

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 06 月 06 日現在

機関番号： 13101  
 研究種目： 基盤研究（C）  
 研究期間： 2010-2012  
 課題番号： 22592118  
 研究課題名（和文）： ケイ酸カルシウム系生体機能性セメントの開発とう蝕象牙質再石灰化能の探索  
 研究課題名（英文）： Development of the bio-calcium silicate cement and investigation on the remineralization of the caries dentin  
 研究代表者  
 児玉 臨麟 (Kodama Rinrin)  
 新潟大学・医歯学系・助教  
 研究者番号： 10272824

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、ケイ酸カルシウム系セメント材料の開発およびセメント材料の生体機能性についての基礎的研究を行った。結果として、この種の材料から、カルシウムやシリコンイオンの放出が確認され、また、これらイオンの放出によって、リン酸カルシウムの形成が確認された。さらに、健全象牙質やう蝕象牙質へのカルシウムイオンやシリコンイオンの取り込みも行われたため、これら材料による生体機能効果が確認された。

## 研究成果の概要（英文）：

This study demonstrated that calcium silicate base materials released Ca and silicon ions, formed Ca- and P-rich surface precipitates and caused the uptake of Ca and Si into human tooth dentin and caries dentin, all of which indicates their bioactivity. Thus, the degree of bioactivity may differ among the test materials tested, most probably due to the difference in the composition and Ca ion release.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：ケイ酸カルシウムセメント、生体機能性、う蝕、再石灰化、象牙質、耐酸性

1. 研究開始当初の背景

近年、ケイ酸カルシウム系セメントである

Mineral Trioxide Aggregate (MTA)が歯内療法用材料として注目されている。本材料の組成はポルトランドセメントに近似しており、直接覆髄、逆根管充填、髄床底・根管壁穿孔封鎖などの多彩な適応症を有するとともに、高い封鎖性を示すこと、適用部に新生硬組織の形成を伴う高い治癒率に期待できることが報告されている。

申請者らは、この MTA の生体機能性に着目して研究を継続的に実施しており、本材から放出されるカルシウムイオンが、蒸留水との接触により水酸化カルシウムを含む結晶が材料の表層に形成されることや、リン酸緩衝液との接触により、表層部にアパタイト様結晶構造を呈するリン酸カルシウムが形成されることを見いだしている。

これらの現象は、MTA が歯髄や歯根膜組織などに示す生体親和性や新生硬組織の形成に深く関与するものと想定している。

申請者らはこのケイ酸カルシウム系生体材料が歯の硬組織に何らかの生物的修復機能を示す可能性にも注目している。すなわち、上述したカルシウムイオン(Ca)放出能などの特性を利用し、う蝕による脱灰象牙質の再石灰化、あるいはカルシウム成分の歯質への取り込みによる健全象牙質の耐酸性向上などの機能を示すことも期待できると考えている。

一方、MTA には、カルシウムイオン放出量の経時的減少、放出イオンの単一性、放出による表層部の劣化を伴う物性の低下、さらには操作性に劣ることなど、いくつかの問題点が指摘される。また、本材料は、輸入にたより、極めて高価であることも臨床応用のみならず基礎的研究の支障となっている。

## 2. 研究の目的

本研究は、新規ケイ酸カルシウム系生体機能性歯科用セメントの創生を直接の目的とする。すなわち、ケイ酸カルシウムを主成分とする新規歯科用セメント材料を試作して、その理化学的性質を評価するとともに、う蝕象牙質の再石灰化、健全象牙質石灰化度の向上、さらには、歯髄における新生硬組織形成促進能力など、材料学的、生物学的の多方面にわたって、検討を行う。これら一連の材料開発並びに研究を通じて、う蝕とその関連疾患に対する新たな生物学的治療・予防法の構築の可能性について探索したい。

## 3. 研究の方法

### (1) 生物機能性を有するケイ酸カルシウム系セメントの試作

ケイ酸三カルシウム(3CaO・SiO<sub>2</sub>) / ケイ酸二カルシウム(2CaO・SiO<sub>2</sub>)を主成分とするセメントを試作する。また、カルシウムイオンの放出能を向上させ、放出を長期間維持するために他種カルシウム化合物の添加も検討する。さらに、試作セメントに多機能性を付与するため、フッ化物や抗菌成分の添加なども行う。

