

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：37604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09950

研究課題名(和文) 生体硬組織に接着する吸収性素材の設計開発と保存修復・歯内療法・歯周治療への応用

研究課題名(英文) Design and development of absorbable materials that adhere to biological hard tissues and their application to conservative restoration, endodontics, and periodontics

研究代表者

中村 真理子 (Nakamura, Mariko)

九州保健福祉大学・臨床心理学部・教授

研究者番号：90284067

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)：歯質接着界面を透過電型子顕微鏡により解析した結果ポリカルボン酸は一部脱灰して表面にゲル状の層を形成していることが明らかになった。またポリカルボン酸よりも、アクリル酸90wt%とマレイン酸10wt%の共重合体のほうが化学的な結合能が高かった。この結果をもとに新たな機能性分子を設計・合成した。黒酵母により産生される非動物性由来の吸収性高分子で、水に溶かした時の粘性が最も低い多糖類の一つであるプルランを用い、生体硬組織への接着性を期待して2価のリン酸基を導入した。塩化ホスホリルで処理する合成法により作成したリン酸化プルランはエンドトキシンの値が検出限界以下であることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体硬組織に接着し、吸収される素材があれば、保存治療系歯学の全分野に革新的な成果をもたらす。しかしながら、現在の歯質接着性材料では、強い接着力を得られるものの非吸収性であり、生体組織に置換される部位には応用できない。今回の研究結果より、湿性硬組織に接着し、生体内で分解・吸収されて組織に置換する機能性分子を設計・合成するにあたって黒酵母により産生される非動物性由来の吸収性高分子である多糖誘導体プルランを選択した。このプルランに生体硬組織への接着性を期待して2価のリン酸基を導入したリン酸化プルランを創製した。リン酸化プルランのエンドトキシンの値は検出限界であることが確認された。

研究成果の概要(英文)：Transmission electron microscopy analysis of the dentin bonding interface revealed that the polycarboxylic acid was partially demineralized to form a gel-like layer on the surface. In addition, a copolymer of 90wt% acrylic acid and 10wt% maleic acid had higher chemical bonding ability than polycarboxylic acid. Based on these results, new functional molecules were designed and synthesized. Pullulan, an absorbable polymer of non-animal origin produced by black yeast and one of the least viscous polysaccharides when dissolved in water, was used to introduce a divalent phosphate group with the expectation of adhesion to biological hard tissues. Phosphorylated pullulan prepared by the synthetic method of treatment with phosphoryl chloride was found to have endotoxin levels below the detection limit.

研究分野：医歯薬学

キーワード：生体硬組織 接着 湿性組織 ポリカルボン酸 プルラン リン酸化プルラン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

保存治療系歯学は『歯の保存』を目的とした分野であり、歯や骨との接着技術は、治療成績を上げるキーテクノロジーとなりうる。これまで保存修復学は、歯科臨床につながる多くの材料、技術を世に送り出してきた。しかしながら、現在の歯質接着における材料設計の基本コンセプトは「接着強さを高めることで、修復物の寿命を延ばす」ことであるため、除去・再治療を余儀なくされる根管充填などの治療に、これまで培った歯質接着の知見を応用することができない。また開発は、非吸収性材料の接着力評価が中心で、治療成績に大きく影響を及ぼす封鎖性に関して、ナノレベルの漏洩評価を材料開発の指標に用いていないため未だ象牙質接着には問題がある。そのため、象牙質に近い組成の骨組織には、現在の設計理論をそのまま応用できない。本研究では「歯や骨に接着するにはどのような分子構造がベストか」という、歯科における究極の学術的「問い」に基づくものである。得られた知見を基に新規機能性分子を創製し、保存修復・歯内療法・歯周外科治療へ展開する。

2. 研究の目的

生体硬組織に接着し、吸収される素材があれば、保存修復における歯髄・象牙質の再生、歯内療法における根尖部完全封鎖、歯周治療における薬剤・材料の効果的送達と GTR 膜の封鎖性向上など、保存治療系歯学の全分野に革新的な成果をもたらす。しかしながら、現在の歯質接着性材料では、強い接着力を得られるものの非吸収性であり、生体組織に置換される部位には応用できない。そこで本研究では、保存修復・歯質接着で長年培われた成果を保存治療系歯学全分野に展開することを目指し、歯や骨に接着し、吸収・置換される新素材を開発することを目的としている。

