

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10103

研究課題名(和文) 根面う蝕の撲滅を目指して！バイオミメティック法を用いたセメント質強化法の確立

研究課題名(英文) Biomimetic apatite coating on root surface for prevention of root caries

研究代表者

田中 佐織 (TANAKA, SAORI)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：90344522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：レーザー援用バイオミメティック法により、露出歯根セメント質上に抗菌性アパタイトをコーティングし、新しい根面う蝕予防法及び進行抑制法を開発することを目的とした。

1. NaFを添加したCaP過飽和溶液中のセメント質基材にレーザー照射後、表面分析し照射面にFが検出された。Ca/C元素比の上昇から、照射面にフッ素含有アパタイトの生成を確認した。2. NaF添加CaP過飽和溶液中のセメント質に半導体レーザーを照射した。照射後の表面にFApが成膜され、未照射表面と比較し、ヌーブ硬度の有意な増加が認められた。3. 脱灰抑制効果が確認された。4. ビーグル犬を用いた実験より口腔内への応用の可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

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、さらに治療は歯科臨床において大きな課題となっている。これまでにフッ化物含有の歯磨剤や洗口剤、フッ化物リン酸酸性フッ化溶液やフッ化ジアミン銀の塗布の効果が有効なことは証明されているが、十分とは言えない。

レーザー照射により、セメント質にフッ素を複合化したアパタイトがコーティングされ、表面変化により歯質が強化された。使用した半導体レーザーは臨床で使用されている。以上より本研究はセメント質面、さらにはエナメル質、象牙質う蝕の予防、進行抑制にも応用可能で、国民の健康増進、また、う蝕にかかる治療費を抑制する可能性を持っている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to develop a new method of root surface caries prevention and control by coating antimicrobial apatite on exposed root cementum using a laser-assisted biomimetic technique.

1. The surface analysis of the laser irradiated cementitious substrate in supersaturated CaP solution with NaF showed that F was detected on the irradiated surface, and the formation of fluorine-containing apatite was confirmed from the increase in the Ca/C element ratio. 2. Cementitious materials in supersaturated solution of CaP with NaF were irradiated with a semiconductor laser. FAp was deposited on the irradiated surface, and a significant increase in Knoop hardness was observed compared to the unirradiated surface. 3. Demineralization inhibiting effect was confirmed. 4. The possibility of intraoral application was found from experiments using beagle dogs.

研究分野：保存治療学

キーワード：根面う蝕予防 レーザー援用バイオミメティック法 歯質強化 アパタイト 根面露出

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本の高齢化率は2017年に27.7%となった。2020年には29.1%になると予想されており、超高齢社会の到来が多方面で大きな問題となっている。高齢者が全身健康で日常生活できる健康寿命を伸ばすために、歯科においては患者の生涯にわたる口腔機能維持が望まれている。しかし口腔内の状況は良好であるにもかかわらず、露出した歯根にう蝕が発生している症例にしばしば遭遇する。さらに、高齢になると、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や加齢に伴い口腔清掃が行えない等の理由から、歯肉退縮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は歯科臨床において大きな課題となっている。歯根を覆うセメント質は象牙質と類似した組織ではあるが、約65%の無機質（板状構造の炭酸含有ハイドロキシアパタイト）と、約30%の有機質（コラーゲン線維）から構成されており、臨界pHが6.4~6.7と高いたためう蝕になりやすい。また、その厚さは歯頸部付近で30-60 μm と薄く、ひとたびセメント質に脱灰が起こると容易に下部の象牙質まで脱灰が及ぶ。以上より根面う蝕を予防するために、セメント質の物性を強化することが重要となる。

これまでに、予防にはセルフケアとしてフッ化物配合の歯磨剤や洗口剤が推奨され、根面う蝕のリスクが高い場合は、プロフェッショナルケアとしてリン酸酸性フッ化溶液塗布による予防法やフッ化ジアミン銀（サホライド®）塗布による根面う蝕の進行抑制が推奨されている。しかし、リン酸は耐酸性の低いセメント質を脱灰するため注意が必要あり、フッ化ジアミン銀には塗布面を黒変させる欠点がある。

