

## 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 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791849

研究課題名（和文） 弱酸性次亜塩素酸水を用いた新規歯牙漂白材の開発とその評価

研究課題名（英文） The development of new tooth bleaching materials using the HClO solution (Campher™) and the evaluation

研究代表者

西村 知子 (NISHIMURA TOMOKO)

神奈川歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：70367259

研究成果の概要(和文):

高濃度の過酸化水素を用いるウォーキングブリーチや生活歯の Office Bleaching はエナメル質脱灰や歯周組織傷害性が問題視され、より安全性の高い漂白材が望まれている。カンファスイのバイタルブリーチングへの臨床応用を検討するために有効塩素濃度および歯周組織に対する細胞障害性を検討した。細胞障害性試験供試液としてカンファスイ (pH6.5) を使用し、歯肉上皮細胞と歯肉線維芽細胞に対する細胞障害性を測定した結果、歯周組織に対する障害性は認められなかった。増粘材による有効塩素濃度維持の検討を行った結果、アルミナおよびガラスでは残留塩素濃度の低下は認められなかったものの経時的に沈殿が認められた。HAP はカンファスイとの混和によりクリーム状となり、180 分経過後も残留有効塩素濃度の低下は認められなかった。これらの結果より、カンファスイは安全で、かつ HAP を添加することにより臨床応用が可能であることが示唆された。漂白材が歯面に対する影響を検討するため、カンファスイおよび 35% $H_2O_2$  のエナメル質および象牙質の微小硬さ試験を行った結果、カンファスイは象牙質表面の硬さを減少させるがエナメル質にはなんら影響を及ぼさないことが示唆され、これよりカンファスイはウォーキングブリーチ法への適応は適切でなく、vital bleaching に適した漂白材といえる。また、根面が露出した状態での漂白にも不適切であると言える。また漂白効果については以前表面の着色に対して確実に漂白効果が認められたが、変色歯に対しての漂白効果はさほど効果が認められなかった。これより象牙質の変色が強いもの、および細管の走行が不規則になっている歯に対してあまり効果は期待できないと思われる。ただ、入手が困難であるため今回は新鮮抜去歯を用いての漂白実験が出来なかった。今後臨床を見据えたヒト新鮮抜去歯での実験が必要であると思われる。

研究成果の概要(英文):

The conventional method of teeth whitening, office bleaching, uses high concentrations of hydrogen peroxide. The objective of this study was Application for the vital bleaching of HClO solution. Both pH 6.5 Campher™ were examined Effective chlorine density and biocompatibility. The growth of oral epithelial cells and fibroblast cells were not affected by Campher™. Campher™ with HAP residual chlorine density was not found a decrease. It was suggested that clinical application was possible by perception Campher™ was safer and adding HAP as a result of these. Dentin and Enamel treated by Campher™ and 35% $H_2O_2$  for 1 hour. Microhardness was measured at surface. A decrease in microhardness was found at dentin treated by both agent and enamel treated by 35% $H_2O_2$ . Perception Campher™ decreased hardness of the dentin surface, but it was suggested was not found a decrease on the enamel. As for perception Campher™, the adaptation to the walking bleach method is not appropriate than this

and bleaching materials suitable for vital bleaching. In addition, a bleaching effect was accepted for the stained surface about the bleaching effect, but, as for the bleaching effect for the tooth discolouration, an effect was not accepted. The bleaching experiment using the fresh withdrawal tooth was not made have difficulty in acquisition this time. The experiment by the human fresh extracted tooth is necessary.

