

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293413

研究課題名(和文) bFGF徐放能と自浄機能を有するマルチファンクション型軟質リライン材の開発

研究課題名(英文) Development of a multi-function soft denture liner having bFGF-controlled release and self-cleaning functions

研究代表者

村田 比呂司(MURATA, Hiroshi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・教授

研究者番号：40229993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：高度に吸収した顎堤を有する義歯難症例患者には、粘膜調整・ダイナミック印象と長期軟質リラインを一つの材料で行えることが理想である。本研究では自浄(セルフクリーニング)機能と粘膜創傷治癒促進機能を有する光重合型マルチファンクション型軟質リライン材の開発を目的とした。

研究期間内では主として本リライン材の組成と硬化進行中の動的粘弾性との関係および本材の構成成分であるモノマーが破骨細胞に及ぼす影響について検討した。その結果、本材の液成分として有効と推察されるモノマーと可塑剤を選択することができた。本研究から得られた知見はマルチファンクション型軟質リライン材の開発に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is desirable that the denture patients who have severe alveolar bone loss are supplied with one soft denture liners with the multi-function of tissue conditioning, dynamic impression taking and long-term soft lining. The purpose of current study is to develop light-polymerized and multi-function soft denture liner having self-cleaning and mucosa-healing acceleration functions.

Relationship between the composition and dynamic viscoelastic properties during setting, and influence of monomers on osteoclast differentiation were mainly determined during the period of this research. The monomers and plasticizers that would be effective in the liquids composition were determined. The results obtained in the present study would contribute to the development of the new type of multi-function soft denture liner.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：歯学 補綴・理工系 有床義歯補綴学 軟質リライン材 レオロジー 動的粘弾性 光重合

### 1. 研究開始当初の背景

超高齢社会を迎え、以前よりも義歯補綴に不利な形態をした顎堤（高度顎堤吸収、被圧縮性の低下した義歯床下粘膜）や褥瘡性潰瘍等の病変を有する患者が増え、さらに訪問歯科診療も増加している。このような義歯難症例患者には、粘膜調整・ダイナミック印象と長期軟質リラインを一つの材料で、かつ直接法で行えることが理想と考えられる。さらに汚れに対する自浄（セルフクリーニング）機能と薬理的に粘膜治癒促進機能を有する材料が存在すれば、義歯治療成績の向上と治療期間の短縮が期待できる。

### 2. 研究の目的

本研究では、国内外通じて初の試みとなる粘膜調整・ダイナミック印象と長期軟質リラインを一つの材料で行う光重合型マルチファンクション機能、生体活性物質(bFGF)による粘膜創傷治癒促進機能、ナノ複合化光触媒による自浄（セルフクリーニング）機能、フッ素系モノマーによる高耐久化機能の4つの機能をもつ新規軟質リライン材の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究では上述した新規軟質リライン材の開発のため種々の実験を行ったが、主な実験のみ以下に示す。

#### 硬化進行中の動的粘弾性の評価

本研究で開発を目指すのは光重合型軟質リライン材である。液成分はモノマーと可塑剤で構成されている。本実験では液剤として刺激性の少ないモノマーである iso-butyl methacrylate (i-BMA) と 2-ethylhexyl methacrylate(2-EHMA)、および安全性の高い可塑剤である tributyl acetyl citrate (ATBC)を用いた。光重合型とするため還元剤として ethyl p-dimethylaminobenzoate (EDB)、光増感剤として camphorquinone (CQ) を微量加えた。粉末成分として ethyl methacrylate と butyl methacrylate の共重合体を使用した。

本実験に用いた液成分の組合せ

Code	Composition (wt%)	
	i-BMA	ATBC
A	0	100
B	25	75
C	50	50
D	75	25
E	100	0

測定にはレオメーター（AR-G2, TA インストルメント社製）を用いた。各試料を 15 秒間練和後、37 における硬化進行中の動的粘弾性を計測した。測定ジオメトリーは直径 20mm のフラットプレートとし、ギャップ 1mm、周波数 1Hz の条件で、粉と液を混和後 30 分間、各試料 5 回ずつ計測した。なお硬化時間

