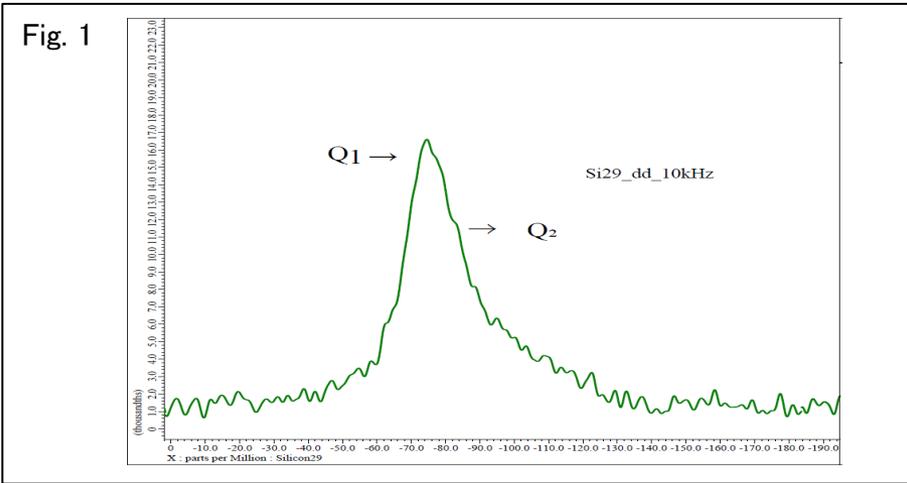


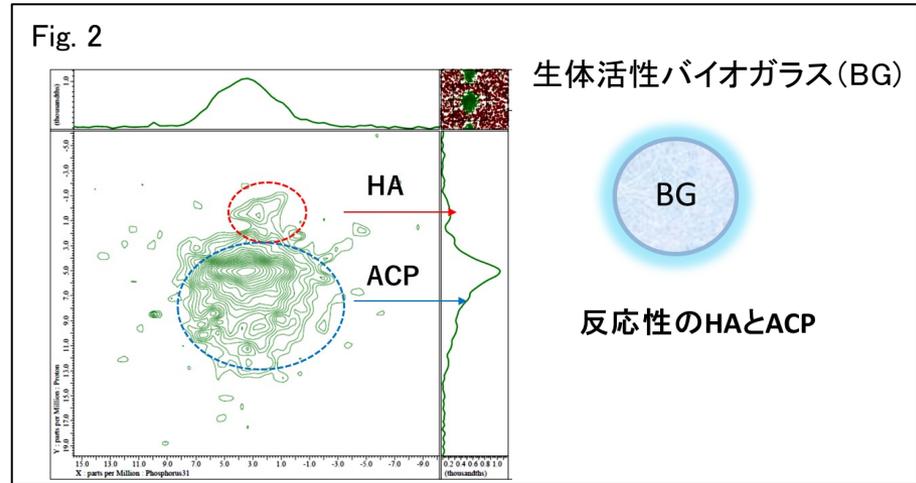
実施課題名: 生体活性ガラスの歯質欠損修復機能の解析

【背景】
 むし歯治療は依然として「削って詰める」という従来手法に留まっており、使用される材料は生体不活性で生体組織との結合性に欠ける。本研究では、1450ppm歯磨剤のフッ化物効果をNMR分析で評価し、予防歯科の新たなエビデンスを提供すること、生体活性ガラスを用いた自己修復型の石灰化アプローチを探索することを目指す。特に、ガラスが放出するイオンの徐放特性や石灰化メカニズムを固体NMRを用いて解析し、低結晶性ミネラル構造の解明と臨床応用の可能性を検証する。

【実施内容】
 本研究では、むし歯部位の再石灰化促進性および蝕原因菌抑制性を持つ新規生体活性ガラスを用いた実験モデルを構築した。亜鉛を含有する生体活性ガラスについて、 ^{29}Si NMRで化学シフト(Q1-Q3)を基にネットワーク構造への影響を解析した(Fig. 1)。また、酸性環境(pH 4.5)および中性条件で浸漬試験を行い、酸性環境下でのみ加水分解が進行し、抗菌性イオンの選択的放出が可能であることを ^1H - ^{29}Si CP MAS NMRで確認した。さらに、 ^{31}P CP MAS NMRを用い、生体活性ガラスを疑似体液中に浸漬し、リン酸カルシウム化合物の構造を評価した。この方法により、従来のグレースケール評価法に比べ詳細な情報が得られた(Fig. 2)。また、溶液 ^{19}F NMRにより、MPF、NaF、 SnF_2 を含む歯磨剤中のフッ化物成分の溶出挙動と歯質粉との相互作用を解析し、歯質強化に与えると考えられるフッ化物濃度を評価した。



