

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 27 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11135

研究課題名(和文) 初期根面う蝕病巣に対する過再石灰化治療法の開発

研究課題名(英文) The development of hyper-remineralization remedy for initial root caries

研究代表者

椎谷 亨 (SHIYA, TORU)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・講師

研究者番号：40350532

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：う蝕予防や知覚過敏治療を目的として各種歯科用バーニッシュ等が開発され注目されている。中でもS-PRGフィラーを含有する多種イオン徐放性バーニッシュや同歯面コーティング材は、フッ化物イオンをはじめとする6種類のイオンリリース、およびフッ化物のリチャージ能を発揮し、周辺環境を中性領域に移行させる酸緩衝能を有する。本研究では、バーニッシュの経時的口腔内劣化を考慮に入れた象牙質脱灰抑制能、およびコーティング材適用面下の象牙質脱灰抑制能を探索し、その有効性を明らかにした。また、同フィラーを10%もしくは20%含有するレジン系仮封材が、その隣接する象牙質の脱灰抑制能を向上させることを英語論文にて発表した。

研究成果の概要(英文)：Several dental varnishes have been developed for preventing caries and the treatment of hypersensitivity. Among them, the S-PRG filler containing varnish and tooth coating material could release six types of ions, recharge fluorides, and have buffering capacity for acid. In this investigation, the anti-demineralization effect of dentin for the dental varnish considering degradation caused by intraoral fluid, and that of dentin under the tooth coating material, were found out. Moreover, we elucidated that temporary filling resin-based materials containing over 10% of S-PRG filler content had anti-demineralization effects on adjacent dentin, in the English paper.

研究分野：保存修復学

キーワード：初期根面齲蝕 象牙質 脱灰抑制能 TMR バーニッシュ 多種イオン徐放性 再石灰化 過再石灰化

1. 研究開始当初の背景

近年我が国の高齢者一人平均現在歯数は増加しているが、そのほとんどは歯根が露出しており、根面う蝕も多発している。根面う蝕は、健全歯質との境界が明瞭ではないのが特徴である。換言すれば、プラークが認められる露出根面の多くは初期脱灰を受けていると考えても過言ではない。根面う蝕がひとたび窩を形成してしまうとその修復処置には非常に苦慮する。したがって、明瞭な窩形成のない初期う蝕段階において、その進行を制御することが強く望まれる。

過再石灰化(hyper-remineralization)は、元来の健全歯質ミネラル濃度以上の再石灰化現象を示すもので、これまでも ten Cateらは充填されたガラスイオノマーセメント近傍の象牙質病巣において過再石灰化現象が生じることを報告している(ten Cate JM, van Duinen RN: J Dent Res 74, 1266-1271, 1995)。歯根象牙質のう蝕が表層下脱灰病巣の段階である場合、過再石灰化現象を利用した治療が可能となれば、臨床的に非常に有効となるであろう。

2. 研究の目的

根面う蝕は、しばしば健全歯質との境界が不明瞭であり、その進行も速やかであるため、その処置に非常に苦慮することが多い。従って、明瞭な窩形成のない段階における対応を立てることは重要なことである。

近年、う蝕予防あるいは知覚過敏治療を目的として各種歯科用バーニッシュ等が開発され注目されている。その中でも多量イオン徐放性バーニッシュ(PRGバーニッシュ)や同歯面コーティング材(PRGバリアコート)は、S-PRGフィラーを含有する特徴ある材料である。S-PRGフィラーはフッ素をはじめとする6種類のイオンリリース、およびフッ化物のリチャージ、そして周辺環境を中性領域に移行させる酸緩衝能を有する。今回の研究目的は、これら材料のフッ化物徐放性や歯根象牙質脱灰抑制能を検討し、過再石灰化処置への方向性を探ることである。

