

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21009

研究課題名(和文)量子・X線ビーム技術および数理モデルの統合による抗う蝕性イオンの動態解析

研究課題名(英文) Dynamic analysis of anti-carcinogenic ions by harmonizing of Quantum / X-ray beam technology with mathematical modeling

研究代表者

内藤 克昭 (Naito, Katsuaki)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：70909506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、バイオミネラリゼーションに基づく"削らないう蝕治療"を達成すべく、F、Ca、Zn、Srなどの抗う蝕性イオンを歯質に導入する際に、歯質内でのイオン動態現象を時間的・空間的に明らかにすることを目的とした。量子・X線ビーム技術のうち、X線吸収分光法を用いることで、耐酸性向上に関与した亜鉛イオンが象牙質内で4配位構造を持つ共有結合を有している可能性が示唆された。また有限要素法を用いたイオン拡散の解析については、象牙細管内の流体流れをハーゲン・ポアズイユ流れに従うように組み込んだ数理モデルで、3次元でのフッ化物イオンの拡散現象を可視化することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、結合様式という原子レベルでの違いが、耐酸性というマクロな現象に影響を与えることを示した。また理論的にイオンの拡散現象を明らかにすることで、拡散に関与する因子を明確にできた。これらの結果は、う蝕研究において、原子レベルでの解析が、これまで未知とされてきたう蝕の動態現象の解明につながることで、理論的なアプローチは、理論的な背景に基づいた革新的な材料開発に発展する可能性があること、これら2点が重要な意義をもつといえる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to clarify temporally and spatially the ionic dynamics in dentin when anti-cariogenic ions such as fluoride, calcium, zinc, and strontium were incorporated into dentin. Using X-ray absorption spectroscopy, one of the quantum and X-ray beam techniques, it was suggested that the zinc ion was involved in improving the acid resistance enhancement and may have a covalent bond with four-fold coordination in dentin. In the finite element analysis, we were able to visualize the diffusion of fluoride ions in three dimensions using a mathematical model that incorporated fluid flow in dentin tubules to follow the Hagen-Poiseuille flow.

研究分野：う蝕学

キーワード：根面う蝕 PIXE/PIGE X線吸収分光 有限要素法

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

う蝕に対する抗う蝕性イオンの有効性は、特にフッ化物において *in vitro* の研究だけでなく、疫学研究でも認められている。しかしながら、高齢者のう蝕罹患率は、残存歯数の増加に伴って明らかな増加傾向にあり、対応すべき喫緊の課題となっている。これまでも F, Ca, Zn, Sr などの抗う蝕性イオンを歯質に導入する機能性材料の開発が行われていたものの、これらのイオンがどのような化学反応を生じ、拡散するのかという時間・空間的な反応過程の核心が明らかにされていない。これが現在でもう蝕の撲滅に至らない理由である。

歯質に対するイオン導入は、複雑な拡散・移流・化学反応を伴う動態現象である。これらの拡散・移流・化学反応は、移流拡散方程式および化学反応速度式などの微分方程式を組み合わせた数理モデルとして表すことが可能である。数理モデルを応用するために、近年リチウムイオン電池の開発等で用いられている有限要素法によるマルチフィジックス解析に着目した。有限要素法は、任意の2次元・3次元形状における数値解析手法として用いられており、機械的物性評価だけでなく、流体现象にも応用することができる。本手法をイオン動態に適応することにより、実験的手法では測定困難である時間・空間的な反応過程を明らかにできると想起した。

### 2. 研究の目的

量子・X線ビーム技術を応用した各種分光法で測定したデータと数理モデルを用いた理論的解析を組み合わせ、抗う蝕性イオンの動態現象を時間・空間的に明らかにすることである。う蝕予防・治療との関わりのあるイオン導入において、理論的な解析手法を用いてマクロと原子・分子スケールをつなぐメソスケールでの反応現象を明らかにする試みは、世界的に見ても斬新であり、う蝕学に量子・X線ビーム技術と数理科学を組み合わせた異分野融合研究である点も独自性を有する。本研究は、ミネラル喪失というマクロなう蝕病態を工学的手法による原子・分子スケール解析と、物質輸送に関する数理モデルを用いた理論的な検証を統合し、理論的な背景に基づくう蝕治療・予防法の開発につなげることを目指す。

