

令和 5 年 5 月 15 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09998

研究課題名(和文) 低温アニーリングを用いたエナメル質結晶遷移による初期齲蝕の再生

研究課題名(英文) Regeneration of early enamel erosion by crystal transition using low-temperature annealing

研究代表者

宮崎 隆 (Miyazaki, Takashi)

昭和大学・その他部局等・特任教授

研究者番号：40175617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：エナメル質の最小構造モチーフはハイドロキシアパタイトの六方晶構造とエナメルタンパクの複合体である。これらナノ結晶が成長を競い合う粒界三重点は生来的に酸による侵襲を受けやすく、蝕に罹患しやすい。粒界三重点を漂白によって除去すると、アパタイト結晶は最も安定な状態に回復しようとする力が働き、結晶構造が単斜晶に遷移する。同時にフッ素イオンとストロンチウムイオンが導入されると、単斜晶状態が維持できるため、エナメル質は胎生期の石灰化能力を発揮し、エナメル質初期齲蝕の著しい再石灰化が見られる。本研究結果は従来の罹患歯質切削に依存した歯科治療と大きくことなる新たな齲蝕修復治療の可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

齲蝕は予防できることが最も望ましいが、発生してしまった場合にはエナメル質表層下が侵食された状態のうちに進行を阻止することが有効な手段である。一般臨床で齲蝕の治療法は、国内外を問わず患部を機械的に除去後、レジンや金属などの修復材料を、接着システムを介して患部に接着する方法である。本研究の成功により、チェアーサイドにおいて、少なくとも初期齲蝕では機械的切削を行わず、エナメル質を再生することが可能になる。再石灰化治療が健全歯を増やし、歯科治療はこれまでの切削・充填中心の治療から、予防中心のケアに移行する可能性がある。本研究結果は、我が国の健康長寿に貢献する将来の歯科医療の中心になることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：The smallest structural motif of tooth enamel is composed of a hexagonal crystal structure of hydroxyapatite combined with a complex of enamel proteins. These nanocrystals are inherently susceptible to acid attacks and prone to demineralization at competitive grain boundary triple points, where they grow. When the triple points are eliminated through bleaching, a driving force prompts apatite crystals to recover their most stable state, inducing a transition in the crystal structure to a monoclinic form. Concurrently, the introduction of fluoride and strontium ions enables the maintenance of the monoclinic state, allowing the enamel to display its prenatal calcification capacity and leading to significant remineralization of early enamel caries. These findings suggest the potential for a novel caries restoration treatment, which diverges considerably from conventional dental procedures that rely on the removal of affected dentin.

研究分野：歯科理工学

キーワード：エナメル質 ハイドロキシアパタイト 漂白 再生

1. 研究開始当初の背景

う蝕の進行は歯を喪失することにつながり、健康寿命の関係は多くの研究報告から明らかである。う蝕を初期段階で再生する新たな技術の開発は医療コストの観点だけでなく、超高齢社会を迎えた我が国が国策として掲げた“健康長寿社会”の実現に向けて必須のプロジェクトである。一般臨床でう蝕の治療法は、う蝕の大小を問わず患部を機械的に除去後、レジンや金属などの修復材料を、接着システムを介して患部に接着する方法である。したがって、少なくとも初期う蝕では機械的切削を行わず、エナメル質を再石灰化・再生することが理想的であり、再石灰化治療が健全歯を増やし、歯科治療はこれまでの切削・充填中心の治療から、予防中心のケアに移行する可能性がある。しかし、従来から初期う蝕の治療法としてはフッ素塗布を行い、長い時間をかけて再石灰化を期待するのが唯一の機械的切削を行わない治療方法であった。

