

令和元年6月24日現在

機関番号：34408

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07264

研究課題名（和文）市販歯磨剤を用いたブラッシングがチタンの表面性状に与える影響

研究課題名（英文）Effect of toothbrushing with toothpaste on titanium surface

研究代表者

首藤 崇裕（SHUTO, Takahiro）

大阪歯科大学・医療保健学部・助教

研究者番号：40804604

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、インプラントやチタン製補綴装置を装着している患者が日常の口腔ケアに使用する歯磨剤を選択する際の指標を示すことを目指す研究である。その為に各種歯磨剤を用いて模擬的にブラッシングを行うことにより、歯磨剤中のフッ化物・研磨剤の配合の有無と種類の違いがチタンの表面性状に与える影響とブラッシングしたチタン表面が歯肉上皮細胞に与える影響を検討した。その結果、歯磨剤中のフッ化物や研磨剤がチタンの表面性状や耐食性に影響を及ぼす可能性があること、このような微細な表面構造の変化が歯肉上皮細胞に分子レベルで影響を与えることが推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年登場したインプラント用歯磨剤について、本研究結果より、フッ化物および研磨剤無配合の歯磨剤でブラッシングしたチタン表面の変化は、両者を配合する歯磨剤と比べて小さくなることを見出した。この結果は臨床に非常に有意義であると考えられる。また本研究では、生体防御の最前線でありインプラントとの接合により感染を防ぐために重要な役割をもつ歯肉上皮細胞を用い、生体への影響を見越した検討も行なった。ここから得られた知見により、インプラント患者がブラッシングに使用する歯磨剤を選択する際に、歯科医師や歯科衛生士などが様々なリスクや利点を考慮した上で指導できるようになると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The aim of study was providing patients with implants or titanium prostheses with indicators for selecting toothpastes for daily oral care. Brushing test was performed using various toothpastes, including products developed and marketed recently for implants. We then examined how the presence or absence and types of fluorides and abrasives affected titanium surface attributes. We also examined the adhesion, proliferation, and morphology of gingival epithelial cells on the surface of titanium brushed with these toothpastes, as well as the expression of adhesion molecules.

The results of this study suggest that the fluorides and abrasives in toothpaste used for brushing are factors that impact titanium surface attributes and corrosion resistance, and that these changes to the fine surface structures have effects on gingival epithelial cells on the molecular level.

研究分野：歯学

キーワード：チタン インプラント 歯磨剤 ブラッシング フッ化物 研磨剤 歯肉上皮細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

チタンはその特性から、歯科用インプラントや補綴装置などの歯科材料として口腔内で広く使用されている金属である。しかし、基礎研究により、歯科用インプラントに使用されているチタンが酸性条件下でフッ化物配合歯磨剤により腐食する可能性があることが指摘されている。また、研磨剤が配合されている歯磨剤を用いてブラッシングを行ったチタン材は表面の摩耗がみられ、純水や人工唾液を用いた場合の機械的な刺激だけでもチタン表面が傷ついて凹凸が形成されることが報告されており、日常のブラッシングによって摩耗する恐れがある。つまり、チタンの表面性状に影響を及ぼす要因として、歯磨剤中のフッ化物および研磨剤の両者が関係する可能性がある。さらに、腐食や摩耗により劣化したチタン製インプラントを取り巻く歯周組織への影響も危惧される。

### 2. 研究の目的

本研究では、インプラントやチタン製補綴装置を装着している患者が日常の口腔ケアに使用する歯磨剤を選択する際の指標を示すことを目指す。そのために各種歯磨剤を用いてブラッシングを行うことにより、歯磨剤中の研磨剤・フッ化物の配合の有無と種類の違いがチタンの表面性状にどのような影響を与えるか検討すること、さらに、ブラッシングしたチタン表面が歯肉上皮細胞に与える生物学的な影響についても検証することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 歯磨剤の選定、スラリー調整および歯ブラシ摩耗試験

歯磨剤は、国内外問わずフッ化物・研磨剤配合3種、フッ化物配合・研磨剤無配合2種、フッ化物無配合・研磨剤配合2種、フッ化物・研磨剤無配合2種の計9種類を選択した。ISO規格(TS14569-1)に準じ研磨用スラリーを調整した。

