

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09966

研究課題名(和文) 抗菌作用と石灰化作用を併せもつデュアルファンクショナル・ゼオライトフィラーの創出

研究課題名(英文) Creation of a dual-functional zeolite filler with both antibacterial and calcifying effects

研究代表者

新谷 耕平 (Shintani, Kohei)

朝日大学・歯学部・助教

研究者番号：50824455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は陽イオン交換能を有するゼオライトを用いた多機能型フィラーの創出である。ゼオライト骨格の負電荷を補償する陽イオンに抗菌効果が期待されるAg⁺やZn²⁺、再石灰化を誘導するためのCa²⁺等を官能化したゼオライトを合成し、その各種イオン含有量を変化させ、テーラーメイドな陽イオン徐放型フィラーの創出を試みた。

各種陽イオン含有水溶液を作製し、浸漬時間や濃度を変化させることでCa/Ag/Znイオン含有量を調整した。そのゼオライトをシラン処理したのち、レジンと混和させることで歯科材料としてコンポジットレジンを作製し、その結果、口腔内で使用可能な歯科材料になり得ることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、様々な物理化学的特性を有するゼオライトを作製し、生体反応に関わる因子を探索し解析することによって、生体反応の分子基盤の解明も目指している。そのため、本研究の成果から導き出される因子は、他の歯科材料研究に示唆を与え、歯科材料に添加するフィラーを物理化学的のみならず、生化学的に制御しようとする点で学術的な独自性を有する。さらに、このような新規マテリアルの研究は、年齢を問わず歯科修復治療を必要とする全国民のQOL向上に大きく貢献できる新たな知見を創出し、国民・社会に還元することを視野に入れた意義のある成果が期待できると示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to create a multifunctional filler using zeolite with cation exchange ability. Zeolites functionalized with Ag⁺ and Zn²⁺, which are expected to have antimicrobial effects, and Ca²⁺, which induces remineralization, were synthesized as cations that compensate for the negative charge of the zeolite backbone, and the ion content was varied to create a tailor-made cation-release filler.

Aqueous solutions containing various cations were prepared, and the Ca/Ag/Zn ion content was adjusted by changing the soaking time and concentration. The zeolite was silanized and then mixed with resin to produce composite resin as a dental material, and the results suggest that it can be used as a dental material in the oral cavity.

研究分野：医歯薬学

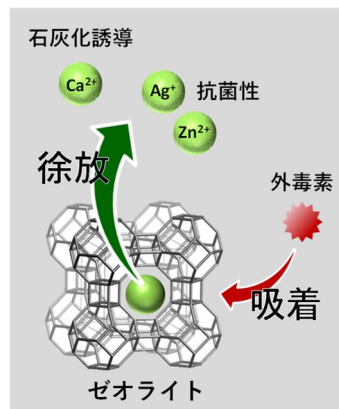
キーワード：ゼオライト 機能性フィラー イオン交換 レジン 吸着

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会となり後期高齢者人口が増加している我が国において、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。そのため歯科治療に用いる材料に抗菌性や石灰化誘導能など様々な要素を付加するための研究が盛んに行われている。申請者らは、修復材料やセメントに汎用されているコンポジットレジンの物理化学的性質に大きく関与するフィラーに着目した。フィラーは製品によってその種類、形状、粒子サイズや分布、配合量が多種多様であり、歯科材料の特性改質に手を加えやすい。現在までに、アルミナやジルコニアなど従来にはない素材を用いたものや、既存のフィラー表面を化学的に処理し、イオン徐放能を付与した機能性フィラーなどが開発されているが、徐放イオンの種類や徐放量をコントロールできる材料は見当たらない。

ゼオライトは、現在フィラーの主流であるケイ酸塩ガラスと同様にケイ素を主体とし、ケイ素、アルミニウム、酸素からなる結晶性酸化物であり、特異的な物理化学特性を有する機能性無機多孔材料である。その骨格構造は TO_4 ($T=Si$ or Al) の四面体から成り、骨格構造中に Al を含む場合、 Si^{4+} を Al^{3+} に同型置換しているため、ゼオライトは負に帯電し、電気的中性を保つために、金属陽イオン (M^+) が存在する。これらの陽イオンは、ゼオライト骨格中に取り込まれていないため、他の陽イオンと容易に交換が可能 (イオン交換能) であり、官能化された陽イオンの種類により様々な特性を付与することができる。

