

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2020

課題番号：16K11563

研究課題名(和文)新規予防的エナメル質石灰化療法の開発

研究課題名(英文)A new preventive strategy for early enamel erosion.

研究代表者

荻野 玲奈(田中玲奈)(Ogino, Reina)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号：80585779

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):現在の再石灰化法はエナメル質のミネラル喪失部に歯の原料となるカルシウムやリンを供給し、再石灰化を促進する方法が主流である。しかし本研究に用いる石灰化イオン溶液はリン酸イオンやカルシウムイオンを含んでいないため、再石灰化したエナメル質における力学的特性の変化はエナメル小柱に含まれるわずかな空隙の密度増加に影響されたと考えられる。さらにラマン分光法による解析で、漂白処理後に石灰化イオン溶液を作用させる本研究方法では、フルオロアパタイトに代表される結晶構造と比較して、耐酸性に優れ、再結晶能が高い結晶構造を生じることにより、再石灰化したエナメル質の力学的強度を向上させることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在のエナメル質再石灰化法はエナメル質のミネラル喪失部に歯の原料となるカルシウムやリンを供給し、再石灰化を促進する方法が主流である。本研究では一般的に行われている歯の漂白処置後に石灰化イオン溶液を作用させると、フルオロアパタイトに代表される結晶構造と比較して、より耐酸性に優れ、高誘電率で再結晶能が高い結晶構造を生じることによりエナメル質を改質し、強度を向上させることが明らかになった。本研究に用いた石灰化イオン溶液はリン酸イオンやカルシウムイオンを含んでいないため、再石灰化したエナメル質における力学的強度の向上はエナメル小柱に含まれるわずかな空隙の密度が増加したことに起因すると考えられる。

研究成果の概要(英文):The lack of regenerative potential in mature tooth enamel necessitates a traditional clinical practice that recommends complete removal of demineralized enamel to create a hard foundation for a restorative material. Here, we demonstrate that in situ synthesis of monoclinic apatite reprograms the function of mature enamel back to the embryonic stage of development, allowing marked regeneration in enamel erosion. A partial breakdown of enamel nanocrystals by a contemporary tooth-bleaching procedure causes mild annealing. Selective ion implantation of SiO_3^{2-} and F^- sustains a transition from a hexagonal apatite form to a monoclinic phase during the mild annealing process. The high dielectric constant of monoclinic apatite facilitates self-repair in early tooth enamel erosion.

研究分野：歯科理工学

キーワード：エナメル質 再石灰化 マイクロCT ナノインデンテーション ラマン分光法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) を含有した修復物はフッ化物、ストロンチウム、ボロンなどのイオンを放出するため、近接した歯面の脱灰抑制や抗菌性などの効果が報告されている。

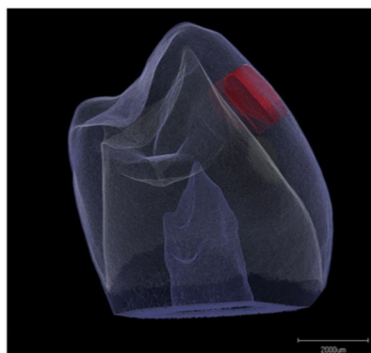
2. 研究の目的

本研究では、初期脱灰病変に過酸化水素とハロゲンランプ照射によるオフィスブリーチ処理を行った後、S-PRG から抽出した石灰化イオン溶液に浸漬する方法を用いて、エナメル質を改質し力学的強度や抗菌性を与えることである。

3. 研究の方法

ヒトの抜去歯をサンプルとして用いた。頬側面にパーニッシュを行い、エナメル質表面を直径 5 mm の円形に被験面を露出させた (Fig.1)。ヒト健全歯エナメル質に光照射を行った後、脱灰液に浸漬することにより短期間で人工的な初期脱灰病変を作成した。初期脱灰病変に 35% の過酸化水素とハロゲンランプ照射を用いたオフィスブリーチ処理を行い石灰化イオン溶液中で 24 時間浸漬したサンプルのミネラル密度の変化を、マイクロ CT を用いて非破壊で解析した。

Fig. 1



日立卓上顕微鏡 Miniscope 専用のエネルギー分散型エックス線分析装置 (Swift ED3000) および STEM-EDX を用いて、サンプルに含まれるボロンの同定試験を行った。

健全なエナメル質の切断試料を作成し、オフィスブリーチ後に石灰化イオン溶液に浸漬したエナメル質表層のリン酸基のピークシフトをマイクロラマン分光法により解析した。また、エックス線回折を用いてオフィスブリーチ後に石灰化イオン溶液に浸漬したサンプルを解析した。さらに、エナメル小柱の力学的特性の変化を、ナノインデントを用いて解析した。

レーザーアブレーション ICP 質量分析 (LA-ICPMS) を用いて、エナメル質断面に含まれる超微量元素を検出した。エナメル質の矢状断のサンプルにレーザーを照射しサンプル表面を微粒子化しながら超高感度な ICP-MS で連続的に分析し、再石灰化処理後のエナメル質サンプルに含まれる元素の同定を行った。

