

令和元年6月20日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11639

研究課題名(和文)費用対効果を重視した高生体親和性セメントの開発

研究課題名(英文)Development of novel dental cement with high biocompatibility for the cost-effectiveness of the dental treatment

研究代表者

堀 雅晴 (HORI, Masaharu)

朝日大学・歯学部・助教

研究者番号：70528075

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)：本研究は、MTAセメントのコスト削減を目的として、炭酸カルシウムと二酸化ケイ素からケイ酸カルシウムを人為的に合成した。そして、硬化時間を短縮し、機械的強度を高めるために、石膏添加型ケイ酸カルシウムセメントを調製した。さらに、このセメントからの溶出液を含む培地に対するヒト歯髄由来幹細胞の応答を調べた。結果、ケイ酸カルシウムは試薬から低コストで容易に合成することができ、硬化時間および圧縮強度は石膏の添加によって改善することができ、ほとんど細胞毒性を示さず、hDPSCの細胞増殖を阻害しなかった。以上より、我々の新たな合成されたケイ酸カルシウム材料は覆髄材料として有望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

Mineral trioxide aggregate(MTA)セメントは、高価ではあるが、予後が良好であり歯内治療に広く使用されている。本研究は、MTAのコスト削減を目的としており、試薬から低コストで容易に合成することができることを示した。また、硬化時間や圧縮強度を石膏を添加することによって調整可能であり、合成ケイ酸カルシウムセメントが、細胞毒性を示さず、歯髄の細胞の増殖を阻害しない、細胞親和性を示したことから、我々の新たな合成ケイ酸カルシウム材料が覆髄材料として有望であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Mineral trioxide aggregate (MTA) is widely used in endodontic treatment while it is expensive. In this study, we artificially synthesized calcium silicates from calcium carbonate and silicon dioxide with the aim of reducing the cost of MTA. In addition, we prepared gypsum-containing calcium silicate cement in order to reduce the curing time and increase the mechanical strength. The physical properties of this cement were measured, and the responses of human dental pulp-derived stem cells (hDPSCs) to the culture media containing of this cement eluate was investigated. Our results showed that calcium silicates could easily be synthesized from the chemical reagents at low cost, and the curing time and the compressive strength could be improved by the addition of gypsum. Synthesized calcium silicate cement showed little cytotoxicity and did not inhibit cell proliferation of hDPSCs. Our newly synthesized calcium silicate material was considered to be hopeful as the pulp capping material.

研究分野：歯内療法学

キーワード：ケイ酸カルシウム MTAセメント 石膏添加 覆髄材 費用対効果 細胞親和性 低コスト コストパフォーマンス

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

1. 研究開始当初の背景

天然歯は歯髄を有し、歯の各種構成物に栄養を送る機能や、外的侵入については痛覚により異常を知らせる重要な役割を担っているが、齶蝕の進行状況によっては除去を余儀なくされる場合もある。その後は根管治療により感染を防止し異物を十分に除去しながら歯髄存在部位に充填処理を行うが、感染根管治療では完全な消毒が容易ではなく、経年的には根管口を見出すのが難しいこともある。しかも視野が十分に取れず誤った方向に先行するケースもある。そのような場合には正規の根管を探す一方で、穿孔部の充填を行う必要もある。しかし使用材料によっては生体為害作用を引き起こすこともあり、抜歯に至るケースも珍しくはない。

近年、歯内療法分野で注目されている Mineral trioxide aggregate (MTA) は二酸化ケイ素(SiO_2)、酸化カルシウム(CaO)、ケイ酸カルシウム(Ca_2SiO_4)、酸化アルミニウム(Al_2O_3)、硫酸カルシウム(CaSO_4)、酸化ビスマス(Bi_2O_3)などで構成される歯科用の水硬性セメントであり、水練和により生成される水酸化カルシウム($\text{Ca}(\text{OH})_2$)の強アルカリによる殺菌効果と硬組織形成促進能を有することが報告されている。この成分中では酸化アルミニウムはカルシウム・アルミネートとして配合され、主に硬化機構に寄与していると考えられる。この化合物は歯科鑄造用埋没材の結合材成分としても使用されている。また、硫酸カルシウムは生体材料としての報告もされている。しかし、MTA の主体となっている成分がケイ酸カルシウム、およびケイ酸三カルシウムであることはいくつかの論文でも明らかにされ、水で練和することで成分中の酸化カルシウム(CaO)と水が反応し、水酸化カルシウムが生成されると考えられている。一方、これらの成分はポルトランドセメントとまったく同様であるとの報告も多数あり、成分中にヒ素などが含まれているとの報告もあり生体材料として懐疑的なところもある。このような有害物質をポルトランドセメントから除外するためにかかる費用や手間が、MTA が高額であることの理由の1つと考えられる。

