

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09904

研究課題名(和文) ハイドロタルサイトの化学的特性を応用した新たな多機能型歯科用セメントの創出

研究課題名(英文) Novel multifunctional dental cement that applies the chemical properties of hydrothermalite

研究代表者

川木 晴美 (Kawaki, Harumi)

朝日大学・歯学部・教授

研究者番号：70513670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で新たに合成したZn-Al層状複水酸化物(LDH)が歯科用セメントとして応用可能か検討した。酸化亜鉛ユーキノールセメントの主要な硬化機構はキレート結合であると考えられており、試薬酸化亜鉛粉末と我々のZn-Al LDHをセメント粉末として練和液と練和したとき、同等の時間で硬化することから、歯科用セメント粉末として応用可能であると考えられた。また、Zn-Al LDH粉末から溶出する成分はヒト細胞の増殖には影響を与えなかったが、*Porphyromonas gingivalis*や*Mutans streptococci*などの口腔内微生物の増殖は抑制することから、歯科材料としての有用性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2価金属-Al系HTは基本層を構成する金属種と中間層の陰イオンの組合せを変えて新たに合成し開発することが可能な素材であるが歯科界では未利用の化合物である。我々の合成したAl-Zn系HTの高い硫化物吸着能は、硫化による金属変色をも防止しうる材料として、あるいは焼結により中間層の水や水酸基を除去したHTをレジン系セメントへのフィラーとして応用することや、歯磨剤の成分としての応用の可能性も秘めている。このような多機能型歯科材料の開発研究は、歯の機能面だけでなく審美面へもおおいに貢献でき、年齢を問わず国民のQOL向上につながり、本材料の開発と評価は意義のある研究といえる。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether the newly synthesized Zn-Al layered double hydroxide (LDH) in this study could be applied as a dental cement. It is thought that the main hardening mechanism of zinc oxide eugenol cement is chelation bonding, and since zinc oxide powder and our Zn-Al LDH harden in the same amount of time, we found that it could be applied as a dental cement powder. In addition, while the components eluted from Zn-Al LDH powder had no effect on the proliferation of human cells, they did inhibit the proliferation of oral microorganisms such as *Porphyromonas gingivalis* and *Mutans streptococci*, indicating their usefulness as a dental material.

研究分野：歯科保存学

キーワード：層状複水酸化物 LDH ハイドロタルサイト 硫化物吸着能 陰イオン交換 フッ素徐放性 酸化亜鉛セメント 抗菌作用

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

後期高齢者人口が増加しているわが国では、国民の **QOL** を維持するために、口腔の機能維持の根幹となる歯の保存が不可欠である。それには日々の口腔ケアと歯や歯周組織の病変を軽微な段階で治療することが重要となる。しかしながら、歯科用セメントの分野では既存材料の改良研究がほとんどであり、予防的に有害物質の吸着作用や抗菌性を付与したセメント材料とならうる新規の化合物を用いた開発研究は少ないのが現状である。

そこで、本研究ではイオン交換能をもつ層状複水酸化物(**LDH**)に注目した。**LDH** は 2 価および 3 価金属による正八面体結晶構造を有する複水酸化物層(基本層)と、水と陰イオン層(中間層)とが積層構造を形成し、基本層をなす金属と中間層に取り込ませる陰イオンを様々に組合せ可能であることから、組合せによる特異な効果を利用することができる。**LDH** の中で **Mg-Al** 系炭酸型 **LDH** をハイドロタルク石またはハイドロタルサイト(**HT**)と称し、その陰イオン交換能、低分子吸着特性から胃粘膜を守る制酸剤として医療の分野では既に応用されている安全な物質であるが、歯科の分野では未利用の化合物である。

本研究では同様の骨格で **Mg** を **Zn** 等、他の 2 価金属に置き換えた **LDH** も **HT** とよぶこととし、新しい合成 **HT** の歯科材料としての可能性を探索する。

2. 研究の目的

歯科医療の発展を目指し、材料の表面改質や目的とする機能を付与した新たな歯科材料の開発研究が盛んに行われている。従来にはない多機能型歯科用セメント開発のため、我々は陰イオン交換能をもつ **HT** に着目した。**HT** は無機層状化合物としては珍しい、陰イオン交換能をもち、基本層を構成する金属種と中間層の陰イオンの組合せを変えて新たな **HT** を合成し開発することが可能である。

本研究は、目的に応じた金属種・陰イオン構成により、症例に応じた作用を有するイオン徐放性や吸着能をもつよう改質した **HT** をセメント粉末として応用することで、有害物質の吸着、抗菌作用、歯質強化作用、抗う蝕作用等を併せもつ多機能型歯科用セメントを新たに開発することを目指している。

