

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462906

研究課題名(和文)チタニアナノチューブへの可視光応答性付与による高機能漂白材料の創製

研究課題名(英文)Application of Titanium Dioxide Nanotubes to Tooth Whitening.

研究代表者

山本 一世 (YAMAMOTO, Kazuyo)

大阪歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：50288776

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ウシ歯を紅茶に7日間浸漬し、変色試料を作成して、3種類(TiO₂粉末、TNT：非加熱・加熱処理)の粉末をそれぞれ3%の過酸化水素水に添加し、変色歯モデルに塗布した。加熱処理をせず結晶性を高めていないTNTの方が、可視光で反応することが明らかとなった。このメカニズムを解明し高活性可視光応答型TNTが合成可能になれば、今までにない低濃度の過酸化水素水で短時間に高い漂白効果を発揮することが可能となることが示唆された。次にTNTの増量が歯の漂白効果への影響を確認するために、TNTを増量した漂白剤を用いて漂白処理を行ったところ、TNTの配合量を増加させるにつれ上昇する傾向が認められた。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that a titanium oxide nanotube (TNT) has a specific tube structure and diversity of the titanium crystals, as well as superior photocatalytic capacity and a physicochemical function. We did basic research on TNT. We measured its number of radicals and its changes in methylene-blue (MB) solution to evaluate its photocatalytic capacity. Also, we examined its effect on tooth whitening. We found that the TNT produced radicals such as TiO₂, reduced the concentration of MB, and bleached stained apatite pellets when combined with a low concentration H₂O₂. And after bleaching it using the bleach which increased TNT because increase in TNT confirmed the effect on bleaching of tooth effect, a tendency to increase as we increased combination quantity of the TNT was found.

研究分野：保存修復学

キーワード：ナノチューブ チタニア 歯の漂白

1. 研究開始当初の背景

漂白法で用いられる薬液は、30～35%の高濃度の過酸化水素水を用いることが多く、その副作用として、有髄歯では知覚過敏症、無髄歯では歯根に外部吸収を引き起こす可能性が報告されている。近年、酸化チタンの光触媒作用により低濃度の過酸化水素でも優れた漂白効果が引き出せることで注目されている。

光触媒材料とは、光を照射することによって大気中の有害物を分解する材料である。酸化チタンに380nm以下の波長の光を照射すると、電子と正孔どちらからも活性な酸素種ができ、これが有害物や有機物を分解する。歯牙漂白の原理として、発生した活性酸素(OHラジカル)が着色の原因となる有機物(色素)から電子を奪い、分解することで無色となり白く見えると考えられる。光触媒材料のような機能性材料に利用する場合、酸化チタン表面の吸着分子との反応量が特性に大きな影響を与える。そのため、粒度の小さいものや、多孔質焼結体など比表面積を大きくしたものが優れた特性を示すことが明らかとなっており、近年では比表面積の大きい酸化チタンナノチューブ(Titania Nano-Tubes : TNT)を用いた研究も盛んに行われている。そこで研究代表者は、研究分担者である大阪大学の関野徹教授らが豊富な知見と材料技術を保有する TNT に着目した。

