

令和元年5月7日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11101

研究課題名(和文) 超効率的再石灰化を目指したう蝕治療法のナノレベルでの検討

研究課題名(英文) Investigation of caries treatment by hyper-effective remineralization on nano-level

研究代表者

奥山 克史 (OKUYAMA, Katsushi)

朝日大学・歯学部・准教授

研究者番号：00322818

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)：フッ化物局所応用およびフッ化物含有歯科材料適用による、ハイドロキシアパタイトからフルオロアパタイトへの変化について検討した。その結果フッ化物濃度、適用期間、フッ素溶液のpHによりフルオロアパタイトの量、割合が異なり、また、フッ素徐放性の高い材料の使用で、多くのフッ素取り込み、フルオロアパタイトへの置換を確認できた。また親水性ゲルを基材にしたフッ化物バーニッシュの適用が、他の材料と比較して有意に多いフッ素取り込みと少ない脱灰を認め、有用な材料であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

フッ化物適用によりハイドロキシアパタイトがフルオロアパタイトに置換し、耐酸性が向上することで抗う蝕性を示すことは知られているが、フッ化物の使用量や期間などによる影響はあまり知られていない。適切な条件を提示することで、効率的な再石灰化をはじめとするう蝕予防につながる。また、親水性ゲルの使用は長期にわたるフッ素供給として有用なことを示しており、根面う蝕などの予防に役立つものと思われる。

研究成果の概要(英文)：The effects of topical fluoride applications and fluoride-containing dental materials were evaluated on the conversion from hydroxyapatite (HAP) to fluorapatite (FAP). The results of this study show that the amount of FAP or ratio of FAP/HAP after topical fluoride application was depended on concentration, or pH of solution, or duration application periods. The use of higher fluoride release materials indicated higher fluoride uptake to tooth and conversion of FAP. Fluoride varnish with hydrogen gel showed high fluoride uptake and low demineralization on adjacent tooth with materials. The details of the conversion from HAP to FAP, and the usefulness of hydrophilic gel containing into fluoride varnish for caries prevention were suggested in this research.

研究分野：歯科保存学、材料学

キーワード：再石灰化
パタイト フッ素 ハイドロキシアパタイト PIXE/PIGE法 水酸化カリウム不溶性フッ素 フルオロア

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

申請者らはこれまでフッ化物による歯質強化に伴う腐予防効果に着目し、脱灰・再石灰化の繰り返しをシミュレートする pH サイクリングを導入した実験系により、フッ化物含有材料による腐進行抑制効果を検討してきた。その結果、

- (1) フッ化物含有材料がより長期間歯質に保持されている。
- (2) フッ素洗口等局所的フッ化物添加を併用する。

という条件で腐部の再石灰化が多く認められた。さらに申請者らは高崎量子応用研究所および若狭湾エネルギーセンター所有のマイクロ PIXE/PIGE 装置を利用して、歯質のフッ素濃度変化を把握してきた。^①

しかし、フッ化物含有材料使用による歯質の詳細な変化が不明であることから適切な材料の活用がなさおらず、唾液等により局所応用の効果が持続しないという問題がある。

2. 研究の目的

本研究では上記で示した問題を解決するため以下の点について検討し、効率的再石灰化実現に向けた基礎的知見を得る。

- (1) フッ素の歯質への浸透と微少レベルにおける歯質の形態変化との関連
- (2) 持続的に歯面に停滞できる基材を組み合わせたフッ化物局所応用の開発

3. 研究の方法

(1) フッ素による歯質への浸透により、歯質を構成するハイドロキシアパタイト (HAP) が変化することが認められている。まずこの変化を多角的に検討するため、特にどのようにフッ素が HAP の OH 基に置換していくのか、ということに着目した。

