

# **A Synthetic Enamel for Rapid Tooth Repair**

Kazue Yamagishi<sup>1, 2</sup>, Kazuo Onuma<sup>3</sup>, Takashi Suzuki<sup>4</sup>, Fumio Okada<sup>4</sup>, Junji Tagami<sup>5</sup>,  
Masayuki Otsuki<sup>5</sup>, Pisol Senawangse<sup>5</sup>

<sup>1</sup> *FAP Dental Institute, 3-2-1, # 502, Kakinokizaka, Meguro-ku, Tokyo 152-002, Japan,* <sup>2</sup> *National Medical Clinic, 5-16-11, Minami Azabu, 202, Minato-ku, Tokyo 106-0047, Japan*      *e-mail: FZT02705@nifty.com*

<sup>3</sup> *National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Institute for Human Science and Biomedical Engineering, Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8565, Japan*

<sup>4</sup> *Department of Applied Chemistry and Biotechnology, Faculty of Engineering, Yamanashi University, 43-11, Takeda, Kofu, Yamanashi 400-8511, Japan*

<sup>5</sup> *Cariology and Operative Dentistry, Department of Restorative Science, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, 5-45, Yushima 1-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8549, Japan*

従来の虫歯治療法は、患部を機械的に切削し修復材であるレジンや合金を詰めるものであったが、この方法ほう蝕領域がマイクロレベルの初期虫歯治療には適さない。その理由は、修復材を機械的に保持するためマイクロな患部以外にも健康な歯の領域まで切削する必要があるためである。我々は今回、何ら機械的な切削なしに初期虫歯を迅速治療する新しい歯科用ペーストを開発し、その効果を検証したので、ここに報告する。

人の歯の最外層はエナメル質と呼ばれる厚さ 1-1.5mm の層からできており、その実体は水酸化アパタイト(-HAP)である。初期虫歯とは、エナメル表層が酸産生細菌によってマイクロレベルで脱灰・崩壊を受けたものであり、従来の虫歯修復材を単に患部に乗せただけでは治療できない。これらの治療剤とエナメル質の間には化学組成及び（結晶）構造の著しい相違が存在し、それが修復材とエナメルとの完全接着を阻害するためである。我々のペーストは 15 分以内に、患部にエナメル質と全く同等のアパタイト結晶を構築できる（方法論と治療例は補助図表を参照のこと）。図 1a はペーストによって治療された下側小臼歯の、断面透過電子顕微鏡(TEM)写真である。ペーストによって患部に再成長した層とエナメルとの境界部付近の画像であるが、境界部には明確な構造的ギャップが存在しないことがわかる。再成長層は、100-400nm の長さ及び 20-80nm の太さからなる一群の柱状結晶が、歯の表面方向に揃って配列した構造を持っているのが確認できる。柱状結晶は界面を横断して存在しており、ペーストが元々のエナメル質と完全に一体化していることを示している。再成長層内の結晶を原子分解能で観察した図 1b から、結晶内の原子配列には二種類の周期性があることがわかる。一つは結晶の伸張方向に 0.688nm の周期、もう一つはこれと垂直方向に 0.817nm の周期で、これらの周期は HAP 結晶における c 軸及び a 軸方向の面間隔と一致する。X 線光電子分光分析の結果を考慮すると、再成長層は F-HAP 結晶が(0001)面を歯の表面方向に揃えて配列した構造からなっていることがわかった（結晶のフッ素イオン濃度は約 1 原子%、Ca/P モル比は  $1.58 \pm 0.03$  である）。再成長層は高い機械的耐久性、及び耐酸性を示す（補助図表を参照のこと）。比較のため、我々はリン酸酸性フッ素溶液(APF)による治療歯の TEM 観察を行った。APF 溶液は、我々のペースト治療と同様、患部の切削なしに初期虫歯を治療できると言われている。図 1c は観察した TEM 画像であるが、エナメル上に厚さ約 1 ミクロンのフッ化カルシウム層が形成され、（我々のペーストによる治療とは異なり）両者の間には明確な構造的ギャップが存在することが判明した。

ペーストによる治療過程で何が起きているのかを詳細に検討するため、時間分割原子間力顕微鏡(AFM)観察を行った。この観察によると、元々のエナメルアパタイト結晶（図 1d）は、ペースト治療の極初期で一旦溶解を受け、その後ペーストを供給源として新たな結晶が再成長する。この溶解-再成長プロセスは、ペーストの母液及びペースト自体の pH が低いために起こる ( $\text{pH} < 2$ )。この過程とエピタキシャル成長が相乗して、エナメルから再成長層までナノスケールで連続した構造が形成される。エナメル上に新たに成長した結晶は、治療開始 3 分後には患部全面を覆い（図 1e）、15 分後には三次元的に厚く積み重なる（図 1f）。酸性条件における結晶成長は、アパタイトの元々の成長单元であるリン酸カルシウムクラスター—これは遅い成長速度と低い結晶性をもたらす—をイオンに解離させ、結果的に F-HAP 結晶を高速で成長させ、且つ高い結晶性を有する状態にする。

