

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11119

研究課題名(和文) 光合成モデルのバイオインスパイアード材料を接着強化に用いる破折歯根の保存再生

研究課題名(英文) Conservative and regenerative treatment of fractured tooth roots using biomaterials inspired from photosynthesis for improving adhesion

研究代表者

平 曜輔 (TAIRA, Yohsuke)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・准教授

研究者番号：40226725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：異なるクロロフィル誘導体を含有するプライマーを試作し、接着試験および歯の表面観察を行った。その結果、鉄クロロフィリンナトリウムと2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)を含有するプライマーが、リン酸エッチングされた象牙質と接着性レジン(4-META/MMA-TBBレジン)との接着性を改善すること、鉄クロロフィリンナトリウムの至適濃度は銅クロロフィリンナトリウムの場合よりも10倍程度濃く、また接着強さの改善効果は銅クロロフィリンナトリウムの方が高いことなどが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Experimental primers containing different chlorophyll derivatives were prepared; bond strength tests and surface observations of tooth were carried out. As a result, a primer containing sodium iron chlorophyllin and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) improves adhesion between phosphoric acid-etched dentin and an adhesive resin (4-META/MMA-TBB resin). It was revealed that the optimal concentration of sodium iron chlorophyllin was about 10 times higher than that of sodium copper chlorophyllin and that the effect of improving bond strength was higher for sodium copper chlorophyllin.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：象牙質 接着

1. 研究開始当初の背景

臨床において、支台築造された歯根に破折や亀裂が生じた結果、抜歯に至るケースは少なくない。歯の破折は抜歯原因全体の1割以上を占めており、歯周病と齲蝕に次いで3番目に多いことが報告されている。さらに我が国は、世界のどの国も経験したことのない超高齢社会に既に入っていること、高齢者ほど失活歯が多く存在することを合わせて考慮すると、破折歯の多くを抜歯しないで済む治療法の確立は重要である。

この課題に対して、我々は象牙質の接着を駆使して解決したいと考えた。しかし、既存の接着システムでは、たとえ破折した歯根を接着しても、再び剥離してしまうことが少なくない。したがって破折した歯根を元に戻して、再び長期間機能させるためには、正確な診査、診断はもちろんのこと、治療に用いる象牙質接着システムの性能向上が必要不可欠であった。

既に30年以上臨床でよく用いられている接着性レジン(4-META/MMA-TBBレジン)(Nakabayashi et al. 1982)の象牙質に対する接着メカニズムは、レジンの浸透や重合に関する諸説(Nakabayashi et al. 1998, Imai et al. 1996)があり、いずれの説においても、表面処理剤に含まれている塩化第二鉄由来の鉄イオンが、象牙質接着の鍵を握る重要な成分であることは論を待たない(Taira et al. 2014)。

そこで我々は、これまでに様々な金属塩化物等をプライマーとして試した結果、塩化第二鉄に匹敵する効果が、塩化第一鉄、過塩素酸鉄、塩化第二銅に認められた(Taira et al. J Dent Res 1996, Taira et al. J Dent 1998)。さらに、ヘム化合物を用いると、これらの金属塩化物の場合よりも接着強さが改善された(Taira et al. J Biomed Mater Res B 2007, Taira et al. Eur J Oral Sci 2009)。そして、動物細胞由来のヘム化合物よりも生体安全性、経済性の高い電子伝達体を探していたところ、クロロフィルに着目するに至った。

2. 研究の目的

本研究では、光合成を司る電子伝達系をモデルに、クロロフィル誘導体をはじめとする各種電子伝達体を歯面処理剤に応用することによって、レジンの接着性改善を図り、さらにそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト抜去歯を実験に用いるにあたり、倫理委員会の承認を受けた(長崎大学病院倫理審査承認番号 16092615)。

まず植物細胞由来の電子伝達体およびこ

れらを化学的に修飾した物質を文献から検索し、水に対する溶解度を調べ、生体安全性を考慮してプライマーとして用いる候補を選んだ。

エッチング液と試作プライマーと4-META/MMA-TBBレジンから構成される接着システムを準備した。抜歯されたヒト大臼歯象牙質を耐水研磨紙で研削し、10%リン酸水溶液(10PA)を30秒間塗布し、水洗、乾燥した。次いでプライマーを塗布し、4-META/MMA-TBBレジンでレジン硬化体と接着した。また、10%リン酸でエッチングした後に35%2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)水溶液のみをプライマー塗布したもの、あるいは10%クエン酸と3%塩化第二鉄を含有する市販の表面処理剤(10-3液)でエッチングのみ行った試料をコントロールとした。

接着完了した試料を37℃の水中に48時間浸漬した後、試験片を断面が0.9mm×0.9mmの棒状に切断し、専用の治具と万能試験機を用いてクロスヘッドスピード0.5mm/minで引っ張り試験を行い、微小引っ張り接着強さを求めた。その後、破断した試料の表面を実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡を用いて観察し、破壊様式を特定した。

標本数は各条件15個とし、接着強さの平均値を算出し、有意水準5%で分散分析と多重比較検定を行った。

4. 研究成果

クロロフィル、クロロフィルa、クロロフィルb、クロロフィルc1、クロロフィルc2、クロロフィルd、クロロフィルf、鉄クロロフィリンナトリウム、フェオフィチン、チオレドキシニン、フェレドキシニン、シトクロムb6/f複合体、プラストキノン、プラストシアニンを歯面処理に用いる候補として挙げ検討したところ、鉄クロロフィリンナトリウム(Fe)が溶解度350以上で高い水溶性であることがわかった。