HAP 粉末に任意の濃度や同じ濃度で異なる pH のフッ化ナトリウム溶液に浸漬し、一定期間後 HAP 粉末を採取する。フッ化物処理された HAP 粉末をさらに 1M 水酸化カリウム (KOH) にて 24 時間浸漬することで、HAP の OH 基にフッ素が置換した KOH 不溶性フッ素 (KOH-F) を有するフルオロアパタイトが残り、KOH 中に HAP に付着していたフッ素化合物が溶解する (KOH 溶解性フッ素)。この KOH 不溶性ならびに溶解性フッ素の量を測定することで、フッ化物処理の条件における HAP への働きの違いを評価する。また、フッ化物処理した HAP 粉末を XRD および FTIR で分析することで、結晶構造などからフッ化物処理による変化を評価、検討した。

(2) フッ化物含有歯科材料の中でも、合着材・接着材に着目した。ヒト抜去歯の歯冠を歯軸に垂直に切断し、平滑な象牙質面を露出させた。4 種のフッ化物含有接着材 (レジン添加型ガラスイオノマーセメント (FL)、従来型ガラスイオノマーセメント (FO)、表面処理フッ化ナトリウムをフィラーとする接着性レジンセメント (SA)、多機能性表面処理ガラスフィラー (S-PRG フィラー) を含有する接着性レジンセメント (BC)) を用い、約 2mm 厚のアクリルレジンプレートを象牙質平面に接着させた。象牙質表層と接着材、レジンプレートを露出させた試料を再石灰化溶液 (pH: 7.0) に 8 週間供したのち試料を歯軸に平行に半切、それぞれ厚さ 500 μm に試料を調整した。半切した向かい合う試料の一方は処理をせず、もう一方は 1M KOH に 24 時間浸漬振盪後水洗を行い、歯質に結合している KOH-F のみにした。それぞれの試料のフッ素およびカルシウム濃度を若狭湾エネルギーセンター所有の大気マイクロ PIXE/PIGE 装置を用いて測定し、フッ素の取り込み、結合状態を比較検討した。

(3) 持続的に歯面に停滞できる基材を用いたフッ化物局所応用ということで、親水性ゲルを含んだフッ化物歯面塗布剤の効果を検討した。フッ化物含有知覚過敏抑制材として、従来品の MS コート F (MS)、親水ゲルを含む MS コート HyS ブロックジェル (HS) とフッ化物バーニッシュ CTx2 Varnish (FV) を使用した。ヒト抜去大白歯を脱灰溶液 (pH 4.5) を用いて 72 時間脱灰した後に、それぞれ頬舌的・近遠心的に切断して 4 分割した。各歯の 3 分割試料に MS、HS、FV それぞれの材料を塗布し、残りの 1 分割試料は材料を塗布しないコントロール (CONT) とした。脱イオン水中に 24 時間浸漬後、象牙質表層に取り込まれたフッ素は高崎量子応用研究所所有の大気マイクロ PIXE/PIGE 装置を用いて測定を行った。その後、各試料について自動 pH サイクル装置 (pH4.5-7.0) を用いて脱灰負荷試験を行った。各試料の Transverse Microradiography (TMR) を、実験開始前、pH サイクル 2 週後に撮影し、得られた画像から CEJ に近接した象牙質の脱灰量の変化を検討した。

4. 研究成果

(1) 浸漬溶液のフッ素濃度が増加すると KOH 中および KOH-F 量は増加し (Fig. 1)、KOH-F の全体のフッ素量に対する割合が低下していた (Fig. 2)。また

