

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：34408

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17200

研究課題名(和文)新規アパタイトアイオノマーセメントAICの各種口腔内細菌に対する影響に関する研究

研究課題名(英文) Study on the effect of Novel Apatite-Ionomer- Cement-AIC on various oral bacteria

研究代表者

西村 貴子(Nishimura, Takako)

大阪歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：70468908

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ICCMSは、虫歯プロセスの段階を分類検出および評価システムであるICDASに基づいて虫歯管理の新しい概念である。我々はICCMSが推奨する従来のグラスアイオノマーセメント(GIC)にハイドロキシアパタイトを添加することにより強化することができ、新規材料をアパタイトアイオノマーセメント(AIC)と命名した。しかし、新規材料であるAICは多くの不明な特性がある。この研究は、ミネラルイオンの溶出と抗菌活性について焦点を合わせ、特性の解明を行った。その結果、HApの添加により、GICのマルチミネラルイオン放出と抗菌性が向上した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、AICは齲窩の細菌増殖を抑制しGICを上回るBioactiveな機能を有することが見出され、これらの機能はICCMSが推奨する超保存的除去に望まれる機能である。旧来の「Drill and Fill」のパターン化された方法により健全歯質が大量に切削されることを防ぎ、歯の寿命を長らえ、それにより咀嚼機能や発音機能を維持し、健康寿命の延長に貢献できることが期待できる。また短時間で効率よく、しかも安価で、多数の齲蝕治療および予防を行え、AICが社会へ普及することにより、我が国の喪失歯数の減少も期待でき、国民のQOL向上、また国家の医療費削減にもつながることが予想される。

研究成果の概要(英文)：ICCMS is the new concept of caries management based on ICDAS which is a detection and assessment system classifying stage of the caries process. We found that the addition of hydroxyapatite(HAp) strengthened conventional glass-ionomer-cement(GIC) that recommended by ICCMS, named apatite-ionomer-cement (AIC). However, there were many uncertain properties. This study was focused on discussing the multi mineral ion release and the antibacterial activity. As the results, addition of the HAp improved multi mineral ion release and antibacterial properties of GIC.

研究分野：小児歯科学

キーワード：グラスアイオノマーセメント ハイドロキシアパタイト

1. 研究開始当初の背景

我が国では、特に小児う蝕は減少傾向にあるが、世界に目を転ずると齲蝕罹患者は60億人に達しており、世界保健機構(WHO)は現在、未処置齲蝕がパンデミックに拡散していると警告している。その対策の一つとしてWHOが発展途上地域で実施しているグラスアイオノマーセメント(以下GIC)を用いた非侵襲的修復法(ART:Atraumatic Restorative Treatment)の有効性が注目されている。また近年、新しい齲蝕の検出基準(International Caries Detection and Assessment System:ICDAS)とそれに基づく新概念の齲蝕管理システム(International Caries Classification and Management System:ICCMS)が提唱され、旧来の「Drill and Fill」中心の齲蝕治療から脱却し、深在性の齲窩を有する歯に対しては、露髄の危険性を減少させるために、軟化象牙質の超保存的除去(最小限の軟化象牙質の除去と残存軟化象牙質を含む窩洞の確実な封鎖)を推奨した。その適応材料としてもGICが最も多く世界で使用されている。このようにGICは、歯質接着性、フッ素(以下F)イオンおよびその他のミネラルイオンの溶出による再石灰化・歯質強化・抗菌性など各種生体機能を有する魅力的な歯科材料として、多方面において大変注目される材料となっている。しかしながら、強度や耐久性に関しては不十分であり、超保存的除去に適応する材料としては、窩洞の封鎖が確実にでき、齲窩の細菌増殖を抑制するとともに、齲蝕象牙質内層を再石灰化させるなど、GICを上回るBioactiveな機能を有する材料の開発が早急に望まれる。GICの改良については、これまでに多くの研究者によって報告され、それらの研究では、GICの強度を向上させると他の化学的特性、特にFイオン溶出能が低下するといったジレンマに陥っていた。これまで曲げ強さを強化する目的で、金属などの強度が大きな補強材などをGICに添加する研究がなされてきた(図1: Xu X, Burgess Jo: Compressive strength, fluoride release and recharge of fluoride releasing materials. Biomaterials, 24:2451-2461, 2003)。一般的にGIC研究では、強度とFイオン溶出能は負の相関があることが示されてきたが、申請者はこれまでの研究においてGICの強度と各種イオンの溶出による機能性の両方を向上させる方法を探索し、従来型GICに圧縮強さが僅か0.6MPaしかない極めて強度の低いハイドロキシアパタイト(HAp)の微細粒子を添加し、GIC自体の物理的強度の向上を実現し、その新規材料をアパタイトアイオノマーセメント(AIC)と命名し、予備実験からその常識を覆した結果を得ていた。その作用機序の解明と優れたイオン溶出による機能評価を行うことは大きな意義があり、特にAICの多種にわたるイオン溶出に起因すると思われる抗菌性の検証は本研究の学術的特色に挙げられたため、本研究を開始した。

