

レーザーを用いたアパタイトコーティング技術による 歯表面の生物学的改質

1 北海道大学大学院歯学研究院 歯周・歯内療法学教室, 2 産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門,

3 産業技術総合研究所 電子光基礎技術研究部門

宮治 裕史¹, 大矢根 綾子², 奈良崎 愛子³

Biomodification of tooth surface by laser-assisted apatite coating processes

Hirofumi Miyaji¹, Ayako Oyane², Aiko Narazaki³

1 Department of Periodontology and Endodontology, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University

2 Nanomaterials Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

3 Research Institute for Advanced Electronics and Photonics, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

1. レーザーとアパタイトが歯周病から 歯を救う

日本人の歯を失う最大の要因は歯周病であり、抜歯原因の約40%を占める。歯周病は口腔内に常在する細菌による感染症であり、歯の表面に細菌が付着増殖して歯周組織（歯肉や歯槽骨）に炎症を惹起し、組織破壊によって歯の機能を低下させるほか、細菌性毒素や炎症性サイトカインが全身をめぐり様々な臓器に悪影響を与えることが示されている。除菌治療によって歯周病の治癒を得ることは可能だが、実は見かけ上の治癒であることが多く、一度細菌感染した歯の表面は本来の機能を失っている。歯と骨との強固な組織付着は「食べる」機能のために重要な役割を発揮するが、現在の治療ではこの

付着の再生がほとんど得られないのが現状である（図1）。したがって歯科臨床現場では、歯の表面を生物学的に、かつ簡便に改質し、本来の機能を復元させる新しい歯科医療技術が求められている。本稿ではレーザーを用いて、生体親和性に優れる「アパタイト」の薄膜を用いて歯面をコーティングする2種類の新技术を紹介する。

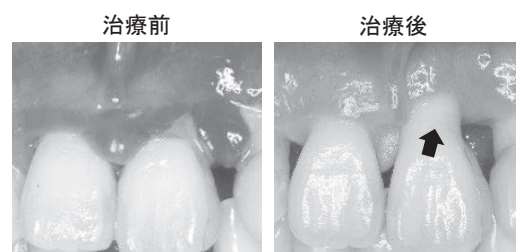


図1 歯周病治療前後の比較。感染した歯の表面が組織付着せずに露出（矢印）

2. レーザー援用バイオミネティック (LAB) プロセスによる歯表面の改質

アパタイトは歯に豊富に含まれるリン酸カル

シウム化合物であり、軟組織、硬組織の両者に対して優れた親和性を有することから、歯科用インプラントのコーティング材等に用いられており、歯周病でダメージを受けた歯面の改質に有効な材料であることが示唆される。そこで筆者らは、歯の表面改質を目的として、レーザー援用バイオミメティック (Laser-Assisted Biomimetic; LAB) プロセスを用いて歯面をアパタイトでコーティングすることを試みた。このプロセスは、過飽和状態のリン酸カルシウム水溶液 (CP 溶液) 中において、歯基材の表面に低エネルギーのパルスレーザー光を照射し、急速な擬似バイオミネラリゼーションを歯表面のレーザー照射域で誘導するものである (図2)^{1, 2)}。歯表面の超微細構造解析の結果によれば、LAB プロセス後の歯基材の表面にはサブミクロンの厚さのアパタイト薄膜が形成され、同膜は基材表面に垂直な方向に弱く c 軸配向した柱状のアパタイトナノ結晶から構成されていた (図3左)²⁾。この薄膜は下地の歯基材と隙間なく一体化していた。本法は簡便 (ワンステップ)

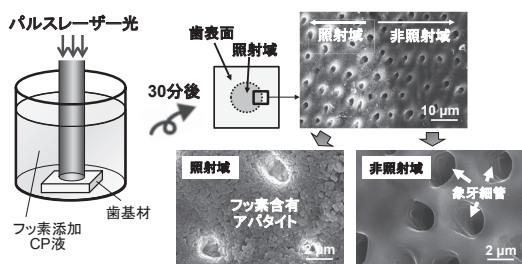


図2 LAB プロセス模式図 (左) と同プロセス後の歯基材のレーザー光照射域・非照射域の走査型電子顕微鏡像 (右)^{1, 2)}

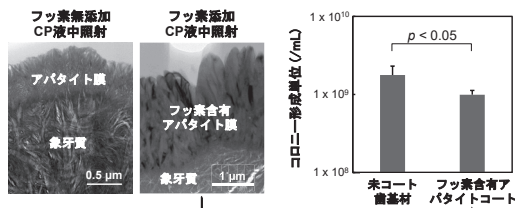


図3 LAB プロセス後の歯基材表層断面 (集束イオンビーム作製試料) の透過型電子顕微鏡像 (左: フッ素無添加 CP 液, 中央: フッ素添加 CP 液) と抗菌試験結果 (右)²⁾