これまでに、予防にはセルフケアとしてフッ化物配合の歯磨剤や洗口剤が推奨され、根面う蝕のリスクが高い場合は、プロフェッショナルケアとしてリン酸酸性フッ化溶液塗布による予防法やフッ化ジアミン銀（サホライド®）塗布による根面う蝕の進行抑制が推奨されている。しかし、リン酸は耐酸性の低いセメント質を脱灰するため注意が必要あり、フッ化ジアミン銀には塗布面を黒変させる欠点がある。

2. 研究の目的

レーザー援用バイオミメティック法（Laser-assisted biomimetic process: LAB法）により、抗菌性と歯質保護物質を担持したアパタイトを露出歯根セメント質上にコーティングして、ハイブリッド歯根面を作製し、新しい根面う蝕予防法及び進行抑制法を開発、実現することである。この方法はコンポジットレジン表面でのアパタイト形成、フッ素溶液塗布とNd:YAGレーザー照射による根面の耐酸性向上による根面う蝕予防に関する申請者の基礎研究に基づいている。本研究で使用するアパタイトは、ナノ構造を有し、フッ素、亜鉛、N-アセチル-L-システイン等の生理活性物質が添加されており、セメント質は抗菌性と歯質保護性を長期間にわたり維持できる。以上の研究により、露出歯根セメント質の耐酸性を向上させることが可能となる。

3. 研究の方法

(1) レーザー援用バイオミネティック法を用いたセメント質へのCaP及びCaFの析出

Nd:YAG ナノ秒パルスレーザー

患者の同意を得て提供された抜去歯牙の歯冠と歯根膜を除去し、歯根セメント質基材作製した。フッ化ナトリウムを添加したCaP過飽和溶液中にセメント質基材を設置し、同基材表面の一部(直径約5mm)にNd:YAG ナノ秒パルスレーザーの非集光ビーム(355nm, 6W/cm²)を10分間照射した後(図1)、超純水で洗浄、風乾した。未処理の基材および処理後の基材のレーザー照射面および非照射面を、走査電子顕微鏡(SEM)とエネルギー分散型X線分析装置(EDX)で分析した。

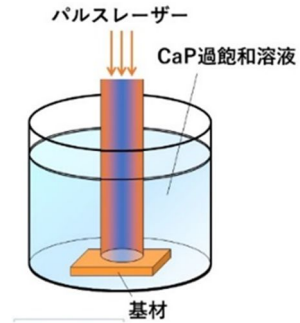


図1

歯科用半導体レーザー

セメント質基材にジアグノグリーンを塗布乾燥後、フッ化ナトリウム(1mM)を添加したCaP過飽和溶液12mL中にセメント質基材を静置した。基材表面の一部(直径約5mm)に歯科用半導体レーザー(図2)のビーム(波長808nm)を3分間照射、洗浄、風乾。未照射、および照射後の基材のレーザー照射面および非照射面を、走査型電子顕微鏡(SEM)とエネルギー分散型X線分析装置(EDX)、透過型電子顕微鏡(TEM)で分析した。

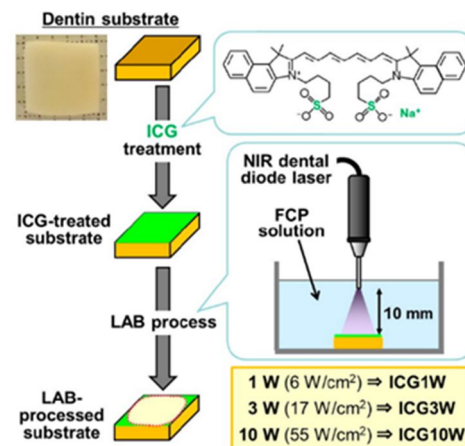


図2

(2) 硬度の測定

歯科用半導体レーザー照射後(図2)、未照射、および照射後の基材の表面のヌープ硬度(KHN)はカリオテスターSUK-971を用いて測定した(3歯根から36部位)。測定後の表面をSEM観察した。