その第一歩として、我々はこれまでに、基本層の金属を **Mg-Al**、**Zn-Al**、**Ca-Al** とした **HT** を合成し、口臭の原因物質である硫化物を吸着する新素材開発の研究を行ってきており、吸着能の向上を目的とした合成方法の改良も行ってきた。また、陰イオン層のイオン交換を行った新しい **HT** の開発も試みてきた。本研究では、我々が合成した試作 **HT** の中で、特に硫化物吸着能に優れた **Zn-Al** 系 **HT** を歯科用セメント粉末として応用可能かどうかを探索し、将来的にはセメントから徐放する成分の種類や徐放量をコントロールし、症例に応じた多機能型セメント材料の開発材料としての可能性を示すことを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 天然鉱物 **HT**(**Mg-Al** 系 **HT**)と同様の構造で **Mg** を **Zn** と置換した **Zn-Al** 系 **HT** を合成し、元素分析を行い、合成物中の **Zn** および **Al** の存在比の算出を行った。
- (2) 研究期間後半に(1)で作製した **Zn-Al** 系 **HT** に陰イオン交換によりフッ素を取り込ませ、フッ素徐放性 **Zn-Al** 系 **HT** を試作し、フッ素徐放性を評価した。
- (3) 試薬酸化亜鉛 **ZnO** と、既存の歯科用ユージノール系、非ユージノール系根管充填剤やセメントを使用し、試料 1 : **Zn-Al** 系 **HT**、試料 2 : 試薬 **ZnO**、試料 3 : 前述の歯科用セメントの粉として、それぞれ、練和液はセメントに付属する練和液を用い、硬化時間、圧縮強さを測定した。
- (4) (1)で作製した **Zn-Al** 系 **HT** 粉末を蒸留水あるいは培地に浸漬して、**ICP** 発光分光装置により溶出するイオン種の定性および定量分析を行った。
- (5) (4)の実験の結果、**Zn** および **Al** が培地中に溶出することが明らかとなったので、ヒト細胞用培地および微生物培養用液体培地に同様に粉末を浸漬し、滅菌後、段階希釈により、溶出成分の濃度の異なる培地を用意して、ヒト歯髄由来細胞および歯肉上皮由来細胞、そして、*Porphyromonas gingivalis* および *Mutans streptococci* の培養を行い、それぞれの増殖動態を検討した。

