

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592218
 研究課題名（和文） 新規バイオアクティブ修復材料によるう蝕象牙質再石灰化療法の開発
 研究課題名（英文） Remineralization treatment of caries dentin by newly developed bioactive dental restorative materials

研究代表者
 秋本 尚武（AKIMOTO NAOTAKE）
 鶴見大学・歯学部・講師
 研究者番号：40184113

研究成果の概要：

う蝕治療における MI（ミニマルインターベンション）療法を確立するため、S-PRG（Surface Pre Reacted Glass-ionomer）を含むバイオアクティブ修復材料によるう蝕象牙質の再石灰化の可能性とその程度について、人工う蝕象牙質を用い *in vitro* で検討を行った。水中保管後に修復物直下の硬さはわずかであるが上昇し、また象牙質中にミネラルイオンの存在が確認されたことから、人工象牙質の再石灰化の可能性が示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：う蝕象牙質、再石灰化、バイオアクティブ修復材料

1. 研究開始当初の背景

現代のう蝕治療では、総山が提唱したう蝕原性菌が存在するう蝕感染象牙質だけを除去し、欠損部分を修復材料により補い機能を回復することが一般的である。いわゆるミニマルインターベンション（MI）と呼ばれる概念が定着し、治療が行われるようになった。そして接着歯学の発展と相まって、いかなる形の欠損部分に対しても、修復物保持のために

健全歯質を削除することをせずに修復を行うことが可能になった。この接着の対象となる歯質は、う蝕影響象牙質と呼ばれ、細菌感染はないものの細菌の産生した酸による歯質の脱灰が一部起きている。総山らは、この一部脱灰の見られるう蝕影響象牙質は生理的に再石灰化を起こすことを報告しており、接着修復後も安定した経過が見込まれるとしている。また、研究代表者らは、レジン-象牙質接着界面において、接着前処理のた

めのリン酸処理により一部脱灰されてしまった象牙質が、生体内では生理的再石灰化を起こすことを動物実験で確認し報告している。このように、修復の対象となる窩底部象牙質は、う蝕あるいは接着処理のための酸により一部脱灰していても、長期間のうち生理的再石灰化が起こることがわかっている。

しかしながら、これまでに報告されている生理的再石灰化は、健全象牙質を強酸で人工脱灰、あるいは接着前処理剤であるリン酸で過脱灰し行われた研究であり、実際のう蝕におけるう蝕原性菌が存在した酸性環境下での再石灰化についてはあまり報告が見られない。また、レジン-象牙質接着界面周囲で起きる生理的再石灰化にはある程度の時間が必要であり、接着修復物の接着耐久性が維持できるよう少しでも早く生理的再石灰化が起きることが望まれる。

2. 研究の目的

材料から供給されるフッ素以外のミネラルの象牙質に対する効果についてはあまり知られていない。フッ素にう蝕予防効果があることが報告されて以来、材料開発メーカーはフッ素徐放性を持つ材料の開発に取り組んできた。特にグラスアイオノマーセメントのフッ素徐放性に関しては大きく注目されたが、材料の物性が低下することも問題視されてきた。しかしながら、S-PRG フィラーの開発により材料の物性低下を見ることがなくなり、またさらにフッ素以外のミネラルも含まれそして徐放する可能性も考えられることから、う蝕象牙質の再石灰化に対し大きく期待が持てる材料となっている。S-PRG フィラーは、フッ素およびその他ミネラルを徐放することが知られている。各種ミネラルの徐放により抗酵素作用が発現し、う蝕原性菌による脱灰象牙質においても再石灰化を促すことが予想される。また、フルオロアパタイトとともに他のミネラル（例えばストロンチウムなど）が継続的に徐放され、アパタイトとの反応生成物を形成し再石灰化した領域の物性を向上させる可能性も考えられる。結果として、生体による生理的再石灰化と材料からのミネラル供給による再石灰化という二つの側面からの確実な再石灰化が期待でき、歯質保存的なう蝕治療が可能になることが予想される。

