

機関番号：30110

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20592384

研究課題名（和文）ナノバイオガラスを用いた再石灰化を誘導する自己修復機能材料の開発

研究課題名（英文）Development of self-healing material with ability of remineralization using nanobioglass

研究代表者

橋本正則（HASHIMOTO MASANORI）

北海道医療大学・歯学部・准教授

研究者番号：00337164

研究成果の概要（和文）：バイオガラス・レジン複合材料において親水性の高いレジンマトリックスを用いた試料を使用すると長期水中浸漬により、疑似体液を使用しなくても石灰化物が形成されることが明らかとなった。形成された石灰化物は炭酸カルシウムを主成分とする化合物であった。このような石灰化物形成は人工唾液や歯髄内液などのイオンが豊富な環境下でさらに増加するかもしれない。しかし、試験溶液下における複合材料の組成と反応生成物である石灰化物の自己修復材料としての臨床有用性について考慮し研究を継続する予定である。

研究成果の概要（英文）：The result of this study shows that crystal formation is a common behavior of a “hydrophilic” resin composition of bioglass/resin composites in water over long-term, instead of in simulated body fluid. These crystal depositions consisted of calcium carbonate ( $\text{CaCO}_3$ ). Such crystal formation may be accelerated in an ion-rich environment such as artificial saliva or dentinal tubule fluid. However, further efforts will be focused on the relation between the ingredients of composite materials and reacting mineralized products in test solutions that are more useful as self-healing materials in clinical conditions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児歯科学

キーワード：小児歯科学

## 1. 研究開始当初の背景

歯科用接着性レジンはその構造内にナノサイズの欠損（ナノリーケージ）を形成し、その部位への水分の浸透を許す。ナノリーケージへ浸透する水分は唾液および歯髄内液に由来している。それら水分の接着界面への浸透はコラーゲン線維およびレジン成分の加水分解を引き起こし接着強度の低下を誘発する。申請者らはフッ素徐放性レジンの硬化体が歯質とのギャップにおいて結晶性物質を形成することをラマン分光光度計および走査型電子顕微鏡を用いて観察した。さらに接着性レジンの石灰化能を向上させることを目的としてバイオガラス（ $\text{Na}_2\text{-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5$ 系）添加型レジンを作成、わずか、数ヶ月の水中浸漬により多量の石灰化物を形成する事実を確認している。石灰化物誘導能は接着界面内に形成される辺縁漏洩を閉鎖することから優れた長期耐久性をもたらすと推測できる。ナノサイズのバイオガラス（粒子径：約 10-20 nm）はマイクロサイズと比較すると、その単位体積に対する表面積が向上するため、少量の添加（数%）により高い再石灰化誘導能を期待できる。

## 2. 研究の目的

ナノバイオガラス添加型レジン修復材を作製し、歯質硬組織に対する石灰化誘導能を解明する。本研究においては長期水中浸漬試験を行った。修復材が形成する石灰化物の同定を形態・分子構造学的アプローチから行い、機械的強度に優れた再石灰化を誘導するバイオガラス・レジン複合材料を開発する。

今回はその第一段階として、一般的なバイオガラス粒子を用いて、ガラス・レジン複合材料の長期水中浸漬試験を用いてその石灰化誘導能を評価した。

## 3. 研究の方法

### <試験試料の作製>

本実験のレジンマトリックスには、Bis-GMA(2-bis[4(2-hydroxy-3-methacryloyloxy-propyloxy)-phenyl]), TEGDMA (triethylene glycol dimethacrylate) および HEMA (2-hydroxyethyl methacrylate)の3種類のモノマーを使用した。重合開始剤として camphorquinone (0.005 wt%)を、重合促進剤として 2-(dimethylamino) ethyl methacrylate (0.01 wt%)を配合した。

バイオガラスには粒子径が 25  $\mu\text{m}$  以下の S53P4 ( $\text{SiO}_2$ : 53%,  $\text{Na}_2\text{O}$ : 23%,  $\text{CaO}$ : 20%, and  $\text{P}_2\text{O}_5$ : 4%) を使用し、レジンに 40 wt%で配合した。モノマーの配合比率を変えることによって以下の3種類の実験群を設定した。これら、レジンとガラスの配合比率は市販されている接着性レジンに近似したものである。