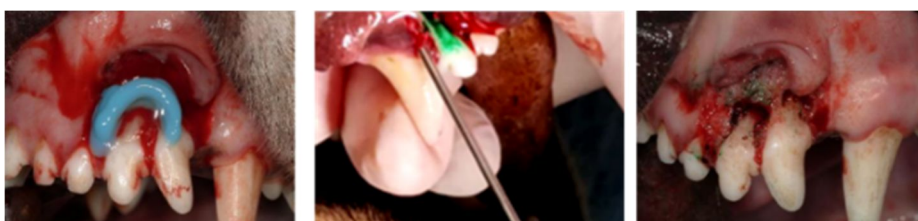
(3) 耐酸性試験

レーザー照射面、未照射面の約4cm²を被験面とした。試料を酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液、(0.2mol/L, pH4.) 5mlに室温で浸とうさせながら浸漬し、浸漬した溶液のCa濃度を吸光光度計(波長620μm)にて計測し、耐酸性性能を検討した。また、Ca濃度の計測はそれぞれ1時間、3時間、24時間浸漬後とした。

(4) *in vivo*での検討

ビーグル犬の上顎第二前臼歯を被験歯とした。セメント質表面にジアグノグリーンを塗布乾燥後、フッ化ナトリウム(1mM)を添加したCaP過飽和溶液にて歯面処理した。

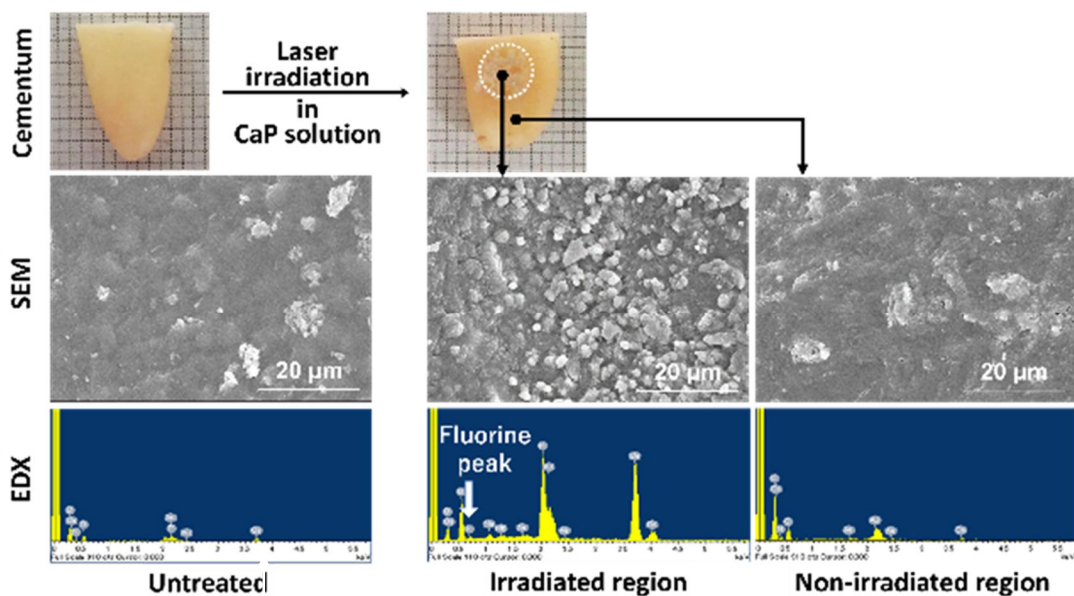
その後、レーザー照射面、未照射面をSEMで観察した。



4. 研究成果

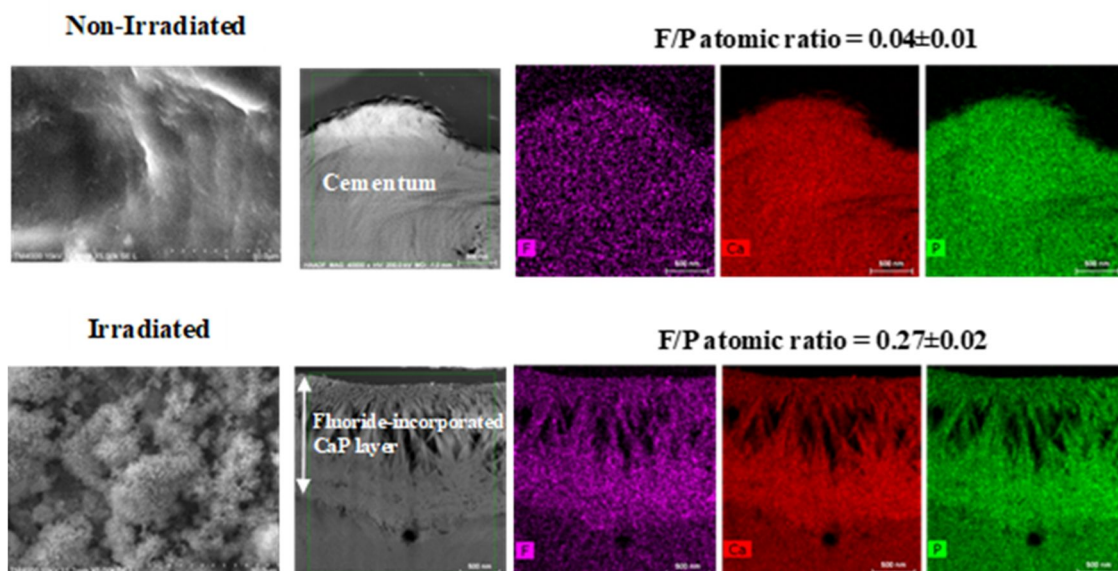
(1) LAB 法を用いたセメント質への CaP 及び CaF の析出処理