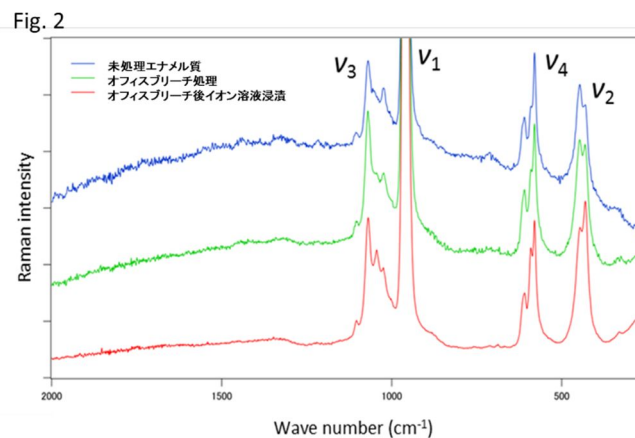
4. 研究成果

初期脱灰病変を再石灰化させるのに最適なイオン供給の方法を検討した。初期脱灰病変の作成および再石灰化度の評価にはマイクロ CT を用いた。エナメル質脱灰サンプルを用いてオフィスブリーチ処理後、石灰化イオン溶液に 24 時間浸漬したサンプルのミネラル密度の変化を解析した。比較対象として脱イオン水およびハックス緩衝液 (HBSS) を用いた。エナメル質脱灰サンプルに対する再石灰化能は、オフィスブリーチ処理後に石灰化イオン溶液に浸漬したサンプルで最も顕著であり、少なくとも 0.5 mm の脱灰深度ではほぼ完全な回復を示した。一方、HBSS と

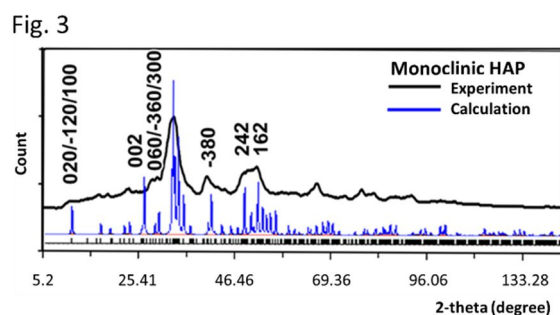
脱イオン水に浸漬したサンプルでは人工唾液中での再石灰化傾向はみられなかった。したがって、オフィスブリーチ処理の後処理として石灰化イオン溶液に 24 時間浸漬する方法が最もミネラル密度を向上させることが明らかになった。

石灰化イオン溶液に含まれるイオンのうち、抗菌性が予想されるボロンの同定試験を行った。ボロンをはじめとする軽元素分析が可能とされる日立卓上顕微鏡 Miniscope 専用のエネルギー分散型エックス線分析装置(Swift ED3000)を用いて、再石灰化処理後のエナメルサンプルを観察したところ、オフィスブリーチ処理後に石灰化イオン溶液に浸漬したサンプル表面にボロンは検出されなかった。さらに、STEM-EDX による分析を行ったが、オフィスブリーチ処理後に石灰化イオン溶液に浸漬したサンプルにおいてボロンの存在を示す特性エックス線のピークは認められなかった。

健全なエナメル質の切断試料を作成し、未処理、オフィスブリーチ後に石灰化イオン溶液に浸漬したエナメル質表層のリン酸基のピークシフトをマイクロラマン分光法により解析した。オフィスブリーチの後処理で石灰化イオン溶液、ハンクス緩衝液および脱イオン水を用いた場合、ラマン分光分析法では、エナメル質表面に 1, 2, 3, 4 のリン酸基ピークが見られ(Fig. 2),それぞれの処理にしたがいピーク比が変化した。石灰化イオン溶液に浸漬したサンプルでは、これらのピーク比が最も大きく変化し、単斜晶アパタイトの存在を示した。



エックス線回折では、石灰化イオン溶液浸漬後のエナメル質では珪酸アパタイトの一種が検出された (Fig. 3)。



エナメル小柱の力学的特性の変化を、ナノインデーターを用いて解析した。三角錐圧子を用いたナノインデントーションでは、HAP 結晶の物性を反映するよう 500 μ N の荷重をかけるとオフィスブリーチ後に石灰化イオン溶液に浸漬したエナメル質の Storage modulus は変化なく HAP の質は不変であった。一方、小柱間タンパク質の影響が物性に反映されるよう 2000 μ N の荷重をかけると Storage modulus が増加し硬くなった。また、Loss modulus が減少し粘弾性部分が少