3. 研究の方法

(1) 新規フッ化物徐放性バーニッシュの歯根象牙質脱灰抑制能

ウシ下顎切歯歯根部から幅5mmの円筒状象牙質片を切り出し、歯軸方向に2分割した上で、#2,000の耐水研磨紙により象牙質試験面を平坦に仕上げた。その後、5本のプラスチック製容器の底に、6つずつその象牙質試験料を固定した。象牙質試験面に3×1mmに窓開けしたマスキングテープを貼付し、MI Varnish (GC America; MIV)もしくはPRGバーニッシュ(松風; PV)(S-PRGフィラー40%含有)を専用チップにて塗布し、プラスチックパチュラにて成形した。テープ除去後、塗布材料に隣接する部位に新鮮象牙質試験面が3×1mm露出するように耐酸性ニール

バーニッシュ処理を行った。その上で、材料を100%湿潤下で1時間静置した群をそれぞれMIV0日経過群(MIV0群)およびPV0日経過群(PV0群)とした。一方、再石灰化溶液(1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 130mM KCl, 20mM HEPES, 0.1ppmFもしくは0.01ppmF(=後者は、口腔内での材料劣化の影響を反映した実験系として、その口腔液中フッ化物濃度を唾液中フッ化物濃度とされる10⁻²ppmオーダーの低値に設定)、pH7.0)に3日間浸漬した群をそれぞれMIV3日経過群(MIV3群)およびPV3日経過群(PV3群)とした。再石灰化液は毎日交換した。なお対照群として、被験面以外をすべて耐酸性ニールバーニッシュで被覆し、3日間再石灰化液に浸漬する群をCONT3群とした。脱灰試験は50mM酢酸ゲルを使用して37℃で1週間行った。その後、厚さ300μmの薄切片を切り出し、TMR撮影(PW 3830, 管電圧25kV, 管電流15mA, 照射時間20分)、ミネラルプロファイルの作成後、表層および病巣体部のミネラル密度(vol%)、平均ミネラル喪失量(IML: vol% × μm)を測定した。群間におけるミネラル密度、IMLの比較には、Tukeyの多重比較検定もしくはSteel-Dwassの検定(有意水準5%)を用いた。

(2) 新規フッ化物徐放性レジン系仮封材の歯根象牙質脱灰抑制能

象牙質試験料の作製：ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより5mm根尖側の位置で水平断して得られた円筒状象牙質片をさらに歯軸方向に2分割し、#2,000の耐水研磨紙で象牙質試験面を平坦に仕上げた。

仮封材：3×3mmの試験面が得られるようにスティッキーワックスにて窓開けし、そのうち3×2mmの部位に対し以下の4種類のレジン系仮封材を筆積み法により適用した；1) デュラシール(DU群) 2) S-PRGフィラー0%含有レジン系仮封材(S0群) 3) S-PRGフィラー10%含有レジン系仮封材(S10群) 4) S-PRGフィラー20%含有レジン系仮封材(S20群)。各群の試料数はn=6とした。

脱灰試験：上記にて作製した象牙質試験料をプラスチック製円筒容器の底にスティッキーワックスにて固定し、8% Methocel MC gel (Fluka) を注入して24時間放置後、その上部に脱灰緩衝液(1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 50mM acetic acid, 0ppmF, pH5.0)を静かに注入する二層法にて37℃, 1週間静置し、仮封材で被覆されていない3×1mmの露出象牙質を脱灰した。

ミネラルプロファイルの作成および平均ミネラル喪失量(IML)の測定：象牙質試験料から厚さ300μmの薄切片を作製し、TMR撮影(PW 3830, 管電圧25kV, 管電流15mA, 照射時間20分)後、分析用ソフト(TMR 2000)を用いて分析を行なった。4群間における比

較には、one-way ANOVA および Tukey の多重比較検定 (有意水準 5%) を用いた。

(3) フッ化物徐放性コーティング材料適用面下の歯根象牙質脱灰様相

ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより 5 mm 根尖側の位置で水平断し円筒状象牙質歯片を作製後、ワイヤー式精密切断機 (Well 3242, Walter Ebner) にて歯軸方向に 2 分割し、象牙質試料とした。グループは、材料を塗布しない群 (= CONT 群) PRG バリアコート塗布後 7 日間 100%湿度下で静置した群 (= PRG 群) クリンプロ XT バニッシュを同様に静置した群 (= XT 群) を用意した。その後、歯根面を損傷しないよう材料のみをエバンス彫刻刀を用いて慎重に除去した。