は練和開始後、 $\tan \delta = 1$  となるまでの時間とした。

得られた結果は一元配置分散分析および SNK-test による多重比較で統計処理を行った。

#### 破骨細胞分化

一般的にモノマーは活性酸素種の産生により、酸化ストレスの増大を生じたり、炎症反応を惹起したり、細胞の増殖・分化を抑制することなどが知られている。本実験では義歯床のモノマーとして使用される 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) および triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA) の破骨細胞分化に及ぼす効果について解析を行い、細胞内シグナルに関する分子メカニズムについて詳細に検討した。

マウス大腿骨より骨髄細胞を採取し、10%FBS 含有および M-CSF を添加した MEM 中で 37  $CO_2$  下で 3 日間培養してマクロファージを誘導し、一定の細胞数 ( $2 \times 10^4$  cell/ml) に RANKL 刺激下で HEMA および TEGDMA を一定の濃度 (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0mM) で加えた。37  $5\%CO_2$  下で 3 日間培養後、細胞毒性を測定するため Cell count kit8 およびマイクロプレートリーダーを用いて細胞数をカウントし、各濃度における細胞生存率を比較・検討した。また、各濃度における破骨細胞の分化能を比較するために TRAP 染色を行い、多核細胞数をカウントした。さらに cell lysate を抽出して破骨細胞の分化マーカーやシグナル因子の発現におけるモノマーの効果を Western Blot 法を用いて解析した。さらに、骨吸収観察用のプレートを用いて各モノマーの骨吸収活性に及ぼす影響について観察を行った。

### 4. 研究成果

#### 硬化進行中の動的粘弾性の評価

測定結果の一例を図 1 に示す。

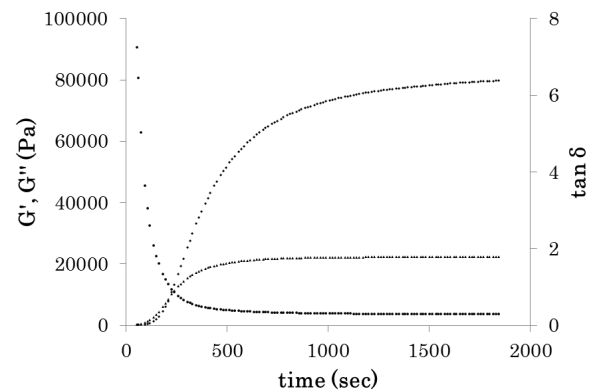


図 1 試作光重合型軟質リライン材の硬化挙動の一例

硬化時間はモノマーの含有量が増すと指数関数的に減少する傾向であった(図 2、3)。市販リライン材の硬化時間も測定したが、58 ~ 651 秒であった(日歯理工誌 2016 ; 35 :

91)。この硬化時間の範囲に入る材料は 2-EHMA の BCDE , i-BMA の Bであった(図 4)。

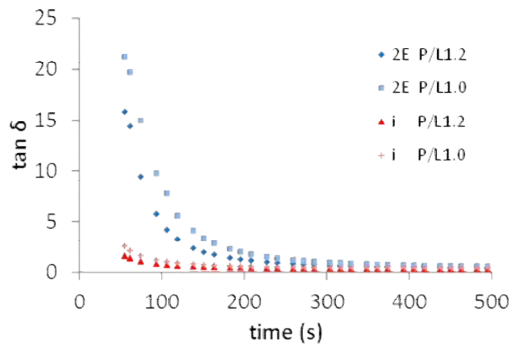


図 2 モノマーの種類、粉液比と損失正接との関係  
(2E: 2-EHMA、i: i-BMA、ATBC 50%)

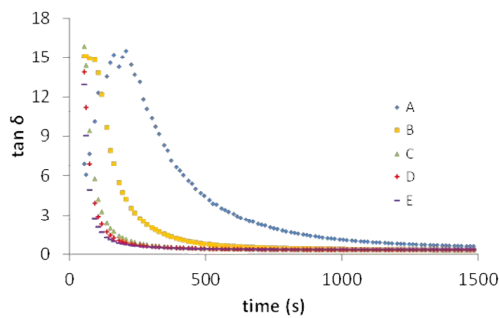


図 3 可塑剤とモノマーの割合と損失正接との関係  
(2-EHMA、P/L:1.2)

