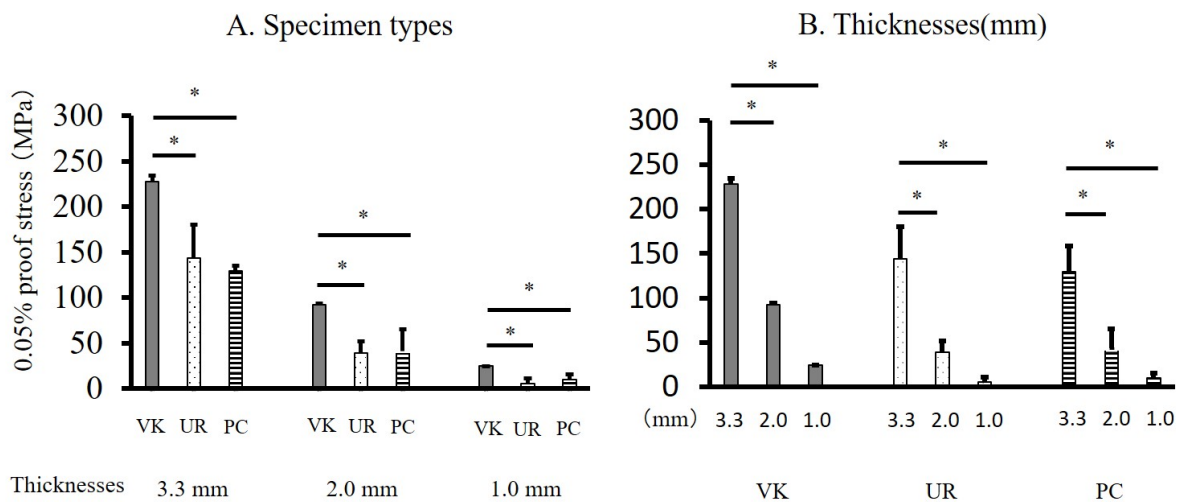
(Tukey-Kramers test)

n=10 Mean ± SD

* : $p < 0.05$ When compared to VK.

VK: VESTAKEEP®DC4470, VK+DL3%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 3%添加, VK + DL5%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 5%添加, VK+DL7.5%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 7.5%添加, VK+DL10%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 10%添加, VK+DL15%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 15%添加

Fig. 6 PEEK とアクリルレジンを比較した 0.05%耐力



A: 各試験体厚さ B: 各材料

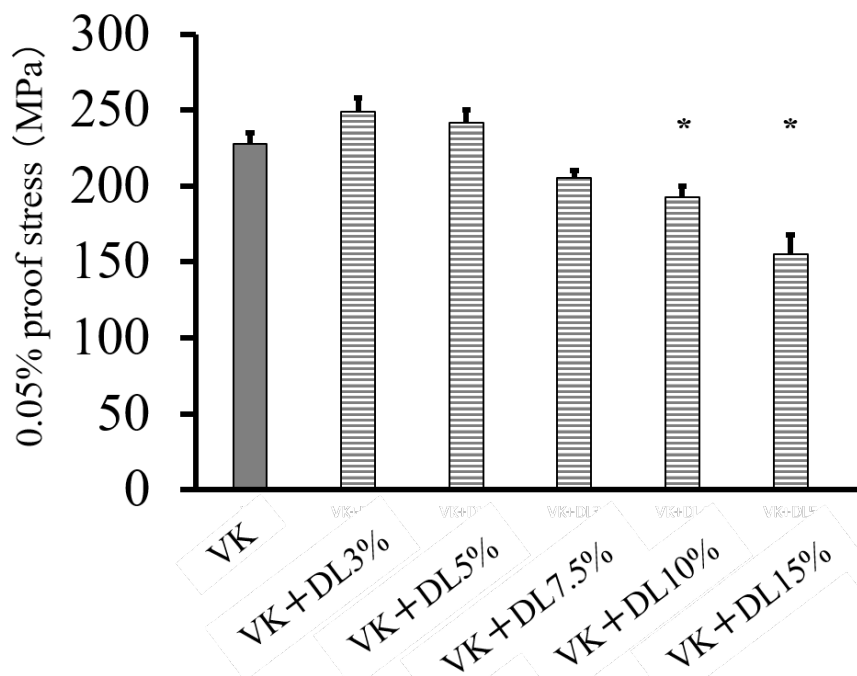
(Tukey-Kramers test)

