

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 25 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462954

研究課題名(和文) アパタイト形成能を有する生体機能性セメントの開発とう蝕象牙質再石灰化療法への展開

研究課題名(英文) Evaluation of the in vitro bioactivity of a prototype tricalcium silicate cement

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ケイ酸カルシウム(CS)系歯内療法用材料を代表する Mineral Trioxide Aggregate (MTA) が、1993年より、歯科領域に紹介されて以来、歯内療法用材料として様々な症例に用いられ、良好な臨床結果が得られている。一方、CS系歯内療法用材料には、WMTA や GMTA のような粉液から構成されている製品では、適切なキャリアがない限り、練和物を正確に適用部位への装填は、非常に困難である。本研究は新規 CS 系覆髄材を開発する目的とした。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the Ca<sup>2+</sup>-releasing, alkalizing, and apatite-like surface precipitate-forming abilities of a prototype tricalcium silicate cement. The chemical compositions were analyzed with EPMA. The pH and Ca<sup>2+</sup> concentrations immersed were measured. The surface precipitates formed on the materials immersed in PBS were analyzed with EPMA and XRD. The prototype cement contained Ca, Si, and Zr as major elemental constituents, whereas it did not contain some metal elements that were detected in the other materials. The Ca<sup>2+</sup> concentrations and pH of the immersion water samples exhibited the following order: WMTA = prototype cement > TheraCal LC (P < 0.05). XRD peaks corresponding to hydroxyapatite were detected in the precipitates produced by the prototype cement and WMTA. The prototype tricalcium silicate cement exhibited similar Ca<sup>2+</sup>-releasing, alkalizing, and apatite-like precipitate-forming abilities to WMTA.

研究分野：生体材料

キーワード：ケイ酸カルシウム 歯内療法 覆髄 リン酸カルシウム アパタイト MTA PBS CS

## 1. 研究開始当初の背景

う蝕治療では現在なお、軟化象牙質の完全除去が基本原則とされているが、象牙細管深部に侵入した細菌を含めて過不足なく切削、除去することは現実的には困難であり、ある程度の健全象牙質の削除を伴うことは避けられない。従って、このような健全歯質切削の問題点を補完し、歯質の更なる保存につながる新たなう蝕治療法や新規生体材料の開発が求められている。

一方、脱灰象牙質では無機質(アパタイト)の流失が生じるが、その枠組みとなる網状コラーゲン組織はしばしば残存している。我々は、この構造上の特徴を利用して、失われた無機質を何らかの方法で供給して、再石灰化を促すことができれば、歯の切削を最小限に止めさせることが可能と考えている。他方、Mineral trioxide aggregate (MTA) などのカルシウム・シリケート系セメントは良好な生体適合性や硬組織誘導能を示すことから直接覆髄に應用されているが、申請者らはこの種の材料がカルシウムイオン(Ca<sup>2+</sup>)徐放性を有することから、脱灰象牙質再石灰化への適用の可能性に着目している。実際、申請者らはカルシウム・シリケート系セメントをリン酸イオン存在環境で象牙質に作用させた場合、材料表面のみならず象牙質表面や脱灰層内にリン酸カルシウム(アパタイト)様石灰化物が生成されることを見いだしている。さらには、これらセメントの *in vivo* での生体作用も検討し、dentin bridge 形成が生じることを確認するとともに、皮下結合組織埋入後に界面近傍の組織中にアパタイト様石灰化物形成が生じることも予備的に観察している。

## 2. 研究の目的

う蝕治療にバイオミネラリゼーションの概念を積極的に導入し、罹患象牙質を極力削除せず、効果的に再石灰化させる一方、保存可能な歯質・歯髄の保全を実現可能とする、カル

シウム・シリケート系新規セメント材料の開発と臨床応用を目的とする研究である。すなわち、カルシウム徐放性やリン酸イオン存在下でのアパタイト形成能を有するカルシウム・シリケート系セメントを試作し、象牙質石灰化誘導能や生体親和性についての *in vitro*、*in vivo* での解析、ならびに各種理化学的特性の評価を通じて、臨床応用に適した新規材料開発に向けた多面的検討を行なうものである。

## 3. 研究の方法

(1) 新規カルシウムシリケート系セメント材料の試作:

カルシウム・シリケートを基本構成成分(75%以上)として、物性、抗菌性、臨床操作性などを考慮した数種のセメント材料を試作する。

(2) 試作セメントの理化学的性質と生体機能性の検討:

試作セメントの理化学的性質や操作性を検索するとともに、生体機能性とアパタイト形成能を指標として *in vitro*、*in vivo* で解析し、実用化に適した材料を選択する。

(3) 試作セメントによるう蝕象牙質の再石灰化と健全象牙質石灰化能の検証:

人工う蝕や天然歯う蝕病巣に試作セメントを適用して、擬似体液に一定期間保管後、走査電子顕微鏡 (SEM)、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM)、X 線マイクロアナライザー (EPMA)などで分析し、試作セメントの応用によるう蝕象牙質の再石灰化や健全象牙質石灰化度の向上などの生物学的効果を検証する。