### 3. 研究の方法

各種分光法を用いた実験手法と理論的解析手法を融合しながら、下記の点について研究を進めた。

(1) 粒子線 X線 $\gamma$ 線励起分析 (PIXE/PIGE) 法による定量的多元素濃度の同時測定および抗う蝕性評価：ヒト健全第三大臼歯から根面象牙質露出試料を採取し、高崎量子応用研究所にて PIXE/PIGE 法による定量的元素濃度の同時測定を行い、 $\mu$ CT との脱灰評価と組み合わせ、イオン導入による抗う蝕性の評価を行った。

(2) X線回折法および X線光電子分光法による反応生成物の解析：薄膜 X線回折法による結晶構造物の推定、および X線光電子分光法を用いた結合エネルギーの測定からイオン導入に伴って生じた表層の化学物質を分析した。

(3) 有限要素法を用いたイオン拡散挙動のシミュレーション：(1)、(2) で得られた健全歯質のフッ化物イオンの分布データから、拡散方程式を用いて歯質の拡散係数を導出し、有限要素法の解析モデルに組み込んだ。本研究では、まずバルクでの拡散状態を評価するために、極めて単純なモデルを作製した。その後、象牙細管の役割をシミュレーションするために、象牙細管モデルを作製し、細管内部を流れる流体を解析モデルに組み込んだ。このモデルを有限要素法ベースの汎用物理シミュレーションソフトウェア COMSOL Multiphysics<sup>®</sup> を使用して、マルチフィジックス解析を行い、イオン動態を解析した。

### 4. 研究成果

PIXE/PIGE 法でフッ化物バーニッシュおよび亜鉛含有ガラスアイオノマーセメントを塗布した根面象牙質を測定したところ、フッ化物は表層で最も高く、深部に向かうにつれて徐々に減少する挙動を示した。一方で、亜鉛は表層 30 $\mu$ m 以内にとどまり、深部ではほとんど検出されなかった。同様にストロンチウムは、亜鉛とは異なり、深部まで浸透していくことが観察された。 $\mu$ CT で脱灰による影響を評価したところ、フッ化物と亜鉛を含有した試料では、高い耐酸性を示した。フッ化物とストロンチウムを含有した試料では、亜鉛と比較して低い耐酸性だった。この結果から、フッ化物だけでなく、亜鉛も耐酸性に有効である可能性が示唆された。

X線回折法を用いて、亜鉛を浸透させた象牙質を計測したところ、ハイドロキシアパタイトの構造を維持したままであることがわかり、亜鉛の導入は結晶構造に影響を与えないことが示唆された。続いて化学結合状態を解析するために X線光電子分光法を行ったところ、亜鉛含有象牙質は、亜鉛含有ハイドロキシアパタイト、酸化亜鉛およびフッ化亜鉛四水和物と類似したピーク位置を示した。またオージェ電子分光で結合エネルギーを調べたところ、亜鉛含有ハイドロキシアパタイトと酸化亜鉛のピーク位置はほぼ一致した一方で、フッ化亜鉛四水和物のピーク位置は明らかに異なった。以上より、亜鉛含有象牙質は亜鉛含有ハイドロキシアパタイトと酸化亜鉛に類似した化学結合状態であることが示唆された。

拡散係数を導出するために、PIXE/PIGE法で得られた濃度-距離曲線に対して拡散方程式(Fickの第2法則)を適応した。実験で検出されたフッ化物濃度の分布を上記式に代入して、非線形最小2乗近似をすることで見かけ上の拡散係数Dを求めた。その結果、拡散係数が $7.59 \times 10^{-11} \text{ (m}^2/\text{s)}$ であるとわかった(図1(a))。この拡散係数を2次元モデルおよび3次元象牙細管モデルに適応して、フッ化物イオンの拡散挙動をシミュレーションした。