### (2) 試作セメントの有効成分の確認

分析電顕、イオンメーターを用いて試作セメントにおけるカルシウムイオンやフッ化物などの各有効成分の含有と放出を確認する。また、う蝕原因菌に対する抗菌性の確認も行う。

### (3) 試作セメントの理化学的性質の検討

分析機器、電子顕微鏡、万能引っ張り実験機などを用いて、試作セメントの強度、操作性、表面硬さ、吸水性、溶解性、表面と断面の微細構造、水和反応による材料の内部結晶と外部結晶の形成観察、さらに、セメントと歯質やその他の修復材料との接着性などについて検討する。

### (4) 試作セメントによるう蝕象牙質再石灰化や健全象牙質石灰化度向上の検討

人工う蝕歯、天然う蝕歯や健常象牙質 (*in vitro*, *in vivo*)を用いた実験を通じて、試作セメントから放出されるカルシウムイオンによるう蝕象牙質の再石灰化や健常象牙質石灰化度の向上のメカニズムを解明する。

(5) 試作材料による生体反応の解析

ラット臼歯に試作材料で直接覆髓を行い、その後の修復過程における新生硬組織形成細胞、硬組織関連タンパク、マクロファージ系細胞などの分布様式の経時的変動を免疫組織化学的に検索し、試作材料が歯髄修復促進機構を示すか否かを検証する。

4. 研究成果

(1) ケイ酸カルシウム材料の試作

研究期間中において、ケイ酸カルシウムセメント材料は、試作された(図1:試作材料の粉末のSEM像)。粉末の組成から、輸入品とほぼ変わらないものと考えられる。一方、臨床の見地から、操作性がよりよい材料が試作されたと思われる。

(2) 試作材料の確認テスト

試作セメント材料について、生体機能性、生体親和性、物性など理化学的性質、臨床使用を考慮した臨床操作性などについて、実験を行い、最終的に臨床的有用性が確認された。

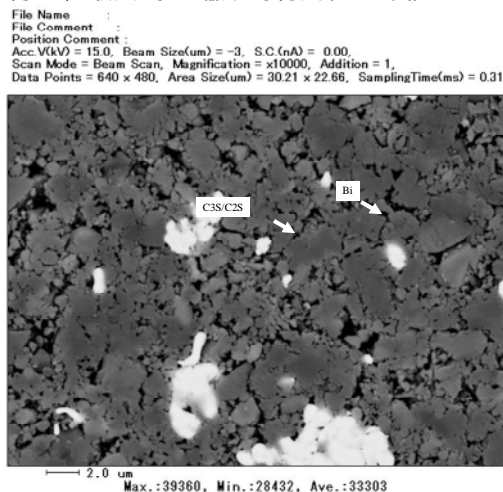


図1 試作材料の粉末電子顕微鏡像

(3) 試作セメントの生体機能性

まず、試作材料の生体的効果を確認した。

結果として、図2に示すように、試作材料においても、ケイ酸カルシウムセメントのカルシウムイオンの放出に基づき、リン酸カルシウムの結晶性析出物の形成が確認された。

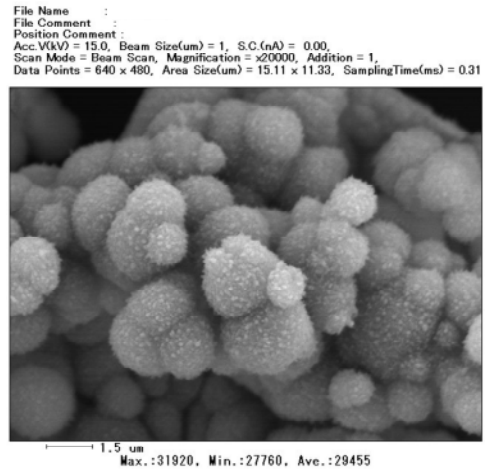


図2 ケイ酸カルシウムセメントからの析出物(リン酸カルシウム)のSEM観察像

また、ケイ酸カルシウムセメント材料は、水分の存在条件下でカルシウムイオンが多く放出し、しかも、リン酸イオンの存在条件下で、リン酸カルシウムの形成が旺盛に行われることが確認できた(図2)。そして、ヒト抜去歯の歯根や牛の歯の歯根を用いて、ケイ酸カルシウムセメントを充填し、擬態液に浸漬したところ、セメント-歯根象牙質界面において石灰化度の向上が確認された(図3)。これはセメントから放出されたカルシウムやシリコンイオンが周辺歯質に取り込まれ、歯質の石灰化に貢献したと思われる。

