

令和元年5月14日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20446

研究課題名(和文) ナノテクノロジーの保存修復学への応用

研究課題名(英文) Application of Nano-technology in Restorative Dentistry

研究代表者

松本 真理子 (MATSUMOTO, MARIKO)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：30733969

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：白金ナノコロイド(Colloidal Platinum Nanoparticles: 以下CPN)は、これまでに医薬品や化粧品などの分野で応用されてきているが、まだ歯科材料の分野での試みはほとんどない。現在、CPNの保護膜の構造の違いにより3種類のCPNが応用可能であるが、それぞれの象牙質接着に対する効果は不明であり検証が必要である。本研究では、ヒト抜去歯を使用して3種類のCPNをそれぞれ塗布した象牙質と接着性レジンセメントの接着強さについてマイクロテンサイル法にて評価を行い、CPNによる接着強さへの影響に違いがあることが認められた。またその接着界面の形態評価は電子顕微鏡にて観察を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科治療において、歯を切削した後の窩洞には修復材料により修復が行われる。修復材料自身は歯と接着しないため、歯の間には接着材となる材料が必要となってくる。しかし歯の構造の中でも特に象牙質は水分を多く含むため、長期的に良好な接着を獲得し続けることは未だに課題とされている。本研究で、CPNを塗布した場合、接着強さが塗布しない条件に比べて増大し、また長期耐久性を評価するための劣化試験下においても接着強さの減少が抑えられるという結果を確認している。このことにより、この白金ナノコロイドの象牙質接着への応用が、良好な治療結果を導くための新しい技術となりうることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Colloidal Platinum Nanoparticles(CPN), which is now well known as a catalyst or antioxidant, is utilized in food industry or cosmetic products. However, there are few attempt in dentistry. Recently, three different kinds of CPN(CPN1~3) are available. Each CPN has a different structure of protective membrane. Then, recently introduced CPN remain to be tested on their adhesion-promoting effect, being the main objective of this study. The result showed that CPN2 achieved the highest bond strength in short term data, which was significantly better than that of the control (no CPN coating). Upon aging, bond strength of all CPN formulations, except for CPN1, decreased but remained significantly higher than that of the control. Then, this study indicated that all CPN formulations promoted the luting performance of the resin-based cement used in this study(4-META/MMA-TBB resin) to dentin both immediately and upon aging.

研究分野：接着歯学

キーワード：ナノテクノロジー 白金ナノコロイド 接着材 象牙質

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナノテクノロジーは、ナノメートル(10⁻⁹m)のオーダーで原子、分子を操作、制御することによりナノサイズ特有の物質特性等を利用して全く新しい機能を発現させ、科学技術の新たな領域を切り拓き、幅広い産業の技術革新を先導するものである。既に、素材、情報技術、生物工学など幅広い分野において根幹技術となり、応用範囲は多岐にわたっている。歯科においてもナノテクノロジーは応用され、コンポジットレジン、口腔内インプラントなどへ利用されている。カーボンナノチューブの歯科への応用に関する研究も盛んにおこなわれてきている。

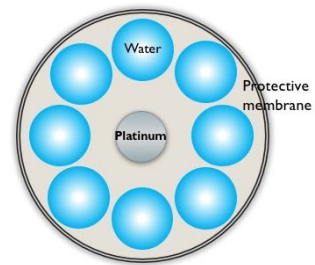


図1 CPNの構造模式図

プラチナナノコロイド(Colloidal Platinum Nanoparticles: 以下CPN)は、粒径2nmのプラチナナノ粒子の全周をクエン酸ナトリウムでコーティングすることでコロイド化したもの(図1, 2)で、特長として低アレルギー性であり、活性酸素種(ROS)の強い除去能と抗酸化作用が挙げられる。CPNは次世代の抗酸化物質として、健康食品や化粧品などに添加され、既に一般にも使用されている。さらに、脳梗塞や口腔粘膜疾患の治療応用のための研究も進められている。しかしながら、歯質接着技術におけるCPNの活用に関する試みは少なく、これからの研究が期待される分野である。



