

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593070

研究課題名(和文) ナノコンポジット構造を持ち抗菌活性を有する歯科矯正用透明ワイヤーの開発

研究課題名(英文) A development of nanocomposite structured transparent orthodontic wires with antimicrobial activity

研究代表者

山方 秀一 (YAMAGATA, Shuichi)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：70292034

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：矯正歯科治療に用いられるマルチブラケット装置の外観の審美的改善を目的として、金属ワイヤーに匹敵する機械的特性等を有する透明な複合材料を開発している。当該研究課題を通して、層状珪酸塩のひとつであるモンモリロナイトを有機化および表面改質することで、ポリメチルメタクリレートならびにポリL乳酸とのナノスケールの強化構造を有する複合化に成功し、歯科矯正用透明樹脂ワイヤーの実現に向けて重要な成果を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：We have been developing transparent composite materials with enough properties such as mechanical properties and so forth comparable with metal orthodontic wires to make the multibracket appliance which is used in orthodontic treatments more esthetically acceptable. We have taken particular note of montmorillonite (MMT), one of the representative layered silicates, as a reinforcing material. Owing to the support by JSPS KAKENHI [Grant-in-Aid for Scientific Research (C)] Grant Number 24593070, we successfully fabricated both poly(methyl methacrylate) (PMMA)/silanized organically modified MMT (s-OMMT) composites and poly(L-lactic acid) (PLLA)/s-OMMT composites with nanoscale reinforcement architecture. The remarkable results obtained through this study encourage us to make them applicable for transparent fiber reinforced plastic (FRP) orthodontic wires.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：ナノ材料 複合材料 矯正歯科治療 マルチブラケット装置 ワイヤー モンモリロナイト ポリメチルメタクリレート ポリ乳酸

1. 研究開始当初の背景

矯正歯科治療のなかでも特にマルチブラケット装置の外観に関して患者から不満の声を聞くことは少なくはなく、矯正歯科用透明ワイヤーの開発が待望されている。Eliades は、我々を含む日米 2 つの研究チームが同時期に審美性に富む繊維強化複合材料(FRP)ワイヤーの開発を行っていることに言及し、新素材開発のブレイクスルーになるであろうと述べている¹⁾。

我々は平成 19 年までに生体親和性に富むガラス長繊維とポリメタクリル酸メチル(PMMA)とを応用した透明ワイヤー(PMMA/Glass FRP ワイヤー)を開発し、矯正歯科治療のほとんどの段階に適用可能な剛性と弾性特性を有することを明らかにしたが、治療初期に求められる曲率半径の小さい曲げによるガラス繊維の破断等を解決する方策は課題として残されたままであった。このような背景から、治療初期用として高強度・高弾性率ポリマー繊維強化型 FRP ワイヤーに着目し、平成 24 年までに solution intercalation 法による PMMA/有機化モンモリロナイト(OMMT)ナノコンポジットの作製プロトコルを確立するに至った。

平成 24 年現在では、新たに日本国内の 2 つ大学が審美性に富む FRP ワイヤーの開発を開始しつつあり、我々が先駆者として当該研究テーマを指導・推進する立場となった。

¹⁾ Eliades T: Am J Orthod Dentofacial Orthop, 131, pp 253-262, 2007.

2. 研究の目的

金属以外の材料で歯科矯正用ワイヤーとして適切な機械的特性を備えた部材を成形するためには複合材料化が必須となる。

本研究の目的は、小さな曲率半径のたわみが要求されるレベリング等の治療段階や、屈曲が必要となるフィニッシング等の治療段階に適用可能な FRP ワイヤーの開発に向け、複合材料内部におけるナノ材料の分散制御に関して有機 MMT の疎水性の差異、有機 MMT 結晶の端面 - 端面間水素結合や層面 - 端面間静電的結合の抑制、超音波照射のそれぞれが微分散性に与える効果を明らかにし、ナノコンポジットの機械的特性の向上を図ることであり、延いてはナノコンポジットへの抗菌性の付与や歯科矯正用ワイヤーの形状への成形加工法の確立を見据えるものである。