4. 研究成果

- (1) 合成物中の **Zn** および **Al** の存在比は、**Al** の割合がやや多いものの、天然鉱物の組成式 **Mg** : **Al** = 3 : 1 に近い割合であった。
- (2) 試作したフッ素徐放性 (**F** 置換型) **Zn-Al** 系 **HT** を蒸留水や培地に浸漬し、フッ素を徐放することを確認した。
- (3) 試料 1 : **Zn-Al** 系 **HT**、試料 2 : 試薬 **ZnO**、試料 3 : 既存の歯科用セメントをセメント粉末としてセメントを練和し、硬化時間を測定した結果、試料 1, 2 は硬化に 24 時間以上かかったが、これは試料 3 のセメント粉末には硬化促進剤が添加されており、試料 1 : **Zn-Al** 系 **HT** と試料 2 : 試薬 **ZnO** は試料 3 に比べ、硬化時間が長く、圧縮強さも小さかった。しかしながら、試料 1 は試薬 **ZnO** のみを粉末とした試料 2 と比べると、硬化時間は短縮し、圧縮強さもやや上回っていた。試薬 **ZnO** のみを粉末とした場合に比べると、硬化時間は短縮し、圧縮強さも上回っていた。酸化亜鉛を粉末とするセメントではキレート結合が硬化機構の本体とされているが、**Zn-Al** 系 **HT** でも硬化することから、**Zn-Al** 系 **HT** を歯科用セメント粉末として応用の可能性を見出した。また、試作した **F** 置換型 **Zn-Al** 系 **HT** でも硬化時間は **Zn-Al** 系 **HT** 粉末と同等であり陰イオン交換はキレート結合による硬化機構に影響しないと考えられた。
- (4) (1) で作製した **Zn-Al** 系 **HT** 粉末を浸漬して培地中の溶出物の濃度を測定し、溶出物の濃度の異なる培地を作製して培養系での評価を行い次の (5) の結果を得た。
- (5) **HT** 由来の **Zn** および **Al** を含む培地でヒト歯髄由来幹細胞 (**hDPSC**) および、ヒト歯肉上皮前駆細胞 (**hGEPC**) を培養し、増殖を評価したところ、細胞用培地および微生物培養用液体培地に同様に粉末を浸漬し、滅菌後、段階希釈により、**hGEPC** ではコントロール培地と比べ増殖に差はみられなかったが、**hDPSC** では増殖が促進される濃度があり、いずれの細胞でも細胞毒性はみられなかった。一方で、*Porphyromonas gingivalis* の増殖は著しく阻害され、*Mutans streptococci* の増殖にも抑制作用がみられた。また、金属補綴物への作用を検討するため、**Mg-Al** 系 **HT** 粉末あるいは **Zn-Al** 系 **HT** 粉末存在下で *Porphyromonas gingivalis* を培養し歯科用銀合金 (**GC** ミロスリー) への影響の検討も試みており、現在も評価を続けている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kubota S, Kawaki H, Perbal B, Takigawa M, Kawata K, Hattori T, Nishida T.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Do not overwork: cellular communication network factor 3 for life in cartilage	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Cellular Communications and Signallings	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12079-023-00723-4	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 Kubota S, Kawaki H, Takigawa M	4. 巻 2582
2. 論文標題 Protocols for screening peptides binding to CCN family proteins and their extended utility	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 87-101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2744-0_8	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 Kawaki H, Kubota S, Takigawa M	4. 巻 2582
2. 論文標題 Cellular fluorescence imaging for the evaluation of bioactivity of CCN family proteins	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 23-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2744-0_3	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 -
1. 著者名 Tsuruta H, Mizuno-Kamiya M, Takahashi M, Ando M, Ikeno K, Ueno K, Takayama E, Kawaki H, Nakamura G, Nikaïdo T, Fujita H, Kondoh N	4. 巻 64
2. 論文標題 Enhanced production of IL-2 from anti-CD3 antibody-stimulated mouse spleen cells by artepillin C, a major component of Brazilian green propolis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral Bioscience	6. 最初と最後の頁 366-375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2022.05.007	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 Ishigure H, Kawaki H, Shintani K, Ueno K, Mizuno-Kamiya M, Takayama E, Hotta M, Kondoh N, Nikaido T.	4. 巻 40
2. 論文標題 Effects of multi-components released from S-PRG filler on the activities of human dental pulp-derived stem cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dent Mater J.	6. 最初と最後の頁 1329-1337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2020-390.	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 Matsunami A, Mizuno-Kamiya M, Kawaki H, Takayama E, Ueno K, Ando M, Morimoto-Ito H, Muramatsu Y, Sumitomo S, Kondoh N.	4. 巻 63
2. 論文標題 Augmented secretion of IL-1 from mouse oral squamous cell carcinoma (OSCC) vcells caused by serum deprivation and hypoxia promotes immune suppressive activity of mesenchymal stromal cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Oral Biosci.	6. 最初と最後の頁 284-291.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2021.06.001.	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 Kubota S, Kawaki H, Perbal B, Kawata K, Hattori T, Nishida T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Cellular communication network factor 3 in cartilage development and maintenance.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Commun Signal.	6. 最初と最後の頁 533-543.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12079-021-00629-z.	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 Uno M, Kawaki H, Ishigami H, Yokogawa Y, Doi Y.	4. 巻 31