図2 100% CPN溶液

歯質接着分野においては、我々の研究室においてこれまでに、CPN処理を行った象牙質に対して4META/MMA-TBBレジンの接着強さが有意に高くなること報告している。現在使用可能なCPNは3種類あり、それぞれのCPNが同様に象牙質接着に対して有効であるかは不明である。CPN処理による接着能向上の要因の一つとして、その触媒作用によりレジンの重合が促進されることが考え得るが、CPNの象牙質への浸透度や分布状態についてはいまだ詳細に検討されておらず、接着強さを増強させるメカニズムについても不明のままである。

また、象牙質接着において短期的予後は良好な経過を有する材料が確立されてきているものの、「長期耐久性」については課題とされている。長期耐久性を有することは、より永久的な修復治療を実現することに近づき、国民の健康の維持増進に大きく寄与できる可能性がある。

2. 研究の目的

そこで本研究は、3種類のCPNを塗布したヒト象牙質に接着性レジンセメントである4META/MMA-TBBレジンを接着させ、短期および長期耐久性を検討するために劣化加速試験を用いて接着試験をおこない、また接着界面について形態学的に評価するために、走査型電子顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて観察することにより、それぞれのCPNの象牙質接着への影響を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)研究に用いたCPNおよび接着性レジン

本研究で用いた3種類のCPNは、保護膜の違いにより分類される(図3)。

第一世代(以下CPN1)は1.69%のポリアクリル酸、第二世代(以下CPN2)は0.29%クエン酸ナトリウム、第三世代(以下CPN3)は0.29%クエン酸ナトリウムと0.29%シクロデキストリンからなる保護膜をもつ。

接着性レジンには、モノマーに4META/MMA-TBBレジン、触媒にトリブチルボランを含む化学重合型レジンセメントのSuperBondを採用し、エッチングには、10%クエン酸を含む10-3 solutionを用いた(表1)。

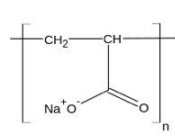
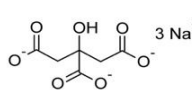
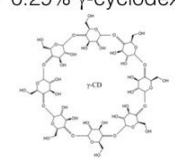
<p>● 1st generation</p> <p>1.69% polyacrylic acid</p> 	<p>● 2nd generation</p> <p>0.29% sodium citrate</p> 	<p>● 3rd generation</p> <p>0.29% sodium citrate + 0.29% γ-cyclodextrin</p> 
--	---	---

図3 3種CPNの保護膜の成分および構造式

表1 接着性レジンセメントの成分

Product	Manufacturer	Composition	
Super-Bond C&B	Sun Medical, Moriyama, Japan	Initiator	Tri-n-butylborane
		Monomer	5% 4-META, 95% MMA
		Powder(Clear)	PMMA powder
Green Conditioner (10-3 solution)		10% citric acid, 3% ferric chloride, water	

(2) 試料作製方法(図4)

カリエスのないヒト抜去歯 40 本を使用(北海道大学倫理審査承認番号 # 2013-7)。

歯冠の最大豊隆部で切断後, エナメル質の残存がないことを確認し, 表面を耐水研磨紙#600で研磨した象牙質平滑面を被着面とした。被着面の中央にグループを作り二分し, 面半分に対しては 10-3 solution によるエッチングをおこなわない群(WOE), もう半分は 10-3 solution にて 10 秒エッチングをおこなう群(WE)とした。

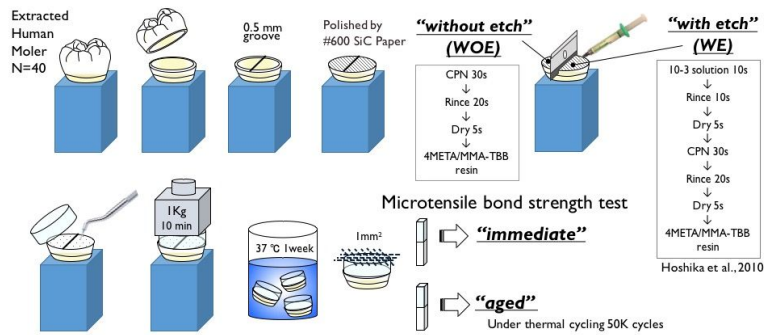


図4 試料作製方法

被着面を水洗後, 各種 CPN(CPN1~3)をそれぞれマイクロブラシにて 30 秒こすり塗布し, 再度水洗を 20 秒おこなったのち, アクリリックブロックを 4META/MMA-TBB レジンにて接着し, 1Kg 荷重下 10 分間静置した。作製した試料は 37 °C 水中にて 1 週間恒温槽で保管した。同様の作製方法で, CPN を塗布しなかったものをコントロール(Ctrl)とした。