TNT は通常の酸化チタンよりも8倍の比表面積や1.5倍のOH基含有量を有しており、こうした低次元性を持つナノ材料は新規なデバイスや環境・エネルギーシステム用材料のみならず実に多様な応用が期待されており、その中の一つに歯牙漂白剤としての展開が期待できる。研究代表者はこれまで TNT の実験をおこなっており、TNT が細胞と接着し、生化学因子を加えなくても細胞の骨芽細胞活性が高くなることや、TNT が分子やイオンを高濃度に吸着するという通常のTiO₂にはない機能を有していることを見いだした。このように TNT に関する知見も豊富に得ており、その実験の過程において熱処理することにより活性酸素発生量が大幅に増加することも明らかにしている。TNT は、そのユニークな構造から通常の酸化チタンより光触媒能が高く、熱処理させることでより多くの活性酸素を発生し、従来の酸化チタン含有漂白剤より、さらに低濃度の過酸化水素水で高い漂白効果を期待でき、劇物である過酸化水素を使用する患者への危険性の軽減および歯牙侵襲を最低限に抑えることが可能であると考えられる。また、酸化チタンは可視光でも反応するものの紫外線領域で光触媒活性を最大限に発揮するため、TNT の光応答波長領域を可視光領域に変化させ、光触媒反応効率を向上させれば TNT の歯牙漂白機能も最大限に発揮されるものと思われる。そこで、本研究では、高次設計・構造制御することにより可視光応答型 TNT を合成し、高機能低侵襲漂白剤の開発を目的とする。そして、高機能な臨床応用展開可能な新しいナノ生体材料創出の

ための指針が構築され、ナノバイオマテリアルやナノDDSなど、多目的な応用展開への知見を得ることが可能と考える。以上のことより本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

歯の漂白法で用いられる薬液は、30～35%の高濃度の過酸化水素水を用いることが多く、その副作用として、歯質表面を塑造にし、有髄歯では知覚過敏症、無髄歯では歯根に外部吸収を引き起こす可能性が報告されている。近年、酸化チタンの光触媒作用により低濃度の過酸化水素でも漂白効果が引き出せる材料が開発されたが、過酸化水素の生体への危険性および歯質の侵襲は完全には抑えられない。本研究は、従来の酸化チタンよりも高機能光触媒材料である酸化チタンナノチューブの低次元ナノ構造および結晶構造を制御して可視光応答性を付与し、従来の漂白剤よりさらに低濃度の過酸化水素水で高い漂白効果を与え、患者への危険性および歯牙侵襲を最低限に抑える漂白剤を開発し、高機能な新しいナノ生体材料創出のための指針を構築する。

3. 研究の方法

化学合成法による TNT の生成メカニズムの解明

合成プロセスの生成物に与える影響やメカニズムは十分に解明されておらず、高度な材料設計を行うためには、原料や塩基処理、洗浄、酸処理など様々な制御因子を検討する必要がある。合成方法は、研究分担者の関野教授らが発見した、鋳型などを用いずに自己組織化によって形状がほぼ一定な TNT を作製することができる化学合成法を用いる。化学合成法による低次元ナノ構造体におけるサイズの制御方法は報告されていない。TNT の合成原料には、アナターゼ構造のTi-OH基が高いアパタイト形成能を示すことから、アナターゼ型TiO₂粉末に限定する。合成するに当たり、反応時間・塩基の種類・反応温度・洗浄および酸処理の方法、について条件を変え反応させる。TNT の合成は、概ね購入済の装置を用いて行う。しかし、洗浄プロセスにおいて効率化の観点よりアスピレーターを用いる。各作業過程においてサンプリングを行い、合成プロセスすべてにおいて相関関係を検討し、生成メカニズムを明確にする。また、形態制御が可能かどうか検討し、サイズ制御因子を抽出する。そして、最適な材料が創製される条件を確立する。

微細構造評価では、走査型電子顕微鏡(SEM)と透過型電子顕微鏡(TEM)を使用し、低次元ナノ構造およびサイズを観察する。また、X線回折装置を用い、定性分析と定量分析を行い、TNT が作製できているかどうか確認する。

TNT への可視光応答性の付与

酸化チタンはアナターゼ型3.2eV、ルチル型3.0eVのバンドギャップエネルギーを持っており、紫外線を利用して光触媒として利用されている。しかし、歯科治療で用いられている光源は可視

光領域であり光触媒特性を最大限発揮できない。そこで、歯牙漂白治療へ応用させるために、硫黄ドーブによる可視光応答型酸化チタンナノチューブ(S-TNT)の作製を行う。