また、MTA の臨床的な有用性については多数の報告がなされているが、国民皆保険のわが国では自由に使用できる材料ではない。ケイ酸化合物は歯科でも陶材やガラスイオノマーセメント、レジン系充填材料など関連の深い材料であり、鑄造への適用では各種鑄型材成分としても知られている。ポルトランドセメントの中でも中核となるケイ酸カルシウムは比較的焼成により合成しやすい材料と考えられ、単体でも MTA と同様な作用が確認できれば保存治療にも大きな福音となることは間違いない。そこで、本研究は、焼成によりケイ酸カルシウムを合成し、これをセメントとして、MTA の代替材料としての可能性を検討した。

2. 研究の目的

根管治療は歯の予後を左右する重要な手法である。近年注目されている MTA セメントは、その優れた特性から難治根管治療、硬組織再生材料として高い評価を得ている。MTA はケイ酸カルシウム、二酸化ケイ素、酸化カルシウム、酸化アルミニウム、硫酸カルシウム、酸化ビスマスなどで構成される水硬性セメントであり、練和時に生成される水酸化カルシウムの強アルカリ効果による殺菌作用ならびに適度な刺激による硬組織形成促進能を有することから覆髄や根管穿孔時の治療に有用とされているが、高額で硬化時間が長いという欠点もある。本研究では MTA の主成分であるケイ酸カルシウムを主体とするセメントを安価に創製し、MTA の代替材料としての可能性を検討した。

3. 研究の方法

1. 試薬炭酸カルシウム (CaCO_3) と市販珪藻土 (SiO_2) の分子量を計算して混合物を電気炉内で焼成し、以下の反応に基づいてケイ酸カルシウムを合成した。

- ・ケイ酸カルシウム : $\text{CaCO}_3 + \text{SiO}_2 \rightarrow \text{CaSiO}_3 + \text{CO}_2$
- ・ケイ酸二カルシウム : $2\text{CaCO}_3 + \text{SiO}_2 \rightarrow \text{Ca}_2\text{SiO}_4 + 2\text{CO}_2$
- ・ケイ酸三カルシウム : $3\text{CaCO}_3 + \text{SiO}_2 \rightarrow \text{Ca}_3\text{SiO}_5 + 3\text{CO}_2$

まず、合成法と硬化メカニズムの解明ならびに硬化時間の測定、圧縮強さの測定等、理工学的特性の解析に重点を置き、秤量した粉末混合物を熱分析装置により TG-DTA 曲線から炭酸カルシウムの分解温度を測定した。以上の条件検討から吸熱反応が起こる温度を読み取り焼成温度を決定した。次いで、合成した試料の X 線回折により化合物の結晶を同定することで成分を決定した。さらに、それぞれを水で練和して硬化を検証して、硬化時間や硬化体の機械的性質を計測し評価した。また、セメントの硬化時間および機械的強度を調整するために歯科用石膏を添加した石膏添加型ケイ酸カルシウムセメントも作製して上記の評価試験を行った。

2. 試作セメントの細胞に対する有用性の検討

細胞接着に対する試作セメントの作用の検討

試作セメントをアクリルリング内に充填し、硬化後のセメント上にヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) やヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC) を播種し、接着細胞数の検討および細胞形態を検討した。また、セメントを浸漬した培地を作製して、細胞接着におけるセメントからの溶出成分

の影響も検討した。比較対照として、既存の MTA セメントおよび水酸化カルシウム製剤を用いた。

細胞増殖に対する試作セメントの作用の検討

と同様に hDPSC や hBMSC を培養し、細胞増殖について経時的に検討した。比較対照として MTA セメントおよび水酸化カルシウム製剤を用いた。

試作セメントの分化誘導能の検討

と同様に hDPSC や hBMSC を培養し、RNA を調整して逆転写反応、リアルタイム PCR 法にて骨芽細胞、象牙芽細胞のマーカー遺伝子の発現レベルを検討し分化誘導能の有無を検討した。

4. 研究成果

1. 試薬炭酸カルシウム (CaCO_3) と市販珪藻土 (SiO_2) から電気炉での焼成によりケイ酸カルシウムを合成し、合成後の試料を試料水平型多目的 X 線回折装置 (XRD) により解析し、MTA を比較対照に成分同定を行った結果、水と練和後の MTA には、ケイ酸カルシウムと、水酸化カルシウムのピークが認められ、これと比較して、本研究で合成した試料でも同様の、ケイ酸カルシウムのピークが認められたことから、今回実施した合成法でケイ酸カルシウムが得られていることが確認できた。また、この試料を水と練和後に解析すると、水酸化カルシウムのピークもみられた。

2. セメントとして使用する際の性質として重要な硬化時間を水との練和後に検討したが、合成ケイ酸カルシウム単体では硬化しないため、硬化材として歯科用 石膏を添加し各セメントの石膏配合比と混水比を以下のように設定した。

- ・ケイ酸カルシウム粉末のみを純水で練和する (S 群)
- ・ケイ酸カルシウム粉末に、純度 100%硬質石膏を重量比 3:1 で添加したもの (A 群)
- ・ケイ酸カルシウム粉末に、純度 100%硬質石膏を重量比 2:1 で添加したもの (B 群)
- ・ケイ酸カルシウム粉末に、純度 100%硬質石膏を重量比 3:2 で添加したもの (C 群)