(3) 引張接着試験及び形態観察

1 週間保管した試料を, 1mm²のビーム状試料に切断し, 試料を 2 グループに分け, まず半分をマイクロテンスイル試験法にて引張接着試験をおこなったものを "immediate," (短期的結果), 残りのビーム試料にサーマルサイクル(5 / 55 °C) 50,000 サイクルにて劣化加速試験を加えたのちに引張試験をおこなったものを "aged," (長期的結果)とした。

接着試験後の破断面を顕微鏡で観察をおこない, 破断面の状態を確認した。

また, 接着界面の詳細な状態及び CPN の分布確認のため, 通法に従いエポキシ樹脂に包埋したのち, 80nm に薄切し, 透過型電子顕微鏡で評価をおこなった。

4. 研究成果

(1) 引張接着試験

10-3solution にてエッチングをおこなった WE 群(図 5-2)は, エッチングをおこなっていない WOE 群(図 5-1)に比べて有意に高い値を示した。

WOE 群では, CPN1:13.91 ± 7.24MPa, CPN1(50K):12.84 ± 8.43MPa, CPN2:13.14 ± 6.67MPa, CPN2(50K):9.81 ± 5.27MPa, CPN3: 16.61 ± 6.97MPa, CPN3(50K):12.09 ± 8.07MPa, Ctrl:12.68 ± 6.15MPa, Ctrl(50K):12.24 ± 8.46MPa の値を示し, WE 群では, それぞれ CPN1:39.69 ± 10.55MPa, CPN1(50K):43.15 ± 10.69MPa, CPN2:45.84 ± 10.98MPa, CPN2(50K):32.85 ± 12.36MPa, CPN3: 39.93 ± 10.29MPa, CPN3(50K):31.27 ± 14.74MPa, Ctrl:32.0 ± 12.75MPa, Ctrl(50K):19.08 ± 10.71MPa であった。

WOE 群では, immediate では全ての CPN 塗布群で Ctrl よりも高い値を示し, 特に CPN3 が最も高い値を示した。aged では, CPN2 が Ctrl に比べて明らかに低い値を示したが, CPN1 および CPN3 は Ctrl と同等の結果となった。immediate と aged の比較において, Ctrl 群および CPN1 では明らかな減少は認められなかったが, CPN2 および CPN3 では接着強さの減少が認められた。

一方, WE 群では, immediate と aged 両群において, 全ての CPN 塗布群は Ctrl 群より高い値を示し, immediate では CPN2 が最も高い値となった。aged では CPN1 が最も高い値を示し, WOE と同じ傾向を示す結果となった。また, 全ての CPN 塗布群の aged の結果は, Ctrl

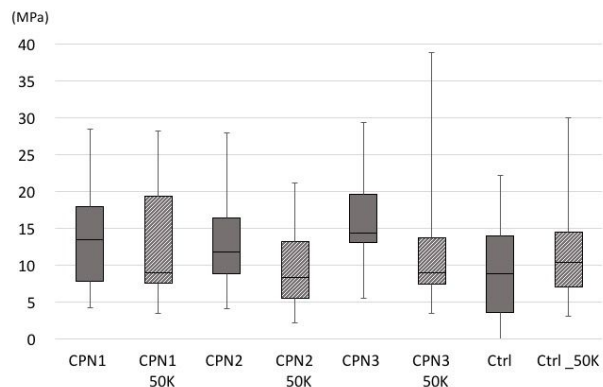


図5-1 μTBS試験結果 (WOE)

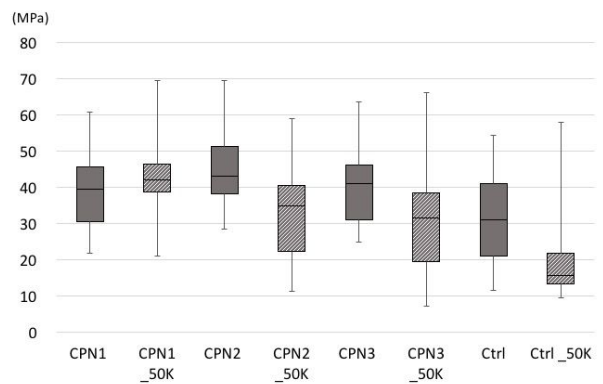


図5-2 μTBS試験結果 (WE)

