

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2007～2008
 課題番号： 19791469
 研究課題名 (和文) 可視光応答型フッ素化アパタイト被覆光触媒の歯科領域への応用
 研究課題名 (英文) Dental Application of Visible-Light-Responded Photocatalyst Coated with Fluoridated Apatite
 研究代表者
 柴田 武士 (SHIBATA TAKESHI)
 神奈川歯科大学・歯学部・助教
 研究者番号： 80329200

研究成果の概要： 二酸化チタンを歯科用アクリルレジンに配合し、その光触媒効果を利用した簡便で衛生的な歯科材料を開発することが本研究のテーマである。フッ素化アパタイト被覆二酸化チタンは、従来型よりも光触媒効果が効率的に活性化されることにより、短時間で抗真菌効果が得られることがわかった。フッ素化アパタイト被覆二酸化チタン配合レジンは耐久性、持続性のある効果を発揮する、新たな歯科材料としての有効性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	0	1,600,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	420,000	3,420,000

研究分野： 歯科補綴学

科研費の分科・細目： 歯学・補綴系歯学

キーワード： 二酸化チタン、フッ素、アパタイト、光触媒、義歯床用レジン、*Candida albicans*, 活性酸素、電子スピン共鳴法

1. 研究開始当初の背景

高齢者社会を迎えて、歯科医療における口腔環境の管理や機能回復などの役割はますますその重要性を増している。高齢者がう蝕や歯周病などにより歯を喪失した場合、義歯による口腔機能回復が一般であるが、義歯床が口腔内微生物 (*Candida* 菌など) の培地となりやすいことはよく知られている。これらはデンチャープラークと呼ばれ、天然歯に付着するデンタルプラークと比べてより付着面積も広く、またバイオフィルムに守られた細菌の塊であるため、抗菌剤や免疫グロブリン

などの生態防御系で除去できないほど強力に付着している。これら口腔内微生物が高齢者の致命的疾患である誤嚥性肺炎の原因となることから、口腔内の衛生状態と全身の健康状態の関連性もクローズアップされている。

二酸化チタン光触媒 (酸化チタン) は、抗菌、防汚、脱臭などの環境浄化という作用があるため、工業界においても研究開発が盛んに行われている。アパタイト被覆二酸化チタンの抗菌・防汚効果は母体活性作用を発現しても、自己溶解せず半永久的に使用できるとい

う今までの物質にない優れた性質があるため、自然環境への応用以外にも生活に密着した材料への応用も試されている。

歯科領域における二酸化チタンの用途はセメントや歯冠色レジンのオペークなどの遮蔽材料の添加物として用いられているだけで、本来の二酸化チタン光触媒効果を目的としたものは少ないため、環境材料である二酸化チタンの光触媒作用を歯科領域や生体材料に応用することは有用である。また、介護の重要性や QOL の向上も求められ、摂食・嚥下障害を持つ要介護者に対する口腔機能訓練とともに、口腔内の衛生状態を保つための口腔ケアや義歯の洗浄を行うことが推奨されている。しかし、高齢者あるいは要介護者自身が継続的に衛生的な口腔内環境を維持することは困難であり、口腔内に使用する義歯用レジンのものに長期安定した防汚・抗菌機能を持たせることにより、介護現場の負担を軽減させ、高齢化社会に貢献できると考えられる。

2. 研究の目的

光を照射することにより、簡単に大気中や水中の有機物質を分解できる二酸化チタン光触媒は、防汚、脱臭、浄水、空気清浄などの作用を有する環境浄化材料として注目を集めている。また、二酸化チタン光触媒は、有毒な薬品などを使用せずに光を当てただけで分解されにくいさまざまな有機化学物質を容易に分解でき、化学的に安定であることから、生態系に対しても安全無害な物質である。中でもフッ素化アパタイト被覆二酸化チタンは、耐酸性能・ヒドロキシラジカルの産生能を有することが示唆されており、より大きな抗菌・防汚作用が期待される。歯科医療分野に光触媒技術を応用することにより、細菌やウイルスなどの侵襲から防御できる環境の実現が可能となるが、器具・機材・材料の開発に関する研究はいまだ確立されていない。さらに、ブラックライトなど専用の光照射器を必要とせずに、医療用器具・材料に対して蛍光灯などの可視光下で簡便に光触媒作用を発揮させることができれば、介護医療の現場に還元し得る、意義がある研究であると考えられる。

