

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：30110

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15702

研究課題名(和文)石灰化誘導モノマー配合多機能修復材料の開発

研究課題名(英文) Development of multifunctional restorative material including mineral inductive monomer

研究代表者

齋藤 隆史 (SAITO, TAKASHI)

北海道医療大学・歯学部・教授

研究者番号：40265070

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：石灰化誘導性モノマー配合試作レジンセメントを、ヒト抜去歯象牙質の非脱灰歯面および脱灰歯面に接着させ、ミネラル溶液に短期間および長期間浸漬して、モノマーによる接着界面の再石灰化促進作用およびその様式について形態学的観察、X線回折による結晶学的分析により評価した。さらに、接着性評価により接着界面の長期耐久性について検討した。その結果、象牙質再石灰化誘導性モノマー5%および10%添加セメント、塩化カルシウム5%添加セメントが良好な再石灰化誘導活性及び良好な接着性能を示した。また、塩化カルシウムの35%HEMA処理は、カルシウムイオンの象牙質浸透性を高めることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Mineral-inducing monomer blended prototype resin cement was bonded to non-demineralized tooth surface and demineralized tooth surface of human extracted dentine. The specimens were immersed in mineral solution for a short period and long term, and then were evaluated by morphological observation by SEM and crystallographic analysis by X-ray diffraction. Furthermore, the long term durability of the adhesive interface was investigated by evaluating adhesion. As a result, 5% and 10% monomers-added cement and 5% calcium chloride-added cement showed good remineralization inducing activity and good adhesion performance. It was also found that 35% HEMA treatment of calcium chloride enhances permeability of calcium ions into dentin.

研究分野：歯科保存学

キーワード：象牙質 再石灰化 脱灰

1. 研究開始当初の背景

(1) 我が国が世界をリードして近年「接着歯学」が確立された。これによって接着材料およびその技術が飛躍的に進歩し、それがミニマルインターベンション普及の原動力および推進力となった。そして今や「接着」は歯科医療を広く強固に支える主要技術の一つとなっている。しかしながら、接着界面が劣化し、接着強さが経時的に低下することが *in vitro* および *in vivo* 評価において報告されている。この原因として、樹含浸層底部に発生するナノスペース (Sano et al. Oper Dent 20:160-167, 1995) への水分・MMP の侵入により樹脂含浸層中のレジンおよびコラーゲン線維が徐々に加水分解されるためと考えられている。それを支持する実験結果として、長期経過後の樹脂含浸層底部から樹状に広がる water tree 現象が *in vitro* 評価において認められている (Tay et al. Am J Dent 16: 6-12, 2003)。これらのことから、接着界面の長期耐久性の改良が強く望まれている。

(2) 接着後に樹脂含浸層底部に発生したナノスペース中に露出した脱灰コラーゲン線維を再石灰化して、ナノスペースを緊密に封鎖することにより、加水分解を回避し、さらに water tree 発生を阻止することができるものと考えている。これにより接着界面の長期耐久性を向上させることができるのではないかと考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

象牙質再石灰化誘導性モノマーを開発し、それを種々の濃度で配合した試作レジンセメントを、ヒト抜去歯象牙質の非脱灰歯面および脱灰歯面に接着させ、唾液標準ミネラル溶液に短期間および長期間浸漬して、モノマーによる接着界面の再石灰化促進作用およびその様式について形態学的観察、微小領域 X 線回折による結晶学的分析により評価した。さらに、接着性評価により接着界面の長期耐久性について検討した。

3. 研究の方法

(1) 象牙質再石灰化誘導活性を有すると推測されるモノマーの設計を行い、合成した。さらに PMMA に新規開発モノマーを 0, 5, 10, 30, 50, 70 % 配合した 6 種類の MMA-TBB レジンセメントを試作した。同様に塩化カルシウムを 0, 5, 10, 30, 50, 70 % 配合した 6 種類の MMA-TBB レジンセメントを試作した。

(2) 再石灰化評価試料の作製：抜去歯の歯冠半分を歯軸に対して垂直に低速切断器 (Isomet™, Buehler, USA) にて水平断し、厚さ 300 μm の象牙質ディスクを作製す

る。ディスクを #1500 の耐水研磨紙により研削し試片とする。それぞれのディスクを通法にしたがって 10% クエン酸-3% 塩化第二鉄で通常処理・過脱灰処理後、試作レジンセメントを浸透させ実験試料とした。コントロールとして、モノマー 0% 添加レジンセメントを接着させた試料を使用した。これらの試料を唾液基準ミネラル溶液 (20mM Hepes, 1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, pH7.0) に 37 °C で浸漬した。

