

MMP inhibitor含有・抗菌性歯質接着剤の開発

橋本 正則 [北海道大学大学院歯学研究科／助手]

背景・目的

近年、歯質接着性レジンシステムの長期耐久性を低下させる因子として象牙質基質から放出されるMMP(Matrix Metalloproteinases)の存在が指摘されている。このMMPは一種のHost-derived Enzymeである。このMMPは象牙質基質から放出され、レジン・象牙質接着界面における露出コラーゲン線維を消化・吸収し、接着構造体を長期的には崩壊に導くことが指摘されている。本研究は、長期接着耐久性の向上を目的とした、MMP inhibitor(クロルヘキシジン、ジンククロライド、テトラサイクリン)含有・抗菌性レジンシステムの開発を目的とする。

内容・方法

【接着性レジンシステム】

Bis-GMA、HEMA、を主組成とした試作接着性レジンに各異なる濃度のMMP inhibitorを含有した抗菌性レジンを作製する。

【Inhibitorの象牙質由来のMMP阻止濃度】

粉碎機を用いて象牙質から粒子径約50μのDentin Powderを作製する。80mg·Dentin Powderを180μL·緩衝液で調整後、20μLの蛍光色素によりラベルされたコラーゲンを用いて、各種条件で象牙質基質のMMP活性を比色計にて測定する。

【接着強さの測定および破断面のSEM観察】

各MMP inhibitorの至適濃度で作製されたレジン・象牙質接着試験片の接着強さをMicrotensile Bond Testをもちいて測定、さらに破断面を走査型電子顕微鏡で観察する。

【接着界面のTEM観察】

レジン・象牙質接着界面の超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡を用いて観察する。接着試験片を硝酸銀溶液に浸漬し、接着界面欠損を硝酸銀トレーサーで染め出し、透過型電子顕微鏡を用いて観察する。

【接着界面のレーザーラマン分光分析】

接着構造のレーザーラマン分光分析を行う。上層からレジン・樹脂含浸層・象牙質の順にレーザービームを1μmずつ移動し測定を行う。

結果・成果

【Inhibitorの象牙質由来のMMP阻止濃度】

MMP assay-kitにより象牙質基質から微量ではあるがヒトコラーゲン線維を消化する濃度のMMP活性が認められた。ごく微量なMMP活性であっても長期的(1~10年の臨床使用)には徐々にではあるが接着構造を崩壊するのには充分な濃度であるとかんがえることができる。さらに、クロルヘキシ

ジン、ジンククロライドをごく微量に含有した場合においてもMMP活性を充分(完全)に阻止することが判明した。

【接着強さの測定および破断面のSEM観察】

各MMP inhibitorの至適濃度で作製されたレジン・象牙質接着試験片の接着強さは臨床で現在使用されているレジンシステムにおいて接着強さを低下させる可能性があるが、本実験で使用した試作レジンシステム(Bis-GMA/HEMA系)の初期接着強さ(接着操作24時間後)には全く影響を与えたなかった($p>0.05$ にて各グループで有意差が認められなかった)。さらに、破断面のSEM観察においても各グループにおいて明確な形態的変化は全く認められなかった。接着強さが変化しない場合、通常SEM観察などの形態観察においても相違は認められない。

【接着界面のTEM観察】

各抗菌性薬剤を含有したレジン・象牙質接着界面の超薄切片を作成し(非含有をコントロール試料とした)、透過型電子顕微鏡観察を行ったが、SEM観察の結果と同様に形態的変化はほとんど認められなかった。接着試験片を硝酸銀溶液に浸漬し、接着界面欠損を硝酸銀トレーサーで染め出したナリーケージ解析においても微小欠損の量的・形態的相違はまったく認められなかった。硝酸銀により染色された形態的特徴はスポット、レテキュラー、ウォーターツリーなど現在確認されている欠損けいたいと相違はない。

【接着界面のレーザーラマン分光分析】

ラマン分析の結果においては、実験データは充分ではないが(現在施行中)、レジン・象牙質接着界面においてレジンと象牙質での境界のレジンの重合率の低下が認められる場合があるが、ごく微小な層での重合阻害であり、抗菌剤による阻害の可能性も否定はできないが、接着操作時の象牙質表層の水分により阻害されている可能性が極めて大きいと推測される。形態的相違(SEM、TEM観察)が認められないことからも、MMP inhibitorによる重合阻害の影響はないと考えるのが妥当である。

【総括】

クロルヘキシジンやジンククロライドは微量でMMP活性を阻止することができ、またそれらを微量に含有したレジンシステムの接着強さ、形態的変化は全く認められないことから、本研究で試作したMMP inhibitor含有・抗菌性接着性レジンシステムの臨床応用の可能性が示唆された。

今後の展望

本研究で試作したMMP inhibitor含有・抗菌性接着性レジンシステムの臨床応用の可能性が示唆された。しかしこれらデータは接着操作24時間後の機械的、形態的特徴を主とするものであることから、今後、長期水中浸漬試験(水中浸漬1年以上)やin vivo(サル、ビーグル犬)での長期的臨床有効性に関する検索が必要であると思われる。現在、長期水中浸漬試験用試験片を作製しデータの収集を行う予定である。