本研究においては、光触媒作用が大きいアナターゼ型二酸化チタンにフッ素化したアパタイトを被覆させたものを、歯科用高分子材料（義歯用レジン）に配合し、可視光線下で簡便かつ効果的に光触媒機能を発揮させる医用生体材料の開発を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 実験材料

実験に供した二酸化チタンは無被覆のアナターゼ型（以下 TiO_2 ）、フッ素化アパタイト

被覆型二酸化チタン（以下 FAp-TiO_2 ）およびアパタイト被覆型二酸化チタン（以下 HAp-TiO_2 ）を使用した。

(2) 酸溶解試験

FAp-TiO_2 , HAp-TiO_2 各 50 mg を 0.1 M の酢酸緩衝液 ($\text{CH}_3\text{COOH-CH}_3\text{COONa}$, pH 4.0, 25°C) 20 ml に浸漬後、1,2,4,6,24 時間後に溶出液を分取し、遠心分離機 (10 分、1500 rpm) にかけて、上澄み液を採取しカルシウムの分析に用いた。カルシウムの定量分析は亜酸化窒素-アセチレン炎による原子吸光分析法（島津、AA-610）により行った。対照として 1 M の硝酸溶液 (25°C) に 24 時間浸漬したものをを用いた。

(3) 活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) の測定

二酸化チタンは光照射すると ROS を生成する。そこで、フローインジェクション ESR (FI-ESR) 法を用い ROS の同定・定量を行った。0.15 wt% に調製した F-AP, AP にスピントラッピング剤 (DMPO: 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide) を混ぜ、インジェクションバルブより試料を注入後、光線を 1 分間照射して ESR spectrometer (JES-RFR: 日本電子) で計測した。

(4) 試験レジン片作製

各二酸化チタン (TiO_2 , HAp-TiO_2 , FAp-TiO_2) 粉末を 5 wt% の割合でポリマーに配合し、試験片を重合・作製した。アクリルレジンコントロール群とした。

(5) 物性試験

試験片を光未照射群と照射群に分け、小型卓上試験機にて曲げ強さおよび弾性率を測定した。

(6) 抗真菌試験

BHI 液体培地にて 24 時間培養した *C. albicans* ATCC 1002 株の菌液を PBS にて調整し、楕円形の試験片上に滴下し、照射距離 20 cm から光照射を行った。1,2 時間の光照射後、菌液を回収して Bioluminescence 法にて生菌数の測定を行った。

(7) 付着試験

GPY 液体培地にて 24 時間培養した *C. albicans* 菌液を KCl-buffer にて調整し、その懸濁液で 24 well-plate 内に配置した円形の試験片を浸漬させ、37°C・2 時間紫外線照射下にて培養を行った。培養後は、試験片に付着した生菌数を Bioluminescence 法にて測定した。また、義歯表面に付着した菌の形態について表面性状観察 (SEM) を行った。

4. 研究成果

(1) 酸溶解試験

FAp-TiO_2 , HAp-TiO_2 共に時間の経過によりカルシウムの溶出量は増加した。6 時間後、 HAp-TiO_2 は 5.34 wt% 溶出しているのに対し、 FAp-TiO_2 では 2.60 wt% の溶出に留

まっていた。

(2) ROS の測定

FAP-TiO₂, HAp-TiO₂ 共に FI-ESR を用いて ROS を測定した結果、ROS の 1 つである DMPO-OH spin adduct が検出された。これは二酸化チタン光触媒作用によりヒドロキシルラジカルが産生されていることを示している。また、ヒドロキシルラジカルの生成量は FAP-TiO₂ の方が有意に増加した(図 1)。

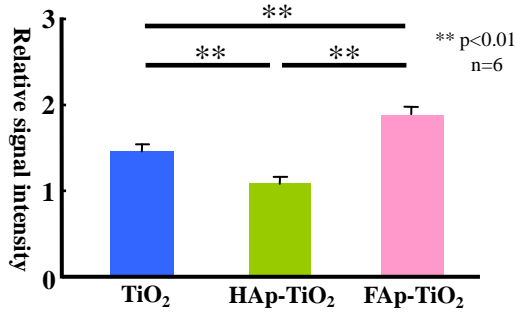


図1 ROS の検出

(3) 物性試験

コントロール群と比較し、二酸化チタンを配合することにより有意に曲げ強さは減少した。その中で FAP-TiO₂ は TiO₂, HAp-TiO₂ と比較し減少が抑制された。照射群では、照射の影響により全ての試験片で曲げ強さ減少を示した。FAP-TiO₂ はコントロール群と比較し減少傾向にあるものの有意差は認められなかった。TiO₂ は ISO 1567 の規格である 65 MPa を下回る結果であった。EPMA 分析からも照射後の試験片にはレジンの分解と思われる亀裂が観察された。弾性率については、全ての試験片で ISO 規格 (2000 MPa) を満たすものであった。

