

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 10 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592810

研究課題名(和文)自己修復能を有する接着システムの再石灰化能判定への新たなモダリティーの導入

研究課題名(英文) A New Modality for the Investigation of the Remineralization Efficacy of a Self-curing Adhesive System

研究代表者

宮崎 真至 (MIYAZAKI, Masashi)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：70239391

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)：歯質接着耐久性を向上させるために、微量元素によって象牙質の再石灰化を促進させる次世代自己修復型接着システムの再石灰化能を超音波透過法ならびに光干渉断層画像診断法(Optical Coherence Tomography, 以後, OCT)を用いて検討した。その結果PRGフィラーを含有する修復システムは、歯質の脱灰抑制および石灰化作用を有することが明らかになった。また、超音波測定ならびにOCTを用いることによって、歯質における初期の脱灰および石灰化の様相を検討することが、これらのモダリティーを応用することによって可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to know demineralization effect of self-healing adhesive system utilizing ultrasonic device and optical coherence tomography (OCT). The propagation time of longitudinal ultrasonic waves was measured by a pulser receiver with a transducer. The sonic velocity decreased over time for specimens stored in demineralising solution; however, coated specimens had a significantly higher sonic velocity than those without coating. From the OCT observations, obvious changes in B-scan mode were observed, and decreases in signal intensities were detected for the specimens with acidic attack. From the results of this study, the coating material containing PRG fillers therefore appeared to reduce the demineralisation of enamel. The condition of demineralization of the tooth structure could be measured non-destructively by using an ultrasonic device and OCT.

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：光干渉断層画像診断法 超音波測定 歯質接着システム 再石灰化 イオン徐放 S-PRGフィラー

## 1. 研究開始当初の背景

歯質接着性レジンの象牙質接着機構において、ハイブリッド層の形成が重要であり、その形態的ならびに機能的検討は現在も国内外で積極的に続けられている。最近では、歯質接着性レジンシステムの長期耐久性を低下させる因子として、象牙質基質あるいは口腔内から放出される MMP がハイブリッド層に及ぼす影響について検討されている。すなわち、口腔内の細菌や唾液中の消化酵素などがレジンと象牙質との接合界面付近のコラーゲン線維に加水分解をもたらす接着構造を崩壊させるというものである。また、申請者は、象牙質接合界面にはレジンモノマーの傾斜移行性があり、その深部には脱灰露出コラーゲン繊維が存在することを明らかにしてきた。

一方、象牙質の再石灰化を促進させる微量元素としては、F 以外に Ca, P, Mg, Si および Al が挙げられる。とくに、Si を多く含んだ bioactive glass S53P4 は、象牙質の再石灰化とともに、象牙細管への石灰化物の沈着を誘発する作用を持つことが示されている。そこで、次世代歯質接着システムとして、Si を象牙質接合界面に徐放することによって、この部の積極的な再石灰化を可能とする“自己修復型接着システム”が開発された。

そこで申請者は、次世代歯質接着システムとして、各種イオンを象牙質接合界面に徐放することによって、この部の積極的な再石灰化を可能とする“自己修復型接着システム”の効果を検証する新たなモダリティーを構築するという着想に至った。すなわち、この新たな接着システムの再石灰化に及ぼす効果について、超音波透過法ならびに光干渉断層画像診断法を新たなモダリティーとして用いることによって検討した。

## 2. 研究の目的

歯冠修復物の口腔内における予後を支える重要な因子の一つとして、歯質接着システムの存在が挙げられる。しかし、その長期接着耐久性に関しては、必ずしも安定したものではなく、象牙質基質から放出される Matrix Metalloproteinase (MMP) などによって劣化する可能性が指摘されている。したがって、接着システムの予後を考えると、脆弱な接合界面を検知する手法の立案とともに、劣化部を改善する臨床的手法に関する早急な検討が必要と考えられる。そこで本研究の目的は、象牙質接合界面における接着耐久性の向上効果を判定するモダリティーを考案するとともに、これによって欠陥の生じにくい接合界面を形成することが可能な自己修復性接着システムの一助とすることである。

