

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592878

研究課題名(和文)再石灰化能を有する象牙質知覚過敏症治療剤の長期耐久性への挑戦

研究課題名(英文)Challenge to long-term durability of the material for dentin hypersensitivity with a remineralization ability

研究代表者

奥山 克史 (OKUYAMA, Katsushi)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：00322818

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：う蝕抑制効果を期待した象牙質知覚過敏症治療剤の、再石灰化効果の長期持続性について検討した。その結果、フッ化物含有歯面塗布材は多くのフッ素溶出を認めた。また、材料を任意の期間適用後除去し、口腔内の環境に4週間作用させたところ、これまでの材料よりも少ない象牙質脱灰量と高い歯質のフッ素濃度を示し、材料の適用期間が長いほどより高いフッ素濃度を示した。さらに実験に使用された歯の試料を水酸化カリウムで処理することで、歯質に取り込まれたフッ素を分析でき、歯質と結合しているフッ素と結合していないフッ素が存在することが確認された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research was to evaluate long-term durability of remineralization by materials for dentin hypersensitivity, which was expected the caries prevention effect. Large amount of fluoride release from fluoride-containing tooth paint material was shown in this study. Materials were applied to dentin surface for some periods. After then they were removed from dentin, and then samples were placed into oral environment for 4 weeks. Less demineralization and more fluoride concentration into dentin from fluoride-containing tooth paint materials were indicated than that of current materials. The higher fluoride concentration was shown longer application period. The fluoride bound or no-bound tooth was found by KOH (potassium hydroxide) treatment to tooth sample.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学

キーワード：象牙質知覚過敏症 う蝕抑制効果 再石灰化 フッ素

1. 研究開始当初の背景

患者の高齢化や歯周治療の進歩・普及による歯の寿命の延長などから、歯科治療の必要性はいまだ減少していない。特に歯根面の露出が多く見られてきたことから、象牙質知覚過敏症も増加している。この疾患に対する治療法として、露出した象牙細管開口部を封鎖することが提唱されており、それに対する歯科材料も出ている。従来の製品は細管の封鎖を主な目的としていたが、最近ではさらに歯質の再石灰化、う蝕予防を期待して、フッ化物徐放性を持たせた製品が出てきて注目されている。

我々はこれまで、フッ化物によるう蝕予防効果に着目し、予防効果も兼ねたしかも簡便で患者の負担が少ない根面う蝕治療法の開発に取り組み、実際の口腔内で生じている、脱灰・再石灰化の繰り返しをシミュレートする pH サイクリングを導入した実験系により、根面う蝕に対するフッ化物含有材料によるう蝕進行抑制効果を検討してきた。(Okuyama et al. Oper Dent 31(1), 135-142. 2006, 奥山ら日歯保存誌 42(1):62-71, 1999) 本実験法により、他の実験では明らかにならなかった、フッ化物含有材料間のう蝕進行抑制効果の相違を明確にすることを可能にし、根面う蝕治療に用いるべき修復材料選択の指標が与えられる利点を有している。そして、う蝕抑制効果の相違は、う蝕部の再石灰化層の有無として観察され、再石灰化過程の重要性も示された。さらに同じ教室の Matsuda らによって、この pH サイクルを自動化させることを可能にし (Matsuda et al. Dent Mater J 25, 280-285, 2006) 口腔内環境のシミュレートがより効率よく行えるようになった。

自動 pH サイクル装置を用いたフッ化物含有歯科材料のう蝕抑制効果について、従来からのマイクロラジオグラフィによるミネラルロス指標に検討を加え、さらにう蝕の進行に伴う歯質のフッ素濃度変化を把握するために、高崎量子応用研究所に設置されている PIXE/PIGE 装置を利用してきた。この装置は加速した陽子を試料に衝突させ、フッ素原子核反応で発生した γ 線 (PIGE) と各元素 (カルシウムなど) から発生する特性 X 線 (PIXE) を基に定量測定が可能である。その結果、ガラスアイオノマーセメントと接する窩壁のフッ素濃度の増加や pH サイクル期間の延長に伴うう蝕部のフッ素濃度の上昇を確認して

いる。(Komatsu et al. Nucl. Instr. and Meth. B 267, 2136-2139, 2009)

さらに研究代表者は「根面保持性を有する再石灰化促進材の研究」ということで、上記材料を含む根面塗布材の性質、再石灰化能に関する検討を行ってきた。その結果材料に隣接する象牙質に対して、高い石灰化度を有する層が認められ、材料のう蝕抑制効果を期待させる結果が導かれた。しかし、これらの材料が根面に保持される期間は明らかではない。長期にわたって保持されることが可能であれば、よりう蝕抑制効果が期待できるはずである。

