

Development of Tissue Conditioners Containing a Photocatalyst Capable of Antimicrobial and Antifungal Effects

内丸, 雅之
九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座クラウンブリッジ補綴学分野

<https://doi.org/10.15017/19953>

出版情報 : 九州大学, 2010, 博士 (歯学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

光触媒を用いた抗菌・抗真菌能を有する
ティッシュコンディショナーの開発

Development of Tissue Conditioners
Containing a Photocatalyst Capable of
Antimicrobial and Antifungal Effects

2010年

内丸 雅之

九州大学大学院歯学研究院

口腔機能修復学講座

クラウンブリッジ補綴学分野

(指導教員：寺田 善博 教授)

本研究の一部は以下の学術雑誌に投稿中である。

Antimicrobial and antifungal effects of tissue conditioners containing a photocatalyst.

Masayuki UCHIMARU, Takako SAKAI, Ryoji MOROI, Susumu SHIOTA, ,
Yukie SHIBATA, Mikito DEGUCHI, Hidetaka Sakai, Yoshihisa
YAMASHITA, Yoshihiro TERADA. 2010.

Dental Materials Journal

本文の内容の一部は、下記学会において発表した。

- The 118th Scientific Meeting of Japan Prosthodontic Society 2009 in Kyoto
「Antimicrobial and Antifungal Effects of Tissue Conditioners Containing a Photocatalyst」
- 平成 21 年度日本歯科理工学会九州支部夏期セミナー、柳川
「光触媒含有義歯粘膜調整材の抗菌・抗真菌効果について」

目次

第 1 章	緒言	1
第 2 章	光触媒含有ティッシュコンディショナーの抗菌・抗真菌性	10
2-1	序論	11
2-2	材料と方法	
2-2-1	材料	13
2-2-2	抗菌試験	16
2-2-3	統計学的分析	17
2-3	結果	
2-3-1	<i>E.coli</i>	18
2-3-2	<i>S.mutans</i>	19
2-3-3	<i>S.aureus</i>	20
2-3-4	<i>C.albicans</i>	21
2-4	考察	22
2-5	小括	24
第 3 章	光触媒含有ティッシュコンディショナーの抗菌・抗真菌性の持続性	36
3-1	序論	37
3-2	材料と方法	

3-2-1	材料	39
3-2-2	抗菌試験	42
3-2-3	統計学的分析	44
3-3	結果	
3-3-1	<i>E.coli</i>	45
3-3-2	<i>S.mutans</i>	46
3-3-3	<i>S.aureus</i>	47
3-3-4	<i>C.albicans</i>	48
3-4	考察	49
3-5	小括	51
第4章	光触媒含有ティッシュコンディショナーの諸性質	60
4-1	序論	61
4-2	材料と方法	
4-2-1	試料作製	63
4-2-2	表面形状の経時的変化	65
4-2-3	重量変化の測定	66
4-3	結果	
4-3-1	表面形状の経時的変化	67
4-3-2	経時的重量変化	68
4-4	考察	69
4-5	小括	72

第 5 章 総括 81

謝辞 84

参考文献 85

要旨

本研究の目的は抗菌・抗真菌効果を有する光触媒を用いたティッシュコンディショナーの開発をすることである。

ハイドロキシアパタイト結晶の一部のカルシウムを Ti (IV) に置換した光触媒アパタイト (PHOTOHAP) を 0 wt%、5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt% 含有する試料を作製した。試料作製後 1 日、3 日、5 日、7 日、14 日後に *Escherichia coli*、*Streptococcus mutans*、*Staphylococcus aureus*、*Candida albicans* に対する抗菌・抗真菌性の評価、抗菌・抗真菌効果の持続性、表面形状の経時的変化、さらに重量の経時的変化について検討した。

抗菌・抗真菌性は、それぞれ菌液を試料上に滴下し紫外線を 0 時間、2 時間、4 時間照射した後に計測した生菌数で評価した。表面形状の変化は走査型電子顕微鏡でおこなった。試料作製後 1 日目において、10 wt%、15 wt% および 20 wt% 含有試料での紫外線照射後の生菌数は非含有試料の生菌数に比べて有意に減少した。また、照射群試料の生菌数は非照射群試料のものと比較して有意に減少した。

このことから光触媒を含有したティッシュコンディショナーは抗菌・抗真菌

効果を有することが示唆された。

抗菌・抗真菌効果の持続性に関しては、*E. coli*では15 wt%、20 wt%試料において3日目まで、*S. mutans*では10 wt%試料で3日目まで、15 wt%、20 wt%試料では14日目まで、*S. aureus*では10 wt%と15 wt%試料では1日目まで、20 wt%試料では3日目まで効果が持続した。*C. albicans*に対してはすべての試料で1日目まで効果持続する結果となった。

表面形状の経時的変化としては、時間の経過とともに、表面に分布する光触媒が減少し、光触媒の活性化が阻害されている可能性が示唆された。また、実験期間中において、重量の経時的変化はみとめられなかった。

今後、実用化に向けて、抗菌・抗真菌能の増大や、抗菌・抗真菌効果能の持続性を向上させるための条件設定を検討していくとともに、材料の作製方法の改良をおこない、またその材料の抗菌・抗真菌効果、また機械的強度や操作性などの検討をおこなう必要がある。

第 1 章 緒言

1. 義歯装着者の口腔内環境

近年、高齢社会であるわが国において、良好な口腔内環境が、高齢者の全身疾患や義歯性口内炎を防ぎ、QOLの向上につながるということが歯科領域のみならず、医科領域でも広く認識され始めた（Yoneyama T. et al.1999、Peterson PE. et al.2005）。その結果、病棟や介護施設で、看護師や介護士により、食後の口腔内ブラッシングや義歯洗浄が行われる光景をよく目にするようになった。

高齢者が義歯を装着すると、プラーク中の真菌が増加すること、またすべての年代で義歯装着により、*lactobacilli*, *mutans streptococci*, *staphylococci*が増加し、義歯装着により口腔内環境が大きく変化することが報告されている

（Marsh et al.1992）。日常の臨床でも義歯性口内炎の発症やプラークの付着した義歯はよく目にするものである。義歯装着者の多くが、歯科医師や歯科衛生士による義歯の清掃方法の指導を受けているにもかかわらず、自分の装着している義歯を十分に清掃できないため、その結果義歯の清掃不良による口腔内環境の悪化を招いてしまっている。

義歯の清掃を困難にしている原因のひとつに、義歯の形状の複雑さが挙げられる。クラスプやバーの存在、粘膜面の微細な凹凸は食渣の停滞を招きやすく、

これらを完全に除去するのは困難である。高齢者の中には全身疾患の影響で目が不自由になったり、手指が不自由になることもあるため、義歯の清掃はますます困難であると考えられる。

2. ティッシュコンディショナー

義歯の清掃やメンテナンスを困難にしているもう一つの原因は義歯に使用される材料である。なかでもティッシュコンディショナーは機械的清掃が困難であることから、清潔に保つのが難しいことは日常の臨床でよく知られている。

ティッシュコンディショナーは、粘弾性を持続することから不適合義歯や咬合の不調和などにより生じた義歯床下粘膜のひずみ、変形（圧痕）、発赤、褥瘡性潰瘍など、非生理的状态になった組織を生理的状态に回復させることを目的に暫間的に使用される（Braden M. et al.1995、Chase WW. 1961、Pound E. 1962、Von Krammer et al.1971、Farrell DJ. 1975）。また、即時義歯や顎義歯の暫間裏層（Loh HS. et al.1986、Farrell DJ. 1975）、オブチュレータなどの顎顔面補綴への応用（Loh HS. et al.1968、Farrell DJ. 1975、Gonzalez JB. 1977）のほか、抜歯や歯肉の乳頭状過形成の切除や歯周外科処置後のドレッシング（Frisch J. et al.1968、Levin MP. et al.1969）、動的印象（Chase WW. 1961、Pound E. 1962、Tryde G. et al.1965）、基礎床のアンダーカット部への使用（Coffield B. 1987）、および義歯性口内炎の治療（Budtz-Jorgensen E. et al.1970）にも用いられている。

しかしながら、ティッシュコンディショナーは表面性状が軟質であるため、機械的清掃が困難で、著しく汚れを取り除きにくい。さらに時間が経過すると硬化し変性し、微生物によるコロニー形成を受けやすくなる (Okita N. et al.1991)。その結果、ティッシュコンディショナーには、*Candida* を主体とした微生物 によって構成されるデンチャープラークが沈着する (Johanson WG. et al.1972、Terpenning MS. et al.2001、Nikawa H. et al.1998)。実際、レジン床義歯に裏層されたティッシュコンディショナーからは、レジン床義歯のみのもものと比較して *Candida* が多数検出されたことが報告されている (Allison RT. et al.1973)。これら義歯粘膜面に増殖した細菌や真菌は、義歯性口内炎や肺炎などの病気を引き起こすため高齢者においては重篤な健康被害を起こすことが危惧される (Kulak et al.1997)。

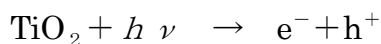
3. 光触媒

近年、抗菌力、または抗真菌力を付与するため、あるいは義歯性口内炎の治療のために、抗生物質や抗真菌剤のほか、抗菌物質をティッシュコンディショナーに添加する試みがなされている(Thomas CJ. et al.1978、Quinn DM. 1985、Lamb DJ. et al.1988、Schneid TR. 1992、Truhlar MR. et al.1994、Nikawa H. et al.1997)。しかしながら、これらの材料には、毒性やアレルギーなど生体への悪影響を及ぼす可能性、抗生物質や抗真菌剤による薬剤耐性菌の発生、抗菌・抗真菌性の減弱、材料の物性の低下という問題点がある (Neu HC. 1987)。

そこで、光触媒として抗菌・防汚・脱臭などの様々な機能を有する二酸化チタンをティッシュコンディショナーに混入することで、清掃性に優れ、なおかつ生体に対して為害性の少ない義歯材料の開発を試みた。

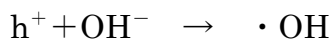
光触媒のメカニズムは、太陽光を媒体として水と二酸化炭素から酸素とグルコースを生成する光合成のメカニズムと相似している。光触媒である二酸化チタン (TiO_2) は光のエネルギーを受けると高エネルギー状態に変化する半導体である。このエネルギーが半導体のバンドギャップ以上 (3.2eV 以上) になるとき、価電子帯に存在する電子が、伝導帯へ通過できるようになる。その結果伝

導帯にはフォトン電子が形成され、価電子帯のホールは陽イオンを帯電する。

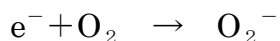


h はプランク定数、 ν は振動数。

陽イオンを帯電したホールは強い酸化力を持ち、水分中のヒドロキシイオン (OH^-) から電子を奪おうとする。電子を奪われたヒドロキシイオンはヒドロキシラジカルとなる。



排出された電子は水分中に吸収もしくは溶解している酸素の電子受容器に反応する。



ヒドロキシラジカルは近接する有機物質より電子を奪おうとする。このようにして有機物質は分解され、結果として二酸化炭素と水に変化し、新たな有害物質を産生しない (Jiang Z. et al.2004)。

二酸化チタンは、非毒性、低コスト、非水溶性という特徴を持ち合わせていることから、産業界でも注目されている。実用化のために、二酸化チタンを物質の表面に効果的にコーティングするための研究 (Kim TK. et al.2005、Jiang Z. et al.2006) や、 $\text{SiO}_2/\text{TiO}_2$ や $\text{glass}/\text{TiO}_2$ などのような、二酸化チタンを結合さ

せる研究 (Holgado M. et al.2000、 Hilmi A. et al.1999) など多くの研究がなされてきた。コーティング処理された二酸化チタンは産業界ではすでに水や、空気の浄化、消毒などに実際に用いられている (Teekateerawej S. et al.2005、 Pelizzetti E. and Minero C. 1993)。

一方、カルシウムヒドロキシアパタイト(HAP)も有機物を吸収する性質を持つことから様々な分野で使用されている (Takemoto S. et al.2004)。Nonamiらは HAP の吸着能に着目して二酸化チタンを多孔性の HAP でコーティングした光触媒を開発した(Nonami T. et al.1998)。また HAP の結晶の一部をチタンに置換した光触媒も開発された (Wakamura M. et al.2003)。これらは HAP の吸着能と二酸化チタンの分解能をあわせもつことが証明されている。

4. 本実験の目的

汚れにくく清掃しやすいティッシュコンディショナーを作製するために、光触媒を混入することを考えた。

本研究では光触媒をティッシュコンディショナーに混入し、感染に関係する *E.coli* と *S.aureus*、口腔内常在菌で義歯装着者に多く検出されるといわれる *S.mutans* と *C.albicans* に対する抗菌性と抗真菌性を評価した。さらに光触媒含有ティッシュコンディショナーの抗菌・抗真菌性の持続性、また、表面形状の観察と重量変化の測定を行い、抗菌性・抗真菌性の持続との関連についても検討した。

第2章

光触媒含有ティッシュコンディショナーの抗菌・抗真菌性

2-1 序論

ヒトの口腔内には 300 種類以上の細菌、真菌が常在菌として存在するといわれている (Christersson LA. et.al.1991)。これらの細菌、真菌は唾液や歯肉溝滲出液などを栄養素として利用し、歯、歯肉溝、舌背、義歯表面、そして頬粘膜などに生態系を確立し、中には口腔内の健康を脅かすものも存在しているといわれている (Listgarten MA. et al.1981)。

また、時には腎炎、皮膚炎、肺炎や心内膜炎を引き起こすものがあることが報告されている (Okuda K. and Ebihara Y. 1998)。う蝕原因菌や歯周病原因菌の中にも血液循環障害や冠状動脈などの疾患を引き起こす可能性がある細菌が存在するといわれている (Hiro-O Ito. 2006)。

口腔内常在菌の中でも、カンジダ属、ストレプトコッカス属、スタフィロコッカス属は歯や義歯の表面に集積するといわれている (Hamada S. et al.1980、Budtz-Jorgensen E. 1978)。 *Candida albicans* は健常人においても口腔粘膜にコロニーを形成する常在酵母であるが (Cannon RD. et al.1999)、ヒトにとって主な真菌病原体であり粘膜と全身的な日和見感染の原因となる

(Sangeorzan JA. et al.1994、Wozniak KL. et al.2002、Odds.1988)。義歯性口内炎患者から単離された *Candida* 属の割合は *Candida albicans* が約 73 %、

Candida glabrata、*Candida tropicalis* がそれぞれ約 9%であったことが報告されている(Marcos-Arias C. et al.2008)。

特に要介護者は、体の免疫反応も衰えることが多いことから、細菌や真菌の影響を特に受けやすいといわれている。また口腔内乾燥症や、頭頸部に放射線療法を受けている患者では、唾液分泌が減少していることから、口腔内の感染症に罹るリスクが高いとされる (Vissink A. et al.1996、Lockhart SR. et al. 1999)。

不適合義歯による咀嚼障害やそれに伴う義歯床下粘膜の損傷に対し、ティッシュコンディショナーを用いて義歯の安定をはかり、変形や損傷を受けた義歯床下粘膜の治癒をはかることは日常の臨床でしばしばおこなわれることである。しかしながら、ティッシュコンディショナーは重合後も粘弾性を持続することから機械的清掃が困難であり、また化学的洗浄でも表面性状が変化することから、不潔になりやすい (Hong et al.2008)。

そこでティッシュコンディショナーに光触媒を混入して抗菌性と抗真菌性を与えることを試みた。光触媒による洗浄は義歯を水中に浸漬し、紫外線を照射することで行われるため、ティッシュコンディショナーには機械的清掃による変形や表面の損傷は生じない。また、操作が簡単であることから、器用さが失われても、家族や介護者であっても容易に洗浄することができる。

2-2 材料と方法

2-2-1 材料

A. 光触媒含有ティッシュコンディショナーの作製

光触媒として PHOTOHAP（太平化学産業株式会社、大阪）を使用した。

PHOTOHAP はハイドロキシアパタイトの一部をチタンに置換した光触媒アパタイトで、直径 3.78 μm 、比表面積 41.59 m^2/g の不溶性の白色粉末である。

ティッシュコンディショナーには、松風ティッシュコンディショナー II（株式会社松風、京都；以下、T-con）を使用した。T-con の粉材にはポリエチルメタクリレート、液材にはセバシン酸-n-ジブチルと無水エタノールを含む（表 2-1、2-2）。

PHOTOHAP の粉末を 5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt%の割合でそれぞれ T-con の粉末に加え攪拌した。PHOTOHAP を含有した T-con の粉末に液を加え通法通り混和した（表 2-3）。混和した材料を高さ 1 mm の隔壁を付与したガラス板に流し込み、上方にガラス板を置き、室温で 4 時間放置した。コルクカッターで直径 24 mm の円状にくりぬき、滅菌水中に 24 時間保存した。実験試料は逆性せっけん中に 5 分間浸漬後、滅菌水中に 5 分間浸漬させ、20 分間乾燥させた（以下、5 wt%T-con、10 wt%T-con、15 wt%T-con、20 wt%T-con）。ま

