

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K11695

研究課題名(和文) 新たな根面う蝕治療に向けたバイオアクティブ材料とナノテク材料の応用

研究課題名(英文) Application of bioactive materials and nanotechnology materials for new root caries treatment

研究代表者

田中 享 (Tanaka, Toru)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：90179771

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：う蝕根面蝕牙質にう蝕進行を抑制する歯科材料を塗布した。材料によって硬さの変化が異なり、う蝕進行の評価は硬さのみでは困難であることを確認した。根面う蝕への充填材として4-META/MMA-TBBレジンが有用であるかを探るため、歯面処理に3種の白金ナノコロイド(CPN)を併用した。その結果、接着強さが増加する傾向があり50,000回のサーマルサイクリング試験後でも、接着強さの低下が抑制され耐久性が向上することが確認された。プルラン含有MTAセメントおよびCPNをラット歯髄に貼付した場合、歯髄の炎症反応が小さく、効果的に硬組織ができるため、有効な直接覆髄材にな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

根面う蝕の増加は近年の超高齢社会の歯科における問題の一つとして提起されている。根面う蝕は対応しにくい疾患であり治療のガイドラインが検討され続けている。このような現状で非侵襲的な処置と侵襲的な処置を新たな視点で探求することには意義があると思われる。非侵襲的に根面象牙質にう蝕進行を抑制する材料を塗布し、表面の硬さでう蝕の進行が評価できれば根面う蝕への対応に有効である。侵襲的な治療として透明な4-META/MMA-TBBレジンを根面う蝕の充填材として利用できれば予後観察が肉眼で可能となる利点を持つ。また、より効果的な直接覆髄の開発は、う蝕除去時の偶発的な露髄に対して有効な手段となる。

研究成果の概要(英文)：A dental material that inhibits the progression of caries was applied to the carious root surface dentin. It was confirmed that it is difficult to evaluate the progress of caries only with hardness because the change in hardness differs depending on the material. In order to investigate whether 4-META/MMA-TBB resin is useful as a filling material for root caries, three kinds of platinum nanocolloids (CPN) were used in tooth surface treatment. As a result, it was confirmed that the adhesion strength tended to increase, and that even after 50,000 times thermal cycling test, the decrease in adhesion strength was suppressed and the durability improved. When the pullulan-containing MTA cement and CPN were applied to the pulp of rats, the inflammatory reaction of the pulp was small and hard tissue was formed effectively, suggesting that they could be effective direct pulp-capping materials.

研究分野：歯科保存修復学

キーワード：根面う蝕 脱灰部の硬さ 4-META/MMA-TBBレジン リン酸化プルラン 白金ナノコロイド(CPN) 直接覆髄

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

研究開始当初、日本の高齢化率は2020年には29.1%と予想されていた。超高齢社会の到来は多方面で大きな問題があると指摘されていた。現在でも超高齢社会がもたらす多くの問題に対策が検討されているが、さらに新たな課題も提起されている。歯科においては8020運動などにより、口腔内の健康に対する意識が高まり、自分の歯で咀嚼することをはじめ一生を通じて口腔の機能を維持することが望まれている。しかし、高齢になると、種々の疾患のため薬剤を服用する頻度が増しその副作用による口腔乾燥症 (narhi et al.; Drug Aging 1999 Aug 15(2):103-16)や加齢に加え関節炎や筋肉減少症による(Timothy J et al.; J Appl Physiol 2003 95:1717-27)運動能力の低下のため口腔清掃が行えない等のため加齢による歯肉後退に伴う露出根面のう蝕が多発し、その予防、進行抑制および治療のガイドラインの作成が始まっていた。根面う蝕への対応は、とくに非侵襲的に処置することの重要性が指摘されていた。