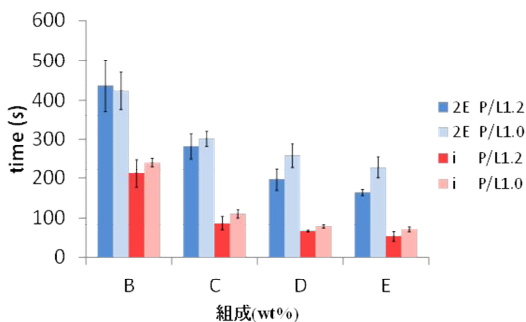


図 4 各材料の硬化時間  
(2E: 2-EHMA、i: i-BMA)

硬化時間に対する各因子の寄与率を算出したところ、モノマーの種類が 50.7%、モノマーと可塑剤の割合が 41.4%、粉液比が 1.2%であった。

以上の結果より、本研究で開発を目指す光重合型軟質リライン材はモノマーと可塑剤含有量の割合(組成)、粉液比を変化させることで硬化時間をコントロールできることが示唆された。また寄与率からモノマーの種類、組成の影響が大きいことがわかった。本材のモノマーとして適しているのは 2-EHMA

であると考えられる。

### 破骨細胞分化

TRAP 染色による破骨細胞分化の解析では、マウス大腿骨由来マクロファージにおいて、HEMA および TEGDMA は 0.1~0.2mM までの低濃度で破骨細胞分化を抑制した。しかし、両モノマーとも 2mM の高濃度でも細胞毒性を殆ど示さなかった。破骨細胞の骨吸収能の解析では、HEMA、TEGDMA とともに濃度依存的に吸収能の抑制が認められた。Western Blot 法を用いた分化マーカーおよび特異的リン酸化シグナル因子の解析では、種々の特異的マーカータンパクにおいて濃度依存的に抑制を認め、特に NFATc1、c-Src、カテプシン K において著明な抑制を示した。特異的リン酸化抗体を用いた細胞内シグナルに関する解析においても、各種因子において抑制傾向が認められ、特に HEMA では p-ERK、p-JNK で、TEGDMA では p-Akt、p-JNK で著明な抑制が示された。図 5、6 に結果の一部を示す。

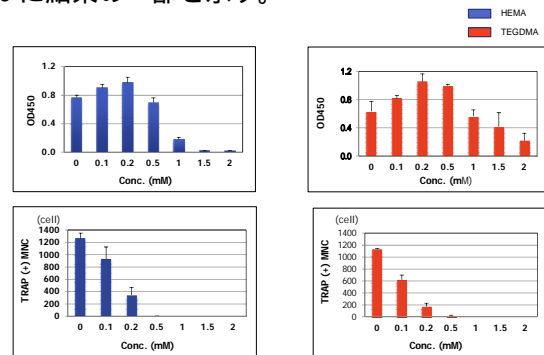


図 5 RAW264.7 における毒性試験および TRAP 陽性細胞数のカウント結果

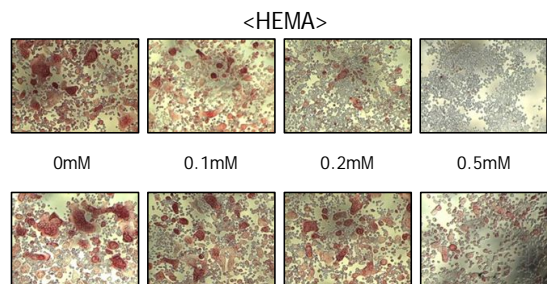


図 6 各濃度における TRAP 染色後の写真 (RAW264.7)

以上の結果より、歯科用モノマー HEMA および TEGDMA は 0.5mM までの低濃度では破骨細胞に対して低い毒性を示しながらも、強い破骨細胞分化抑制効果が認められ、骨吸収抑制作用が期待出来る可能性が示唆された。