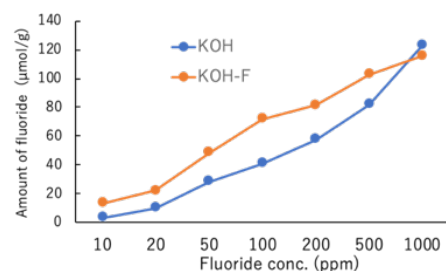


Fig. 1 フッ化物溶液の濃度による KOH 中フッ素および KOH-F 量

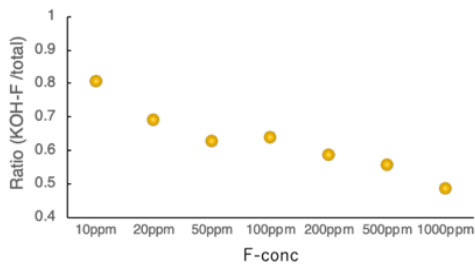


Fig. 2 フッ化物溶液の濃度による KOH-F の割合の変化

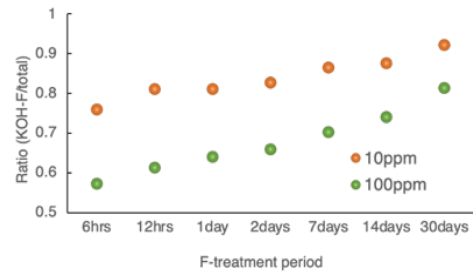


Fig. 3 フッ化物作用時間による KOH-F の割合への影響

溶液浸漬時間を増加させると、フッ素量は多くなり、KOH-F の全体フッ素量に対する割合も増加した (Fig. 3)。高濃度フッ素が一気に供給されると KOH 可溶性フッ素量が多くなるが、時間の経過とともに多くのフッ素が OH 基との置換に関わり、KOH-F の割合が多くなったと考えられる。pH による影響では、溶液 pH が酸性に近づくと取り込まれるフッ素量は増加し (Fig. 4)、フッ素全体に対する KOH-F の割合も上昇した (Fig. 5)。酸性度が大きいと溶解される HAP が多くなり、その結果取り込まれるフッ素も多くなるものと考えられた。

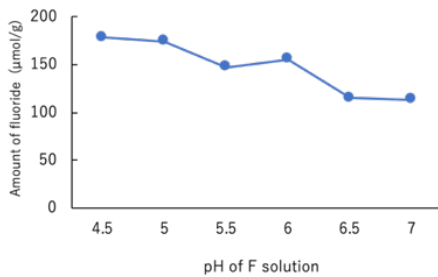


Fig. 4 フッ化物の pH による KOH-F 量への影響

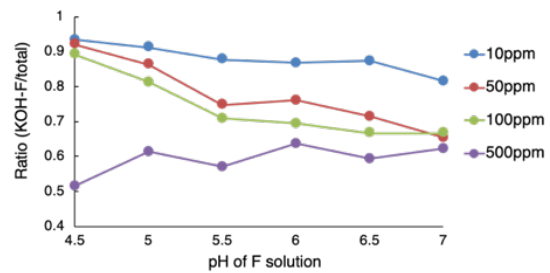


Fig. 5 フッ化物の pH による KOH-F の割合への影響

FTIR での分析では、処理溶液のフッ素濃度が高くなるにつれ、 3568cm^{-1} 付近で認められる OH のピークの減少が認められた (Fig. 6)。また XRD 分析では $2\theta = 31.8^\circ$ および 32.8° 付近で HAP のピークから高い確度へ移動していることが確認された (Fig. 7)。これらよりフッ素処理により HAP から FAP 様のものが生成されたことが示された。

(2) KOH 処理の有無では KOH 処理を行った群で低いフッ素量を認めたことより、KOH により KOH 溶解性フッ素が溶解したことが確認できた (Fig. 8)。ガラスイオノマーセメント 2 種は多いフッ素量と深くまで浸透していることも確認できた (Fig. 9)。全体のフッ素量に対する KOH-F の割合では、フッ素量の最も多い FL が一番引く値を示し、実験 1 での結果とも一致する (Table 1)。

(3) 親水性ゲルを含む HS がマッピング像より表層に一番多いフッ素の沈着を認め (Fig. 10)、フッ素の取り込み量も一番多く (Fig. 11)、また深い位置まで取り込みを認めた。さらに一番少ない脱灰量を認めたことから (Fig. 12)、フッ化物バーニッシュの中でもゲルを含むことで有意な抗う蝕性を認めることが期待できることが示唆された。