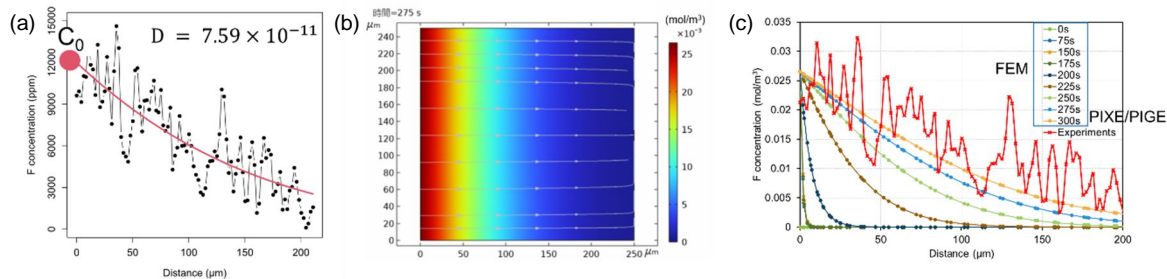


図 1. 2次元モデルにおけるフッ化物イオンの拡散挙動シミュレーション。(a) PIXE/PIGE法で測定されたフッ化物イオン濃度曲線に、拡散方程式を適応することにより拡散係数Dを算出した。(b) 2次元バルクモデルのフッ化物イオン濃度変化。左側が表層を示し、表層から深部に向かって濃度に差が生じていることがわかる。(c) 2次元バルクモデルのラインプロファイルを取得し、PIXE/PIGE法で得られた実験値との比較図。

時間分解によるシミュレーションの結果、バルクモデルではフッ化物イオン濃度の変化を2次元図で示すことに成功した。また1次元でのラインプロファイルから、濃度-距離曲線を作製したところ実験値と類似したため、今回使用した数理モデルが概ね妥当であることがわかった。

続いて、3次元象牙細管モデルでのシミュレーションを行った。ここでは、細管内の流体の流れをハーゲン・ポアズイユ流れとして規定し、歯髄側から歯根表面に向かう細管内液の流れとして組み込んだ。また細管内の流れだけでなく、バルクモデルと同様の拡散方程式も適用し、マルチフィジックス解析を行ったところ、バルクの表層部分よりも細管内に早くフッ化物が浸透し、内部へ拡散することを明らかにした。

これまで歯質のイオン導入において、時間的な概念に焦点が当たることはほとんどなかったが、理論的な計算を用いることでイオンの拡散挙動を可視化することに成功し、歯科材料開発において理論的背景の必要性を認識させる先駆的な研究である。歯質内へのイオン導入を、単なる現象ではなく理論を踏まえて解析することで、拡散に重要な因子を見出すことができ、フッ化物だけでなく亜鉛や他のイオンのう蝕・治療効果を効率的に評価することのできる手法になり得る。本研究は、疫学的でしか評価することの難しい蝕予防効果に対し、歯質内のフッ化物イオン濃度を測定できれば、数理モデルに代入することで定量的に評価できる可能性を秘めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Naito K., Kuwahara Y., Yamamoto H., Matsuda Y., Okuyama K., Ishimoto T., Nakano T., Yamashita H., Hayashi M	4. 巻 215
2. 論文標題 Improvement of acid resistance of Zn-doped dentin by newly generated chemical bonds	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials and Design	6. 最初と最後の頁 110412
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.matdes.2022.110412	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 内藤 克昭, 山本 洋子, 松田 康裕, 奥山 克史, 林 美加子
2. 発表標題 フッ化物イオンの拡散過程解明に向けたマルチフィジックス解析モデルの構築
3. 学会等名 第157回日本歯科保存学会秋季学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Katsuaki NAITO, Tsuyoshi SHIMAOKA, Hikaru KANDA, Mikako HAYASHI
2. 発表標題 Inhibition of MMPs activities by Zn in human dentin proved by in situ zymography
3. 学会等名 INTERNATIONAL DENTAL MATERIALS CONGRESS 2022（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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