

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 24 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20403

研究課題名(和文) 抗菌性を有する新規象牙質知覚過敏抑制材の開発

研究課題名(英文) Development of new desensitizer for hypersensitive dentin with antibacterial properties

研究代表者

高橋 圭 (TAKAHASHI, KEI)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：00550815

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、象牙質知覚過敏抑制材で処理した象牙質に対する口腔内細菌の付着性に関する研究である。既存の代表的な象牙質知覚過敏抑制材においては象牙質表面に高分子被膜を形成するタイプのほうが、親水性モノマーが象牙質表層に浸透して樹脂含浸層のような被膜を形成するタイプに比べて口腔内細菌の初期付着が少ない傾向にあった。また、抗菌成分を試作の象牙質知覚過敏抑制材に添加することによって一定に抗菌効果は得られるものの、その抗菌作用は長時間持続せず、また抗菌成分を添加することによって物性の低下ならびに象牙質に対する接着強さの低下が認められた。

研究成果の概要(英文)：This study is about the adhesion of oral bacteria for the dentin which I treated in desensitizer for hypersensitive dentin. It was in the beginning representative desensitizer for hypersensitive dentin. As a result, the initial adhesion of oral bacteria tended that there was few it in comparison with the type that a hydrophilic monomer penetrated to the dentin surface, and a type to form a high polymer film on the dentin surface when I put it within this study formed a film such as hybrid layer in the adhesion. Although antibacterial effect can be obtained constantly by adding antimicrobial ingredient to prototype desensitizer for hypersensitive dentin, its antibacterial effect did not last for a long time, addition of antimicrobial ingredient decreased physical properties and the resin bond strength to dentin.

研究分野：歯科保存修復

キーワード：象牙質知覚過敏抑制材 抗菌性

1. 研究開始当初の背景

一般に象牙質知覚過敏症を呈している歯はブラッシング時に不快な痛みを伴うことが多く、ブラッシングが不十分になればプラークが付着しう蝕の発生や近接する歯肉の炎症を惹起させることも考えられる。プラーク形成が細菌の付着から始まることを考えると象牙質知覚過敏抑制材には本症に対する効果はもとより、細菌の初期付着を抑制する効果をもつことが必要であると思われる。これまでの象牙質知覚過敏抑制材はシュウ酸カリウムの結晶析出やアパタイトの析出を促し、開口部の閉鎖が試みられてきた。しかし効果が不十分なため、重合性モノマーを含有したボンディング材や低粘度レジンによるコーティングが提唱された。この方法では、歯面に被膜が形成されるので知覚過敏は抑制されるが、薄層被膜を形成することはきわめて困難で、歯面への移行が不整となりやすいため、プラークの蓄積を惹起させる恐れがある。そこで近年、ポリマーエマルジョンあるいは比較的分子量の親水性モノマーを主成分とする象牙質知覚過敏抑制材が開発された。しかし、これらの材料も象牙質表面に塗布することにより、物理化学的性状に変化をきたすことが指摘されている。また、最近では従来の象牙質知覚過敏抑制材にフッ化ナトリウムを配合することにより、耐酸性の向上が図られている。そこで本研究では、これらの薬剤で処理した象牙質表面における細菌付着性について評価することとした。

2. 研究の目的

本研究は、象牙質知覚過敏抑制材で処理した象牙質に対する口腔内細菌の付着性に関する研究である。最近の象牙質知覚過敏抑制材の多くは、薄層被膜を形成することにより象牙質開口部を封鎖し知覚過敏を抑制する材料が主流である。しかし、象牙質表面へのポリマーの沈着やモノマーが浸透して被膜が形成されることから、象牙質表面の物理化学的性状に変化をきたすことが考えられる。そこで本研究では、各種象牙質知覚過敏抑制材で処理した象牙質の表面性状を調査研究することにより、細菌付着抑制効果のある新規象牙質知覚過敏抑制材の開発を目的としている。具体的には、象牙質表面への口腔内細菌の初期付着については付着試験を行い、光学顕微鏡および CCD カメラを用いて付着菌数の測定を行い、単位面積当たりの付着菌数を算出する。続いて象牙質表面の物理化学的性状の変化については、象牙質表面の接触角を測定することにより物理化学的性状の変化を調査する。最終年度からはその研究結果をもとに、口腔内細菌の初期付着を抑制できる試作象牙質知覚過敏抑制材の研究を行うとともに、抗菌性を併せ持つ新規象牙質知覚過敏抑制材の開発を最終目標とした。