#### 交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,100,000	330,000	1,430,000

#### 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:歯牙漂白・次亜塩素酸水

##### 1. 研究開始当初の背景

歯科治療に審美的要求が求められ歯牙漂白を希望する患者層が増加している。従来は、国内で使用される生活歯漂白剤は高濃度の30%過酸化水素水を用いる方法のみであったが、過酸化尿素を用いる方法や低濃度過酸化水素水、家庭で使用するホームブリーチング法、さらには二酸化チタンの光触媒技術を応用した安全性の高いオフィスブリーチング法などの多製品が使用されるようになった(参考文献1)。生活歯の漂白メカニズムの詳細はいまだに解明されていないが、さまざまな仮説が学会で報告されている。申請者も種々の生活歯漂白法がエナメル質に与える影響を形態学的側面から、また歯髄への過酸化水素の影響を元素分析的側面から検索してきた。その結果、高濃度過酸化水素水を用いた漂白方法は、エナメル質表層に脱灰を惹起しエナメル質に損傷を与えることを報告した。(第119回日本歯科保存学会)

弱酸性次亜塩素酸(HClO)は、最近では齶蝕や歯周病予防薬として注目されているパーフェクトペリオ<sup>®</sup>にも使用されており、多形核白血球の異物(細菌)処理作用時に産生され、作用後は生体内に残留しないことから生体親和性を有する分子として食品衛生管理等への応用が期待されている。弱酸性次亜塩素酸水溶液(カンファ水; (株)ハセツパー技研)は次亜塩素酸ナトリウムと希

塩酸との希釈混合水溶液としてHClOを80%以上含有する殺菌剤として平成14年6月に食品添加物として認定された。カンファ水中の全遊離有効塩素に占めるHClOの比率はpH4.5で100%を示すが、pH6.7~7.0においても80%を維持し、室温で33日間保管後も遊離有効塩素濃度減少率は約15%と非常に安定性を示す水溶液である。さらに、カンファ水は細菌から産生されるアンモニアをジクロラミンに換えることにより消臭効果を発揮する。カンファ水の最大の特徴は、弱酸性で細胞障害性が低くさらに、微生物や有機質に接触したHClOはH<sub>2</sub>Oに分解されるため生体に対して極めて安全性が高い(参考文献2)。さらに、カンファ水は歯牙漂白メカニズムに密接に関与すると考えられている活性酸素のDMPOXとDMPOX以外の未知の活性酸素が検出されていることから漂白剤としての応用が期待されている。

参考文献1. 可視光で反応するTiO<sub>2</sub>を含む漂白材(Pyrenees<sup>®</sup>)による生活歯の漂白効果; 平林正道, 岡田周策, 鈴木二郎, 西村知子, 寺中敏夫, 石橋卓郎, 石橋浩造, 吉沢忠夫, 近藤治; 日歯保存誌 32-44, 2007  
参考文献2. 石井信之, 浜田信城, 渡辺清子: 弱酸性次亜塩素酸水溶液(カンファ水)

の歯内療法領域への応用に関する基礎的研究；日歯内療誌，29：26-29，2008

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、**弱酸性次亜塩素酸水溶液**を用いた**安全で漂白効果の高い生活歯**に対する漂白材を開発することである。

現在までの申請者の研究により、35%過酸化水素をエナメル質表面に1時間作用させたところビッカース硬さが約10%減少したことにに対し、同様にカンファ水をさせたところ同値の減少は、0%であることが確認された。この結果は、エナメル質漂白において過酸化水素と比較して歯質への傷害性がないことが明らかにされた。また、漂白効果に関しても肉眼で認識できる色差が認められた。これについては第129回日本歯科保存学会にて結果報告を行った。



	エナメル質 (1h)	象牙質 (24h)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	22.7±6.18	50.9±5.65
カンファ水	5.9±6.91	67.3±3.38

Percentage of Microhardnessloss (%) (n=3)  
Significantly difference (p<0.05)

漂白のメカニズムに活性酸素が関与していることが示唆されているが、漂白効果と活性酸素量を解析した報告はない。弱酸性次亜塩素酸水溶液と二酸化チタンはともに活性酸素を産生し、さらに二酸化チタンは漂白に応用されつつある。しかしながら、十分な漂白効果を得るにはいたっていない。本研究期間において、漂白メカニズムの解析を活性酸素に焦点を絞り、漂白効果との相関関係を解析する。さらに、細胞毒性が低く漂白効果が高い漂白剤の開発のために、弱酸性次亜塩素酸水と酸化チタンを融合させることにより生活歯に対する効果的漂白材を開発することを目的とする。