TNT 作製の化学合成プロセスに準じて、原料に硫黄源としてチオウレアを加えて S-TNT を作製する。チオウレアの添加量は 2 mol%とする。微細構造評価では、走査型電子顕微鏡(SEM)と透過型電子顕微鏡(TEM)を使用する。また蛍光 X 線(既存設備)および XRD にて硫黄が修飾されているか確認する。そして、様々なサイズの TNT において修飾を試み、結果のフィードバックを行ない、TNT サイズと硫黄ドーブの相関関係を明確にし、制御条件の指針を得る。また、可視光応答型 TNT の作製には、カチオン状態の化合物として格子間に導入する方法だけでなく、硫黄原子を酸素と交換する手法も検討する。

可視光応答型 TNT の光触媒基礎特性評価

(1) S-TNT の光触媒能評価

光遮断した状態でメチレンブルー溶液に S-TNT を加え、吸着平衡まで吸着させる。紫外および可視光を照射し、申請する紫外可視分光光度計を用いて各時間におけるメチレンブルー濃度を測定する。

(2) 活性酸素測定

S-TNT から発生する活性酸素種であるヒドロキシラジカル($\text{HO}\cdot$)の遮光後の量を電子スピン共鳴法: ESR 法により経時的に計測する。ESR 法とは $\text{HO}\cdot$ と DMPO を反応させ、スピアダクトに変化させ安定化し測定を行う方法である。S-TNT を遮光下に静置後、ブラックライト照射し、遮光下で活性酸素種補捉剤である

5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO) に超純水を混合し、ただちに特殊扁平セルに吸引し $\text{HO}\cdot$ の測定を ESR 装置にて行う。

(3) 紫外、可視光吸収スペクトルの測定

青色、緑色 EL、歯科用照射装置を用いて S-TNT における発光波長を測定する。S-TNT の円盤状の圧粉体を作製し、申請する紫外可視分光光度計を用いて吸光度を測定する。

可視光応答型 TNT の漂白効果および歯質への影響

ヒト抜去歯の歯髄を除去した後、髄腔内を 5% 次亜塩素酸溶液と 37% リン酸ゲルにて処理する。測定予定部位のエナメル質表面を申請する歯科用測色装置(シェードアイ NCC、松風)で測色し、CIE $L^*A^*B^*$ を求めコントロールとする。煮出した紅茶を着色液として被験歯を浸漬し、変色した測定面を再度測色し、CIE $L^*A^*B^*$ を求める。濃度を变化させた過酸化水素水に S-TNT を加え漂白を行い、再度測色を行いコントロールと比較検討を行う。なお、得られた CIE $L^*A^*B^*$ の値から、漂白前との色差値 E を算出し評価を行う。次に、歯質へのダメージを知るために、市販されている従来の漂白剤を用いたエナメル質表面(コントロール)と比較検討するために、SEM にて表面性状を観察する。

4. 研究成果

TNT の光触媒活性を見るために UV 照射を行いながら ESR 法にてラジカルの測定を行った。測定には ESR 装置(ESP350E、BRUKER 社)を用い、1 分ごとに 10 分間測定を行った。次に、メチレンブルー(MB)溶液に TNT 粉末(非加熱、加熱処理)を加え、UV 照射下にて攪拌を行い、規定時間ごとに紫外可視分光光度計(UVmini-1240、島津製作所)をもちいて MB 溶液の吸光度を測定した。漂白効果の検討として市販のハイドロキシアパタイトペレット(APP-100、PENTAX)を MB 溶液に 2 週間浸漬し着色させたものを変色歯モデルとし、3 種類(TiO_2 粉末、TNT: 非加熱・加熱処理)の粉末をそれぞれ 3% の過酸化水素水に添加し、変色歯モデルに塗布した。そして、歯科用 LED 照射器(コスモブルー、GC)にて 5 分間照射した。この操作を 3 回繰り返し、歯科用色彩計(シェードアイ NCC、松風)にて測色を行った。色彩表示は CIE $L^*a^*b^*$ 表色系を用い、漂白の程度は色差 E^*ab と $L^*A^*B^*$ 値で評価した。

