

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月4日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11132

研究課題名(和文) TTCP/DCPAリン酸カルシウムセメントによる象牙質のコーティング効果

研究課題名(英文) Effect of dentin coating with TTCP/DCPA containing calcium phosphate cement

研究代表者

平山 聡司 (HIRAYAMA, Satoshi)

日本大学・松戸歯学部・教授

研究者番号：70189869

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：近年、エナメル質の喪失に伴う象牙質の露出と象牙細管の開口によって象牙質知覚過敏症を発症する頻度が高い。このような象牙質の損耗から歯髄を守るためにリン酸カルシウムの中でも四リン酸カルシウムと二リン酸カルシウム混和物の象牙質知覚過敏用材としての可能性について検討し、更に新規に開発された四リン酸カルシウムと三リン酸カルシウムから成る均一二相性リン酸カルシウムセメントによっても象牙細管を封鎖し得ることが明らかとなった。

また、これらのリン酸カルシウムをレジン系充填材に混入することにより、歯質接着性と脱灰歯質の再石灰化能を併せ持つ新しいバイオアクティブなレジン系充填材料開発の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来から象牙質知覚過敏用材として報告されてきた四リン酸カルシウムと二リン酸カルシウム混和物に加え、四リン酸カルシウムと三リン酸カルシウムから成る均一二相性リン酸カルシウムセメントによっても象牙細管を封鎖し得ることが明らかとなった。

これらのリン酸カルシウムセメントをより効果的に臨床応用することで象牙質コート材としてだけでなく、レジン系充填材に60wt%程度混入することにより、歯質接着性を維持しながら脱灰歯質の再石灰化能を併せ持つバイオアクティブな充填材料として開発できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： In recent years, dentine hypersensitivity is frequently caused by exposure of dentin and opening of dentinal tubules due to loss of enamel. In order to protect the dental pulp from such wear of dentin, it was examined that the possibility of tetracalcium phosphate and dicalcium phosphate anhydrous mixture as a material for dentine hypersensitivity. And, it was revealed that dentinal tubules can be sealed by the newly developed biphasic calcium phosphate cement consisting of tetra calcium phosphate and -tricalcium phosphate.

Furthermore, it was suggested that the possibility of developing a new bioactive resin-based filling material that not only dentin adhesiveness but also demineralization ability of demineralized dentin by mixing these calcium phosphates in the resin-based filling materials.

研究分野：歯科保存学

キーワード：リン酸カルシウムセメント 四リン酸カルシウム 二リン酸カルシウム 象牙質封鎖性 再石灰化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

急速な高齢社会を迎えた我が国にあって、「8020 運動」の啓蒙・普及と歯科医療の発展により、その達成率が 25%を超えるまでに至った。高齢になっても自分の歯で噛める喜びを享受する一方で、齲蝕、歯周病に次ぐ第 3 の歯科疾患として Tooth Wear (歯の損耗) が注目されるようになった。その中でも過度なブラッシングや咬合異常に加え、健康志向を反映した酸性食品やキレート飲料などの摂取によってエナメル質の菲薄化や亀裂が生じ、歯頸部エナメル質や象牙質が欠損することによって象牙質知覚過敏症を発現するケースが極めて多い。