3. 研究の方法

層状珪酸塩鉱物のうち、生体安全性に富み食品や医薬品などの添加物としても使用されているモンモリロナイト(MMT)に着目し、4 級アルキルアンモニウムを用いて有機化した有機化度の異なる 2 種の OMMT およびシランカップリング処理を施した OMMT と PMMA および新たなポリマー母材の候補として着目したポリ L 乳酸(PLLA)とを用いたナノコンポジットの作製ならびに評価を行うために、以下の方法で研究を遂行した。

OMMT には S-BEN NZ70 および NX(HOJUN)を選択し、シランカップリング剤にはアルキルトリアルコキシシランを用い、PMMA にはメルトフローレートが比較的高い(6.0g/10min) アクリペット MD(三菱レイヨン)を、PLLA には分子量 2.1×10^5 のグレード(ビーエムジ-)を用いた。

(1) solution intercalation 法による複合化

PMMA に関しては溶解および OMMT の溶媒との両面に鑑み高極性溶剤であるアセトンを、PLLA に関しては溶解を優先しクロロホルムを選択し、溶液内での OMMT の層剥離を目的として高い剪断力の負荷を可能とする高速攪拌により 4 時間の混練を行った。なお、PMMA/OMMT 溶液に対しては、攪拌終了後すぐに揮発の工程へ進める手法と、単周波 28 kHz の超音波を 0.5, 1, 2, 3 時間照射した後に揮発の工程へ進める手法の 2 つのプロトコルを策定し、実施した。

溶媒の揮発に際しては、空気と接する面から固化を避けるための一次揮発としてペトリ皿を用いた 48 時間の緩徐揮発を行った。

恒温乾燥器を用い、60 で 24 時間の二次揮発を行った。

得られた PMMA/OMMT および PLLA/OMMT ナノコンポジットの中間成形体を超高速粉碎機により微細に粉碎し、X 線回折ならびに加圧圧縮成形に供した。

各粉体試料を成形用ステンレススチール製金枠(15×40×1 mm)に圧入し、PMMA は 230 で、PLLA は 190 で圧縮成形を行い、板状試験片を得た。なお、PMMA に関しては成形後の急冷に伴って試験片に内在する残留応力の解放を目的とし、PLLA に関しては結晶化促進を目的として、前者には 75 (3 分間)、後者には 110 (30 分間)のアニーリングを施した。なお、各板状試験片の OMMT 含有率は PMMA では 4 wt%、PLLA では 2, 4 wt%とした。

(2) 微細構造の評価

X 線回折(XRD)

X 線回折装置 Multi Flex/HS(理学電機)を用い、CuK α 、40 mV、40 mA、回折角 2-10 $^\circ$ 、スキャンレート 1 $^\circ$ /min の条件で測定を行った。

Transmission electron microscopy (TEM) 観察

TEM H-800(日立製作所)を用い、加速電圧 200 kV で試料の微細構造を観察した。

(3) 示差走査熱量測定(DSC)

示差走査熱量測定装置 DSC823(Mettler Toledo)を用い、10 /min で 220 まで加熱して 5 分間保持した後、2 /min で 30 まで冷却、2 /min で 220 まで加熱の 2 種のプロセスに関する測定を行った。

(4) 機械的特性の評価

万能試験機 Sv-52N-5L(今田製作所)を用い、標点間距離 20.0 mm、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で 3 点曲げ試験を行った。

(5) シラン処理 OMMT の細胞毒性評価

ヒト骨肉腫細胞(MG-63)、および、マウス骨

芽細胞様細胞(MC3T3-E1)を 1×10^4 個/ well の条件で播種し、10%FBS 含有 -MEM 中で 48 時間培養を行った(37 °C、5%CO₂ 下)。その後、様々な濃度(0.1-30 ppm)の OMMT 曝露下で更に 24 時間培養を行い、細胞生存率を測定した。さらに、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて培養後の細胞を観察した。