3. 研究の方法

・分子構造が生体硬組織への接着特性に及ぼす影響の解析と理論構築

材料中の機能性分子が生体硬組織に及ぼす影響を明らかにするため、両者の界面は透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて分析を行った。

・機能性分子の設計・合成

XPS, XRD, NMR により新たに合成した試作機能性分子と歯質や骨成分との化学的相互作用の解析を行った。

・生体硬組織 / 材料ナノ界面解析

合成した試作機能性分子で試験物を作製し、硬組織との界面をナノスケールで解析を行った。

・安全性試験

体内に埋植することを視野に入れ、GLP 試験に準拠した試験、エンドトキシン測定を行った。エンドトキシン測定には日本薬局方に準拠している富士フィルム和光純薬社製トキシノメーター ET-6000 を使用した。結果の解析は専用ソフトウェア (Toximaster QC7) を用いて行い、比濁法測定における判定の閾値は 94.9% とした。定量範囲は当該のリムルス試薬に記載されている 0.0078 ~ 1 EU/mL と設定し、この範囲を超えた試料については注射用水 (日本薬局方 大塚蒸留水) で希釈した後再度測定した。またこの範囲を下回る試料はすべて検出限界とした。

4. 研究成果

(1) 歯質表面における分子の挙動と分子構造の関係性について

アパタイトに化学吸着する分子と歯質表面を脱灰する分子とでどのような構造の違いがある

が検討した。歯質接着では低分子と高分子が用いられているが両者を比較した場合低分子の方が歯質表面を脱灰するものが多い。これはガラスイオノマーセメントの主成分であるポリカルボン酸などの高分子にはカルボキシ基すなわち酸性の官能基が多数存在するため「多足類」のように歯質に「ひつつく」ことによると考えられる。つまりカルボキシ基のような酸性官能基がアパタイト表面に存在するカルシウムとイオン結合し、一部乖離しては別の酸性官能基がイオン結合するという平衡状態を保っているものと考えられる。またポリカルボン酸の一種であるポリアクリル酸との比較結果を見ても分子量がある程度大きく溶解できるぎりぎりの大きい分子のほうが比較的小さい分子量のポリアクリル酸よりも化学的に結合する傾向が強かった。ポリカルボン酸においても歯質表面を全く脱灰せず結合しているわけではない。一部脱灰して表面にゲル状の層を形成していることが透過電型顕微鏡による歯質接着界面の解析結果から明らかになった。アパタイトから放出されたカルシウムイオンがポリカルボン酸と反応してゲル化することにより歯質表面に粘着することも、化学的に結合するための準備段階となっていると考えられる。

ポリカルボン酸よりも、アクリル酸 90wt%とマレイン酸 10wt%の共重合体のほうが化学的な結合能が高かった。これは単位ユニットで比較した場合、酸性官能基であるカルボキシ基の数が多いことに加え、カルボキシ基の位置も関係していると考えられる。

(2) 機能性分子の設計・合成

歯質接着の基礎研究から、1分子中に多数の官能基を有する分子構造が湿性硬組織への接着に有利であることは分かっている。その代表例がガラスイオノマーセメントの主成分であるポリカルボン酸である。しかしガラスイオノマーセメントに用いられてきたポリカルボン酸はポリアクリル酸やその類似構造であり、直鎖状であるため分子量が大きくなれば粘性も上がる。これは濡れ性の低下につながる。直鎖状高分子を歯質接着に用いた時のジレンマである。そこで湿性硬組織に接着し、生体内で分解・吸収されて組織に置換する機能性分子を設計・合成するにあたってバックボーンに多糖誘導体であるプルランを選択した。プルランは黒酵母により産生される非動物性由来の吸収性高分子で、水に溶かした時の粘性が最も低い多糖類の一つである。このプルランに生体硬組織への接着性を期待して2価のリン酸基を導入した(図1)。

