

機関番号： 3 2 7 0 3  
 研究種目： 若手研究 (B)  
 研究期間： 2009～2010  
 課題番号： 2 1 7 9 1 9 2 2  
 研究課題名(和文) 複合型フッ素化アパタイト被覆二酸化チタンを応用した歯科材料の開発  
 研究課題名(英文) Development of Dental Material Applied Composite Type Titanium Dioxide 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・非常勤講師  
 研究者番号： 8 0 3 2 9 2 0 0

研究成果の概要(和文): 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。さらに改良された複合型フッ素化アパタイト被覆二酸化チタン配合レジンには耐久性、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。

研究成果の概要(英文): It is a theme of the present study to contain the titanium dioxide with dental acrylic resin, and to develop handy, sanitary dental materials using the effect of the photocatalyst. As for titanium dioxide coated with fluoridated apatite, it has been understood to obtain the antifungal effect by the effect of the photocatalyst being efficiently activated from the old model in a short time. In addition, the improved composite type titanium dioxide coated with fluoridated apatite containing resin demonstrated the effect with durability and was suggested effectiveness as new dental materials.

#### 交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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-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、歯科医学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パ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そ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

二酸化チタンをレジンなどの有機材料に応用する場合、二酸化チタン粒子表面に加工を施して材料自体の光触媒作用による分解防止が必要であり、現在その表面加工方法としてはアパタイトあるいはシリカで表面被覆する方法が一般的に知られている。しかし、口腔内で使用する義歯は絶えず過酷な環境下にさらされており、それゆえ長期にわたり抗菌・防汚効果の持続性を保たなければならないのはもちろんのこと、安定した物性・強度の維持も必須条件であるため、より高性能な二酸化チタン応用義歯床用レジンの開発が必要と考えている。

歯科領域では有機材料と無機材料を結合あるいは接着させる研究が古くから行われており、シランカップリング剤による表面処理がよく知られている。シランカップリング剤は無機材料と結合する加水分解性基と、有機材料に結合する有機官能基を有し、樹脂とフィラーからなる複合材料ではフィラーの分散性を高め、機械的強度を向上させるために必要な表面処理剤である。有機材料であるレジンに無機材料である二酸化チタンを応用するに当たり、このシランカップリング処

理をフッ素化アパタイト被覆二酸化チタン表面に施すことができれば、修復用コンポジットレジンとフィラーの関係と同様に、物性・強度を向上させることができる可能性がある。

つまり、この複合型フッ素化アパタイト被覆二酸化チタン粒子を義歯床用レジンに配合することにより、物性・強度を損なうことなく持続的な抗菌・防汚効果を維持できる医用生体材料を開発できると考えた。そこで今回の研究では、義歯に付着した汚れ（デンチャ・ブランクなど）を中長期的に分解できる防汚機能、強度性能を持ったレジンを開発することを目標としている。

## 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  $\text{TiO}_2$ ）、フッ素化アパタイト被覆型二酸化チタン（以下 FAp- $\text{TiO}_2$ ）およびアパタイト被覆型二酸化チタン（以下 HAp- $\text{TiO}_2$ ）を使用した。

### (2) 酸溶解試験

FAp- $\text{TiO}_2$ 、HAp- $\text{TiO}_2$ 、各 50 ml を 0.1 M の酢酸緩衝液（ $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$ 、pH4.0、25℃）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、1,500 rpm）にかけ、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法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 の酢酸溶液（25℃）に 24 時間浸漬したものを用いた。

### (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 を産生する。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% に調整した F-AP, AP にスピントラップ剤 (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 ( $\text{TiO}_2$ , HAp- $\text{TiO}_2$ , FAp- $\text{TiO}_2$ ) 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 または 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<sub>2</sub>, HAp-TiO<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> は 5.34 wt% 溶出しているのに対し、FAP-TiO<sub>2</sub> では 2.60 wt% の溶出に留まっていた。

