

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 16 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861817

研究課題名(和文) 漂白脱灰層における新規ナノアパタイト浸漬型再石灰化法の開発

研究課題名(英文) The development of remineralization by nano-apatite

研究代表者

齋田 牧子 (SAITA, MAKIKO)

神奈川歯科大学・歯学研究科(研究院)・研究員

研究者番号：70612943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：現在、広く普及している歯の漂白法は、歯質に直接作用するため、術後ケアの必要性が検討されている。しかし、これらの症状に対する革新的な治療法はこれまでに提唱されていない。本研究では、患者の漂白治療による歯質の侵襲を回復させ、さらなる歯質の強化を目的とし、「抗う蝕効果の高いハイドロキシアパタイトを歯質表面上へ析出させる再石灰化法による漂白術後処置法の開発」を達成する為の基礎的な研究を行った。漂白後における脱灰層に対して擬似体液より直接ハイドロキシアパタイト結晶を析出させ、再石灰化の指標となるミネラル回復、歯質強化、粗造化改善度を評価した。

研究成果の概要(英文)：The post-operative care is necessary because tooth bleaching damage their enamel. However, innovative treatment has not been proposed. The aim of this study was to reinforce the tooth structure by remineralization after bleaching. We enhanced remineralization to demineralization layers of the enamel by nano-hydroxyapatite, evaluated the mineral recovery.

研究分野：補綴

キーワード：再石灰化 漂白 ハイドロキシアパタイト

1. 研究開始当初の背景

現在、漂白後に惹起される問題として、過酸化水素による影響から、エナメル質表層部の脱灰、粗造化、知覚過敏が挙げられる。こうした問題に対し、現在、漂白後にフッ化物塗布やフッ化物配合研磨剤による歯面研磨が行われているが、これらの効果については明らかとなっていない。その他の解決策として、各種漂白剤に補填材を添加する、及び過酸化水素による漂白処置後の歯質に対する表面の滑沢化、歯質強化、耐酸性の向上を目的とした処置を行うことが必要である。そこで、本研究では、漂白処置後に適したケアが必要であると判断し、既存の齲蝕予防に使用されるフッ化物塗布の再石灰化に対する有用性を踏まえた上で、新たな再石灰化法を応用した漂白後処置法の開発を目指すこととした(図)。エナメル質はその大部分がハイドロキシアパタイトで構成され、フッ化物が取り込まれると、水酸基と置換しフルオロアパタイトが形成される、これがフッ化物塗布による歯質強化の原理である。フルオロアパタイトはハイドロキシアパタイトに比べて耐酸性が高く、結晶の不整な部分を修復する働きがあるといわれている (Yamagishi et al, Nature 433: 819-824, 2005)。これまでに我々は、チタン表面に対してハイドロキシアパタイトをヒト血漿無機イオン濃度と同様の組成成分を含有する擬似体液から形成させ、報告を行ってきた (Saita et al, Dnet Mater J: 703, 31-34, 2012)。生体親和性の高い擬似体液からナノレベル(約 200 nm)のハイドロキシアパタイト、及びフルオロアパタイト結晶を脱灰エナメル質上に直接、かつ緻密に析出させる技術を応用することで、表面の滑沢化、歯質強化、耐酸性を向上させる新規漂白後処置法の開発に着手する発想に至った。本研究は、漂白後脱灰層面に対し、直接歯面上にナノレベルのハイドロキシアパタイト、及びフルオロアパタイト結晶を構築し、患者の漂白による歯質侵襲を回復する新たな再石灰化方法として大変意義があるものと考えた。

2. 研究の目的

漂白後脱灰層面に対して、擬似体液より直接ハイドロキシアパタイト結晶をナノレベルで析出させ、再石灰化の指標となるミネラル回復度、歯質強度、粗造化改善度を評価した。フルオロアパタイト結晶をナノレベルで脱灰層に析出させ、再石灰化への影響と抗う蝕効果となる歯質強度効果について(図)、ハイドロキシアパタイト結晶と比較し、その有用性について評価した。また、実用化に向けて、齲蝕予防に使用される既存のフッ化物応用との比較検討を行い、本治療法における最適条件と安全性を評価し、新たな漂白術後処置法としての有用性を見出すこととした。