## 2. 研究の目的

- (1)根面う蝕脱灰軟化部にう蝕進行を抑制すると考えられる材料の塗布によって病変部が硬化し、進行抑制の評価が可能かを探るため硬さの変化を調べた。
- (2)透明である4-META/MMA-TBBレジンのスーパードクリア(サンメディカル)は、病変部周囲を肉眼で観察しやすく予後の経過が確認しやすいとの考えから、根面う蝕牙質のコラーゲンの耐久性に関与することが期待できる白金ナノコロイド(CPN)を併用し、接着強さと耐久性が増加し、充填材として使用可能かどうかを探るため接着強さを調べた。
- (3)根面う蝕除去中に起きる偶発的露髄に対して直接覆髄に应用できる新規の材料を検討するため、リン酸化プルラン、MTAセメント、3種類の白金ナノコロイド(CPN)の歯髄反応を検索した。

## 3. 研究の方法

### (1) 象牙質軟化部の硬さの変化について

本実験は北海道大学大学院歯学研究院臨床・疫学研究倫理審査委員会の承認のもとに行われた(承認番号2018号9号)。

#### 人工脱灰部の硬さの変化

抜去上顎小白歯6本を近心根面と遠心根面の歯頸側1/2を残してスティッキーワックスで覆った。露出根面のうち10面を選択し硬さを測定した。硬さの測定はカリオテスター(三栄エムイー)を用い圧子は象牙質用を使用した。その後、脱灰液(0.2 M lactic acid, 3.0 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH4.5)の中に24時間浸漬し、硬さを測定した。その結果、脱灰液浸漬前、ヌーブ硬さ: 13.5 ± 3.99, 浸漬後ヌーブ硬さ: 4.9 ± 0.72となり根面が脱灰部され軟化したことを確認した。

ランダムに脱灰部に、従来型ガラスアイオノマーセメントのフジ GP エクストラ(GC: GI), フッ化ジアンミン銀溶液のサフォライド(ビーブランド・メディコーデンタル: SF), S-PRG フィラー配合のPRG バリアコート(松風: BC), フッ化ナトリウム5%を含むフッ素バーニッシュのエナメラスト(ウルトラデント: EL)を塗布し、何も塗布しないコントロールも含め48時間水中保存後、塗布物を可及的に除去し、硬さを測定し、塗布前の硬さとの差を算出した。

#### 根面う蝕部の硬さの変化

根面う蝕がある抜去歯16本をスプーンエキスカベーターで可及的に軟化部を除去し、最深部の硬さを測定し、ランダムにGI, SF, BC, ELを塗布した。何も塗布しないコントロールを含め、塗布後3日間水中保存後、硬さを測定した。なお、GI, SF, BC, ELでは塗布した材料を測定部が傷つかないように超音波スケーラー、スプーンエキスカベーター、探針を用いて可及的に除去した後測定した。

### (2) CPNが4-META/MMA-TBBレジンの根部象牙質への接着強さにおよぼす影響

40本の健全ヒト抜去大白歯の歯冠部を切断し、歯根側に健全な象牙質を露出させた後、#600の耐水研磨紙を用いて研磨したものを被着面とした。コントロール群は被着面を10%クエン酸3%塩化第二鉄溶液(10-3溶液)で10秒エッチングし水洗乾燥した。また、白金ナノコロイド(アプト: CPN)としてPAA-PT(白金, ポリアクリル酸, 水), C-PT(白金, クエン酸ナトリウム, 水), C-CYD(白金, クエン酸ナトリウム,  $\beta$ -シクロデキストリン, 水)の3種を用い被着面を10-3溶液でエッチングし乾燥した後、各々のCPNを20秒塗布し、水洗乾燥した(各々PAA-PT群, C-PT群, C-CYD群)。その後、全ての象牙質被着面に4-META/MMA-TBBレジンであるスーパードクリア(サンメディカル)を用いてPMMAブロックを接着させた。試料は全て37℃で1週間水中浸漬後、1mm<sup>2</sup>の棒状の試料を作製した。その後、各群の半分はクロスヘッドスピード1mm/minにて微小引っ張り接着強さを測定し、残りを5および55℃の水中に各60秒間浸漬を1サイクルとするサーマルサイクリング試験(TC試験)を50,000回行った後、同じ条件で微小引っ張り接着強さを測定した。統計分析にはTwo way ANOVAとシェッフエの方法を用いた。