- 1) B7T3: Bis-GMA (70%), TEGDMA (30%)
- 2) B6T3H1: Bis-GMA (60%), TEGDMA (30%), HEMA (10%)
- 3) B5T3H2: Bis-GMA (50%), TEGDMA (30%), HEMA (20%)
- 4) B4T3H3: Bis-GMA (40%), TEGDMA (30%), HEMA (30%)  
all: weight %

### <揮発性残留物測定>

作製したレジンの組成の親水性・疎水性を相対的ではあるが評価するためにレジンマトリックスの揮発性残留物を水分計 (Digital moisture analyzer MS-70, A & D, Tokyo, Japan) を用いて計測した。厚さ約 1 mm のガラス繊維シートにレジンを滴下、光照射により硬化したものを実験に供した。

### <長期水中浸漬試験>

長期水中浸漬試験においては、レジンモノマーを内径 10 mm、厚さ 1 mm のシリコンモールドに填入し、光照射器を用いて各面に 10 分間光照射し、バイオガラス添加レジン円板硬化体（ガラス・レジン複合材料）を作製した。レジン円板の表面は、#600 の耐水研磨紙を用いて注水下で研削した。それら試料を

37°Cの蒸留水中にそれぞれ24時間(コントロール)、3、6、9および12ヶ月間浸漬した。水中浸漬後、レジン硬化体の表面を光学顕微鏡(AZ100, Nikon, Tokyo, Japan)および走査電子顕微鏡(SSX-550, Shimadzu, Kyoto, Japan)を用いて観察した。さらに、レーザーラマン分光光度計(NR-1800, Jasco, Tokyo, Japan)およびX線回折装置(Rint-2000, Rigaku, Tokyo, Japan)を用いて生成物を同定した。

#### 4. 研究成果

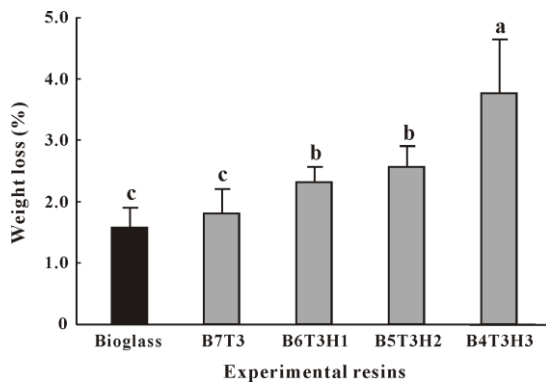


図1：揮発性残留率測定

試作したレジンマトリックス(硬化体)の揮発性残留物を測定した結果、HEMAの配合量を多くすることによりレジンマトリックスは親水性になることが判明した。HEMAを全くふくまないB7T3レジンからも揮発性物質が検出されたが、それはバイオガラス粒子と同程度であった。それら揮発性はレジンモノマーの分子量に起因する。Bis-GAM, TEGDMA, HEMAを水分計にて同様に測定すると、それぞれの揮発性は0, 3, 100%になる。その相対的な揮発性の測定値からレジンマトリックスの親水性および疎水性を推測することが可能である。それら、実験方法を用いて試作レジンと市販されている歯科用接着性レジンと比較評価することも可能である。

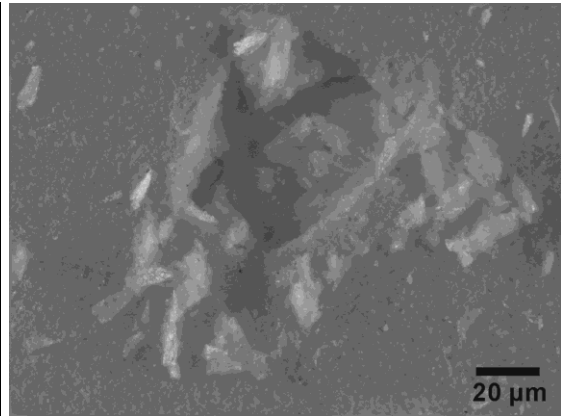


図2：バイオガラス配合レジン(B4T3H3)を6ヶ月間水中浸漬した後の試料表面、写真はバイオガラス粒子の周囲を全焦点光学顕微鏡写真

バイオガラス・レジン複合体を長期水中浸漬することにより試料表面に石灰化物の形成が容易に観察された。図2の写真では溶解したガラス粒子の周囲に石灰化物が形成されているため溶解したガラス周囲に石灰化物ができたと推測される。しかし、ガラス粒子が観察されないレジンマトリックス表面においても石灰化物が形成されている像も多く観察された。