さらに、多孔体であるゼオライトは高い吸着能をもち、特定の物質を選択的に吸着可能であるといった特徴をもつ。こうしたゼオライトの特性を利用して、例えば口腔内細菌の産生する外毒素の吸着除去や、抗菌性付与を目的とした Ag^+ や Zn^{2+} の担持および石灰化誘導能付与を目的とした Ca^{2+} の担持により、ゼオライトから各種イオンを徐放することで、これまでにない多機能なフィラー特性の発現が期待できる (図 1)。このように、ゼオライトを官能化して新たに創出したフィラーをレジンに添加することで、『既存の歯科材料にはみられない外毒素除去能や抗菌性、石灰化誘導能を備えた多機能な歯科材料の創出が可能ではないか?』との問いに答えるべく本研究を計画した。



2. 研究の目的

本研究の目的は、有効成分を徐放し、外毒素を吸着除去可能なテーラーメイドな多機能型フィラーを創出することである。具体的には、ゼオライト骨格内に存在する陽イオン種を変化させ、抗菌効果をもつ Ag^+ や Zn^{2+} 、石灰化誘導が期待される Ca^{2+} などのイオンをもつゼオライトを調製する。また、ゼオライトは自身の骨格構造や骨格組成を変化させることで様々な吸着特性が発現できるため、口腔内細菌の産生する外毒素などを吸着除去する可能性も検討する。このように、ゼオライトを用い、イオンの徐放のみならず複数の作用をもつ機能性フィラーを設計し、患者および治療部位に適したテーラーメイドな陽イオン徐放型フィラーの創出を試みる。

3 . 研究の方法

1) ゼオライトフィラーの作製

使用するゼオライトは、手順の簡易性、実験の再現性を高めるために、市販のゼオライト粉末（中村超硬, Zeoal® 4A, 平均粒子径 300 nm）を使用した。ゼオライト粉末のイオン交換は、各種金属陽イオン含有水溶液を用いて行った。まず、購入した Na 型ゼオライトを 1 M の塩化カルシウム水溶液、硝酸銀水溶液、硫酸亜鉛水溶液に浸漬し、1 時間攪拌することでゼオライト内に存在する Na^+ を Ca^{2+} 、 Ag^+ 、 Zn^{2+} に変換した。続いて、得られた Ca 型ゼオライトに対して 0.1 ~ 1 M の硝酸銀または硫酸亜鉛水溶液に浸漬し、任意の時間攪拌することで電荷補償に使われている Ca^{2+} の一部を Ag^+ または Zn^{2+} へと変換した。得られたゼオライトの形状および結晶構造は、走査型電子顕微鏡（SEM）および X 線構造回折解析（XRD）等により分析する。イオン交換後のゼオライトに含まれる各種イオン含有量は、エネルギー分散型 X 線分析（EDS）および蛍光 X 線分析装置（XRF）により評価した。

2) コンポジットレジンの作製

まず、レジンとフィラーとして用いるゼオライトの親和性を高めるためにゼオライト粒子に対するシラン処理を行った。イオン交換を行った 4A 型ゼオライト 1 g に対し、 γ -MPTS（サーモフィッシャー）の濃度が 1 ~ 5 % になるように 95 w% エタノール水溶液を用いて希釈し、それらを混合し 1 時間攪拌したのち、定温恒温乾燥器で 60°C、1 時間乾燥させ、乳鉢にて粉碎し作製したのをシラン処理型ゼオライトフィラーとした。

次に、コンポジットレジンの作製を行った。まず、多官能性モノマーである Bis-GMA（ポリサイエンス）と TEGDMA（新中村化学）を 7 : 3 の重量比で混合し、光増感剤（CQ、0.5 wt%、富士フイルム和光純薬）、還元剤（DMAEMA、1 wt%、富士フイルム和光純薬）を加えることでマトリクスレジンと調製した。そのレジンに対してシラン処理を行ったゼオライトフィラーを混和することでコンポジットレジンと調製し、ゼオライトとレジンとの混合比の影響も検討した（各サンプルは $n=10$ とした）。

