

平成22年 5月21日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19592203
 研究課題名（和文） フッ化ジアミンシリケートによる齲蝕予防と象牙質知覚過敏症治療剤への臨床応用
 研究課題名（英文） Development of treatment method for the prevention of dental caries and dentin hypersensitivity with ammonium hexafluorosilicate
 研究代表者
 菅 俊行（SUGE TOSHIYUKI）
 徳島大学・医学部・歯学部附属病院・講師
 研究者番号：60243713

研究成果の概要（和文）：現在、臨床で齲蝕進行抑制剤および象牙質知覚過敏症治療剤として使用されているフッ化ジアミン銀（サホライド）は、塗布後に歯質着色を起こすことから、その使用は乳歯に制限されている。そこで、歯質着色を起こさないフッ化ジアミンシリケート溶液を作製して、永久歯の齲蝕予防および象牙質知覚過敏症治療へ応用できるかどうか評価を行った。その結果、齲蝕予防剤および象牙質知覚過敏症治療剤として臨床応用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Diamine silver fluoride (Saforide) is clinical use for prevent of progress of dental caries and desensitizing for hypersensitive tooth. Unfortunately, diamine silver fluoride stained tooth black due to silver precipitation. To overcome this drawback, ammonium hexafluorosilicate was prepared. The purpose of this study was to evaluate the occluding ability of dentin tubules and acid resistance of bovine tooth after ammonium hexafluorosilicate treatment. It was concluded that ammonium hexafluorosilicate is useful for the treatment of dentin hypersensitivity and prevent of progress of dental caries since ammonium hexafluorosilicate treatment occluded open dentin tubules completely with silica-calcium phosphate precipitate and increased acid resistance of bovine tooth without changing the color of tooth.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：象牙質知覚過敏症、齲蝕、フッ素、フッ化ジアミンシリケート

1. 研究開始当初の背景

現在、齲蝕進行抑制剤および象牙質知覚過敏症治療剤として臨床で使用されているフッ

化ジアミン銀（サホライド）は塗布後に歯質の黒変が起こることから、その使用は主に乳歯に限定されている。そこで、我々はフッ

化ジアンミン銀の銀成分をシリカに置換したフッ化ジアミンシリケート溶液を調製した。シリカを選択した理由としては、擬似体液からアパタイトを誘導する触媒作用が報告されており、口腔内でも同様に唾液からアパタイトを誘導して歯質表面の石灰化が期待できるからである。またシリカは皮のなめし剤として用いられており、コラーゲンの固定能力に優れていることから、象牙質に多く含まれているコラーゲンを固定することにより、象牙質齲蝕の進行過程において、コラーゲン線維の崩壊抑制効果も期待できる。さらにシリカは銀には劣るものの、抗菌性も有していることから齲蝕関連細菌に対する抗菌作用も期待できる。このようにフッ化ジアミンシリケートは無機質の脱灰抑制、コラーゲンなどの有機質の崩壊抑制およびアパタイト形成による再石灰化促進効果が期待できることから齲蝕予防、齲蝕進行抑制、象牙質知覚過敏症治療に関して多面的に機能する可能性が極めて大きい。しかしながら、フッ化ジアミンシリケートは新規フッ素化合物であり、これまでにコラーゲン固定作用、抗菌作用、再石灰化作用に関する評価検討は一切なされていない。

2. 研究の目的

本研究ではフッ化ジアミンシリケートの歯質強化剤、齲蝕進行抑制剤、象牙質知覚過敏症治療剤としての臨床応用を目的として、

- (1) ヒトエナメル質および象牙質を用いて、フッ化ジアミンシリケートによる耐酸性の向上を定量的に検討すること、
- (2) 象牙細管封鎖効果の持続性と再石灰化促進能を定量的に検討すること、
- (3) フッ化ジアミンシリケートのコラーゲン固定作用を検討すること、
- (4) フッ化ジアミンシリケートの抗菌作用を検討すること、
- (5) フッ化ジアミンシリケートの齲蝕抑制効果、象牙細管封鎖効果および安全性をイヌ生活歯を用いた動物実験で確認すること、を目的として、研究を行った。

3. 研究の方法

(1) フッ化ジアミンシリケート溶液の調製
各種濃度のフッ化ジアミンシリケート溶液をフルオロケイ酸と塩化アンモニウムを反応させて調製し、エタノール-水系溶媒で再結晶して合成することにより作製した。

(2) フッ化ジアミンシリケートの歯質脱灰抑制効果の評価

エナメル質および象牙質ブロックをヒト抜去歯より作製し、フッ化ジアミンシリケート溶液を3分間塗布した。対照群にはフッ化ジアンミン銀、フッ化ナトリウム、酸性リン酸フッ素溶液をそれぞれ塗布した。その後、エナメル質ブロックおよび象牙質ブロックを脱灰液(6%カルボキシメチルセルロース、