レーザー照射前後の基材の SEM 観察の結果、レーザー光照射面にはサブミクロンサイズの凹凸構造が新たに観察された。EDX 分析の結果、照射面には Ca と P に加え新たに F が検出され、Ca/C 元素比の上昇（処理前： 0.03 ± 0.01 処理後の照射面： 0.47 ± 0.31 ）も認められた。これらの結果は、照射面にフッ素担持 CaP が生成したことを示している。一方非照射面では、表面構造および組成の顕著な変化は認められず、Ca/C 元素比は 0.05 ± 0.05 であった。また F は検出されなかった。過飽和液中レーザー照射法によりヒト歯根セメント質上にフッ素持 CaP を成膜できる可能性が示唆された過飽和液中レーザー照射法により、照射面では析出物が認められた。照射面には Ca と P に加え、新たに F が観察された。



半導体レーザー：照射により F/P 元素比の上昇が見られた。

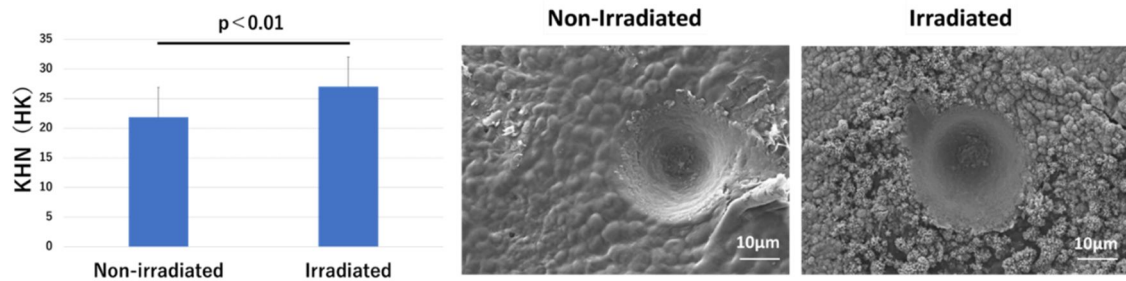
元素比 非照射 F/P = 0.04 ± 0.01 , 照射 F/P = 0.27 ± 0.02