鉄クロロフィリンナトリウムはクロロフィルのマグネシウムを鉄に置換し、加水分解して得られる安定な色素であり、以前評価したことのある銅クロロフィリンナトリウム(Cu)と同様に食品添加物として一般に利用されていることから、生体安全性の点からも好適であろうと考えられた。そこで35%HEMA水溶液に鉄クロロフィリンナトリウムや銅クロロフィリンナトリウムを各々0.07%、0.007%など微量加えたプライマーを複数調製し、前述の微小引っ張り接着試験に供した。

実験の結果、象牙質をリン酸エッチングし、0.07%鉄クロロフィリンナトリウム含有のプライマーを塗布することによって、比較的高い平均接着強さ(10PA/0.07FE: 32.2 MPa)が

得られ(図1)、レジン凝集破壊が多く認められた。一方、リン酸エッチング後に35%HEMAのみ塗布しただけでは、これよりも接着強さが有意に低く(10PA/HEMA: 21.1 MPa)、破壊様式は全て象牙質側接着界面の剥離であった。また10-3液を用いた従来の表面処理の場合(10-3)は26.4 MPaであり、試料の半数以上が部分的な界面剥離とレジン凝集破壊のある混合破壊であった。

さらに、銅クロロフィリンナトリウムとの比較を行ったところ、鉄クロロフィリンナトリウムの至適濃度は銅クロロフィリンナトリウムよりも10倍程濃いことや、接着強さの改善効果は銅クロロフィリンナトリウムの方が鉄クロロフィリンナトリウムより高いことも明らかになった。

以上の接着メカニズムとしては、リン酸によって脱灰され、露出した象牙質表層のコラーゲン線維はエッチング後の乾燥によっていったん収縮するが、その後プライマー塗布されたHEMAがコラーゲン線維の収縮をもとに戻しつつ、4-META/MMA-TBBレジンの脱灰象牙質への浸透を促す。さらに、これらモノマーが含浸した象牙質表層とその周辺において、鉄クロロフィリンナトリウムや銅クロロフィリンナトリウムがTBBによるラジカル重合を促進した結果、高い接着強さが得られたのであろうと推察される。

4-META/MMA-TBBレジンにはポリマー粉末(PMMA)を混ぜて使用するため、接着界面から離れた部分はPMMAの増粘効果によって早く重合が進み、機械的強度も比較的高い。一方、脱灰象牙質へ浸透するのはモノマーであって、分子量が大きいPMMAは脱灰象牙質内部へは浸透できない。したがって、含浸したモノマーおよびモノマーリッチな界面の重合を積極的に促進し、その凝集力を高めることが、強い接着力を得るために重要なポイントのひとつと考えられた。

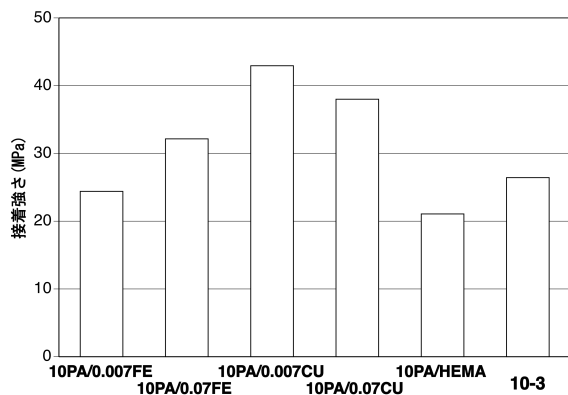


図1 表面処理したヒト象牙質と4-META/MMA-TBBレジンの微小引っ張り接着強さ

<文献>

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. J Biomed Mater Res. 1982;16:265-273.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Quintessence Publishing Co, 1998.

Imai Y, Kadoma Y, Kojima K, Akimoto T, Ikakura K, Ohta T. Importance of polymerization initiator systems and interfacial initiation of polymerization in adhesive bonding of resin to dentin. J Dent Res. 1991;70:1088-1091.

Taira Y, Imai Y. Review of methyl methacrylate (MMA)/tributylborane (TBB)-initiated resin adhesive to dentin. Dent Mater J. 2014;33:291-304.

Taira Y, Matsumura H, Yoshida K, Tanaka T, Atsuta M. Adhesive bonding to dentin with ferrous chloride primers and tri-*n*-butylborane-initiated luting agents. J Dent Res. 1996;75:1859-1864.

Taira Y, Matsumura H, Yoshida K, Kamada K, Tanaka T, Atsuta M. Metal chloride primers for bonding dentine with tri-*n*-butylborane-initiated luting agents. J Dent. 1998;26:603-608.

Taira Y, Soeno K, Atsuta M. Microperoxidase primer promotes adhesion of butylborane-polymerized resin to dentin. J Biomed Mater Res B. 2007;81:111-115.

Taira Y, Soeno K. The effect of a peroxidase primer on bond strength of three luting systems to dentin. Eur J Oral Sci. 2009;117:306-311.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計1件)

平 曜輔, 添野光洋, 鎌田幸治: 象牙質と4-META/MMA-TBBレジンの接着における鉄あるいは銅のクロロフィリン複合体を含有するプライマーの効果, 第36回日本接着歯学会学術大会, 東京, 11月. {接着歯学 .35(3), p71, 2017}

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平 曜輔 (TAIRA, Yohsuke)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・
准教授
研究者番号：40226725

(2) 研究分担者

鎌田 幸治 (KAMADA, Kohji)
長崎大学・病院(歯学系)・講師
研究者番号：60264256