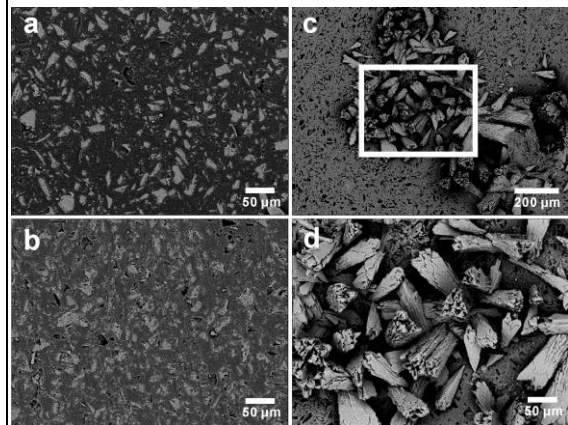


図3：バイオガラス配合レジン(B4T3H3)を6ヶ月間水中浸漬した後の試料表面、走査電子顕微鏡写真

- a: 水中未浸漬試料(コントロール)
- b: 3ヶ月間水中浸漬
- c: 6ヶ月間水中浸漬
- d: c写真の局所拡大図

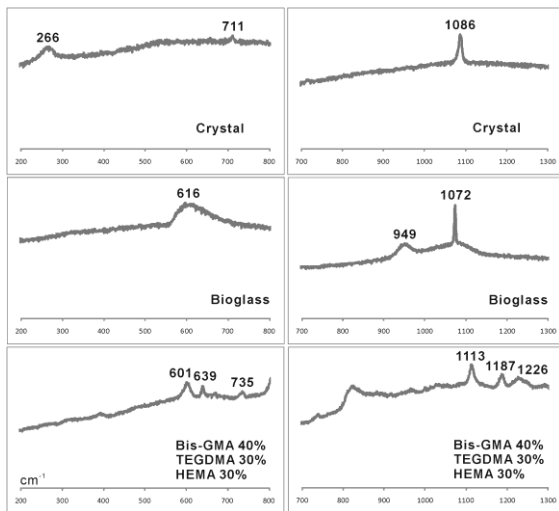


図4：各試料のレーザーラマン分析  
 上段：Crystal: 形成された石灰化物  
 中段：Bioglass: バイオガラス  
 下段：レジンマトリックス(B4T3H3)

試料を長期水中浸漬することにより石灰化物の形成が観察される(図3)。石灰化物の形成は親水性レジンマトリックスにおいて顕著である。また、電子顕微鏡観察から切削された試料表面のガラス粒子だけでなく、直接ガラス粒子が露出していないレジンマトリックス上にも浸漬時間の経過とともに石灰化物が析出・成長している。これは親水性のレジンマトリックスに浸透した水が内在するガラス粒子と反応、イオンを放出する。さらにそのイオンが試料表面から試験液中に溶出することにより石灰化物の形成に関与していると考えられる。よって、レジンマトリックスそのものが水およびイオンの通過経路となっている。試験溶液中に溶出したイオンが過飽和になり試験片表面に石灰化物が形成されたと考えられる。

ラマン分析において形成された石灰化物の明確な同定はできなかったが、比較的低い領域に特徴的ピーク(266  $\text{cm}^{-1}$ )が観察されることからある程度の結晶化度を有する物質であると推測された(図4)。

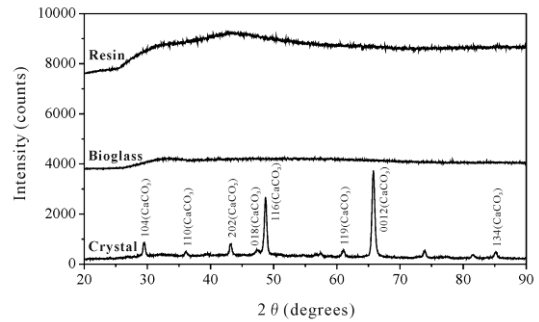


図5：試料表面のX線回折パターン  
 上段：レジンマトリックス(B4T3H3)  
 中段：Bioglass: バイオガラス  
 下段：Crystal: 形成された石灰化物