2. 論文標題 Effects of silica sputtering on adhesion between zirconia and composite resin cores.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dent Mater J.	6. 最初と最後の頁 1014-1019.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2020-363.	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 Mizukawa T, Nishida T, Akashi S, Kawata K, Kikuchi S, Kawaki H, Takigawa M, Kamioka H, Kubota S.	4. 巻 236
2. 論文標題 RFX1-mediated CCN3 induction that may support chondrocyte survival under starved conditions.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 :6884-6896.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcp.30348.	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 Hayashi Y, Kawaki H, Hori M, Shintani K, Hasegawa T, Tanaka M, Kondoh N, Yoshida T, Kawano S, Tamaki Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 Evaluation of the mechanical properties and biocompatibility of gypsum-containing calcium silicate cements.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dent Mater J.	6. 最初と最後の頁 863-869.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2020-086.	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 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 高橋 萌, 神谷真子, 池野久美子, 上野恭平, 梅村直樹, 高山英次, 川木晴美, 中村源次郎, 村松泰徳, 近藤信夫
2. 発表標題 Artepillin CおよびCaffeic acid phenethyl ester(CAPE)によるIL-2産生促進作用の比較
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神谷真子, 高山英次, 川木晴美, 梅村直己, 上野恭平, 高橋 萌, 智原栄一, 村松泰徳, 近藤信夫
2. 発表標題 マウス刺激脾細胞のインターロイキン-2産生におよぼすミダゾラムの効果
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤 恵, 神谷真子, 池野久美子, 上野恭平, 梅村直樹, 高山英次, 川木晴美, 中村源次郎, 近藤信夫
2. 発表標題 カフェイン酸フェネチルエステル(CAPE)による抗CD3抗体刺激マウス脾細胞のサイトカイン産生調節機構
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 玉置幸道, 新谷耕平, 奥山克史, 堀口敬司, 川木晴美, 苅谷優子
2. 発表標題 炉内焼成によるリン酸カルシウム合成に関する研究
3. 学会等名 第37回日本歯科産業学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 第79回日本歯科理工学会春季学術講演会
2. 発表標題 リン酸アンモニウムを利用したリン酸三カルシウム合成の検討(第2報) 水練和の影響
3. 学会等名 新谷耕平, 玉置幸道, 奥山克史, 堀口敬司, 川木晴美, 苅谷優子, 住友伸一郎
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 巽 勇介, 川木 晴美, 上野 恭平, 新谷 耕平, 梅村 直己, 神谷 真子, 高山 英次, 堀田 正人, 二階堂 徹, 近藤 信夫
2. 発表標題 陰イオン交換により作製した異なるホウ素濃度の S-PRG フィラー抽出液のヒト歯髓由来幹細胞への影響
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鶴田はねみ、神谷 真子、池野久美子、上野 恭平、梅村 直己、高山 英次、川木 晴美、中村源次郎、二階堂 徹、近藤 信夫
2. 発表標題 ブラジル産プロポリスによる抗 CD3 刺激脾細胞の IL-2 産生促進作用の解析
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋 萌、神谷 真子、川木 晴美、池野久美子、高山 英次、中村源次郎、梅村 直己、上野 恭平、村松 泰徳、近藤 信夫
2. 発表標題 Artepillin C および PPAR- 阻害, GW9662 による抗 CD3 抗体刺激マウス脾臓細胞のサイトカイン産生の修復
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷 真子、高山 英次、川木 晴美、梅村 直己、上野 恭平、高橋 萌、智原 栄一、村松 泰徳、近藤 信夫
2. 発表標題 マウス刺激脾細胞の IL-10 産生におよぼすミダゾラムの効果
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安藤 恵、神谷 真子、池野久美子、上野 恭平、梅村 直己、高山 英次、川木 晴美、中村源次郎、近藤 信夫
2. 発表標題 中国産プロポリスによる抗 CD3 刺激脾細胞のサイトカイン産生の調節
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新谷耕平, 玉置幸道, 奥山克史, 駒田裕子, 堀口敬司, 川木晴美, 苅谷優子, 住友伸一郎.
2. 発表標題 リン酸アンモニウムを利用したリン酸三カルシウム合成の検討
3. 学会等名 第78回日本歯科理工学 秋期学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kondoh N, Matsunami A, Mizuno-Kamiya M, Ando M, Umemura N, Takayama E, Kawaki H, Ueno K, Muramatsu Y, Morimoto-Ito H and Sumitomo S
2. 発表標題 Augmented secretion of IL-1 from mouse oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells caused by the serum deprivation and hypoxia promotes immune-suppressive activity of mesenchymal stromal cells.
3. 学会等名 AACR Annual meeting 2021, Virtual Meeting, Week 1 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

朝日大学歯学部口腔生化学分野ホームページ http://scw.asahi-u.ac.jp/~biochem/index.html

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	堀田 正人 (Hotta Masato) (10157042)	朝日大学・その他部局等・教授 (33703)	

6. 研究組織（つづき）

	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	横川 善之 (Yokogawa Yoshiyuki) (20358310)	大阪市立大学・大学院工学研究科・名誉教授 (24402)	
研究分担者	近藤 信夫 (Kondoh Nobuo) (40202072)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	
研究分担者	新谷 耕平 (Shintani Kohei) (50824455)	朝日大学・歯学部・助教 (33703)	
研究分担者	高山 英次 (Takayama Eiji) (70533446)	朝日大学・歯学部・准教授 (33703)	
研究分担者	上野 恭平 (Ueno Kyohei) (70837848)	朝日大学・歯学部・助教 (33703)	
研究分担者	神谷 真子 (Kamiya Masako) (80181907)	朝日大学・経営学部・教授 (33703)	
研究分担者	玉置 幸道 (Tamaki Yukimichi) (80197566)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	
研究分担者	長谷川 智哉 (Hasegawa Tomoya) (80761585)	朝日大学・歯学部・助教 (33703)	

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