### (3)ラット歯髄露髄部の組織反応

本実験は北海道大学動物実験委員会の承認のもとで行われた(承認番号 16-0086, 21-0055)。  
露髄部への処置(リン酸化プルラン)

ウイスター系雄ラットを全身麻酔下にて上顎第一臼歯の歯髄を 1/2 スチールバーと #20Kfile で露髄させた。露髄面にリン酸化プルラン含有 MTA セメント(MTPL),リン酸化プルラン単味(PL), MTA セメント単味(MTA)を貼付しその上部をスーパーボンド(SB)で覆った。また,何も貼付せず SB で覆ったものを含めた 4 群を設定した。使用した材料はそれぞれ,MTPL:Mineral trioxide aggregate containing phosphorylated pullulan(GC), PL: Phosphorylated pullulan(GC), MTA: Nex-Cem(GC), SB: スーパーボンド(サンメディカル)を用いた。処置後, 1 日, 3 日, 7 日, 28 日の歯髄反応を HE 染色で評価した。また,免疫組織化学的染色(anti-CD34 抗体, anti-DMP1 抗体)を用いて歯髄の血管新生と象牙芽細胞様の細胞分化を評価した。

露髄部への処置(白金ナノコロイド)

ウイスター系雄ラットを全身麻酔下にて上顎第一臼歯の歯髄を 1/2 スチールバーと #20Kfile で露髄させた。露髄面に 3 種の白金ナノコロイド(CPN)を貼付しその上部を SB で覆った。また MTA を貼付し SB で覆ったものと何も貼付せず SB で覆ったものを含めた 5 群を設定した。貼付した CPN は PAA-PT(APt, 成分:白金, ポリアクリル酸, 水), C-PT (APt, 成分:白金, クエン酸ナトリウム, 水), C-CYD (APt, 成分:白金, クエン酸ナトリウム, シクロデキストリン, 水) の 3 種類を用いた。処置後 1, 3, 7, 28 日での歯髄反応を HE 染色した組織標本で評価した。また 3 日目と 7 日目において免疫組織化学的染色(anti-CD34 抗体)で歯髄の血管新生を評価した。

## 4. 研究成果

### (1) 象牙質軟化部の硬さの変化について

人工脱灰部の硬さの変化

硬さの変化は, GI: ヌーブ硬さ+3.7, SF: ヌーブ硬さ+0.1, BC: ヌーブ硬さ+10.6, EL: ヌーブ硬さ-1.1 およびコントロール: ヌーブ硬さ-1.1 であった。コントロールと EL はやや軟化する傾向があり, SF で硬さに著変なく, GI と BC では硬くなる傾向があった。

根面う蝕部の硬さの変化

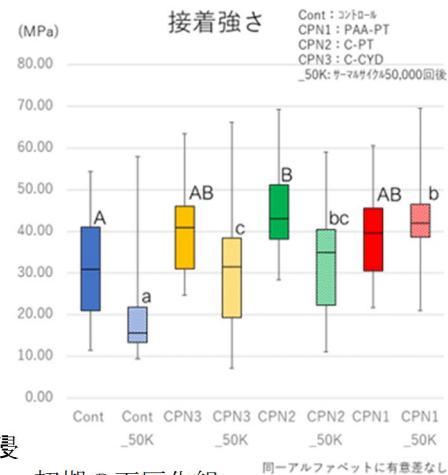
硬さの変化は, GI: ヌーブ硬さ+2.1, SF: ヌーブ硬さ+0.3, BC: ヌーブ硬さ+3.1, EL: ヌーブ硬さ-3.6 およびコントロール: ヌーブ硬さ-4.0 であった。コントロールと EL は軟化する傾向があり, SF で硬さに著変なく, GI と BC では硬くなる傾向があり, 人工脱灰部とほぼ同じ傾向を示した。

### (2) CPN が 4-META/MMA-TBB レジンの根部象牙質への接着強さにおよぼす影響

結果を右図に示す。

水中浸漬 1 週間後では CPN を用いたものはコントロール群に比べて高い接着強さを示す傾向があった。特に C-PT 群では強い接着強さを示した。

TC 試験後ではコントロール群では接着強さの低下が大きい。CPN を用いたものはコントロール群に比べて高い接着強さを示し, 特に PAA-PT 群では低下がなかった。