3) コンポジットレジンの機械的強度の測定

作製したコンポジットレジンの機械的強度を測定するため、試験片作製用金型（ $2 \times 2 \times 25 \text{ mm}$ ）に填入し、照射器（DC ブルーレックス）を用いて、照射域を 3 ブロックに分けて片面 10 秒ずつ照射し、硬化確認後、取り出し試料とした。試料はマトリクスレジンのみ、シラン未処理ゼオライト含有コンポジットレジン、シラン処理ゼオライトコンポジットレジンの 3 種類を用いた。曲げ試験は 3 点曲げ試験装置（EZ Graph、島津）を用いて、クロスヘッドスピードを 1 mm/min、荷重速度を 50 N/min、支点間距離 20 mm で測定した。

4) 統計分析

統計学的解析は SPSS 28.0（IBM, Armonk, NY, USA）を用いて行った。調製したコンポジットレジンの曲げ強度の多群間比較は Tukey の HSD を用い、統計的有意水準は 5% 未満とした。

4. 研究成果

1) ゼオライトフィルターの調製

使用した4Aゼオライトは電荷補償に Na^+ が使われており(Na型ゼオライト)この陽イオンをイオン交換法を用いて石灰化誘導が期待される Ca^{2+} や、抗菌効果をもつ Ag^+ 、 Zn^{2+} への変換を行った。1Mの塩化カルシウム水溶液、硝酸銀水溶液、硫酸亜鉛水溶液に4A型ゼオライトを浸漬したところ、1時間の浸漬でゼオライト内に含まれる Na^+ の大部分が交換され、それ以降の浸漬時間の延長(3, 6, 24時間)で陽イオン量に差はなかったことから、1時間のイオン交換によって得られたサンプルをCa型、Ag型、Zn型ゼオライトフィルターとした。次に、 Ca^{2+} をもち、 Ag^+ もしくは Zn^{2+} を含有するゼオライトを調製するため、イオン交換によって調製したCa型ゼオライトを0.1M~1Mの硝酸銀水溶液、もしくは硫酸亜鉛水溶液に10分~1時間浸漬することで

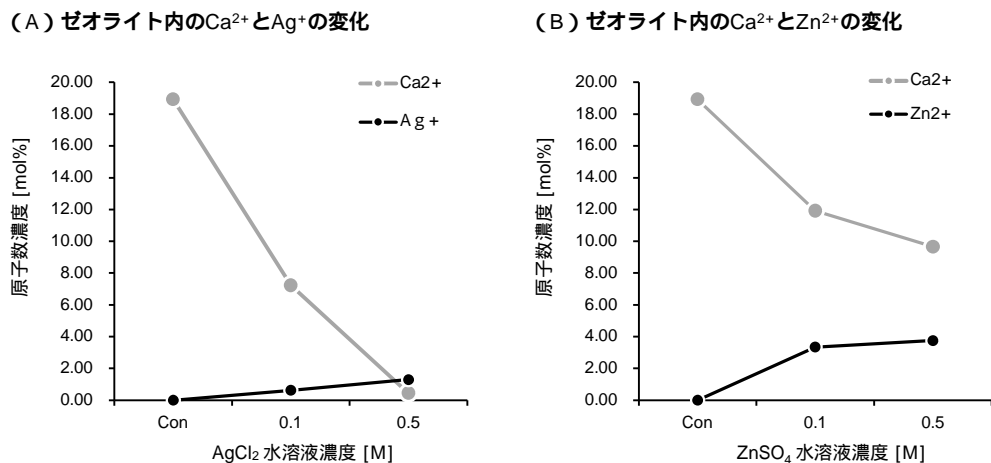


図2 イオン交換によるゼオライト内の陽イオン含有量の変化

陽イオン種割合の異なるサンプルを調製した。イオン交換時間を1時間と固定し水溶液濃度を変化させたところ、図2に示すように $\text{Ca}^{2+}/\text{Ag}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}/\text{Zn}^{2+}$ 比の異なるサンプルが調製でき、イオン交換条件を変化させることで任意のイオンの種類および量を含有するゼオライトサンプルが調製できることが明らかとなった。

2) コンポジットレジンの調製

ゼオライトをシラン化処理せずにレジンと混合した場合、均一に混合することができなかった。これは通常のフィルターは無孔質材料であるのに対し、ゼオライトは多孔質材料であるため、ゼオライト孔に液体成分が奪われ、レジンの液性が低下したためであると考えられた。そこで、ゼオライトとレジンの親和性を高めるためにゼオライト粒子表面に対するシラン化処理を行った。シランカップリング剤として γ -MPTSを使用し、ゼオライト1gに対して γ -MPTS濃度を1~5%となるように調整し、シラン化処理ゼオライトを合成した。このシラン化処理ゼオライトを用い、コンポジットレジン調製の際のゼオライトとマトリックスレジンの混合比の検討を行った。一般的にはフィルター:レジン=7:3程度のコンポジットレジンが使用されているが、今回はゼオライトとレジンの混合比を5:5としコンポジットレジンの作製を行った。調製したコンポジットレジン