象牙質知覚過敏症には数多くの対症療法が行われている。各種治療法のうち硝酸カリウム、フッ化ナトリウム配合のジェルの塗布やシュウ酸にポリマー共重合体を組み合わせた塗布法、更にレジンボンディング材塗布法などは即効性に優れた効果があると報告されているものの、効果の持続性や有機成分によるアレルギー反応の問題がある。本来、エナメル質の微小亀裂や Tooth Wear によりエナメル質を喪失した歯の最も理想的な治療は、亀裂部や象牙質上に新たなハイドロキシアパタイト (HA) を形成してエナメル質を再生することであろう。しかしながら、象牙質上に厚さ数ミリのエナメル質を形成することは不可能であろうと思われる。その一方で象牙細管の封鎖を目的とした生体親和性に優れたリン酸カルシウムを基材とした知覚過敏抑制材が開発されるようになった。我々は、数多くあるリン酸カルシウムの組み合わせの中でも、第四リン酸カルシウム (TTCP) と第二リン酸カルシウム (DCPA) の等モル比混和物であるリン酸カルシウムセメント (CPC) が、歯槽骨欠損部に対する補填材として使用できることを報告してきた。他の研究報告からも CPC が生体親和性に優れ、骨硬組織の再生に有用であることが示されている。さらに、本材の特徴として分散媒である溶液を蒸留水以外の各種溶液と組み合わせることにより、使用目的や使用部位に即した象牙質コーティング材として開発できるのではないかと考えるに至った。TTCP/DCPA を主成分とするリン酸カルシウムを象牙質コーティング材として応用し、露出象牙質を確実に封鎖すると共に象牙質面を人工的な HA でコーティングすることができれば、口腔内環境で安定しており、生体適合性も極めて良好であり、象牙質知覚過敏に対して最も効果のある治療法になり得るのではないかと期待される。

2. 研究の目的

CPC を各種練和液やレジンポリマーと組み合わせて象牙質封鎖性と再石灰化作用を併せ持つバイオアクティブな象牙質コーティング材として作用用途に応じた臨床応用の可能性を検討するために、以下の実験を行った。

(1) 本研究では CPC を実験に供するが、研究協力者から近年新たに開発された新規リン酸カルシウムセメントである均一二相性リン酸カルシウムセメント (BCP) の提供を受ける事ができた。この BCP の粉部は、TTCP と α -三リン酸カルシウム (α -TCP) とが同一粒子中に均一に分散し、単峰性粒度分布を示す均一二相性材料であり、CPC と同等かそれ以上の操作性と象牙質封鎖性を有することが期待できることから、本研究の対照材料として使用することとした。CPC と BCP を象牙質表面に塗布し、象牙質封鎖性を形態学的に走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。

(2) 象牙質の欠損を伴う症例に対して CPC を象牙質接着性と適度な弾性を有する 4-META/MMA-TBB 充填用レジンに含有させることで、象牙質封鎖性と接着性を具備した充填材料の開発を目指して各種試料の硬化時間およびレジン材料に含有させた場合の象牙質接着強さについて実験を行った。

3. 研究の方法

(1) 抜去ウシ前歯の唇面象牙質を #2000 耐水研磨紙で研磨し、これを小切片に切り出した後研磨面のスミヤー層を除去した。この表面に CPC と BCP をそれぞれ蒸留水とリン酸溶液 (紛液比 3.0) で練和し、3 分間塗布した。その後水洗し、予め調整した疑似体液 20ml に浸漬し、37 条件下で 1 および 7 日間静置した。なお疑似体液は 1 日毎に交換した。取り出した試料を 1 週間乾燥させて白金蒸着後、SEM (JSM-6701F, 日本電子) を用いて表面を形態学的に観察した。

(2) BCP のコート材としての応用について検討するため、BCP の材料学的特性について評価した。硬化時間の測定: リン酸カルシウム溶液を 4 倍希釈した溶液を用いて、30 秒練和後モールドに填塞し、ギルモア・ニードル法にて測定した。②エックス線回析 (XRD): DTS 測定後の試料をデシケーター中で乾燥させた後に粉碎して X 線回折試料とし、XRD 回析装置 (MultiFlex, Rigaku) で HA への経時的な転化を分析した。

(3) CPC 含有量の違いが 4-META/MMA-TBB 充填用レジンの材料学的特性に与える影響を検討するため下表左側に示す MMA 系充填用レジンであるボンドフィル SB とティースメイト ディセンシタイザーの粉体を用いて以下の実験を行った。なお、CPC と SB の含有割合は下表右側に示す。