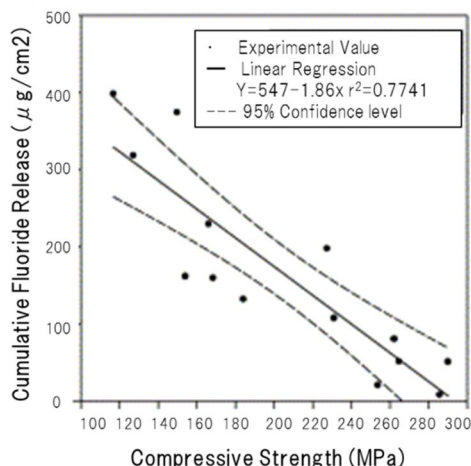


図 1

2. 研究の目的

AICは新規材料であり、その特性に関して不明な点が多く残されている。本研究では、特にAICの口腔内細菌に対する影響に焦点を置き、3年間に齲蝕原性細菌に対する抗菌性やミネラル溶出能をはじめ、物理化学的特性を評価することで、不明な点が多い新規材料であるAICの解明を行い、ひいては商品化を推進することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 充填用従来型GICを基材としたAICの機械的強度および化学的特性の評価

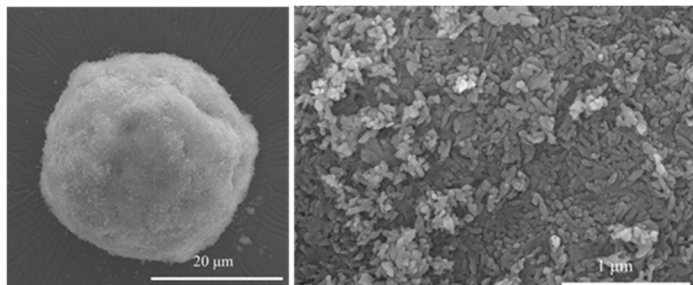


図 2 球形ハイドロキシアパタイト
左: 外観 右: 表面

実験材料: 実験材料は充填用従来型GIC(Fuji GP EXTRA, GC, 東京, 以下Fuji -Ex)粉末に粉末成分重量比6, 12, 18および24%の割合で球形HAp(太平化学産業, 大阪 以下HApS(図2))を添加したものを実験群(AIC)とし、従来型GICをコントロール群(GIC)として用いた。使用書に従い、粉液比3.4でFuji -Ex液と練和し、試料を作製した。各種イオンの測定においては、S-PRGフィラー配合コンポジットレジンGIOMER(ビューティフィル, 松風, 京都, 以下CR)も用いた。

トレジンGIOMER(ビューティフィル, 松風, 京都, 以下CR)も用いた。

AICの機械的強度の測定：AIC硬化体を人工唾液に浸漬し、練和24時間後、万能試験機を用いて曲げ試験、圧縮試験を行い機械的強度の測定を行った。

AICの化学的特性の評価：Fイオン電極を用いてGIC、各AIC群およびCRからのFイオン溶出量を測定した。さらにGICと最もFを溶出した18%-AIC群、CRにおいては、高周波誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-AES）にて、その他の溶出されているミネラルイオンのアルミニウム（以下Al）イオン、シリカ（以下Si）イオン、カルシウム（以下Ca）イオン、ストロンチウム（以下Sr）イオン、リン（以下P）イオンの測定を行った。一部イオンの測定は島津テクノロジー（京都）に測定を依頼した。

SEMによる破断面の観察

（2）小窩裂溝予防充填用従来型GICを基材としたAICの齲蝕原性細菌に対する抗菌性と崩壊率の検討

実験材料：実験材料は小窩裂溝予防充填用従来型GIC（Fuji，GC，東京，以下Fuji）粉末に粉末成分重量比24%の割合でHApSを添加したものを実験群（AIC）とし、従来型GICをコントロール群（GIC）として用いた。使用書に従い、粉液比1.2でFuji液と練和し、試料を作製した。