## 3. 研究の方法

(1) 試作 PRG フィラーを調整し、このフィラーからの徐放イオン抽出液を精製する。抽出溶液は、各種イオン濃度を数段階に変化させたものとする。ウシの抜去歯から得た試片を用いて、口腔内環境をシミュレートした pH サイクルを設定して脱灰させる。さらに、このサイクルに S-PRG フィラー抽出液を応用し、その際に生じる歯質の変化について検討する。その形態的变化および歯質の微量元素検出には、フィールドエミッション走査電子顕微鏡および付属の Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) を用い、これらを確認する。また、超微小硬さ測定装置を用いて歯質の弾性率の変化を検討することで、従来からのモダリティーによる評価を確立する。

(2) 光干渉断層装置 (Optical Coherence Tomography, OCT) を石灰化を検出する新たなモダリティーとして超音波透過法の成績との比較、検討を行うことで歯質の再石灰化と徐放イオンとの関係を明らかにする。OCT は、光学干渉計を応用した技術で光源が生体に有害性を持たない近赤外光を用い、非侵襲的に生体表面近くの精密断層像を得ることを可能とする方法で、次世代診断用機器として期待されているものである。なお、本装置の調整は、初年度から開始した。さらに、広く工業界あるいは医学領域でも使用されている超音波透過法を用いて、歯質における超音波特性を非破壊的に測定する。本法は、音速の変化を指標として再石灰化能を評価する。

(3) OCT による評価を継続しながら、形態的観察、超音波測定ならびに超微小硬さ測定装置を用いた検討を継続する。これによって、超音波特性とともに弾性率変化の結果を併せ、OCT で得られた情報が歯質の石灰化の判定に有効であることを検証する。さらに、この検証によって、S-PRG から徐放される至適イオン濃度を提示することによって、次世代自己修復型接着システムの開発の一助とする。

## 4. 研究成果

(1) S-PRG フィラー溶出液がウシ歯エナメル質および象牙質の脱灰および再石灰化におよぼす影響では、0.1M 乳酸緩衝液による脱灰群では、他の条件と比較して経時的にその音速が低下する傾向が認められた。一方、S-PRG フィラー溶出液適用群ではエナメル質および象牙質試片ともに音速が上昇する傾向が認められた (図)。この歯質を透過する音速の変化は、S-PRG フィラー溶出液が脱灰抑制あるいは再石灰化に影響を及ぼしたことを示すものである。

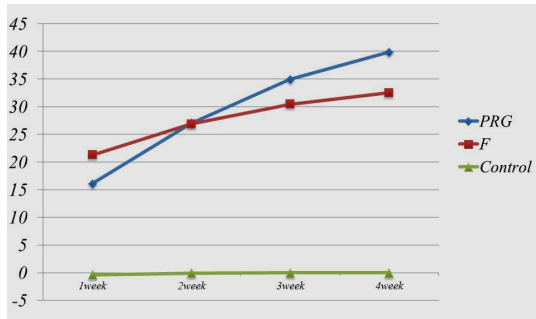


図1 縦波音速の経時的変化

また、SEM およびレーザー顕微鏡像からは、エナメル質ではS-PRG フィラー溶出液適用群で脱灰を示す像は観察されず、S-PRG フィラー由来と考えられる付着物あるいは析出物が認められた。一方、象牙質においては0.1M 乳酸緩衝液による脱灰群で象牙細管の漏斗状拡大が観察されたがS-PRG フィラー溶出液適用群では象牙細管の開口あるいは閉鎖している像などが混在して認められた。

以上の結果から、S-PRG フィラー溶出液は、歯質の脱灰抑制効果および再石灰化促進作用を有することが示唆された。再石灰化には、S-PRG フィラーから放出される F, Si あるいは Sr などの各種イオンが有効であり、これらの効果が超音波透過法によって確認された。