材料	組成	Lot No.	製造者	実験試料	CPC (wt%)	SB粉材 (wt%)
ボンドフィル SB (SB)	液材: MMA、4-META、多官能性メタクリレート	RE1	サンメディカル	CPC-0	0	100
	粉材: PMMA、TMPTファイバー	170227		CPC-20	20	80
	キャタリスト: トリ-n-ブチルホウ素部分酸化物	MT1		CPC-40	40	60
	ティースプライマー: 4-META、水、アセトン	RE1				
ティースメイト ディセンシタイザー (CPC)	粉材: 4リン酸カルシウム (TTCP)、2リン酸カルシウム無水物 (DCPA)	000003	クラレノリタケデンタル	CPC-60	60	40
				CPC-80	80	20

硬化時間の測定: ボンドフィル SB 液材とキャタリストを 3 滴: 1 滴中に各試料粉末 0.13g を投入し 10 秒間混和後、試料 25 μ l を採取し、示差走査熱量計 (DSC-60、島津製作所) を用いて重合発熱量の測定し、最大発熱ピーク時間を硬化時間とした。曲げ弾性率の測定: ボンドフィル SB 液材とキャタリストを 6 滴: 2 滴中に、各試料粉材 0.26g 投入し混和した。これを 2 \times 2 \times 25mm テフロン製モールドに填入し、両面をガラス練板で圧接後、37 水中に 1 時間保管した。その後モールドから取り出し、耐水研磨紙 #600 にて厚さ 2.00 \pm 0.05mm になるよう研磨してさらに 23 時間 37 水中に保管した。練和 24 時間後、万能試験機 (オートグラフ AG-1S、島津製作所) を用いて 3 点曲げ試験 (クロスヘッドスピード 1mm/min) を行った。ウシ象牙質に対する引張接着強さの測定: ウシ抜去歯の象牙質を露出させ #180 耐水研磨紙で研削した後、象牙質表面に ϕ 4.8mm の両面テープを貼付して接着面積を規定し、付属のティースプライマーで処理した。筆積み法で各試料粉末を接着面に築盛してアクリル棒を圧接し、接着試料を 37 水中に 24 時間浸漬した。その後、万能試験機 (オートグラフ AG-1S、島津製作所) を用いて引張接着強さを測定 (クロスヘッドスピード 2mm/min) した。

統計処理として、Mann-Whitney *U* test を用いて引張接着強さと曲げ弾性について CPC-0 (対照) と CPC-20、CPC-40、CPC-60 および CPC-80 を比較し、 $p < 0.05$ を統計的有意とした。

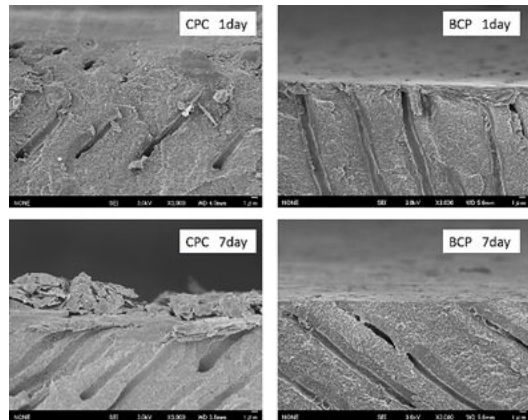
4. 研究成果

(1) CPC と BCP 塗布後の象牙質表面の SEM 観察の結果から、CPC では浸漬 1 日で象牙質表面は数マイクロ厚さの被膜で覆われており、浸漬 7 日では表面を石灰化物の結晶が堆積し、被膜の厚さが厚くなっているように観察された。

BCP も同様に浸漬 1 日で象牙質表面は数マイクロ厚さの被膜で覆われていたが、浸漬 7 日で

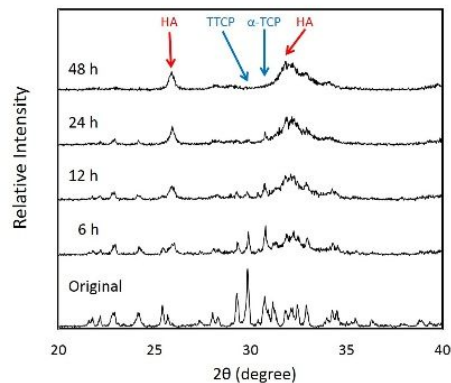
は表面を覆う被膜の厚さに大きな変化はないものの、石灰化物の結晶沈着が象牙細管深部まで達していた。