機械的強度や化学的性質の評価：FujiにおいてもFuji-Exと同様に、強度の向上と化学的性質の改善がなされているかどうかの確認を行った。

AICの齲蝕原性細菌に対する抗菌性の測定：ATP発光測定法

Streptococcus mutans ATCC25175菌液に試料を4時間浸漬し37℃で培養した後の菌液中のATPにルシフェラーゼを反応させ、ルミテスターC-110（キッコマン，千葉）にてその発光量を計測した。

AICの崩壊率の測定：AIC硬化体を蒸留水に24時間浸漬し、溶液を100μlのオープンにて蒸発させ測定した。

4. 研究成果

（1）充填用従来型GICを基材としたAICの機械的強度および化学的性質の検討

表 1 機械的強度（24時間）

試料群		曲げ強さ (MPa)	圧縮強さ (MPa)
GIC	IX-Ex Control	18.85 ± 1.56	119.71 ± 8.63
	IX-Ex +6% HApS	19.83 ± 3.42	122.09 ± 16.50
AIC	IX-Ex +12% HApS	27.63 ± 5.92	NS 127.15 ± 7.39
	IX-Ex +18% HApS	20.69 ± 2.68	129.02 ± 8.97
	IX-Ex +24% HApS	17.89 ± 4.01	115.64 ± 12.02

tukey-test; NS: no significant difference *; p<0.05, **; p<0.01

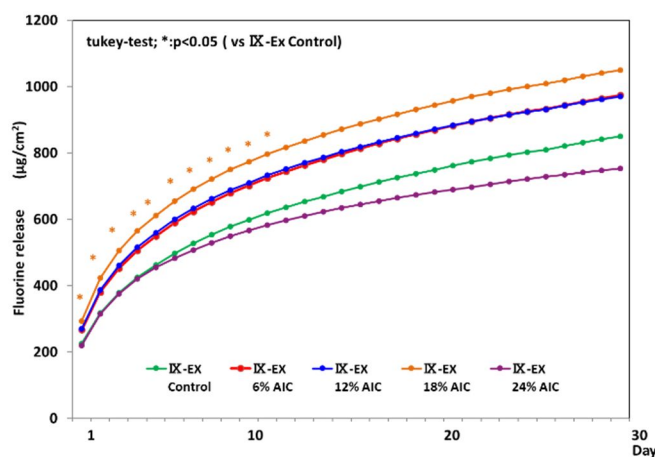


図 4 Fイオン溶出能（30日間積算）

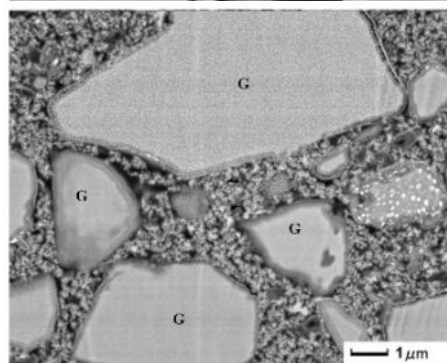
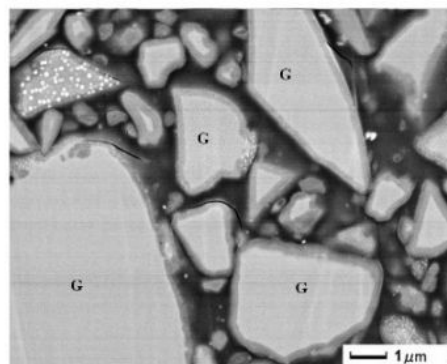


図 3 SEM像
（上：GIC 下：AIC）

曲げ強さはHApS12%添加群において最大値を示し、圧縮強度はGICと差がなく維持された（表1）。クロスセクショナルポリリッシャーにより作製した18%添加群のAIC断面試料の

SEM像では、HApSから遊離したナノサイズのHApの一次粒子が無数にマトリックス全体に分散している像を認めた（図3）。Fイオン溶出量はHApS18%添加群において最大値を示し、最大値を示した添加率を超えると、曲げ強さ、圧縮強さおよびF溶出量、すべてにおいて低下傾向を示した（表1，図4）。

-Ex では曲げ強さおよび圧縮強さを低下させず、F イオンを最大限に溶出させた 18% 添加率を示適配合率と決定した。

18% 添加群の AIC からの各種イオンの溶出量においては、F イオン、Al イオン、P イオン、Si イオンの溶出は GIC および CR よりも多く、Sr イオン、Ca イオンは CR が最も高い値を示した。また、Ca イオン溶出量は GIC と AIC とでは有意差はみられなかった (図 5)。