4. 研究成果

MMT は約 1 nm の薄い板状の結晶が積み重なった積層結晶構造を形成しており、1 枚の結晶は $\text{Si}_4\text{O}_6(\text{OH})_4$ の四面体シートの間に $\text{Al}_2(\text{OH})_6$ または $\text{Mg}_3(\text{OH})_6$ の八面体シートが挟まれたアルミノシリケート層である。八面体構造中の 3 価の Al が部分的に 2 価の Mg または Fe へ同形置換され、各単位格子平面の格子電荷は合計 $-2/3$ となっているため、結晶層表面はマイナスの永久層電荷を帯びている。この電荷を補償するために結晶層間には Na^+ や Ca^{2+} のような交換性陽イオン存在が存在するという特徴を有する(図 1)。

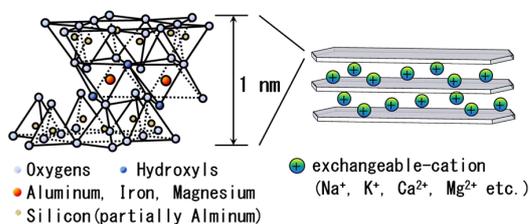


図 1

MMT では層間の交換性陽イオンへの水分子の水和が起こるが、有機分子を溶媒または無機および有機陽イオンとのイオン交換を行うこと、すなわち有機化 MMT(OMMT)化することで様々な化合物の層間挿入(インターカレーション)が可能となる。このことを応用し、OMMT と PMMA とのナノコンポジット化を実現する手法として solution intercalation 法が有益であること、超音波照射による分散制御し得る可能性があることをつきとめた。さらにシラン処理 OMMT の細胞毒性は十分に低いことも明らかにできた。

具体的成果は以下に記すとおりである。

(1)各ナノコンポジットの微細構造

X線回折(XRD)分析

本研究に用いた X 線回折装置は小角($2\theta < 5^\circ$)における測定は不向きではあるが、XRD チャートに OMMT の層間距離を評価するに足る比較的明瞭なピークを検出することができた(図 2-5)。

親水性 MMT および有機化度の異なる 2 つの OMMT(NZ70 および NX)、NX にシランカップリング処理を施した OMMT(s-OMMT)の測定結果(図 2)から、親水性であった MMT は有機化により著しく層間距離を増すこと、シランカップリング処理によっても層間距離が増すことが確認できた。さらに、これらのうち親水性 MMT を除く 3 種を 4 wt%と含有させた PMMA とのナノコンポジットに対する XRD 分析の結果(図 3)から、PMMA 内に分散するクレーの層間

距離は $\text{OMMT}(\text{NZ70}) < \text{OMMT}(\text{NX}) < \text{s-OMMT}$ の順に大きくなり、その傾向はクレーの疎水性の高さに一致することがわかった。

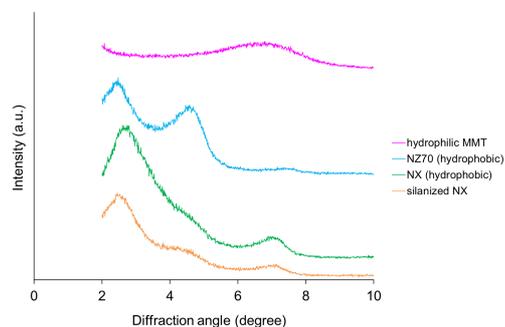


図 2

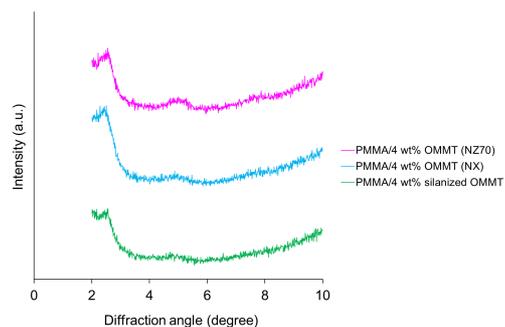


図 3

さらに、単周波 28 kHz の超音波を照射した後に固化させた PMMA/s-OMMT ナノコンポジットに対する XRD 分析の結果(図 4)から、回折角は照射時間によらず $2\theta < 2.5^\circ$ であることに加え、回折 X 線強度は小角域において大きくなることが示唆された。このことから、超音波照射はクレーの層間距離を拡大できるばかりではなく層剥離も生じさせ得る可能性があると考えられる。

