様　式　C－１９、F－１９－１、Z－１９　（共通）

科研費
KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　５ 年　 ９ 月 １４ 日現在

機関番号：１２６０２
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2020～2022
課題番号：２０Ｈ０３８６９

研究課題名（和文）粒子形状を制御した複合酸化物による新規歯内療法用セメントの開発と生体機能性付与

研究課題名（英文）Development and biofunctionalization of novel endodontic cement of shape controlled complex oxides

研究代表者
宇尾　基弘（Uo, Motohiro）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：２０２４２０４２

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　 13,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では歯内療法用セメントの新規素材として、アルミン酸三ストロンチウム(S3A)とセリウム酸二ストロンチウム(S2Ce)を開発し、その諸物性を評価した。S3AおよびS2Ceセメントは現行の市販MTAセメントに比べて短時間で硬化し、S2Ceは練和1日後の圧縮強さは市販MTAを上回る値を示した。X線造影性ではS3Aは造影剤を含む市販MTAと同程度、S2Ceは3倍であった。現行の市販MTA中のX線造影剤は溶出による歯質着色などの欠点も多い。S3AおよびS2Ceセメントはそれ自体が水和硬化する優れたセメント主成分となり得るだけでなく、高いX線造影性を持つ新たなセメント成分として有用と示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義
近年、歯内療法用材料として注目されているMTAセメントはケイ酸三カルシウムを主成分とする。同セメントは歯内療法において優れた特性を持つが、X線造影性が低いため添加される造影剤の副作用が危惧されている。本研究で開発したストロンチウム(Sr)系セメントは優れた硬化特性とX線造影性を併せ持つため、新たなセメント成分として期待できる。加えて、Srイオンは硬組織再生などに優れた効果が示唆されており、上記新規セメント成分は歯内で高濃度にSrを放出して象牙質再生などに寄与する可能性があり、動物実験でもそれを示唆する結果が得られている。以上より本成果は歯内療法用セメント開発に寄与すると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, tristrontium aluminate (S3A) and distrontium cerate (S2Ce) were developed as the novel endodontic cement components. S3A and S2Ce showed shorter setting time compared to the commercial MTA cement. S2Ce showed higher compressive strength than the commercial MTA after 1 day of mixing. X-ray radiopacity of S3A was comparable to and that of S2Ce was three times higher than that of the commercial MTA, which contains the X-ray contrast agent. Dissolution of contrast agent might occur the discoloration of tooth. S3A and S2Ce cements developed in this study showed the feasibility to be a novel endodontic cement components which have both fast setting and high radiopacity.

研究分野：歯科理工学

キーワード：歯科材料　歯内療法　歯科用セメント　イオン徐放　X線造影性

※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、研究者個人に帰属します。

１．研究開始当初の背景

近年､歯内療法用材料として注目されている Mineral Trioxide Aggregate (MTA)セメントは工業用 Portland セメントと同じくケイ酸三カルシウム（$3CaO\cdot SiO_2$; (C_3S)）を主成分とする。MTA セメントは $Ca(OH)_2$ の強塩基性による殺菌性と豊富な Ca^{2+}による石灰化促進によって象牙質の封鎖性を高め､その再生を促すなど従来の歯科材料では見られなかった機能が期待されている。C_3S は X 線造影性が歯質と同程度であり、歯内での明確な同材料の X 線造影のため Bi_2O_3 などの重元素酸化物が添加されている。但し Bi_2O_3 は硬化に寄与せず添加によるセメントの強度低下が起こるほか、Bi イオンの溶出による歯質の変色も懸念されている。従って、