(2) 人工唾液保管群におけるコート塗布直後の OCT イメージ像からは、塗布面表層とその下方に強度分布を示す画像が得られ、その信号強度グラフからは、最大ピークのほかに信号の増強が検出された(図2)。一方、実験期間の延長に伴い、コーティング面表層でのシグナルは減少し、その部位での信号解析からは、ピーク幅の拡大が認められた。非コーティング面の歯質は、塗布直後に比べ表層でのシグナルは増加し、そのグラフ解析より信号強度は増幅していることが判明した(図3)。

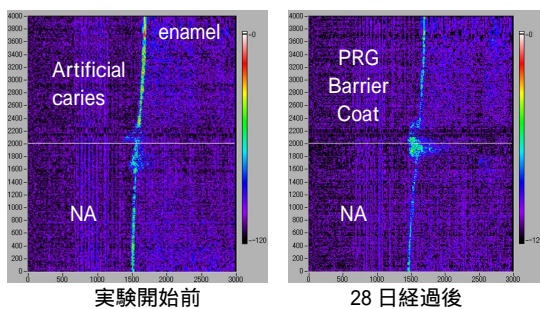


図2 OCT 像

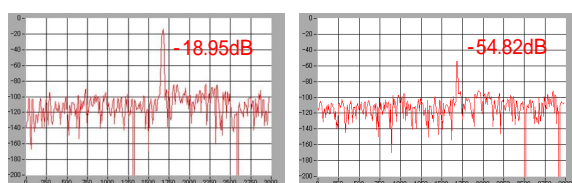


図3 PRG が信号ピーク強度に及ぼす影響

レーザー顕微鏡による観察からは、観察期間の延長に伴って歯質表面が粗糙になる傾向が認められた。OCT を用いた歯質断層像の解析においては、歯質が脱灰することによって生じた基質的变化が光線透過性に影響を及ぼすことによって、OCT イメージ像の変化として表れた。さらに、A スキャンモードにおける信号強度で検出されるピークの幅あるいは位置を検討することによって、より詳細な解析が可能であった。

以上の結果から、S-PRG フィラー含有コート材は歯質に生じる脱灰を抑制し、再石灰化を促進することを、OCT を用いて観察することが可能であった。

(3) S-PRG フィラー含有コート材の影響に関する検討では、コート塗布によって人工唾液浸漬条件においては、浸漬期間の延長に伴って表面のシグナル強度は低下する傾向がみられた。一方、脱灰液浸漬条件では、シグナル強度は増加する傾向がみられた。一方、PRG バリアコート塗布しなかった群での脱灰液浸漬条件においては、OCT 像の表面シグナル強度は増加し、 $1/e^2$  幅は減少する傾向がみられた。また、レーザー顕微鏡像では、人工唾液浸漬条件において、削除痕の平坦化が認められたのに対し、脱灰液浸漬条件では、表面性状の粗糙化が進行した結果が得られた。シグナル強度の変化を浸漬期間でみた場合、人工唾液浸漬期間の延長における表面のシグナル低下および、内部シグナル増加傾向は、エナメル質表面の光学的性質の変化に起因していると考えられる。すなわち、エナメル質表面での散乱光が減少したことによって、光線の深部到達性が増し、さらには内部での光干渉性が向上し、検出が可能になったと考えられる。 $1/e^2$  幅を用いた解析では、PRG バリアコート塗布した群のピーク値は、人工唾液浸漬条件において、優位に増加する傾向がみられた。これは、先に述べた表面での散乱の減少および深部到達性の向上によって、低シグナルの検出頻度が増加したことにより、OCT 像での深部可視化が向上したものと考えられた。

以上の結果から、超音波測定ならびに OCT を用いることによって、エナメル質における初期の脱灰および石灰化の様相を検討することが、これらのモダリティを応用することによって可能であることが示された。

(4) エナメル質初期齲蝕病変における OCT イメージ像の解析法について、ウシ歯エナメル質に pH サイクルを负荷した際の状態変化を、OCT 装置を用いて経時的に観察し、信号強度分布から最大ピーク強度値および  $1/e^2$  幅を求めることによって検討した。その結果、精製水保管条件における OCT イメージ像は、実験期間の延長に伴っ