2. 研究の目的

う蝕は予防できることが最も望ましいが、発生してしまった場合にはエナメル質表層下が侵食された状態を早期に把握し進行を阻止することが有効な手段であるといえる。本研究の目的は、エナメル質の結晶構造を胎生期の状態に“初期化”させ、再生能力を高めることにより、歯を切削することなく非侵襲的にエナメル質う蝕を再生することである。近年、歯胚発生器のエナメルタンパクの表面に析出する非結晶リン酸カルシウムが、単斜晶に近い対称性を有することが証明された。誘電率の高い単斜晶アパタイトは、石灰化を促進しエナメル質全体の発生に参与する。このため、エナメル質再生に向けた単斜晶アパタイト合成が注目されている。成熟エナメル質のアパタイト結晶は誘電率の低い六方晶であり、再生能力に乏しい。審美歯科治療で用いる歯の漂白方法を応用することにより、エナメル質の結晶構造を単斜晶に遷移することが可能である。本研究の成功により、チェアーサイドにおいて、少なくとも初期う蝕では機械的切削を行わず、エナメル質を再生することが可能になる。再石灰化治療が健全歯を増やし、歯科治療はこれまでの切削・充填中心の治療から、予防中心のケアに移行する可能性がある。本研究成果は、我が国の健康長寿に貢献する将来の歯科医療の中心になることが期待できる。

3. 研究の方法

エナメル質の六方晶構造に部分的な欠陥を作る。結晶は最も安定な状態に自然回復しようとする力が働き(アニーリング)化学両論的アパタイト構造である単斜晶に遷移するが、主に炭酸イオンの自然導入により六方晶へ再遷移する。このためアニーリングと同時にイオンを導入すると単斜晶状態が維持できるため、エナメル質は胎生期の石灰化能力を発揮し、エナメル質初期齶蝕の再生ができる。

エナメル質の無機成分である水酸アパタイトは、1000°Cを超える高温で加熱後に徐冷すると(高温アニーリング)重量比で40%程度が単斜晶に遷移する。我々のこれまでの研究で、歯の漂白処理に用いる過酸化水素+ハロゲンランプ所照射により、エナメル質の脱灰傾向や再石灰化傾向が大きく変化することが報告されている。アパタイトの化学的特性は結晶構造に大きく依存しており、歯科臨床で現在用いられている漂白処理は口腔内での“エナメル質低温アニーリング”として応用した。

低温アニーリングによって単斜晶へ遷移したエナメル質のアパタイト結晶は、イオン半径の小さい CO_3^{2-} (炭酸イオン)が導入されることによって、直ちに六方晶へ再遷移する。Surface pre-reacted glass ionomer fillers(S-PRG)から直接イオン抽出した高イオン強度溶液により炭酸基の導入を防止すると同時に、溶液中に含まれるイオンを低温アニーリング処理したエナメル質に導入する。ストロンチウムとFはそれぞれ PO_4^{3-} と OH^- のイオン半径に近く、低温アニーリング後の単斜晶構造を損なわないと考えられる。

六方晶と単斜晶アパタイトの違いはÅレベルの僅かなひずみであり、通常のX線回折で見分けることは非常に困難である。レーザーラマン分光分析は六方晶から単斜晶アパタイトへの遷移を ν_2 vs ν_4 リン酸基振動から分析した。

ラマン分光分析により結晶遷移が生じたと推定されるエナメルサンプルをHRTEMにより結晶構造解析および高イオン強度溶液内に含まれるイオン半径に基づいたシミュレーションを行い、結晶遷移に効果的なイオンを同定した。

再生エナメル質の力学的特性は天然歯と同等であることが求められる。エナメル質を材料レベルで評価するため、生物学的構造に左右されないマイクロ-ナノスケールで測定可能なナノインデンテーション法を用いる。球状圧子を用いたナノインデンテーション法では、局所(材料レベル)の応力ひずみ曲線から降伏点強度を評価した。

エナメル質は本来的に耐酸性に優れており、人工的に初期齲蝕を再現することは難しい。我々は、ハロゲンランプ照射後のエナメル質において耐酸性が著しく低下することに着目した。矯正治療で便宜抜歯した小臼歯表面をハロゲンランプ照射し、脱灰を促進させることにより、エナメル質初期齲蝕を再現する。低温アニーリング+高イオン強度溶液で処理したのち、人工唾液中での再生傾向をマイクロ CT で経時的に数値化する。低温アニーリング処理後に体液組成の緩衝液、さらに脱イオン水中に保管した試料の石灰化（あるいは脱灰傾向）を同時に計測した。