チタンはJIS2種の純チタン円板を鏡面研磨仕上げしたものを用い、ISO規格(TS14569-1)に準じ、チタンのブラッシングを行なった(図1)。

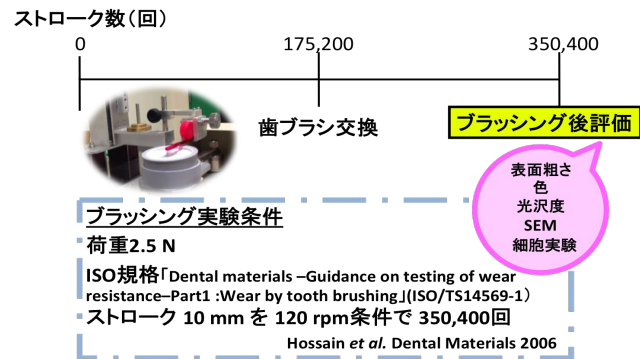


図1 チタンのブラッシング試験

#### (2) 歯磨剤を用いてブラッシングを行ったチタンの表面性状解析

チタンの表面性状変化を定量的に評価するため、表面粗さ・色調・光沢度といった一般的に採用されている評価項目について測定・解析を行なった。

走査型電子顕微鏡(SEM)を用いてチタン円板表面を観察し、各試料の表面性状の比較を行なった。また、歯磨剤中の研磨剤をSEMにて観察した。

#### (3) 歯磨剤を用いてブラッシングを行ったチタン上での歯肉上皮細胞(GE-1)の解析

チタン上に付着し活性が高い細胞をMTSアッセイにより検出。また、経時的に解析することで細胞増殖の評価を行なった。

チタン上での細胞形態の観察を行うために免疫蛍光染色を行なった。

歯磨剤によるブラッシングにより表面性状が変化したチタン上でのGE-1の接着メカニズムを検討するために、チタン表面と細胞基底膜の接着に関与するIntegrin-6、4、細胞伸展に関与するLaminin-2の発現様式を解析した。

### 4. 研究成果

(1)平成29年度は、各種歯磨剤を用いてブラッシングを行い、歯磨剤中のフッ化物・研磨剤の配合の有無と種類の違いがチタンの表面性状にどのような影響を与えるのかを材料学的な観点から検討した。

歯磨剤を用いたブラッシングによりチタン表面は多かれ少なかれ摩耗するが、研磨剤無配合の歯磨剤を用いた場合はMQでブラッシングした場合と摩耗の程度がほぼ同等であった。一方で、一部の研磨剤配合の歯磨剤を用いた場合にはチタン表面の摩耗がより促進された(図2)。チタン表面の色差および光沢度についても同様に、研磨剤無配合の歯磨剤を用いた場合はMQでブラッシン

グした場合とほぼ同等であり、研磨剤配合のelm、supおよびtomでは、色調に与える影響が大きく、さらにsupとtomは光沢度に与える影響も大きかった。

チタン表面性状の変化の指標となりうるこれらの解析結果は、目視あるいはSEMによる詳細な表面構造観察でも確認することができ、supやtomといった研磨剤配合歯磨剤ではチタン表面への物理的侵襲が特に大きいことが明らかとなった(図3)。これらのことに強く関与すると考えられる研磨剤粒子について、supとtomには共通に重質炭酸カルシウムが配合されており、定量化は行っていないものの、これらの研磨剤粒子は多角形状をしているものが多かった。よって、研磨剤の種類および粒子の形状によりチタン表面の摩耗に及ぼす影響が異なることが推察された。また、チタン表面の色調に与える影響が大きくなった一部のフッ化物・研磨剤配合歯磨剤では、汚染様黒点が多く確認され、フッ化物と研磨剤の両者が配合されている歯磨剤の製品の中には、ブラッシングを行うことによりチタンの劣化や腐食につながる可能性を持つものがあることがわかった(図3)。インプラント用であるフッ化物・研磨剤無配合の歯磨剤については、チタン表面に及ぼす影響が小さいことがわかった(図2、3)。