(3) 接着性評価試料の作製：抜去歯の歯冠半分を歯軸に対して垂直に低速切断器 (Isomet™, Buehler, USA) にて水平断し、露出させた象牙質に上記と同様に 10% クエン酸-3% 塩化第二鉄で処理後、新規開発接着性モノマーを各種濃度配合したレジンセメントを浸透させ、コンポジットレジンを築盛して実験試料とした。これらの試料を唾液基準ミネラル溶液に 37 °C で上記と同じ期間浸漬した。

(4) 試作レジンセメントの接着性能および再石灰化可能について引張試験、再石灰化実験および微小領域 X 線回折による結晶学的分析により詳細な解析を行った。

(5) ヒト象牙質ブロックを切り出し、35% リン酸ゲルで 15 秒間脱灰処理を行った。試料を CO₂ レーザー照射・非照射群、さらにフッ化物イオン含有溶液浸漬・非浸漬群の 4 群に分けて試料とした。レーザー照射は、CO₂ レーザー (Nano Laser GL-III, ジーシー) を試料から 10mm 離して 0.5W (1.5W/cm²) で 5 秒間照射した。1日、1週、2週、1か月後に nano-indentation 試験により象牙質の機械的特性 (硬さ、弾性係数) を測定し、象牙質表面を SEM で観察した。

4. 研究成果

(1) 再石灰化実験および接着実験の結果から、5% および 10% 新規モノマー添加レジンセメントが再石灰化可能を発揮し、良好な接着性能を有することが明らかになった。同様に、カルシウムイオン (塩化カルシウム) を既成レジンセメントに種々濃度で添加した際の石灰化誘導活性、象牙質接着性能等を分析した。その結果、5%, 10%, 30% 添加試料で象牙質再石灰化誘導活性が認められた。また石灰化誘導時間は濃度依存的に短縮されることが分かった。象牙質接着性能に関しては、接着 24 時間、3 か月、6 か月後に 30% 添加試料で微小引張り強さが有意に低い値を示したが、5% および 10% 添加試料ではどの期間においてもコントロールと有意差は認められなかった。X 線回折の結果から再石灰化物はアパタイトであることが明らかになった。硬化物のビッカース硬さ、最

大曲げ強さともに、5%添加試料ではコントロールと有意差はないものの、10%および30%添加試料では有意に低い値を示した。これらの結果を総合すると、今回検討した添加濃度の中では、塩化カルシウム5%添加レジンセメントが、再石灰化誘導活性を有し、本来の接着性能および物性を抑制しないことから、優れた材料となり得ることが示唆された。

塩化カルシウム5%添加MMA系レジンセメントの再石灰化誘導活性および高い象牙質接着性能・物性を強化するための方策として、塩化カルシウム細粒を35%HEMAで処理した後、象牙質に適用した場合に、SEM/EDXにて接着界面樹脂含浸層直下の高いカルシウムイオンの集積が観察された。このことから、親水性モノマーである35%HEMA処理は塩化カルシウム5%添加MMA系レジンセメントからのカルシウムイオンの象牙質浸透性を高めることによって、本セメントの象牙質再石灰化誘導活性を増強する可能性があることが示唆された。

- (2) CO₂ レーザー照射後にフッ化物イオン含有溶液に浸漬すると、象牙質の硬さが上昇し、象牙質表面を石灰化物が完全に被覆している像が認められ、脱灰象牙質の再石灰化が生じていることが確認された。
- (3) In-air μ PIXE/PIGE法によるフッ化物の取り込み実験およびTMR画像の観察により、既存のフッ化物含有ゲル状象牙質知覚過敏抑制材による処理によって脱灰象牙質深部までフッ化物の取り込みが認められ、脱灰抑制作用を有することが示された。このことから、石灰化誘導性レジンセメントの効果を増強するためにフッ化物イオンを適用する際には、その適用方法を考慮する必要があると考えられた。また、本研究で開発した材料・適用法の適切な組み合わせによって新規の齲蝕治療材料およびその方法開発の可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