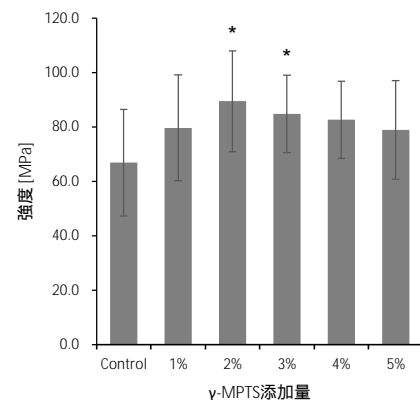


図3 作製したコンポジットレジンの曲げ試験結果

に対する曲げ試験の機械的強度を測定したところ、ゼオライトフィラーを含まないマトリクスレジンだけのサンプルをコントロールとして比較したところ、 γ -MPTS の濃度に関係なく、シラン処理したゼオライト含有コンポジットレジンにおいてその強度は高くなり、 γ -MPTS 濃度を 2 %で調製したサンプルで最も強度が高いゼオライトフィラー含有のコンポジットレジンの作製に成功した。

一方、JIS 規格に必要な数値は得られない試料もあった。これらは、シラン処理時間やゼオライトフィラー自身の機械的強度、試料作製における各々の含有量などが関わっていると考えられた。今後は、十分な強度が得られたコンポジットレジンを作製したのち、放出されるイオン種およびその量により、石灰化および抗菌作用が歯質に対してどのような効果があるのかも含めてさらなる検討も必要である。

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 Hiroshi Ishigure, Harumi Kawaki, Kohei Shintani, Kyohei Ueno, Masako Mizuno-Kamiya, Eiji Takayama, Masato Hotta, Nobuo Kondoh, Toru Nikaido	4. 巻 40
2. 論文標題 Effects of multi-components released from S-PRG filler on the activities of human dental pulp-derived stem cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 1329-1337
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2020-390	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 巽 勇介, 川木 晴美, 上野 恭平, 新谷 耕平, 梅村 直己, 神谷 真子, 高山 英次, 堀田 正人, 二階堂 徹, 近藤 信夫
2. 発表標題 陰イオン交換により作製した異なるホウ素濃度の S-PRG フィラー抽出液のヒト歯髓由来幹細胞への影響
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会(Web)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 巽 勇介, 川木 晴美, 上野 恭平, 新谷 耕平, 近藤 信夫, 堀田 正人, 二階堂 徹
2. 発表標題 低ホウ素濃度S-PRGフィラー抽出液がヒト歯髓由来幹細胞の動態に及ぼす影響 陰イオン交換材によるホウ素濃度の制御
3. 学会等名 特定非営利活動法人第135回日本歯科保存学会学術大会(web)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上野 恭平, 川木 晴美, 新谷 耕平, 巽 勇介, 堀田 正人, 二階堂 徹, 近藤 信夫
2. 発表標題 Sr2+量が異なる改変型S-PRGフィラー抽出液のヒト歯髓由来幹細胞に対する作用 ゼオライトによるSr2+濃度の制御
3. 学会等名 特定非営利活動法人第135回日本歯科保存学会学術大会(web)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上野 恭平, 川木 晴美, 巽 勇介, 新谷 耕平, 梅村 直己, 神谷 真子, 高山 英次, 堀田 正人, 二階堂 徹, 近藤 信夫
2. 発表標題 イオン交換材を用いた改変型S-PRGフィラー抽出液の評価
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会(Journal of Oral Biosciences Supplement)web
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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	奥山 克史 (OKUYAMA KATSUSHI) (00322818)	朝日大学・歯学部・准教授 (33703)	
研究分担者	川木 晴美 (KAWAKI HARUMI) (70513670)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	
研究分担者	上野 恭平 (UENO KYOHEI) (70837848)	朝日大学・歯学部・助教 (33703)	
研究分担者	玉置 幸道 (TAMAKI YUKIMICHI) (80197566)	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
---------	---------