その結果、UV 照射下において、酸化チタン、非加熱の TNT と加熱処理を行った TNT ともにラジカルの発生が確認できた。また、加熱処理を行った TNT は非加熱の TNT より大きな MB 濃度の変化がみられた。これは加熱処理により TNT の結晶性が向上し、触媒効率が上がったと考えられる。また、測色の結果、 TiO_2 粉末の試料と比較し、TNT を用いた試料では漂白効果は有意に増大した。これは、過酸化水素水で処理することにより、非加熱の TNT が歯科用 LED 照射器の光をより効率よく吸収しやすく変化したためと考えられる。

以上から、加熱処理をせず結晶性を高めていない TNT の方が、可視光で反応することが明らかとなった。このメカニズムを解明し高活性可視光応答型 TNT が合成可能になれば、今までにない低濃度の過酸化水素水で短時間に高い漂白効果を発揮することが可能となることが示唆された。

次に TNT の量を増量した場合の歯の漂白効果への影響を確認するために、冷凍保管牛歯を解凍し、歯根を切断して歯髄を除去した後、煮出した紅茶を着色液とし、被験歯を 7 日間浸漬し、変色試料とした。術前に変色試料の歯冠部中央で歯科用色彩計(シェードアイ、松風)にて測色を行った後に、Table 1 に示す漂白剤を用いて漂白処理を行った。

Table 1 Materials

| Material | Manufacturer | Code |
|--|--------------|-----------------------------|
| Whitening Agent + 3% H_2O_2 (Control) | VMC | H_2O_2 (3%) |
| Whitening Agent | | |
| Whitening gel | | |
| (Glycerol) | | |
| Thickener : Xanthan gum 0.1g | | |
| pH regulator : Na_2CO_3 0.1g | | |
| TiC Nanotubes (TNT 10mg) + Whitening Agent + 3% H_2O_2 | VMC | TNT(10mg) |
| TiC Nanotubes (TNT 20mg) + Whitening Agent + 3% H_2O_2 | VMC | TNT(20mg) |

漂白処理方法については、漂白剤を塗布し、漂白用 LED 照射器(コスモブルー, GC)で 10 分照射し、この操作を 3 回同一部位に行い、漂白処置後、再度測色を行なった(1 回目術後)。その後生理食塩水中に保管し、7 日間毎に合計 4 回漂白処置を行い、漂白処置後、再度測色を行なった(2~4 回目術後)。測定結果は、色彩分析ソフト(彩チェック ver.4.0, コニカミノルタ)にて変換して、 $L^*a^*b^*$ を求め、漂白前との色差を表す E^*ab を算出し、漂白による術前・術後の色の变化から漂白効果を判定した。得られた測定結果は一元配置分散処理および Tukey の検定により統計処理を行った($n=5$)($P<0.01$)。

色差値 E^*ab については、毎回の術前・術後の色差値 E^*ab の変化はすべての条件において 1 回目が有意に大きかった。術前と 4 回目術後の色差値 E^*ab の変化は TNT 20mg が 47.8 で最も大きく、続いて TNT 10mg が 45.1, Control が 39.3 であった。すべての条件間で有意差は認められなかったが、E が TNT の配合量を増加させるにつれ上昇する傾向が認められた。

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 7 件)

