

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 10 月 5 日現在

機関番号：37114

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25862042

研究課題名(和文) 知覚過敏抑制材「ナノシール」を用いた新たな齲蝕予防法の検討

研究課題名(英文) Study of dental caries prevention by new material (Nano Seal)

研究代表者

柏村 晴子 (Kashiwamura, Haruko)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：20425268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：歯の脱灰は、日常的に飲用されている清涼飲料水によっても起こりうる現象である。しかし、習慣化された飲用を制限することは、特に小児においては、困難である。ナノシール(日本歯科薬品株式会社)は、知覚過敏抑制材でありながら耐酸性能に優れており、簡便な操作で使用できるため、齲蝕予防への応用が期待されている。そこでナノシールの酸蝕歯に対する再石灰化効果について、臨床上抜歯が適切と診断された乳歯及び永久歯(臼歯)を用い検討した。結果、ナノシールを塗布した歯面はエナメル質表層下脱灰病変の再石灰化効果が促進されていた。以上より、ナノシールは、酸蝕歯治療の1つの手段として期待されることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：There are many cases in which decalcified enamel by a habitual excess ingestion of the commercial drinking water are often observed. However, control of habitual drinking may be difficult in younger children. I examined the effect of Nano Seal on enamel acid resistance performance in carbonated drink water with the strongest acidity. Nano Seal which consists of the nano-particle fluoroaluminosilicate glass dispersed aqueous solution and the phosphoric acid aqueous solution is manufactured. As the use of Nano Seal, a mixture of liquid A and B is applied on the tooth surface. Then, after 20 seconds or more, rinsed and dried. It has advantage of simple to use and clear color. Nano Seal was proof against strongly acidic conditions in spite of simple operation of application for 20 seconds and water washing. Thus, it is considered that Nano Seal can be expected as use of a newly developed material for dental caries prevention.

研究分野：小児歯科

キーワード：ナノシール

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、清涼飲料水の蔓延は著しく、口腔内 pH の低下による酸蝕歯が問題となってきた。酸蝕歯は、顕著な歯の実質欠損や自覚症状を伴わずに進行するが多いため、発見が遅れる傾向にもある。また、生活習慣に左右されるためその予防は困難である。現在、市販飲料水の約 70% がエナメル質臨界 pH5.5 を下回っているという現状を考えると、酸蝕歯を食生活の制限によって完全に予防することは難しい。以上のことより、我々歯科医側からも積極的なアプローチが必要と考えた。

(2) 小児期からの積極的な齲蝕予防としては、古くからリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液 (Acidulated Phosphate Fluoride : APF) の歯面塗布が幅広く応用されている。APF 塗布の有用性については、多くの報告が存在し、その効果は、諸外国や我が国における小児齲蝕の著しい減少をみても明らかである。APF 塗布による耐酸性能については、様々な報告があるが、一方で一度脱灰がおきた歯面での APF 塗布による再石灰化には、長い期間が必要であることも指摘されている。また、初期齲蝕に対する局所的な塗布剤としては、銀による蛋白の固定及びフッ化物による不溶性塩の生成することで高い齲蝕進行抑制を示すフッ化ジアンミン銀がある。しかし、フッ化ジアンミン銀は、歯質が黒変するため、審美性の問題から応用できる歯種が限られており、最近では前歯部の初期齲蝕には用いられないのが現状である。

(3) フッ素系ナノシール剤 (日本歯科薬品株式会社製) (以下ナノシール[®]と略す) は、カルシウムフルオロアルミノシリケート粉末分散液とリン酸水溶液の 2 液からなり、2 つを混和するとカルシウムフルオロアルミノシリケート粒子がリン酸水溶液と酸塩基反応により、歯質の一部を脱灰しながら凝集を開始し、歯面上に無着色の強固な粒子沈着層を形成する。このような性質から、根面が露出した知覚過敏症では、すでに臨床応用されている。

2. 研究の目的

(1) 現在、齲蝕原因菌が関与しない歯質表面の損失、口腔内 pH の低下による酸蝕歯が問題となってきた。酸蝕歯は、生活習慣、特に食生活と密接に結びついており、また顕著な歯の実質欠損や自覚症状を伴わずに進行するが多いため、発見が遅れる傾向にもある。しかしながら、市販飲料水の約 70% がエナメル質臨界 pH5.5 を下回っているという現状を考えると、酸蝕歯を食生活の制限によって完全に予防することは難しい。そこで、過酷な酸性環境下におかれても、脱灰が惹起されない、耐酸性能の高い歯面塗布剤の開発が期待される。ナノシール[®]は現在