0.1M 乳酸、pH=5) 中に24時間浸漬、攪拌することにより、脱灰を行った。脱灰量の測定は表面形状測定器を用いて脱灰深度を測定するとともに、規格化エックス線(マイクロラジオグラフィ)写真を撮影し、その写真をNIHイメージを用いて、表面から深部にかけて、定量を行った。

(3) フッ化ジアミンシリケートの象牙細管封鎖効果および石灰化促進機能の評価
ヒト抜去歯から開口象牙細管を有する擬似知覚過敏症象牙質プレート(調製し、フッ化ジアミンシリケートを塗布する。その後、象牙質プレートを人工唾液に浸漬、攪拌し、経時的に走査型電子顕微鏡により観察するとともに、象牙質プレートの透過性を測定する。また、歯質表面に析出した結晶の組成をX線マイクロアナライザーを用いて分析する。

(4) 各種濃度のフッ化ジアミンシリケートが象牙細管封鎖効果に及ぼす影響の評価
各種濃度のフッ化ジアミンシリケート溶液を調製して、象牙質プレートに塗布し、象牙細管封鎖効果を走査型電子顕微鏡にて観察を行う。また象牙細管内に析出した結晶の組成をX線マイクロアナライザーを用いて、分析を行う。

(5) フッ化ジアミンシリケートの齲蝕関連細菌に対する抗菌効果の評価

フッ化ジアミンシリケートおよびフッ化ジアンミン銀で処理したハイドロキシアパタイトディスクを *S. mutans* UA159 菌体懸濁液中(10⁵ CFU/ml, 37°C)に12時間浸漬する。その後、トリプシン EDTA 処理によりディスクに付着した菌体を回収し、SM加血液寒天培地に接種、培養後、CFUを算出し、付着菌数を求める。また、一部の試料についてはハイドロキシアパタイトディスク表面の細菌付着の様相を走査電子顕微鏡で観察した。

4. 研究成果

(1) フッ化ジアミンシリケートの歯質脱灰抑制効果の評価結果

エナメル質ブロックおよび象牙質ブロックにフッ化ジアミンシリケート溶液およびフッ化ナトリウム、酸性リン酸フッ素溶液、フッ化ジアンミン銀をそれぞれ3分間塗布し、脱灰溶液に24時間浸漬した後の脱灰深度を表に示す。

フッ素溶液	エナメル質	象牙質
コントロール	100	100
フッ化ジアンミン銀	83.7±38.2	75.5±4.6
フッ化ジアミンシリケート	81.6±34.3	85.2±3.9
酸性リン酸フッ素溶液	128.9±23.2	93.6±7.0
フッ化ナトリウム	98.4±49.3	95.5±5.1

表中の歯質脱灰量はコントロールを100として百分率で表している。

フッ化ジアミンシリケート処理はエナメル質ではフッ化ジアンミン銀と同等の脱灰抑制効果を示し、酸性リン酸フッ素溶液やフッ化ナトリウム溶液と比較して有意に脱灰量を抑制していた。象牙質では、フッ化ジアミンシリケートはフッ化ジアンミン銀に劣るものの、酸性リン酸フッ素溶液やフッ化ナトリウム溶液よりも歯質脱灰量を抑制していた。したがって、フッ化ジアミンシリケートは各種のフッ素溶液の中でも優れた脱灰抑制効果を有することが明らかとなった。

(2) フッ化ジアミンシリケートの象牙細管封鎖効果および石灰化促進機能の評価結果
フッ化ジアミンシリケートの象牙細管封鎖効果をヒト抜去歯より作製した擬似知覚過敏象牙質プレートを用いて評価した。その結果、開口していた象牙細管はフッ化ジアミンシリケート処理直後にはシリカーリン酸カルシウム結晶により緊密に封鎖されていた。この象牙質プレート人工唾液中に7日間浸漬攪拌した結果でも、象牙細管を封鎖した結晶は唾液中へと溶解することなく安定であり、さらに人工唾液から象牙質プレート表面へ析出した結晶により覆われていた。結晶の組成を分析したところ、カルシウム欠損アパタイトであることが明らかとなった。これは、象牙細管内に析出した結晶にはシリカが含まれていることから、シリカのアパタイト誘導作用により人工唾液中から析出したと考えられる。このように、フッ化ジアミンシリケート処理により象牙細管内に析出した結晶は唾液中で溶解しないだけでなく、リン酸カルシウムの歯表面への析出を誘導し、歯質の石灰化を誘導できる可能性を有していることが示された。