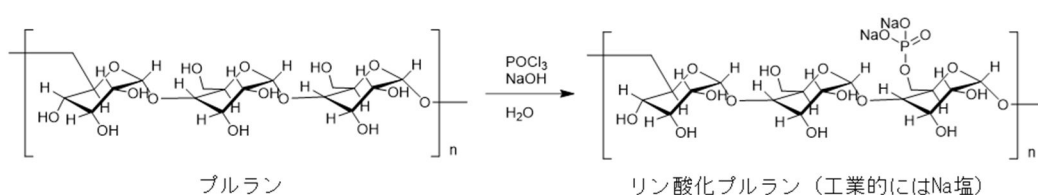


図1 生体硬組織に接着し、体内で吸収される多糖誘導体

(3) 新たに合成した機能性分子をキーマテリアルとして作成したリン酸化プルランを根面う蝕用材料、直接覆髄材、根幹充填用シーラー、歯周外科用 DDS として使用するための調整

これまでの研究で、塩化カルシウム溶液を用いることでリン酸化プルランがゲル化することはわかっている。今回リン酸化プルランをより硬く硬化させるため多価の陽イオンであるポリアルギニン、ポリリジンの水溶液を用いて検討を行ったところ、両材料ともに一定のゲル化が見られたが硬化には至らなかった。

(4) リン酸化プルランに含有されるエンドトキシンの測定

プルランを 170 で加熱, マイクロ波照射, 塩化ホスホリルで処理を行うという 3 つの合成法により得られたリン酸化プルランに含有されるエンドトキシン量を測定した。その結果塩化ホスホリル処理で得られたリン酸化プルランはエンドトキシンが検出限界(0.78EU/g)以下となり体内埋植用のコラーゲンやヒアルロン酸より低い値を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 R.Endo, K.Nakanishi, Y.Bando, S.Abe, H.Maruoka, M.Nakamura, T.Akasaka, Y.Yoshida, Y.Sato	4. 巻 14
2. 論文標題 Ion Capture and Release Ability of Glass Ionomer Cement Containing Nanoporous Silica Particles with Different Pore and Particle Size	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 5742
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma14195742	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 -

1. 著者名 Abe Shigeaki, Nesabi Mahdis, Safae Sirus, Seitoku Eri, Yato Yuya, Hyono Atsushi, Era Yuko, Nakanishi Ko, Nakamura Mariko, Kusaka Teruo, Valanezhad Alireza, Takada Tomoya, Watanabe Ikuya	4. 巻 37
2. 論文標題 A novel thermoresponsive hydrogel composite controlled by infrared irradiation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Crystals and Liquid Crystals	6. 最初と最後の頁 e273-e279
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/15421406.2023.2194600	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3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 長本香菜子, 中西康, 吉原久美子, 中村真理子, 赤坂司, 吉田靖弘
2. 発表標題 接着性を有した生体吸収性材料による唇顎口蓋裂の新治療法
3. 学会等名 日本歯科理工学会令和3年度北海道・東北地方会夏季セミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 K. Nagamoto, S. Abe, K. Nakanishi, Y. Era, F. Farhana, K. Iwanuma, M. Nakamura, T. Kusaka, Y. Kitagawa.
2. 発表標題 Chemical modification of nanoporous silica surface for turning controlled drug-release property from dental/medical materials
3. 学会等名 21th Chitose International Forum on Photonics Science & Technology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 S. Abe, M. Nesabi, S. Safaee, A. Hyono, Y. Era, M. Nakamura, A. Valanezhad, T. Watanabe
2. 発表標題 A Novel thermos responsible hydrogel composite: Controlled by infra-red irradiation
3. 学会等名 KJF-ICOMEF 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 N. Hagamoto, S. Abe, K. Nakanishi, Y. Era, F. Farhara, K. Iwamura, M. Nakamura, T. Kusaka, Y. Kitagawa	4. 発行年 2022年
2. 出版社 PWC Publishing	5. 総ページ数 82
3. 書名 Proceedings of 21th Chitose International Forum on Science and Tecgnology	

〔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	吉田 靖弘 (Yoshida Yادهiro) (90281162)	北海道大学・歯学研究院・教授 (10101)	
研究分担者	阿部 薫明 (Abe Shigeaki) (40374566)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・准教授 (17301)	

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