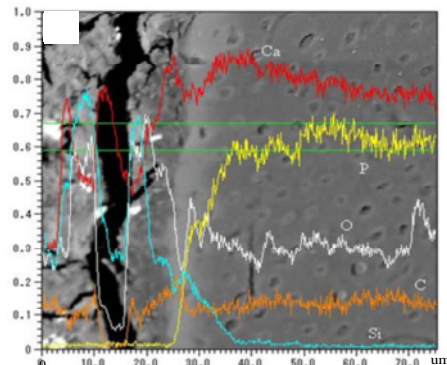


図3 ケイ酸カルシウムセメントによる象牙質石灰化促進(界面部明るい層は石灰化層)観察像

図3に示すように、象牙質 - セメント界面部において、ミネラル成分の向上層が確認された。また、界面部から深部象牙質に向かって、石灰化度の行進が認められた。

一方、この層について、果たしてう蝕抵抗性が獲得できるかについても、調査した。結果として、図4に示す様に、この石灰化度の向上した層は、耐酸性の強い層であることが確認された。

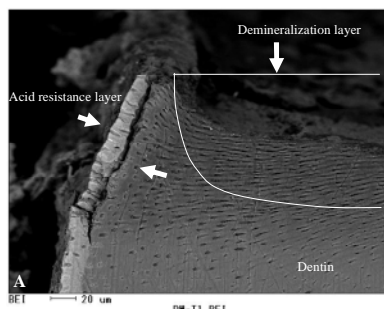


図4 ケイ酸カルシウムセメントによる歯質への影響：耐酸性の獲得（SEM；矢印）。

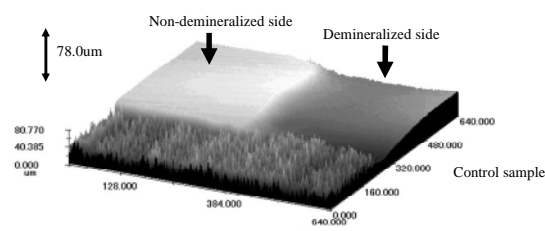


図5 ケイ酸カルシウムセメントによる歯質への影響：耐酸性の獲得（レーザー顕微鏡像）。

さらに、レーザー顕微鏡による確認したところ、ケイ酸カルシウムと接触した象牙質では、耐酸性層の形成が確認された（図5）

#### （4）動物実験の結果

試作セメントをラットの皮下に埋入し、入って期間を経過してから、試作材料の硬化試片を取り出し、顕微鏡や分析電顕による形状や含有元素の変化を観察した。結果として、試作材料は、生体組織に対し、生体親和性があること、材料周囲において、石灰化組織の形成が確認された。これらの結果から、試作

材料の生体への応用が可能であり、生体機能性が得られる見解である。

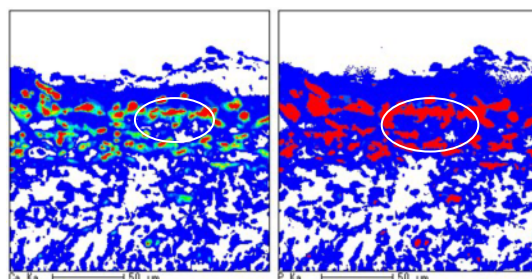


図6 円で囲んでいる部分はリン酸カルシウムの形成が行われたと思われる部分

以上の結果から、図4 - 5では、いずれの場合、ケイ酸カルシウム材料による象牙質面に生体機能的影響を与え、耐酸性の獲得が認められた。また、図6では、生体親和性や生体機能性などが実証されている。