本研究では、歯質保存的なう蝕治療を目的として、

(1) う蝕治療において、バイオアクティブ効果が予想される S-PRG フィラーの基本的な働きについて、イオンの溶出量と抗菌性を確

認する。

(2) S-PRG を含むに含むバイオアクティブ修復材料からのミネラルのリリース&リチャージ機能が、う蝕原性菌による脱灰象牙質の再石灰化に効果を発揮するか *in vitro* で確認する。

すなわち、う蝕治療における MI 療法を確立するため、乳酸による脱灰とう蝕原性菌を組み合わせた人工脱灰象牙質に対し、バイオアクティブ修復材料である S-PRG 含有試作セメントとレジン修復システムによる再石灰化の可能性を超微小押し込み硬さ、脱灰象牙質へのミネラルイオンの取り込みを測定し検討することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) S-PRG フィラーに関する基礎的研究

① S-PRG フィラーからの各種イオンの溶出について

S-PRG フィラーからは、グラスアイオノマーセメントと同様に各種イオンが徐放されることが知られている。各種イオンの溶出量を知るために、S-PRG フィラーと滅菌水を等量に混和後、フィラーと水溶液を分離し ICP 発光分析装置およびフッ素イオン電極にて測定を行った。

② S-PRG のう蝕原性菌に対する発育抑制 (抗菌性) 効果について

S-PRG から溶出する各種イオンのう蝕原性菌に対する抗菌性を S-PRG イオン水により調べた。1) と同様に滅菌水:S-PRG フィラー=1:1 の割合で S-PRG イオン水を作製した。*Streptococcus mutans* を Brain Heart Infusion (Difco) broth 中 37°C 48 時間培養したものを被検菌液とした。寒天平板に被検菌液を播種し、イオン水 100 μ L を含浸させた滅菌ペーパーディスクを寒天平板に設置し、37°C 嫌気条件 (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂) 下で 48 時間培養し効果を判定した。

③ S-PRG と抗菌性モノマーMDPB 配合クリアフィルメガボンド FA の抗菌性の比較

(MDPB: 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide)

抗菌性モノマーMDPB を配合したレジン接着材クリアフィルメガボンド FA と S-PRG フィラーの抗菌性を混積培地による寒天平板にて比較した。

(2) S-PRG フィラーのう蝕象牙質に対する効果

① ヒト抜去大白歯に窩洞形成を行い、窩洞内に乳酸とう蝕原性菌 (*S. mutans*) により人工う蝕を作製した。

ヒト抜去第三大臼歯をマイクロカッターにて歯根部を切断し、軟組織および歯髄を除去後、切断面をコンポジットレジンで封鎖した。咬合面に深さ 3mm の I 級窩洞をダイヤモンドポイントで形成した後、窩洞以外の歯面を表面滑沢硬化材 Biscover (BISCO) にて被覆しオートクレーブ滅菌を行い被験歯とした。予備実験の結果から、人工う蝕試料は初めに窩洞内を乳酸 (pH4) で 48 時間脱灰し、その後う蝕原性菌 (*S. mutans*) を浸透させる試料作製方法とした。*S. mutans* は、BHI broth 中で 7 時間培養後、OD 600 nm 吸光度 1.4 (約 10^9 CFU / mL) に調整し被検菌液とした。乳酸による脱灰が終了した試料は、BHI broth 20 mL 中に作製した被検菌液を 200 μ L 接種した中に浸漬し、4 週間 37 $^{\circ}$ C にて振盪培養を行い人工う蝕試料とした。

② S-PRG の人工う蝕に対する効果について、S-PRG フィラー含有の試作セメント、およびレジン接着修復システムを用いて評価した。人工う蝕試料は、う蝕検知液を指標に赤染する脱灰象牙質部分を低速スチールラウンドバーで削除した後、この窩洞に対し S-PRG フィラー含有の試作セメント (PRG セメント)、およびレジン接着修復システム (フルオロボンド II + ビューティフィル II) による修復を行った。コントロールとして、通常のレジン接着修復システム (クリアフィルメガボンド + クリアフィルマジスティ) による修復を行った。各種修復材による修復が終わった試料は、歯髄内圧が常に歯髄腔内にかかる状態を保持し生理的食塩水中で保管した。保管期間は 1 および 3 か月とした。各保管期間終了後、試料を縦断し接着界面周囲の変化について、ナノインデンテーション法により硬さ測定、EPMA による元素分析、そして FE-SEM による超微構造観察を行った。