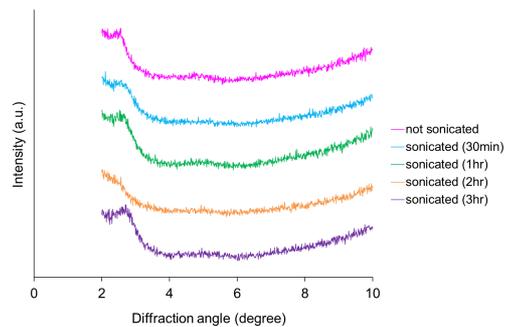


図 4

さらに、PLLA/s-OMMT に対する XRD 分析の結果(図 5)から、PLLA/s-OMMT ナノコンポジット内における s-OMMT の 001 面の回折角はそれぞれ $2\theta = 2.5^\circ$ および 2.3° であった。すなわち、層間距離はそれぞれ 3.5 nm および 3.8 nm であり、s-OMMT は PLLA とのナノコンポジット化においても層間距離が増すことがわかった。

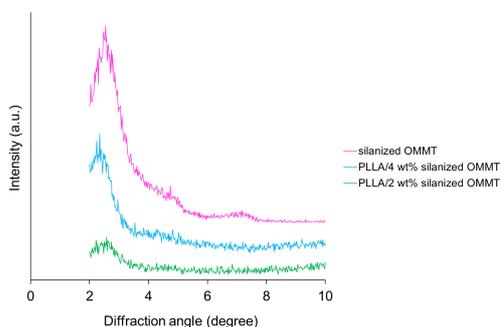


図 5

TEM 観察

図 6 は PLLA/4 wt% s-OMMT ナノコンポジットの TEM 像 (a: $\times 5,000$, b: $\times 200,000$) である。図 6a から、s-OMMT は PLLA 内部で一部凝集しながらも比較的良好的に分散することがわかった。また、図 6b から、層間距離が 5 nm におよぶ部位や層剥離も認められ、かつ、その分散は異方性であることがわかった。

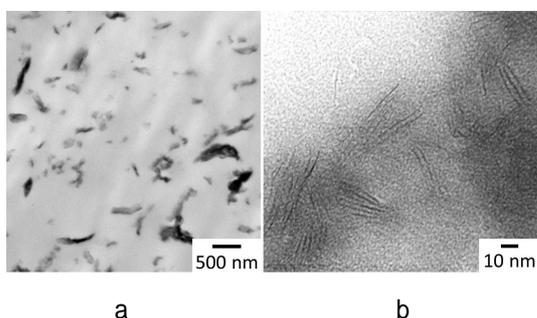


図 6

(2) PLLA/s-OMMT ナノコンポジットの熱的特性

PLLA/s-OMMT ナノコンポジットの降温プロセスに関する DSC の結果(図 7)から、PLLA の結晶化温度は s-OMMT の有無や含有率によらず約 110 であることがわかった。このことに基づき、加温圧縮成形後のアニーリング条件を 110、30 分間と特定できた。

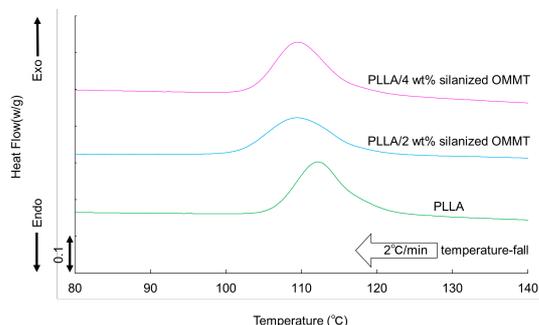


図 7

アニーリング処理を施した PLLA/s-OMMT ナノコンポジットの昇温プロセスに関する DSC の結果(図 8)から、PLLA 単体およびナノコンポジット化した PLLA とともに、ガラス転移点は約 59、融点は約 182、結晶化度は約