本研究の結果として、試作材料は従来型のケイ酸カルシウム材料と同程度の性質を持ち、臨床的な有用性が求められた。

今後、さらに研究を発展していきたい。

#### 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11件)

- 1, Han L, Okiji T. Comparative bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. Inter Endod J, in press. 査読有り
- 2, Han L, Okiji T. Effects of a novel fluoride containing aluminocalciumsilicate-based tooth coating material (Nanoseal) on enamel and dentin. Am J Dent, in press. 査読有り
- 3, Okiji T: Pulp as a connective tissue. Seltzer and Bender's dental pulp, 2nd ed. (Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR eds.), 67-89, Quintessence, Chicago, 2012. 査読有り
- 4, 韓臨麟, 石崎裕子, 福島正義, 興地隆史: 試作フッ化物含有歯面コート材に関する研究 -

エナメル質,象牙質の表面性状に与える影響について. 日歯保存誌 55(1), 53-59, 2012. 査読有り

5, 興地隆史, 韓臨麟, 重谷佳見, 吉羽邦彦: MTA の理化学的・生物学的特性と臨床. 日歯内療誌 33(1): 3-13, 2012. 査読有り

6, 韓臨麟, 興地隆史: ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体機能性—表層析出物および象牙質界面の形態観察と元素分析—. 日歯内療誌 32(3), 162-168, 2011. 査読有り

7, Han L, Okiji T: Evaluation of the ions release/incorporation of the prototype S-PRG filler-containing endodontic sealer. Dent Mater J 30(6): 898-903, 2011. 査読有り

8, Han L, Okiji T: Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate-based endodontic materials into root canal dentine. Int Endod J 44(12), 1081-1087, 2011. 査読有り

9, 韓臨麟, 福島正義, 興地隆史: グラスアイオノマー系象牙質知覚過敏症抑制材に関する研究 - 象牙質への各種イオンの取り込み - ; 日歯保存誌 53, 502-507, 2010. 査読有り

10, 韓臨麟, 興地隆史: Mineral Trioxide Aggregate の生体機能性 —根管象牙質への元素の移行—; 日本歯内療法誌 31 (3), 200-204, 2010. 査読有り

11, Linlin HAN, Takashi OKIJI, Seigo OKAWA Morphological and chemical analysis of different precipitates on mineral trioxide aggregate immersed in different fluids, Dent Mater J 2010 (5), 512-517. 査読有り

[学会発表](計 24 件)

1, 韓臨麟: 歯髄保護に関わる各種材料の応用ポイント; 日本歯内療法学会関東甲信越支部 2013 年第 8 回ウインターセミナー; 20130127, 東京医科歯科大学

2, Linlin HAN, Takashi OKIJI. Dentin biomineralization by mineral ions eluted from

calcium silicate-based endodontic materials. JADR 60th, 12-14-15, 2012.

3, 韓臨麟, 興地隆史: ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体機能性 - 根管壁象牙質に及ぼす影響 -、第 22 回日本歯科医学会総会、大阪、2012, 11, 9-11.

4, 韓臨麟, 福島正義, 興地隆史: 重合方式がデュアルキュア型セルフアドヒーシブレジンセメントに及ぼす影響: アセトン浸漬による表面劣化、A17, 第 60 回理工学会、2012-10-13-14, 九州大学

5, 韓臨麟, 興地隆史: S-PRG filler 含有各種歯科材料の生体機能性, 界面機能性ガラス研究会 Ver 2, 松風, 京都, 2012 年 9 月 21 日.

6, 韓臨麟, 興地隆史: 新規フッ化物含有ナノシール材から歯質への元素の移行、136 回保存学会、PP126, P208, 沖縄, 12-07-28

7, 韓臨麟, 興地隆史: ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体機能性、招待講演、33 回歯内療法学会、pp35-36, 2012-06-16, 東京

8, 韓臨麟, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 武井絵梨花, 吉羽永子, 興地隆史: 試作 S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーの生体機能性について、33 回歯内療法学会、pp86, 2012-06-16, 東京

9, Han L, OKIJI T. Biomineralization Ability and Interaction of Calcium Silicate Cements with Root Canal Dentin in a Pseudo Body Fluid, PP 1027, 2012 Sino-Japan Dental Conference, Chengdu China, April 26-28, 2012.