## 3. 研究の方法

### ①細胞障害性試験

供試液としてカンファスイ (pH6.5) を使用し、歯肉上皮細胞と歯肉線維芽細胞に

対する細胞障害性を測定した。歯肉上皮細胞および歯肉線維芽細胞は埋伏抜歯手術時のヒト歯周組織から分離し、それぞれ継代培養を行い4~7代の細胞を使用した。歯肉上皮細胞は正常ヒト上皮角化細胞増殖培地 (KGM, 三光純薬)、歯肉線維芽細胞は10% FBS 添加の DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, 日水) を用い、37°C で培養した。

細胞障害性の測定は 1x10<sup>5</sup> cells/ml に調整した歯肉線維芽細胞および歯肉上皮細胞を 100 μl、96well microtiter plate に播種し (1x10<sup>4</sup> cells/well)、48 時間培養してコンフルエントに増殖させた後、カンファスイを最終濃度

1.0, 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001% となるように添加し、さらに 24 時間培養した。培養終了後細胞生存率の指標となる生細胞中の酵素活性を CellTiter96 AQ Non-Radioactive Cell proliferation Assay (Promega) にて測定し、無刺激時の活性を 100% とする細胞生存率 (% Viability) を求めた。

### ②漂白効果の測定

紅茶 (BROOKE BOND HOUSE, BROOKE BOND) 10g を 1 時間煮出して抽出した紅茶液に 48 時間ヒト抜去上顎中切歯を浸漬させて着色歯を作製し、歯冠部切縁側 2/3 を 37°C の湿潤環境で 12 時間漂白処理を行った後、Cervical, Body, Incisal の 3 部位の漂白効果を測定した。漂白効果の測定はシェードテイキング用デジタル測定器 (クリスタルアイ; ペントロンジャパン) を使用して各試料、各部位の処理前後の色差を計測した。

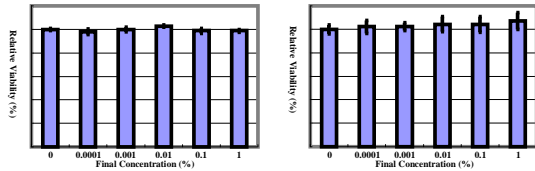
### ③増粘材による有効塩素濃度維持の検討

アルミナ系シリカ (松風)、ガラスビーズ (松風)、ハイドロキシアパタイト (HAP-100; 太平化学産業) を選択し、カンファスイに適度な粘性を有するまで混和した。調整した試作漂白材は混和後 15、30 分、60、90、120、180 分後の残留塩素濃度を測定した。

## 4. 研究成果

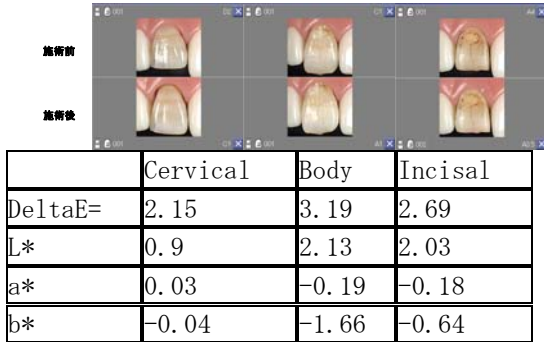
### ①細胞障害性試験

カンファスイのヒト歯肉線維芽細胞およびヒト歯肉線維芽細胞に対する細胞障害性はカンファスイ未添加群との間に有意差はなく歯周組織に対する障害性は認められなかった。



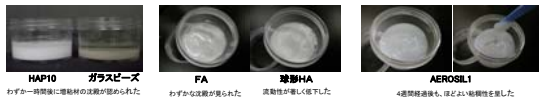
### ②漂白効果の測定

増粘材 3g 添加のカンファスイを漂白材として漂白効果を測定した結果、抜去歯への漂白効果は全ての実験対象歯においてL値(明度)の上昇が認められた。

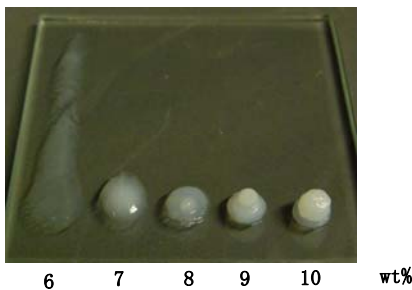


### ③増粘材による有効塩素濃度維持の検討

増粘化による残留塩素濃度の解析した結果、100ml のカンファスイに 4g 以上の増粘材を加えると 24 時間以内に残留塩素濃度が急激に低下することが明らかにされた。増粘材 3g 添加においては、添加後 24 時間においても 200ppm の有効塩素濃度が維持されることが示された。