48%と同等であることがわかった。なお、結晶化度 X_c の値は下記式

$$X_c = (H_m - H_{cc}) / [H_m^0 (1 -)]$$

を用いて算出したものである (H_m : 結晶融解エネルギー、 H_{cc} : 冷結晶化エネルギー、 H_m^0 : PLLA 完全結晶の理論結晶融解エネルギー、

s-OMMT 含有率)。一般に、PLA/OMMT ナノコンポジットではナノフィラーがポリマー鎖に運動制限を与えるためガラス転移温度を上昇させる可能性と、作製時の加熱処理による PLA の加水分解や OMMT による PLA の可塑化によりガラス転移温度が下がる可能性とがある。本研究でガラス転移温度がほとんど変化しなかったのは、低い s-OMMT 含有率が理由であると考えられる。さらに、昇温過程に冷結晶化に伴う発熱反応が認められなかったことから、設定したアニーリング条件 (110、30 分間) によって十分な結晶化が達成できることが明らかとなった。

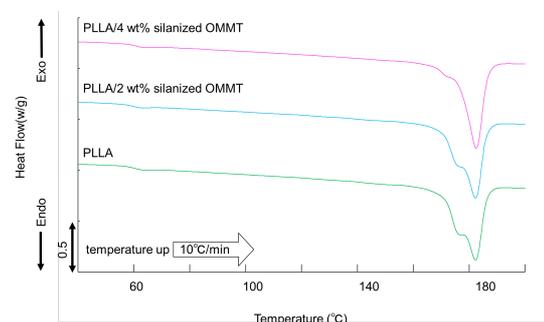


図 8

(3) PLLA/s-OMMT ナノコンポジットの機械的特性

一般に、複合材料の機械的強さは母材ポリマーと強化材との界面の面積に大きく依存する。層状ケイ酸塩を強化材として用いる場合、層間距離の拡大や層剥離が界面の面積増加に寄与する。3 点曲げ試験の結果(図 9)より、s-OMMT 含有率の増加に伴う PLLA/s-OMMT ナノコンポジットの弾性率向上がわかった。PLLA の溶解に優れるが、無極性であるため OMMT の膨潤には適さないクロロホルムを用いたが、スターラーの剪断力によりある程度の界面の面積増加が得られたことが理由であると考えられる。

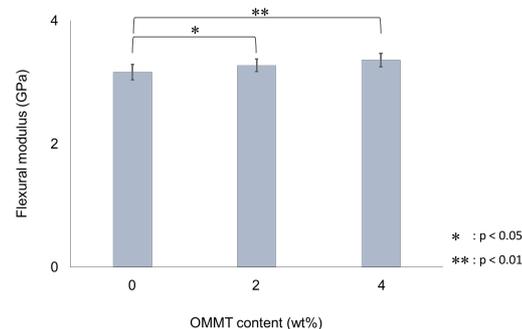


図 9

(4)s-OMMTの細胞毒性評価

s-OMMT 曝露下で培養した MG-63 および MC3T3-E1 の細胞生存率は、s-OMMT 濃度によらず MG-63 で 90%以上、MC3T3-E1 で 80%以上と高かったが、20 ppm 以上では MC3T3-E1 の生存率は TiO₂ よりわずかに低くなることわかった(図 10, 11)。SEM 像から、両細胞の細胞形態は、非曝露の場合と同様に仮足を伸ばして広く伸展しており、明らかな細胞死を示す像は確認されなかった(図 12)。

OMMT が細胞生存率に与える影響については、有機化剤の存在や OMMT 粒子の凝集性など様々な報告がある。MC3T3-E1 の生存率が 20 ppm 以上で低くなった点については、s-OMMT に誘導される細胞死を示す SEM 像が認められなかったことから、s-OMMT は細胞死ではなく細胞増殖に影響を与えている可能性が高いと推測できるが、さらなる検証が求められる。