#### (2) ROS の測定

FAP-TiO<sub>2</sub>, HAp-TiO<sub>2</sub> 共に Fl-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ラジカルが生成されていることを示している。また、ヒドロキシラジカルの生成量は FAP-TiO<sub>2</sub> の方が有意に増加した。

#### (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-TiO<sub>2</sub> は TiO<sub>2</sub>, HAp-TiO<sub>2</sub> 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。TiO<sub>2</sub> は ISO 1567 の規格である 65 MPa を下回る結果であった。EPMA 分析からも光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。弾性率についてはすべての試験片で 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-TiO<sub>2</sub> は HAp-TiO<sub>2</sub> 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。

#### (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-TiO<sub>2</sub> は HAp-TiO<sub>2</sub> よりも付着抑制効果を示した。また SEM は FAP-TiO<sub>2</sub> において細胞形態が変化した *Candida* が多く確認された。このことは FAP-TiO<sub>2</sub> のフッ素化にともな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。

### 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)

柴田武士、可撤性補綴装置で機能・審美的回復を図った 1 症例、日補綴会誌、査読有、3 巻、2011、56-59

Tomofumi Sawada, Fumihiko Yoshino, Katsuhiko Kimoto, Yusuke Takahashi, Takeshi Shibata, Nobushiro Hamada, Tomoji Sawada, Minoru Toyoda, Masaichi-C Lee. ESR detection of ROS generated by TiO<sub>2</sub> coated with fluoridated apatite. J Dent Res. 89: 848-853, 2010. 査読有

澤田智史、澤田智慈、片山伊九右衛門、柴田武士、星 憲幸、野浪 亨、豊田 實、木本克彦、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色調に及ぼす影響について、歯科の色彩、査読有、16 巻、2010、11-18

Takeshi Shibata, Katsuhiko Kimoto, Nobushiro Hamada, Hidefumi Kumada, Tomofumi Sawada, Tomoji Sawada, Minoru Toyoda. Antibacterial activity of denture base acrylic resin containing apatite-coated TiO<sub>2</sub> photocatalyst. Bull Kanagawa Dent Col 37: 105-110, 2009. 査読有

Tomofumi Sawada, Tomoji Sawada, Yusuke Takahashi, Takeshi Shibata, Shusaku Okada, Noriyuki Hoshi, Nobushiro Hamada, Katsuhiko Kimoto, Minoru Toyoda. Characterization of fluoridated apatite-coated titanium dioxide photocatalyst. Bull Kanagawa Dent Col 37: 111-116, 2009. 査読有

#### [学会発表](計 5 件)

柴原淳之、堀 紀雄、星 憲幸、澤田智史、柴田武士、青木宏道、澤田智慈、木本克彦、ハイドロキシアパタイトと二酸化チタンによる二重薄膜生成技術を応用したチタン表面改質の検討、平成 21 年度日本補綴歯科学会西関東支部学術大会、2010 年 1 月 10 日、横浜

澤田智史、澤田智慈、柴田武士、星 憲幸、豊田 實、木本克彦、二酸化チタン光触媒配合義歯床用材料の色調に及ぼす影響について、神奈川歯科大学学会第 44 回総会、2009 年 12 月 5 日、横須賀

澤田智史、澤田智慈、片山伊九右衛門、柴田武士、星 憲幸、野浪 亨、豊田 實、木本克彦、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色調に及ぼす影響について、第 17 回日本歯科色彩

学会学術大会、2009年7月25、26日、新潟

澤田智史、柴田武士、澤田智慈、星 憲幸、齋田牧子、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

Tomofumi Sawada, Yusuke Takahashi, Takeshi Shibata, Tomoji Sawada, Nobushiro Hamada, Katsuhiko Kimoto, Minoru Toyoda. Effect of acrylic denture base resin containing TiO<sub>2</sub> coated with fluoridated apatite. The 6th Biennial Congress of Asian Academy of Prosthodontics. 2009年4月24~26日、ソウル(韓国)

## 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・非常勤講師

研究者番号：80329200

### (2) 研究協力者

澤田 智史 (SAWADA TOMOFUMI)

神奈川歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：80550821