亜鉛を含有する生体活性ガラスの ^{29}Si NMRで化学シフト



生体ガラス活性ガラス界面の、アモルファスリン酸カルシウム(ACP) ハイドロキシアパタイト(HA)の生成

NMR プラットフォーム
実施課題 利用報告書

課題受付番号	PF22-01-053		
利用課題名	生体活性ガラスの歯質欠損修復機能の解析		
所属機関	東京科学大学		
所属部署	大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野		
役職・氏名	役職	講師	氏名 平石典子
利用実施時期、及び期間	2023年1月～2024年12月 総利用日数: 9日 <input checked="" type="checkbox"/> 当初計画どおり・ <input type="checkbox"/> 当初計画変更 (変更理由)		

1. 本課題の概要・目的

現代の医療技術が進展する中でも、むし歯治療は「削って詰める」という従来の手法に留まっている。むし歯による欠損部位を修復する際に用いられるメタルやレジンなどは生体不活性材料であり、生体組織と結合することも吸収されることもない。申請者らは、以下の2点に注力している。1つ目は、予防歯科としてのフッ化物の効果に関する新たなエビデンスの提供である。特に、近年認証された1450ppmの歯磨剤が実際に歯質に有効か否かをNMR分析技術を用いて検討する。2つ目は、進行したむし歯部位に対し、生体活性ガラスを用いて充填し、ガラス表面に生体ハイドロキシアパタイト様のミネラルマトリックスを形成・成長させることで、石灰化機能を利用した自己修復的アプローチを模索する。本研究では、生体活性ガラスが放出する亜鉛、ストロンチウム、フッ素などのイオンのpH依存的な徐放を評価後、生体活性ガラス表面(界面)の、石灰化メカニズムに着目する。固体NMRを活用し、アパタイト中の高結晶性コアや低結晶性表層へのフッ化物取り込みを解析し、再石灰化プロセスを解明することを目指す。歯科分野で応用が進んでいない固体NMR法および溶液¹⁹F NMRを用いて、フッ素添加型生体活性ガラスからのを駆使して低結晶性ミネラルの構造解析を行い、石灰化機能を持つ自己修復型生体活性ガラスの臨床応用可能性を検証する。

2. 成果の概要

実施内容

本研究では、むし歯部位の再石灰化促進性およびう蝕原因菌抑制性を持つ新規生体活性ガラスを用いた実験モデルを構築した。生体活性ガラスとして、抗菌作用を持つ亜鉛および銅を含有するガラスを追加対象に設定し、まず²⁹Si NMRを用いて主な化学シフト(Q₄:約-110 ppm、Q₃:約-100 ppm、Q₂:約-90 ppm、Q₁:約-80 ppm)を基に、亜鉛および銅の添加がガラスネットワーク構造に与える影響を解析した。また、むし歯環境を再現するためにpH 4.5の酸性環境下およびトリスバッファー中性条件での浸漬試験を実施し、構造変化や抗菌性イオンの選択的放出特性を¹H-²⁹Si CP MAS NMRで評価した。酸性環境下では、生体活性ガラスの表層から加水分解が進行し、¹H-²⁹Si CP シグナルが観測されることを確認した。一方、中性環境ではガラスネットワーク構造が変化せずイオンリリースが発生しないことを示した。これにより、酸性環境下でネットワーク構造が変化(加水分解)し、抗菌性イオンのリリースが可能であることを評価した。さらに、³¹P CP NMRを用いて生体活性ガラス