た、PHOTOHAP を加えず通法通り T-con を作製したものをコントロールとした（以下、0 wt%T-con）。

B. 菌と培養条件

Escherichia coli と *Staphylococcus aureus* は代表的な感染症原因菌であることから、抗菌物質の判定の際に評価を義務づけられている（JIS Z 2801 規格）。
Streptococcus mutans はう蝕原因菌として知られている（Loesche et al. 1986）。
Candida albicans は義歯性口内炎患者から単離された *Candida* 属のうち約 73 % を占めることが報告され（Marcos-Arias C. et al. 2008）、義歯性口内炎の原因菌と考えられている。

以上のことから、*Escherichia coli*、*Staphylococcus aureus*、*Streptococcus mutans* および *Candida albicans* を用いて抗菌、抗真菌試験を行うことにした。

供試菌株は

Escherichia coli NBRC3972 （以下、*E.coli*）、

Streptococcus mutans UA159 （以下、*S.mutans*）、

Staphylococcus aureus FDA209P （以下、*S.aureus*）、

Candida albicans ATCC10231 （以下、*C.albicans*）である。

E.coli、*S.aureus* および *S.mutans* は独立行政法人製品評価技術基盤機構より、

C.albicans は口腔保健推進学講座口腔予防科学分野より譲渡された。

-80 °Cで凍結保存された各々の被験菌株をそれぞれの寒天培地に植菌し、
37 °Cにて 24 時間培養後、寒天培地上に形成された単一コロニーを、

*E.coli*は 10 g/l ペプトン、2 g/l イーストエキストラクトおよび 1 g/l 硫酸マグ
ネシウム含有培養液中に、

S.mutans は Brain heart infusion 液体培地 (Bact™、Becton Dickinson、
USA) 中に、

S.aureus は Tryptone-yeast extract medium (L-broth)中に、

C.albican は Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) medium 液体培地中
に懸濁後、*E.coli*、*S.aureus*、*C.albicans* は 37 °Cにて 24 時間、*S.mutans* は
嫌気培養装置にて CO₂ 7 %条件下、37 °C、24 時間培養し、それぞれの濃度に
調整したものを被験菌液とした。また、それぞれの培養液の組成に 15 %~20 %
の寒天を配合したものを寒天培地として用いた。

2-2-2 抗菌試験

暗所下にて、6穴ディッシュ(MULTIWELL™, BECTON DICKINSON, San Jose, USA)の各穴に0 wt%T-con、5 wt%T-con、10 wt%T-con、15 wt%T-con、20 wt%T-conを置き、それぞれ濃度を調整した*E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans*の菌液300 µmを直接試料上に滴下した。紫外線照射中の試料の乾燥を防ぐためにディッシュをラップで封鎖し、菌液を滴下した試料の20cm上方から紫外線を照射した(352 nm、FL15BLB、株式会社東芝、東京)。*C.albicans*は予備実験で20 cm上方から照射した結果、良好な抗菌作用が得られなかったため、10 cm上方から照射した。試料を3群に分け、0時間照射群、2時間照射群、4時間照射群とし、照射終了後菌液を回収した。

回収した菌液は、試料ごとにそれぞれの培養液2700 µmを加え懸濁し、これをさらに希釈したうえで各々の寒天培地上に均一に播種し、*E.coli*、*S.aureus*、*C.albicans*は37 °Cにて24時間、*S.mutans*は嫌気培養装置にてCO₂7%条件下、37 °C、24時間培養後、それぞれの寒天培地上に形成されたコロニー数を測定した。測定した値は、colony forming unit (CFU) で表した。

紫外線照射を行わず暗所下で同様の実験をおこなったものをコントロールとした。

2-2-3 統計学的分析

測定結果は一元配置分散分析、および多重比較検定（Scheffe 法）を用いて統計解析を行った。

2-3 結果

2-3-1 *E.coli*

PHOTOHAP 15 wt%、20 wt%含有した試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値は、PHOTOHAP 0 wt%の試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した。また、PHOTOHAP 含有量の増大に伴い、CFU 値の減少量は増加する傾向がみられた (図 2-1 上)。

紫外線照射をせずに暗所下にて時間を経過させたもの (コントロール) では、すべての試験片で、時間を経過させても生菌数に有意な変化はみとめられなかった (図 2-1 下)。

紫外線照射の有無による CFU 値を比較すると、紫外線照射した 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試験片の照射 2 時間後、4 時間後の CFU 値は、紫外線照射をしなかったそれぞれの試験片の 2 時間後、4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した (図 2-2)。

2-3-2 *S.mutans*

PHOTOHAP 5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt%含有した試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値は、PHOTOHAP 0 wt%の試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した。また、PHOTOHAP 含有量の増大に伴い、CFU 値の減少量は増加する傾向がみられた (図 2-3 上)。

また、紫外線照射をせずに暗所下にて時間を経過させたもの (コントロール) の CFU 値は、すべての試験片で、時間が経過しても CFU 値に有意な変化が見られなかった (図 2-3 下)。

紫外線照射した 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試験片の照射 2 時間後、4 時間後の CFU 値は、紫外線照射をしなかったそれぞれの試験片の照射 2 時間後、4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した (図 2-4)。

2-3-3 *S.aureus*

PHOTOHAP 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値は、PHOTOHAP 0 wt%の試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した。また、PHOTOHAP 含有量の増大に伴い、CFU 値の減少量は増加する傾向がみられた (図 2-5 上)。

紫外線照射をせずに暗所下にて時間を経過させたもの (コントロール) の PHOTOHAP 15 wt%、20 wt%含有試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値は、非含有試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値に対し有意に減少した (図 2-5 下)。

紫外線照射した 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試験片の照射 2 時間後、4 時間後の CFU 値は、紫外線照射をしなかったそれぞれの試験片の 2 時間後、4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した (図 2-6)。

2-3-4 *C.albicans*

PHOTOHAP 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有した試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値は、PHOTOHAP 0 wt%の試験片の紫外線照射 4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した。また、PHOTOHAP 含有量の増大に伴い、照射時間に対する CFU 値の減少量は増加する傾向がみられた (図 2-7 上)。

また、紫外線照射をせずに暗所下にて時間を経過させたもの (コントロール) の CFU 値は、すべての試験片で、時間を経過させても CFU 値に有意な変化がみとめられなかった (図 2-7 下)。

紫外線照射した 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試験片の照射 2 時間後、4 時間後の CFU 値は、紫外線照射をしなかったそれぞれの試験片の 2 時間後、4 時間後の CFU 値に対して有意に減少した (図 2-8)。

2-4 考察

PHOTOHAP 含有試験片の紫外線照射後の CFU 値が、PHOTOHAP 非含有試験片の紫外線照射後の CFU 値に対して有意に減少したこと、PHOTOHAP の含有量の増大に伴い、紫外線照射後の CFU 値の減少量が増加し、また照射時間が長いものほど CFU 値の減少が大きかったことから、PHOTOHAP を含有したティッシュコンディショナーは *E. coli*、*S. mutans*、*S. aureus* に対する抗菌性と *C. albicans* に対する抗真菌性を獲得したと考えられる。光触媒作用は物質との界面においてその作用が発揮されるため、PHOTOHAP の含有量の多い試験片のほうがティッシュコンディショナーの表面に PHOTOHAP が多く分布するため、より多くの細菌や真菌を分解したことが推測される。

光触媒の抗菌効果、抗真菌効果は細菌や真菌の種類により異なっていた。

Blake らは、光触媒効果は細菌種により異なり、その違いは細胞壁の厚さや構造の違いによるものであると述べている (Blake et al. 1999)。Kühn らの実験結果でも抗菌効果は *E. coli* > *P. aeruginosa* > *S. aureus* > *E. faecium* > *C.*

albicans の順に低下することが報告されている (Kühn et al. 2003)。光触媒による殺菌は、OH ラジカルに細胞壁が破壊されることによることが報告されている (Saito et al. 1992)。グラム陰性菌の細胞壁はグラム陽性菌より薄く粗である

ため、分解されやすいと考えられる (Kühn et al.2003)。 *C. albicans* は厚い細胞膜を有するため分解されにくく、また真核細胞であることから、容易には殺菌されないと考えられる。

しかしながら、本研究ではグラム陽性菌である *S.mutans* と *S.aureus* の CFU 値の減少が *E.coli* より大きく、Kühn らの報告とは異なった。 *S.mutans* と *S.aureus* は紫外線非照射試験片でも 15 wt%、20 wt%含有試験片で CFU 値が減少した。有機物を分解する OH ラジカルは紫外線照射時のみに発生することから、この場合の CFU 値減少はハイドロキシアパタイトの吸着作用によるものと考えられる。細菌の付着には細菌表面の疎水性と物質との間の表面エネルギーが関与することが知られている。Sonohara らは *E.coli* と *S.aureus* の細胞表面の電気的特性を比較し、*S.aureus* の方が付着しやすい特性を持つことを報告している (Sonohara et al. 1995)。このことからグラム陽性菌はグラム陰性菌よりハイドロキシアパタイトに付着しやすいと推測できる。

以上のことから、本研究で使用した細菌・真菌は非照射時にハイドロキシアパタイトにより吸着され、紫外線照射により分解されることが推測された。

2-5 小括

光触媒含有ティッシュコンディショナーには抗菌・抗真菌効果があり、義歯の易清掃性が獲得されることが示唆された。10 wt%、15 wt%および 20 wt% 含有試料で *E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans* に対し紫外線照射群は非照射群より有意に抗菌性、抗真菌性を示した。

表2-1: ティッシュコンディショナーの一般組成

粉末	液
ポリマー (アクリル系) PEMAまたはこれに関連した共重合体 PEMAとPBMAの混合物	エチルアルコール 可塑剤 (エステル) 芳香族 BPBG DBP BBP BB 脂肪族 DBS

PBMA: poly butyl methacrylate
 PEMA: poly ethyl methacrylate

BPBG: butyl phthalyl butyl glycolate
 DBP: dibutyl phthalate
 BBP: benzyl butyl phthalate
 BB: benzyl benzoate
 DBS: dibutyl sebacate

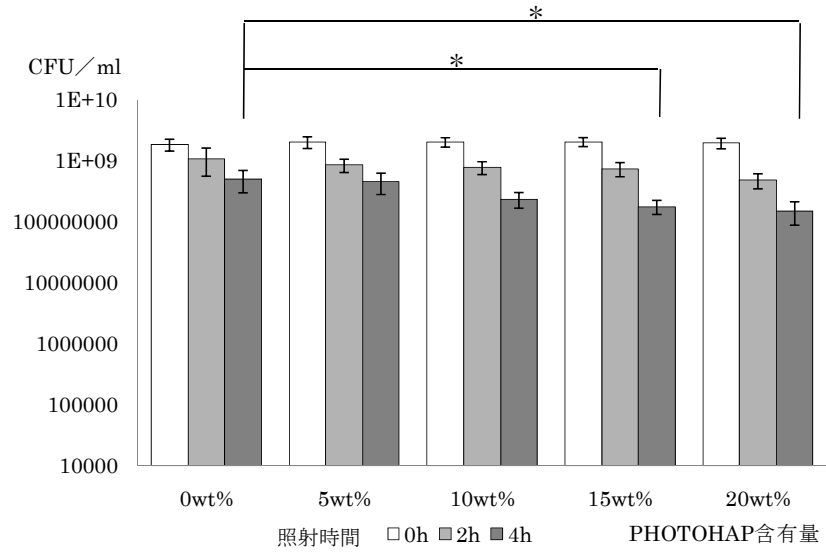
表2-2: 松風ティッシュコンディショナーの組成

粉末			液		粉液比 (重量比)
化学組成	平均分子量	平均粒子径 (μm)	可塑剤	エチルアルコール (wt%)	
PEMA	3.54×10^5	50.3	DBP	13	1.17

表2-3：光触媒含有ティッシュコンディショナーの組成

Photocatalyst Concentration (w/w)%	tissue conditioner		liquid (ml)
	photocatalyst (g)	powder (g)	
0	0	9.60	8.00
5	0.48	9.12	8.00
10	0.96	8.64	8.00
15	1.44	8.16	8.00
20	1.92	7.68	8.00

a) 紫外線照射有



b) 紫外線照射無

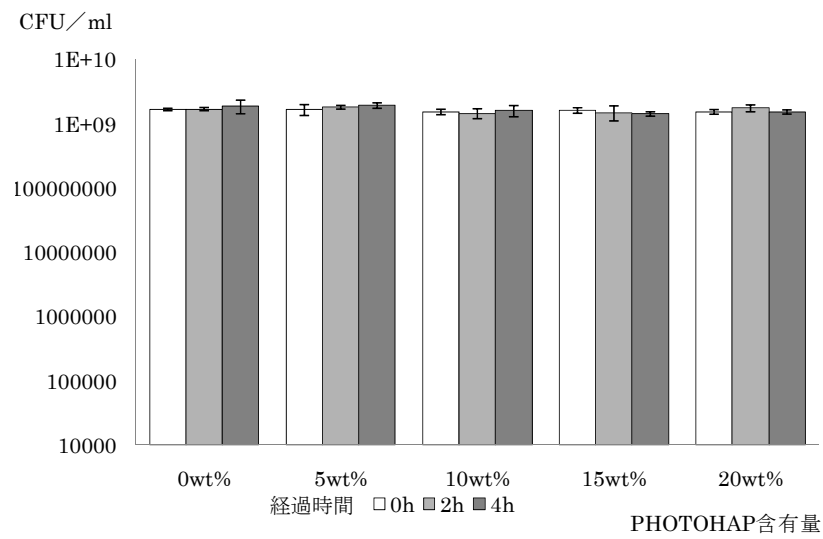
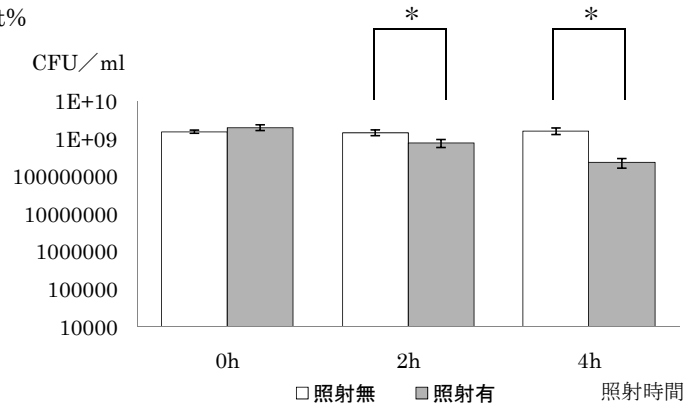
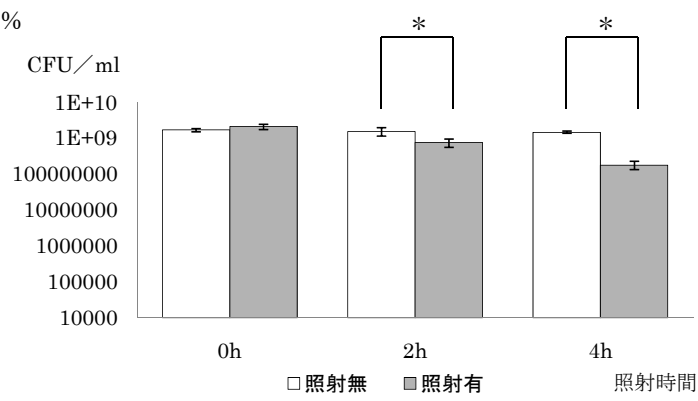


図2-1: *E.coli*における紫外線照射（また照射せず経過）後の生菌数
試料間の有意差を*で示す。(p<0.05)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

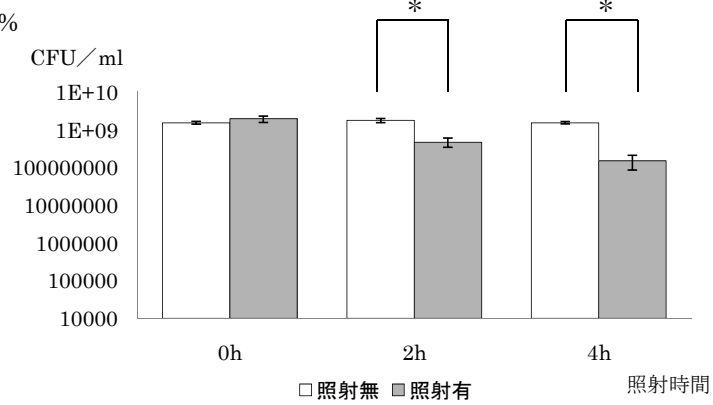
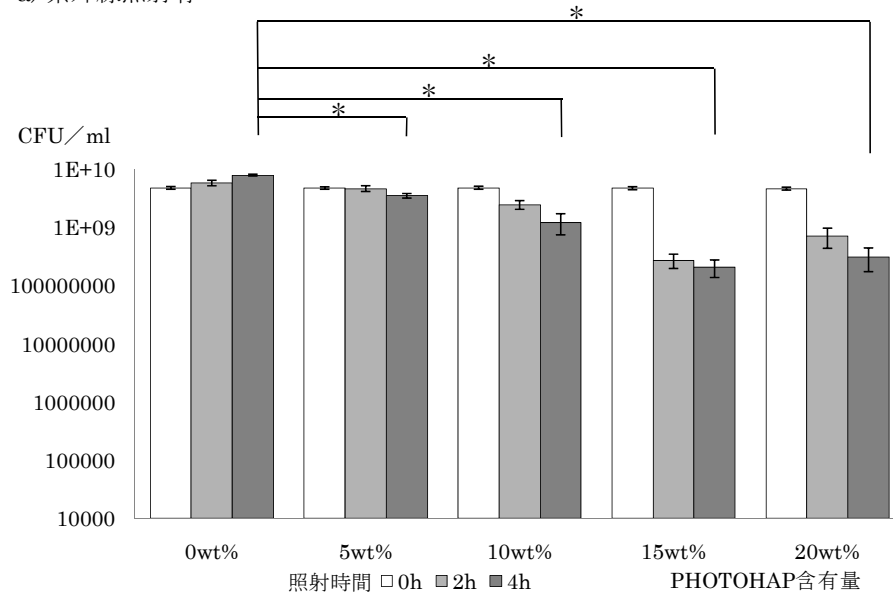


