

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592793

研究課題名(和文) パウダージェットデポジション法による象牙質上HAp高機能インターフェイス創成

研究課題名(英文) Creation of functional interface on dentin by powder jet deposition

研究代表者

野地 美代子 (Noji, Miyoko)

東北大学・歯学研究科(研究院)・大学院非常勤講師

研究者番号：70431583

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：パウダージェットデポジション(PJD)法とは、アブレイシブジェット加工(AJM)を発展させたもので、歯の主成分であるハイドロキシアパタイト(HA)粒子を常温・常圧下で歯質上に高速で衝突させ、接着剤を介することなく、直接HA膜を形成する技術である。本研究では、PJD法医療機器の開発・実用化の臨床応用に先駆け、前臨床試験を実施し、in vivoにおいて本法の安全性(歯髄刺激性)とHA膜の口腔内安定性について評価した。PJD法における歯髄への安全性、HA膜の口腔内安定性が保たれていると考えられる。

研究成果の概要(英文)：A powder jet deposition (PJD) process can be used to create a thick hydroxyapatite (HA) film on the surface of a human tooth. In the experiment using dentin, class V cavities were prepared on the buccal surfaces of the teeth of beagle dogs and filled with (1) resin composite on the HA film, (2) zinc oxide-eugenol cement as a negative control group, or (3) zinc phosphate cement as a positive control group. In the experiment using enamel, the enamel was polished and coated with (1) the HA films, (2) resin sealants as one negative control group, and (3) glass ionomer cement as the other negative control group. No severe inflammatory responses were observed in all specimens applied by PJD, showing even milder response than that of specimens used as negative control. The bacteria were not identified in the pulp space or dentinal tubules in any postoperative periods.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：パウダージェットデポジション ハイドロキシアパタイト 前臨床試験

### 1. 研究開始当初の背景

パウダージェットデポジション (PJD) 法とは、東北大学大学院工学研究科ナノメカニクス専攻ナノ加工分野の厨川らが開発したアブレイブジェット加工(AJM)を発展させたもので、歯の主成分であるハイドロキシアパタイト (HA) 粒子を常温・常圧下で歯質上に高速で衝突させ、接着剤を介することなく、直接 HA 膜を形成する技術である。

現在使用されている歯科修復用の充填材や接着材は、物性および化学的・機械的組成が歯質と大きく異なり、歯質との界面においてギャップ形成が認められることから、微小漏洩、疲労破壊、溶解さらには二次カリエスや修復物脱離の原因となり得る。PJD 法により生成された HA 膜は、健全歯質と修復物との界面を歯質と同じ生体材料により一体化させるため、現行の問題点を解決し得る新たな手段であると考えられる。

これまでの研究により、口腔内で使用可能な形態のハンドピース型 PJD 装置を用いて、歯質平面上に平均膜厚約 50  $\mu\text{m}$  の HA 膜を形成し、

- ・エナメル質と同等の硬度
- ・エナメル質へ接着処理されたコンポジットレジンと同等の接着強度
- ・サーマルサイクル試験前後で変化しない形態性状、機械的性状
- ・pH サイクル試験でエナメル質と同等の耐久性

が示されたことより *in vitro* 試験における HA 膜の安定性が示唆された。(Akatsuka R et al, 2013)

### 2. 研究の目的

エナメル質表面に成膜した HA 成膜層の物性の良否は、成膜した HA 層の滑沢・光沢性等の膜の質感も重要であるが、成膜層自体の耐久性についても十分検討を行うことが重要である。既に *in vitro* 試験において、成膜層の物理化学的な性質を明らかにしてきたが、*in vivo* での評価は行っていない。そこで前臨床試験の安全性評価以外で使用することが可能であった歯を用いて、実際の口腔内での成膜層の安定性について、成膜層の有無を含めて検証を進めた。

本研究では、PJD 法医療機器の開発・実用化の臨床応用に先駆け、前臨床試験を実施し、*in vivo* において本法の安全性 (歯髄刺激性) と HA 膜の口腔内安定性について評価した。

### 3. 研究の方法

(1) 本研究は、東北大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認を得て (19 医施-1), JIST 6001:2012「歯科用医療機器の生体適合性の評価」の歯髄・象牙質使用模擬試験の項に準じて行われた。

- ・ハンドピース型 PJD 装置

噴射条件を加速圧 0.4MPa、供給圧 0.4MPa、HA 粉末量 5g、処理時間 60 秒間、噴射距離 1

~5mm、噴射角度は歯面・窩洞に対して垂直として成膜した。

・対象および試験期間  
ビーグル犬 (48 月齢) 3 頭が対象で、7 日、28 日、70 日の試験期間を設定した。

#### (2) 象牙質への安全性 (歯髄刺激性)

被験歯処置

総歯数  $n=15$  に V 級窩洞を形成し、次の材料にて成膜、充填、填塞を行った。

試験材料: PJD 法による HA 膜後にコンポジットレジン充填, PJD-HA と略 (7 歯/頭)