1. Lu L, Yasuo K, Onda K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Influence of various dentin desensitizers on the effect of tooth whitening Journal of Osaka Dental University 2015,49(1):49-60(査読有). DOI: 10.18905/jodu.49.1_49
2. Inoue C, Yoshikawa K, Yamamoto K, Matsumoto N. Study on adhesion of orthodontic brackets on enamel with resin cements. Journal of Osaka Dental University 2015,49(1):115-121(査読有). DOI: 10.18905/jodu.49.1_115
3. Ishii K, Kita T, Yoshikawa K, Yasuo K, Yamamoto K, Awazu K. Selective removal of carious human dentin using a nanosecond pulsed laser operating at a wavelength of 5.85 μ m Journal of Biomedical Optics 2015,20(5):051023(査読有). DOI: 10.1117/1.JBO.20.5.051023
4. Hirota Y, Iwata N, Yokota K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Study on Dental Hard Tissue Ablation by Er:YAG laser -Evaluation on Tip Wear -. 日本歯科保存学雑誌 2016,59(1):47-57(査読有). DOI: 10.11471/shikahozon.59.47
5. Nozu S, Matsuda T, Iwata N, Yoshikawa K, Yamamoto K. Influence of Light Curing

Energy on Dentin Bond Strength 日本歯科保存学会雑誌 2015,58(6):446-455(査読有). DOI: 10.11471/shikahozon.58.446

6. Hattori Y, Iwata N, Yasuo K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Study on Adhesion of Composite Resin using an in vitro Model of Hypersensitive Dentin. 日本歯科保存学雑誌 2015,58(1):26-34(査読有). DOI: 10.11471/shikahozon.58.26
7. Komatsu O, Nishida H, Sekino T, Yamamoto K. Application of Titanium Dioxide Nanotubes to Tooth Whitening. Nano Biomedicine 2014,6(2): 63-72(査読有).

(学会発表)(計 6 件)

1. 澤井健司郎, 吉川一志, 王 宝禮, 山本一世. オゾンを併用した歯の漂白システムによる漂白効果の検討 第 145 回日本歯科保存学会秋季学術大会 2016/10/28 キッセイ文化ホール 松本市.
2. 吉川一志, 宮地秀彦, 岩田有弘, 恩田康平, 竹内 撰, 山本一世. 各種知覚過敏抑制材が漂白効果に及ぼす影響について 第 26 回日本歯科審美学会学術大会 2015/11/23 東京歯科大学水道橋校舎新館 東京都.
3. 古澤一範, 谷本啓彰, 森川祐仁, 畑下芳史, 藤原秀樹, 鈴木康一郎, 吉川一志, 山本一世. 各種知覚過敏抑制材の漂白への影響について 表面粗さについて 第 142 回 日本歯科保存学会春季学術大会 2015/06/25 西日本総合展示場・北九州国際会議場 北九州市.
4. 小松首人, 西田尚敬, 関野 徹, 山本一世. 酸化チタンナノチューブの歯の漂白への応用 第 545 回大阪歯科学会例会 2015/3/25 大阪歯科大学 枚方市.
5. 小松首人, 西田尚敬, 関野 徹, 山本一世. 酸化チタンナノチューブを用いた漂白効果 第 25 回日本歯科審美学会学術大会 2014/11/23 高松国際ホテル 高松市.
6. 小松首人, 西田尚敬, 古澤一範, 廣田陽平, 恩田康平, 竹内 撰, 宮地秀彦, 谷本啓彰, 関野 徹, 山本一世. 酸化チタンナノチューブの歯の漂白への応用 基礎特性評価 光触媒特性評価 第 140 回日本歯科保存学会秋季学術大会 2014/06/19 滋賀県立芸術劇場びわ湖ホール 大津市.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 一世 (YAMAMOTO Kazuyo)
大阪歯科大学・歯学部・教授
研究者番号：50288776

(2) 研究分担者

関野 徹 (SEKINO Tohru)
大阪大学・産業科学研究所・教授
研究者番号：20226658

吉川 一志 (YOSHIKAWA Kazushi)
大阪歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号：30309182

(3) 連携研究者

西田尚敬 (NISHIDA Hisataka)
大阪歯科大学・歯学部・講師 (非常勤)
研究者番号：70448116