4. 研究成果

(1) S-PRG フィラーに関する基礎的研究
S-PRG フィラーから滅菌水中へは、アルミニウム (Al)、ホウ素 (B)、ナトリウム (Na)、ケイ素 (Si)、ストロンチウム (Sr) そしてフッ素 (F) の溶出が認められたが、特に B、Sr と F の溶出が顕著であった。S-PRG フィラーから水中へのミネラルのリリースが確認されたことから、象牙質への取り込みが期待された。

寒天平板による評価から S-PRG イオン水によるう蝕原性菌の発育抑制効果は認められなかった。また抗菌性を示すことが証明されている MDPB を配合したクリアフィルメガボンド FA と S-PRG の抗菌性の比較では、混積培地の寒天平板による評価から、S-PRG イオン水はクリアフィルメガボンド FA と比較して

抗菌性が認められなかった。

これまでに S-PRG フィラーを含む製品による抗菌性が報告されているが、S-PRG フィラーからリリースされたミネラルイオン自体には、う蝕原性菌 (*S. mutans*) に対する抗菌性は認められなかった。

(2) S-PRG フィラーのう蝕象牙質に対する効果

超微小押し込み硬さ試験の結果から、S-PRG を含む修復材料に接する人工脱灰象牙質は、3 ヶ月間生理食塩水中に保管すると、硬さが上昇することが認められた。また、EPMA による元素分析からは、象牙質中には S-PRG から徐放されたと考えられるミネラルイオン、特にフッ素イオンが確認された。また、ストロンチウムイオンも象牙質中に存在する可能性が示唆された。

以上の結果より、S-PRG フィラーから溶出されたイオンによるう蝕原性菌 (*S. mutans*) に対する抗菌効果は認められなかったものの、S-PRG フィラー含有の修復材料を用いることでう蝕原性菌が存在する酸性環境下の脱灰象牙質においても、再石灰化が起こる可能性が示唆された。今回の研究では、生体で同じような反応が起こるかは不明であるが、少なくとも歯髄内圧がかかった状態でもミネラルイオンが歯質に取り込まれることがわかり、今後このミネラルイオンの取り込みによる歯質への影響について詳細に検討する必要があると考えられた。

今回の研究結果から、人工脱灰象牙質の再石灰化の可能性が示唆されたが、今回検討できなかった S-PRG のリチャージ能を利用した歯質強化を含め、今後さらに検討を加える必要があることが示唆された。

今後、研究を詳細に検討しながら継続することで、S-PRG フィラーのう蝕象牙質あるいは健全象牙質への効果、すなわち S-PRG フィラーから溶出された各種ミネラルイオンの歯質への取り込み、そしてリチャージ能による半永久的な歯質に対するミネラルイオンのリリース & リチャージに伴う歯質強化が見込まれ、歯質保存型治療の進歩、低年齢層への予防処置、そして高齢者の根面露出歯への対応などに寄与することができると考えられた。

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)

[学会発表] (計 2 件)

① 原 麻由子, 秋本尚武, 桃井保子
重合初期における各種アドヒーシブの
経時的硬さ変化
第 27 回 日本接着歯学会学術大会
2, 21-22, 2009
仙台市福祉プラザ

② N. Akimoto, M. Hanabusa, M. Hara, Y.
Momoi
Morphological Interfacial Observations
and Bond Strengths of Self-etch Adhesives
The IADR 86th General Session & Exhibition
7. 2-5, 2008 Metro Toronto Convention
Centre

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋本 尚武 (AKIMOTO NAOTAKE)
鶴見大学・歯学部・講師
研究者番号：40184113

(2) 研究分担者

大森 かをる (OHMORI KAORU)
鶴見大学・歯学部・助教
研究者番号：80213867
原 麻由子 (HARA MAYUKO)
鶴見大学・歯学部・助教
研究者番号：80434398
英 將生 (HANABUSA MASAO)
鶴見大学・歯学部・助教
研究者番号：80329226

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

中塚 稔之 (NAKATSUKA TOSHIYUKI)
株式会社松風 研究開発主任