これらの結果より、再石灰化、歯質強化に働く、水酸化ヒドロキシアパタイトからフルオロアパタイトへの変換の詳細や、適用条件を導き出すきっかけとなり、かつ、親水性ゲルの使用のう蝕抑制効果への影響を評価することがで

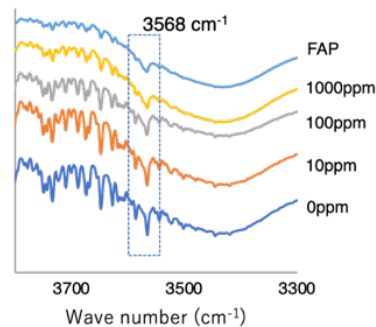


Fig. 6 フッ素処理した HAP の 3500cm^{-1} 付近の FTIR スペクトル

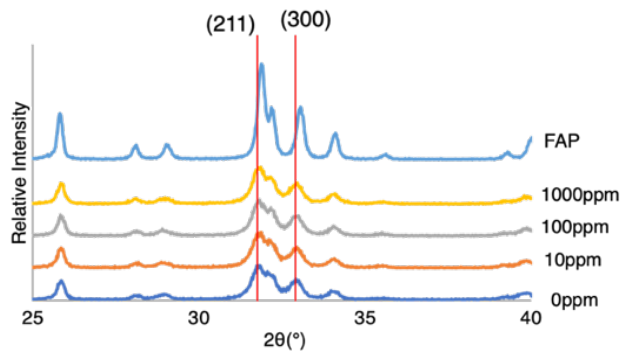


Fig. 7 フッ素処理した HAP の XRD スペクトル

きた。今後はアパタイトの変化について、より詳細な検討を加えることと、親水性ゲルの可能性を探るとともに、これまでにはない、新しい蝕予防法の確立に向けて研究を進めていく。

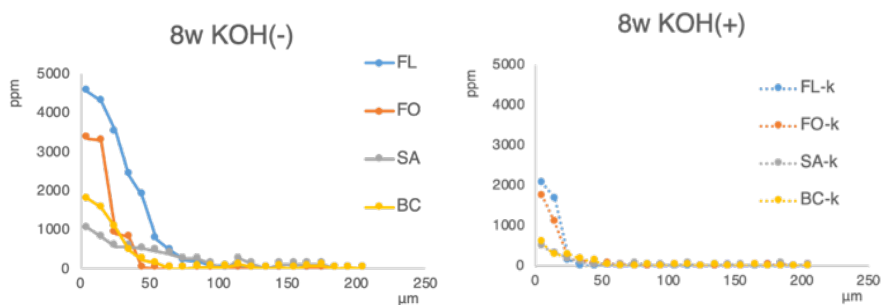


Fig. 8 材料適用 8 週後の全体のフッ素浸透 (左) と KOH-F (右)