を疑似体液中に浸漬し、数週間後に測定を実施した。生体活性材料の評価基準としてハイドロキシアパタイト形成性が定義されており、疑似体液(血漿の無機イオン組成と濃度を模倣し、生体材料が体内でどのように振る舞うかを in vitro で予測する溶液)を用いた実験を行った。本研究では、³¹P CP MAS NMR 解析を用いることで、生体活性ガラスの反応性を新しい視点から評価した。この方法により、ガラス表面で形成されるリン酸カルシウム化合物の構造的特徴を高感度で検出し、従来の μ CT などで行われていたミネラル量のグレースケール評価法に比べ、より詳細な情報を得ることができた。また、溶液 ¹⁹F NMR を用いて、フッ素添加型生体活性ガラスからの溶出フッ素、および歯磨剤に含まれるフッ化物成分の溶出挙動を解析した。「モノフルオロリン酸ナトリウム (MPF)」、「フッ化ナトリウム (NaF)」、「フッ化スズ (SnF₂)」の 3 種類を測定し、特に MPF と NaF については、1450 ppm 濃度の歯磨剤中でのフッ化物イオンの有効濃度を評価した。さらに、歯質粉との相互作用によるイオン挙動も分析し、歯質強化への寄与を検討した。

本課題により得られた成果と当初目標との比較

本研究により、生体活性ガラスは健全な歯質では構造劣化を起こさず、酸性環境下でのみ抗菌性イオンを選択的に放出する特性を持つことを確認した。この特性は、むし歯の進行抑制や再石灰化促進に有効であり、歯科用材料としての高い適用可能性を示した。さらに、²⁹Si NMR 分析により、亜鉛および銅の添加がガラスネットワーク構造に与える影響を特定し、これらの添加元素が材料の生体活性や抗菌性を制御する重要な要素であることを示した。ZnO(酸化亜鉛)はガラスのインターメディアイトとして重要な役割を果たし、その化学的特性からガラスネットワークに部分的に組み込まれることを明らかにした。ZnO の添加によりイオン放出特性を調整し、酸性環境下での効果を高めることが可能であるとした。このため、ZnO は歯科材料において再石灰化促進や抗菌効果を付与する目的で有用であることを示した。また、特定の条件下で ZnO がネットワーク構造に参加したり、モディファイアーとして機能することも明らかにした。さらに、¹⁹F NMR を用いた歯磨剤中のフッ化物成分の測定では、MPF がほとんどフリーのフッ素イオンを放出しない一方で、NaF が有効濃度を維持することを確認した。フリーのフッ素イオンのみが反応性を持つため、フッ化物の種類や濃度の選定が、むし歯予防および治療材の効果に直結することを示した。これらの成果は、再石灰化促進材および歯磨剤の改良に大きく貢献するものであり、歯科領域における新たな治療戦略の構築に寄与すると結論付けた。一部の成果については、2025 年 6 月に開催予定の国際歯科研究学会で発表し、国際論文としての投稿準備も進めている。

成果発表

1. Hiraishi N, Gondo T, Shimada Y, Hayashi F. Effect of borate, fluoride and strontium ions on biomimetic nucleation of calcium phosphate studied using solid-state nuclear magnetic resonance and X-ray diffraction. Dent Mater. 2024 Feb;40(2):210–218 doi: 10.1016/j.dental.2023.11.010. (Impact Factor 5)
2. Scientific Evidence on Restorative Ability of S-PRG Filler for Enamel and Dentin Industry-sponsored Symposium (Invited speaker) The 102nd 2024 IADR/AADOCR/CADR General Session & Exhibition the IADR/APR General Session & Exhibition, March 13–16, 2024 招待講演
3. Noriko Hiraishi, Fumiaki Hayashi, Tadamu Gondo, Toru Nikaido, Yasushi Shimada ¹⁹F-NMR Study of Fluoride Reaction of Various Formulations on Enamel. The 102nd 2024 IADR/AADOCR/CADR General Session & Exhibition the IADR/APR General Session & Exhibition, March 13–16, 2024
4. 竹内 梓, 権藤 理夢, Elseoudy Nader, Wang Xinyu, 田村 幸, 林 文晶, 平石 典子, 島田 康史 ストロニウム置換型生体活性ガラスのヒト歯髄幹細胞への影響と、固体 NMR による界面反応性評価 Effects of strontium-substituted bioglasses on human dental pulp stem cells and evaluation of interfacial reactivity by solid-state NMR 第 161 回日本歯科保存学会秋季学術大会 2024 年 11 月