### (3)ラット歯髄露髄部の組織反応

露髄部への処置(リン酸化プルラン)

1 日目では, MTPL と MTA において軽度の炎症細胞の浸潤が認められ, PL ではさらに軽度の炎症反応を示した。一方, SB では軽度から中等度の炎症反応を示した。

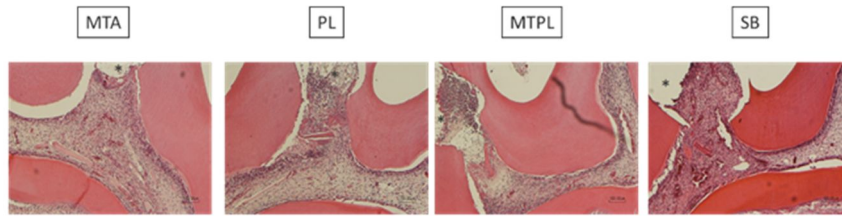
3 日目には, PL と SB には中等度から重度の炎症細胞の浸潤が認められ, MTPL と MTA は軽度の炎症反応を示した。

初期の石灰化組織の沈着が MTA, MTPL, および SB で観察された。

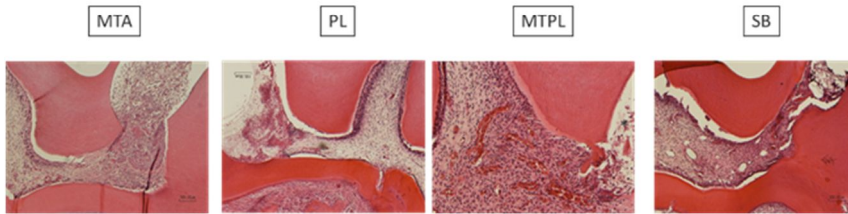
7 日目では, すべての覆髄材で露髄面に薄い石灰化組織形成が認められ, 歯髄組織には炎症反応がないものと軽度の炎症反応があるものと観察された。28 日目では, MTPL において炎症反応はなく, MTA, PL, および SB においては軽度の炎症反応が観察された。また, MTPL, MTA, および PL では露髄面を完全な形で覆うように石灰化組織の形成が観察された。しかし, SB は石灰化組織の形成は認められたが完全な形で露髄面を覆っていなかった。すべての覆髄材において anti-DMP1 抗体(28 日目のみ染色)によって周囲が陽性反応を示した石灰化組織が観察され, anti-CD34 抗体(すべての実験期間で染色)によって内皮細胞が陽性反応を示した毛細血管が観察された。