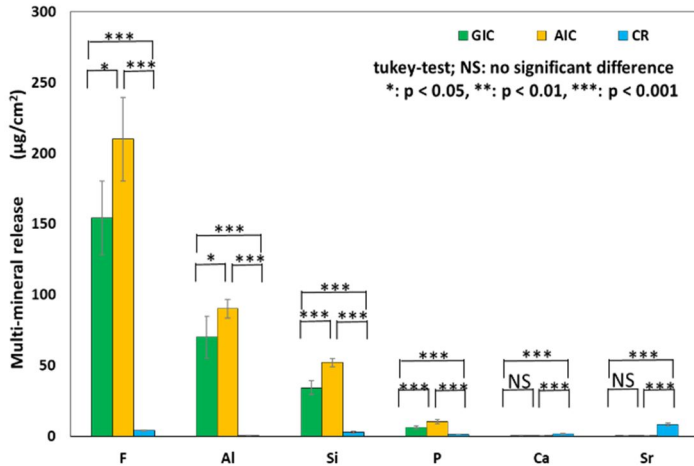


図 5 ミネラルイオン溶出能 (24 時間)

(2) 小窩裂溝予防充填用従来型 GIC を基材とした AIC の齶蝕原性細菌に対する抗菌性と崩壊率

小窩裂溝予防充填用従来型 GIC を基材とした AIC においても、充填用従来型 GIC と同様に、圧縮強さを低下させることなく、F イオン溶出量や曲げ強さを向上させることを確認した (表 2)。

表 2 Fuji を基材とした GIC と AIC の物理化学的特徴

	曲げ強さ 24 時間 (MPa)	圧縮強さ 24 時間 (MPa)	F イオン溶出量 5 日間 (µg/cm²)	崩壊率 24 時間 (%)
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)
GIC	8.1 (1.3)	111.3 (2.1)	197.2 (23.8)	0.26 (0.04)
AIC	15.6 (3.8)	117.2 (5.4)	382.8 (19.1)	0.44 (0.2)

t-test; NS: no significant difference *: p < 0.05, **: p < 0.01 ***: p < 0.001

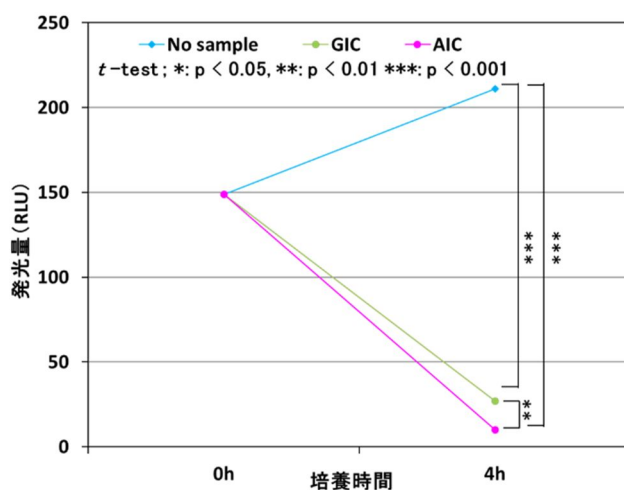


図 6 抗菌性

抗菌作用では、4 時間の培養後、試料を浸漬せずに培養したストレプトコッカス ミュータンス菌液の ATP 発光量と比較して、GIC および AIC を浸漬した菌液の ATP 発光量は有意に低く (図 6) GIC および AIC はストレプトコッカス ミュータンスの増殖を抑制することが示唆され、さらに GIC よりも AIC のストレプトコッカス ミュータンスの増殖抑制作用が有意に高かった。

従来型の GIC では、初期効果時間に湿度の影響を受けやすく、セメントの溶解度が F イオンの溶出に影響を与える可能性、しいては抗菌性にも影響すると考えられたため、AIC の溶解率との関係性を評価した。結果は AIC の溶解率が GIC の溶解率より、有意に高く (表 2) F イオン溶出に影響していることが示唆された。

以上より、充填用 GIC を基材とした AIC、小窩裂溝用 GIC を基材とした AIC のどちらにおいても、各種ミネラルイオンの溶出量が GIC に比べて多いことにより、歯質の脱灰抑制や、再石灰化促進、二次象牙質形成促進、緩衝作用といったバイオアクティブ効果がもたらされ、細菌増殖抑制効果も確認されたため、齶蝕病巣の細菌数減少も可能な材料であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nishimura Takako, Shinonaga Yukari, Nagaishi Chikoto, Imataki Rie, Takemura Michiko, Kagami Keiichi, Abe Yoko, Harada Kyoko, Arita Kenji	4. 巻 12
2. 論文標題 Effects of Powdery Cellulose Nanofiber Addition on the Properties of Glass Ionomer Cement	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 3077-3077
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma12193077	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 -