てエナメル質表層におけるシグナル輝度の上昇が認められた。また、レーザ顕微鏡像は実験開始前では、スマヤー層がエナメル質表面を覆う像が観察され、表面粗さは0.08 μm だったのに対し、28 日経過後ではエナメル小柱が露出し、表面粗さが0.14 μm と大きくなった。OCT イメージ像は、照射光線の歯質表層あるいは内部での反射性の強弱を段階ごとにカラー表示することで、透過率の高い部分は照射された光線の反射光強度が少なく暗部として、逆に散乱の強い部分では明部として可視化される。精製水保管条件のOCT イメージ像において、pH サイクル適用後にエナメル質表層のシグナル輝度が上昇したが、人工唾液保管条件では、28 日後ではエナメル質表層のシグナル輝度に変化は認められず、内部断層像の色調に変化が認められた。また、レーザ顕微鏡像では、精製水保管条件と比較して平坦な表面性状が観察された。このように、人工唾液保管条件においてエナメル質内部の変化が観察された理由としては、エナメル質表面の脱灰が抑制されたために、試片内部への光線透過性が増大し、OCT イメージ像の色調変化として表れたものと考えられた。

以上のように、本実験の結果から OCT を用いた歯質断層像の解析では、エナメル質が脱灰することによって生じた基質的变化が光線反射性および透過性に及ぼす影響を、OCT イメージ像の変化として捉えられることが示された。さらに、ピーク強度値および 1/e<sup>2</sup> 幅を測定することで、より詳細な解析が可能であることが示された。

#### 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 11 件)

Asano K, Kawamoto R, Iino M, Furuichi T, Nojiri K, Takamizawa T, Miyazaki M, Effect of pre-reacted glass-ionomer filler extraction solution on demineralization of bovine Enamel, Oper Dent, 2014, 39, 159-165, 査読有、DOI: 10.2341/13-034-L

Iino M, Murayama R, Shimamura Y, Kurokawa H, Furuichi T, Suzuki T, Miyazaki M, Optical coherence tomography examination of the effect of S-PRG filler extraction solution on the demineralization of bovine enamel, Dent Mater J, 2014, 33, 1-6, 査読有、DOI:10.4012/dmj.2013-202J0IJST.JSTAGE/dmj/2013-202

Hosoya Y, Tadokoro K, Inoue T, Miyazaki M, Tay FR, Effect of SI-R20401 to remineralize artificial incipient

enamel lesions in primary teeth, J Oral Sci, 2013, 55, 301-310, 査読有、DOI: 10.2334/josnusd.55.301

Hosoya Y, Tadokoro K, Otani H, Hidaka K, Inoue T, Miyazaki M, Tay FR, Effect of ammonium hexafluorosilicate application for arresting caries treatment on demineralized primary tooth enamel, J Oral Sci, 2013, 55, 115-121, 査読有、DOI: 10.2334/josnusd.55.115.223)

Hosoya Y, Ando S, Otani H, Yukinari T, Miyazaki M, Garcia-Dodoy F, Ability of Barrier Coat S-PRG coating to arrest artificial enamel lesions in primary teeth, Am J Dent, 2013, 26, 286-290, 査読有、<http://www.amjdent.com/Archive/Abstracts/2013/October%202013%20Abstracts.html>

Endo H, Kawamoto R, Takahashi F, Takenaka H, Yoshida F, Nojiri K, Takamizawa T, Miyazaki M, Evaluation of a calcium phosphate desensitizer using an ultrasonic device, Dent Mater J, 2013, 32, 456-461, 査読有、DOI: /10.4012/dmj.2012-308

Murayama R, Furuichi T, Yokokawa M, Takahashi F, Kawamoto R, Takamizawa T, Kurokawa H, Miyazaki M, Ultrasonic investigation of the effect of S-PRG filler-containing coating material on bovine tooth demineralization, Dent Mater J, 2012, 31, 954-959, 査読有、DOI:10.4012/dmj.2012-153