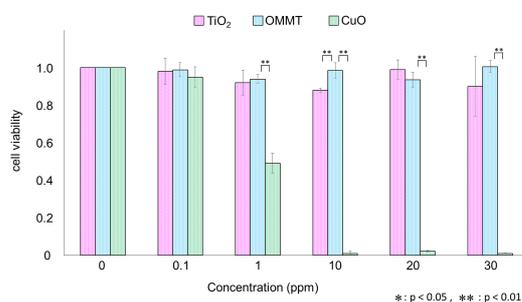


図 10 MG-63 細胞の生存率

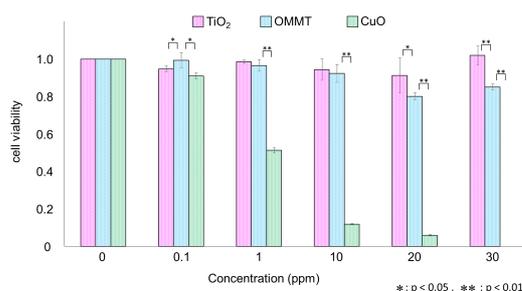


図 11 MC3T3-E1 細胞の生存率

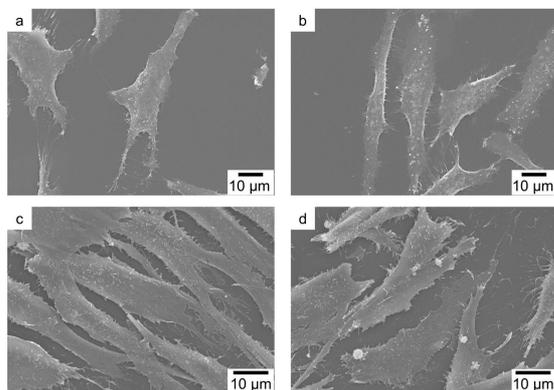


図 12 a, b: MG-63(a:非曝露、b:曝露)、
c, d: MC3T3-E1(c:非曝露、d:曝露)

ポリマー系歯科材料に関するナノコンポジットの応用は国内外を通して例がない。本研究は先駆的研究として重要な意義を有するというばかりではなく、当該研究助成によって、実用化に向けて同材料の有益性が非常に高いことを示す多くの成果を得ることができた。

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 10件)

Nakanishi K, Yamagata S, Akasaka T, Abe S, Yoshida Y and Iida J: Preparation of a poly(lactic acid)/montmorillonite nanocomposite, Key Engineering Materials 631:151-155, 2014, 査読有

DOI:

10.4028/www.scientific.net/KEM.631.151

URL:

<http://www.scientific.net/KEM.631.151>

Yamagata S, Iwasaki H, Hamba Y, Nakanishi K, Ushijima N, Abe S, Akasaka T, Watari F and Iida J. An evaluation of fluorescent orthodontic adhesives containing Eu-doped ZnO at room temperature. Nano Biomedicine 5 (1): 31-38, 2013, 査読有

DOI: <http://doi.org/10.11344/nano.5.31>

山方秀一, 山本隆昭, 金子知生, 佐藤嘉晃, 飯田順一郎: 最新の歯学 新素材のイノベーションがもたらす矯正歯科臨床のパラダイムシフト, 北海道歯学雑誌 34 (1): 18-20, 2013, 査読無

URL: <http://hdl.handle.net/2115/53322>

Yamagata S, Hamba Y, Nakanishi K, Abe S, Akasaka T, Ushijima N, Uo M, Iida J, Watari F. Introduction of rare-earth-element-containing ZnO nanoparticles into orthodontic adhesives. Nano Biomedicine 4 (1): 11-17, 2012, 査読有

DOI: <http://doi.org/10.11344/nano.4.11>

Yamagata S, Hamba Y, Akasaka T, Ushijima N, Uo M, Iida J and Watari F. The effect of enhancing the hydrophobicity of OMMT on the characteristics of PMMA/OMMT nanocomposites. Applied Surface Science 262: 56-59, 2012, 査読有