臨床応用されている知覚過敏抑制材としてだけでなく、新しい齲蝕予防材としても期待されると考えている。また、ナノシール[®]は、白色の懸濁液であり、歯面に塗布しても色調に変化を及ぼさないため、審美性に優れている。また流動性の高い液状であるため、形態的な変化を伴わないことからすべての歯種・歯面への塗布が期待できると考えている。

そこで、本研究では、このナノシール[®]が酸蝕歯に対しても予防効果を発揮するかを明らかにし、さらに耐酸性の高い齲蝕予防材としても臨床応用できることを目的として、検討を行った。

なお、本研究は福岡歯科大学倫理審査委員会の承認 (許可番号 第 143 号) のもとに行った。

3. 研究の方法

(1) ナノシール[®]は、A 液 : カルシウムフルオロアルミノシリケートガラス分散液と B 液 : リン酸水溶液の 2 液からなる。使用方法としては、A 液、B 液を等量混合し、混合 5 秒後から 20 秒間歯面に塗布し、水洗乾燥を行う。

そこで、ナノシール[®]塗布前後の健全エナメル質試料に対し、白金コーティング (約 30nm、オートファインコーター、JFC-1600、日本電子データム株式会社製) 後、フィールドエミッション走査型電子顕微鏡 (日本電子社製 JSM-7000F: 以下 FE-SEM と略す) を用い、歯面の状態を観察した (n=3)。

(2) ナノシール[®]の A 液 (カルシウムフルオロアルミノシリケートガラス分散液) 1 g を精製水 25g で希釈し、レーザー回折・散乱方式粒度分布測定装置 LA-920 (株式会社堀場製作所製) を用いて、体積基準による平均粒子径 (D50) および最大粒子径 (D100) について、粒度分布を測定した (n=3)。

(3) A 液、B 液の 2 液を混合し、歯面に塗布するとナノシール[®]は、pH 変化を起こす。そこで、A 液、B 液混合液および混合液を歯面に塗布した後の歯面上の pH 変化を pH 測定器 (本体 : Orion 2115010 DUAL STAR pH / イオンメーター・pH 電極 : Orion 8102BN、サーモフィッシャーサイエンスティフィック株式会社製) を用いて、混合 5 秒後以降、10 秒毎に 60 秒時点まで観察した。なお、計測は混合液、歯面上の pH と異なる試料を用いて 5 回測定し、その平均値を算出した。

(4) 耐酸性能に対する評価を行うため、同一歯の頬面を 2 分割し、周囲をレジンで包埋した。より臨床的な環境下でナノシール[®]の耐酸性能を観察するために、ヒト歯を用いて実験を行った。ヒト歯の使用については、それぞれの歯の抜去前の口腔内環境が異なるため、個体差が大きく影響するという報告もあ

る。従って、本研究では、それぞれの歯の表層を研磨除去、さらに同一歯の同一面を分割し個体内に各実験群を設定し、個体差ができるだけ影響しない条件下で比較することとした。新鮮エナメル質をだすため、鏡面研磨を行った後、無作為に一方をナノシール群、もう一方を無処理群とした。次に、2時間コーラに 37 ± 1 で浸漬した後、FE-SEMを用い、表面観察を行った。ついで、縦断面の観察を行った。今度は、歯軸と平行に歯冠を、頬面と舌側面の2つに分割した。無作為に、一方をナノシール[®]塗布群、もう一方を無処理群とした後、それぞれの試験体の半面をトップコートで覆い、対照面とした。2時間コーラに浸漬した後、作用面をレジンで覆って保護し、歯軸と垂直方向に分割した。これらの試料に対し、FE-SEM観察およびEDSによる元素分析(Ca, P)を行った。