上記、2つの実験および以下に示す発表論文等から得られた知見は、マルチファンクション型軟質リライン材の開発に寄与するものと考えられる。

## 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 25 件)

- 1) Inamitsu H, Okamoto K, Sakai E, Murata H, Tsukuba T. Journal of Applied Toxicology (accept). 2017 Jan 26. doi: 10.1002/jat.3429. [Epub ahead of print]. (査読有).
- 2) 村田比呂司、緒方敏明. シリコン系軟質リライン材「ジーシー リライン II」による有床義歯内面適合法 義歯の機能を向上させるために. GC CIRCLE. 185, 23-29, 2016. (査読無 依頼論文).
- 3) 村田比呂司、鳥巢哲朗、黒木唯文. 義歯調整 update リーフ、咬合調整からリライン、不安定な顎位への対応まで. 歯界展望. 42(2), 444-470, 2017. (査読無 依頼論文).
- 4) 村田比呂司、緒方敏明. 常温重合型シリコン系軟質リライン材の間接法による技工のポイント. 日本歯科技工学会雑誌 (投稿中). (査読無 依頼論文).
- 5) Wang W-Q, Hong G, Han J-M, Murata H, Sasaki K. The effect of crude drugs on the angiogenic property and dynamic viscoelasticity of PEMA-based soft polymer materials. Dental Materials Journal (accept). (査読有).
- 6) Suehiro F, Ishii M, Asahina I, Murata H, Nishimura M. Low-serum culture with novel medium promotes maxillary / mandibular bone marrow stromal cell proliferation and osteogenic differentiation ability. Clinical Oral Investigation (accept). 2017 Feb 16. doi: 10.1007 / s00784-017-2073-7. [Epub ahead of print]. (査読有).
- 7) Tanaka M, Bruno C, Jacobs R, Torisu T, Murata H. Short-term follow-up of masticatory adaptation after rehabilitation with an immediately loaded implant-supported prosthesis: a pilot assessment. International Journal of Implant Dentistry (accept). Doi: 10.1186 / s40729 - 017 - 0070 -x. (査読有).
- 8) Takase K, Watanabe I, Kurogi T, Murata H. Evaluation of glass transition temperature and dynamic mechanical properties of autopolymerized hard B11direct denture reline resins. Dental Materials Journal 34, 211-218, 2015. (査読有).
- 9) 村田比呂司、志賀 博、大久保力廣 他 16名. 高齢者の栄養障害に義歯装着がもたらす効果と高齢義歯装着者への摂食・栄養指導のガイドラインに関するプロジェクト研究. 日本歯科医学会誌 34, 54-58, 2015. (査読無 依頼論文).
- 10) 村田比呂司、高瀬一馬. 総論・理論編 3 義歯の維持・安定不良の原因と対策. (村田比呂司、馬場一美 編、補綴臨床別冊 なぜ壊れ、どう直すのか DENTURE REPAIR 部分床義歯・全部床義歯・インプラントオーバーデンチャー)、42-51, 2015. (査読無 依頼論文).
- 11) 黒木唯文、小関優作、村田比呂司. 実践編 14 軟質リライン義歯の修理. (村田比呂司、馬場一美 編、補綴臨床別冊 なぜ壊れ、どう直すのか DENTURE REPAIR 部分床義歯・全部床義歯・インプラントオーバーデンチャー)、137-141, 2015. (査読無 依頼論文).
- 12) Okuyama Y, Shiraishi T, Yoshida K, Kurogi T, Watanabe I, Murata H. Influence of composition and powder/liquid ratio on setting characteristics and mechanical properties of autopolymerized hard direct denture reline resins based on methyl methacrylate and ethylene glycol dimethacrylate. Dental Materials Journal 33, 522-529, 2014. (査読有).

[学会発表](計 42 件)