DOI: 10.1016/j.apsusc.2012.01.081

Yamagata S, Sato Y, Yamamoto T, Hamba Y, Nakanishi K and Iida J. An examination of rare-earth-element-containing ZnO nanoparticles by different calcination

temperatures for fluorescent adhesives. J Hokkaido Orthod Soc 40 (1): 1-8, 2012, 査読有

URL:

http://ci.nii.ac.jp/els/110009581465.pdf?id=ART0010035109&type=pdf&lang=jp&host=cinii&order_no=&ppv_type=0&lang_sw=&no=1431420224&cp=

〔学会発表〕(計 12 件)

Nakanishi K, Yamagata S, Akasaka T, Abe S, Yoshida Y and Iida J: Preparation of a poly(lactic acid)/montmorillonite nanocomposite, 26th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (BIOCERAMICS 26), 8 November 2014, Barcelona (Spain)

中西 康, 山方秀一, 阿部薫明, 赤坂 司, 吉田康弘, 飯田順一郎: 4 級アルキルアンモニウムを用いて有機化処理したモンモリロナイトの細胞毒性評価, 第 57 回 NPO 法人日本口腔科学会中部地方部会, 平成 26 年 10 月 11 日, アスト津(三重県・津市)

山方秀一, 宮西華子, 木山 望, 山本隆昭, 佐藤嘉晃, 飯田順一郎: 対金属ダイレクトボンディングへの大気圧プラズマの応用, 第 55 回北海道矯正歯科学会総会・学術大会, 平成 26 年 6 月 15 日, 北海道歯科医師会館(北海道・札幌市)

中西 康, 山方秀一, 半場悠介, 赤坂 司, 亘理文夫, 飯田順一郎: 歯科応用に向けたポリ乳酸/層状ケイ酸塩ナノコンポジットの試作, 第 62 回日本歯科理工学会学術講演会, 平成 25 年 10 月 19 日, 日本歯科大学生命歯学部(新潟県・新潟市)

阿部薫明, 岩寺信喜, 半場悠介, 山方秀一, 赤坂 司, 八若保孝, 飯田順一郎, 亘理文夫: 骨芽細胞へと曝露したマイクロ/ナノマテリアルの生体刺激性の検討, 第 62 回日本歯科理工学会学術講演会, 平成 25 年 10 月 19 日, 日本歯科大学生命歯学部(新潟県・新潟市)

Yamagata S, Hamba Y, Yamamoto T, Sato Y and Iida J. A development of fluorescent orthodontic adhesives containing Eu-doped ZnO. 89th congress of the European orthodontic society, 28 June 2013, Reykjavik (Iceland)

山方秀一, 半場悠介, 中西 康, 山本隆昭, 佐藤嘉晃, 飯田順一郎: 蛍光ボンディング材の開発に向けた焼成温度の異なる希土類含有 ZnO 微粒子の検討, 第 71 回日本矯正歯科学会大会, 平成 24 年 9 月 27 日, マリオス(盛岡市民文化ホール、盛岡地域交流センター)、

アイーナ(いわて県民情報交流センター)、盛岡市アイスアリーナ(岩手県・盛岡市)

山方秀一, 半場悠介, 中西 康, 山本隆昭, 佐藤嘉晃, 飯田順一郎: ユウロピウム含有 ZnO 微粒子による歯科矯正用ボンディング材への蛍光特性の付与, 第 53 回北海道矯正歯科学会総会・学術大会, 平成 24 年 6 月 17 日, 北海道歯科医師会館(北海道・札幌市)

〔図書〕(計 1 件)

Yamagata S, Iida J, Watari F, Springer Berlin Heidelberg, Handbook of Polymernanocomposites. Processing, Performance and Applications Volume A: Layered Silicates, 2014, 538 (319-328)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山方 秀一 (YAMAGATA, Shuichi)
北海道大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号: 70292034