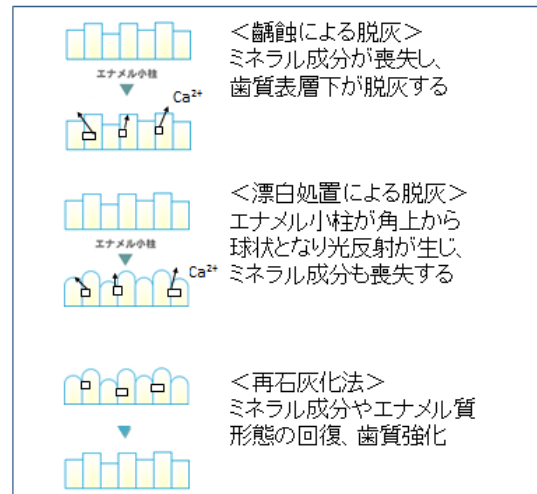


図. う蝕と漂白による脱灰様層の相違と再石灰化法による修復過程

3. 研究の方法

本研究の最終目標は、歯の漂白処置後の脱灰層面に直接フルオロアパタイトをナノレベルで析出させ、漂白後脱灰の侵襲を回復し、歯質強度を図る新たな再石灰化法として確立することとした。アパタイト析出法の有用性を見出すため、以下の実験プロトコルを構成した。

- (1) ハイドロキシアパタイト結晶をナノレベルで漂白脱灰層に擬似体液から直接析出させ、再石灰化としての効果を評価した。
- (2) フルオロアパタイト結晶を析出させ、ハイドロキシアパタイト結晶、従来の再石灰化法と比較の上、再石灰化と歯質強度における有用性を明らかとし、新たな治療法として確立した。さらに歯質強化の効用も含め、新たな再石灰化処置法としての有用性を評価した。

【平成 25 年度】

ハイドロキシアパタイト結晶における再石灰化評価: 漂白後脱灰層面に対して擬似体液より直接ハイドロキシアパタイト結晶をナノレベルで析出させ、再石灰化の指標となるミネラル回復度、歯質強化、粗造化改善度を評価した。

< 試料の作製 >

本研究に用いる試料作製は、中澤らの方法 (Jpn J conserv Dent, 50(3): 373-378, 2007) を参考とした。材料には、歯肉歯根膜を除去した前歯エナメル質を用い、唇側面のエナメル質の表層を一層切削し、砥粒にて順次研磨を行った。1 歯から得られる 2 切片から被検試料と対照試料を作製した。

< 漂白処置 >

オフィスホワイトニング用の漂白剤として、Hi Lite (松風) を用いて、製造元の指示通り混和し、エナメル質表面に 2 mm 程度の厚さになるように塗布した。15 分間放置後、練和物が白色に変化していることを確認して除

去した後、この操作を3回繰り返した。漂白後は十分に水洗し、歯面研磨を行った。

方法1：漂白脱灰層に対するハイドロキシアパタイト結晶の浸漬・析出漂白処置後、被検試料には、表層エナメル脱灰に対し、ハイドロキシアパタイト結晶の沈着を施した。作製法としては、市村ら (Jpn J Appl Phys; 44:5164-5170, 2005) の方法に従い、ヒト血漿イオン濃度と同様の組成成分を含む擬似体液を用いて、ハイドロキシアパタイトを析出させた。擬似体液の組成成分として、NaCl, KCl, KH_2PO_4 , H_2HPO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を含有させ、38度、中性状態の蒸留水中で浸漬させた。浸漬時間に比例して、ハイドロキシアパタイトの析出量が増加するとされるため (Enrico et al, J Mater Sci: 18, 1225-1237, 2006), 同時に浸漬時間と析出量の経過についても追跡した。

