

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592817

研究課題名(和文) バイオアクティブ修復材料による象牙質再石灰化う蝕治療の確立

研究課題名(英文) New concept of caries treatment by bioactive restorative systems

研究代表者

秋本 尚武(Akimoto, Naotake)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：40184113

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：現在臨床で用いられている生物学的機能(バイオアクティブ)効果を持った材料による象牙質接着界面の早期再石灰化に注目し、新たなう蝕治療方法の確立を目指し研究を行った。研究期間を通し、1)各修復材料自体からの各種ミネラルイオンの徐放、2)各材料を修復システムとして使用した場合の各種ミネラルイオンの徐放の2点が明らかになった。本研究では、う蝕脱灰象牙質に対しこれらの材料による修復後のミネラルイオン供給が持続的になされ、脱灰象牙質の再石灰化の確認を目的としたが、結論までには至っていない。今後、う蝕治療の新たな指標となるよう研究を継続し、得られた成果を発表していく予定である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to establish a new caries treatment method using newly developed bioactive restorative materials which has ability of remineralization to caries affected dentin. From the results, it was found that the multi-ions, for example fluoride ion, borate ion, strontium ion, release from each bioactive restorative materials to the water. This research was planned to confirm the remineralization of caries affected dentin by the bioactive restorative materials, which continue to release the multi-ion to the dentin substrate. However, all results of this research were still not acquired. We are going to continue a study in future to receive the guideline of the new caries treatment.

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：再石灰化 う蝕象牙質 バイオアクティブ材料

### 1. 研究開始当初の背景

う蝕治療は健全象牙質を保存するう蝕検知液を指標として蝕感染象牙質を削除し、歯質接着性コンポジットレジンで修復する方法が一般的に行われている(総山, 田上. 保存修復学総論 1996). 健全象牙質を大きく削除した従来の治療法と比較して歯質保存的治療が可能であるが、修復物の接着対象となる象牙質には細菌感染がないものう蝕原性菌の産生した酸により一部脱灰しており、構造的に健全象牙質より脆弱化している。そのため接着修復初期およびその後の長期接着耐久性に注目した研究が数多く行われている(Tay, Pashley. *Biomaterials* 29, 1127-1137, 2008)。一方で、この一部脱灰象牙質が口腔内で生理的な再石灰化を起こすという研究(宮内. 口病誌 43, 384-393, 1976. 異. 口病誌 56, 47-74, 1989), あるいは *in vitro* においても脱灰象牙質の再石灰化の可能性を示唆する研究(宮内. 保存学会誌 52, 469-482, 2009), さらに長期臨床試験によるコンポジットレジン修復の臨床的長期接着耐久性などが報告され、接着材料を用いたう蝕象牙質接着界面に対するアプローチのコンセンサスは得られていないのが現状である。

これまでに研究代表者らは、長期接着耐久性の劣化の原因とされているレジン-象牙質接着界面の樹脂未含浸脱灰象牙質(脱灰象牙質にレジンが十分に浸透していない象牙質)を意図的に作り出し、*in vivo* で生理的再石灰化が起きることを動物実験で確認し、コンポジットレジン修復後においても象牙質接着界面の再生の可能性を見いだした(Akimoto *et al.*, *Quintessence International* 32, 561-570, 2001)。また、コンポジットレジン修復の長期臨床成績から(Akimoto *et al.*, *Operative Dentistry* 32, 3-10, 2007), 臨床的において接着界面の劣化は従来から懸念されているほど起きないことを報告した。しかしながら、修復対象となるう蝕象牙質はう蝕原性細菌の影響を受け一部脱灰していることから、接着修復においては、脱灰象牙質の再石灰化が望まれる。

歯質を再石灰化させる可能性がある修復材料としては、フッ素徐放性を示すグラスアイオノマーセメントがあり臨床応用されているが、コンポジットレジン材料に比べて機械的強度や表面性状に劣ることから、わが国では修復材料として広く用いられないのが現状である。

ここ数年、コンポジットレジンやレジン接着材料に生物学的機能(バイオアクティブ)、すなわちフッ素徐放性や抗菌効果などを持たせたものが開発されており、その効果を検証した報告が多く行われている(Imazato *et al.*, *J Dent Res* 73: 1437-1443, 1994)。また、従来のグラスアイオノマーセメント技術から発展した PRG (Pre-Reacted