陰性対照材料: 酸化亜鉛ユーージノールセメント, ZOE と略 (4 歯/頭)

陽性対照材料: リン酸亜鉛セメント, Elite と略 (4 歯/頭)

歯髄および周囲組織評価

・歯髄の炎症状態を HE 染色, 歯髄への細菌の微小漏洩を Gram (Brown-Hopps 法) 染色にて確認した。

#### (3) エナメル質への安全性 (歯髄刺激性)

被験歯の準備

総歯数  $n=15$  の歯面に次の材料を成膜、築盛した。

試験材料: PJD 法による HA 膜 (7 歯/頭)

陰性対照材料: レジン系小窩裂溝封鎖材 (4 歯/頭), グラスアイオノマーセメント (4 歯/頭)

歯髄および他の組織評価 (象牙質への安全性試験に準ずる。)

#### (4) 口腔内安定性試験

被験歯の準備

総歯数  $n=3$  の歯面に PJD 法による HA 膜を成膜した。

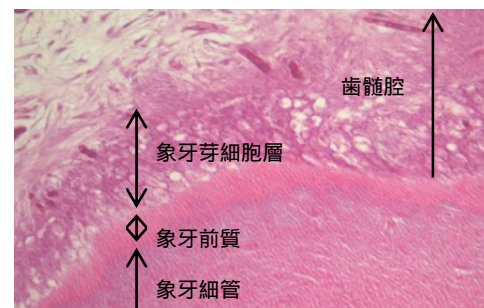
膜厚の評価

成膜した歯を抜去し、SEM にて断面観察を行った。

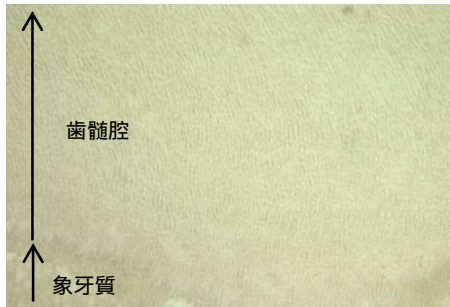
### 4. 研究成果

(1) 象牙質への安全性 (HA 成膜 28 日目の所見, 観察倍率 400 倍)

HE 染色: 象牙細管, 象牙前質に続いて正常な象牙芽細胞層が確認される。

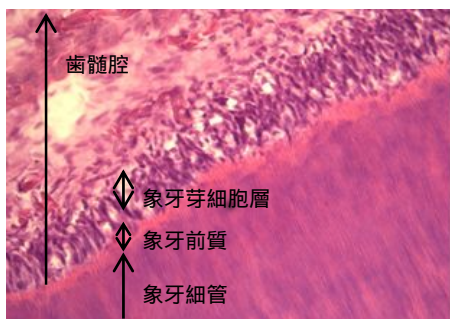


Gram 染色: 歯髄腔内に細菌侵入を認めない。炎症発生率 (各試料のうち炎症の等級 1 の割合)

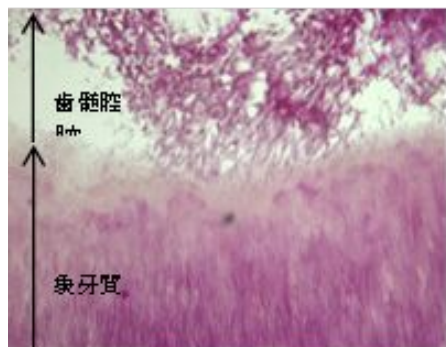


試験材料 (PJD-HA): 7 日, 28 日, 70 日の各試験期間において 14% (1 試料)  
 陰性対照材料 (ZOE): 0% (7 日), 25% (28 日), 25% (70 日)  
 陽性対照材料 (Elite): 75% (7 日), 5% (28 日), 25% (70 日)  
 ・試験材料のうち炎症の等級 2 以上のものは認められなかった。  
 ・すべての試験材料で歯髄腔内への細菌の微小漏洩は認められなかった。

(2) エナメル質への安全性 (HA 成膜 28 日目の所見, 観察倍率 400 倍)  
 HE 染色: 象牙細管, 象牙前質に続いて正常な象牙芽細胞層が確認される。