材料の長期間保持のために、歯、特に象牙質との接着性能の向上が必須である。当教室では象牙質とコンポジットレジンとの接着において、白金ナノコロイドを応用させて、その結果接着力の向上を認めている (Nagano et al. Biomed Mater Eng.;19(2-3):249-57. 2009)。このような作用を活用することによって、より長期にわたって材料が維持されることが期待できるものと思われる。

2. 研究の目的

- (1) 根面塗布材より徐放されるフッ素溶出量を測定するとともに、う蝕のできやすい環境において歯質へ適用したときのフッ素濃度の分布を PIGE で観察し、フッ素量との関連を解析する。
- (2) 根面塗布材の象牙質に対する接着状態を観察し、白金ナノコロイドなど接着力を促進する物質を添加した際の接着状態の変化を評価する。
- (3) 白金ナノコロイド等の接着促進物質を応用した際における、材料のフッ素の動態などを評価する。

3. 研究の方法

- (1) 薄型試料からのフッ素溶出量の検討
これまで厚みのあるモールドに材料を充填したものを測定試料として使用していたが、使用材料は実際には歯面に薄く塗布して用いる。そのためより現状に近づけるため、厚みの小さい測定試料を製作した後フッ化物溶出の測定を行った。使用した材料はフッ化物徐放性のある根面塗布剤 (Clinpro XT Varnish: CL; 3M ESPE)、フッ化物含有ボンディング材 (Bond Force: BF; Tokuyama Dental)、ガラスアイオノマーセメント2種 (Fuji fil LC: FL; GC, Fuji IX: FN; GC) である。それぞれの材料に

ついて、直径9mm、高さ3mmのプラスチックモールドおよび厚さ250 μ mのテープを貼り付けたガラス板上に充填することで試料を作製し、8ml脱イオン水に保存した。1日後、それぞれの試料を8ml保存溶液に追加する形で2ml脱イオン水で洗浄し、別の8ml脱イオン水に保存した。試料を交換された溶液(8ml+2ml)のうち3mlはフッ素イオン測定用に供された。フッ素イオン濃度は採取した3ml保存溶液に0.3mlTISAB III(イオン強化液)を追加したものを、フッ素イオン電極を接続したイオンメーターで測定した。フッ素濃度は24時間毎に測定した。試料作製21日後、0.21%NaF溶液(1000ppmF)に各試料を5分間浸漬後30秒間流水で洗浄し、再び8ml脱イオン水に保存した。

(2) 材料除去後における象牙質再石灰化効果について

申請時当初の予定では、知覚過敏症治療材が、より長期的に渡り歯面に接着させる(密着させる)ことを一つの目的としていた。コンポジットレジンと象牙質との接着に有用とされる白金ナノコロイドを作用させ、知覚過敏治療に使用されているいくつかの市販製品で、象牙質との接着状態を確認してみたが、白金ナノコロイド使用の有無による差は認められず、わずかの期間で脱落することがほとんどであった。そこで、知覚過敏症に用いられる材料は、ある期間で脱落することが当然であると、材料塗布後(脱落后)いかに長期にわたり、再石灰化能を持続させられるかということを目的にして、研究を進めることにした。

フッ化物含有歯面塗布剤2種(CTX2 vernish: CTX; Oral biotech, MI vernish: MI; GC)とガラスアイオノマーセメント(Fuji III: F3; GC)である。コントロールとして材料を塗布しない群(NO)を設定した。各材料を象牙質面に塗布し、24時間後に除去した。材料が除去された象牙質試料を脱灰・再石灰化を自動で繰り返すpHサイクリング装置に4週間供した。その後コンタクトマイクロラジオグラフによる分析から、各試料の脱灰量を計測した。また高崎量子応用研究所所有のPIXE/PIGE装置で、象牙質中のフッ素分布を分析した。

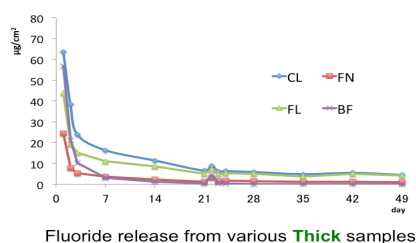
(3) 材料より徐放されるフッ素の結合状態の分析 フッ化物含有歯面塗布剤2種(Clinpro XT Varnish: CL; 3M ESPE, PRGバリアコート:

PR; 松風)とガラスアイオノマーセメント(Fuji IX: FN; GC)である。コントロールとしてフッ素を含まないボンディング材(クリアフィルムメガボンド: MB; クラレメディカル)を使用した。各材料を象牙質面に塗布し、1日後および7日後に除去した。材料が除去された象牙質試料を若狭湾エネルギー研究センター研究所所有PIXE/PIGE装置で、象牙質中のフッ素分布を分析した。さらに試料を1MKOHに24時間浸漬振盪後、同一部位のフッ素量を計測することで、歯質と結合しているフッ素量を検討した。

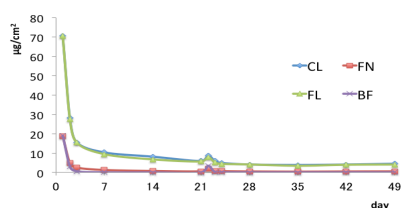
4. 研究成果

(1) フッ素溶出量について

厚い試料および薄い試料からのフッ素溶出量の変化を図1に、試料作製21日目(フッ素溶液浸漬前)および22日目(フッ素溶液浸漬1日後)のフッ素溶出量を図2に示す。

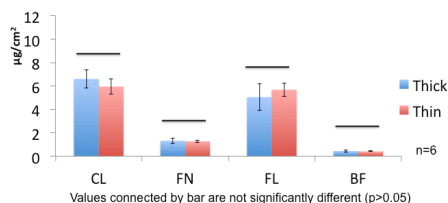


Fluoride release from various **Thick** samples

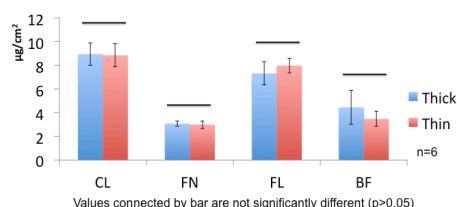


Fluoride release from various **Thin** samples

図1: フッ素溶出量の変化



Daily fluoride release at **21-day** (before NaF immersion)



Daily fluoride release at **22-day** (1 day after NaF immersion)

図2: 21日目および22日目のフッ素溶出量

いずれの材料において、試料の厚みによるフッ素溶出量の相違は認めなかった。また、試料の形状にかかわらず、フッ素溶液浸漬後は

高いフッ素溶出量を認めた。さらに CL と FL は他の材料よりも高いフッ素溶出を示した。フッ素溶出の観点から、フッ化物含有根面塗布材はう蝕予防に有効と思われる。

(2) 材料による象牙質再石灰化効果およびフッ素の浸透

図 3 に pH サイクル後の象牙質脱灰量を、図 4 に材料除去後 pH サイクル処置前後におけるフッ素濃度を示す。

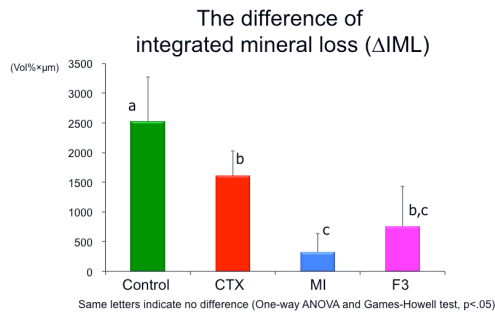


図 3 : pH サイクル後の象牙質脱灰変化量

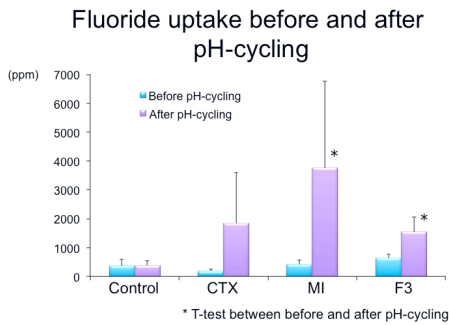


図 4 : pH サイクル前後のフッ素濃度

図 3 よりフッ化物含有材料はコントロールよりも有意に少ない脱灰量を示した。図 4 より pH サイクル後に MI と F3 でサイクル前よりも高いフッ素濃度を示し、また、材料間の比較では pH サイクル後において、コントロールよりも有意に高いフッ素濃度を示し、材料によるう蝕抑制効果が最低でも 4 週間は持続することが考えられる。このことから、フッ化物含有歯面塗布剤の象牙質への適用は、う蝕進行予防の面からも有用であることが示唆された。