今後の展開

今後の展開として、本研究で得られた NMR 技術の応用を継続し、歯科材料の特性評価および設計指針の確立に貢献する。具体的には、固体 ^{29}Si NMR および ^{31}P NMR を用いてガラスネットワークの構造を精密に解析し、材料内の構造変化や添加元素の役割を詳細に評価することで、抗菌性や再石灰化促進能を持つ新規歯科材料の開発を進める。また、 ^{19}F NMR を活用してフッ化物系材料の動態を解析し、フッ化物の種類や濃度が歯質強化および抗菌性に及ぼす影響を体系的に解明する。この知見を基に、酸性環境下でのイオン放出を制御する材料設計の指針を策定し、歯磨剤やむし歯治療材への実用化を目指す。特に、亜鉛や銅の添加による構造制御が抗菌性および生体活性に与える影響を多角的に検証し、これらの添加元素を組み込んだ材料の歯科応用の可能性をさらに追求する。さらに、得られた成果を固体 NMR 解析を実施している国際的な研究コミュニティと共有し、国際学術誌への論文投稿を通じて、本研究が歯科材料学および治療技術の発展に与えるインパクトを強調する。

3. 社会・経済への波及効果の見通し

過去に分析頂いた固体 ^{19}F NMR にて、フッ素の取り込み状態を精査し、フッ素がフルオロアパタイトとして取り込まれているのか、あるいは CaF_2 として存在するのかを明確にすることができた。この解析により、フルオロアパタイト生成のメカニズムや条件を詳細に議論し、従来の「高濃度フッ化物が必要」という認識を再評価することが可能である。これにより、フッ化物濃度を抑えつつ効果的な歯質強化を実現できる材料設計の方向性を提案できると期待される。社会・経済的な波及効果として、フッ化物使用量の削減は、低濃度フッ化物製品の普及を促進し、高齢者や小児など感受性の高い層への安全性向上に寄与します。さらに、フルオロアパタイト生成を効率化する低濃度フッ化物を利用した歯磨剤や治療材の実用化は、むし歯予防のコスト削減を実現し、低所得地域や発展途上国における歯科ケアの普及に貢献すると考えられる。

4. 利用における感想(改善要望等を含む)

測定および結果解析において専門担当者から丁寧な指導を頂けた点が非常に良かったです。特に、固体 NMR 解析においては装置の操作方法や測定条件の最適化に関する具体的な助言を頂けたことで、スムーズにデータ取得が進み、研究の進展に大いに寄与しました。また、データ解釈においても高度な知見を共有していただき、学術的な視野が広がりました。

5. 今後の NMR プラットフォームに対する期待

充実した設備と専門性の高いサポート体制により、非常に満足度の高い利用経験を得ることができました。今後、同様の解析を必要とする研究チームも増えてくると予想されますが、その際にはぜひ本施設を紹介し、研究者間での活用がさらに広がることを期待しております。

6. 成果公開延期の希望の有無

() あり : (○) なし

「あり」の場合理由:

7. その他

8. 利用施設

理化学研究所

溶液 600MHz

利用期間 1: 2024 年 10 月 30 日 10 時 ~ 2024 年 10 月 31 日 10 時 (1 日利用)

利用期間 2: 2024 年 12 月 25 日 10 時 ~ 2024 年 12 月 26 日 10 時 (1 日利用)

(実利用: 2 日間 利用/ 料金: 2 日間 分)

固体 700MHz

利用期間 1: 2024 年 11 月 20 日 10 時 ~ 2024 年 11 月 22 日 10 時 (2 日利用)

利用期間 2: 2024 年 12 月 03 日 10 時 ~ 2024 年 12 月 05 日 10 時 (2 日利用)

利用期間 3: 2024 年 12 月 10 日 10 時 ~ 2024 年 12 月 11 日 14 時 (1 日 4 時間利用)

利用期間 4: 2024 年 12 月 23 日 13 時 ~ 2024 年 12 月 25 日 10 時 (1 日 21 時間利用)

利用期間 5: 2024 年 12 月 26 日 10 時 ~ 2024 年 12 月 26 日 15 時 (5 時間利用)

9. その他の利用施設

無