これら作製された象牙質試料を、群別に用意されたプラスチック製円筒容器のふたの裏に、スティッキーワックスにて固定した。3 × 1 mm の象牙質表面部分が窓開け (試験面) となるように耐酸性バニッシュを塗布した後、8% Methocel MC gel (Sigma) 40ml を容器上部より注入、37 °C 恒温槽に静置し、24 時間経過後に 50mM 酢酸 (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 50 mM acetic acid, pH 5.0) 70ml を注入し 1 週間脱灰を行った。試験面中央より厚さ 300μm の薄切片を歯軸と垂直方向に切り出し、顕微エックス線装置 (PW 3830, Spectris) および High resolution X-ray glass plate (Konica Minolta) を用いて Transverse Microradiography (TMR) 撮影 (管電圧 25 kV, 管電流 15 mA, 照射時間 20 分) を行った。現像定着後、分析用ソフト (TMR 2000) を用いてミネラルプロファイルの作成および平均ミネラル喪失量 (IML) を計測した。3 群間における IML の比較には、one-way ANOVA および Tukey の多重比較検定 (有意水準 5%) を用いた。なお、n 数は CONT 群および PRG 群が 5、XT 群が 6 であった。

また、2 材料からのフッ化物イオン徐放量の測定も併せて行った。すなわち、約 15 mm 四方のプラスチックシート片面を #600 耐水研磨紙にて粗造にした後、直径 6 mm の穴の開いたマスキングテープを貼り付け、その穴の部分に材料を均一に塗布した。材料塗布したプラスチックシートを 5 ml の脱イオン水中に 37 °C、7 日間浸漬した。得られた各溶液の 3 ml に対し TISAB III を 0.3 ml 加え、室温下にて超小型スターラーで攪拌しながら、イオンメーター (Orion STAR A214, Thermo Fisher Scientific) に接続した複合型フッ素イオン電極 (Orion 9609BNWP ionplus Sure-Flow Fluoride, Thermo Fisher Scientific) を用いて直接法にて測定した (n = 3)。

4. 研究成果

(1) 新規フッ化物徐放性バニッシュの歯根象牙質脱灰抑制能

「0.01 ppmF 再石灰化溶液」

平均ミネラルプロファイル: CONT3 群ではミネラル密度の低い表層と顕著な病巣体部が認められた。MIV0 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度 30 vol% を越える明瞭な表層が観察されたが、深さ約 30 ~ 40 μm 付近に存在する病巣体部が顕著であった。MIV3 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度 25 vol% に及ばない比較的低い表層が観察されたが、顕著な病巣体部は示さなかった。PV 0 群と PV3 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度 30 vol% を越える明瞭な表層が観察され、病巣体部の軽微なほぼ同様の形を示した。MIV では 0 日と 3 日浸漬群において表層と病巣体部に大きな違いが認められた一方、PV については 0 日と 3 日浸漬群においてその形に顕著な違いは見られなかった。

表層のミネラル密度: MIV0 群, PV0 群, PV3 群は CONT3 群と比較して有意に高く ($p < 0.05$)、MIV0 群は MIV3 群と比較して有意に高い値であった。また PV0 群, PV3 群は MIV3 群と比較して有意に高かった ($p < 0.05$)。

病巣体部のミネラル密度: PV0 群, PV3 群は MIV0 群と比較して有意に高い値であった ($p < 0.05$)。

平均 IML (vol% × μm): CONT3 群, MIV0 群, MIV3 群, PV0 群, PV3 群のそれぞれで、 $3,951 \pm 429$, $3,437 \pm 289$, $2,897 \pm 673$, $2,760 \pm 416$ および $2,790 \pm 453$ であった。PV0 群は CONT3 群, MIV0 群と比較して有意に低い値であった ($p < 0.05$)。その一方で PV0 群と PV3 群の有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