4. 研究成果

我々の調査によれば、ハロゲンランプと過酸化水素を使用した漂白処理がエナメル質において、結晶レベルで部分的な欠陥を引き起こし、イオン導入が促進されることが確認された。エナメル質の基本構造要素は、ハイドロキシアパタイトのナノワイヤ（結晶）構造とエナメルタンパクの複合体である。これらのナノ結晶が競合的に成長する粒界三重点は、本質的に酸の攻撃に対して脆弱であり、容易にう蝕に罹患する。本研究では、このようなう蝕に罹患しやすい、あるいはすでにう蝕に罹患している粒界三重点を漂白によって取り除くことが可能であることを明らかにした。エナメル質の六方晶構造が部分的に欠陥を持つと、結晶は最も安定な状態へと自然に回復しようとする力、アニーリングにより化学量論的アパタイト構造である単斜晶への遷移が生じるが、主に炭酸イオンの自然導入により六方晶へと再遷移しやすい。このため、アニーリングと同時にフッ素イオンとストロンチウムイオンの二種類の陰イオンを導入した。その結果、単斜晶状態が維持され、エナメル質は胎生期の石灰化能力を発揮し、初期のう蝕エナメル質における顕著な再石灰化が観察された。エナメル質の結晶遷移については、HRTEM 画像に対して高速フーリエ変換を用いてシミュレーションを行い、単斜晶アパタイトの存在を明らかにした。さらに、三次元 SEM 画像によって、漂白処理によりエナメル質の粒界三重点が選択的に除去され、再石灰化の経路が形成されることが確認された。本処理は人工的に脱灰させたエナメル質の再石灰化能を大きく促進させた。本研究成果は、これまでの罹患歯質の切削に依存した歯科治療とは異なる新たなう蝕修復治療法の可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takahashi Shinpei, Zhou Jun, Wurihan, Shimomura Naofumi, Kataoka Yu, Watanabe Chie, Shibata Yo, Funatsu Takahiro, Gao Ping, Miyazaki Takashi	4. 巻 117
2. 論文標題 High-resolution mechanical mapping of the adhesive?dentin interface: The effect of co-monomers in 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials	6. 最初と最後の頁 104389 ~ 104389
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jmbbm.2021.104389	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Zhou Jun, He Zhiyi, Cui Jiarui, Liao Xiaoling, Cao Hui, Shibata Yo, Miyazaki Takashi, Zhang Jiaming	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification of mechanics-responsive osteocyte signature in osteoarthritis subchondral bone	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bone & Joint Research	6. 最初と最後の頁 362 ~ 370
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1302/2046-3758.116.BJR-2021-0436.R1	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 該当する
1. 著者名 Tanaka Shinpei, Kobayashi-Hisamatsu Mari, Miyazaki Takashi, Baba Kazuyoshi	4. 巻 128
2. 論文標題 Shear bond strength of an acrylic resin to a ceria-stabilized zirconia-alumina nanocomposite	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Prosthetic Dentistry	6. 最初と最後の頁 815 ~ 821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.prosdent.2021.01.019	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 KUROSAKA Masao, KATAOKA Yu, MIYAZAKI Takashi	4. 巻 41
2. 論文標題 <i>In vitro</i> characterization of primary osteoblasts on titanium surfaces processed with wire-type electric discharge machining	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 655 ~ 659
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2021-231	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 Shimada Yasushi, Burrow Michael F., Araki Kazuyuki, Zhou Yuan, Hosaka Keiichi, Sadr Alireza, Yoshiyama Masahiro, Miyazaki Takashi, Sumi Yasunori, Tagami Junji	4. 巻 10
2. 論文標題 3D imaging of proximal caries in posterior teeth using optical coherence tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-72838-2	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 該当する

〔学会発表〕 計1件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 井上 利志子, 齊藤 誠, 西村 文夫, 宮崎 隆, 柴田 陽
2. 発表標題 人歯エナメル質および象牙質のクリープ特性
3. 学会等名 日本歯科理工学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 中嶌 裕, 宮崎 隆, 米山隆之	4. 発行年 2020年
2. 出版社 学建書院	5. 総ページ数 400
3. 書名 スタンダード歯科理工学	

〔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	柴田 陽 (Shibata Yo) (30327936)	昭和大学・歯学部・教授 (32622)	

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
---------	---------