図2-2: *E.coli*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射の有無によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 紫外線照射有



b) 紫外線照射無

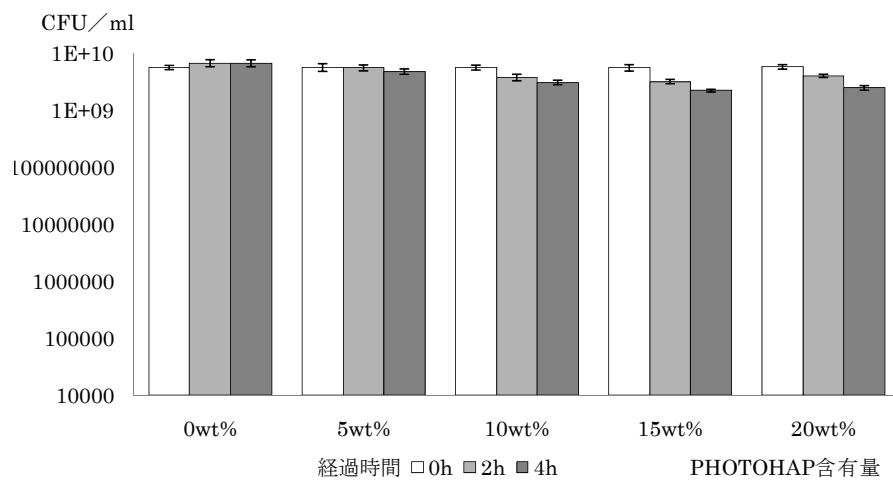
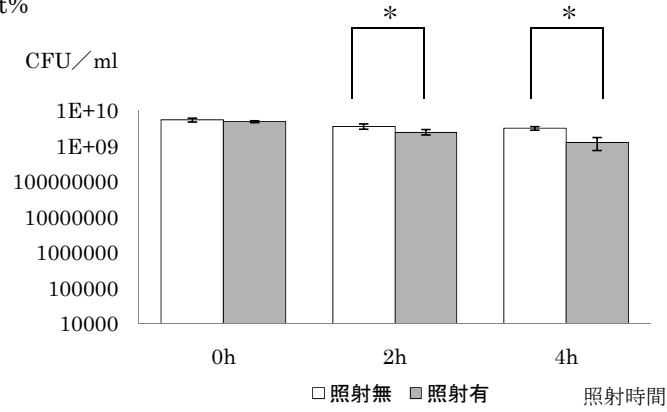
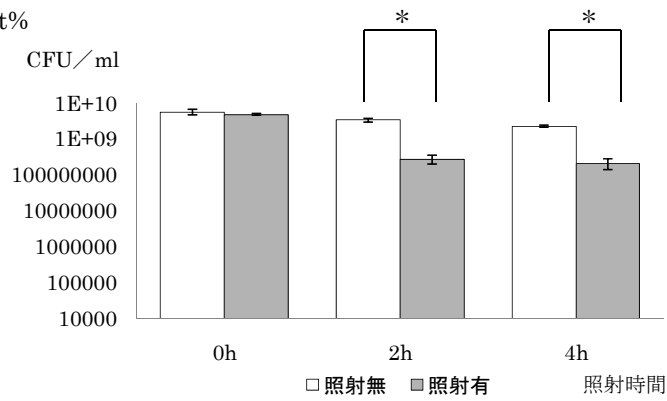


図2-3: *S. mutans*における紫外線照射（また照射せず経過）後の生菌数
試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

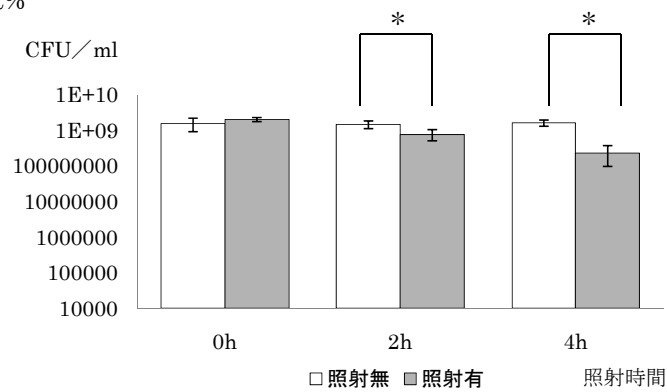
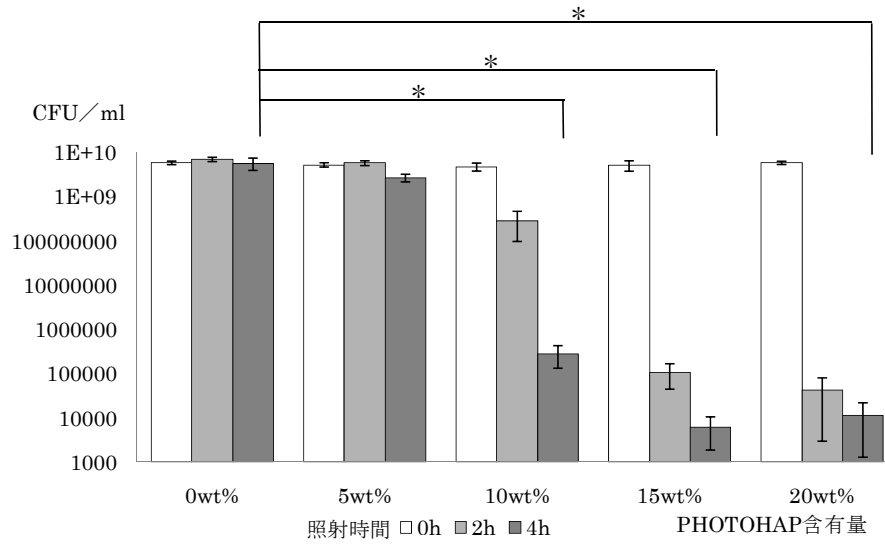


図2-4: *S.mutans*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射の有無によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 紫外線照射有



b) 紫外線照射無

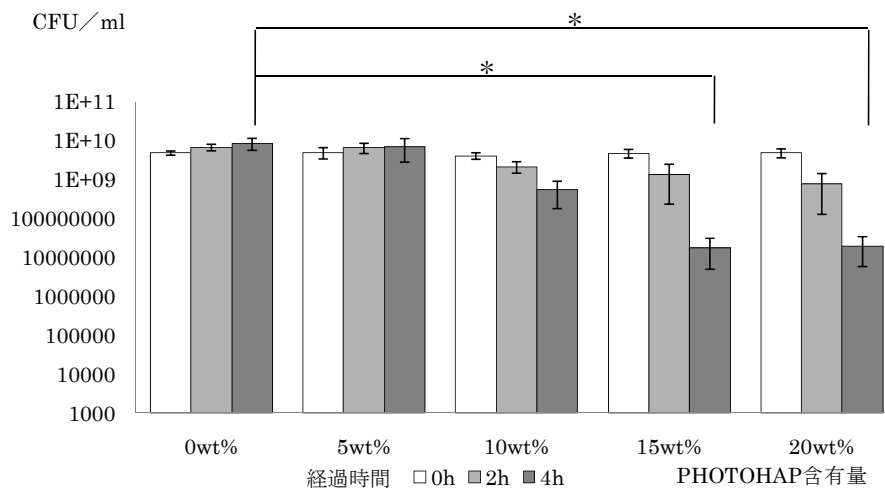


図2-5: *S. aureus*における紫外線照射（また照射せず経過）後の生菌数
試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

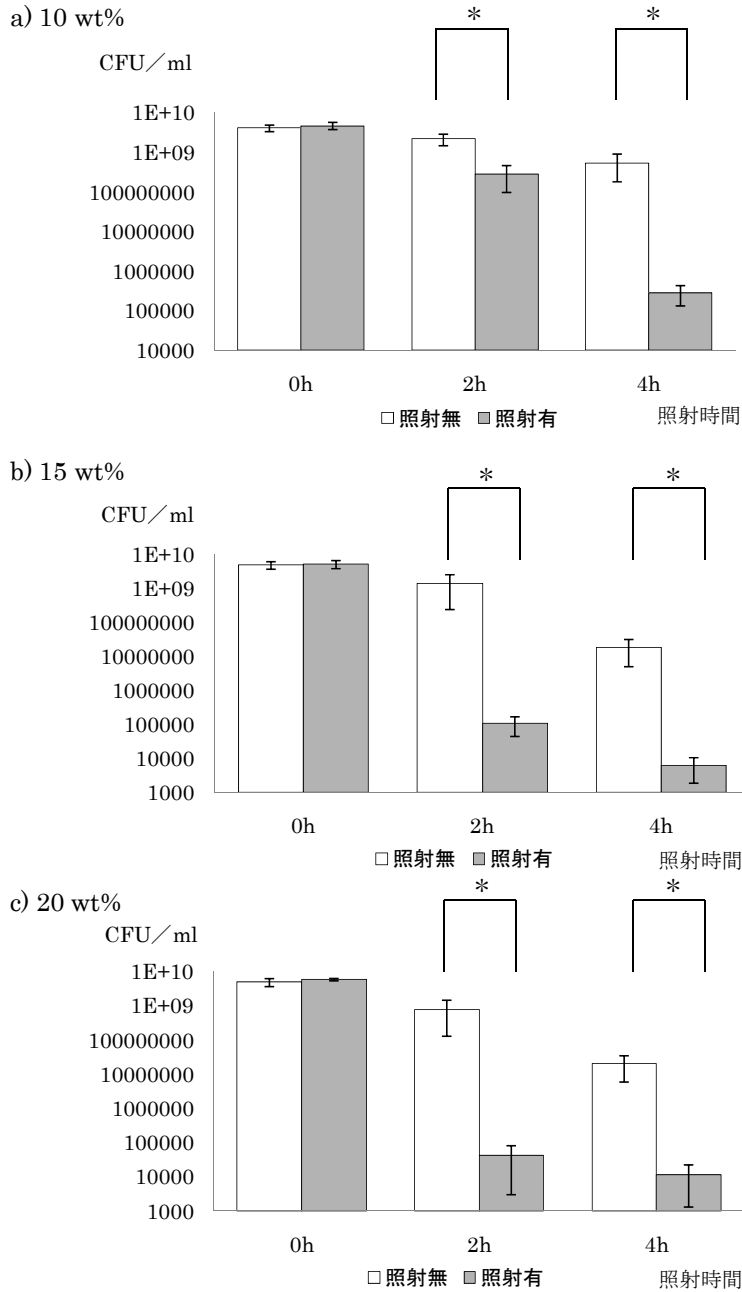
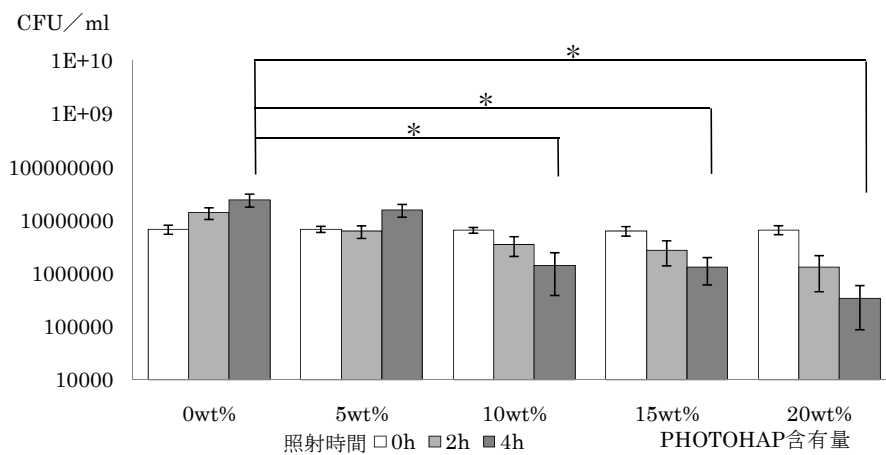


図2-6: *S. aureus*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射の有無によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 紫外線照射有



b) 紫外線照射無

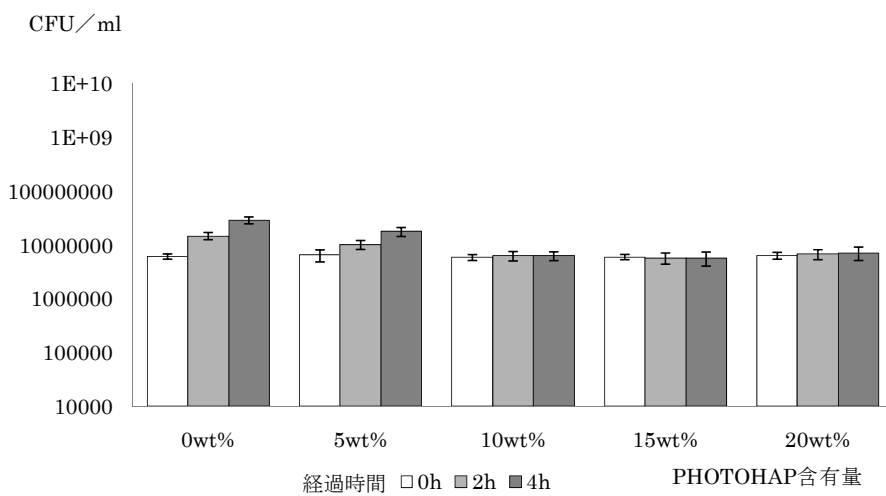
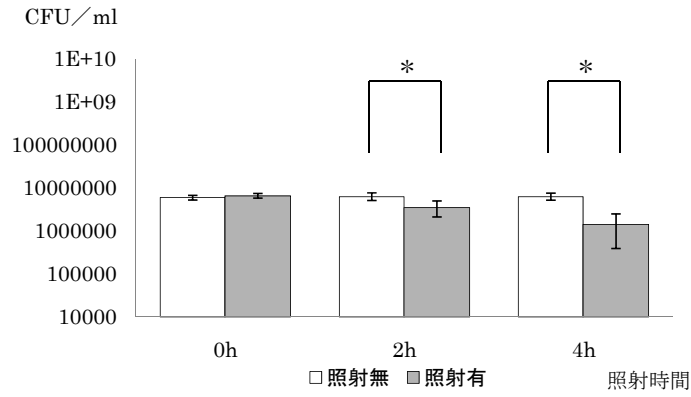
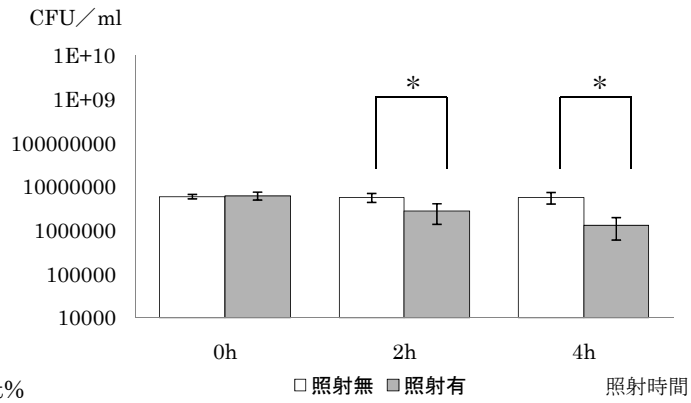


図2-7: *C. albicans*における紫外線照射（また照射せず経過）後の生菌数
試料間の有意差を*で示す。(p < 0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

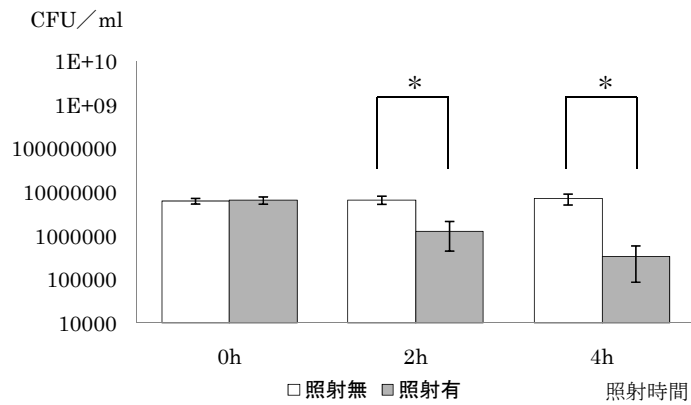


図2-8: *C. albicans*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射の有無によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p < 0.01)