Glass-ionomer)技術による、S-PRG (Surface Reaction Type Pre-Reacted Glass-ionomer) フィラーと呼ばれる新素材が開発され、現在 S-PRG フィラーを含有したレジン系製品(GIOMER)が臨床で用いられている。さらには、リン酸カルシウム系粉材と水系液剤をペースト状に混和し、ハイドロキシアパタイト結晶を歯質表面に沈着させ再石灰化効果を期待した試作材料も開発され、これらの材料の有効性についての検討が急務である。

### 2. 研究の目的

研究代表者らはこれまでに科学研究費補助金を受け、う蝕原性細菌により脱灰した象牙質の硬さがバイオアクティブ修復材料により上昇することを確認した(科学研究費補助金 基盤研究(C)(一般)(平成19年度~20年度))。しかしながら、硬さが上昇した脱灰象牙質部分にカルシウムやその他のミネラルイオンが供給されたことで、脱灰象牙質の再石灰化が起きているかは確認されていない。う蝕脱灰象牙質に対し、修復後にミネラルイオンが修復物から持続的に供給され、そして脱灰象牙質の再石灰化が早期に起これば、臨床において長期にわたり接着修復物が口腔内で機能そして維持できると考えられる。

本研究では、*in vitro* により人工う蝕脱灰象牙質に対するバイオアクティブ材料の有効性を検証する。バイオアクティブ材料として、S-PRG フィラー含有 GIOMER 修復材料と試作リン酸カルシウム系材料を用い、修復物からの各種ミネラルイオン徐放量を ICP 発光分析装置と Fluoride ion electrode により測定し、う蝕脱灰象牙質への供給が十分であるかを検討した。さらに、う蝕原性細菌による人工脱灰象牙質に対し、バイオアクティブ材料による修復を行い、*in vitro* における短期そして長期経過後の界面象牙質の変化を超微小押し込み硬さ、組成分析、FE-SEM そして TEM 観察により詳細に検討し、う蝕脱灰象牙質への再石灰化効果について明らかにするために実験を行った。

### 3. 研究の方法

「う蝕象牙質再石灰化療法」の臨床応用を可能にするため、バイオアクティブ修復材料からのミネラルイオンの徐放量そして実際に人工う蝕象牙質に対する効果を *in vitro* で検討した。

バイオアクティブ修復材料として、コンポジットレジン修復材のフィラーとして、従来のグラスアイオノマーセメント技術を発展させた S-PRG (Surface Reaction Type Pre-Reacted Glass-ionomer) フィラーと試作リン酸カルシウム系材料を用いた。

(1) バイオアクティブ修復材料からのミネラルイオン徐放の確認

メラミン歯(上顎第一大臼歯, ニッシン)に直径 3 mm, 深さ 3 mm の半球状窩洞を形

成し、各接着システムとコンポジットレジンによる修復を行った。40 秒間照射後、窩洞内からサンプルを取り出し、天面をネイルバーニッシュで封鎖後、それぞれ蒸留水およびリンゲル液にそれぞれ 1 週間、1 か月浸漬し測定を行った。硬化体を各溶液中から取り出し、各溶液 1 ml に対して 0.01 ml の濃硝酸を加えた測定液を調整し、各イオンの測定に ICP 発光分析装置、またフッ素イオンの測定に Fluoride ion electrode と pH / ion meter を用いて、各修復材からのイオン徐放量を測定した。

#### (2) バイオアクティブ修復材料によるう蝕脱灰象牙質の再石灰化の確認

う蝕象牙質再石灰化の確認に関する研究方法は、抜去歯に窩洞形成し乳酸とう蝕原性細菌により人工う蝕を作製した窩洞を各種修復材料で修復後、リンゲル液による歯髄内圧を負荷した状態での長期保管を行い、*in vitro* でのう蝕象牙質の変化を観察した。

#### 超微小硬さ測定

各保管期間終了後、試片を接着界面と垂直になるように近遠心方向に切断、通法に従い鏡面研磨した後、超微小押し込み硬さ試験機で行った。測定条件は、試験荷重 1 mN、接着界面から歯髄側方向に 5  $\mu$ m 移動した点から歯髄側方向に 5  $\mu$ m 間隔で歯髄側方向に 300  $\mu$ m まで硬さ測定測定を行った。

#### 脱灰 / 再石灰化象牙質中のミネラルイオンの測定と超微構造観察

硬さ測定の際に半切した試片の一方に対して、高分解能 SEM 用試料コーティング装置で白金蒸着後、各種イオンの象牙質接着界面におけるミネラルイオンをエネルギー分散型 X 線分析装置により接着界面の元素組成分析を行った。

接着界面においては、FE-SEM および TEM による超微構造観察を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) バイオアクティブ修復材料からのミネラルイオン徐放の確認