(3) フッ素の結合状態の分析

図 5 に材料適用 1 日間および 7 日間の象牙質表層および 50 μ m 下における KOH 処理前後のフッ素濃度を示す。

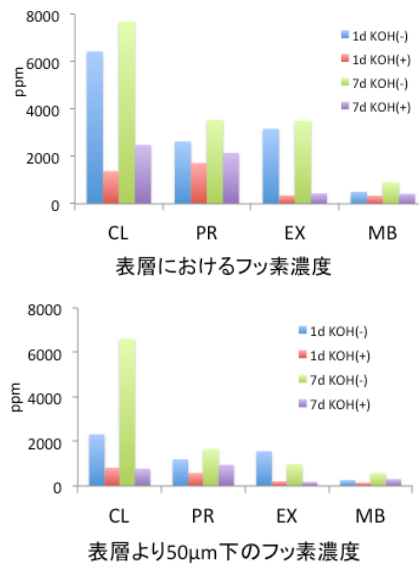


図 5 : KOH 処理前後のフッ素濃度

フッ化物含有材料である CL, PR, EX はフッ化物を含まない MB よりも高いフッ素濃度を示した。また、材料を適用 1 日後除去した群と比べ、7 日後に除去した群が高いフッ素濃度を示した。このことから、材料が象牙質面に保持されている期間が長いと、歯質のフッ素濃度が高くなることが示唆された。

また KOH 処理後は処理前よりも小さいフッ素濃度を示したが、減少の程度などは材料により異なっていた。材料から取り込まれたフッ化物は全て歯質に結合するわけではなく、結合して CaF₂ となったフッ素だけでなく、結合に関与しないフッ素イオンも歯質再石灰化に関与していることが考えられる。これらについてはさらに詳細の検討が必要と考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Okuyama K (1 番目), Yamamoto H (2 番目), Komatsu H (3 番目), 計 12 名. (2014) Measurement of fluoride distribution in root dentin under fluoride-containing coating materials. JAEA Takasaki Annual Report 2012 JAEA-Review 2013-059: 89. 査読有
- ② 奥山克史, 山本洋子, 小松久憲, 安田啓介, 能町正治, 菅谷頼仁, 佐藤隆博, 江夏昌志 (2013) フッ化物含有歯磨剤およびフッ素洗口における歯質へのフッ素取り込み. 若狭湾エネルギー研究センター研究年報 (平成 24 年度) 15 : 33-34 査読無
- ③ 奥山克史, 小松久憲, 山本洋子, 安田啓介, 能町正治, 菅谷頼仁 (2013) PIXE/PIGE 用フッ素標準試料の評価. 若

狭湾エネルギー研究センター研究年報
(平成24年度) 15:42 査読無

- ④ Komatsu H (1 番目), Okuyama K (5 番目), Yamamoto H (6 番目), 計 12 名.
(2013) Comparison of two fluoride regimens on fluorine uptake in carious enamel during pH-cycling. JAEA Takasaki Annual Report 2011 JAEA-Review 2012-046: 82. 査読有
- ⑤ Komatsu H (1 番目), Okuyama K (6 番目), Yamamoto H (7 番目), 計 13 名.
(2012) Measurement of fluorine distribution in carious enamel around 1.5-year aged fluoride-containing materials. JAEA Takasaki Annual Report 2010 JAEA-Review 2011-043: 85. 査読有
- ⑥ 小島健太郎, 小松久憲 (2 番目), 奥山克史 (6 番目), (2012) フッ化物含有材料におけるう蝕抑制効果の長期的評価。日本歯科保存学雑誌 55(1): 10-21 査読有
- ⑦ Komatsu H (1 番目), Yamamoto H (2 番目), Matsuda Y, Kijimura T, Kinugawa M, Okuyama K (6 番目), 計 10 名. (2011) Fluorine analysis of human enamel around fluoride-containing materials under different pH-cycling by μ -PIGE/PIXE system. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 269(20): 2274-2277 査読有
- ⑧ Iwami Y, Yamamoto H, Hayashi M, Ebisu S: Relationship between laser fluorescence and bacterial invasion in arrested dentinal carious lesions. Lasers in Medical Science 26, 439-444, 2011. 査読有
- ⑨ Yamamoto H, Iwami Y, Ebisu S, Komatsu H, Nomachi M, Sugaya Y, Yasuda K: Fluoride uptake into human teeth from a fluoride-releasing thin layer after a long period of filling. International Journal of PIXE 21, 31-38, 2011. 査読有
- ⑩ Yasuda K, Nomachi M, Sugaya Y, Yamamoto H, Komatsu H: Progress of in-air microbeam system at the Wakasa Wan Energy Research Center. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B 269, 2180-2183, 2011. 査読有

[学会発表] (計 16 件)

- ① Okuyama K, Komatsu H. Fluoride release from different thickness specimens of dental restorative materials. 43rd Meeting of AADR, 3/20/2014, Charlotte Convention Center, Charlotte, NC, USA.
- ② 小松久憲, 奥山克史, 山本洋子. フッ素含有歯科材料からのフッ素と歯質との結合状態. 第 29 回 PIXE シンポジウム

11/15/2013 敦賀市 福井県若狭湾エネルギー研究センター.