(4) 試作セメントが象牙質/歯髄複合体に及ぼす生物学的効果の検証:

試作セメントを実験動物(ラット)に應用して皮下組織や象牙質/歯髄複合体への生物学的効果を組織学的、免疫組織化学的に検証し、歯髄修復能や生体親和性の検証を行う。

#### 4. 研究成果

##### (1) 新規ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の開発について

本研究の目的の一つとして、覆髄や根管治療に用いる歯内療法用新規ケイ酸カルシウム系材料の開発である。本研究期間中、関連業者の協力を得ながら、予定通り、生体機能性、生体親和性の高いケイ酸カルシウム系歯内療法用材料が開発された。現在、販売に向けて、手続きを行っている。

##### (2) 新規ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体機能効果について

本研究によって開発されたケイ酸カルシウム系歯内療法材料を生体に用いる場合、十分に生体機能効果を発揮できるか実験室実験によるアパタイト放出能、封鎖性、pH やカルシウム放出性検証を行った。結果として、同種の外国製品あるいは日本の製品を比較した場合、遜色しない生体機能効果が示された。

##### (3) 新規ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体親和性について

新規ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料の生体親和性について、実験室における動物実験によって、組織の石灰化促進アパタイトの形成などが確認できた。この結果について、最も優れた生体機能効果の同種外国製品を比較した場合、遜色しないことが認められた。

##### (4) 研究報告、学術論文

本研究では、上記の結果について、国内外に於ける学会発表や国際誌、国内誌における多数の論文を発表し、結果について、国内外における研究者によって認められている。

#### 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: 10 件)

- 1, Han L, Okiji T. An ion extract obtained from mineral trioxide aggregate induced dentin remineralization and dentinal tubule occlusion in artificially demineralized bovine dentin. *Am J Dent* 29; 167-170: 2016. 査読有り
- 2, 山本信一, 韓 臨麟, 興地隆史. S-PRG フィラー抽出液によるヒト象牙質切断面の細管封鎖と元素の移行. *日歯内療法誌* 37; 31-37: 2016. 査読有り
- 3, 韓 臨麟, 福島正義. フッ化物と fTCP 配合歯磨剤による歯質に与える影響 —エナメル質耐酸性, 象牙細管封鎖性および元素の取り込みについて—. *歯科保存誌* 59; 228-235: 2016. 査読有り
- 4, Han L, Okiji T. Dentin tubule occluding ability of dentin desensitizers. *Am J Dent* 28; 90-94: 2015. 査読有り
- 5, 韓 臨麟, 興地隆史: S-PRG フィラー抽出液の人工脱灰象牙質に対する象牙細管封鎖効果. *日歯保存誌* 58; 11-25: 2015. 査読有り
- 6, Han L, Kodama S, Okiji T. Evaluation of calcium-releasing and apatite-forming abilities of fast-setting calcium silicate-based endodontic materials. *Inter Endod J* 48; 124-130: 2015. DOI: 10.1111/iej.12290, 査読有り
- 7, Han L, Kodama S, Okiji T. Evaluation of calcium-releasing and apatite-forming abilities of fast-setting calcium silicate-based endodontic materials. *Inter Endod J* 48; 124-130: 2014. DOI: 10.1111/iej.12290 /査読有り
- 8, Han L, Okiji T. Effects of a novel fluoride-containing luminocalciumsilicate-based tooth coating material (Nanoseal) on enamel and dentin. *Am J Dent* 26 ; 191-195: 2013. 査読有り
- 9, Han L, Okiji T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *Int Endod J* 46 ; 808-814: 2013. ODI: 10.1111/iej.12062 査読有り

10, 韓 臨麟, 興地隆史: ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料による脱灰象牙質再石灰化. 日本歯内療法誌 34; 128-134: 2013. 査読有り

[学会発表] (計 21 件)

1, 山本信一, 韓 臨麟, 野杻由一郎, 興地隆史. *In vitro* における試作ケイ酸カルシウム系セメントの生体機能性評価. 第 37 回日本歯内療法学会, 愛知県産業労働センター, 2016, 7, 23

2, 山本信一, 韓 臨麟, 興地隆史: 試作 S-PRG filler 含有根管貼薬用ペーストに関する研究 — 根管壁象牙細管封鎖および元素の取り込みについて. 第 144 回日本歯科保存学会, プログラム集 B13, 栃木県総合文化センター, 2016, 6, 10.

3, 韓 臨麟, 山本信一. 生体機能性材料 S-PRG filler に関する研究 — 抽出液の塗布による根面象牙質耐酸性の向上効果について—. 第 67 回日本歯科理工学会, プログラム集 P118, 九州大学, 2016, 4, 16.

4, 山本信一, 韓 臨麟, 興地隆史: S-PRG フィラー抽出液の支台歯形成面被覆・象牙細管封鎖効果. 第 143 回日本歯科保存学会, プログラム集 B16, 東京文京シビックホール, 2015, 11, 12.