方法2：ハイドロキシアパタイト結晶の再石灰化における評価(ミネラル回復、粗造改善)脱灰様層におけるハイドロキシアパタイト結晶の解析については、結晶成分の熟度をX線回析(XRD)にて分析し、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて表面構造の観察を行った。岩谷ら (J Dent Health; 59, 125-131, 2009) の方法により Transversal Microradiography によるミネラル喪失量の回復、および超微小押し込み硬さにより観察を行い、漂白後試料と比較検討を行った。また、漂白脱灰層におけるハイドロキシアパタイト結晶の析出がエナメル質結晶の構成に与える影響について、顕微ラマン分光分析を用い、対照試料と被検試料の表面および断面10~300 μm における炭酸基とリン酸基の変化を測定し、微細なミネラルの回復の挙動について解析を行った。なお、漂白効果の有無や変化は色彩色差計 (Shade Eye: 松風) を用いて判定した。

【平成26年度】

フルオロアパタイト結晶析出による新規再石灰化法の検討：漂白後脱灰層に直接歯面に擬似体液からフルオロアパタイト結晶をナノレベルで浸漬・析出させ、再石灰化法への影響についての検討を行った。また、既存のう蝕に対するフッ化物応用による再石灰化作用と比較検討を行った上、フルオロアパタイト結晶の有用性を明らかとし、新規漂白後処置法としての最適条件を見出した。

方法3：脱灰層へのフルオロアパタイト結晶の析出；方法1と同様の手法を用いて、漂白脱灰層に対して擬似体液にフッ素を添加し、フルオロアパタイト結晶の析出を行った。歯面に対するフルオロアパタイト結晶の成熟度解析をXRDにて行った。

方法4：フルオロアパタイト結晶の再石灰化における評価と歯質強化；漂白脱灰層におけるフルオロアパタイト結晶の析出による歯面の粗造化改善についての評価をSEMにて、超微小押し込み硬さ試験にて硬度改善

の解析を行った。また、顕微ラマン分光分析を用い、対照試料と被検試料の表面および断面10~300 μm における炭酸基とリン酸基の変化を測定することで、より精密なミネラル回復の挙動を評価した。また、既存のフッ化物応用(フッ化ナトリウム、フルオロナトリウム粒子)の再石灰化に対する効用について比較検討を行い、本治療法の有用性と最適条件を明らかとし、新たな治療法としての確立を目指した。

方法5：フルオロアパタイト結晶の安全性試験蒸留水に浸漬させたフルオロアパタイト結晶を混和させ、pHを測定した。

4. 研究成果

漂白後脱灰層に対して擬似体液より直接ハイドロキシアパタイト結晶を析出させることを試み、再石灰化の指標となるミネラル回復度、歯質強化、粗造化改善度について評価した。このアパタイト浸漬方法において、浸漬時間と析出量の関係等の最適条件等を見出した。わが国では1997年に山岸らによりFAP(フッ化アパタイト)ホワイトニングが開発され、過酸化水素とフルオロアパタイト粒子が含有されているため、漂白処置直後にフッ化物を適用しなくても、フルオロアパタイトの粒子がエナメル質表面に沈着するといわれている (Yamagishi et al, Nature: 433, 819-824, 2005)。しかし、漂白と再石灰化が同時に進行する事による副作用などについての基礎的な研究がなされておらず、未解明の事実が多く存在していた。本研究では、漂白後脱灰層を元来のエナメル質表層の組成、形態へと修復するのみではなく、歯質強化を図り、ナノレベルにおけるアパタイト結晶を直接歯面に析出させることが可能であることが分かり、治療法としての有用性をも見出した。漂白による脱灰層面はミネラル成分が欠落し、複雑な粗造面であるため、アパタイト結晶を析出させる足場として最適な条件であることが示された。また、ヒト血漿イオン濃度と組成成分を含有する擬似体液中のイオンからナノレベルのアパタイト結晶を析出させる方法は、緻密で生体親和性の高い再石灰化が期待できることがわかった。これらの方法を用いて、脱灰層に対して直接ハイドロキシアパタイト、及びフルオロアパタイトを析出させることで、歯質強化によるう蝕予防も期待できる可能性をも考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

齊田牧子, 吉野文彦, 李昌一, 木本克彦: ハイドロキシアパタイトと光触媒を応用した漂白剤の検討. 神奈川歯科大学学会第48回総会, 横須賀, 2013. 11. 30.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

6．研究組織

(1)研究代表者

齊田牧子（ SAITA Makiko ）

神奈川歯科大学・特別研究員

研究者番号：70612943