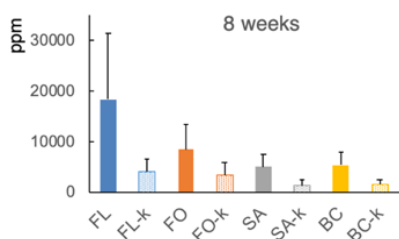


Fig. 9 表層から 100μm までの累積フッ素量

Table 1 各材料の全体のフッ素量 (KOH(-)) に対する KOH-F (KOH(+)) の割合

Material	Ratio (KOH(+)/KOH(-))
FL	0.21
FO	0.39
SA	0.26
BC	0.27

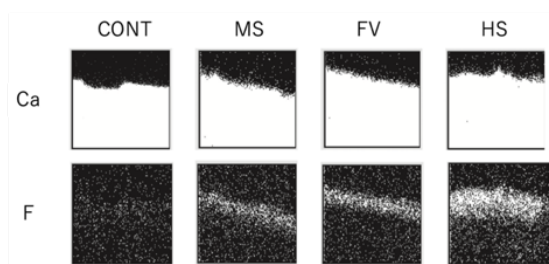


Fig. 10 各材料のカルシウム (Ca) およびフッ素 (F) の歯質内分布

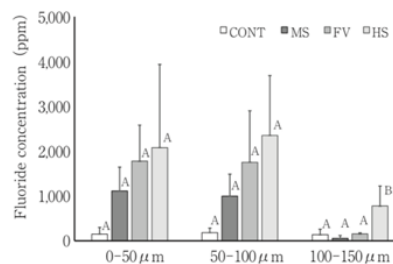


Fig. 11 各深さでの累積フッ素量

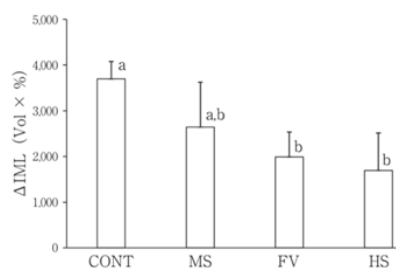


Fig. 12 各材料での脱灰量

<引用文献>

- Okuyama K, Yamamoto H, et al. Fluorine analysis of human dentin surrounding resin composite after fluoride application by μ -PIGE/PIXE analysis. Nucl. Instr. and Meth. B 269(20): 2269-2273, 2011.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

- Uemura R, Miura Jun, Matsuda Y (5 番目) (計 8 名). UVA-activated riboflavin promotes collagen crosslinking to prevent root caries. Sci Rep, 2019;19(1) 1252 DOI:10.1038/s41598-018-38137-7 1 査読有

- ② Hoshika S, Kameyama A, Suyama Y, De Munck J, Sano H, Van Meerbeek B. GPDM- and MDP-based self-etch adhesives bonded to bur-cut and uncut enamel - 'immediate' and 'aged' μ TBS. J Adhes Dent. 2018;20:113-120. 査読有
- ③ Okuyama K (1 番目), Tamaki Y (2 番目), Matsuda Y (6 番目) (計 10 名). Fluorine binding with dentin adjacent to fluoride-containing luting materials. Int J PIXE 2017; 27: 1-9. 査読有
- ④ 松田康裕 (1 番目), 奥山克史 (2 番目), 山本洋子 (計 7 名). フッ化物含有知覚過敏抑制材による象牙質表面の脱灰抑制効果. 日歯保存誌 2017; 60 : 273-281. 査読有
- ⑤ Yagi K, Matsuda Y (4 番目), Okuyama K (5 番目) (計 8 名). Use of PIXE/PIGE for sequential Ca and F measurements in root carious model. Sci Rep 2017; 7(1): 13450. DOI:10.1038/s41598-017-14041-4 査読有
- ⑥ 大木彩子, 松田康裕 (2 番目), 奥山克史 (4 番目) (計 8 名). フッ化物徐放性材料の象牙質表面への塗布による脱灰抑制効果. 日歯保存誌 2016; 59 : 359-369. 査読有
- ⑦ Okuyama K (1 番目), Matsuda Y (3 番目), Tamaki Y (7 番目) (計 8 名). Efficacy of a new filler-containing root coating material for dentin remineralization. Am J Dent 2016; 29: 213-218. 査読有

[学会発表] (計 38 件)