10, 韓臨麟, 福島正義, 興地隆史: 重合方式の相違がレジンセメントとセラミック修復材の接着に及ぼす影響、第 30 回日本接着歯学会、ポスター、函館、2012, 1, 21-22.

11, 韓臨麟, 吉羽邦彦, 重谷佳見, 武井絵梨花, 吉羽永子, 興地隆史: S-PRG filler 含有試作根管充填用シーラーに関する研究—各種元素の根管壁象牙質と周囲結合組織への取り

込み— 第4回界面機能性ガラス研究会, 東京, 2011年11月25日.

12, Han L, Okiji T: Elemental incorporation of root canal dentin in contact with calcium silicate-based endodontic materials. 13th Joint-Scientific Meeting of KACD and JSCD, Seoul, Korea, November 11, 2011, J Korean Acad Conserv Dent 36 (Suppl 2): p.92, 2011.

13, Han L, Okiji T: Bioactivity of a prototype fluoride-containing tooth surface treatment material. 59th Annual Meeting of Japanese Association of Dental Research, Hiroshima, October 8-9, 2011, Program and Abstracts of Papers: p.21, 2011.

14, 韓臨麟, 興地隆史: ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体機能性—表層および象牙質界面の超微形態と元素分析—. 第32回日本歯内療法学会学術大会, 長崎, 2011年7月30-31日, プログラム・講演抄録集: 97頁, 2011.

15, 韓臨麟, 福島正義, 興地隆史: 試作フッ素系ナノシール材によるエナメル質, 象牙質の表面性状に与える影響. 日本歯科保存学会2011年度春季学術大会(第134回), 浦安, 2011年6月9日, プログラムおよび講演抄録集: 126頁, 2011.

16, Han L, Okiji T: Evaluation of ion releasing and uptake properties of a prototype S-PRG filler containing endodontic material. International Dental Materials Congress 2011, May 28-29, Seoul, Korea, 2011.

17, H. Ishizaki, L. Han, T. Okiji, M. Fukushima. Effect of drinks on flexural strength of flowable resins, IADR, Abstract ID: #132671, Barcelona, Spain, July 14-17, 2010.

18, L. HAN, T. OKIJI: Biomineralization Ability of Two Calcium Silicate-based Endodontic Materials; JADR, 2010-11-20-21, 北九州

(図書)(計7件)

1, 韓臨麟, 興地隆史: エナメル質亀裂への対応. 高齢者にやさしい歯冠修復・補綴治療 Biocompatibility (生体調和性)に基づいた対応(高橋英登 編著), 日本歯科評論別冊, 77-84頁, ヒョーロン・パブリッシャーズ, 東京, 2011. 178ページ

2, Han L, Fukushima M: At the forefront illustrated topics in dental research and clinical practice. Qunitessence 16: The effect of dental whitening on the tooth surface, P65-68, Qunitessence Publishing Co, Inc, Tokyo, 2012. 98ページ

3, Okiji T: Pulp as a connective tissue. Hargreaves K, Goodis H eds. Seltzer and Bender's dental pulp, 2nd ed, Quintessence, Chicago, in press.

4, 興地隆史(分担執筆): 田上順次, 千田彰, 奈良陽一郎, 桃井保子監修, 保存修復学 21, 第4版: 永末書店, 京都, 2011. 330ページ

5, Okiji T: Pulp as a connective tissue. Seltzer and Bender's dental pulp, 2nd ed. (Hargreaves KM, Goodis HE, Tay FR eds.), 67-89, Quintessence, Chicago, 2012. 446ページ

6, 興地隆史: 根管処置. 歯内治療学 第4版(中村洋, 須田英明, 勝海一郎, 興地隆史編), 127-146頁, 医歯薬出版, 東京, 2012.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

児玉 臨麟 (KODAMA RINRIN)  
新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号: 10272824

### (2)研究分担者

興地 隆史 (OKIJI TAKASHI)  
新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号: 80204098

連携研究者

なし