

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20414

研究課題名(和文) 機能性高分子材料を用いた根管象牙質の再石灰化の検討

研究課題名(英文) Evaluation of the effects of fluoride-releasing sealer on dentin demineralization using optical coherence tomography and ultrasonic measurement

研究代表者

舎奈田 ゆきえ(田村)(SHANADA (TAMURA), Yukie)

日本大学・歯学部・専修医

研究者番号：40706785

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：バイオアクティブ効果を持つS-PRGフィラー含有根管シーラーを用いた際の根管象牙質の状態変化を、超音波透過法および光干渉断層画像診断法(Optical Coherence Tomography)を用いて定量化し、客観的評価を行うこととした。光干渉断層画像診断法において、コントロール群では画像の変化が認められなかったものの、S-PRGフィラーを含有した根管シーラー群では、画像の変化が認められた。超音波透過法においても、同様の結果が得られた。

超音波透過法および光干渉断層画像診断法を用いて考察を行った結果、S-PRGフィラーを含有した根管シーラーは歯質の再石灰化を促進する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study examined the effect of a fluoride-releasing sealer containing surface reaction-type prereacted glass-ionomer (S-PRG) filler on dentin demineralization using optical coherence tomography (OCT) and ultrasonic measurement. Although there were no significant changes in signal intensity and width at 1/e² in the Control group, significant changes were observed in the S-PRG group during the first test period. Sonic velocity was found to increase with S-PRG group compared with control group.

By using optical coherence tomography (OCT) and ultrasonic measurement, it can be concluded that the fluoride-releasing sealer containing S-PRG fillers sealer has an ability to promote bovine dentin remineralization.

研究分野：保存修復

キーワード：再石化 根管象牙質 S-PRGフィラー OCT 超音波透過法

1. 研究開始当初の背景

近年、コンポジットレジンや歯質接着材においてフッ素徐放性や抗菌効果などのバイオアクティブ機能を併せ持つ材料が開発されており、その効果を検証した報告もされている。そこで、バイオアクティブな性質を有する機能性高分子材料である S-PRG (Surface Reaction Type Pre-Reacted Glass-ionomer) フィラーが開発された。S-PRG フィラーは、高機能性ガラスフィラー表面を処理することによってその表層に反応層を形成し、ここから F, Sr, Si, B あるいは Al などの多種イオンを徐放することを可能としている。フッ素のみならず、各種イオンを放出することによって歯質の脱灰抑制・再石灰化による歯質強化が期待されている高機能性高分子である。

現在は、齲蝕予防に対する PRG 技術の応用は広く研究されているが、根管治療における検討はされていないのが現状である。本来、根管治療では感染歯質を除去するために機械的根管拡大・形成が必要となり、これによって残存根管象牙質が菲薄化し、根管貼薬材を併用することで象牙質が脆弱化し、ひいては歯根破折を招き、歯質の長期保存が困難となる可能性がある。今回使用した S-PRG フィラーは、フィラー表層部にある水和ゲルから F⁻に加えて Al³⁺, BO₃²⁻, Na⁺, SiO₃²⁻, および Sr²⁺などを徐放し、さらに酸緩衝能を有することが既存の研究から明らかとなっている。したがって、根管治療を行い、脆弱化された根管象牙質に対して、S-PRG フィラーを含有させた根管シーラーを応用した場合、歯質の脱灰を抑制し、再石灰させることによって、歯根の脆性化を防止しながら、確実な封鎖ができる可能性が考えられる。

そこで代表者は、上記の臨床的、学術的背景から、脆弱した根管象牙質への非侵襲性アプローチとして、バイオアクティブな性質を有する S-PRG フィラーに着目し、これを

含有する根管シーラーを試作し、根管象牙質の再石灰化の効果があると推測した。すなわち、S-PRG フィラーを根管治療に応用することで、根管治療に関する新たな知見が得られることになれば、歯の長期的保存に貢献することができ、国民の口腔衛生のさらなる向上に寄与することができるものと考えられることからその意義は高いものと示唆される。

2. 研究の目的

根管治療を受けた根管象牙質は、根管拡大・形成によって歯質が菲薄化するとともに、根管貼薬によって歯質が脆弱化し、歯根破折が引き起こされる可能性が極めて高い。近年、Minimal Intervention という治療概念が普及し、歯質強化について広く注目を集めているものの、根管治療後の歯質強化については、不明な点が多いのが現状である。そこで申請者は、バイオアクティブな性質を有している S-PRG フィラーを含有する根管シーラーを試作し、根管象牙質における状態変化を、光干渉断層画像診断法 (Optical Coherence Tomography, 以後 OCT) および超音波透過法を用いて検討することで、根管治療における新たな材料の開発および、歯質保存に有効な根管治療法の確立を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 根管治療象牙質モデルの作製