- ① Altankhishig B, Matsuda Y, Okuyama K. Antibacterial effect of ZnO/CuO nanocomposites with varying copper composition. The 66th Annual Meeting of JADR 2018 .
- ② 内藤克昭, 松田康裕, 奥山克史. 多種イオンによる根面象牙質う蝕抑制の検討 日本歯科保存学会 2018 年度秋季学術大会 2018.
- ③ Matsuda Y, Okuyama K. Antibacterial Effect of Fluoride-Containing ZnO/CuO Nanocomposite. 16th ICNMTA 2018 .
- ④ Okuyama K, Matsuda Y, Tamaki Y. Fluorine Distribution from Fluoride-Releasing Luting Materials to Human Dentin. 16th ICNMTA 2018 .
- ⑤ 松田康裕, 奥山克史. S-PRG バーニッシュによる象牙質表面の脱灰抑制効果 日本歯科保存学会 2018 年度春季学術大会 2018.
- ⑥ 奥山克史, 松田康裕, 山本洋子, 玉置幸道. フッ化物処理ハイドロキシアパタイトにおける歯質結合フッ素の分析 (第 2 報) - フッ化物溶液の pH による影響. 日本歯科保存学会 2017 年度秋季学術大会 2017.
- ⑦ 松田康裕, 奥山克史, 山本洋子. ゲル状フッ化物含有知覚過敏抑制材料による象牙質再石灰化の検討. 第 15 回日本再生歯科医学会学術大会 2017.
- ⑧ 奥山克史, 山本洋子, 松田康裕, 玉置幸道. フッ化物含有合着材周囲象牙質におけるフッ素との結合状態. 第 33 回 PIXE シンポジウム 2017.
- ⑨ 八木香子, 山本洋子, 奥山克史, 松田康裕. In-air micro beam PIXE/PIGE による Ca を含有してガラスイオノマーセメントを塗布した根面象牙質の耐酸性評価 日本歯科保存学会 2017 年度春季学術大会 2017.
- ⑩ Okuyama K, Matsuda Y, Yamamoto H, Tamaki Y. XRD and FT-IR analysis on fluoride-treated hydroxyapatite. International dental materials congress 2016.
- ⑪ Yagi K, Yamamoto H, Okuyama K, Matsuda Y. Evaluation of the acid resistance of root dentin when applying fluoride containing materials incorporating Ca using in-air micro-PIXE/PIGE. International dental materials congress 2016.
- ⑫ 奥山克史, 松田康裕, 山本洋子, 玉置幸道. フッ化物処理ハイドロキシアパタイトにおける歯質結合フッ素の分析 - フッ化物溶液の濃度および処理時間による影響 日本歯科保存学会 2016 年度秋季学術大会 2016.
- ⑬ Matsuda Y, Okuyama K, Yamamoto . Demineralize Prevention of Dentin With S-PRG Varnish via Automatic pH-cycling. 18th Joint scientific meeting of KACD and JSCD 2016.
- ⑭ Yagi K, Yamamoto H, Matsuda Y, Okuyama K. Evaluation of demineralization in root dentin using in-air micro PIXE/PIGE. 94th General session of IADR 2016.
- ⑮ Okuyama K, Matsuda Y, Yamamoto H, Tamaki Y. Evaluation of dentin-bound fluoride uptaken from fluoride-containing dental materials. 45th Meeting of AADR 2016.
- ⑯ 奥山克史, 松田康裕, 山本洋子, 玉置幸道. フッ化物含有歯科材料によるフッ素のエナメル質への取り込みと結合状態の評価 日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会 2015.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：玉置 幸道

ローマ字氏名：(TAMAKI, yukimichi)

所属研究機関名：朝日大学

部局名：歯学部

職名：教授

研究者番号（8 桁）：80197566

研究分担者氏名：松田 康裕

ローマ字氏名：(MATSUDA, yasuihiro)

所属研究機関名：北海道医療大学

部局名：歯学部

職名：講師

研究者番号（8 桁）：50431317

研究分担者氏名：星加 修平

ローマ字氏名：(HOSHIKA, shuhei)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：大学院歯学研究院

職名：助教

研究者番号（8 桁）：40581682

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：山本 洋子

ローマ字氏名：(YAMAMOTO, hiroko)

※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。