以上の結果から CPC と BCP は象牙質表面をコートし、象牙細管開口部を封鎖することができるが、象牙細管内部への結晶沈着の程度は BCP の方が深部まで達することが分かった。



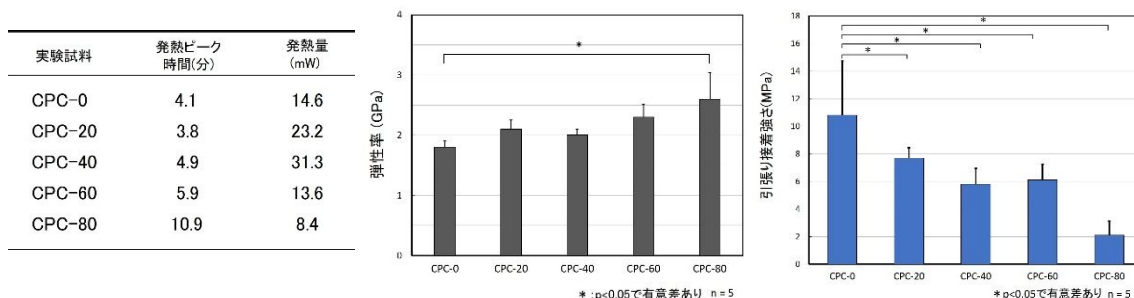
(2) リン酸溶液 4 倍希釈溶液で練和した BCP は 2.8 ± 0.1 分で塗布可能な性状を示し、完全硬化時間は、 9.0 ± 0.1 分であった。

したがって臨床操作上是 4 倍希釈液の使用が適切であることが分かった。練和後試料に対する X 線回析の結果(右図)から、練和後 24 時間で微量ながら未反応の α -TCP のピークが認められたが、48 時間までにほぼ HA へ転化することが確認された。



(3) 発熱ピーク時間は、CPC 含有量の増加に伴い CPC-60 までは 4.1 分から 5.9 分へと遅延し、

CPC-80 では 10.9 分と急激に遅延した(下図左側)。曲げ弾性率の測定結果から CPC 含有量の増加に伴い低下傾向を示し、CPC-80 で対照群に比べ有意に高かった(下図中央)。ウシ象牙質に対する引張接着強さは、CPC 含有量の増加に伴い低下傾向を示し、対照群に比べ全ての試料で有意に低下した。特に CPC-80 では急激な低下を認めた(下図右側)。



以上の結果から、CPC 含有量の増加に伴い、SB の機械的物性および歯質接着性は低下傾向を示したが、その原因として重合体の分子量の低下に起因すると考えられる。したがって、象牙質接着性を維持したまま CPC が有する再石灰化能も付与できる新しいバイオアクティブな充填材として臨床応用する場合、SB に添加する CPC の最大含有率は 60wt%まで可能であると推察された。

5. 主な発表論文等 〔学会発表〕(計2件)

大塚 一聖、岩井 啓寿、寺中 文子、中島 光、岡田 珠美、神谷 直孝、山本 憲廣、平山 聡司、TTCP/DCPA 配合 4-META/MMA-TBB レジンの材料学的特性に関する研究、第 17 回日本大学口腔科学会学術大会、2017 年

平山 聡司、岩井 啓寿、菅原 明喜、藤川 謙次、平野 文香、Biphasic Calcium Phosphate-based Cement の材料学的特性、平成 28 年度第 144 回日本歯科保存学会春季学術大会、2016 年

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：岩井 啓寿

ローマ字氏名：(IWAI, hirotoshi)

所属研究機関名：日本大学

部局名：松戸歯学部

職名：助教

研究者番号 (8 桁) : 10453888

(2)研究協力者

研究協力者氏名：菅原 明喜

ローマ字氏名：(SUGAWARA, akiyoshi)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。