かつ迅速 (30 分以内) であることから、チェアサイドで歯の表面にアパタイトをコーティングするのに適した方法であると考えられた。

また LAB プロセスでは、CP 液中にある種の元素を添加することで、生成されるアパタイトにその元素を取り込ませることができる。著者らはフッ化物イオンの存在下 (フッ素添加 CP 液中)、LAB プロセスを用いて擬似バイオミネラリゼーションを歯表面で誘発した。その結果、歯基材のレーザー照射域にフッ素含有アパタイトがコーティングされ (図2右, 図3中央)、口腔内の主要細菌である *Streptococcus mutans* に対して抗菌性を示した (図3右)²⁾。歯周病原菌をはじめとする各種口腔内細菌に対するフッ化物イオンの抗菌性はこれまでも知られている。フッ素含有アパタイトコーティングによる歯面改質には、歯の表面への細菌の再付着や再増殖を阻止し、歯周組織の治癒を促進する効果が期待される。

3. 光スタンプレーザー転写 (LIFTOP) プロセスによる歯表面の改質

LAB プロセスを用いたアパタイトコーティングは、現状では最短でも 5 分のチェアタイムが必要であり、日常臨床に導入するためには更なるスピードアップが求められる。そこで、筆者らは歯の表面改質に、光スタンプレーザー転写 (Laser-Induced Forward Transfer with Optical stamp; LIFTOP) プロセスの導入を試みた。レーザー転写技術はレーザーアブレーションなどの現象を推進力に物質を転写する手法であり、すなわち事前に衝撃吸収性光スタンプ上に、バイオミメティックプロセス (レーザー非照射下で CP 液に浸漬する従来法) にてアパタイト原料膜を作製し、単一のレーザーパルスの照射によりアパタイト原料膜の一部 (アパタイトマイクロチップ) を歯表面へ転写するものである (図4)^{3, 4)}。LIFTOP プロセスの結果、レーザービームのスポットに対応する形状のアパタイトチップが歯基材上に転写された。転写

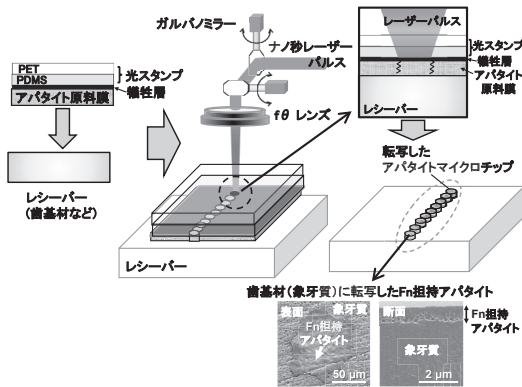


図4 LIFTOPプロセス模式図と歯基材に転写したFn担持アパタイトの走査型電子顕微鏡像(下). 表面観察像(左)と集束イオンビーム作製試料の断面観察像(右)^{3, 4)}

に要する時間は、例えばレーザービーム径100 μm 、パルスくり返し1 kHzでビーム走査し1 mm角にマイクロチップを被覆率約80%で転写した場合、約0.1秒であり、さらにアパタイトチップと歯基材の界面を超微細断面観察したところ、ほとんどの部分で隙間なく良好に接着していた。ただ密着性はレーザー照射やアパタイト原料膜に依存する傾向がみられており、今後さらなるレーザー照射条件の最適化が必要と考えている。

本法はレーザー照射による熱の影響が少ないため、タンパク質などの生体機能物質と組み合わせた多機能アパタイトコーティングに有用である。歯の表面に細胞接着や、増殖分化を促す因子を担持したアパタイトをコーティングできれば、歯と歯周組織の付着再生を促進できる可能性がある。そこで、著者らは細胞接着性タンパク質であるフィブロネクチン(Fn)を担持したアパタイト(Fn-アパタイト)マイクロチップを歯表面に迅速パターン転写(図4下)し、またポリジメチルシロキサン(PDMS)基板上に転写したマイクロチップにCHO-K1細胞を播種培養してアパタイト薄膜へのFn担持の効果を確認した(図5)³⁾。その結果、細胞はFn-アパタイトマイクロチップ上にて良好に付着伸展しており、アパタイトに担持されたFnの細

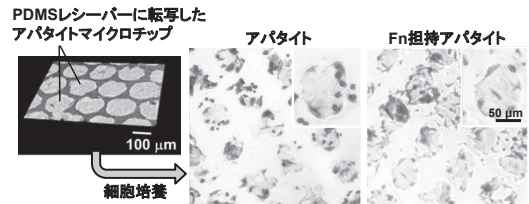


図5 LIFTOPプロセス後の細胞親和性試験結果³⁾

胞接着活性による効果と考えられた。

4. レーザー歯科治療の新時代に向けて

2種類のレーザープロセスによって迅速に歯の表面にアパタイトコーティングできることが実証され、さらにアパタイト薄膜に担持された抗菌物質や生体機能物質が生物学的効果を発揮したことから、これらの技術は歯の表面改質の新技术として歯周病罹患歯を救う新しい治療法に発展する可能性が示された。また本法は、歯の表面が脱灰される、いわゆるむし歯(う蝕)に対する治療法への応用も十分に考えられ、レーザー歯科医療新時代の到来を感じている。

謝辞

本研究はJSPS科研費(20H04541, 19H02635, 19K22991, 17H02093)の助成を受け実施された。

参考文献

- 1) A Oyane et al. Mater Sci Eng C. 2019 105:110061.
- 2) A Oyane et al. Mater Sci Eng C. 2020 116:111170.
- 3) A Narazaki et al. Opt Mater Express. 2019 9: 2807-2816.
- 4) A Narazaki et al. Appl Sci. 2020 10:7984.