(4) 抗真菌試験

各二酸化チタン群においてコントロール群と比較し有意に生菌率の減少が認められた。そして FAP-TiO₂ は HAp-TiO₂ よりも生菌率の減少が認められ、抗真菌効果が短時間で得られた(図 2)。

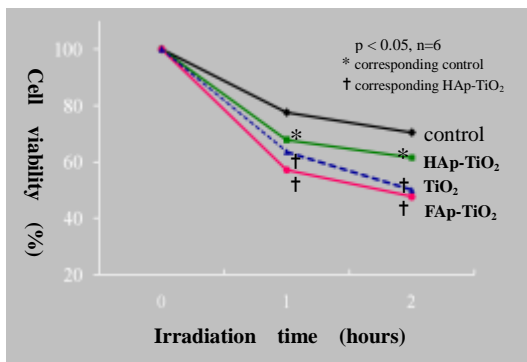


図2 抗真菌試験

(5) 付着試験

各二酸化チタン群においてコントロール群より有意に生菌率の減少が認められ、その中で FAP-TiO₂ は HAp-TiO₂ よりも付着抑制効果を示した。また SEM では FAP-TiO₂ において細胞形態が変化した *Candida* が多く確認された。この事は FAP-TiO₂ のフッ素化に伴うアパタイトの結晶構造の変化が起因して光触媒機能の亢進がもたらした結果と考えられる(図 3)。

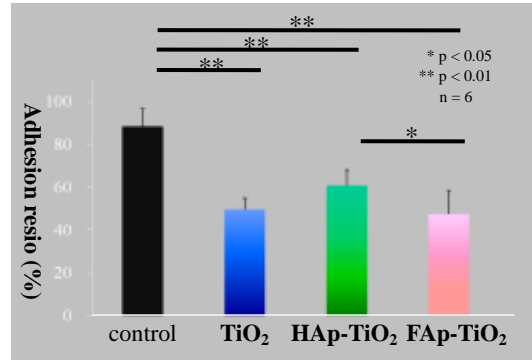


図3 付着試験

本研究より、フッ素化アパタイト被覆二酸化チタン配合レジンはデンチャーブランクコントロールに有意なことが示唆された。可視光応答型への改良に向けては、窒素ドープが現在用いられる手法としては一般的であるが、今後も基礎的研究が必要と考えている。

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 5 件)

- ① Takeshi Shibata, Katsuhiko Kimoto, Nobushiro Hamada, Hidefumi Kumada, Tomofumi Sawada, Tomoji Sawada and Minoru Toyoda. Antibacterial activity of denture base acrylic resin containing apatite-coated TiO₂ photocatalyst. Bull Kanagawa Dent Col 37:(掲載予定), 2009. 査読有
- ② Tomofumi Sawada, Katsuhiko Kimoto, Yusuke Takahashi, Tomoji Sawada, Nobushiro Hamada, Takeshi Shibata, Norio Hori, Hiromichi Aoki, Toru Nomami and Minoru Toyoda. Adhesion of *C. albicans* to acrylic resin containing fluoridated apatite-coated TiO₂. Prosthodont Res Pract 7: 201-203, 2008. 査読有
- ③ Tomofumi Sawada, Yusuke Takahashi, Katsuhiko Kimoto, Nobushiro Hamada, Shusaku Okada, Takeshi Shibata, Tomoji Sawada, Toru Nonam, Minoru Toyoda and Toshio Teranaka.