(5) 再石灰化に対する評価を行うため、採取した歯の頬面を分割し、即時重合レジンで包埋後、鏡面研磨を行い、新鮮エナメル質を露出させ、エナメル質試料とした。まず、これを 37 ± 1 の恒温槽内で炭酸飲料水(pH2.7)に2時間浸漬し、コントロール試料を作製した。次に、これらの試料に対し、ナノシール[®]を塗布する群(ナノシール群)としない群(無処理群)とに分け、再石灰化液(pH : 7.0、Ca : 3.0mM、P : 1.8mM、NaCl : 150mM、カルボキシメチルセルロース : 1%)に浸漬し、 37 ± 1 の恒温槽内に1週間静置した。その後、ナノシール群に関しては再度塗布を行い、両群ともさらに1週間、再石灰化液に浸漬した。これらを白金蒸着後、FE-SEMを用い、表面観察を行った。

次に、ナノシール[®]群については、同様の処理を1つの標本内で段階的に行い、連続した試料として観察を行った。

4. 研究成果

(1) ナノシール[®]塗布前の健全エナメル質および塗布後の歯面の状態を確認した。ナノシール[®]塗布後は、エナメル質表層が、 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 程度の粒子様の析出物で覆われている様子が確認できた。

(2) ナノシール[®]のA液におけるカルシウムフルオロアルミノシリケートガラスの粒度分布を測定した。平均粒子径はおよそ $0.378 \mu\text{m}$ であり、最大粒子径は $1.004 \mu\text{m}$ であった。同様の測定を3回行ったが、いずれも類似した粒度分布状態を示していた。

(3) ナノシール[®]の混合時および歯面塗布後のpH変化を確認した。A液、B液を混合すると、すみやかにpHは上昇した。その後、60秒経過時点でその変化は緩やかになり、そのpHの値は約 $\text{pH } 3.5 \pm 0.05$ を示していた。一方、ナノシール[®]を混合し、5秒後に歯面上に塗布すると、直ちにpH4付近まで上昇し、

その後は非常に緩やかに上昇し、60秒後には $\text{pH } 4.2 \pm 0.06$ であった。ナノシール[®]は2液からなる製剤で、A液はカルシウムフルオロアルミノシリケートガラスの分散液、B液はリン酸溶液で構成される。ナノシール[®]は歯面塗布直前に両液を混合して使用するが、両液の混合液のpHは混合から60秒間の間に2付近から4付近まで徐々に上昇していく。すなわちナノシール[®]は、分散液の形態をしてはいるものの、基本的にはシリケートガラスとリン酸の混合により得られるシリケートセメントの一種であり、両液を混合することでガラスとリン酸の酸塩基反応が起こる。つまり、ナノシール[®]はガラスがリン酸の酸を消費する形で反応が進み、その結果混合液のpHが上昇する。

しかし、ナノシール[®]を歯面に塗布すると、本実験で示したように、塗布とほぼ同時に歯面上のpHが4付近まで上昇していた。このことは、ナノシール[®]を混合塗布すると、未反応のリン酸により、塗布された歯面が一時的に脱灰を起こすことを示している。この作用により、歯面上に生成された析出物は、FE-SEMによる観察により、 $0.1 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 程度の粒子であることが確認された。この粒子の大きさはナノシール[®]のA液の粒度分布の測定結果と近似していることから、歯質の成分を取り込んだ形でナノシール[®]の反応生成物が歯面上に生成され、歯面を一体化するように覆っていると考えられる。

また、ナノシール[®]は歯面塗布後、時間が経過してもpH4を示していた。しかし、実際の口腔内では、塗布後の水洗および唾液による緩衝作用により混合液による歯面脱灰は、長時間行われないと考えられる。

(4) 耐酸性能については以下の成果が得られた。表面観察において、無処理群では、炭酸飲料水に浸漬後、エナメル小柱構造が露出していた。一方、ナノシール群では、スムーズな面が維持されていた。

縦断面観察においても、FE-SEM画像により、コントロール群は、対照面に比べ、脱灰が進行していた。これに対して、ナノシール群は、脱灰が認められなかった。そこで、EDSによる元素分析を行ったところ、コントロール群では脱灰により歯質表層部からカルシウム、リンが失われており、一方、ナノシール群ではこれらが失われていないことが確認できた。表面および縦断面観察においても、FE-SEM画像により、コントロール群は、対照面に比べ、脱灰が進行していた。これに対して、ナノシール群は、脱灰が認められなかった。これは、ナノシール[®]を塗布することにより歯面上に析出されたカルシウムフルオロアルミノシリケート粒子が、脱灰後も維持されていたためと考えられる。これにより、ナノシール[®]は、20秒間塗布水洗という簡便な操作にもかかわらず、強酸性下条件に耐えていることが示唆された。