- 1) 江越貴文, 村田比呂司. シリコン系軟質リライン材と義歯床用金属との接着強さに対する水中浸漬時間と熱負荷試験が与える影響. 第 35 回 日本接着歯学会学術大会. 平成 28 年 12 月 3,4 日. 北海道大学学術交流会館 (北海道、札幌市).
- 2) 村田比呂司. 間接法を用いた軟質裏装材による下顎総義歯の裏装. 平成 28 年度公益社団法人 日本補綴歯科学会九州支部 診療報酬改定セミナー. 平成 28 年 11 月 2 日. 福岡県歯科医師会館 (福岡県福岡市). (招待講演).
- 3) 村田比呂司. 「軟質材料を用いる有床義歯内面適合法」の基礎と臨床. 平成 28 年度第 1 回佐伯市歯科医師会学術講演会. 平成 28 年 10 月 1 日. 三余館 (大分県佐伯市). (招待講演).
- 4) Murata H. Revision proposal for ISO 10873:2010 Denture adhesives. 52nd annual ISO/TC 106 meeting. 2016.9.15. Tromsø (Norway). (招待講演).
- 5) 北川幸郎, 吉田和弘, 黒木唯文, 江越貴文, 山下利佳, 中村康司, 三海正人, 村田比呂司. 軟質リライン材およびティッシュコンディショナーの熱分析および動的粘弾性の評価. 平成 28 年度日本補綴歯科学会九州支部、中国・四国支部合同学術大会. 平成 28 年 9 月 4 日. 熊本県歯科医師会館 (熊本県熊本市).
- 6) 村田比呂司. THE SOFT LINING 軟質リラインの本質. 島原南高歯科医師会学術研修会. 平成 28 年 8 月 31 日. 島原南高歯科

- 医師会館(長崎県島原市)。(招待講演)。
- 7) 村田比呂司. 間接法を用いた軟質裏装材による下顎総義歯の裏装. 平成 28 年度公益社団法人 日本補綴歯科学会関西支部 診療報酬改定セミナー. 平成 28 年 8 月 27 日. 大阪歯科大学 天満橋学舎 100 周年記念館(大阪府大阪市)。(招待講演)。
  - 8) 稲光宏之, 山田真緒, 黒木唯文, 村田比呂司. 歯科用レジンモノマーによる破骨細胞分化抑制に伴う骨吸収抑制作用. 日本歯科理工学会九州地方会. 平成 28 年 8 月 19 日. ホテルアルモーニサンクス(福岡県北九州市)。
  - 9) 村田比呂司. 「軟質材料を用いる有床義歯内面適合法」の基礎と術式. 平成 28 年度香歯ポストグラジュエートセミナー(香川県歯科医師会). 平成 28 年 8 月 7 日. 香川県歯科医療専門学校(香川県高松市)。(招待講演)。
  - 10) 稲光宏之, 高瀬一馬, 黒木唯文, 村田比呂司. 歯科用レジンモノマーによる破骨細胞分化に及ぼす影響. 第 125 回日本補綴歯科学会学術大会. 平成 28 年 7 月 9 日. 石川県立音楽堂, ANA クラウンプラザホテル金沢(石川県金沢市)。
  - 11) 村田比呂司. 軟質リライン材の臨床. 天草郡市歯科医師会学術講演会. 平成 28 年 7 月 2 日. 天草プラザホテル(熊本県天草市)。(招待講演)。
  - 12) 村田比呂司. 有床義歯床下粘膜調整処置と軟質材料を用いる有床義歯内面適合法. 広島県歯科医師会 新規保険導入に関する講習会 併催 第 2 回広島市歯科医師会学術講演会. 平成 28 年 6 月 12 日. 広島県歯科医師会館(広島県広島市)。(招待講演)。
  - 13) 村田比呂司. 「THE SOFT LINING」から読み解く軟質リライン義歯. 義歯軟質材料保険適用対策&コンフォート活用術セミナー. 平成 28 年 6 月 4 日. 梅田パシフィックビル(大阪府大阪市)。(招待講演)。
  - 14) 森智康, 高瀬一馬, 吉田和弘, 黒木唯文, 村田比呂司. 市販ダイナミック印象併用型リライン材のレオロジー的性質 練和直後の硬化特性について. 第 67 回日本歯科理工学会学術講演会. 平成 28 年 4 月 16, 17 日. 九州大学医学部 100 年講堂(福岡県福岡市)。
  - 15) 村田比呂司. ダイナミック印象を応用した軟質リライン(裏装)-基礎と臨床-. 平成 27 年度大川三潁歯科医師会学術講演会. 平成 28 年 3 月 5 日. 大川三潁歯科医師会館(福岡県三潁郡)。(招待講演)。
  - 16) 村田比呂司. 「THE SOFT LINING」の読み方. THE SOFT LINING -軟質リラインの本質- 出版記念スペシャルトーク LIVE. 平成 28 年 2 月 21 日. 品川グランドcommons(東京都品川区)。(招待講演)。
  - 17) 村田比呂司. ダイナミック印象を応用した軟質リライン-基礎と臨床-. 長崎県保