(2) 硬度の測定

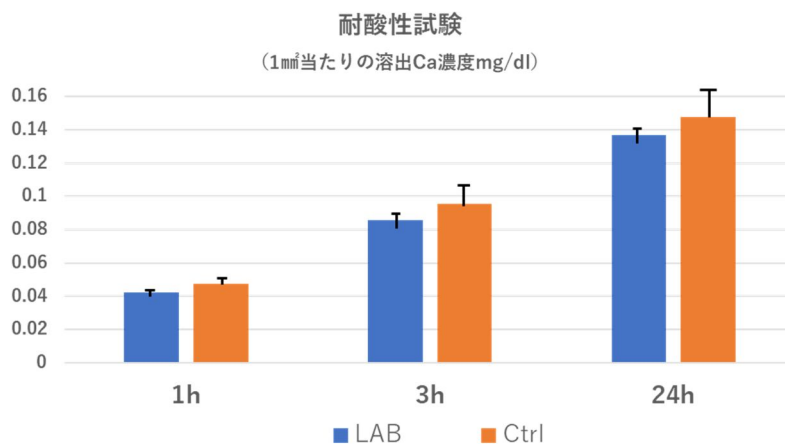
未照射面では 21.9 ± 5.0 HK, 照射面では 27.0 ± 5.4 HK の値を得た。照射後のセメント質表面は未照射セメント質表面と比較して KHN の有意な増加が認められた ($p < 0.01$, Student-t test)。

未照射面ではセメント質様構造が観察された。過飽和液中レーザー照射法により、照射面では析出物が認められた。表面には、カリオテスターによる圧痕が観察された。



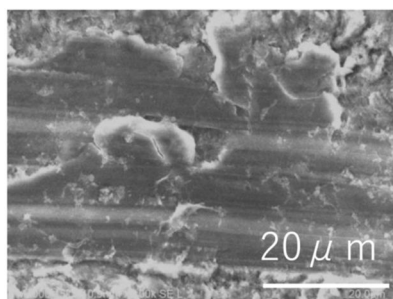
(3) 耐酸性試験

すべての時間帯で LAB 法処理した試料のカルシウムの溶出は少ない傾向であった。

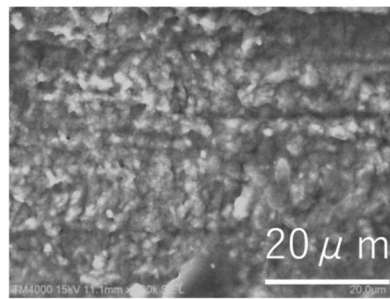


(4) *in vivo*での検討

イヌ口腔内において、レーザー照射後の根面にアパタイトの析出を確認した。



未処理 (イヌ)



レーザー処理 (イヌ)
アパタイト析出を確認

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Miyaji Hirofumi, Mayumi Kayoko, Kanemoto Yukimi, Okamoto Ichie, Hamamoto Asako, Kato Akihito, Sugaya Tsutomu, Akasaka Tsukasa, Tanaka Saori	4. 巻 64
2. 論文標題 Ultrasonic irrigation of periodontal pocket with surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) nanofiller dispersion improves periodontal parameters in beagle dogs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 222-228
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2022.02.006	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 -
1. 著者名 Hirofumi MIYAJI, Kayoko MAYUMI, Saori MIYATA, Erika NISHIDA, Kanako SHITOMI, Asako HAMAMOTO, Saori TANAKA, Tsukasa AKASAKA	4. 巻 39
2. 論文標題 Comparative biological assessments of endodontic root canal sealer containing surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) filler or silica filler	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 287-294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2019-029	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 -
1. 著者名 Oyane Ayako, Sakamaki Ikuko, Nakamura Maki, Koga Kenji, Shitomi Kanako, Tanaka Saori, Miyaji Hirofumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Fluoridated Apatite Coating on Human Dentin via Laser-Assisted Pseudo-Biomineralization with the Aid of a Light-Absorbing Molecule	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 15981-15981
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms232415981	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 -
1. 著者名 Miyaji Hirofumi, Kanemoto Yukimi, Hamamoto Asako, Shitomi Kanako, Nishida Erika, Kato Akihito, Sugaya Tsutomu, Tanaka Saori, Aikawa Natsuha, Kawasaki Hideya, Gohda Syun, Ono Hironobu	4. 巻 12
2. 論文標題 Sustained antibacterial coating with graphene oxide ultrathin film combined with cationic surface-active agents in a wet environment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16721-16721
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-21205-4	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 -