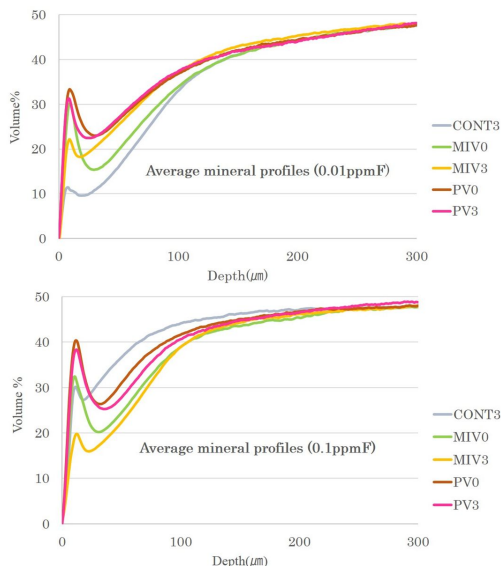
このように PV3 群のミネラルプロファイルの形が PV0 群に類似しており、表層や病巣体部のミネラル密度も両群において有意差が見られなかったのは、PV に含有される S-PRG フィラーのフッ化物リチャージ能により、フッ化物イオンが再徐放されているためと考えられ、MIV 群に劣らない良好な結果が得られたものと思われた。

「0.1 ppmF 再石灰化溶液」

平均ミネラルプロファイル: CONT0 群ではミネラル密度の低い表層と病巣体部が認められた。PV0 群, PV3 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度 38 vol% の明瞭な表層が観察されたが、PV3 群は PV0 群と比較してわずかに深い病巣体部を示した。MIV0 群, MIV3 群ではほぼ同様な病巣体部を示したが、MIV0 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度約 30 vol% の表層、MIV3 群では約 18 vol% の表層が観察された。

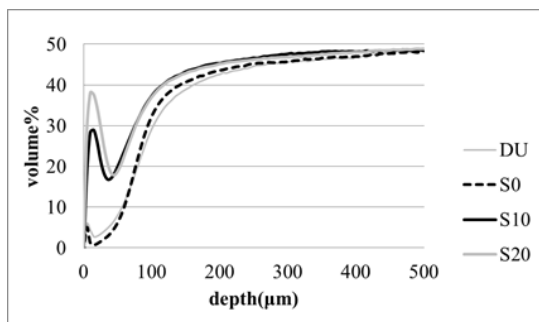
平均 IML: CONT0 群, MIV0 群, PV0 群, CONT3 群, MIV3 群, PV3 群のそれぞれで、 $4,077 \pm 146$, $2,935 \pm 211$, $2,285 \pm 316$, $1,964 \pm 304$, $3,213 \pm 152$ および $2,378 \pm 223$ であった。MIV0 群, PV0 群, CONT3 群, MIV3 群, PV3 群は CONT0 群と比較して有意差が認められた ($p < 0.05$)。一方、他のグループ間においては有意差が認められなかった ($p > 0.05$)。

MIV では 3 日間の浸漬によって被験歯面表層の脱灰抵抗が低下した。これは材料劣化による影響と考えられる。一方、PV については 0 日浸漬群と 3 日浸漬群においてミネラルプロファイルの形に顕著な違いは見られなかった。これは PV に含有される S-PRG フィラーのフッ化物リチャージ能により、フッ化物イオンが再徐放されたためであると考えられた。



(2) 新規フッ化物徐放性レジン系仮封材の歯根象牙質脱灰抑制能

平均ミネラルプロファイルと比較すると、DU 群および S0 群では明瞭な表層は観察されず顕著な病巣体部が認められたが、S10 群および S20 群では深さ約 10~20 μm 付近にミネラル量それぞれ 30 vol% および 40 vol% 近くにまで達する厚く明瞭な表層が観察され、病巣体部も軽微であった。平均 IML (vol% × μm) は、DU 群、S0 群、S10 群および S20 群各群でそれぞれ 5,223 ± 341, 5,004 ± 404, 2,979 ± 241 および 2,814 ± 569 であり、S10 群、S20 群は DU 群、S0 群に比較し有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。一方、S10 群と S20 群間および DU 群と S0 群間には有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。



(3) フッ化物徐放性コーティング材料適用面下の歯根象牙質脱灰様相 (徐放された平均フッ化物イオン濃度)

PRG: 1.2 ± 0.1 ppmF, XT: 4.3 ± 0.2 ppmF (TMR 像)