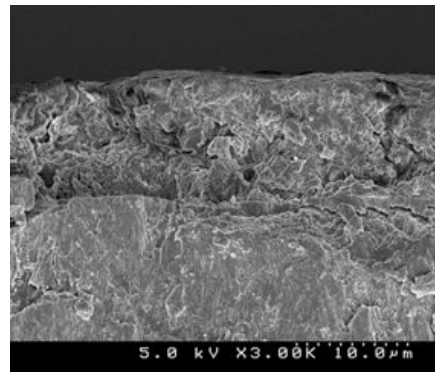


Gram 染色: 歯髄腔内に細菌侵入を認めない。  
 試験材料 (PJD-HA)



試験期間 7 日目において, 7 試料中の 1 試料で軽度の炎症を認めた。  
 陰性対照材料  
 グラスアイオノマーセメントでは試験期間 28 日目において, 4 試料中の 1 試料で軽度の炎症を認めた。  
 すべての試験材料で歯髄腔内への細菌の微小漏洩は認められなかった。

(3) エナメル質表面の成膜耐久性および厚さ確認試験  
 ・各試験期間において HA 成膜層が確認された。  
 ・HA 粒子は緻密な成膜層を形成しており, 成膜厚さが約 10 μm であることが確認された。  
 ・試験期間による成膜層の厚みの差は認められなかった。



(4) 象牙質への安全性評価では, 各試験期間において PJD-HA では軽度の炎症を認めたが, それ以上の炎症は認められなかったこと, 対象試料と比較して炎症発生率が低いことから歯髄為害性はほぼ無いと思われる。認められた軽度の炎症は, 窩洞形成時の刺激が一部炎症として残存したためと考えられる。また, 細菌の微小漏洩が観察されないことから, 試験手法には問題が無いことが示唆される。

エナメル質への安全性評価でも, PJD-HA では軽度以上の炎症を認めたものは無く, エナメル質に対して処置した場合にでも歯髄為害性がほぼ無いと考えられる。

口腔内安定性試験では, 各試験期間においてエナメル質上に約 10 μm の HA 成膜層が確認され, また試験期間で膜厚にほぼ変化が認められないことから, 口腔内で安定して存在していると考えられる。

以上より, PJD 法における歯髄への安全性, HA 膜の口腔内安定性が保たれていると考えられる。

前臨床試験において本法の安全性, 安定性が確認されたため, 臨床応用に向けて探索的臨床研究のプロトコル作成, 試験実施により, ヒトにおける安全性と評価方法の確立を行っていく。

### 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 2 件)

Akatsuka R, Matsumura K, Noji M, Kuriyagawa T, Sasaki K. Evaluation of thermal stress in hydroxyapatite film fabricated by powder jet deposition. Eur J Oral Sci. 査読有、2013 Oct;121(5):504-7. doi:10.1111/eos.1207

6.

Akatsuka R, Ishihata H, Noji M,  
Matsumura K, Kuriyagawa T, Sasaki K.  
Effect of hydroxyapatite film formed by  
powder jet deposition on dentin  
permeability. Eur J Oral Sci. 査読有、  
2012  
Dec;120(6):558-62.doi:10.1111/j.1600-0  
722.2012.01003.x.

[学会発表](計3件)

赤塚亮,松村賢,野地美代子,厨川常元,  
佐々木啓一. HA 粉体の高速噴射(パウダー  
ジェットデポジション)による HA 厚膜形  
成の歯科臨床応用に関する研究. 第 22 日  
本歯科医学会総会. 2012/11/9-11. 大阪

Akatsuka R, Matsumura K, Noji M,  
Nishikawa C, Sato K, Hagiwara T, Anada  
T, Suzuki O, Kuriyagawa T, Sasaki K.  
Evaluation of Hydroxyapatite Film by  
Powder Jet Deposition after Artificial  
Aging. BIOCERAMICS 24. 2012/10/21-24.  
Fukuoka

Akatsuka R, Ishihata H, Noji M,  
Matsumura K, Anada T, Kuriyagawa T,  
Suzuki O, Sasaki K. Effect of HAp Film  
Formed by Powder jet deposition on  
dentin permeability. 14th meeting of the  
International College of  
Prosthodontists. 2011/9/8-12. Hawaii,  
USA

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

野地 美代子 (NOJI, Miyoko)  
東北大学・歯学研究科(研究院)・大学院  
非常勤講師  
研究者番号: 70431583

### (2)研究分担者

佐々木 啓一 (SASAKI, Keiichi)  
東北大学・歯学研究科(研究院)・教授  
研究者番号: 30178644

赤塚 亮 (AKATSUKA, Ryo)  
東北大学・歯学研究科(研究院)・助教  
研究者番号: 10586514

### (3)連携研究者

鈴木 治 (SUZUKI, Osamu)  
東北大学・歯学研究科(研究院)・教授  
研究者番号: 60374948

厨川 常元 (KURIYAGAWA, Tsunemoto)  
東北大学・工学研究科(研究院)・教授  
研究者番号: 90170092