第3章

光触媒含有ティッシュコンディショナーの抗菌・抗真菌性の持続性

3-1 序論

ティッシュコンディショナーは不適合義歯や咬合不調和などによる義歯床下粘膜の歪み、変形（圧痕）、発赤、褥瘡性潰瘍など、非生理的状态になった組織を生理的状态に回復させることを目的とした材料である。義歯床下粘膜に歪み、あるいは病変が存在したまま印象を採得しても、完成した義歯により再び床下粘膜の疼痛、変形や歯槽骨の吸収を招く恐れがあるため、義歯作製や裏層のための印象採得に先立ち、粘膜の調整を行うことは欠くことのできない処置であるといえる。また、一時的に義歯を安定させることで咀嚼能力が向上するため、義歯装着者の QOL の向上にも寄与することから、日常の臨床でよく使用される材料である。

しかしながら、ティッシュコンディショナーを用いることで義歯の安定効果が先行し、患者も、これのみで満足してしまう結果、長期に使用し続ける場合も見うけられる。

ティッシュコンディショナーは、柔らかく粘弾性を有する材料であるため、機械的清掃が困難であり、重合後徐々に物性が変化し、表面が粗造になるため、さらに清掃が困難となり、汚れやすいことが欠点である。粗造な面には、細菌が繁殖しティッシュコンディショナーの内部に侵入していることも認められる

ため、抗菌性・抗真菌性が持続することが望ましい。

そこで、第 2 章で抗菌・抗真菌性が示唆された光触媒 PHOTOHAP 含有ティッシュコンディショナーの、試料作製 3 日後、5 日後、7 日後、14 日後の抗菌・抗真菌性を測定し、抗菌・抗真菌性の持続性を検討した。

3-2 材料と方法

3-2-1 材料

A. 光触媒含有ティッシュコンディショナーの作製

使用した光触媒は PHOTOHAP（太平化学産業株式会社、大阪）である。

PHOTOHAP はハイドロキシアパタイトの一部をチタンに置換した光触媒アパタイトで、直径 3.78 μm 、比表面積 41.59 m^2/g の不溶性の白色粉末である。

ティッシュコンディショナーには、松風ティッシュコンディショナー II（株式会社松風、京都；以下、T-con）を使用した。T-con の粉材にはポリエチルメタクリレート、液材にはセバシン酸-n-ジブチルと無水エタノールを含む。

PHOTOHAP の粉末を 10 wt%、15 wt%、20 wt%の割合でそれぞれ T-con の粉末に加え攪拌した。PHOTOHAP を含有した T-con の粉末に T-con の液を加え通法通り混和した（以下、10 wt%T-con、15 wt%T-con、20 wt%T-con）。また、PHOTOHAP を加えず通法通り T-con を作製したものをコントロールとした（以下、0 wt%T-con とする）。第 2 章の実験結果から、5 wt%T-con には有意な抗菌、抗真菌効果がみとめられなかったことから、持続性の検討は、10 wt%T-con、15 wt%T-con、20 wt%T-con について行った。

液と粉末を混和し第 2 章で述べた方法で同様の試験片を作製した後、滅菌水

中に 24 時間保存した。試料作製後 24 時間経過したものを、1 day T-con とした。

同様に試料を作製して、滅菌水中に 3 日間、5 日間、7 日間、14 日間保存したものを、3 day T-con、5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con とした。これらの試験片には、24 時間ごとに 2 時間または 4 時間の紫外線照射をおこなった。

実験直前に、逆性せっけん中に 5 分間浸漬、その後滅菌水中に 5 分間浸漬させ、20 分間乾燥させた。

B. 菌と培養条件

供試菌株として、

Escherichia coli NBRC3972 (以下、*E.coli*)、

Streptococcus mutans UA159 (以下、*S.mutans*)、

Staphylococcus aureus FDA209P (以下、*S.aureus*)、

Candida albicans ATCC10231 (以下、*C.albicans*) を用いた。

-80 °C で凍結保存された各々の被験菌株をそれぞれの寒天培地に植菌し、37 °C にて 24 時間培養後、寒天培地上にて形成された単一コロニーを、

*E.coli*は10 g/l ペプトン、2 g/l イーストエキストラクトおよび1 g/l 硫酸マグネシウム含有培養液中に、

*S.mutans*はBrain heart infusion 液体培地 (Bact™、Becton Dickinson、USA) 中に、

*S.aureus*はTryptone-yeast extract medium (L-broth)中に、

*C.albican*はYeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) medium 液体培地中に懸濁後、*E.coli*、*S.aureus*、*C.albicans*は37 °Cにて24 時間、*S.mutans*は嫌気培養装置にてCO₂7 %条件下、37 °C、24 時間培養し、それぞれの濃度に調整したものを被験菌液とした。また、それぞれの培養液の組成に15 %~20 %の寒天を配合したものを寒天培地として用いた。

3-2-2 抗菌試験

1 day T-con、3 day T-con、5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con は、それぞれ同様に以下の方法で実験を行った。

暗所下にて、6 穴ディッシュ(MULTIWELL™, BECTON DICKINSON, San Jose, USA)の各穴に 0 wt%T-con、10 wt%T-con、15 wt%T-con、20 wt%T-con を置き、それぞれ濃度を調整した *E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans* の菌液 300 μ m を直接試料上に滴下した。紫外線照射中の試料の乾燥を防ぐためにディッシュをラップで覆い、菌液を滴下した試料の真上から紫外線を照射した(352 nm、FL15BLB、株式会社東芝、東京)。照射光源から 20 cm (*C.albicans* のみ 10 cm) の距離を保った状態で 0 時間 (照射なし)、2 時間、4 時間照射し、各時間で菌液を回収した。

回収した菌液に、試料ごとにそれぞれの培養液を 2700 μ m 加えて懸濁し、これをさらに希釈したうえで各々の寒天培地上に均一に播種した。*E.coli*、*S.aureus*、*C.albicans* は 37 °Cにて 24 時間、*S.mutans* は嫌気培養装置にて CO₂ 7 %条件下、37 °C、24 時間培養し、それぞれの寒天培地上に形成されたコロニー数を測定した。測定した値は、colony forming unit (CFU/ml) で表した。

コントロール試料には 24 時間ごとの紫外線照射はおこなわず抗菌、抗真菌試験は暗所下にて同様の実験をおこなった。

3-2-3 統計学的分析

測定結果は一元配置分散分析、および 多重比較検定 (Scheffe 法) を用いて統計解析を行った。

3-3 結果

3-3-1 *E.coli*

10 wt%含有試料では4時間照射試料の1 day T-con の CFU 値が0時間照射試料に対し有意に減少した。15 wt%、20 wt%含有試料では4時間紫外線照射した3 day T-con の CFU 値はそれぞれ紫外線照射0時間のCFU値と比較して、有意に減少した。5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con では照射群と非照射群間に有意な差は認められなかった(図3-1)。

紫外線照射をおこなわなかった試料ではすべての試験片において、CFU値に有意な変化はみとめられなかった(図3-2)。

3-3-2 *S.mutans*

4 時間の紫外線照射を行った 1 day T-con、3 day T-con の 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の CFU 値、また 5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con における 15 wt%、20 wt%含有試料の CFU 値は、それぞれ紫外線照射 0 時間 CFU 値と比較して、有意に減少した。しかしながら、試料作製後の経過時間が長くなるにつれて、照射無の CFU 値に対する照射 4 時間の CFU 値の減少量は低下した (図 3-3)。

また、すべての試験片で、CFU 値に有意な変化がみとめられなかった (図 3-4)。

3-3-3 *S.aureus*

紫外線照射 4 時間の 1 day T-con の 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料と、3 day T-con の 20 wt%含有試料の CFU 値は、それぞれ紫外線照射 0 時間の CFU 値と比較して、有意に減少した。5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con では紫外線照射 4 時間 の CFU 値と照射 0 時間無の CFU 値の間に有意な差は認められなかった (図 3-5)。

また、すべての試験片において、CFU 値に有意な変化はみとめられなかった (図 3-6)。

3-3-4 *C.albicans*

紫外線照射を 4 時間行った 1 day T-con の 10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の CFU 値は、それぞれ紫外線照射 0 時間の CFU 値と比較して、有意に減少した。3 day T-con、5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con では照射群と非照射群で CFU 値に有意な差は認められなかった (図 3-7)。

また、すべての試験片で CFU 値に有意な変化はみとめられなかった(図 3-8)。

3-4 考察

抗菌、抗真菌性の持続は、*E. coli*では15wt%、20wt%試料で3日、*S. mutans*では10 wt%試料で3日、15 wt%、20 wt%試料では14日まで、*S. aureus*では10 wt%と15 wt%試料では1日のみ、20 wt%試料では3日、*C. albicans*ではすべての試料で1日のみであった。

ティッシュコンディショナーに抗菌性物質を混入することで抗菌性を付与した報告は多数あるが (Chow et al. 1999, Matsuura et al. 1997, Lefrbvre et al. 2001, Geerts et al. 2008, Catalán et al. 2008)、効果の持続性が得られなかったり、またなかには生体への為害性が懸念されるものもあったため、実用化には至っていない。効果の持続性が得られないという点では本実験で作製したティッシュコンディショナーもそれらに優る材料ではなかった。

抗菌性薬剤を混入した研究では、効果が持続しない理由として早期に抗菌剤が流出してしまうことが挙げられているが、本実験では流出したのか、また材料表面下に移動したのか、原因は明らかにできなかった。

ティッシュコンディショナー表面に塗布するコンディショナーも報告され (Boscato et al. 2009, Akiba et al. 2005, Malmström et al. 2002)、抗菌効果が

証明されたが、持続性に関しては明らかにされていない。

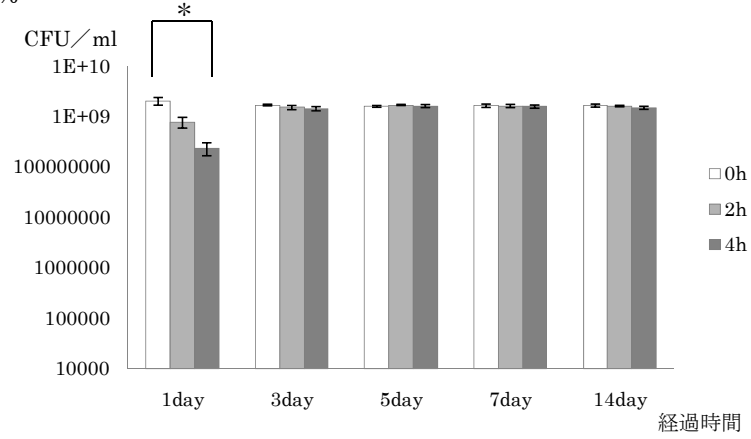
ティッシュコンディショナーは、物性の変化のため、長期に使用されることはなく、通常 3~4 日毎に取り換えられる材料である。しかし、体調の変化により来院できなくなることは臨床の現場では想定しておかねばならないことである。このことを考慮すると、効果の持続性を高めることは重要である。

3-5 小括

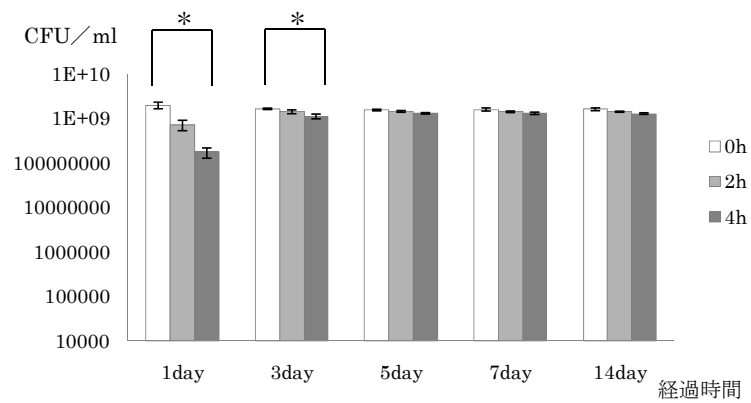
10 wt%、15 wt%、20 wt%PHOTOHAP 含有試料で、*E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans* に対する抗菌性と抗真菌性の持続性を検討した結果、持続性は細菌種により異なった。

E. coli では 15 wt%、20 wt%試料において 3 日目まで、*S. mutans* では 10 wt%試料で 3 日目まで、15 wt%、20 wt%試料では 14 日目まで、*S. aureus* では 10 wt%と 15 wt%試料では 1 日目まで、20 wt%試料では 3 日目まで効果が持続した。*C.albicans* に対しては 1 日目まで効果が持続する結果となった。

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

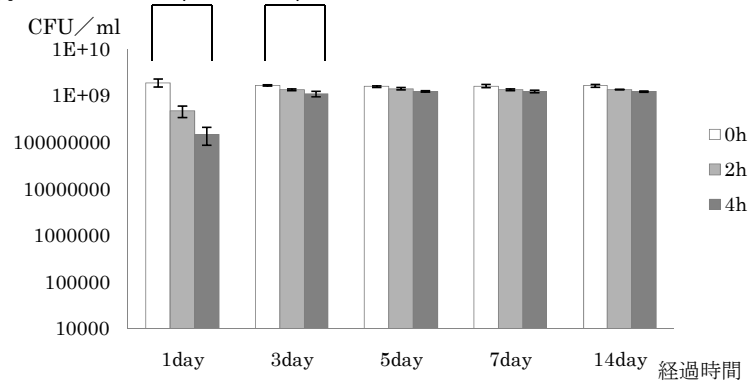
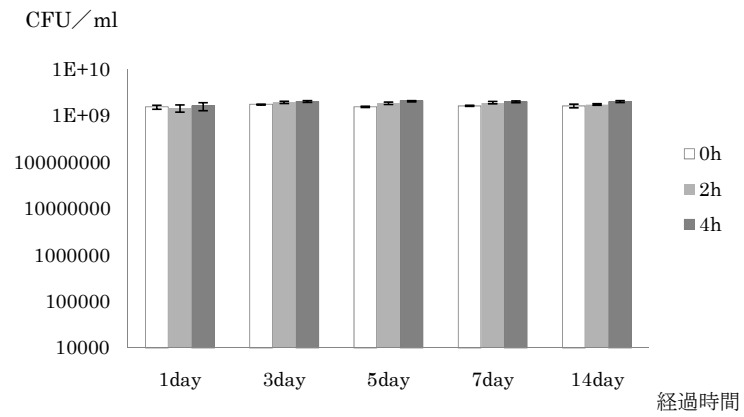


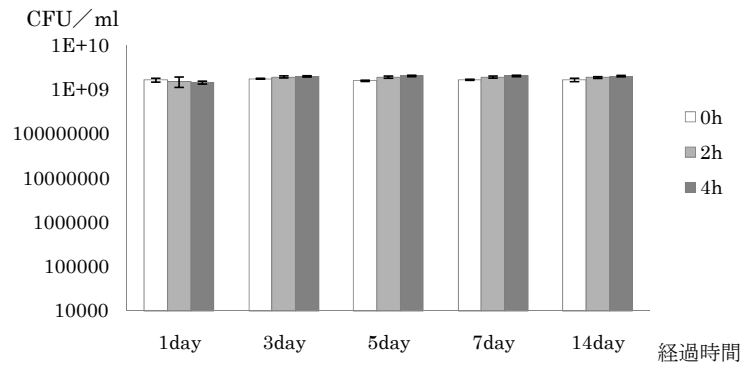
図3-1: *E. coli* におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

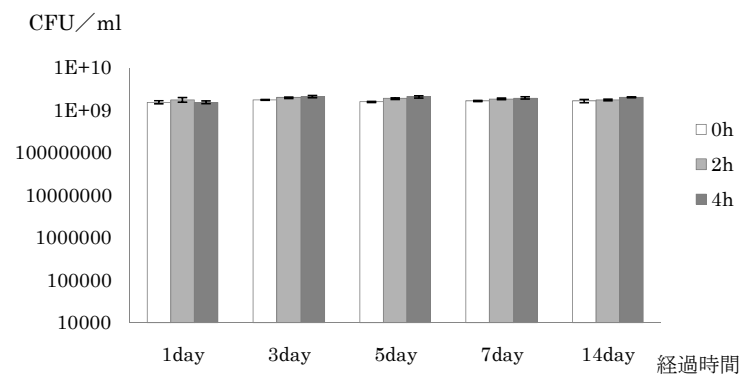


図3-2: *E.coli*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなわなかった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