CONT 群: 不明瞭な表層と、著明な病巣体部が観察された。

PRG 群および XT 群: 両者とも明瞭な表層が観察され、病巣体部については、XT 群の方が PRG 群よりも強い不透過性が認められた。

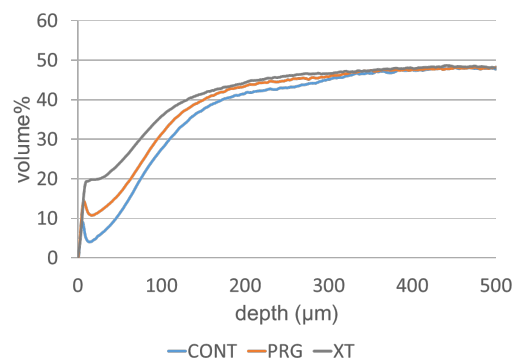
(平均ミネラルプロファイル)

CONT 群の表層は極めてミネラル密度が低かったが、PRG 群と XT 群の表層のミネラル密度はそれぞれ 15, 20 volume% を示した。

XT 群のミネラル密度は、全病巣深度において PRG 群よりも高い値を示した。

(ミネラル喪失量)

one-way ANOVA および Tukey の検定により、すべての群間において、有意差が認められた ($p < 0.05$)。



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 1 件)

- Effects of the resin-based temporary filling materials against dentin demineralization. Shiiba T, Tomiyama K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Fujino F, Ohashi K, Nihei T, Teranaka T, Mukai Y: Dental Materials Journal, 査読あり, 35(1), 70-75, 2016.

https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/35/1/35_2015-135/_pdf/-char/en

[学会発表](計 7 件)

- 片岡あい子, 椎谷 亨, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 向井義晴: 新規 S-PRG フィラー配合パーニッシュの象牙質脱灰抑制能 (第 2 報) - 徐放されるフッ化物イオン濃度測定 - . 日本歯科保存学会 2015 年度春季学術大会 (第 142 回), 北九州, 2015.6.25 ~ 6.26.
- 片岡あい子, 椎谷 亨, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 向井義晴: 新規 S-PRG フィラー配合パーニッシュの

象牙質脱灰抑制能 - 再石灰化溶液浸漬後の脱灰抑制能 - . 日本歯科保存学会 2015年度秋季学術大会(第 143 回), 東京, 2015.11.12~11.13.

3. 椎谷 亨, 片岡あい子, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 向井義晴: S-PRG フィラー配合バーニッシュの象牙質脱灰抑制能. 神奈川歯科大学学会第 50 回総会, 横須賀, 2015.12.5.
4. 片岡あい子, 椎谷 亨, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 向井義晴: S-PRG フィラー配合バーニッシュの象牙質脱灰抑制能 - 再石灰化溶液浸漬後の脱灰抑制能 - . 神奈川歯科大学学会第 50 回総会, 横須賀, 2015.12.5.
5. 片岡あい子, 椎谷 亨, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 向井義晴: S-PRG フィラー配合バーニッシュの象牙質脱灰抑制能 - 再石灰化溶液浸漬後の脱灰抑制能(第 2 報) - . 日本歯科保存学会 2016年度春季学術大会(第 144 回), 宇都宮, 2016.6.9~6.10.
6. 椎谷 亨, 片岡あい子, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 向井義晴: フッ化物徐放性コーティング材料適用面下の歯根象牙質脱灰様相. 神奈川歯科大学学会第 51 回総会, 横須賀, 2016.12.3.
7. 椎谷 亨, 片岡あい子, 藤野富久江, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 向井義晴: フッ化物徐放性コーティング材料適用面下の歯根象牙質脱灰様相. 日本歯科保存学会 2017 年度春季学術大会(第 146 回), 青森, 2017.6.8~6.9.

6. 研究組織

(1)研究代表者

椎谷 亨 (SHI IYA TORU)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・講師
研究者番号: 40350532

(2)研究分担者

向井 義晴 (MUKAI YOSHIHARU)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号: 40247317

寺中 敏夫 (TERANAKA TOSHIO)

神奈川歯科大学・歯学部・名誉教授
研究者番号: 60104460

(3)研究協力者

片岡あい子 (KATAOKA AIKO)