

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10120

研究課題名(和文) 亜鉛置換型ハイドロタルサイトを応用した抗菌性・毒素吸着性歯科材料開発への挑戦

研究課題名(英文) Development of novel dental materials with antimicrobial and toxin adsorption properties based on the zinc containing layered double hydroxide

研究代表者

尾池 和樹 (Oike, Kazuki)

朝日大学・歯学部・助教

研究者番号：10784621

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)：本研究の目的はイオン交換能と低分子吸着能を有する層状複水酸化物であるハイドロタルサイト(HDT)の歯科への応用を目指すものであり、天然にも産出するMg-Al系HDTの組成のMgをZnに置換したZn-Al系HDT(Zn-Al-HDT)を合成し、既存の歯科材料に添加してイオン交換能と低分子吸着能を活かした新たな歯科材料を創出することである。

本研究では樹脂材料にZn-Al-HDTを混合比を変えて添加した試作材料を作製し、その物性やヒト由来細胞とP. gingivalis培養系での挙動を検討した。その結果、ヒト細胞に対して親和性を示しかつP. gingivalisの生育を阻害する作用がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口臭や審美的な悩みなど、歯科治療の需要は多岐にわたり国民のQOL維持に重要な役割を果たしている。口臭予防成分や抗菌性を有する歯科材料の開発は世界中で行われているが、例えば口臭、歯周病予防のための洗口剤や歯磨剤の成分は、主として抗菌成分、抗炎症成分であり、口臭の原因物質を除去できるものは少ない。我々の合成したZn-Al-HDTの硫化水素吸着能に関しては既に報告済みであるが、本研究で、Zn-Al-HDTを歯科材料に添加して、ヒト細胞への為害性がないこと、歯周病原因菌の代表であるP. gingivalisの生育を阻害することが示され、国民のQOLを高める新たな歯科材料開発に有望な素材であることが示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to apply the zinc containing hydroxide, layered double hydroxide, (Zn-Al-HDT) with ion exchange capacity and small molecule adsorption capacity, to the dental materials. We prepared an ethylene-vinyl acetate (EVA) material to which Zn-Al-HDT was added and evaluated it in a human derived cell culture system and a P. gingivalis culture system. As a result, our data showed that our novel dental material has an affinity for human cells and has an antibacterial effect.

研究分野：歯科保存学

キーワード：層状複水酸化物 亜鉛 硫化物吸着 低分子吸着 陰イオン交換 口臭 歯周病細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となった現在、特に後期高齢者の人口が増加しているわが国では国民の QOL を維持するためには、口腔の機能維持の根幹となる歯の保存が不可欠である。それには日々の口腔ケアと歯や歯周組織の病変を軽微な段階で治療することが重要となる。しかしながら、例えば歯科用セメントでは、良好な封鎖性や石灰化誘導能などを付加するための研究が盛んに行われているが、予防的に抗菌性を付与したセメントの開発研究は少ないのが現状である。また、口腔ケア用品は、歯垢や舌苔を効率よく除去するための様々な工夫がなされた製品が数多く販売されているが、ディスポーザブル製品を除き、使用後に洗浄しても残存した口腔内細菌が繁殖している可能性がある。これに対して、抗菌性に優れた素材を用いた口腔ケア用品はほとんど見当たらない。我々は以前の研究で HT の低分子吸着能に着目し、呼気中だけでなく唾液中の硫化物の除去効果を高めるべく、HT に含まれる Mg を Zn や鉄 Fe に置換して、硫化物の吸着能を検討し、Zn に置換した HT が高い硫化物吸着能を有することを見出した。さらに、Zn²⁺に抗菌作用が期待できる。そこで、本研究ではイオン交換能と低分子吸着能を有する層状複水酸化物であるハイドロタルサイト (HDT) に注目し、歯科への応用を目指すため、天然にも産出する Mg-Al 系 HDT (Mg-Al-HDT) の組成の Mg を Zn に置換した Zn-Al 系 HDT (Zn-Al-HDT) を合成し、既存の歯科材料に添加してイオン交換能と低分子吸着能を活かした新たな歯科材料を創出することを目指した。

2. 研究の目的

本研究の目的はイオン交換能と低分子吸着能を有する層状複水酸化物であるハイドロタルサイト (HDT) の歯科への応用を目指すものであり、天然にも産出する Mg-Al-HDT の組成の Mg を Zn に置換した Zn-Al-HDT を合成し、既存の歯科材料に添加してイオン交換能と低分子吸着能を活かした新たな歯科材料を創出することである。

3. 研究の方法

Zn-Al-HDT の合成方法、形態制御について検討し、Zn 溶出量の測定、および溶出物のヒト由来細胞や歯周病原菌におよぼす影響を以下の手順で解析した。

1. Zn-Al-HDT の合成

Zn-Al-HDT は、急速沈殿法および水熱合成法で行った。元素分析、X 線回折、FT-IR 分光法で調べ、平均粒径、比表面積を測定する。SEM で形態観察を行った。化学的安定性は、水素イオン濃度を調整した緩衝液あるいは人工唾液中での溶解性試験を行った。

2. Zn-Al-HDT からの Zn 溶出量の定量

合成後の Zn-Al-HDT を蒸留水に浸漬し、溶出する Zn と Al について、ICP 発光分析による定量解析を行い、合成 HT の骨格となる Zn, Al 比と蒸留水中の Zn と Al 量を調べた

3. Zn-Al-HDT 含有 EVA シートの作製と評価

歯科でマウスピースの素材として知られる EVA シート Zn-Al-HDT 粉末を練りこみ、Zn-Al-HDT 含有 EVA シートを作製した。そして、シート片を蒸留水や細胞培養培地に浸漬し、溶出する Zn 量を ICP にて測定した。