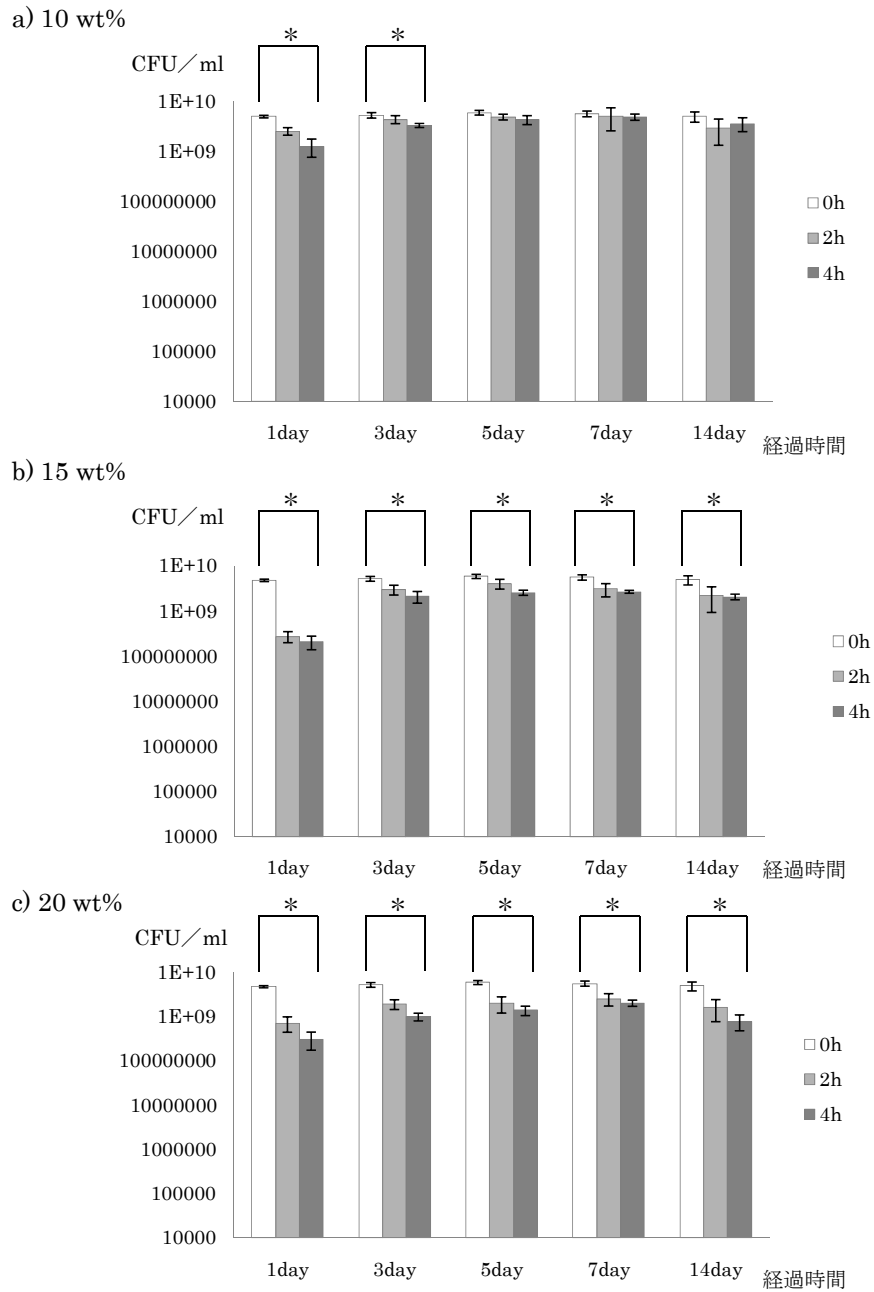
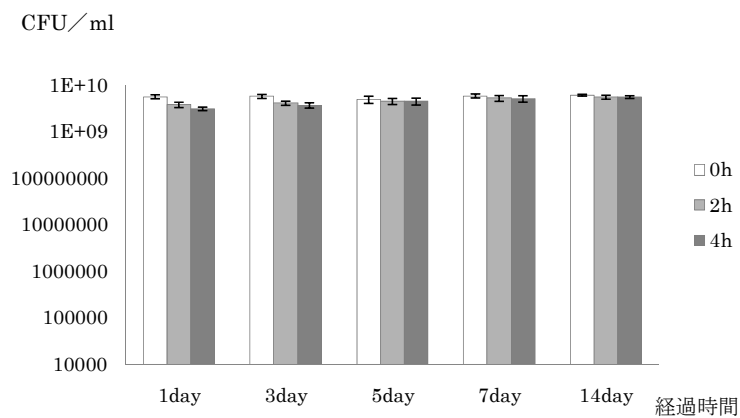


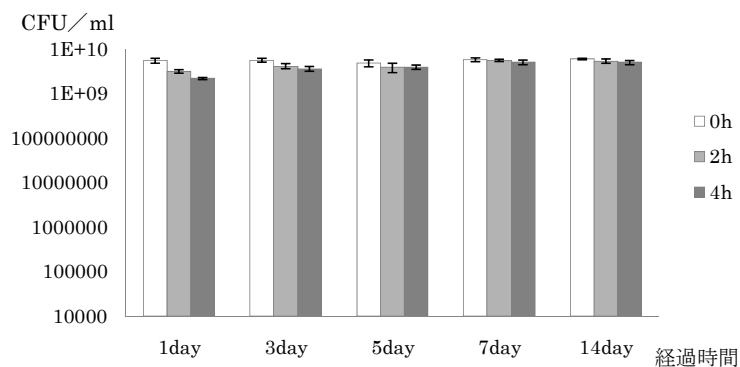
図3-3: *S. mutans*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

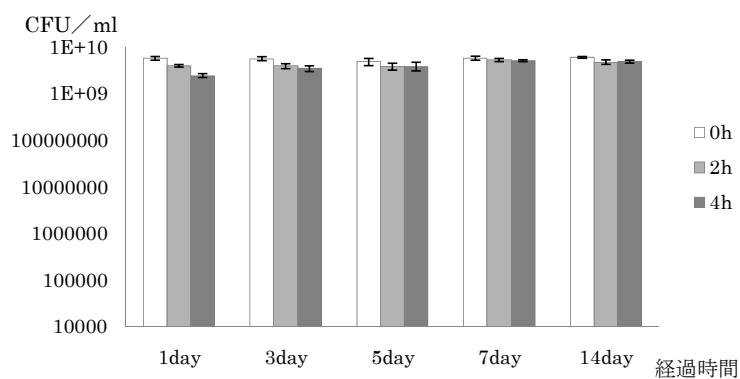


図3-4: *S.mutans*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなわなかった場合の経過時間によるCFU値の比較

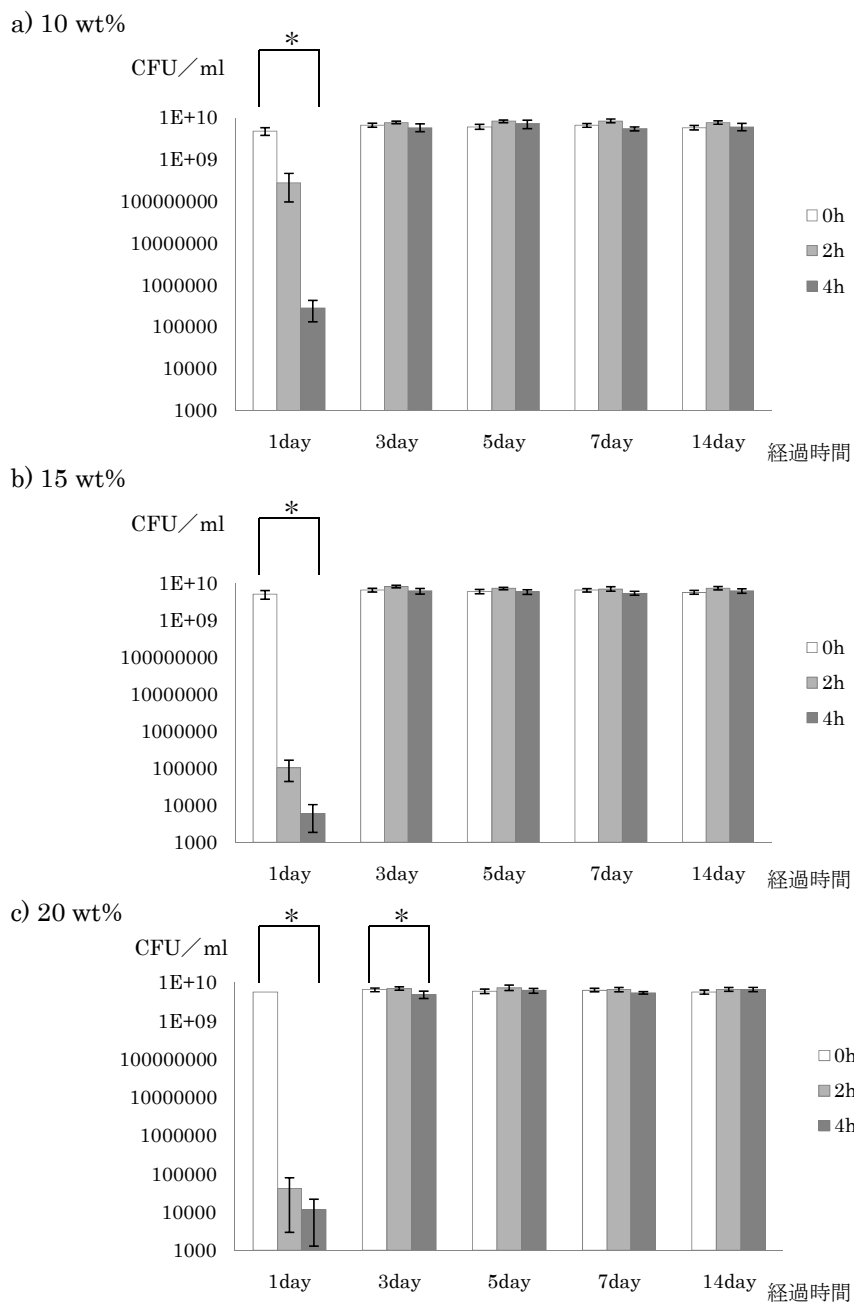
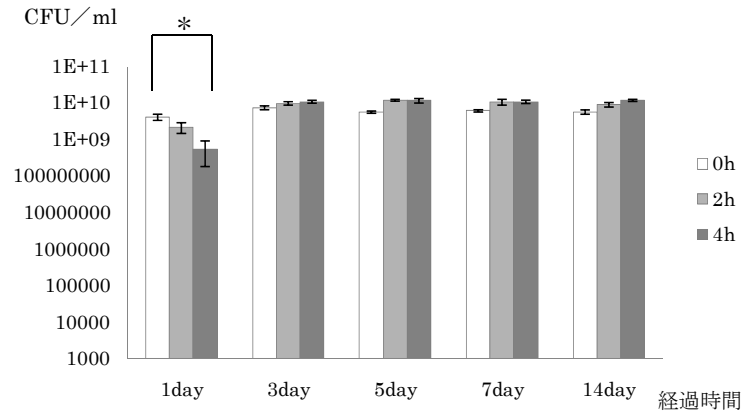


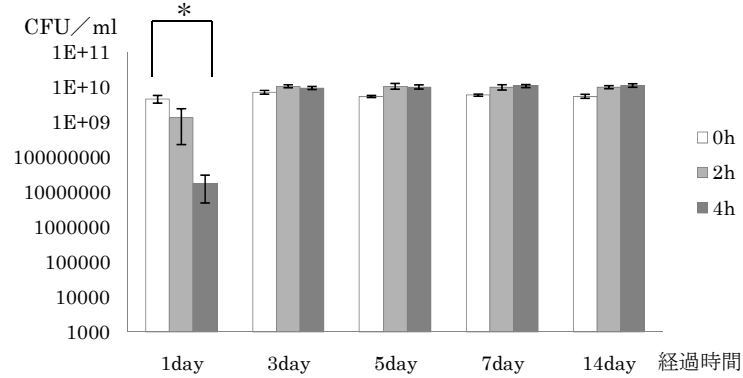
図3-5: *S.aureus*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

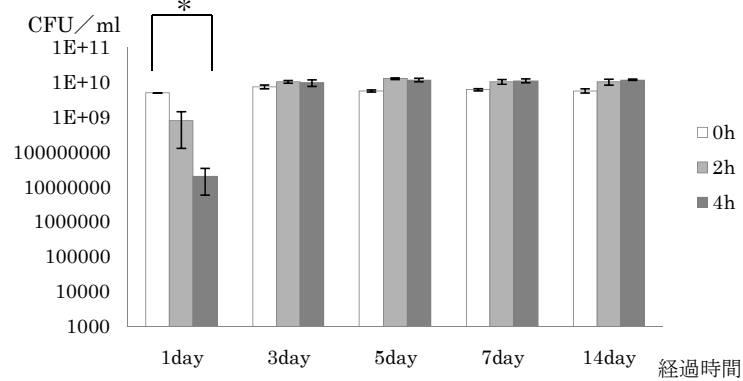
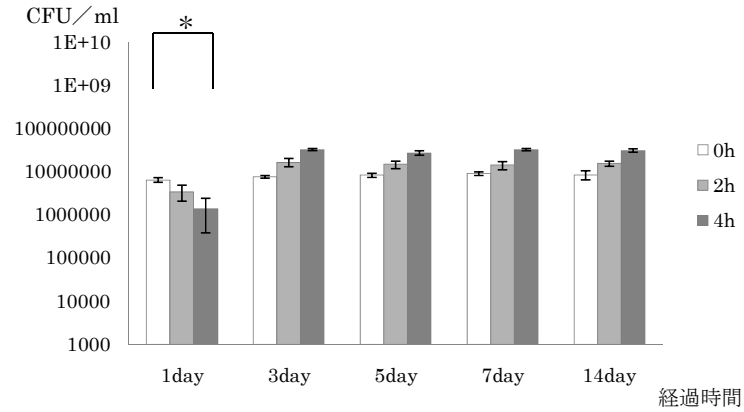


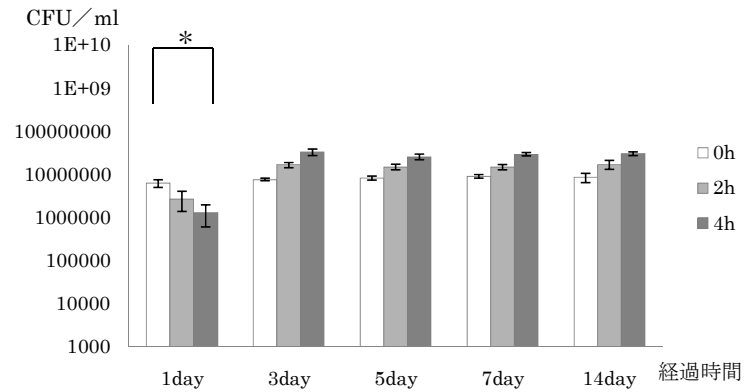
図3-6: *S.aureus*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなわなかった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

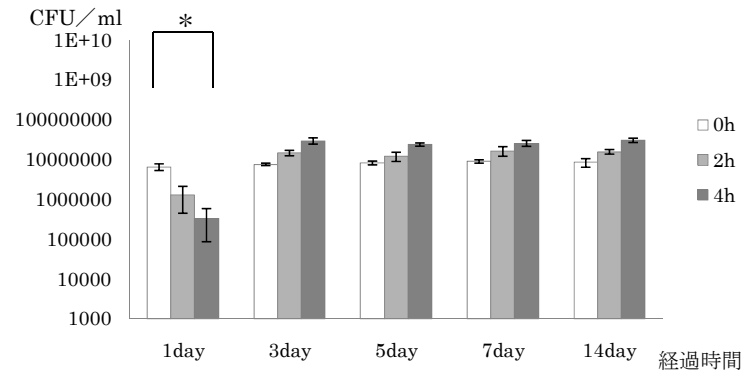
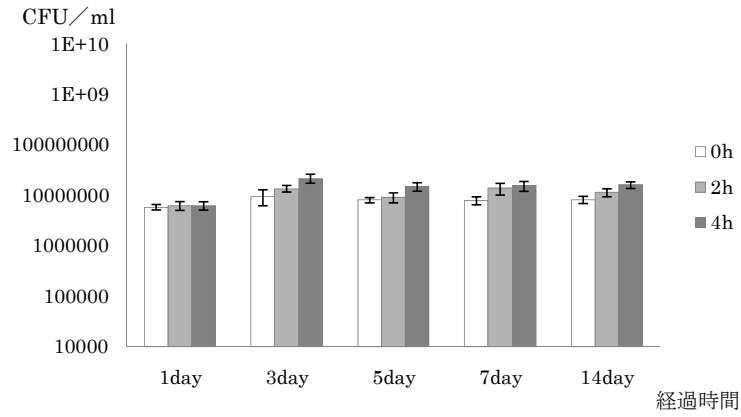


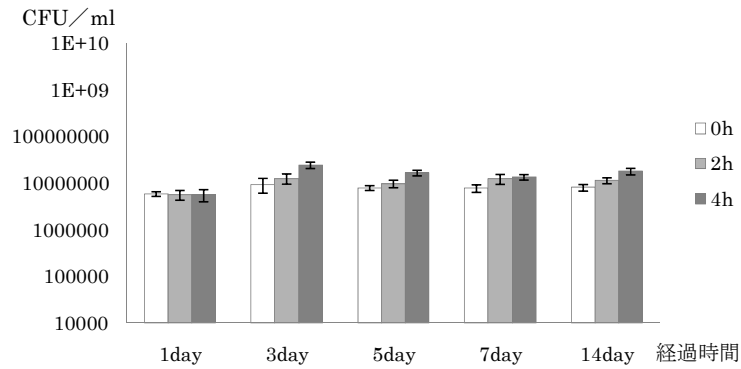
図3-7: *C.albicans*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