ウシ (2~3 歳齢) の下顎前歯で石灰化不全および破折の著しい歯などを除き、抜歯後、直ちに抜髄し、その歯根の中央付近の象牙質を、直径 4~6 mm、厚さ 2~3 mm のブロックが得られるよう、モデルトリマーを用いて調整した。このブロック全面を、耐水性 SiC ペーパー # 2,000 を用いて露出面が平坦となるよう、4×4×1 mm の大きさに調整した後、この象牙質ブロックの唇側面および側面をワックスで被覆した。次いで、3%EDTA 溶液および 1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に各 1 分間浸漬、形状測定レーザー顕微鏡 (VK-9710,

キーエンス)を用いて象牙細管の開口を確認した。この試片を 37 ± 1 , 相対湿度 $90 \pm 5\%$ の環境下に保管したものを根管治療象牙質モデルとした。

(2) 超音波透過法を用いた弾性率測定

根管治療象牙質モデルに対して試作シーラーを塗布, 所定の保管期間が経過した試片の弾性率の経時的変化を超音波透過法を用いて測定を行った。比較対照として, 同様の条件で保管した試片をコントロールとして用いた。

超音波測定装置は, パルサーレーザー, 縦波用トランスデューサーおよびオシロスコープから構成されている(図1)。

測定に際しては, パルサーレーザーを用いて, 周波数 500 Hz, 出力 $16 \mu\text{J}$ に設定し, 高周波電圧をトランスデューサー内部の水晶体振動子に送ることによって 10 MHz の超音波を発生させた。

試片を試料台に静置し, トランスデューサーの探触子を接触させ, 超音波パルス法によって試片中を伝播する送信波と反射波との時間差から伝播時間を測定することで, 超音波の変化を, オシロスコープを用いて電氣的に増幅することによって波形を検出した。この波形から, 1 ns 単位で試片を透過する超音波の伝播時間を求め, 試片の厚さとの関係から縦波音速を求めた。得られた値, 試片の密度および理論式から弾性率を求めた。なお, 測定時期は, 試作シーラー適用前および適用後 1 から 7 日まで一日毎, および 7, 14, 21, 28, 90 および 180 日後とした。



図1 超音波測定装置

(3) OCT による状態変化の観察

試作シーラーを適用した際の根管治療象牙質モデルの表層および内部の状態変化を,

OCT で観察するとともに, A-scan mode から OCT イメージ像の変化を数値化することで, 客観的評価を行った。

測定に使用した装置は, マイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築された, Super Luminescent Diode (SLD) を光源とする time-domain 型 OCT 装置(モリタ東京製作所)を用いた。この OCT は, 干渉計にプローブを組み合わせ, パーソナルコンピュータで制御することで断層画像を得るシステムである(図2)。

測定用試片内部の状態変化の観察には, SLD からの照射光線が唇側面中央に対して垂直に照射されるように試片をサンプルステージに静置し, 試片表面との距離が 2 mm となるように非接触状態でプローブを固定した。

測定には, B-scan mode とともに A-scan Mode を用い, 測定範囲内の任意の 20 箇所における歯質の表層から深層にわたる反射光分布の信号強度情報を得た。

なお, これらの観察時期は, 試作シーラー適用前および適用後 1 から 7 日まで一日毎, および 7, 14, 21, 28, 90 および 180 日後とした。



図2 OCT 測定装置

(4) $1/e^2$ 幅の測定

A-scan Mode の信号強度分布を解析することで最大ピーク強度値を検出し, その座標を割り出した。次いで, この座標を中心として 86.5% の信号強度が含まれる範囲を算出し, その波形幅として $1/e^2$ 幅を求めた。

(5) レーザー顕微鏡および走査電子顕微鏡観察

レーザー顕微鏡 (VK-9710, キーエンス)

を用い、その鳥瞰図を得ることによって、3次元的な形態変化について検討を加えた(図3)。

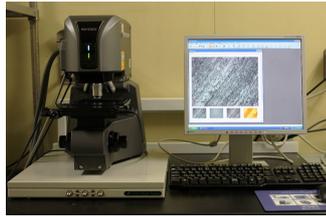


図3 レーザー顕微鏡

走査電子顕微鏡(以後 SEM, ERA-8800FE, エリオニクス)を用いて観察した。試片は, tert - ブタノール濃度上昇系列に順次浸漬し, 脱水した後, 臨界点乾燥を行った。次いで, イオンコーターで金蒸着を施した後, 加速電圧 10 kV の条件で SEM 観察を行った(図4)。