Antifungal effects of acrylic denture base resin containing fluoridated apatite-coated titanium dioxide. Bull Kanagawa Dent Col 36: 100-102, 2008. 査読無

- ④ Tomofumi Sawada, Yusuke Takahashi, Nobushiro Hamada, Katsuhiko Kimoto, Takeshi Shibata, Tomoji Sawada, Toru Nonami, Toshio Umemoto and Minoru Toyoda. Antifungal effect of acrylic resin incorporating fluorapatite-coated titanium dioxide. The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry: 125, 2007. 査読無
- ⑤ Takeshi Shibata, Nobushiro Hamada, Katsuhiko Kimoto, Tomofumi Sawada, Tomoji Sawada, Hidefumi Kumada, Toshio Umemoto and Minoru Toyoda. Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO₂ photocatalyst. Dent Mater J 26: 437-444, 2007. 査読有
〔学会発表〕(計10件)
- ① 澤田智史, 柴田武士, 澤田智慈, 星 憲幸, 斎田牧子, 野浪 亨, 木本克彦, 豊田 實. フッ素化アパタイト被覆二酸化チタン配合義歯床用レジンの開発. 日本補綴歯科学会第 118 回学術大会, 2009 年 6 月 6 日, 京都
- ② Tomofumi Sawada, Yusuke Takahashi, Takeshi Shibata, Tomoji Sawada, Nobushiro Hamada, Katsuhiko Kimoto and Minoru Toyoda. Effect of acrylic denture base resin containing TiO₂ coated with fluoridated apatite. The 6th Biennial Congress of Asian Academy of Prosthodontics: 2009 年 4 月, 韓国 (ソウル)
- ③ 星 憲幸, 青木宏道, 柴田武士, 澤田智史, 斎田牧子, 川畑政綱, 田中欣也, 山田重雄, 木本克彦. 光触媒二酸化チタンを応用したアパタイト表面の検討. 平成 20 年度日本補綴歯科学会西関東支部学術大会, 2009 年 1 月 25 日, 横浜
- ④ 澤田智史, 木本克彦, 柴田武士, 澤田智慈, 野浪 亨, 豊田 實. 義歯床用レジンの二酸化チタン光触媒の応用について. 日本義歯ケア学会第 1 回学術大会, 2009 年 1 月 24 日, 横浜
- ⑤ 澤田智史, 吉野文彦, 高橋祐介, 栗原淳之, 柴田武士, 澤田智慈, 浜田信城, 木本克彦, 李 昌一, 豊田 實. フッ素化アパタイト被覆二酸化チタンの電子スピン共鳴 (ESR) 法による活性酸素種 (ROS) 検出と義歯床用レジンの応用. 神奈川歯科大学学会第 128 回例会, 2009

年 1 月 15 日, 横須賀

- ⑥ 澤田智史, 木本克彦, 星 憲幸, 柴田武士, 岡田周策, 澤田智慈, 野浪 亨, 寺中敏夫, 豊田 實. フッ素化アパタイト被覆二酸化チタンのアクリルレジンの応用. 第 20 回アパタイト研究会, 2007 年 12 月 17 日, 東京
- ⑦ 澤田智史, 高橋祐介, 木本克彦, 浜田信城, 岡田周策, 柴田武士, 澤田智慈, 野浪 亨, 豊田 實, 寺中敏夫. 義歯床用レジンのフッ素化アパタイト被覆二酸化チタンの応用 - *C. albicans* に対する抗菌効果および細菌付着阻止効果について -. 神奈川歯科大学学会第 42 回総会, 2007 年 12 月 9 日, 横須賀
- ⑧ Tomofumi Sawada, Katsuhiko Kimoto, Yusuke Takahashi, Tomoji Sawada, Nobushiro Hamada, Takeshi Shibata, Kinya Tanaka, Toru Nonami and Minoru Toyoda. Adhesion of *C. albicans* to acrylic resin containing fluoride apatite-coated TiO₂. The Japan Prosthodontic Society and The Greater New York Academy of Prosthodontics hold the 2nd joint meeting, 2007 年 10 月 20, 21 日, 東京
- ⑨ Tomofumi Sawada, Yusuke Takahashi, Nobushiro Hamada, Katsuhiko Kimoto, Takeshi Shibata, Tomoji Sawada, Toru Nonami, Toshio Umemoto and Minoru Toyoda. Antifungal effect of acrylic resin incorporating fluorapatite-coated titanium dioxide. The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry, 2007 年 6 月 5, 6 日, 京都
- ⑩ 澤田智史, 木本克彦, 柴田武士, 星 憲幸, 田中欣也, 澤田智慈, 野浪 亨, 豊田 實. フッ素化アパタイト二酸化チタン配合床用レジンに関する研究 - 機械的強度について -. 日本補綴歯科学会第 116 回学術大会, 2007 年 5 月 19, 20 日, 神戸

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 武士 (SHIBATA TAKESHI)
神奈川歯科大学・歯学部・助教
研究者番号: 80329200