(1) 硬化に寄与し X 線造影性も持つ重元素酸化物からなるセメント成分を開発する。

(2) Ca^{2+}以外にう蝕予防・歯質強化効果のある他のイオン種の放出機能を付与する。

(3) 他の歯科用セメントに匹敵する早期硬化や流動性、取扱性を持たせる。

などの特性改善や機能化が求められている。

２．研究の目的

本研究では上記の問題を解決するべく、歯内療法用セメントとして最適な複合酸化物セメントの新規組成を探索し、併せて新たな粉末合成法を用いて粒子形状を最適化することで、高機能性セメント素材を開発することを目的とした。候補素材として酸化ストロンチウムを含む複合酸化物を選択した。工業用セメント成分としてはケイ酸カルシウム以外にアルミン酸塩も知られており、アルミン酸三ストロンチウム（$3SrO\cdot Al_2O_3$: S_3A）も他のセメント成分と同様に硬化することが分かっている。ストロンチウム(Sr)は Ca と同じアルカリ土類元素であるが、Ca より重い元素であるため X 線造影性が期待でき、さらに Sr イオンは歯質吸収によるう蝕予防効果や再石灰化促進効果なども示唆されている。これより S_3A セメントは十分な X 線造影性を保持し、加えて Sr による生体機能性を発揮する可能性が期待できる。また SrO と希土類酸化物の複合酸化物も多く存在し、これらも S_3A 同様に水和・硬化する可能性が考えられる。加えて希土類元素の X 線吸収係数は高く、S_3A より更に造影性を高めることも可能と考えられる。その候補化合物としてセリウム酸二ストロンチウム（$2SrO\cdot CeO_2$: S_2Ce）を試作し、そのセメントとしての諸物性も検討した。さらに粒子形状・寸法と水和反応性制御として、噴霧乾燥法により作製した上記セメント用複合酸化物、および乾式粉砕法により微粒化したセメント粉末の諸物性も合わせて検討した。

３．研究の方法

3-1 ストロンチウム系セメントの合成と結晶相・粒子形状評価

アルミン酸三ストロンチウム(Tri-strontium aluminate : S_3A)、およびセリウム酸二ストロンチウム(Di-strontium cerate : S_2Ce)は、水酸化ストロンチウム($Sr(OH)_2\cdot 8H_2O$; 関東化学)、水酸化アルミニウム($Al(OH)_3$; 関東化学)、炭酸セリウム($Ce_2(CO_3)_3\cdot 8H_2O$; 関東化学)を所定組成となるよう混合し、180°C で 2 時間加熱して脱水後に破砕し、これを 1200°C で 4 時間焼成した。焼成後の粉末をメノウ乳鉢で粉砕しセメント粉末を得た。得られた粉末は X 線回折測定層(XRD, Miniflex, リガク)を用い、2°/分の速度で測定して結晶相を同定すると共に、走査電子顕微鏡(SEM, TM4000Plus, 日立ハイテクノロジーズ)で粒子形状を観察した。

3-2 試作 S_3A, S_2Ce セメントの機械的特性評価

試作セメントは種々の混水比で蒸留水と練和し、硬化時間、圧縮強さ、流動性の評価を行った。硬化時間は通法に従い、練和物への Vicat 針の痕跡が無くなる時間から評価した。圧縮試験では練和泥を内径 4 mmϕ, 高さ 6 mm のステンレス製割型に充填し、両面をガラス板で覆い 37°C、相対湿度 100%で 1 日または 28 日保持した。その後、硬化したセメント試料を材料試験機(EZ-LX, 島津製作所)により 0.75 mm/分の試験速度で圧縮強度を測定した。さらに練和泥約 0.06g をガラス板上に採取し、別のガラス板で挟み 1kgf の荷重を 1 分間付与した。その後のセメント泥の広がり面積をセメント泥の重量で除した数値をセメントの相対的流動性として評価した。比較対照として市販 MTA セメント（ProROOT MTA, Dentsply）を用いた。

3-3 セメント硬化体の X 線造影性評価

所定の混水比で練和したセメントを厚さ 1 mm 以下の円板状に成型し、アルミ製ステップウェッジと共に、歯科用 X 線造影装置 (MaxiX, モリタ)を用い、管電圧・電流＝70 kV, 7 mA、露光時間＝0.63 s、試料～照射装置間＝15 cm で撮影し、セメント試料造影画像の平均輝度とステップウェッジの比較から X 線造影性を評価した。