3. 研究の方法

(1) 各種象牙質知覚過敏抑制材を用いて処理した象牙質表面への口腔内細菌の初期付着について

付着試験に使用する口腔内細菌は、う蝕原性菌である *Streptococcus mutans* と、歯面への初期付着が報告されている菌として *Streptococcus oralis* の 2 種類とする。これらの細菌を 0.5% Yeast Extract を添加した BHI 液体培地で 37℃、1 晩嫌気培養し、対数増殖期の細胞を 4000 g で 10 分間遠沈させ回収する。菌体は pH7.3 の 0.9% NaCl 含有 10mM トリス緩衝液で洗浄後、同溶液中に 10^7 cell/ml になるように再懸濁液 200cc をピーカーに注ぎ、試料体を付着させたスライドガラスを液に浸漬するようにピーカーの側面に固定する。懸濁液は、細菌が沈殿しないようにスターラーで緩やかに攪拌しながら 37℃ で 1 時間保持して菌を付着させる。終了後、試料体に付着した細菌をトリス緩衝液で軽く洗浄し、2.5% グルタルアルデヒド水溶液中に浸漬して 4℃ で 30 分間保持し固定を行う。細菌の染色は酵素抗体法を用いて行う。付着菌数の測定には光学顕微鏡および CCD カメラを用いて画像を記録し、1 試料あたり任意の 6 視野の付着菌数を計測して単位面積当たりの付着菌数を算出する。

なお、本研究では、ヒト抜去歯象牙質を 2000 番シリコンカーバイドペーパーで研磨した後、超音波処理した面を被験面とした。予備的に被験面を SEM 観察したところ、スマヤー層は残存しているが象牙質細管は部分的に開口していることを確認している。象牙質知覚過敏症を発症する露出根面は、スマヤー層の存在しない面であるため、実際の状態を再現しているとは言い難いが、試料の統一化を考え、本研究では被験面とすることとした。

(2) 各種象牙質知覚過敏抑制材を塗布することによる象牙質表面の物理化学的性状の変化について

各種象牙質知覚過敏抑制材を塗布することによる象牙質表面の物理化学的性状の変化を調べるために、塗布後の象牙質へ 100mM NaCl および 100% γ -ブロムナフタレンを滴下し、その接触角を測定した。また、供試菌の接触角も以下のように測定した。まず、30ml の 0.5% Yeast Extract を添加した BHI 培地で対数増殖期まで嫌気培養した細菌を遠心集菌し、10mM リン酸緩衝液で洗浄後、メンブレンフィルター上に回収して菌体フィルムを作製する。この菌体フィルムをデジケターで 1 時間乾燥させ、接触角の測定に使用する。5 μ l の 100mM NaCl および 100% γ -ブロムナフタレンを試料体および菌体フィルムに滴下し、CCD カメラを用いて画像を記録し、滴下直後に液滴と試料体および菌体フィルム間に形成される接触角を測定する。そしてこれらの測定した接触角の値を、Young の式および Fowkes の式に代入して表面自由エネルギーを算出する。

(3) 口腔内細菌の初期付着抑制効果ならびに抗菌性を有する新規象牙質知覚過敏抑制材の開発について

本研究は今回の3つの研究テーマのうち最も重要視している項目であり、(1)~(2)の研究結果をもとに、各種象牙質知覚過敏抑制材の利点・欠点を探求し、口腔内細菌の初期付着抑制効果のある手法で尚且つ、長期耐久性を併せ持つ新規象牙質知覚過敏抑制材の研究開発に取り組む。具体的には、抗菌性モノマーを配合した新規象牙質知覚過敏抑制材の試作品を作製し、それをを用いて付着試験ならびに象牙質表面の物理化学的性状の変化を調べるために接触角の測定を行い、また長期耐久性を調べるために歯ブラシ摩耗試験やサーマルサイクル試験による口腔内環境を想定した耐久性試験を行う。また、臨床の現場で頻繁に行われる処置を想定して、新規象牙質知覚過敏抑制材塗布後のレジン接着強さの影響についても微小引張試験ならびに接着界面のSEM観察を行い考察する。また最終年度は、前年度までの研究結果をもとに、必要な追加実験を順次行い、新規象牙質知覚過敏抑制材の試作品を完成させることが最終目標である。その新規象牙質知覚過敏抑制材の特徴として、口腔内細菌の初期付着が少なく、抗菌性を有して尚且つ、長期耐久性があり、レジン接着強さに影響を与えにくい材料の開発を目指している。

4. 研究成果

本研究では試作の象牙質知覚過敏抑制材を用いて象牙質表面の物理化学的性状の変化と細菌付着性についての研究を行い、最終的には抗菌性を併せ持った新規象牙質知覚過敏抑制材の開発を目的としている。