なくなり密度が増加した。球状圧子を用いて応力ひずみ曲線を得ると、オフィスブリーチ直後のサンプルは未処理に比べて降伏点強度の低下がみられたがオフィスブリーチ後に石灰化イオン溶液に浸漬したサンプルでは増加したことから、結晶構造が変化し降伏力が増大したと考えられる。オフィスブリーチ後のサンプルで降伏点強度が低下するため後処理によってエナメル質の力学的特性を回復する必要性が示唆された。一方、オフィスブリーチ後に石灰化イオン溶液に浸漬したサンプルは、力学的特性の向上が認められた。石灰化イオン溶液はリン酸イオンやカルシウムイオンを含んでいないため力学的特性の変化はエナメル小柱に含まれるわずかな空隙の密度増加に影響されたと考えられる。弾性係数の向上は、エナメル質のナノ結晶間に存在するエナメルタンパクに対してイオンが選択的に吸収された可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Caiqi Cheng , Jun Zhou , Ruiying Chen , Yo Shibata , Reina Tanaka , Jun Wang , Jiaming Zhang	4. 巻 12
2. 論文標題 Predicted Disease-Specific Immune Infiltration Patterns Decode the Potential Mechanisms of Long Non-Coding RNAs in Primary Sjogren ' s Syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.624614	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Jun Zhou , Wurihan, Yo Shibata , Reina Tanaka , Zhongpu Zhang , Keke Zheng , Qing Li , Sachiko Ikeda , Ping Gao , Takashi Miyazaki	4. 巻 92
2. 論文標題 Quantitative/qualitative analysis of adhesive-dentin interface in the presence of 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials	6. 最初と最後の頁 71 - 78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmbbm.2018.12.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tobe Takuma, Shibata Yo, Mochizuki Ayako, Shimomura Naofumi, Zhou Jun, Wurihan, Tanaka Reina, Ikeda Sachiko, Zhang Zhongpu, Li Qing, Inoue Tomio, Miyazaki Takashi	4. 巻 90
2. 論文標題 Nanomechanical characterization of time-dependent deformation/recovery on human dentin caused by radiation-induced glycation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials	6. 最初と最後の頁 248 ~ 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmbbm.2018.10.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimomura Naofumi, Tanaka Reina, Shibata Yo, Zhang Zhongpu, Li Qing, Zhou Jun, Wurihan, Tobe Takuma, Ikeda Sachiko, Yoshikawa Kazuko, Shimada Yukie, Miyazaki Takashi	4. 巻 35
2. 論文標題 Exceptional contact elasticity of human enamel in nanoindentation test	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dental Materials	6. 最初と最後の頁 87 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dental.2018.11.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Reena Rodriguez, Kentaro Yoshimura, Yo Shibata, Yoichi Miyamoto, Reina Tanaka, Risa Uyama, Kiyohito Sasa, Dai Suzuki, Takashi Miyazaki, Ryutaro Kamiyo	4. 巻 13
2. 論文標題 Nanoindentation time-dependent deformation/recovery suggestive of methylglyoxal induced glycation in calcified nodules	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine	6. 最初と最後の頁 2545-2553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nano.2017.07.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 周 君, 柴田 陽, 田中 玲奈, 宮崎 隆
2. 発表標題 象牙質接着界面の分子構造と力学的性質について
3. 学会等名 第65会昭和大学学士会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 ひずみ速度に依存したエナメル質のナノスケール弾性-塑性挙動
2. 発表標題 柴田 陽, 田中 玲奈, 下村 直史, 周 君, 烏 日罕, 宮崎 隆
3. 学会等名 日本歯科理工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 単斜晶アパタイト局所合成によるエナメル質初期齲蝕の再生
2. 発表標題 田中 玲奈, 柴田 陽, 宮崎 隆
3. 学会等名 日本歯科理工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸部 拓馬, 柴田 陽, 下村 直史, 周 君, Wurihan, 田中 玲奈, 宮崎 隆
2. 発表標題 X線照射を用いた疑似的老化による硬組織の力学的特性
3. 学会等名 平成29年度秋季第70回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 下村 直史, 田中 玲奈, 戸部 拓馬, 周 君, Wurihan, 柴田 陽, 島田 幸恵, 宮崎 隆
2. 発表標題 ヒトエナメル質の応力ひずみ曲線測定に適したナノインデンテーション試験法の検討
3. 学会等名 平成29年度秋季第70回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shibata Y., Tanaka R., Wurihan, Zhou J., Tobe T., Yamamoto M., and Miyazaki T.
2. 発表標題 Nanoindentation Characterization of Regenerated Tooth Enamel.
3. 学会等名 7th International Conference on Mechanics of Biomaterials and Tissues (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田中 玲奈
2. 発表標題 エナメル質の新規再石灰化療法
3. 学会等名 臨床歯科理工学会定時総会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tanaka R., Zhou J., Shibata Y., Miyazaki T.
2. 発表標題 Stress-strain behavior of bleached enamel stored in a high ionic strength solution
3. 学会等名 International Dental Materials Congress 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 田中玲奈、柴田 陽、周 君、宮崎 隆
2. 発表標題 高イオン強度溶液を用いたエナメル質の結晶構造解析
3. 学会等名 平成28年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業公開シンポジウム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	柴田 陽 (Shibata Yo) (30327936)	昭和大学・歯学部・講師 (32622)	
研究分担者	宮崎 隆 (Miyazaki Takashi) (40175617)	昭和大学・歯学部・教授 (32622)	
研究分担者	有本 隆文 (Arimoto Takafumi) (60407393)	昭和大学・歯学部・講師 (32622)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------