図4 走査電子顕微鏡

4. 研究成果

歯質の脱灰抑制, または再石灰化を亢進させるものとしてバイオアクティブな性質を有する機能性高分子材料である S-PRG (Surface Reaction Type Pre-Reacted Glass-ionomer) フィラーがある。このフィラーは, 歯質に塗布することによって, フィラー表層部にある水和ゲルから F⁻ に加えて Al³⁺, BO₃²⁻, Na⁺, SiO₃²⁻, および Sr²⁺などを徐放することによって, 歯質の再石灰化を誘導するとされている。そこで, 本研究では, S-PRG フィラーを応用した際の象牙質の脱灰抑制および再石灰化効果について, 超音波測定法および OCT を用いて検討を行った。

超音波透過法を用いた検討の結果, 試片を透過する音速の変化は, コントロール群では継時的に音速が低下する傾向を示した。一方, S-PRG 群では, 実験期間を通じて音速の著明

な変化は認められないものの, 測定開始7日目からコントロール群と比較して有意に高い値が認められた。超音波透過法における硬組織中を伝播する超音波の音速の変化は, 歯質の再石灰化の程度と相関があり, 無機成分の体積密度に伴って上昇する。したがって, S-PRG フィラーを応用した試片では, コントロール群と比較して再石灰化が亢進することが示唆された。

超音波測定法とは異なるモダリティとして OCT を用いて観察を行った結果, コントロール群では, 象牙質表層のシグナルの色調の変化はみられないものの, 象牙質内部に弱いシグナルの変化が点在していた。S-PRG 群では, 象牙質表層の輝度の低下が認められた。この理由としては, 象牙質表層に接触したシーラーが象牙質表層の形態的变化が抑制されるとともに, S-PRG フィラーから徐放されたイオンによって象牙細管が封鎖されたことにより, OCT 反射光の反射および錯乱状態が変化したものと考えられた。

得られた OCT 像を数値化するために, A-scan Mode における最大ピーク強度値および 1/e₂ 幅を求めた。その結果, コントロール群では最大ピーク値および 1/e₂ 幅の変化は認められなかった。S-PRG 群では, 最大ピーク値は低下し, 1/e₂ 幅は増加した。これは, 象牙質表層での光線照射の散乱が少なくなり, 試片内部への光線透過性が増大したものを示す。

S-PRG フィラーから徐放されたイオンのうち SiO₃²⁻は短時間で象牙質に取り込まれながら石灰化を促進し, F⁻ および Sr²⁺は, ハイドロキシアパタイトの水酸基や Ca²⁺と置換することによって, 耐酸性に優れたフルオロアパタイトやストロンチウムアパタイトを形成する。レーザーおよび SEM 像からも, S-PRG 群において象牙細管の封鎖が観察され, コントロール群と比較しても平坦な表面性状が観察された。本実験の結果から, コントロー

ル群と S-PRG 群では結果に有意差が認められることから、S-PRG フィラー含有シーラーの応用によって、象牙質の脱灰抑制および石灰化促進効果が発揮された可能性が示唆された。

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 1 件)

田村ゆきえ，島村 穰，柴崎 翔，松吉 佐季，植田宏幸，金澤智恵，平井一孝，宮崎真至，日野浦 光，ユニバーサルシステムへのリン酸エッチングの応用が歯質接着性に及ぼす影響，接着歯学，査読あり，33 巻，2015，75 - 82，

〔学会発表〕(計 2 件)

Y. TAMURA，T. TAKAMIZAWA，R. KAWAMOTO，H. OOUCHI，M. MIYAZAKI，K. HINOURA，Influence of Air-powder Polishing on Bond Strength of Universal Adhesives，International Association for Dental Research 95th General Session & Exhibition，2017. 3.24，San Francisco (USA)

) Y. TAMURA，S. SHIBASAKI，S. MATSUYOSHI，K. TSUBOTA，T. TAKAMIZAWA，M. MIYAZAKI，K. HINOURA，Influence of phosphoric acid etching on shear bond strength of universal adhesive systems，Academy of dental materials annual meeting 2015，2015.10.8，Maui (USA)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：

取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

舎奈田 ゆきえ(田村)(SHANADA (TAMURA)，
Yukie)
日本大学・歯学部・専修医
研究者番号：40706785

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()