1. 著者名 Imataki Rie, Shinonaga Yukari, Nishimura Takako, Abe Yoko, Arita Kenji	4. 巻 12
2. 論文標題 Mechanical and Functional Properties of a Novel Apatite-Ionomer Cement for Prevention and Remineralization of Dental Caries	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 3998-3998
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma12233998	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 -

1. 著者名 Shinonaga Y, Arita K, Imataki R, Takemura M, Nagaishi C, Kagami K, Nishimura T, Abe Y, Aoki S, Okumura S, Harada K	4. 巻 4
2. 論文標題 Novel Multi-Functional Dental Cement for Enamel Remineralization and Anti-Cariogenic Bacteria Activity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oral and Dental Health	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.23937/2469-5734/1510065	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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 永石 千琴, 篠永 ゆかり, 今瀧 梨江, 加々美 恵一, 西村 貴子, 阿部 洋子, 原田 京子, 有田 憲司
2. 発表標題 従来型充填用GICへの粉末状セルロースナノファイバー添加の影響
3. 学会等名 第58回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永石 千琴, 阿部 洋子, 今瀧 梨江, 西村 貴子, 河合 咲希, 篠永 ゆかり, 有田 憲司
2. 発表標題 粉末セルロースナノファイバーの添加が従来型修復用グラスアイオノマーセメントの機械的特性およびフッ化物イオン徐放に及ぼす影響
3. 学会等名 第568回大阪歯科学会例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 永石 千琴, 篠永ゆかり, 今瀧 梨江, 竹村 美智子, 加々美 恵一, 青木 翔, 西村 貴子, 阿部 洋子, 原田 京子, 有田 憲司
2. 発表標題 粉体セルロースナノファイバー添加がグラスアイオノマーセメントの物性に及ぼす影響
3. 学会等名 第57回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今瀧 梨江, 篠永ゆかり, 竹村 美智子, 加々美 恵一, 永石 千琴, 青木 翔, 奥野 真江, 西村 貴子, 阿部 洋子, 原田 京子, 有田 憲司
2. 発表標題 新規アパタイトアイオノマーセメントの酸緩衝能について
3. 学会等名 第38回日本小児歯科学会近畿地方会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 今瀧 梨江, 篠永ゆかり, 西村 貴子, 阿部 洋子, 有田 憲司
2. 発表標題 新規アパタイトアイオノマーセメントの齲蝕予防と再石灰化に対する機械的および機能的特性
3. 学会等名 第564回大阪歯科学会例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Imataki R, Shinonaga Y, Nishimura T, Abe Y, Arita K
2. 発表標題 Development of Advanced Multi-Functional Material for Remineralization of Caries Lesion
3. 学会等名 FDI 2018 World Dental Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永石 千琴, 城山 佳洋, 今瀧 梨江, 竹村 美智子, 加々美 恵一, 青木 翔, 奥野 真江, 篠永ゆかり, 西村 貴子, 阿部 洋子, 原田 京子, 有田 恵司
2. 発表標題 セルロースナノファイバーはグラスアイオノマーセメントの特性を強化する
3. 学会等名 第37回日本小児歯科学会近畿地方会大会および総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹村 美智子, 今瀧 梨江, 永石 千琴, 加々美 恵一, 篠永ゆかり, 西村 貴子, 阿部 洋子, 有田 恵司
2. 発表標題 光硬化型グラスアイオノマーセメントへのハイドロキシアパタイト添加による各種イオン溶出能への影響に関する研究
3. 学会等名 第56回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinonaga Y, Imataki R, Nishimura T, Takemura M, Nagaishi C, Kagami K, Aoki S, Abe Y, Arita K
2. 発表標題 Development of Apatite-Ionomer Cement -Influence of Differences in Mixture Ratio of GIC-glass, Liquid and Hydroxyapatite
3. 学会等名 CED-IADR/NOF Oral Health Research Congress (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今瀧 梨江, 邱 思瑜, 邱 秀慧, 篠永ゆかり, 竹村 美智子, 阿部 洋子, 西村 貴子, 有田 憲司
2. 発表標題 アパタイトイオノマーセメントの開発研究 - 2種のHApと2種の結晶セルロースが及ぼす影響 -
3. 学会等名 第55回日本小児歯科学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 篠永ゆかり, 邱 思瑜, 邱 秀慧, 今瀧 梨江, 竹村 美智子, 西村 貴子, 阿部 洋子, 有田 憲司
2. 発表標題 アパタイトイオノマーセメントの開発研究 粉末と液の配合量の違いが及ぼす影響
3. 学会等名 第55回日本小児歯科学会大会
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

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