5, 韓 臨麟, 山本信一, 興地隆史: 酸性あるいはアルコール含有ドリンクへの浸漬が各種ペーストタイプコンポジットレジン表面の微細構造に及ぼす影響. 第 143 回日本歯科保存学会, プログラム及び演題集, P118, P47, 文京シビックホール, 2015, 11, 12.

6, 韓 臨麟, 山本信一, 興地隆史: 新規 1 液性ワンステップ接着システムの歯面処理効果および接着界面微細構造. 第 66 回日本歯科理工学会学術大会, プログラム P16, 東京タワーホール船堀, 2015, 10, 3.

7, 韓 臨麟, 山本信一, 興地隆史: 試作ケイ酸カルシウム系覆髄材の *in vitro* における生

体機能性評価. 第 36 回日本歯内療法学会, 抄録集 P72, P003, 横浜鶴見大学, 2015, 7, 12.

8, 韓 臨麟, 山本信一, 興地隆史: ケイ酸カルシウム系歯内療法用セメント抽出液が人工脱灰象牙質に与える影響. 第 65 回日本歯科理工学会学術大会, プログラム P8, 仙台市情報・産業プラザ, 2015, 4, 11.

9, Han L, Yamamoto S, Okiji T. Comparative analysis of selected chemical properties of calcium-silicate-based endodontic materials, JADR, プログラム集 P38, KKR ホテル大阪, 2014, 12, 4.

10, 韓 臨麟, 興地隆史: フルオロアルミノカルシウムシリケート含有歯面コート材の象牙質知覚過敏症抑制効果に関する基礎的および臨床的研究. 第 141 回日本歯科保存学会, プログラム集 P11, 山形産業プラザ, 2014, 10, 30.

11, 韓 臨麟, 興地隆史: 清涼飲料水による歯面脱灰に対するフルオロアルミノカルシウムシリケート含有歯面コート材の抑制効果, 第 64 回日本歯科理工学会, プログラム集 P17, 広島アステールプラザ, 2014, 10, 4.

12, 韓 臨麟, 興地隆史: 打ち抜き試験を用いた試作 S-PRG フィラー含有根管シーラーの根管象牙質への接着性評価, 第 35 回日本歯内療法学会, プログラム集 P93, 新潟朱鷺メッセ, 2014, 7, 12.

13, 韓 臨麟, 興地隆史: S-PRG filler 抽出液による脱灰象牙質表層の形態変化; 63 回日本歯科理工学会学術大会, プログラム集 P19, タワーホール船堀, 2014, 4, 12.

14, KODAMA Saori, HAN Linlin, OKAWA Seigo, OKIJI Takashi. Bioactivity Evaluation of Fast-setting Calcium Silicate-based Endodontic materials. 韓国歯内療法学会, プログラム集 P14, PP48, Kesyu Korea, 2013, 11, 23.

15, Han Linlin, Kodama Saori, Okiji Takashi. Evaluate the dentin tubule occluding ability with

a novel fluoroaluminocalciumsilicate-based hypersensitivity desensitizer (Nanoseal). 韓国歯内療法学会, プログラム集 P12, PP47, Kesyu Korea, 2013, 11, 23.

16, 小玉沙織, 韓 臨麟, 大川誠剛, 興地隆史. 速硬型ケイ酸カルシウム系歯内療法用セメントの生体機能性に関する研究. 第 139 回日本歯科保存学会, プログラム集 P105, 2013, 10, 17.

17, 韓 臨麟, 興地隆史: 4 種の象牙質知覚過敏抑制材(剤)による象牙細管封鎖効果. 第 62 回日本歯科理工学会, プログラム集 P34, 2013, 10, 19.

18, 韓 臨麟, 興地隆史: 象牙質知覚過敏抑制材ナノシールに関する研究 — pH サイクル環境における歯質表層部微細構造の解析 —. 第 139 回日本歯科保存学会, プログラム集 P113, 秋田産業プラザ, 2013, 10, 17.

19, Linlin Han, Takashi Okiji. Effects of a fluoroaluminocalciumsilicate-based material (Nanoseal) on enamel and dentin. The 9th world endodontic congress, program P92, 横浜国際会議場, 2013, 5, 23.

20, 韓 臨麟, 福島正義, 興地隆史: 重合方式がセルフアドヒーズブレジンセメントと CAD/CAM 用セラミック被着体への接着に及ぼす影響. 第 61 回日本歯科理工学会, プログラム集 P48, 東京タワーホール船堀, 2013, 4, 13.

21, 韓 臨麟: 歯髄保護に関わる各種材料の応用ポイント. 歯内療法学会関東支部会、招待講演, 東京医科歯科大学, 2013, 1, 27.

[図書] (計 2 件)

著書

1, 韓 臨麟, 興地隆史: 象牙質知覚過敏症第二版, 医歯薬出版, 総 72P, P12, 2013.

2, Han Linlin, Fukushima Masayoshi. Auswirkungen von Bleaching auf die

Zahnoberfläche, Kommunikation Der Zellen, P65/99, 2013-Quintessenz Verlags-GmbH, Germany.

[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:

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: 25462954

(2)研究分担者

興地 隆史 ( Okiji Takashi )

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号: 80204098