(5) 再石灰化についても耐酸性試験と同様に、ヒト歯を使用した。炭酸飲料水(pH:2.7)に2時間浸漬したエナメル質表面(酸蝕)は、激しく脱灰され、FE-SEM 観察よりエナメル小柱の露出が確認できた。これらの酸蝕歯は、再石灰化液に2週間浸漬しても、完全には回復が認められなかった。このことより、炭酸飲料水による酸蝕は、通常の口腔内では、自然に回復することが難しいことが示唆される。

一方、ナノシール®を酸蝕面に塗布すると、FE-SEM 観察より露出したエナメル小柱構造は認められなくなり、平滑なエナメル質が観察された。これは、ナノシール®を歯面に塗布すると、歯質の成分を取り込んだ形でナノシール®の反応生成物が歯面上に生成され、歯面を一体化するように覆っているためと考えられる。次に、再石灰化液に浸漬したところ、FE-SEM 観察よりエナメル質表面に平滑化がさらに促進される様子が確認できた。今回、ナノシール®で行った同一標本内での観察により、炭酸飲料浸漬によりみられた着色が、ナノシール®塗布および再石灰化液浸漬の時間経過を追うごとに目視観察で着色が改善されていた。

ナノシール®を塗布した歯面はエナメル質表層下脱灰病変の再石灰化効果を促進することが以前にも報告されており、今回のように強い酸蝕を受けた歯質の回復にも同様の効果があったと考えられる。

知覚過敏抑制材であるナノシール®は、酸蝕歯治療の1つの手段としての可能性が示唆された。今後は、臨床で口腔内に応用し、さらなる検討が必要と考えている。

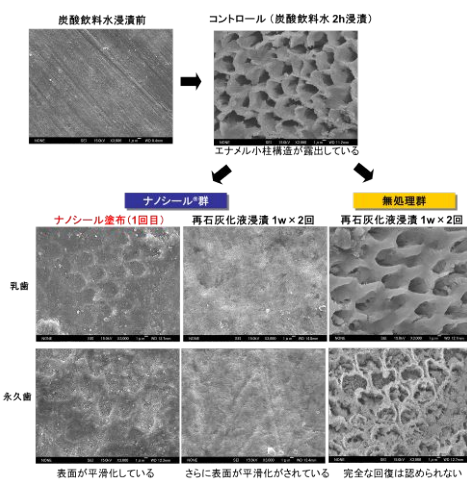


図1 再石灰化液浸漬後のエナメル質表面観察像

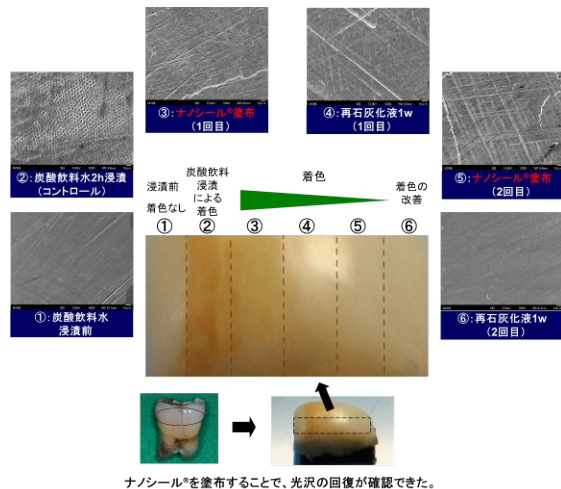


図2 再石灰化液浸漬後の目視像および表面観察像

<引用文献>

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

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 1 件)

柏村晴子、試作フッ素系ナノシール剤の耐酸性の向上に関する研究、小児歯科学雑誌、52(1)、2014、26-37

〔学会発表〕(計 1 件)

Haruko Kashiwamura、Yasuomi Hayama、Masao Ozaki、Study of dental caries prevention by new material(Nano Seal)、韓国小児歯科学会

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏村 晴子 (KASHIWAMURA, HARUKO)
福岡歯科大学・成育小児歯科学分野・助教
研究者番号：20425268

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：