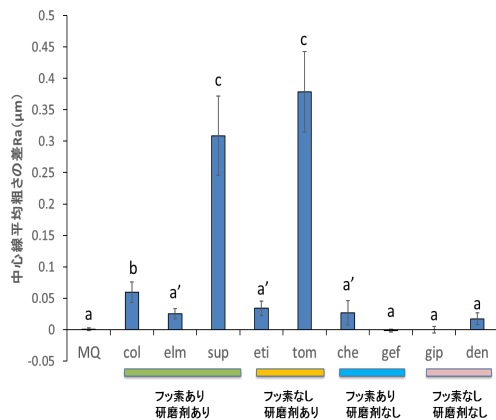


図2 チタンの表面粗さに与える影響

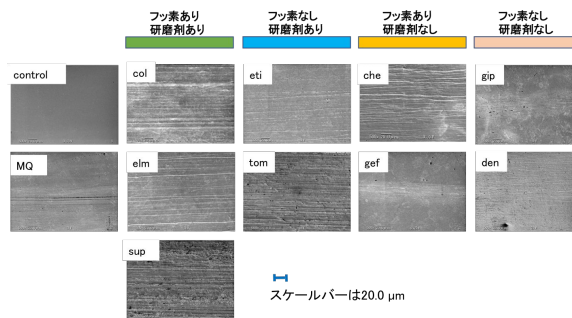


図3 SEMによるチタンの表面観察

(2)平成30年度は、各種歯磨剤を用いてブラッシングしたチタンがインプラント周囲における細菌感染に対する最前線の防御機構に与える影響を検討した。

各種歯磨剤でブラッシングしたチタン上での初期接着数は、洗浄処理のみのコントロールおよびMQ水でブラッシングしたチタンの場合と同等またはそれ以上を示した。経時的に接着細胞数を解析した結果、全ての歯磨剤でブラッシングしたチタン表面上で培養したGE-1が増殖する傾向がみられ、その細胞数は培養48時間後には、コントロールを含め全ての条件で同程度となることがわかった。

各チタン表面上で6時間培養したGE-1細胞の細胞形態に着目すると、研磨剤配合の歯磨剤を用いた場合には、細胞突起が伸展した形態を示し、チタンに強く接着している様な細胞が多数確認された。ただし、最も表面粗さが大きくなったtomを用いた場合には、細胞突起が伸展した形態を示す細胞は少なく、球状形態を示す細胞が多く確認された。同様に、研磨剤無配合の歯磨剤を用いた場合にも、球状形態を示す細胞が多く確認された。したがって、歯磨剤を用いたブラッシングを行ったチタンには、細胞接着に適した表面粗さが存在するのではないかと考えられた。

フッ化物・研磨剤配合のsupやフッ化物・研磨剤無配合のgip、denを用いたブラッシングは、チタン表面上のGE-1細胞における接着因子の発現を促進した。したがって、sup、gipおよびdenの3種でブラッシングされたチタンは、歯肉上皮細胞の接着能を長時間持続させる可能性も有することが考えられ、歯磨剤によっては分子レベルで歯周組織に影響があることが示唆された(図4)。

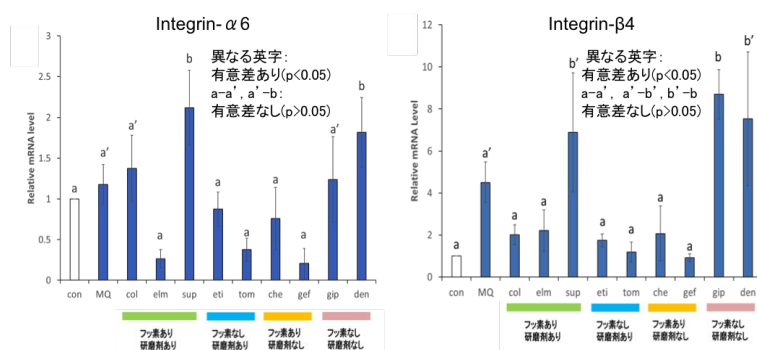


図4 歯肉上皮細胞の接着関連遺伝子の発現に与える影響

以上のことから、チタン製のインプラントや補綴装置を装着している患者が使用する歯磨剤について、選択の基準をより明確にするエビデンスを蓄積することができ、含有するフッ化物と研磨剤の有効性やリスクについて材料学的および生物学的な面から十分に考慮するべきであると考えられた。引き続き詳細な検証を行い、将来的には新規歯磨剤の開発にも繋げていきたい。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計2件)

首藤崇裕, 峯裕一, 和智貴紀, 二川浩樹, 柿本和俊, 各種歯磨剤を用いてブラッシングしたチタンの表面性状および細胞適合性評価, 第72回日本歯科理工学会学術講演会, 2018年

首藤崇裕, 牧平清超, 峯裕一, 和智貴紀, 二川浩樹, 柿本和俊, 各種歯磨剤を用いたブラッシングがチタン表面に与える影響, 日本補綴歯科学会第127回学術大会, 2018年

## 6. 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名: 牧平 清超

ローマ字氏名: (MAKIHIRA, Seicho)

研究協力者氏名: 二川 浩樹

ローマ字氏名: (NIKAWA, Hiroki)

研究協力者氏名: 峯 裕一

ローマ字氏名: (MINE, Yuichi)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。