試料間の有意差を*で示す。(p<0.01)

a) 10 wt%



b) 15 wt%



c) 20 wt%

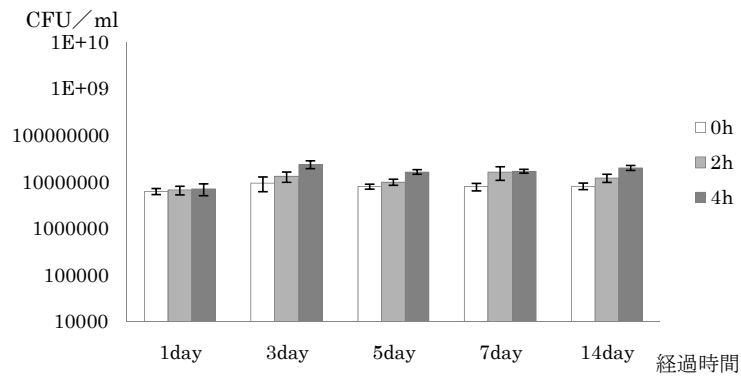


図3-8: *C.albicans*におけるPHOTOHAP10 wt%、15 wt%、20 wt%含有試料の紫外線照射をおこなわなかった場合の試料の経過時間によるCFU値の比較

第4章

光触媒含有ティッシュコンディショナーの諸性質

4-1 序論

ティッシュコンディショナーは粉末と液を混和して重合させる。粉末にはポリエチルメタクリレート (PEMA) やこれに関連した共重合体が主に含まれる (図 4-1)。液には可塑剤として芳香族エステルやエチルアルコールが含まれる (図 4-2)。

ティッシュコンディショナーは、粘弾性が持続するため暫間的な裏層材として使用される (Braden M. et al. 1995)。また、義歯床下粘膜に対する粘膜調整 (Chase WW. 1961、Pound E. 1962、Von Krammer et al.1971、Farrell DJ. 1975) のみならず、動的印象 (Chase WW. 1961、Pound E. 1962、Tryde G. et al.1965)、あるいは即時義歯や顎義歯の暫間裏層 (Loh HS et al.1986、Farrell DJ. 1975) にも応用されている。その他基礎床へのアンダーカット部への使用 (Coffield B. 1987)、オブチュレータなどの顎顔面補綴への応用 (Loh HS et al.1968、Farrell DJ. 1975、Gonzalez JB. 1977)、外科処置後のドレッシング (Frisch J. et al.1968、Levin MP et al.1969) や、義歯性口内炎の治療 (Budtz-Jorgensen E et al.1970) にも用いられている。

しかしながら、ティッシュコンディショナーは機械的清掃が困難であるため、不潔になりやすい。そこで清掃を簡単にすることを目的としてティッシュコン

ディショナーに光触媒を混合して抗菌性と抗真菌性を付与した。しかし、抗菌性と抗真菌性は実験期間中長期には持続しなかった。

長期間経過したティッシュコンディショナーの表面が粗造になり、プラークが沈着しやすくなるのは臨床でよく経験することである。

光触媒含有ティッシュコンディショナーの表面形状の観察と重量変化の測定を行い、抗菌性、抗真菌性の持続性との関連について検討した。

4-2 材料と方法

4-2-1 試料作製

使用した光触媒は PHOTOHAP（太平化学産業株式会社、大阪）である。

PHOTOHAP はハイドロキシアパタイトの一部をチタンに置換した光触媒アパタイトで、直径 3.78 μm 、比表面積 41.59 m^2/g の不溶性の白色粉末である。

ティッシュコンディショナーには、松風ティッシュコンディショナー II（株式会社松風、京都；以下、T-con）を使用した。T-con の粉材にはポリエチルメタクリレート、液材には芳香族エステルや無水エタノールを含む。

PHOTOHAP の粉末を 5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt%の割合でそれぞれ T-con の粉末に加え攪拌した。PHOTOHAP を含有した T-con の粉末に T-con の液を加え通法通り混和した（以下、5 wt%T-con、10 wt%T-con、15 wt%T-con、20 wt%T-con）。

また、PHOTOHAP を加えず通法通り T-con を作製したものをコントロールとした（以下、0 wt%T-con）。

液と粉末を混和した材料を高さ 1 mm の隔壁を付与したガラス板に流し込み、上方にガラス板を置き、室温で 4 時間放置した。それぞれの試験に使用する試

験片の形状にくりぬき、滅菌水中で 24 時間保存させた。この試料作製後 24 時間経過したものを、1 day T-con とした。

同様の方法で試料を作製し、滅菌水中に 3 日間、5 日間、7 日間、14 日間保存させた。この 3 日間、5 日間、7 日間、14 日間経過させたものを、3 day T-con、5 day T-con、7 day T-con、14 day T-con とした。試料には 24 時間ごとに 2 時間、4 時間の紫外線照射をおこなった。

4-2-2 表面形状の経時的変化

試料をコルクカッターで5×5 mm にくりぬき、JEOL 社製水平試料載台（10 φ×10 h）に載せ、イオンコータ（JEC-550、JEOL 社、東京）にて4分間、金コーティングをおこなった。

走査型電子顕微鏡（JSM-5400LV、JEOL 社、東京）を用いて表面形状を観察した（加速電圧 20 V）。

4-2-3 重量変化の測定

試料はアルミニウムサンプルパンキット (Perkin-Elmer, Inc., USA) で 6.5 mm φにくりぬき、試験片とした。

試料作製 4 時間後、試料の重量を測定し (有効数字 5)、滅菌水中に浸漬した。試料を滅菌水から取り出し、30 秒間清潔なペーパータオルでふき、15 秒間空気中で振った後、天秤皿の上に置き、滅菌水から取り出してから 1 分後に重量を測定した。1、3、5、7、14 日後に重量を再測定した。

測定結果は一元配置分散分析、および 多重比較検定 (Scheffe 法) を用いて統計解析を行った。

4-3 結果

4-3-1 表面形状の経時的変化

1 day T-con では 10 wt%、15 wt%および 20 wt%含有試料の表面に直径約 0.4 μm ~ 4 μm の粒子が分布し、PHOTOHAP 含有量が大きい試料で多数分布していた。この粒子は 3 day T-con では PHOTOHAP 含有量が大きい試料でも表面での分布量は減少していた。

また、5 day T-con、7 day T-con、および 14 day T-con の 15 wt%、20 wt%含有試料の表面には、1 day T-con で観察したものより大きな粒子が分布し、日数の経過とともに、この粒子の密度が高くなった。1 day T-con で観察した微細な粒子は認めづらくなっていた。この粒子は 10 μm 以上の大きさのものもあり、さらに形状も均一ではなかった。0 wt% T-con の表面は滑沢で表面に粒子の分布はみとめなかった。

これらの変化には紫外線照射群と非照射群間に差はなかった。(図 4-3~7)

4-3-2 経時的重量変化

図 4-8 に光触媒 PHOTOHAP 含有 T-con の経時的重量変化を示した。すべての試料で PHOTOHAP 含有試料と PHOTOHAP 非含有試料との間には、紫外線の照射の有無にかかわらず、有意な差は認められなかった。

4-4 考察

走査型電子顕微鏡による観察では、PHOTOHAP 非含有試料の表面は滑らかで、この形状は実験期間中維持された。

重合 1 日後の PHOTOHAP 含有試料で表面に分布が確認された微小粒子は、粒子の大きさと PHOTOHAP 含有量の大きい試料で分布量が大きいことからこの粒子は PHOTOHAP であると推測した。5 日後には PHOTOHAP 含有量の大きい試料の表面に大小不整の、PHOTOHAP とは異なる粒子が観察され、これらは試料表面を覆い、PHOTOHAP は認めにくくなった。光触媒は紫外線照射により効果を発揮するものであるから、表面に分布する PHOTOHAP が減少したことが、抗菌性と抗真菌性が持続しない原因であると考えた。

これらの変化には紫外線照射群と非照射群間に差はなかったことから、紫外線照射の影響ではないと考えられる。

ティッシュコンディショナーは重合時に、クロスリンクを形成しない。

PHOTOHAP は重合に関与せず、平均粒径は $3.39\ \mu\text{m}$ と小さく、比重 3.16 と大きいことから、時間の経過とともに PHOTOHAP は試料内面へ沈下することが推測される。また、PHOTOHAP 含有試料では非含有試料に比べ、液材の割合

が大きいことから、可塑剤の溶出も大きいと考えられる。重合後、可塑剤が溶出し、その結果、表面荒れを招くことが報告されている(Hong et al.2007)。表面荒れの結果、表面に分布する PHOTOHAP に紫外線が効率的に照射されなくなったことも考えられる。

ティッシュコンディショナーは、水中に浸漬されるとエチルアルコール、および可塑剤の溶出と水分の吸収がおこるといわれている (Braden M. et al. 1971)。浸漬初期にはエチルアルコールの拡散は水分の吸収よりも速く、そのため重量が減少すると報告されている (Braden M et al.1971、Ellis B et al.1977、1979、Jones DW et al.1991、Wilson J. 1992)。今回の実験結果ではすべての試料で経時的な重量変化は観察されなかった。このことから今回の実験ではエチルアルコールの溶出と水分の吸収がほぼ同じであったと思われる。経時的変化はなかったものの、20 wt% PHOTOHAP 含有試料では重量変化が他の試料より大きく、可塑剤の流出が大きかったことが考えられる。エチルアルコールの溶出や水分の吸収は、ティッシュコンディショナーの粘弾性的性質の経時的変化や、寸法変化あるいは表面の粗さ、荒れなどの劣化に直接影響する因子である。以上のことから、可塑剤の流出により引き起こされた表面荒れが抗菌性と抗真菌性の持続を障害したと考えた。

本実験では、光触媒アパタイトである PHOTOHAP をティッシュコンディシ

ヨナーの粉末と攪拌させたものを試料とした。PHOTOHAP が試料内面へ沈み込んだのであれば、ただ機械的に攪拌するのではなく、試料表面に PHOTOHAP を留める方法を考案しなければならない。

4-5 小括

光触媒含有ティッシュコンディショナーの表面形状の観察と重量の経時的変化を測定した。重合 1 日目には PHOTOHAP 粒子が分布していた。5 日以降には 15 wt%、20 wt%含有試料の表面に、大小不整の粒子が分布し、PHOTOHAP 粒子をみとめづらくなった。このことから表面に分布する光触媒が減少しているか、または、光触媒の活性化が阻害されている可能性が示唆された。

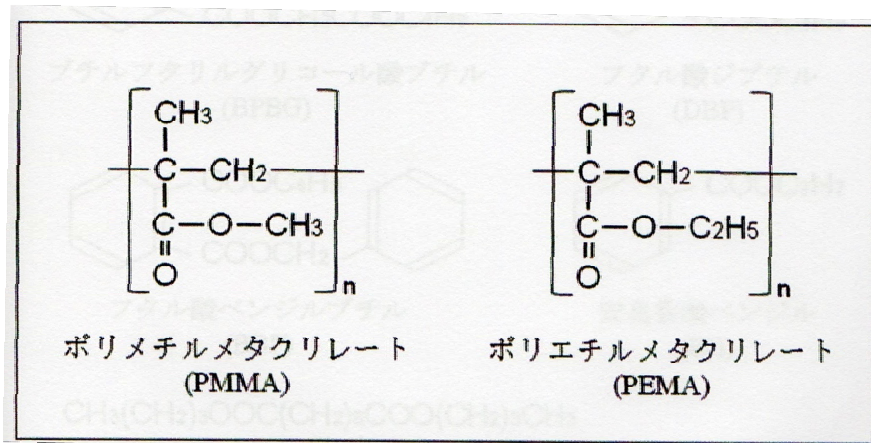


図4-1: ポリメチルメタクリレートおよびポリエチルメタクリレートの化学式

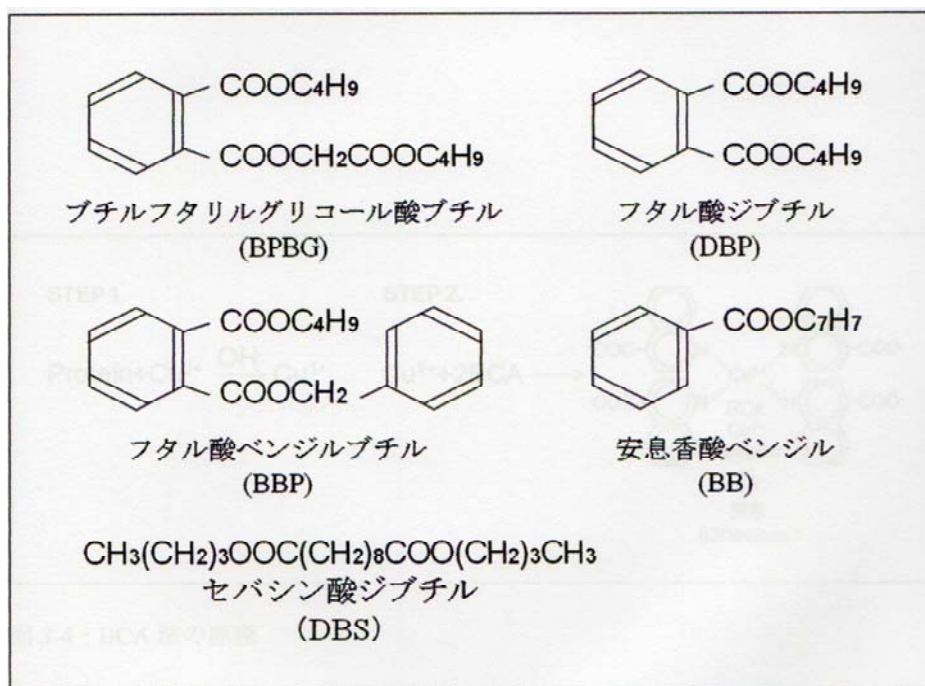


図4-2: 可塑剤の化学式

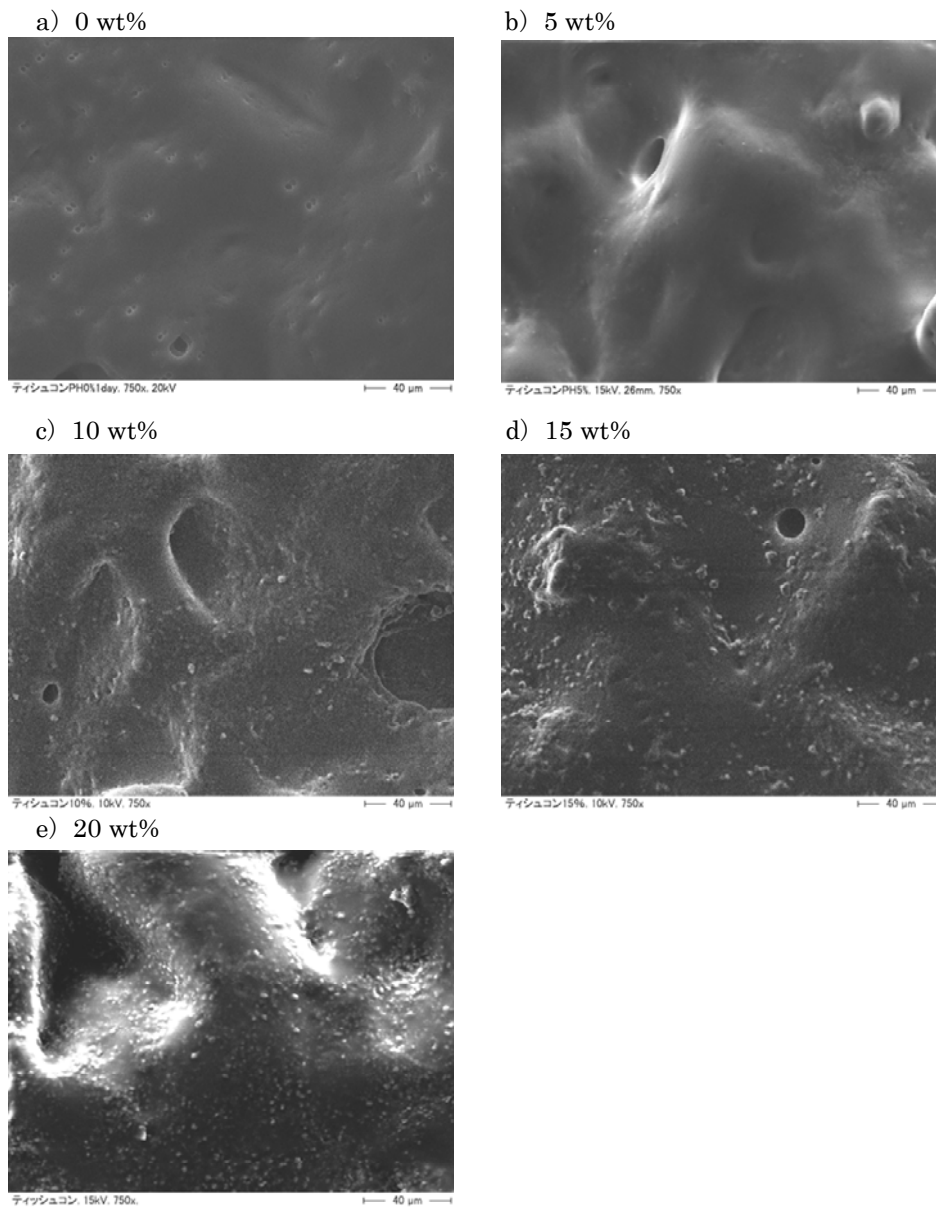
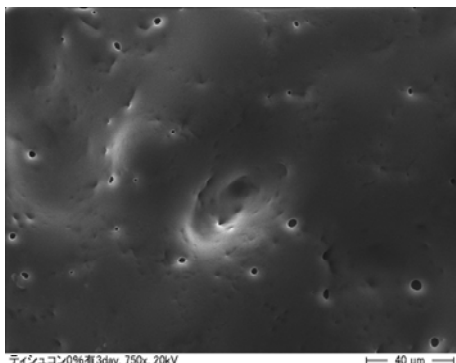
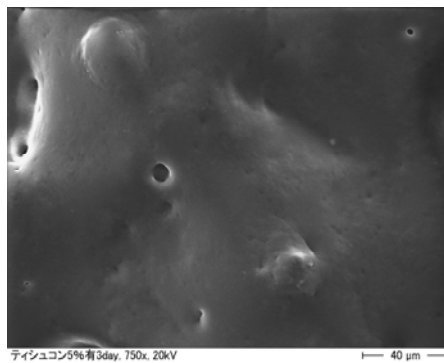