1. 著者名 Tanaka Saori, Miyaji Hirofumi, Mayumi Kayoko, Kanemoto Yukimi, Nishida Erika	4. 巻 2
2. 論文標題 In vivo Assessment of Tissue Compatibility of Root Canal Sealer Containing Surface Pre-reacted Glass-ionomer Fillers	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Operative Dentistry, Endodontology and Periodontology	6. 最初と最後の頁 33-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11471/odep.2022-005	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 -

[学会発表] 計9件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

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(第154回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮治 裕史, 吉野友都, 加藤昭人, 菅谷 勉, 田中 佐織
2. 発表標題 生体組織内へ埋植したBioactive Glass配合根管充填シーラーの表面元素分析
3. 学会等名 日本歯科保存学会2021年度春季学術大会(第154回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大矢根綾子, 坂巻育子, 中村真紀, 奈良崎愛子, 薮 佳奈子, 田中佐織, 宮治裕史
2. 発表標題 レーザーを利用した迅速・部位選択的なアパタイト成膜技術と歯面高機能化
3. 学会等名 第19回産総研・産技連LS-BT合同研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Saori Tanaka, Hirofumi Miyaji, Toru Tanaka, Satoshi Inoue, Ayako Oyane
2. 発表標題 Characterization of human root cementum coated with a fluoride-incorporated calcium phosphate layer by the laser-assisted biomimetic process.
3. 学会等名 99th International Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大矢根綾子, 坂巻育子, 古賀健司, 中村真紀, 薮加奈子, 田中 佐織, 宮治裕史
2. 発表標題 歯科用半導体レーザーによるヒト象牙質基材への迅速アパタイト成膜
3. 学会等名 第34回日本セラミックス協会秋季シンポジウム
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成膜
3. 学会等名 日本歯科保存学会2020年度秋季学術大会(第153回)
4. 発表年 2020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(第154回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金本祐生実, 宮治裕史, 薮佳奈子, 岡本一絵, 吉野友都, 浜本朝子, 菅谷勉, 田中佐織
2. 発表標題 チャンネルペーストチューブおよびチャンネルペーストダブルシリンジの抗菌性ならびに生体親和性評価
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度秋季学術大会(第151回)
4. 発表年 2019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 日本レーザー歯学会総会・学術大会(第34回)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

北海道大学大学院歯学研究院健康科学分野歯周歯内療法学教室ホームページ https://www.den.hokudai.ac.jp/hozon2/perio.html

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	大矢根 綾子 (Oyane Ayako) (50356672)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・研究グループ長 (82626)	

6. 研究組織（つづき）

	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	宮治 裕史 (Miyaji Hirofumi) (50372256)	北海道大学・大学病院・講師 (10101)	
研究分担者	西田 絵利香 (Nishida Erika) (50779882)	北海道大学・大学病院・医員 (10101)	
研究分担者	田中 享 (Tanaka Toru) (90179771)	北海道大学・大学病院・講師 (10101)	

	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
研究協力者	加藤 昭人 (Kato Akihito)		
研究協力者	金本 佑生実 (Kanemoto Yukimi)		

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
---------	---------