3-4 セメントからのイオン徐放測定と生体適合性・石灰化特性評価

所定の混水比で練和したセメント泥を直径 10 mmϕ, 深さ 2 mm のプラスチック型に充填し、表面を平滑なガラス板で覆い 37°C、相対湿度 100%で 1 日保持して硬化させた。この試料を密閉容器中で 5 mL の蒸留水中に 1～7 日間、浸漬した。浸漬後の溶液中の Sr, Al, Ce イオンの濃度を ICP 発光分光分析装置(Spectro Arcos, 日立ハイテクノロジーズ)で定量した。

生体適合性等の試験はマウス歯髄細胞(MDP)を用いて行った。MDP を所定の細胞密度になるよう 24 または 96-well プレートに播種し、S3A 溶出液を 1/8 添加したα-MEM を付与して、細胞増殖率、石灰化結節形成を評価した。

４．研究成果

4-1 ストロンチウム系セメントの結晶相と粒子形状

Fig.1 に 1100～1300°C で 4 時間焼成したアルミン酸ストロンチウムの XRD パターンを示す。1200°C 以上での焼成で S_3A が主たる相になっていることが分かる。S_2Ce についても同様であり、これより焼成温度を 1200°C に決定した。

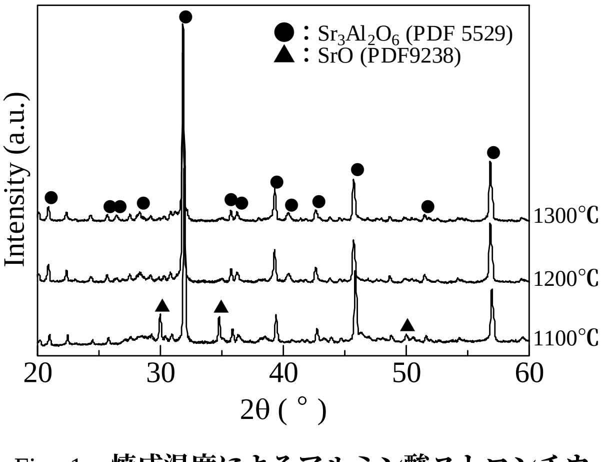

Fig. 1　焼成温度によるアルミン酸ストロンチウムの結晶相変化

S3A　S2Ce

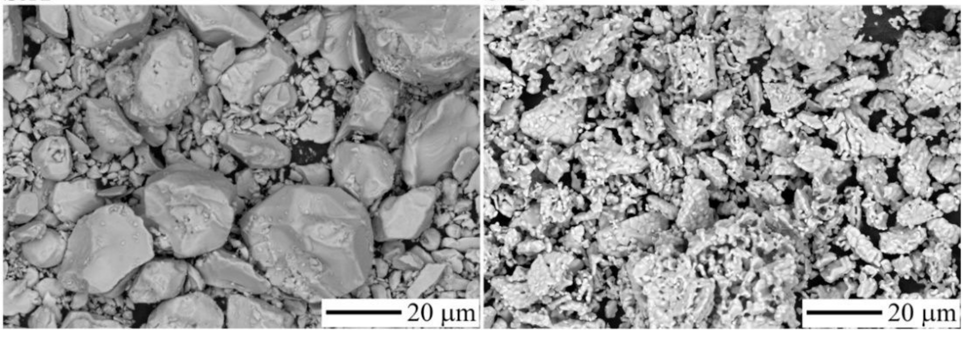

Fig.2　S_3A および S_2Ce セメント粉末粒子の SEM 像

S_3A および S_2Ce セメント粉末粒子の SEM 像を Fig.2 に示す。いずれも粒径が 20~30 μm 程度の粗い粒子が主となっているが、S_2Ce についてはサブミクロンレベルの微小な一次粒子の凝集からなっているように見られた。