- ③ 奥山克史, 小松久憲, 山本洋子. フッ化物含有歯面塗布剤適用後の歯根面におけるフッ素濃度分布. 第 8 回高崎量子応用研究シンポジウム 10/11/2013 高崎 高崎シティギャラリー.
- ④ Ting S, Nakaoki Y, Okuyama K. Effect of different RDT on MTBS of current adhesive systems. 91st Meeting of IADR, 3/23/2013, Washington State Convention Center, Seattle, WA, USA.
- ⑤ Hashimoto N, Okuyama K, Yamamoto H, Komatsu H. Comparison of fluoride regimens on fluorine uptake in carious enamel. 91st Meeting of IADR, 3/22/2013, Washington State Convention Center, Seattle, WA, USA.
- ⑥ Oki S, Okuyama K, Yamamoto H, Funato Y, Komatsu H. Demineralize prevention of dentin with fluoride varnish via automatic pH-cycling. 91st Meeting of IADR, 3/20/2013, Washington State Convention Center, Seattle, WA, USA.
- ⑦ 奥山克史, 小松久憲, 山本洋子. フッ化物含有材料から歯質へのフッ化物取り込みの経時的変化. 日本歯科保存学会秋季学会 (第 137 回), 11/23/2012, 広島 広島国際会議場.
- ⑧ 小松久憲, 奥山克史, 山本洋子. 核反応による歯質内のフッ素分布測定. (XI) 第 7 回高崎量子応用研究シンポジウム 10/11/2012, 高崎 高崎シティギャラリー.
- ⑨ Komatsu H, Okuyama K, Yamamoto H. Strontium Analysis of Carious Human Tooth around a Fluoride-containing Material using by μ -PIGE/PIXE System. 13th ICNMTA, 2012/07/24, Escola Superior de Tecnologias da Saude de Lisboa, Lisbon, Portugal.
- ⑩ Komatsu H, Okuyama K, Yamamoto H. Fluorine-analysis of Cavity Walls in Glass-ionomer Restorations using PIGE/PIXE System. 90th Meeting of IADR, 2012/6/21, Iguacu Falls, Brazil.
- ⑪ Fu J, Okuyama K, Nakaoki Y. Bond durability of four contemporary self-etching systems. 41st Meeting of AADR, 3/24/2012, Tampa Convention Center, Tampa, FL, USA.
- ⑫ 小松久憲, 奥山克史, 山本洋子. 核反応による歯質内のフッ素分布測定 (X). 第 6 回高崎量子応用研究シンポジウム 2011 年 10 月 13 日. 高崎 高崎シティギャラリー.
- ⑬ 船戸良基, 小松久憲, 奥山克史, 山本洋子. フッ素含有材料周囲う蝕エナメル質におけるストロンチウム分布の測定.

日本歯科保存学会 秋季学会 (第 135 回) . 10/20/2011, 大阪 大阪国際交流センター.

- ⑭ Nakaoki Y, Okuyama K, Komatsu H. Analysis of bonding performance and adhesive interface between self-adhesive resin composite and dentin substrate. 3rd International symposium on surface and interface of biomaterials, 7/14/2011, Conference hall, Hokkaido University, Sapporo.
- ⑮ Okuyama K, Komatsu H. The new techniques for research to caries progression, inhibition, and fluoride distribution. The meeting of the 20th anniversary celebration of sister school affiliation between Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University and School of Dentistry, Chonbuk National University, Haevichi Hotel and Resort Jeju, Jeju, Korea, 7/1/2011.
- ⑯ 中沖靖子、奥山克史. High Voltage Electron Microscope による原子レベルの結晶性硬組織の観察. 日本歯科保存学会 春季学会 (第 134 回) . 6/10/2011 浦安市 (千葉) 東京ベイ舞浜ホテルクラブリゾート.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○ 出願状況 (計 0 件)

○ 取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥山 克史 (OKUYAMA, Katsushi)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号 : 00322818

(2) 研究分担者

小松 久憲 (KOMATSU, Hisanori)
北海道大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号 : 30002182

中沖 靖子 (NAKAOKI, Yasuko)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号 : 50302881

(3) 連携研究者

山本 洋子 (YAMAMOTO, Hiroko)
大阪大学・大学院歯学研究科・招へい教員
研究者番号 : 60448107