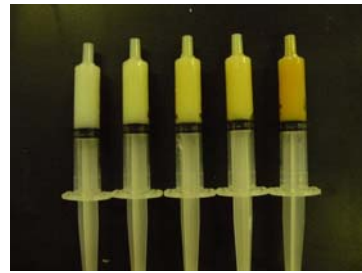


### ・ AEROSIL 粘稠度試験



ガラスプレートに各濃度をシリンジにて 0.3 ml ずつ滴下し、プレートを垂直に立てた状態で1分間放置後、8wt%以下では流動が見られた。

・ 残留塩素濃度比較色



0 20 50 100 200 ppm

カンファスイの有効塩素濃度は200 ppm であるが、全ての試料で長期保管後の残留塩素濃度200 ppm が保たれた。

### <まとめ>

カンファ水は確実な漂白効果があり、漂白後のエナメル質表面の硬さの変化が認められないため vital bleaching に適した漂白材であるといえる。

カンファスイは歯肉上皮細胞および歯肉線維細胞に対して細胞障害性が認められないことから、歯周組織に対してきわめて安全性の高い漂白材であることが示された。さらに臨床応用時に必要なゲル化材として HAP 粉末は有効塩素濃度を維持させることが示された。

臨床応用に適した漂白材の粘性と、残留塩素濃度より 100ml のカンファスイに対して 3g の増粘材を添加するのが最も有効であり、明らかな漂白効果が認められた。増粘化カンファスイは経時的に残留塩素濃度が低下し、48 時間以上の有効塩素濃度は漂白効果が認められないことが示されたため、漂白施術直前にカンファスイに増粘材を添加する方法が有効と考えられた。残留塩素濃度低下はカンファスイと増粘材との化学反応によることが示唆されたため塩素と反応しない増粘材の応用によって簡便で長期保存可能な漂白材が使用可能になると考えられた。

カンファスイの漂白効果および安全性が確立されたため、実際の口腔内での臨床実験が必要と思われる。しかしその前に、新鮮抜去歯をもっと多数用いての実験が必要と思われる。

問題点；やはり最近では健全な前歯の抜去歯の数がかなり少なく、倫理上の問題もあり基礎実験の域を脱するにはまだまだ時間が必要である。

### 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2件）

①西村知子, 平林正道, 鈴木二郎, 尾本直大, 岡田周策, 寺中敏夫、可視光で反応する二酸化チタンの歯科への応用—エナメル質表面への影響—、日本歯科保存学雑誌、査読有、54巻、2011、81-87

②西村知子、可視光で反応する二酸化チタンの歯科への応用—低濃度過酸化水素水と併用する歯の漂白材の臨床治験とエナメル質に及ぼす影響—、神奈川歯科大学学会誌、査読有、46巻、2011、86-93

〔学会発表〕（計3件）

①西村知子, 青柳佳伸, 岡田周策, 寺中敏夫, 石井信之、弱酸性次亜塩素酸水溶液(カンファスイ)のバイタルブリーチングへの応用、第130回日本歯科保存学会学術大会

②西村知子, 渡辺清子, 岡田周策, 寺中敏夫, 浜田信城, 石井信之、弱酸性次亜塩素酸水溶液のバイタルブリーチングへの応用 有効塩素濃度の保持と生体親和性について、第131回日本歯科保存学会学術大会

③西村知子, 田中隆博, 寺中敏夫, 石井信之：歯牙漂白後の機械的清掃によるエナメル質表面構造の解析。2011年神奈川歯科大学学内学会

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

(1)研究代表者

西村 知子 (NISHIMURA TOMOKO)  
神奈川歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号：70367259

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：