4-2 試作 S_3A, S_2Ce セメントの機械的特性

試作セメントの硬化時間は S_3A では 90.7 分（混水比 0.6）、S_2Ce では 121 分（同 0.4）であり、市販 MTA セメントの 261 分[1)]より短く、両試作セメントとも早期硬化に寄与することが分かった。圧縮強度においては、S_3A セメント硬化体は練和 28 日後でも 12.4 MPa と市販 MTA セメントのそれ（86.02 MPa[2)]）より低かったが、S_2Ce は Fig. 3 に示すとおり、最適混水比（0.4）で練和 1 日後に 70 MPa を越える高い圧縮強さを示し、初期硬化の点では市販 MTA セメントを上回る特性を持つことが分かった。但し、同セメントは練和 28 日後では圧縮強さが低下しており、初期硬化は早いものの分解による強度低下も起こりやすい点が今後の課題と考えられた。

流動性については S_3A、S_2Ce セメントとも市販 MTA よりは低く、これは粒子の粗さが原因と考えられ、今後の粒径・粒形制御の検討の必要性が示唆された。

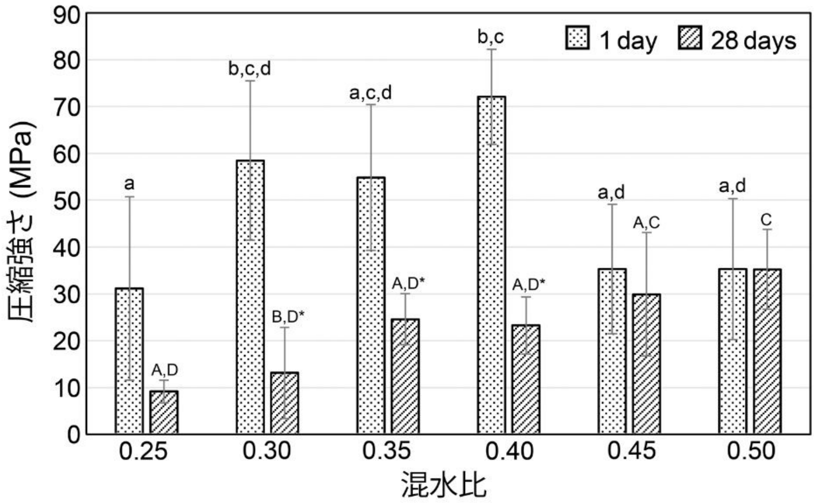

Fig. 3　種々の混水比で練和・硬化させた S_2Ce セメントの圧縮強さ比較

4-3 セメント硬化体の X 線造影性

Fig. 4 は市販MTA、その主成分である C_3S のみの硬化体、S_3A および S_2Ce 硬化体の X 線造影性を比較した結果である。市販 MTA では C_3S に造影剤（Bi_2O_3）を添加しているため AL 3 mm 相当の造影性を持つが、S_3A は造影剤を添加せずに同等の造影性を示した。さらに S_2Ce は市販 MTA の約 3 倍の造影性を持つことも分かった。S_2Ce の高い X 線造影性は Sr に加えて、より重い元素である Ce を含むこと、Ce の X 線吸収が歯科用 X 線源のピークエネルギーに近い 40 keV 付近で強い吸収を示すことが原因と考えられた。3-2 で示すように S_3A および S_2Ce とも良好な水和硬化性を示し、特に S_2Ce は練和 1 日という早期に高い圧縮強度を示すことを考えると、造影性と初期強度を MTA セメントに付与するのに有効な成分になり得ると示唆された。