比較対照には MTA を使い、M 群とした。さらに、各群の混水比を 0.4 と 0.5 の条件で検討した。これらのセメントの硬化時間を測定したところ A, B, C 群は、およそ 35 分~60 分で硬化し、2 時間以上を要した M 群と比較して、石膏添加により A, B, C 群の硬化時間が短縮されていた。また、混水比 0.4 の条件で硬化が早くなり、とくに、硬質石膏の割合の多い C 群で硬化時間が短縮された。この結果から、今後は混水比 0.4 の条件でセメントを作製し、評価することとし、圧縮強さを測定したところ、S 群と比較して、A, B, C 群は石膏の添加量に依存して圧縮強さが有意に向上し、とくに石膏添加量を増やした B 群と C 群では MTA とほぼ同等の圧縮強さが示された。

3. 2 で得たセメントを培地に浸漬し、セメントからの溶出物を含む培地を作製して歯髓由来幹細胞を培養し、セメントから溶出する成分の細胞親和性を検討した。本実験では 2 の実験群に加え、水酸化カルシウム製剤 (D 群) の検討も行った。その結果、石膏添加型ケイ酸カルシウムセメントからの溶出物は培地の pH を上昇させたが、石膏添加量の調節により pH の上昇を抑えることが可能であった。そして、石膏添加型ケイ酸カルシウムセメントからの溶出物は細胞毒性を示さず、細胞増殖抑制作用も石膏添加量の調節により改善した。以上より、石膏添加量を調節することで硬化時間及び圧縮強さが改善したことから、操作性を調節することが可能と考えられた。また、細胞親和性についても石膏の添加により培地の pH 上昇が抑えられ、細胞増殖を阻害しない親和性に優れたケイ酸カルシウムセメントを作製可能であると考えられた。

また、石膏添加型ケイ酸カルシウムセメント 3 群、および M 群で細胞のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性上昇、ALP、オステオカルシンの mRNA 発現上昇がみとめられた。

以上より、石膏添加量を調節することで硬化時間及び圧縮強さが改善したことから、操作性を調節することが可能と考えられた。また、細胞親和性についても石膏の添加により培地の pH 上昇が抑えられ、細胞増殖を阻害しない親和性に優れたケイ酸カルシウムセメントを作製可能であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. 堺 ちなみ, 木方 一貴, 田中 雅士, 長谷川 智哉, 堀 雅晴, 赤堀 裕樹, 瀧谷 佳晃, 吉田 隆一, 河野 哲. 上顎小白歯に 3 根管を認めた二症例. 日本歯内療法学会雑誌. 40:37-42. 2019.

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 林 佑美代, 川木 晴美, 堀 雅晴, 瀧谷 佳晃, 河野 哲, 玉置 幸道, 吉田 隆一. 石膏添加型試作ケイ酸カルシウムの覆髄材としての特性解析. 第 37 回日本歯内療法学会学術大会. 2016 年 7 月 23 日~24 日. 名古屋.
2. Hayashi Y, Kawaki H, Hori M, Hasegawa T, Tanaka M, Kawano S, Yoshida T, Tamaki Y. Characteristics of experimental calcium silicate as a pulp capping material. International Dental Materials Congress 2016. 2016 年 11 月 4 日~6 日. Bali, Indonesia.
3. 木方一貴, 住友伸一郎, 田中雅士, 服部真丈, 堺ちなみ, 三上恵理子, 加藤友也, 長谷川智哉, 堀 雅晴, 瀧谷佳晃, 河野 哲, 吉田隆一. 薬剤関連顎骨壊死から歯髄疾患を生じたと思われる一症例. 第 147 回日本歯科保存学会平成 29 年度秋季大会. 2017 年 10 月 26 日~27 日. 盛岡.
4. 小栗 健策, 木方 一貴, 住友 伸一郎, 江原 道子, 田中 雅士, 堺 ちなみ, 三上 恵理子, 加藤 友也, 富田 昌嗣, 長谷川 智哉, 堀 雅晴, 瀧谷 佳晃, 永山 元彦, 吉田 隆一, 河野 哲. 根管治療されている下顎左側側切歯に内部吸収を認めた症例. 第 148 回日本歯科保存学会学術大会. 2018 年 6 月 14 日~15 日. 横浜.
5. 木方 一貴, 田中 雅士, 堺 ちなみ, 赤堀 裕樹, 長谷川 智哉, 堀 雅晴, 瀧谷 佳晃, 吉田 隆一, 河野 哲. 内部吸収を認めた根管治療済み下顎左側側切歯の一症例. 第 39 回日本歯内療法学会学術大会. 2018 年 7 月 7 日~8 日. 福岡.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯内療法学ホームページ
<http://scw.asahi-u.ac.jp/~hazon/index.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 吉田隆一

ローマ字氏名: YOSHIDA Takakazu

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): 80102127

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：川木晴美

ローマ字氏名：KAWAKI Harumi

所属研究機関名：朝日大学

部局名：歯学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 70513670

研究分担者氏名：奥山克史

ローマ字氏名：OKUYAMA Katsushi

所属研究機関名：朝日大学

部局名：歯学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 00322818

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。