以下に HE 染色した組織標本を示す。

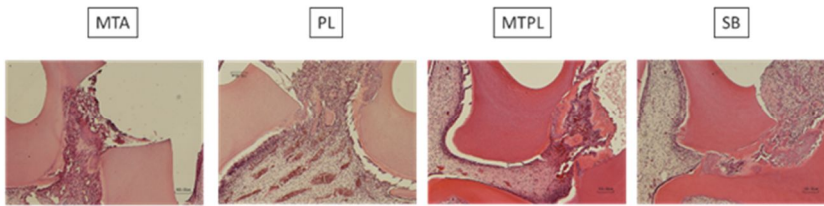
#### H&E at day 1



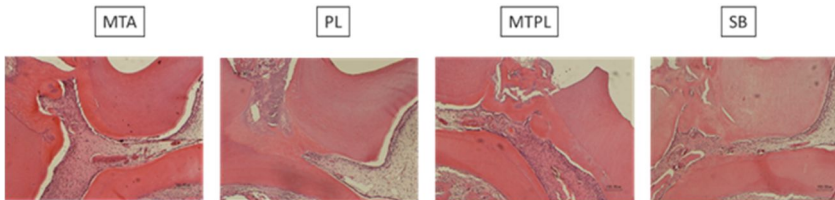
#### H&E at day 3



#### H&E at day 7



#### H&E at day 28

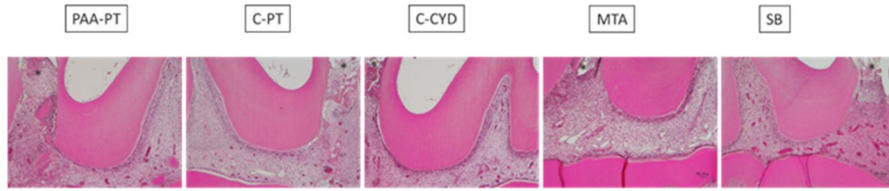


#### 露髄への処置（白金ナノコロイド）

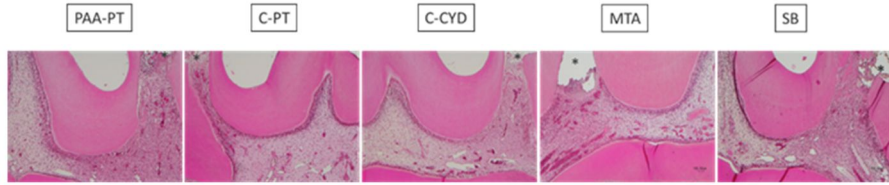
HE染色で観察した歯髄反応について、1日目では、CPNを用いた3群（PAA-PT、C-PT、C-CYD群）で炎症反応がほとんど観察されず、観察されても軽度の反応であった。これら3群に比べてMTAおよびSBは炎症反応が強い傾向が認められた。3日目では、C-CYDにおいて炎症反応を認めないかあるいは軽度の炎症反応が認められ、さらに血管新生が観察された。一方、MTAとSBでは血管新生はほとんど認められなかった。また、PAA-PTとC-PTは軽度から中等度の炎症反応が認められ、C-CYDよりも低い血管新生も認められた。7日目では、C-CYDとMTAで炎症反応はあっても軽度であり、血管新生はより活発であった。PAA-PTとC-PTは軽度から中等度の炎症反応が観察され血管新生が認められた。SBは中等度から重度の炎症反応を示し、血管新生はほとんど認められなかった。28日目ではC-PTとC-CYDでは炎症性細胞浸潤が認められなかったが、MTAとPAA-PTでは軽度の炎症性細胞浸潤を認め、SBでは中等度の炎症性細胞浸潤が認められた。C-PT、C-CYDおよびMTAとSB間では細胞浸潤の程度の違いが認められた。SBを除くすべての群で露髄面を完全な形で覆うように石灰化組織の形成が観察されたがSBでは石灰化組織の形成は認められたが完全な形で露髄面を覆っていなかった。