(3) 各種濃度のフッ化ジアミンシリケートが象牙細管封鎖効果に及ぼす影響の評価結果
100ppmから19400ppm濃度のフッ化ジアミンシリケート溶液を擬似知覚過敏象牙質プレートに塗布を行い、走査電子顕微鏡で観察を行った結果、いずれの濃度のフッ化ジアミンシリケートを塗布した場合においても、開口象牙細管は緊密に封鎖されており、溶液の濃度が象牙細管封鎖効果に影響を与えないことが明らかとなった。試料の断面を観察すると、象牙細管封鎖深度は溶液濃度が低い場合には若干浅くなる傾向を示した。象牙細管内に析出した結晶の組成は溶液濃度の上昇に比例してカルシウムとリンのモル比は徐々に上昇した。100ppmではCa/P比は1.5であったが、19400ppmでは2.1へと上昇した。したがって、高濃度の場合には結晶中のフッ化カルシウム量が増加していることが示された。本研究の結果、低濃度のフッ化ジアミ

ンシリケート溶液でも十分な象牙細管封鎖が得られたことから、より安全に口腔内に使用できる可能性が高まった。

(4) フッ化ジアミンシリケートの齶蝕関連細菌に対する抗菌効果の評価結果

フッ化ジアミンシリケート処理後に *S. mutans* UA159 菌体懸濁液中 (10^5 CFU/ml, 37°C) に12時間浸漬したアパタイトディスクをSEM観察すると、未処理の試料と比較して、有意に細菌付着量が減少しているのが観察された。フッ化ジアンミン銀処理した場合にも同様に細菌付着量が減少していた。アパタイトディスクに付着した菌体を回収し、CFUを算出した結果、付着菌量 (log CFU/ml) は未処理試料 (コントロール) では7.58であったのに対し、フッ化ジアミンシリケート処理試料では6.39であった。フッ化ジアンミン銀処理試料では4.30であり、フッ化ジアミンシリケートの抗菌性はフッ化ジアンミン銀と比較して劣るものの、齶蝕関連細菌の付着量を抑制したことから、フッ化ジアミンシリケートは齶蝕予防に有効であることが示された。

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8件)

- ① Suge T, Etiology of dentin hypersensitivity and development of new treatment methods involving calcium phosphate precipitation, Dental tribune Asia Pacific edition, 査読無、in press
- ② 菅俊行, フッ化ジアミンシリケートを利用した象牙質知覚過敏症治療法の開発、四国歯学会雑誌、査読無、22, 2010, 149-155
- ③ Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T, Ebisu S, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on dentin tubule occlusion and composition of the precipitate, Dental Materials, 査読有、26, 2010, 29-34
- ④ 菅俊行, 柴田真吾, 松尾敬志, フッ化ジアミンシリケートの象牙質知覚過敏症治療剤への応用—溶液濃度が象牙細管封鎖能に及ぼす影響の検討—, 日本歯科保存学雑誌、査読有、52, 2009, 446-452
- ⑤ 菅俊行, 象牙質知覚過敏症の病態解明と歯質成分により開口象牙細管を封鎖する治療法の開発、日本歯科保存学雑誌、査読有、51, 2008, 596-598
- ⑥ Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T, Ebisu S, Effects of calcium phosphate precipitation method on acid resistance to apatite powder and bovine tooth, Dental

Materials Journal, 査読有, 27, 2008, 508-514

⑦ Suge T, Kawasaki A, Ishikawa K, Matsuo T, Ebisu S, Ammonium hexafluorosilicate elicits calcium phosphate precipitation and shows continuous dentin tubule occlusion, Dental Materials, 査読有, 24, 2008, 192-198

⑧ 菅俊行、石川邦夫、松尾敬志、恵比須繁之、フッ化ジアミンシリケートの象牙質知覚過敏症治療剤への応用—抜去歯を用いた象牙細管封鎖能の検討—、日本歯科保存学雑誌、査読有、50、2007、313-320
〔学会発表〕(計5件)

① Suge T, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on crystallinity of hydroxyapatite powder and enamel, 第11回日韓保存学会, 2009. 11. 13, 濟州島

② Suge T, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on occluding ability of dentin tubules and composition of the precipitate, 第10回日韓保存学会, 2008. 11. 28, ソウル

③ 菅俊行、フッ化ジアミンシリケート溶液濃度が象牙細管封鎖と結晶組成に及ぼす影響、日本歯科保存学会、2008. 6. 6, 新潟

④ Suge T, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on occluding ability of dentin tubules and composition of the precipitate, 8th World biomaterials congress, 2008. 5. 31, アムステルダム

⑤ Suge T, Effects of ammonium hexafluorosilicate concentration on occluding ability of dentin tubules *in vitro*, International dental materials congress, 2007. 11. 24, バンコク

〔図書〕(計1件)

① 日本歯科保存学会編、医歯薬出版株式会社、保存修復学専門用語集、2009、118

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅 俊行 (SUGE TOSHIYUKI)
徳島大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号：60243713

(2) 研究分担者

高橋 加奈子 (TAKAHASHI KANAKO)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教
研究者番号：80403715

(3) 連携研究者