##### S-PRG フィラーからのイオン徐放量の確認

S-PRG フィラー含有 GIOMER 修復材料からのミネラルイオン徐放を確認するために、はじめに材料の構成成分である S-PRG フィラーからのミネラルイオン徐放を測定し、フッ化物イオン、ホウ酸イオン、ストロンチウムイオン、ナトリウムイオンなどのミネラルイオンが水中に徐放されるかを ICP 発光分析装置により確認した。

表 S-PRG フィラーからの各種ミネラルイオン徐放量

	BO <sub>3</sub> <sup>3-</sup>	F <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>	SiO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Sr <sup>2+</sup>
S-PRG	1759.4	91.8	684.2	4.1	134.2	177.2

(ppm)

結果より、バイオアクティブ材料と呼ばれている GIOMER を構成する S-PRG フィラーからは、各種ミネラルイオンが徐放されることが確認され、口腔内におけるこれら各種イオンの効果が期待できることが示唆された。

#### GIOMER (S-PRG フィラー含有製品) 修復システムからのミネラルイオン徐放量の確認

S-PRG フィラーを含有する GIOMER 修復材料を修復システムとして使用した場合 (接着システムとコンポジットレジン) の各種ミネラルイオン徐放量を評価した。

表 GIOMER 修復システムからの各種ミネラルイオン徐放量

	F <sup>-</sup>	Sr <sup>2+</sup>	SiO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	BO <sub>3</sub> <sup>3-</sup>
GIOMER	2.84	1.56	2.21	7.53
Control	0.08	0.02	0.26	0.03

(ppm)

修復システムとして使用した場合において、各種ミネラルイオンが徐放されることを確認した。以上より、一部脱灰されたう蝕象牙質に対し、GIOMER 修復システムで治療を行った場合、材料から徐放される各種ミネラルイオンの効果が期待されることが示唆された。これらの各種イオンは、これまでの研究報告から、フッ化物イオンはフルオロアパタイトの生成や歯質の再石灰化作用、ストロンチウムイオンは耐酸性の向上や石灰化促進あるいは中和緩衝作用、ケイ酸イオンにはコブ組織の石灰化、そしてホウ酸イオンには殺菌作用や抗プラーク形成能などの効果が確認されており、う蝕象牙質に対しても再石灰化が期待できる。

#### (2) バイオアクティブ修復材料によるう蝕脱灰象牙質の再石灰化の確認

う蝕脱灰象牙質に対し、修復後にミネラルイオンが持続的に供給されることで、脱灰象牙質の再石灰化が早期に起これば、臨床で長期にわたり接着修復物が維持できると考えられる。本研究では、バイオアクティブ修復材料によりう蝕脱灰象牙質が再石灰化するかを確認することを目的とした。はじめに抜去歯に窩洞形成を行い、乳酸 (pH=4) による窩洞内の脱灰、および *S. mutans* を約 10<sup>9</sup> CFU / ml に調整した被検菌液を用い 4 週間 37 °C で振盪培養した人工う蝕象牙質を作製した。しかし、この作製条件ではう蝕象牙質の脱灰状態、すなわち象牙質の脱灰量 (幅) にばらつきが発生することが確認された。そのため、象牙質を脱灰させる酸の条件を変更し、人工う蝕象牙質の作製を行ったことから、実験が大幅に遅れ、結果を得るに至っていない。実験は現在も継続中であり、う蝕象牙質に対するバイオアクティブ修復材料による再石灰化に関する最終結果が得られていない。う蝕治療における歯質保存の観点から、

有益な治療法となる可能性は大きく、今後う蝕治療の新たな指標となるよう研究を継続し、得られた成果を発表していく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Naotake AKIMOTO, Kaoru OHMORI, Masao HANABUSA, and Yasuko MOMOI. Three-year Clinical Evaluation of Giomer Posterior Restorations. International Association for Dental Research, 2012 年 6 月 22 日, Iguacu Falls, Brazil.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

秋本 尚武 (Akimoto Naotake)  
鶴見大学・歯学部・講師  
研究者番号：40184113

### (2) 連携研究者

大森 かをる (Ohmori Kaoru)  
鶴見大学・歯学部・助教  
研究者番号：80213867

英 將生 (Hanabusa Masao)  
鶴見大学・歯学部・助教  
研究者番号：80329226

### (3) 研究協力者

臼井 エミ (Usui Emi)  
鶴見大学・歯学部・大学院生

植松 卓彦 (Uematsu Takuhiko)  
東京都立産業技術研究センター・研究員