- 険医協会歯科研究会講演. 平成 27 年 11 月 18 日. フコク生命ビル(長崎県長崎市)。(招待講演)。
- 18) 村田比呂司. リライン材, ティッシュコンディショナー, 義歯安定剤の基礎と効果的臨床応用. 2015 九州デンタルショー研修会. 平成 27 年 5 月 31 日. マリンメッセ福岡(福岡県福岡市)。(招待講演)。
  - 19) 江越貴文, 林 太郎, 黒木唯文, 渡邊郁哉, 村田比呂司. シリコン系軟質リライン材と義歯床用金属との接着強さに対する水中浸漬時間が与える影響. 第 65 回日本歯科理工学会学術講演会. 平成 27 年 4 月 12 日. 仙台市情報・産業プラザ(宮城県仙台市)。
  - 20) 稲光宏之, 高瀬一馬, 黒木唯文, 村田比呂司. HEMA および TEGDMA の破骨細胞分化に及ぼす影響. 第 64 回日本歯科理工学会学術講演会. 平成 26 年 10 月 4, 5 日. アステールプラザ(広島県広島市)。
  - 21) Murata H. Importance of soft liners and superiority of “Comfort” Dynamic impression by tissue conditioner. 平成 26 年 6 月 27 日. ホーチミン市医科薬科大学 (Vietnam, Ho Chi Minh City)。(招待講演)。
  - 22) 田中美保子, 鳥巢哲朗, 田中利佳, Reinhilde Jacobs, 村田比呂司. グルコセンサー®を用いた咀嚼能率測定法に関する検討. 日本補綴歯科学会第 123 回学術大会. 平成 26 年 5 月 23~25 日. 仙台国際センター(宮城県仙台市)。

〔図書〕(計 5 件)

- 1) 村田比呂司. 無歯顎補綴治療学 第 3 版(市川哲雄, 大川周治, 平井敏博, 細井紀雄 編) 第 12 章 IV リライン, V リベース, VI 咬合面再形成). 医歯薬出版, 東京, 254-262, 2016.
- 2) 濱田泰三, 村田比呂司 編著; 櫻井 薫, 水口俊介, 河相安彦, 木本克彦, 黒木唯文他 著. THE SOFT LINING 軟質リラインの本質. デンタルダイヤモンド社, 東京, 総ページ数 192, 2016.
- 3) 村田比呂司, 馬場一美 編. 補綴臨床別冊 なぜ壊れ, どう直すのか DENTURE REPAIR 部分床義歯・全部床義歯・インプラントオーバーデンチャー. 医歯薬出版, 東京, 総ページ数 174, 2015.
- 4) 村田比呂司, 江越貴文, 黒木唯文. 臨床編 10 章 義歯と接着 2 有床義歯の接着技法 3) リライン材と床用レジンとの接着(日本接着歯学会編, 接着歯学 第 2 版). 医歯薬出版, 東京, 90-92, 2015.

〔その他〕

新聞報道: 村田比呂司. 2014 年 8 月 31 日. 朝日新聞「長寿につながる義歯と口腔ケア習慣 長崎大学歯学部生と学ぶ正しい義歯のケア」。

ISO/TC 106 Dentistry の SC2/WG10 (Resilient lining materials)において、Inter laboratory test を行い、国際規格(ISO 10139-1: 2005)改訂作業に貢献した。

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

村田 比呂司 (MURATA, Hiroshi)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・  
教授  
研究者番号：40229993

### (2)研究分担者

小椎尾 謙 (KOJIO, Ken)  
九州大学・先導物質化学研究所・  
准教授  
研究者番号：20346935

筑波 隆幸 (TSUKUBA, Takayuki)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・  
教授  
研究者番号：30264055

洪 光 (HONG, Guang)  
東北大学・歯学研究科・准教授  
研究者番号：70363083

山下 利佳 (YAMASHITA, Rika)  
長崎大学・病院(歯学系)・助教  
研究者番号：50336179

### (3)連携研究者

吉田 和弘 (YOSHIDA, Kazuhiro)  
長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・  
助教  
研究者番号：70530418

### (4)研究協力者

稲光 宏之 (INAMITSU, Hiroyuki)