以下に組織標本を示す。

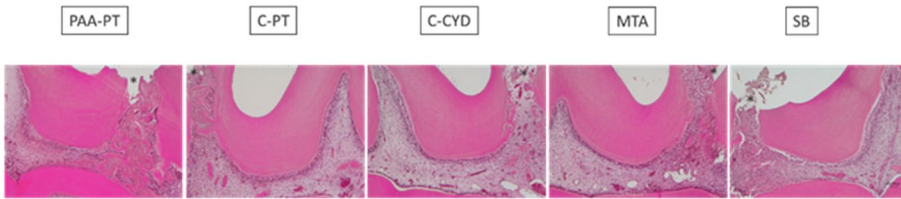
H&E at day 1



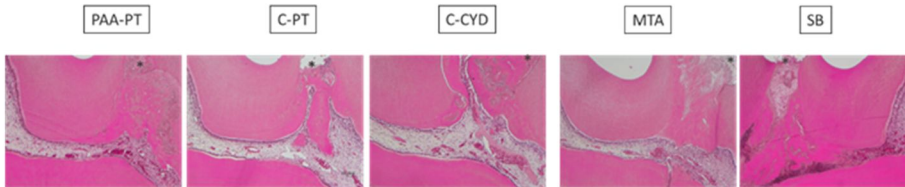
H&E at day 3



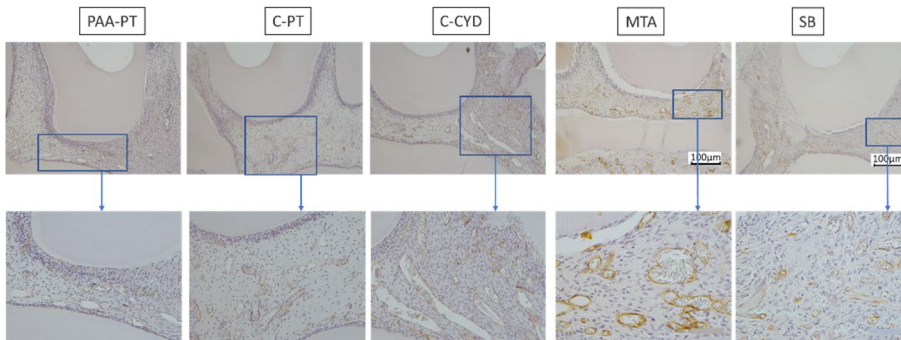
H&E at day 7



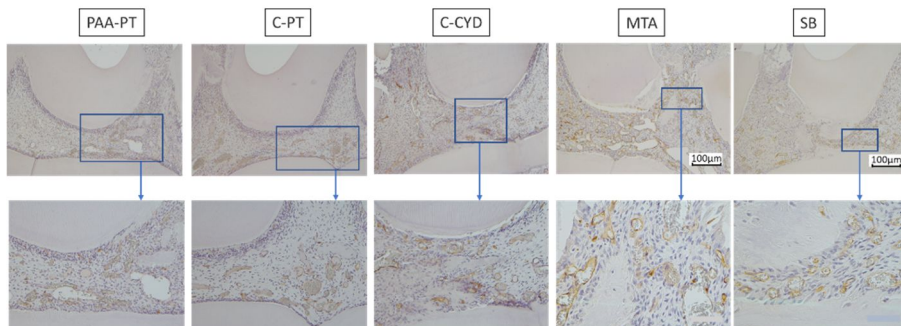
H&E at day 28



Expression of CD34 at day 3



Expression of CD34 at day 7



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Rafiqul Islam, Md Refat Readul Islam, Toru Tanaka, Mohammad Khursheed Alam, Hany Mohamed Aly Ahmed, Hidehiko Sano	4. 巻 59
2. 論文標題 Direct pulp capping procedures - Evidence and practice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Japanese Dental Science Review	6. 最初と最後の頁 48-61
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdsr.2023.02.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hoshika S, Koshiro K, Inoue S, Tanaka T, Sano H, Sidhu SK.	4. 巻 24
2. 論文標題 Interfacial Characterization of a Conventional Glass-Ionomer Cement after Functioning for 1-year In Vivo	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Adhes Dent	6. 最初と最後の頁 203-208
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3290/j.jad.b2916453	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Islam R, Toida Y, Chen F, Tanaka T, Inoue S, Kitamura T, Yoshida Y, Chowdhury AFMA, Ahmed HMA, Sano H.	4. 巻 54
2. 論文標題 Histological evaluation of a novel phosphorylated pullulan-based pulp capping material: An in vivo study on rat molars	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int Endod J	6. 最初と最後の頁 1902-1914
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iej.13587	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 田中佐織, 宮治裕史, 西田絵利香, 宮田さほり, 加藤昭人, 眞弓佳代子, 田中 享, 井上 哲	4. 巻 62
2. 論文標題 S-PRGフィラー含有根管充填用シーラーの生体親和性評価	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本歯科保存雑誌	6. 最初と最後の頁 107-114
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11471/shikahozon.62.107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Intajak Papichaya, Yuan Yuan, Eamsaard Pimpinee, Takatsumi Ikeda, Toru Tanaka, Chiharu kawamoto, Shuhei Hoshika, Monica Yamauti, Mariko Matsumoto, Hidehiko Sano
2. 発表標題 Effect of Silver Diammine Fluoride on Bond Strength of New Universal Adhesives
3. 学会等名 The IAD2022@Sapporo (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rafiqul Islam, Yu Toida, Md Refat Readul Islam, Toru Tanaka, Abu Faem Mohammad Almas Chowdhury, Hany Mohamed Aly Ahmed, Hidehiko Sano
2. 発表標題 Colloidal Platinum Nanoparticles Enhance the Healing Potential of Dental Pulp
3. 学会等名 2022 IADR/APR General Session & Exhibition (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中佐織, 宮治裕史, 大矢根綾子