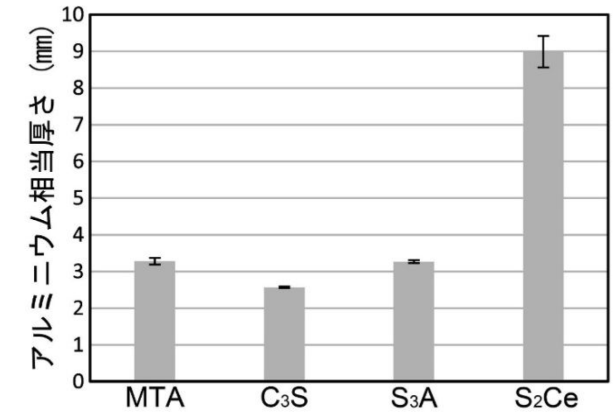

Fig. 4　S_3A および S_2Ce 硬化体の市販 MTA などとの X 線造影性の比較

4-4 セメントからのイオン徐放測定と生体適合性・石灰化特性

Table 1 に示すように、蒸留水中に浸漬した S_3A セメント硬化体は明確な Sr, Al イオン溶出を示した。S_2Ce 硬化体は更に高い Sr イオン溶出を示したが Ce イオンの溶出は検出されなかった。Ce イオンは水溶液中の溶解度が極めて低く、そのため Sr イオンのみが選択的に溶出したものと考えられた。Sr イオンは骨形成など硬組織再生に有益な効果を持つことが示唆されており、in vitro および in vivo での生物学的特性を評価した。S_3A のイオン溶出液を in vitro でマウス歯髄細胞に暴露したところ、細胞増殖への影響は認められなかった。また市販 MTA に比較して S3A 溶出液に暴露された細胞では、有意に高い石灰化結節の形成や Bmp2、steocalcin、osteopontin の遺伝子発現が認められた。また、ラット臼歯部の歯髄封鎖に S_3A セメントを用いたところ、処置 2 週で薄い石灰化組織の形成が露髄部表層に認められ、4 週では明瞭な厚みに増加しており、歯髄封鎖に有効であることが示された。

Table 1　S_3A および S_2Ce セメント硬化体の蒸留水中でのイオン溶出濃度（mmol/L）

溶出期間	1 日		3 日	
S_3A	Sr : 2.32	Al : 0.07	Sr : 18.6	Al : 11.0
S_2Ce	Sr : 5.27	Ce:検出せず	Sr : 5.68	Ce:検出せず

本研究では歯内療法用セメントとして優れた機械的特性や X 線造影性、生物学的特性を持つ新たな素材の開発を行った。Sr の複合酸化物である S_3A および S_2Ce セメントはケイ酸カルシウムを主成分とする現行の市販 MTA セメントに比べて短時間で硬化し、特に S_2Ce は練和 1 日後の圧縮強さは市販 MTA を上回る値を示した。加えて、X 線造影性にも優れ、S_3A は造影剤を含む市販 MTA と同程度、S_2Ce は 3 倍の造影性を示した。現行の市販 MTA 中の X 線造影剤は硬化に寄与せず、溶出による歯質着色が起こるなど欠点も多い。S_3A および S_2Ce セメントはそれ自体が水和反応で硬化するセメント主成分となり得るだけでなく、高い X 線造影性を持つことから、造影剤の添加を不要にできることが示唆された。但し、現状ではセメント練和泥の流動性などハンドリング特性で市販品に及ばず、セメント粉末の粒形・粒径制御を主とした更なる改良が必要と考えられた。

改良のための手法として本研究では噴霧乾燥法による微粉作製および高温焼成による粗粒粉末の乾式粉砕による微粒子を S_3A に対して試み、その特性評価も行った。噴霧乾燥法では球状粒子が得られ、乾式破砕でも粒径 10 μm 程度の均一な粒度分布を持つ微粉末が得られた。但し、いずれも微粒化に伴って水和反応性が高く、均一練和には硬化遅延剤などの添加が必要であることが分かった。乾式破砕した S_3A 微粒子を硬化遅延剤（コハク酸）を添加して練和した場合には若干、圧縮強度が上昇する可能性が示唆され、今後、引き続き粒形・粒径制御と最適練和条件の検討が必要であることが分かった。

引用文献

1) Choi Y et al., J Endod 2013; 39: 467-472
2) Islam I et al., J Endod 2006; 32: 193-197