図4-3: 1 day T-conにおける0 wt%、5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt% T-conの SEM像

a) 0 wt%



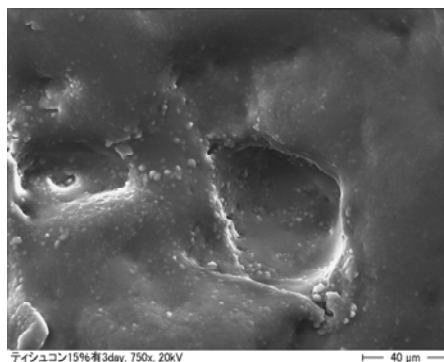
b) 5 wt%



c) 10 wt%



d) 15 wt%



e) 20 wt%

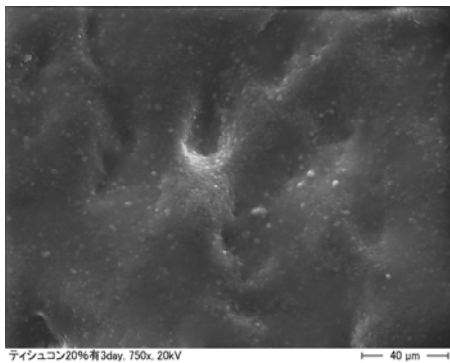


図4-4: 3 day T-conにおける0 wt%、5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt% T-conの SEM像

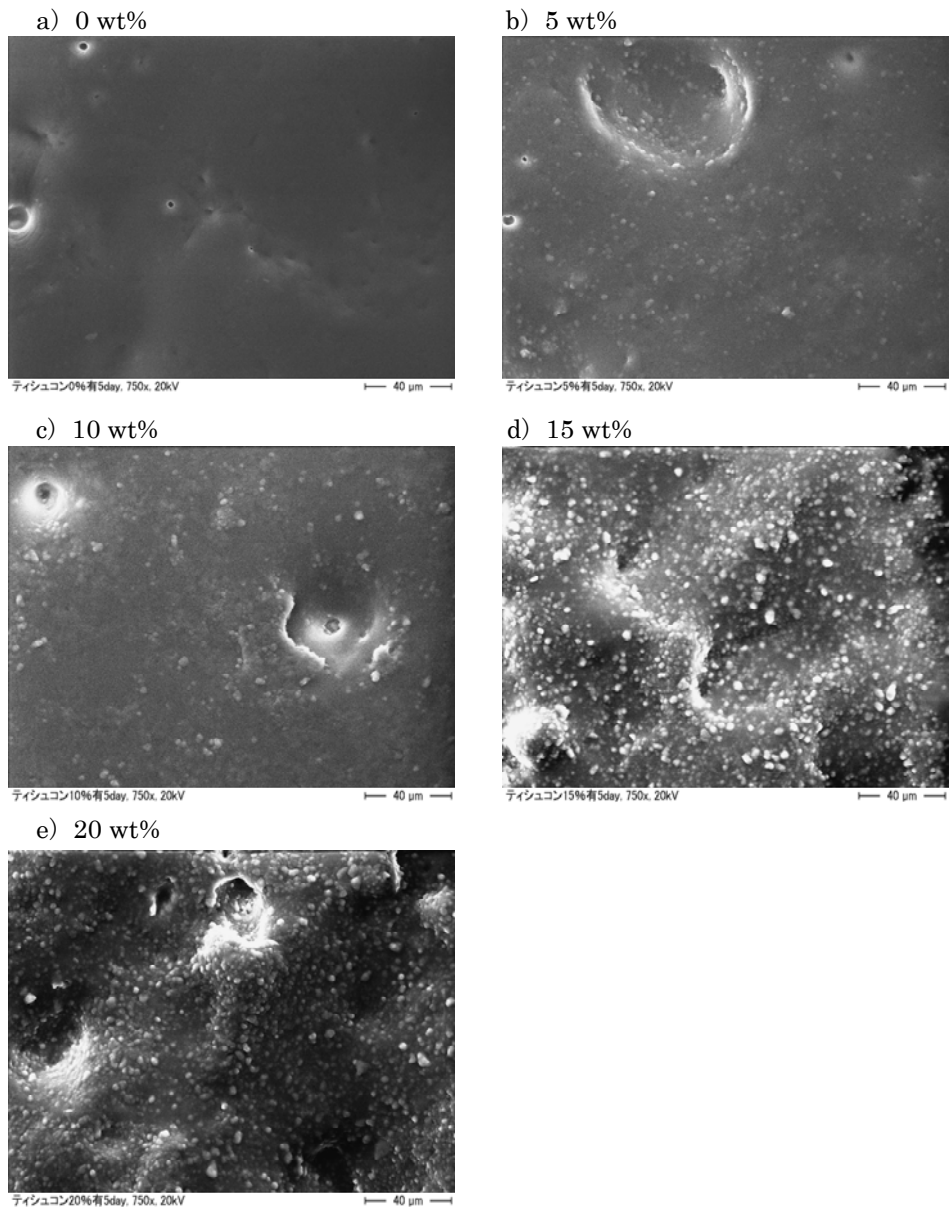
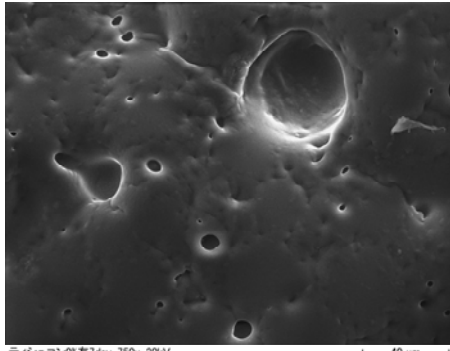
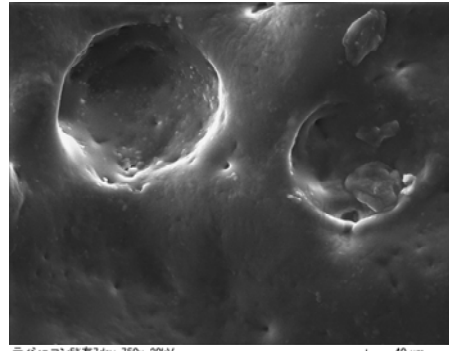


図4-5: 5 day T-conにおける0 wt%、5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt% T-conの SEM像

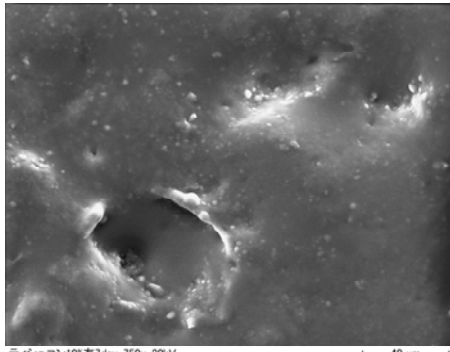
a) 0 wt%



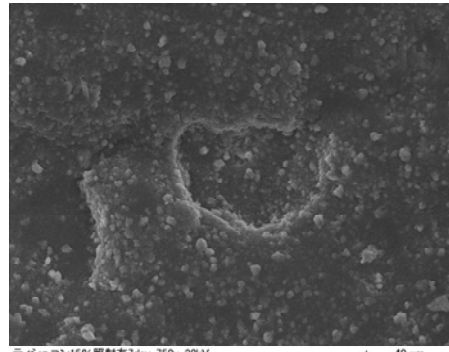
b) 5 wt%



c) 10 wt%



d) 15 wt%



e) 20 wt%

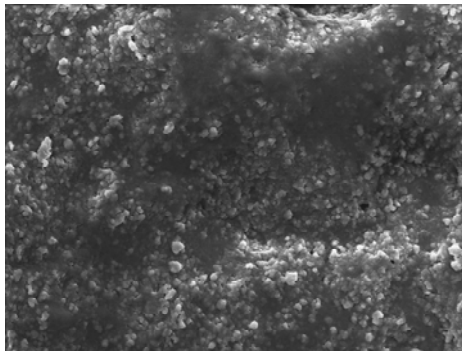


図4-6: 7 day T-conにおける0 wt%、5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt% T-conの SEM像

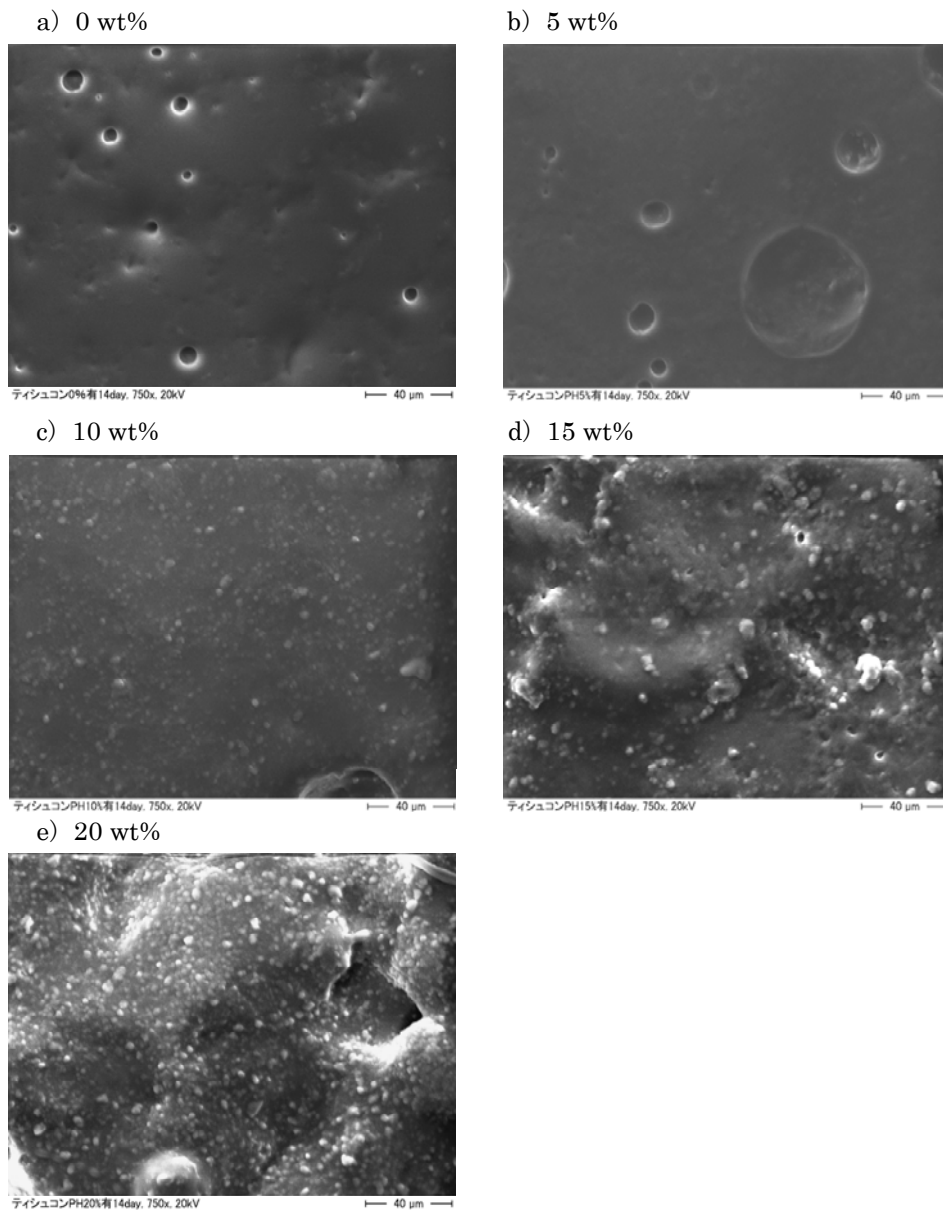
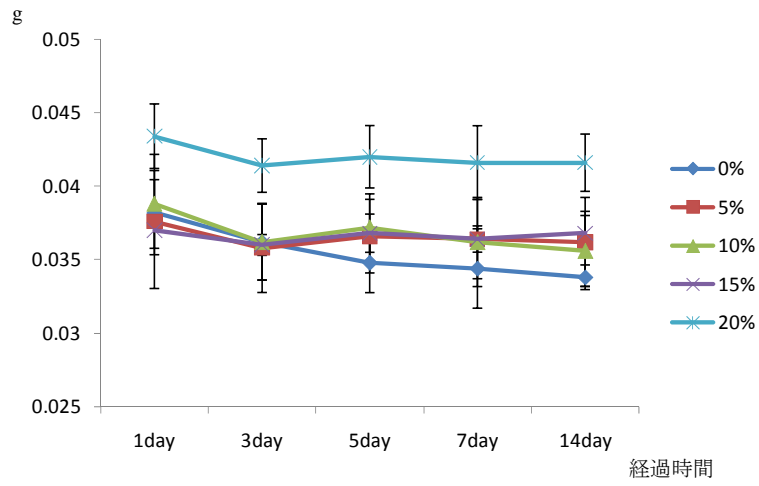


図4-7: 14 day T-conにおける0 wt%、5 wt%、10 wt%、15 wt%、20 wt% T-conの SEM像

a) 紫外線照射無



b) 紫外線照射有

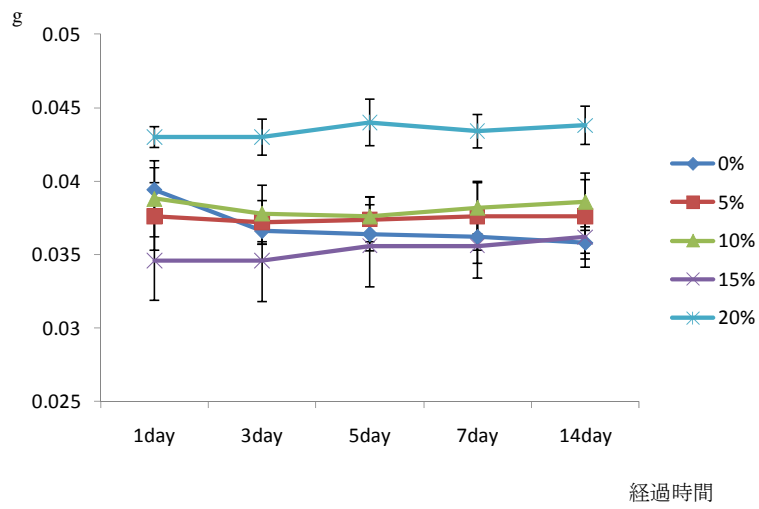


図4-8: 光触媒PHOTOHAP含有T-conの経時的重量変化

第5章 総括

総括

超高齢社会をむかえるわが国において、高齢者が健康的な生活をおくるためには口腔内環境を整えることは必須な要素のうちの一つであるといえる。平成17年調査における80歳の1人平均現在歯数の推定値は9.8本であり、そのうち半数は全歯を喪失してしまっており、総義歯なしには食物の咀嚼もままならない状況である（厚生省：平成17年歯科疾患実態調査報告書）。そのため、喪失した歯の代替物である義歯の口腔内へ与える影響は大きく、その維持管理は最も重要な課題の一つである。義歯管理の中で暫間的に使用される材料にティッシュコンディショナーがある。しかしながら、この材料は汚れやすいという欠点を持つため、簡単で材料を傷めない洗浄方法が望ましい。

今回、光触媒アパタイトであるPHOTOHAPをティッシュコンディショナーの粉末に混合して *E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans* に対する抗菌性と抗真菌性を検討した結果、以下のことが明らかになった。

1. 10 wt%、15 wt%および20 wt%含有試料で *E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans* に対し紫外線照射群は非照射群より有意に抗菌性、非抗菌性を示した。
2. *E.coli*、*S.mutans*、*S.aureus*、*C.albicans* に対する抗菌性と抗真菌性の持続

性を検討した結果、持続性は細菌種により異なった。*E. coli*では15 wt%、20 wt%試料において3日目まで、*S. mutans*では10 wt%試料で3日目まで、15 wt%、20 wt%試料では14日目まで、*S. aureus*では10 wt%と15 wt%試料では1日目まで、20 wt%試料では3日目まで効果が持続した。*C. albicans*に対してはすべての試料で1日目まで効果が持続する結果となった。

3. 走査型電子顕微鏡による PHOTOHAP 含有試料の表面の観察で、1日目の試料では、PHOTOHAP の分布が確認された。5日目以降、15 wt %、20 wt% 含有試料表面に大小不整の粒子が分布し、PHOTOHAP 粒子をみとめづらくなった。このことから表面に分布する光触媒が減少しているか、または、光触媒の活性化が阻害されている可能性が示唆された。重量の経時的変化はみとめられなかった。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 クラウンブリッジ補綴学分野 寺田善博 教授に深甚なる謝意を表します。また、研究計画の立案に際し、御助言、御指導いただきました九州大学 大学院歯学研究院 口腔保健推進学講座 口腔予防科学分野 山下喜久 教授に深謝いたします。また、終始、直接的な御援助、御指導を賜りました九州大学 医学部・歯学部・生体防御医学研究所附属病院 咬合補綴科 坂井貴子 講師、諸井亮司 博士、口腔保健推進学講座 口腔予防科学分野 塩田進 博士に深謝いたします。あわせて本研究を遂行するにあたり、多大な御助言と御協力をいただきました九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 クラウンブリッジ補綴学分野、口腔保健推進学講座 口腔予防科学分野の皆様は厚く御礼申しあげます。最後に研究を陰ながら支えてくれた家族に感謝いたします。

参考文献

Abe Y, Ishii M, Takeuchi M, Ueshige M, Tanaka S, Akagawa Y. Effect of saliva on antimicrobial tissue conditioner containing silver-zeolite. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2004; 31: 568-573.