2. 発表標題 過飽和液中レーザー照射法によるヒトセメント質表面の機能化
3. 学会等名 第34回日本レーザー歯学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田中佐織 宮治裕史 田中享 井上哲 大矢根綾子
2. 発表標題 過飽和液中レーザー照射法によりフッ素担持リン酸カルシウム成膜されたセメント質の表面硬度
3. 学会等名 日本歯科保存学会2021年度春季学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 星加 修平 小城 賢一 田中 享 佐野 英彦
2. 発表標題 従来型ガラスイオノマーセメントと象牙質接着界面の長期症例における観察
3. 学会等名 日本歯科保存学会2021年度春季学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一矢 袁 媛 星加 修平 田中 享 ヤマウチ モニカ 佐野 英彦
2. 発表標題 4-META/MMA-TBB系レジンセメント接着阻害因子長期処理に対するアクセルの効果
3. 学会等名 日本歯科保存学会2021年度春季学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山下 航司 戸井田 侑 川村 碧 川野 晋平 松本 真理子 星加 修平 川本 千春 池田 考績 田中 享 モニカ・ヤマウチ 佐野 英彦
2. 発表標題 新規微小引張試験法開発への予備的検討
3. 学会等名 日本歯科保存学会2021年度秋季学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中佐織 宮治裕史 田中享 井上哲 SANTHAKUMAR Syama 大矢根綾子
2. 発表標題 過飽和液中レーザー照射法によるセメント質へのフッ素担持リン酸カルシウム被膜
3. 学会等名 日本歯科保存学会2020年度秋季学術大会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名	Islam R, Chowdhury AFM, Sano H, Chen F, Hoshika S, Ikeda T, Watanabe C, Tanaka T, Matsumoto M, Yamauti M.
2. 発表標題	Effects of Colloidal Platinum Nanoparticles on Dental Pulp.
3. 学会等名	IADR/AADR/CADR General Session 98th General Session, Washington D.C. USA (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	Hoshika S.,Tanaka T.,Sano H.
2. 発表標題	Preliminary study of bonding substrate: caries affected dentin
3. 学会等名	2019 International Congress on Adhesive Dentistry (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Tanaka S., Miyaji H., Nishida E., Nathanael J, Nakamura M, Oyane A, Tanaka T, Inoue S
2. 発表標題	Calcium phosphate coating on human dentin and composite resin surface by laser-assisted biomimetic process, modified by laser-assisted biomimetic proces
3. 学会等名	2018 KACD Autumn Scientific Meeting / 20th KACD-JSCD Scientific Joint Meeting (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	リミ・シャンミ・アカター, アハメッド・ズバエル, 丁 世俊, サイケオ・ピポップ, イアムサアード・ピンピニー, チョウドリー・アルマス, イスラム・ラフィクル, 戸井田 侑, 松本 真理子, 角田 晋一, 星加 修平, 川本 千春, 池田 考績, 田中 享, 佐野 英彦
2. 発表標題	Effect of remaining dentin thickness and smear layer thickness on microtensile bond strength
3. 学会等名	日本歯科保存学会2017年度秋季学術大会 (第147回)
4. 発表年	2017年

1. 発表者名 田中 佐織, 宮治 裕史, 西田絵利香, A. Joseph NATHANAEL, 中村 真紀, 大矢根綾子, 田中 享, 飯田 俊二, 高師 則行, 井上 哲
2. 発表標題 レーザー援用バイオメテック法によるレジン表面の改変とアパタイト形成能評価
3. 学会等名 第10回日本総合歯科学会総会・学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	池田 考績  (Ikeda Takatsumi)  (90222885)	北海道大学・歯学研究院・助教   (10101)	
研究分担者	田中 佐織  (Tanaka Saori)  (90344522)	北海道大学・大学病院・講師   (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------