島村 穰、高橋史典、竹中宏隆、吉田ふみ、池田昌彦、森 健太郎、黒川弘康、安藤 進、宮崎真至、歯質の乾燥状態が光干渉断層画像に及ぼす影響、日歯保存誌、2012、55 巻、333-339、査読有、[http://www.hozon.or.jp/member/pdf/vol55\\_no5/333.pdf](http://www.hozon.or.jp/member/pdf/vol55_no5/333.pdf)

Hosoya Y, Watanabe E, Tadokoro K, Inoue T, Miyazaki M, Tay FR, Effects of an ammonium hexafluorosilicate application on demineralized enamel and dentin, J Oral Sci, 2012, 54, 267-272, 査読有、DOI: 10.2334/josnusd.54.267

Takimoto M, Ishii R, Iino M, Shimizu Y, Tsujimoto A, Takamizawa T, Ando S, Miyazaki M, Influence of temporary cement contamination on the surface free energy and dentine bond strength of self-adhesive cements, J Dent, 2012, 40, 131-138, 査読有、DOI: 10.1016/j.jdent.2011.11.012.

Shimamura Y, Murayama R, Kurokawa H, Miyazaki M, Mihata Y, Kamaguchi S, Influence of tooth-surface hydration

conditions on optical  
coherence-tomography imaging, J Dent,  
2011, 39, 572-577、査読有、 DOI:  
10.1016/j.jdent.2011.06.004.

〔学会発表〕(計9件)

村山 良介、照射レーザーの波長が歯質の  
OCT 像に及ぼす影響、日本歯科保存学会  
2013 年度春季学術大会、2013.6.28、福  
岡国際会議場、福岡  
飯野正義、歯質残存厚径への OCT 像の  
応用、日本歯科保存学会 2013 年度春季  
学術大会、2013.6.28、福岡国際会議場、  
福岡  
竹中 宏隆、S-PRG フィラー含有試作歯  
磨剤がウシ象牙質におよぼす影響、日本  
歯科保存学会 2013 年度春季学術大会、  
2013.6.27、福岡国際会議場、福岡  
古宅 眞由美、OCT を用いたシーラント  
填塞状態の観察、日本歯科保存学会 2012  
年度秋季学術大会、2012.11.23、広島国  
際会議場、広島  
村山 良介、OCT による乳歯の脱灰状況  
の観察、日本歯科保存学会 2012 年度秋  
季学術大会、2012.11.23、広島国際会議  
場、広島  
島村 穰、象牙質の湿潤状態が OCT イメ  
ージに及ぼす影響、日本歯科保存学会  
2012 年度秋季学術大会、2012.11.22、広  
島国際会議場、広島  
黒川 弘康、次世代に向けた診査法 光  
干渉断層画像診断法 (OCT) の歯科臨床  
への応用、第 22 回日本歯科医学会総会、  
2012.11.11、インテックス大阪、大阪  
島村 穰、象牙細管の走行が OCT イメ  
ージ像に及ぼす影響、日本歯科保存学会  
2012 年度春季学術大会、2012.6.28、沖  
縄コンベンションセンター、沖縄  
飯野 正義、光干渉断層画像法の歯質残  
存厚径測定への応用、第 59 回日本歯科  
理工学会学術講演会、2012.4.14、あわ  
ぎんホール、徳島

〔その他〕

ホームページ等

所属機関の URL

<http://www.dent.nihon-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮崎 真至 (MIYAZAKI Masashi)  
日本大学・歯学部・教授  
研究者番号：70239391

(2)研究分担者

細矢 由美子 (HOSOYA Yumiko)  
長崎大学・医歯(薬)学総合研究科・  
准教授  
研究者番号：80112803

(3)研究協力者

黒川 弘康 (KUROKAWA Hiroyasu)  
日本大学・歯学部・助教  
研究者番号：10291709

高見澤 俊樹 (TAKAMIZAWA Toshiki)  
日本大学・歯学部・助教  
研究者番号：60373007