Abe Y, Ueshige M, Takeuchi M, Ishii M, Akagawa Y. Cytotoxicity of antimicrobial tissue conditioners containing silver-zeolite. *The International Journal of Prosthodontics*. 2003; 16: 141-144.

Akiba N, Hayakawa I, Keh ES, Watanabe A. Antifungal effects of a tissue conditioner coating agent with TiO₂ photocatalyst. *Journal of Medical and Dental Sciences*. 2005; 52: 223-227.

Allison RT, Douglas WH. Micro-colonization of the denture-fitting surface by *Candida albicans*. *Journal of Dentistry*. 1973; 1: 198-201.

Blake DM, Maness PC, Huang Z, Wolfrum EJ, Huang J, Lacoby WA.

Application of the photocatalytic chemistry of titanium dioxide to disinfection and the killing of cancer cells. *Separation & Purification Reviews*. 1999; 28: 1-50.

Braden M, Causton BE. Tissue conditioners. 3. Water immersion characteristics. *Journal of Dental Research*. 1971; 50: 1544-1547.

Braden M, Wright PS, Parker S. Soft lining materials—a review. *The European Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry*. 1995; 3: 163-174.

Budtz-Jorgensen E, Bertram U. Denture stomatitis 1. The effect of antifungal and prosthetic treatment. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1970; 28: 283-304.

Budtz-Jorgensen E. Clinical aspects of Candida infection in denture wearers. *Journal of the American Dental Association*. 1978; 96: 474-479.

Cannon RD, Chaffin WL. Oral colonization by *Candida albicans*. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. 1999; 10: 359-383.

Catalan A, Pacheco JG, Martinez A, Mondaca MA. In vitro and in vivo activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*. 2008; 105: 327-332.

Casey DM, Scheer EC. Surface treatment of a temporary soft liner for increased longevity. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1993; 69: 318-324.

Chase WW. Tissue Conditioning utilizing dynamic adaptive stress. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1961; 11: 804-815.

Cheng Y, Sakai T, Moroi R, Nakagawa M, Sakai H, Ogata T, Terada Y. Self-cleaning ability of a photocatalyst-containing denture base material. *Dental Materials Journal*. 2008; 27: 179-186.

Christersson LA, Zambon JJ, Genco RJ. Dental bacterial plaques. Nature and role in periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*. 1991; 18: 441-446.

Coffield B. Stabilized bases using available undercuts for retention and stability. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1987; 57: 525.

Chow CKW, Matear DW, Lawrence HP. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. *Gerodontology*. 1999; 16: 110-118.

Davenport JC, Wilton JMA. Incidence of immediate and delayed hypersensitivity to *Candida albicans* in denture stomatitis. *Journal of Dental Research*. 1971; 50: 892-896.

Ellis B, Lamb DJ, Al-Nakash S. Water sorption by a soft liner. *Journal of Dental Research*. 1977; 56: 1526.

Farrell DJ. Tissue conditioning and tissue conditioners. *Dental Clinics of North America*. 1975; 19: 255-268.

Frisch J, Levin MP, Bhaskar SN. Clinical study of fungal growth on tissue conditioners. *The Journal of American Dental Association*. 1968; 76: 591-592.

Gardner LK, Parr GR. Extending the longevity of temporary soft liners with a mono-poly coating. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1988; 59: 71-72.

Geerts GAVM, Stuhlinger ME, Basson NJ. Effect of an antifungal denture liner on the saliva yeast count in patients with denture stomatitis: a pilot study. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2008; 35: 664-669.

Gonzalez JB. Use of tissue conditioners and resilient liners. *Dental Clinics of North America*. 1977; 21: 249-259.

Hamada S, Masuda N, Kotani S. Isolation and Serotyping of *Streptococcus mutans* from Teeth and Feces of Children. *Journal of Clinical Microbiology*.

1980; 11: 314-318.

Hilmi A, Luong JHT, Nguyen AL. Utilization of TiO₂ deposited on glass plates for removal of metals from aqueous wastes. *Chemosphere*. 1999; 38: 865-874.

Hiro-O Ito. Infective endocarditis and dental procedures: evidence, pathogenesis and prevention. *The Journal of Medical Investigation*. 2006; 53: 189-198.

Holgado M, Cintas A, Ibisate M, Serna CJ, Lopez C, Meseguer F. Three-dimensional arrays formed by monodisperse TiO₂ coated on SiO₂ spheres. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2000; 229: 6-11.

Hong G, Li Y, Maeda T, Mizumachi W, Sadamori S, Hamada T, Murata H. Influence of Strage Method on the Surface Roughness of Tissue Conditioner. *Dental Materials Journal*. 2008; 27: 153-158.

Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebi N, Ebisu S. Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2001; 28: 314-319.

Ito-Kuwa S. Ultrastructural changes in the cell wall during germ tube and bud formation in the dimorphic fungus *Candida albicans*. *Shigaku. Odontology; Journal of Nippon Dental College*. 1986; 73: 1586-1602.

Jiang Z, Wang H, Huang H, Cao C. Photocatalysis enhancement by electric field: TiO₂ thin film for degradation of dye X-3B. *Chemosphere*. 2004; 56: 503-508.

Jiang Z, Wang H, Huang H, Cao C. Photocatalysis degradation of methyl orange by TiO₂-coated activated carbon and kinetic study. *Water Research*. 2006; 40: 1119-1126.

Johanson WG Jr, Pierce AK, Sanford JP et al. Nosocomial respiratory

infections with gram-negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. *Annals of Internal Medicine*.1972; 77: 701-706.

Jones DW, Hall GC, Sutow EJ, Langman MF, Robertson KN. Chemical and molecular weight analyses of prosthodontic soft polymers. *Journal of Dental Research*. 1991; 70: 874-879.

Kim TK, Lee SH, Park YC and Jung CK. Development of surface coating technology of TiO₂ powder and improvement of photocatalytic activity by surface modification. *Thin Solid Films*. 2005; 475: 171-177.

Komazaki Y, Shimizu H, Tanaka S. A new measurement method for nitrogen oxides in the air using an annular diffusion scrubber coated with titanium dioxide. *Atmospheric Environment*. 1999; 33: 4363-4371.

Kuhn KP, Chaberny IF, Massholder K, Sticker M, Bentz VW, Sonntag HG, Erdinger L. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere*. 2003; 53: 71-77.

Kulak-Ozlan Y, Arikan A, Kazazoglu E. Existence of *Candida albicans* and microorganisms in denture stomatitis patients. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1997; 24: 788-790.

Kulak Y and Kazazoglu E. In vivo and vitro study of fungal presence and growth on three tissue conditioning materials on implant supported complete denture weares. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1998; 25: 135-138.

Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A. Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2002; 29: 300-304.

Lamb DJ, Duoglas CW. Treatment of denture stomatitis by a sustained drug-delivery device: a preliminary study. *Journal of Dentistry*. 1988; 16: 219-221.

Lefebvre CA, Wataha JC, Cibirka RM, Schster GS, Parr GR. Effects of

triclosan on the cytotoxicity and fungal growth on a soft denture liner.

Journal of Prosthetic Dentistry. 2001; 85: 352-356.

Levin MP, Frisch J, Bhaskar SN. Tissue conditioner dressing for free tissue grafts. *Journal of Periodontology.* 1969; 40: 271-273.

Listgarten MA, Levine S. Positive correlation between the proportions of subgingival spirochetes and motile bacteria and susceptibility of human subjects to periodontal deterioration. *Journal of Clinical Periodontology.* 1981; 8: 122-138.

Lockhart SR, Joly S, Vargas K, Swails-Wenger J, Enger L, Soll DR. Nature defenses against candida colonization breakdown in the oral cavities of the elderly. *Journal of Dental Research.* 1999; 78: 857-868.

Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in Human Dental Decay. *Microbiological Reviews.* 1986; 50: 353-380.

Loh HS, Tan PH. Tissue conditioners as obturators in maxillofacial surgery.

Australian Dental Journal. 1986; 31: 452-454.

Malmstróme HS, Mehta N, Sanchez R, Moss ME. The effect of two different coatings on the surface integrity and softness of a tissue conditioner. *The*

Journal of Prosthetic Dentistry. 2002; 87: 153-157.

Marcos-Arias C, Vicente JL, Sahand IH, Eguia A, De-Juan A, Madariaga L,

Aguirre JM, Eraso E, Quindós G. Isolation of *Candida dubliniensis* in

denture stomatitis. *Archives of Oral Biology.* 2009; 54: 127-131.

Marsh PD. Microbiological aspects of the chemical control of plaque and

gingivitis. *Journal of Dental Research.* 1992; 71: 1431-8.

Martin MV, Lamb DJ. Frequency of *Candida albicans* serotypes in patients

with denture-induced stomatitis and in normal denture wearers. *Journal of*

Clinical Pathology. 1982; 35: 888-891.

Matsuura T, Abe Y, Sato Y, Okamoto K, Ueshige M, Akagawa Y. Prolonged antimicrobial effect of tissue conditioners containing silver-zeolite. *Journal of Dentistry*. 1997; 25: 373-377.

Murata H, Haberham RC, Hamada T, Taguchi N. Setting and stress relaxation of resilient denture liners. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 1998; 80: 714-722.

Murata H, Hamada T, Harshini, Toki K, Nikawa H. Effect of addition of ethyl alcohol on gelation and viscoelasticity of tissue conditioners. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2001; 28: 48-54.

Murata H, Hong G, Li YA, Hamada T. Compatibility of tissue conditioners and dental stones: Effect on surface roughness. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2005; 93: 274-281.

Neu HC. The biochemical basis of antimicrobial resistance. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*. 1987; 63: 295-317.

Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque-past and recent concerns. *Journal of Dentistry*. 1998; 26: 299-304.

Nikawa H, Samarayanake LP, Hamada T. Modulation of the anti-Candida activity of apo-lactoferrin by dietary sucrose and tunicamycin in vitro. *Archives of Oral Biology*. 1995; 40: 581-584.

Nikawa H, Samarayanake LP, Tenovuo J et al. The fungicidal effect of human lactoferrin on *Candida albicans* and *Candida krusei*. *Archives of Oral Biology*. 1993; 38: 1057-1063.

Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T et al. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against *Candida albicans* growth and/or acid production. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1997; 24: 350-357.

Nonami T, Taoda H, Hue NT, Watanabe E, Iseda K, Tazawa M, Fukaya M. Apatite formation on TiO₂ photocatalyst film in a pseudo body solution.

Materials Research Bulletin. 1998; 33: 125-131.

Odds FC. *Candida and candidosis*. 2nd ed. London, England: Baillière
Tindall. 1988; 11: 68–92.

Okita N, Orstavik D, Orstavic J et al. In vivo and in vitro studies on soft denture materials: microbial adhesion and tests for antibacterial activity. *Dental Materials Journal*. 1991; 7: 155-160.

Okuda K, Ebihara Y. Relationships between chronic oral infection disease and systemic diseases. *The Bulletin of Tokyo Dental Collage*. 1998; 39: 165-174.

Pelizzetti E and Minero C. Mechanism of the photo-oxidative degradation of organic pollutants over TiO₂ particles. *Electrochimica Acta*. 1993; 38: 47-55.

Peterson PE, Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dentistry*

and Oral Epidemiology. 2005; 33: 81-92.

Petteri C, Malcolm R, Jorma P. Evaluation of the Oricult-N Dipslide for Laboratory Diagnosis of Vaginal Candidiasis. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000; 38: 1063-1065.

Pound E. Conditioning of denture patients. *The Journal of the American Dental Association*. 1962; 64: 461-468.

Quinn DM. The effectiveness, in vitro, of miconazole and ketoconazole combined with tissue conditioners in inhibiting the growth of *Candida albicans*. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1985; 12: 177-182.

Saito T, Iwase T, Horie J, Morioka T. Mode of photocatalytic action of powdered semiconductor TiO₂ on mutans streptococci. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 1992; 14: 369-379.

Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins LT, Ridenour GL, Tiballi RN,

Kauffman CA. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance.

The American Journal of Medicine. 1994; 97: 339-346.

Schneid TR. An in vitro analysis of a sustained release system for the treatment of denture stomatitis. *Special Care in Dentistry.* 1992; 12: 245-250.

Sokmen M, Degerli S, Aslan A. Photocatalytic disinfection of *Giardia intestinailis* and *Acanthamoeba castellani* cysts in water. *Experimental Parasitology.* 2008; 119: 44-48.

Sonohara R, Muramatsu N, Ohshima H, Kondo T. Difference in surface properties between *Eschericia coli* and *Staphylococcus aureus* as revealed by electrophoretic mobility measurements. *Biophysical Chemistry.* 1995; 55: 273-277.

Takemoto S, Kusudo Y, Tsuru K, Hayakawa S, Osaka A, Talashima S.

Selective protein adsorption and blood compatibility of hydroxyl-carbonate apatites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2004; 69: 544-551.

Teekateerawej S, Nishino J, Nosaka Y. Photocatalytic microrreactor study using TiO₂-coated porous ceramics. *Journal of Applied Electrochemistry*. 2005; 35: 693-697.

Terpenning MS, Taylor GW, Lopatin DE et al. Aspiration pneumonia: dental and oral risk factors in an older veteran population. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2001; 49: 557-563.

Thomas CJ, Nutt GM. The in vitro fungicidal properties of Visco-gel, alone and combined with nystatin and amphotericin B. *Journal of Oral Rehabilitation*. 1978; 5: 167-172.

Truhlar MR, Shay K, Sohnle P. Use of a new assay technique for quantification of antifungal activity of nystatin incorporated in denture

liners. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1994; 71: 517-524.

Tryde G, Olsson K, Jensen SA, Cantor R, Tarsetano JJ, Brill N. Dynamic impression methods. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 1965; 15: 1023-1034.

Ueshige M, Abe Y, Sato Y, Tsuga K, Akagawa Y, Ishii M. Dynamic viscoelastic properties of antimicrobial tissue conditioners containing silver-zeolite. *Journal of Dentistry*. 1999; 27: 517-522.

Van Loosdrecht MCM, Lyklema J, Norde W, Schraa G, Zehnder AJB. Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Applied and Environmental Microbiology*. 1987; 53: 1898-1901.

Vissink A, Spijkervet FKL, Van Nieuw Amerongen A. Aging and saliva: A review of the literature. *Special Care in Dentistry*. 1996; 16: 95-103.

Von Krammer R, Cirupano-Dentista. Tissue conditioners. *Journal of*

Prosthetic Dentistry. 1971; 25: 244-250.

Wakamura M, Hashimoto K, Watanabe T. Photocatalysis by Calcium Hydroxyapatite Modified with Ti (IV): Albumin Decomposition and Bactericidal Effect. *Langmuir*. 2003; 19: 3428-3431.

Wilson J. In vitro loss of alcohol from tissue conditioners. *International Journal of Prosthodontics*. 1992; 5: 17-21.

Wozniak KL, Leigh JE, Hanger S, Swoboda RK, Fidel PL Jr. A comprehensive study of Candida-specific antibodies in the saliva of human immunodeficiency virus-positive individuals with oropharyngeal candidiasis. *The Journal of Infectious Diseases*. 2002; 185: 1269-1276.

Yashima A, Gomi K, Sato J, Maeda N, Arai T. Effects of titanium oxide photocatalyst on oral bacteria. *Journal of the Japanese Society of Periodontology*. 2006; 48: 297-306.

Yogo K, Ishikawa M. Recent progress in environmental catalytic technology.

Catalysis Surveys from Japan. 2000; 4: 83-90.

Yoneyama T, Yoshida M, Matsui T, Sasaki H. Oral care and pneumonia. Oral

Care Working Group. *The Lancet*. 1999; 354: 515.