既存の代表的な象牙質知覚過敏抑制材は、(1)象牙質表面に高分子被膜を形成するか、あるいは(2)親水性モノマーが象牙質表層に浸透して接着における樹脂含浸層のような被膜を形成すると考えられる。既存の象牙質知覚過敏抑制材のうち、MSコートONE(サンメディカル)とMSコートF(サンメディカル)が(1)象牙質表面に高分子被膜を形成し、シールドフォースプラス(トクヤマデンタル)とGガード(ジーシー)とハイブリッドコート(サンメディカル)が(2)親水性モノマーが象牙質表層に浸透して接着における樹脂含浸層のような被膜を形成するタイプに分類される。もちろんいずれも前もって酸処理などは行わずそのまま象牙質表面に塗布することがメーカー指示されているため、接着修復の際のような強固な樹脂含浸層は形成されているとは考え難い。しかし、これらの薬剤を塗布した象牙質はいずれも表面に被膜が形成され、表面の物理化学的性状は大きく変化すると考えられ、このことは、プラーク形成の発端である口腔内細菌の初期付着にも何らかの影響を与えることが考えられる。したがって、知覚過敏症状は

抑制できても、細菌付着性が増大し、プラークの蓄積をきたして歯肉の炎症を惹起するようであるなら、これらは優れた材料であるとは言いがたい。しかしながら、近年臨床の現場で使用頻度の高い既存の象牙質知覚過敏抑制材で処理した象牙質表面への細菌付着性を比較検討した報告は見当たらない。

そこで本研究では、各々のポリマーあるいはモノマーを主成分とした象牙質知覚過敏抑制材で処理した象牙質表面の物理化学的性状の変化と細菌付着性を *in vitro* において比較検討するとともに試作象牙質知覚過敏抑制材に抗菌性モノマーを配合することにより、抗菌性を有する新規象牙質知覚過敏抑制材の開発に取り組んだ。その結果、本研究の範囲内においては、象牙質表面に高分子被膜を形成するタイプのほうが、親水性モノマーが象牙質表層に浸透して接着における樹脂含浸層のような被膜を形成するタイプに比べて口腔内細菌の初期付着が少ない傾向にあった。また、抗菌成分を添加することによって、一定に抗菌効果は得られるものの、その抗菌作用は長時間持続せず、また抗菌成分を添加することによって物性の低下ならびに象牙質に対する接着強さの低下が認められた。

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2件)

高橋圭、西谷佳浩、吉山昌宏
象牙質知覚過敏抑制材塗布がレジン接着強さに及ぼす影響
接着歯学 33 巻 4 号 P163-169 (2015 年)
査読有

Tomohiro Hoshika, Yoshihiro Nishitani, Kei Takahashi, Haruka Ogata, Naoko Ohara, Takehiro Kajihara, Masahiro Yoshiyama
Mineralization of Resin Using Experimental Adhesives Containing Hydroxyapatite in Long Term
Journal of Oral Tissue Engineering
13 巻 2 号 P85-95 (2015 年) 査読有

[学会発表](計4件)

The evaluation of new all-in-one self-etching adhesives.

T. Hoshika¹, Y. Nishitani², K. Takahashi¹, H. Ogata², T. Kajihara², M. Yoshiyama³

1, Department of Operative Dentistry, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

2, Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Research Field in Dentistry, Medical and Dental Sciences Area, Research and Education

Assembly, Kagoshima University,
Kagoshima, Japan
3, Department of Operative Dentistry,
Okayama University Graduate School
of Medicine, Dentistry and
Pharmaceutical Sciences, Okayama,
Japan
94th General Session & Exhibition of
the IADR
3rd Meeting of the IADR Asia Pacific
Region
35th Annual Meeting of the IADR
Korean Division
June 22-25, 2016
Korean

神農泰生、大原直子、松崎久美子、高橋
圭、山路公造、吉山昌宏
咬耗面積・接触面積・咬合接触点による
咬耗症例の解析
第 145 回日本歯科保存学会
2016 年 10 月 27 日～2016 年 10 月 28 日
キッセイ文化ホール（長野）

高橋圭、星加知宏、横山章人、西谷佳浩、
吉山昌宏
各種セルフアドヒーズセメントのフッ
素徐放性ならびに酸中和能の評価
第 142 回日本歯科保存学会
2015 年 6 月 25 日～2015 年 6 月 26 日
北九州国際会議場、西日本総合展示場
（福岡）

星加知宏、西谷佳浩、高橋圭、吉山昌宏
歯面処理方法の違いが新規ワンステップ
ボンディング材の象牙質微小引張接着強
さに及ぼす影響について
第 142 回日本歯科保存学会
2015 年 6 月 25 日～2015 年 6 月 26 日
北九州国際会議場、西日本総合展示場
（福岡）

〔図書〕（計 1 件）

高橋圭他
永末書店
第五版 保存修復 2 1
2017, 321, 170-172

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 圭 (TAKAHASHI KEI)
岡山大学 岡山大学病院 助教
研究者番号：00550815