の immediate より高い、もしくは匹敵する値であり、

このことより、CPN 塗布により象牙質接着の長期耐久性に対して良好な影響を及ぼす可能性が示唆されたことになる。また、それぞれの CPN で接着強さの挙動は異なっているが、劣化加速試験後での接着強さの減少がほぼ認められなかった CPN1 は 3 種の中で象牙質接着に対して有効である可能性が考えられる。

(2)形態学的観察

本研究では、これまでの研究プロトコールに従い、試料作製時に CPN 塗布後に水洗を 20 秒おこなっており、視覚的には象牙質表面に CPN 粒子が残存している様子は明確には確認出来ないが、接着試験結果から CPN 塗布による接着強さの増強に対する影響が発揮されていることが示唆されている。そこで、詳細に接着界面を評価するために透過型電子顕微鏡にて観察をおこなったところ、CPN 粒子の分布はレジンセメント層の上部に集積しており、象牙質-レジン界面にはほとんど分布していないことがわかった(図 6)。つまり、象牙質に処理した CPN は水洗後にも象牙質表面に残存し、その後レジンセメント塗布によりセメント内に浮上してきたと考えられる。

この分布状況から考えると、CPN の効果は象牙質のコラーゲンやヒドロキシアパタイトに作用するのではなく、レジンセメント層に対して影響を及ぼしている可能性が高いと考えられる。

一般的に被着体の硬さが大きい場合に接着強さも増大することが知られていることから、CPN の触媒作用によりレジンセメントの重合がより促進され硬化がより進んだのではないかと推測することができる。しかし、この重合の促進については、重合度測定や硬さの測定等のさらなる検討が必要であると考えられる。

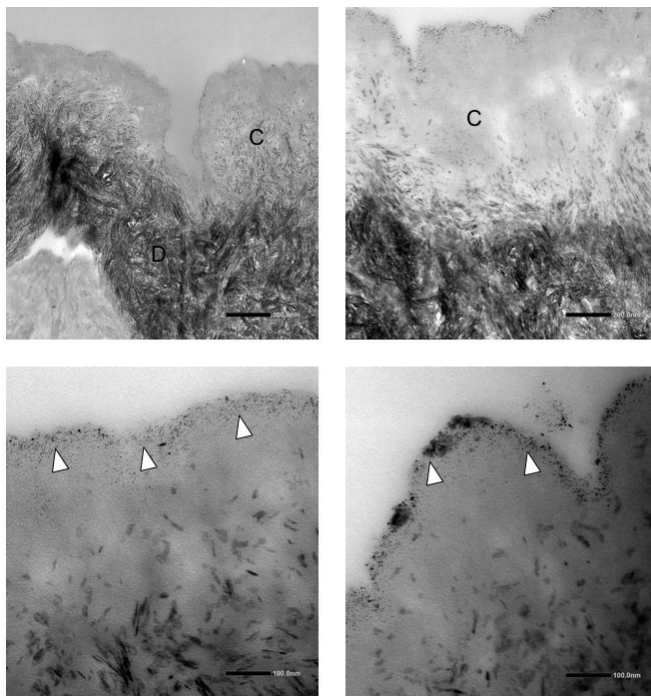


図6 TEM観察像 C:レジンセメント D:象牙質 △:CPN

(3)今後の課題と展望

本研究では、CPN の象牙質-レジン接着への影響に注目して研究をおこない、良好な結果を得ることができた。今回使用した 4META/MMA-TBB レジンは化学重合型レジンセメントのみであったが、修復治療には様々な接着材料が使用されるため、その他レジン材料についても評価していくことは大変意義のあることであると考えられる。また、CPN は接着のみならず、歯髄細胞への影響についても調べることで、より大きな修復での使用や多彩な用途での使用の可能性が広がり、CPN を使用したナノテクノロジーの歯科への応用が実現に近づくことができると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Matsumoto M, Effect of colloidal platinum nanoparticles on dentin adhesion with 4-META/MMA-TBB resin, The 20th Joint Scientific Meeting between JSCD&KACD, 2018

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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。