バイオガラス・レジン複合材料において親水性の高いレジンマトリックスを用いた試料を使用すると長期水中浸漬により、疑似体液を使用しなくても石灰化物が形成されることが明らかとなった。さらに、X線回折の結果から、形成された石灰化物は炭酸カルシウムを主成分とする化合物であった(図5)。このような石灰化物形成は人工唾液や歯髄内液などのイオンが豊富な環境下でさらに増加すると考えられる。

しかし、形成される石灰化物がどのようにリーケージを閉鎖するのか、また試験溶液と石灰化物の種類との関係とその臨床有用性についてさらに研究を継続する必要があると考えられた。今後、リーケージと石灰化物の形態観察には透過電子顕微鏡を使用する予定である。

本研究においては試験溶液に蒸留水を使用した。これは、ガラス・レジン複合材料の最も基本的な反応を調べるために設定した。通常、バイオガラスと生体反応を調べる場合には疑似体液を使用する。しかし、試験溶液に人工唾液を使用した場合、修復物の口腔内での石灰化誘導能を評価する指標となり、歯髄内液を使用した場合は、覆層材や根管充填用シーラーと歯髄および歯根尖周囲組織との生体反応性を評価する指標となり得る。よ

って、試験溶液（浸漬液）を変えることにより歯科臨床に応用するための *in vitro* 実験系を作りだすことができ、さらなる研究課題となる。

本実験結果は比較的大きなサイズのバイオガラスによるものであるが、基本的な反応生成物の形成能はマイクロサイズのガラスでもナノガラスにおいても相違はない。しかし、ガラスの粒子径を小さくすることにより溶出イオン量が多くなり、種々の反応性が高まることも明らかとなった。

現在、バイオガラス以外のシリカ系微粒子（S-PRG、ポルトランドセメントおよびMTT など）と石灰化形成能に関する研究や細胞（骨芽細胞様細胞：MC3T3-E1 および破骨細胞様細胞：RAW264 など）と各種ガラスのインタラクション（付着性、毒性など）についての研究を継続している。

## 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6件）

- 1) Hashimoto M, A review - micromorphological evidence of degradation in resin-dentin bonds and potential preventional solutions. J Biomed Mater Res 92: 268-280, 2010. 査読（有）
- 2) Hashimoto M, Nagano F, Endo K, Ohno H. Measurements of volatile compound contents in resins using a moisture analyzer. Eur J Oral Scie 118: 94-99, 2010. 査読（有）
- 3) Hashimoto M, Iijima M, Nagano F, Ohno H, Endo K. Effect of monomer compositions on crystal growth by resin contained bioglass. J Biomed Mater Res 94: 127-133, 2010. 査読（有）
- 4) Endo K, Hashimoto M, Haraguchi K, Ohno H. Crystal growth by restorative filling materials. Eur J Oral Scie 118: 489-493, 2010. 査読（有）

- 5) Ito S, Iijima M, Hashimoto M, Tsukamoto N, Mizoguchi I, Saito T. Effects of surface pre-reacted glass-ionomer fillers on mineral induction by phosphoprotein. J Dent 39: 72-79, 2011. 査読（有）
- 6) Endo K, Hashimoto M, Haraguchi K, Ohno H. Ten-years degradation of resin-dentin bonds. Eur J Oral Scie 118: 404-410, 2010. 査読（有）

〔学会発表〕（計5件）

- 1) 橋本正則、長野二三、飯島雅弘、遠藤一彦、大野弘機、バイオガラス配合レジンによる石灰化誘導能、第54回日本歯科理工学会、鹿児島、2009
- 2) 橋本正則、飯島雅弘、長野二三、大野弘樹、遠藤一彦、ポルトランドセメント配合レジンの石灰化誘導能、第55回日本歯科理工学会、東京、2010
- 3) Genchou M, Kaga M, Hashimoto M, Yawaka Y. Increase in pH by S-PRG filler containing sealant. 85<sup>th</sup> General session of IADR, Barcelona, Spain. 2010.
- 4) Hashimoto M, Fujita S, Nagano F, Ohno H, Endo K. Ten-years degradation of resin-dentin bonds in vitro. 85<sup>th</sup> General session of IADR, Barcelona, Spain. 2010.
- 5) 橋本正則、飯島雅弘、長野二三、井田有亮、加我正行、大野弘樹、遠藤一彦、シリカ系微粒子を含むレジンの石灰化誘導能、第56回日本歯科理工学会、岐阜、2010

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

橋本 正則 (HASHIMOTO MASANORI)

研究者番号：00337164