n=10 Mean ± SD

* : p < 0.05

VK: VESTAKEEP®DC4470G, UR: Urban®, PC: Procast DSP®

Fig. 7 PEEK と抗菌ガラス添加型 PEEK を比較した 0.05%耐力



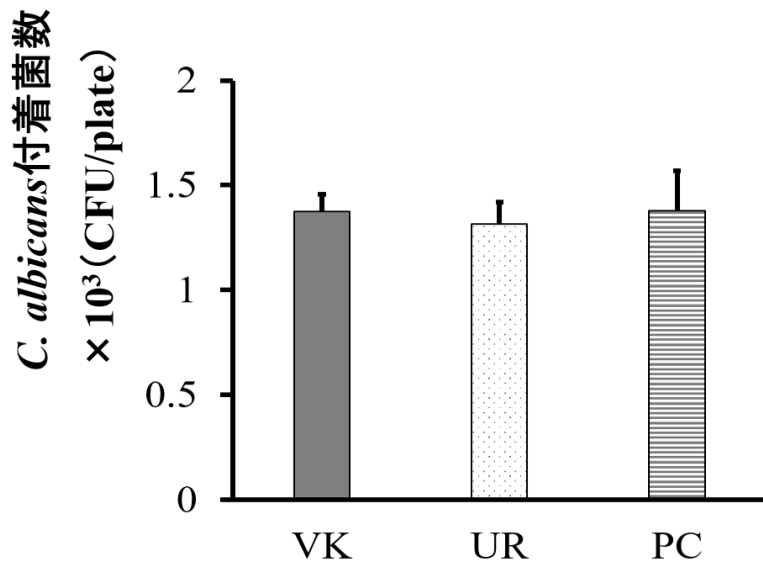
(Tukey-Kramers test)

n=10 Mean ± SD

* : $p < 0.05$ When compared to VK.

VK: VESTAKEEP®DC4470, VK+DL3%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 3%添加, VK + DL5%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 5%添加, VK+DL7.5%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 7.5%添加, VK+DL10%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 10%添加, VK+DL15%: VESTAKEEP®D4+DL-7900 15%添加

Fig. 8 *C. albicans* 付着試験 PEEK およびアクリルレジン 2 種における *C. albicans* 付着菌数の比較

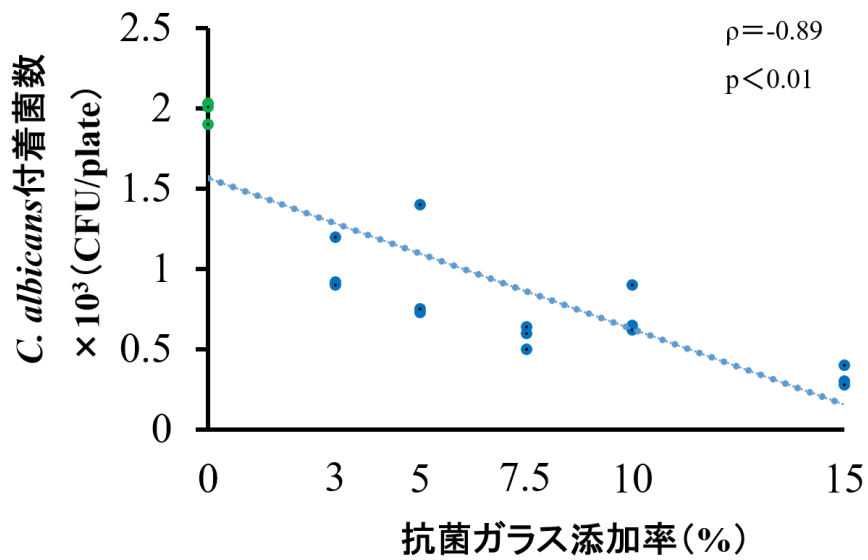


(Steel-Dwass test)

n=3 Mean ± SD

VK: VESTAKEEP[®]DC4470G, UR: Urban[®], PC: Procast DSP[®]

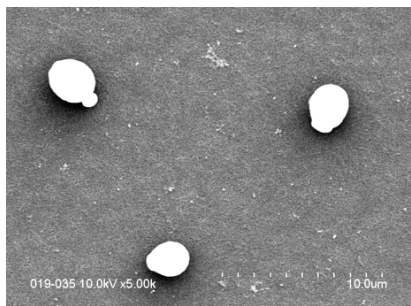
Fig. 9 *C. albicans* 付着試験 PEEK および抗菌ガラス添加型 PEEK 5 種における *C. albicans* 付着菌数の比較



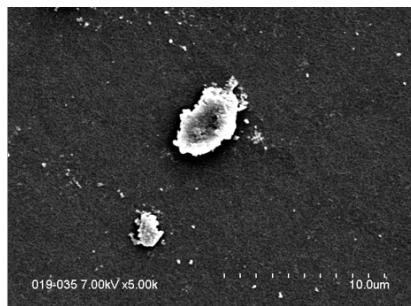
n=3 $\rho = -0.89$, $p < 0.01$

VK:VESTAKEEP®DC4470, VK+DL3%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 3%添加, VK + DL5%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 5%添加, VK+DL7.5%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 7.5%添加, VK+DL10%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 10%添加, VK+DL15%:VESTAKEEP®D4+DL-7900 15%添加

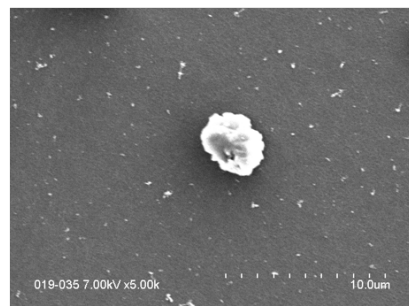
Fig. 10 *C. albicans* に対するミカファンギンと抗菌ガラスの効果比較試験 SEM 写真



コントロール群



ミカファンギン作用群



抗菌ガラス作用群