4. Zn に対する細胞応答評価

Zn-Al-HDT より溶出した Zn (イオンの状態を含む) 存在下での、ヒト由来細胞の応答を、細胞接着、増殖、ATP 合成の変化を定量することにより解析した。

5. Zn に対する歯周病原菌の応答解析

Zn-Al-HDT より溶出した Zn (イオンの状態を含む) 存在下での、歯周病菌 (*P. gingivalis*) の応答を ATP 合成の変化を定量することにより解析した。

4. 研究成果

以前の研究で、我々はマグネシウムを亜鉛に置換した Zn-Al-HDT を合成し、Zn 置換型 HDT が硫化物吸着能を示すことを明らかにした。本研究では樹脂材料に Zn-Al-HDT を混合比を変えて添加した試作材料を作製し、その物性や硫化物吸着能を検討した。

まず、Zn-Al-HDT の合成条件の検討を行い、X 線回折 (XRD) にて層状化合物であることが確認された試料について、その組成を ICP 発光分析を行い分析した。対照に試薬 Mg-HDT (組成式: $Mg_6Al_2(OH)CO_3 \cdot 4H_2O$) を用い、Mg-HDT の Mg : Al のモル比がおよそ 3 : 1 であることを確認した後、我々の合成した Zn-Al-HDT を分析した。その結果、合成した Zn-Al-HDT の Zn : Al のモル比は 2 : 1 であった。

この Zn-Al-HDT を EVA 樹脂と混合した材料を開発するため、異なる混合比の材料を試作した。そして、Zn-Al-HDT の含有率が 20% のシートと、39% のシートを試作した。含有率 40% 以上ではシートの成型が不良であった。そこで前述の 2 種のシート中での Zn-Al-HDT の分散状態を、SEM-EDX で解析し、ほぼ均一に分散していることを確認した。

次いで、Zn-Al-HDT 粉末および Zn-Al-HDT 含有 EVA シートからの蒸留水および細胞培養培地への Zn, Al の溶解試験を行ったところ、シートからの溶解量は粉末そのものからの溶解量と比べておよそ 1/100 となるものの少量の Zn, Al が溶出することがわかった。さらに、成分が溶

出した培地を用い、ヒト歯髄由来幹細胞およびヒト歯肉上皮前駆細胞の応答を評価したところ、粉末を浸漬した培地では細胞増殖が障害されたのに対して、シートから溶出した成分を含む培地では細胞増殖がある濃度では促進された。次いで、初期接着および細胞の伸展、7日以上培養したヒト歯髄由来幹細胞のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を評価したところ、シートからの溶出する Zn を含む培地で培養した群で、良好な細胞の伸展と ALP 活性上昇がみられ、Zn-Al-HDT 含有 EVA シートを口腔内での使用に関する有用なデータが得られた。

以上の結果は、Zn 置換型 HDT からの溶出物はヒト由来細胞に為害性を示さず、有用な作用を及ぼすと考えられる。そこで、歯周病原菌の生育に与える影響を検討した。*P. gingivalis* の培養系に、Zn-Al-HDT 含有 EVA シート片を投入し、ATP 合成について比較したところ、コントロールの EVA シート片を投入した場合と比べ、Zn-Al-HDT 含有 EVA シート片を投入した場合は *P. gingivalis* の ATP 合成が顕著に抑制され、制菌効果を示すことが明らかとなった。

現在、*P. gingivalis* 培養系に銀合金試験片を投入し、硫化による変色への影響の検討と、*S. mutans* の生育への影響についても、解析を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 森田侑宜, 藤井和夫, 尾池和樹, 佐野宏弥, 横川善之, 川木晴美, 堀田正人	4. 巻 38
2. 論文標題 Zn置換Hydroxyciteの歯周病関連菌産生H ₂ Sの吸着効果と抗菌作用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本歯科理工学会誌	6. 最初と最後の頁 109-118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18939/jsdmd.38.2_109	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾池和樹, 川木晴美, 上野恭平, 新谷耕平, 作 誠太郎, 中川豪晴, 二階堂 徹, 横川善之, 堀田正人
2. 発表標題 亜鉛置換型ハイドロタルサイト含有EVAシートの試作と評価
3. 学会等名 第152回日本歯科保存学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石博大嗣, 川木晴美, 上野恭平, 巽 勇介, 井殿泰鳳, 尾池和樹, 二階堂 徹, 近藤信夫, 堀田正人
2. 発表標題 イオン交換後のS-PRGフィラー抽出液によるヒト骨髄およびヒト歯髄由来細胞の動態
3. 学会等名 第150回日本歯科保存学会春季学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井殿泰鳳, 村瀬由起, 尾池和樹, 日下部修介, 堀田正人
2. 発表標題 BEAUTIFIL Flow Plus XをPRGコンボグロスにて研磨したときの光沢度と表面粗さ
3. 学会等名 第27回に日本歯科色彩学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 湯浅直樹, 井殿泰鳳, 越智葉子, 村瀬由起, 尾池和樹, 日下部修介, 亀水秀男, 堀田正人
2. 発表標題 アパタイト光触媒配合歯磨剤のホワイトニング効果
3. 学会等名 第27回に日本歯科色彩学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学ホームページ http://scw.asahi-u.ac.jp/~shikan/index.html 朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学ホームページ http://scw.asahi-u.ac.jp/~shikan/index.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	堀田 正人 (Hotta Masato) (10157042)	朝日大学・その他部局等・教授 (33703)	
研究分担者	横川 善之 (Yokogawa Yoshiyuki) (20358310)	大阪市立大学・大学院工学研究科・名誉教授 (24402)	
研究分担者	川木 晴美 (Kawaki Harumi) (70513670)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	

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