５．主な発表論文等

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

１．著者名 ADEL Sherif、WADA Takahiro、KAWASHIMA Nobuyuki、ABDOU Ahmed、WATANABE Hiroshi、KURABAYASHI Tohru、OKIJI Takashi、UO Motohiro	４．巻 40
２．論文標題 Preparation and properties of tristrontium aluminate as an alternative component of mineral trioxide aggregate (MTA) cement	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Dental Materials Journal	６．最初と最後の頁 184～190
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2019-414	査読の有無 無
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 Dumrongvute Kunlanun、Adel Sherif、Wada Takahiro、Kawashima Nobuyuki、Piyachon Chinalai、Watanabe Hiroshi、Kurabayashi Tohru、Okiji Takashi、Uo Motohiro	４．巻 15
２．論文標題 Distrontium Cerate as a Radiopaque Component of Hydraulic Endodontic Cement	５．発行年 2021年
３．雑誌名 Materials	６．最初と最後の頁 284～284
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma15010284	査読の有無 無
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 Adel Sherif、Hashimoto Kentaro、Kawashima Nobuyuki、Wada Takahiro、Uo Motohiro、Okiji Takashi	４．巻 17
２．論文標題 Biocompatibility and pro-mineralization effect of tristrontium aluminate cement for endodontic use	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Journal of Dental Sciences	６．最初と最後の頁 1193～1200
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jds.2021.12.018	査読の有無 無
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 －

〔学会発表〕　計7件（うち招待講演　6件／うち国際学会　1件）

１．発表者名 宇尾 基弘
２．発表標題 放射光の歯科材料・生体組織分析への応用
３．学会等名 第78回日本歯科理工学会学術講演会（招待講演）
４．発表年 2021年

１．発表者名 宇尾 基弘
２．発表標題 コンポジットレジンの進歩におけるフィラーの重要性
３．学会等名 第78回日本歯科理工学会学術講演会（招待講演）
４．発表年 2021年

１．発表者名 Uo M.
２．発表標題 Application of synchrotron radiation for the analyses of biological specimens
３．学会等名 International Symposium for Interface Oral Health Science 2022（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2022年

１．発表者名 〇和田敬広，金城里於，宇尾基弘
２．発表標題 S-PRGフィラー含有ラミネートマウスガードからのイオンリリースと衝撃吸収性能評価
３．学会等名 日本歯科理工学会 中部地方会・ 関東地方会合同学術講演会
４．発表年 2020年

１．発表者名 宇尾 基弘
２．発表標題 審美歯科治療に寄与するガラス材料
３．学会等名 第44回バイオマテリアル学会大会（招待講演）
４．発表年 2022年

１．発表者名 宇尾 基弘
２．発表標題 歯科材料におけるガラスの応用
３．学会等名 粉体粉末冶金協会2022年度春季大会（招待講演）
４．発表年 2022年

１．発表者名 宇尾 基弘
２．発表標題 カーボンナノ材料をはじめとするナノ材料の医学・歯学応用と生体組織中の微小粒子・微量元素の分布分析
３．学会等名 第12回ナノカーボンバイオシンポジウム（招待講演）
４．発表年 2022年

〔図書〕 計2件

１．著者名 宇尾 基弘	４．発行年 2021年
２．出版社 (株)エヌ・ティー・エス	５．総ページ数 564
３．書名 生命金属ダイナミクス	

１．著者名 宇尾 基弘	４．発行年 2021年
２．出版社 医歯薬出版(株)	５．総ページ数 168
３．書名 歯科技工別冊 補綴装置製作のための歯科材料学UPDATE	

〔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	稲田　幹 (Inada Miki) (40624979)	九州大学・中央分析センター（筑紫地区）・准教授 (17102)	
研究分担者	小西　智也 (Konishi Tomoya) (90455163)	阿南工業高等専門学校・創造技術工学科・教授 (56101)	
研究分担者	川島　伸之 (Kawashima Nobuyuki) (60272605)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師 (12602)	

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