1. Matsuda Y, Okuyama K, Yamamoto H, Tamaki Y, Saito T, Hayashi M, Satoh T, Koka M. Demineralize prevention of dentin with fluoride varnish via automatic pH-cycling. QST Takasaki Annual Report 2016. M-8, 114-114, 2018. 査読なし
2. Kawamura N, Iijima M, Ito S, Brantley WA, Alpati SB, Muguruma T, Kawaguchi K, Saito T, Mizoguchi I. Wear characteristics and inhibition of enamel demineralization by

resin-based coating. Eur J Oral Sci b125, 160-167, 2017. 査読有り

3. Iijima M, Kawaguchi K, Kawamura N, Ito S, Saito T, Mizoguchi I. The effects of single application of pastes containing ion-releasing particles on enamel demineralization. Dent Mater J 36, 461-468, 2017. 査読有り
4. 松田康裕、奥山克史、山本洋子、大木彩子、Khatun MM、佐野英彦、齋藤隆史。フッ化物含有知覚過敏抑制材による象牙質表面の脱灰抑制効果。日歯保存誌 60, 273-281, 2017. 査読有り
5. 飯嶋雅弘、伊藤修一、川村尚彦、齋藤隆史、溝口 到。CO₂ レーザー照射とガラスイオノマーセメントによる象牙質の再石灰化。日本レーザー歯学会誌 27(3), 101-107, 2016. 査読有り

〔学会発表〕(計11件)

1. 松田康裕、奥山克史、山本洋子、泉川昌宣、油井知雄、伊藤修一、林美加子、齋藤隆史。ゲル状フッ化物含有知覚過敏抑制材料による象牙質再石灰化の検討。第15回日本再生歯科医学会学術大会, 2017.
2. 櫻井雅彦、松田康裕、奥山克史、山本洋子、Khatun MM、佐野英彦、齋藤隆史。フッ化物含有知覚過敏抑制剤によるエナメル質表面の脱灰抑制効果。第147回日本歯科保存学会, 2017.
3. Iijima M, Kawaguchi K, Kawamura N, Ishikawa R, Ito S, Saito T, Mizoguchi I. In vitro Effect of S-PRG containing paste in dentin remineralization. The 95th IADR, 2017.
4. 松田康裕、奥山克史、山本洋子、大木彩子、泉川昌宣、油井知雄、伊藤修一、佐野英彦、齋藤隆史。フッ化物含有知覚過敏抑制材による象牙質表面の脱灰抑制効果。第145回日本歯科保存学会, 2016.
5. Matsuda Y, Okuyama K, Yamamoto H, Ooki S, Izumikawa M, Yui T, Ito S, Sano H, Saito T. Demineralize prevention of dentin with S-PRG varnish via automatic pH-cycling. 146th scientific meeting of the Korean Academy of Conservative Dentistry (KACD), 2016.
6. Alapati SB, Iijima M, Brantley WA, Ito S, Muguruma T, Saito T, Mizoguchi I. *In vitro* Investigation of Nanoproperties at Dentin-Pulp Capping Material Interface. 94th IADR, 2016.
7. 藤田裕介、伊藤修一、村井雄司、近藤有紀、齋藤隆史、齊藤正人。ボンディング材における接着性モノマー添加による象牙質接着性に対する影響。第54回日本小児歯科学会, 2016.
8. 近藤有紀、伊藤修一、佐藤夕紀、植原治、倉重圭史、齋藤隆史、齊藤正人。新規バ

イオアクティブセメントのバイオフィルム形成抑制能および細胞増殖活性に対する影響. 第54 回日本小児歯科学会, 2016.

9. 松田康裕, 齋藤隆史, 奥山克史, 大木彩子, 橋本直樹, 佐野英彦, 山本洋子, 岩見行晃, 林美加子, 能町正治, 山田尚人, 喜多村茜, 佐藤隆博, 安田啓介. 脱核反応による歯質中のフッ素分布測定12. 第10 回高崎量子応用研究シンポジウム, 2015.
10. 飯嶋雅弘, 伊藤修一, 齋藤隆史, 溝口到. CO₂ レーザー照射とフッ化物塗布を併用したエナメル質の脱灰抑制. 第27 回日本レーザー歯学会, 2015.
11. 近藤有紀, 伊藤修一, 高田一江, 植原治, 倉重圭史, 齋藤隆史, 齋藤正人. 新規イオアクティブセメントの物理化学的特性について. 第53回日本小児歯科学会, 2015.

6. 研究組織

(1)研究代表者

齋藤 隆史 (SAITO TAKASHI)
北海道医療大学・歯学部・教授
研究者番号: 40265070

(2)研究分担者

伊藤 修一 (ITO SHUICHI)
北海道医療大学・歯学部・教授
研究者番号: 50382495

永井 康彦 (NAGAI YASUHIKO)
北海道医療大学・歯学部・助教
研究者番号: 60281284