我々は今回の報告で、新規開発したペーストが「人工エナメル質」を急速形成することで、初期虫歯を切削なしに治療し且つ予防効果もあることを示した。今回のペーストを生体内で使う際には、ペーストが歯茎に触れないように注意する必要がある。それは、

低い pH と高濃度の過酸化水素によって炎症反応を起こす危険性があるためである。ただし、これらの pH と濃度はすでに現実の歯科治療で使用されている。

## 方法論

ペースト用の母液は 35%過酸化水素水と 85%リン酸を体積比 4:1 で混合して作成する。この母液 2ml に 1.5g のフッ素化アパタイト粉末を混合し、ペーストとする。フッ素化アパタイト粉末は、1g のカルシウム欠損アパタイト粉末（宇部マテリアル製、Ca/P 比=1.64）を 200mM のフッ化ナトリウム溶液に混合して作成する。アパタイト粉末が溶解されたフッ化ナトリウム溶液は 60 度で 1 時間攪拌し、析出物であるフッ素化アパタイトを濾過する。その後、濾過物を純水で洗浄し、110 度で 24 時間乾燥させる。実際の治療では、極少量の母液を患部に塗布し、その液が乾燥しない内に直ちにペーストをその上に塗布する。その際、機械的な掘削は一切行わない。約 15 分間ペーストを作用させると、患部に厚さ約 20 ミクロンのフッ素化アパタイトの層が形成される。APF 治療の際は、通常歯科医院で用いられる APF 溶液（480mM のフッ化ナトリウムで pH が 3.5）を使用手順に従って作用させる。ペーストによって形成されたフッ素化アパタイト層の耐久性試験は、市販の歯ブラシと歯磨き粉を用いてブラッシングマシンによる試験を行った。その際の条件は、ブラシ移動速度が 150rev/min、荷重 200g、ブラッシング距離 30mm、ブラッシング回数 10000 回である。耐酸性試験は *British Standard Specification for Safety Harnesses* の基準に基づいた擬似唾液中で行った。擬似唾液の化学組成は 77 mM NaCl, 4.0 mM KCl, 2.1 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 7.5 mM NH<sub>4</sub>Cl, 3.3 mM urea, 33 mM lactic acid であり、pH は水酸化ナトリウムにより 4.5 に調整されている。ペーストにより再成長した層とエナメル溶解速度は、レーザー共焦点顕微鏡により測定・比較された。

## References

1. Raskin, A., Michotte-Theall, B., Vreven, J. & Wilson, N.H.F. *J. Dent.* **27**, 13-19 (1999).
2. Wilson, N.H.F. & Mjor, I.A. *J. Dent.* **28**, 15-21 (2000).
3. Carvalho, R.M., Pereira, J.C., Yoshiyama, M. & Pashley, D.H. *Operative Dentistry* **21**, 17-24 (1996).
4. Hilton, T.J. *American Journal of Dentistry* **15**, 198-210 (2002).
5. Frank, R. M. & Brendel, A. *Archs. Oral Biol.* **11**, 883-912 (1966).
6. Johnson, N. W. *Caries Res.* **1**, 356-369 (1967).
7. Elliot, J. C. *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. (Elsevier, 1994).
8. Gerould, H. *J. Dent. Res.* **24**, 223-233 (1945).
9. Duschner, H., Gotz, H. & Ogaard, B. *Eur. J. Oral Sci.* **105**, 466-472 (1997).
10. Onuma, K. & Ito, A. *Chem. Matt.* **10**, 3346-3351 (1998).
11. Banfield, J.F., Welch, S.A., Zhang, H., Ebert, T.T. & Penn, R.L. *Science* **289**, 751-754 (2000).
12. Kazue Yamagishi, Takashi Suzuki. *Journal of Esthetic Dentistry*. Vol.7, 78-80 (1995).

## Figure legend

Figure 1 TEM and AFM images of repaired tooth.

a TEM image around interface between re-grown layer and enamel. Pillar crystals grew continuously, and no discontinuous boundary was observed. Upper part of figure corresponds to re-grown layer, and lower, enamel region. Arrow indicates the direction of tooth surface. Scale bar is 100 nm.

b Atomic Image of grown crystal. Scale bar is 1 nm.

c TEM Image of APF treated tooth.  $\text{CaF}_2$  particles cover the enamel apatite crystals; a clear structural gap is seen between them. Scale bar is 100 nm.

d AFM image of original tooth enamel. Polygonal blocks (arrow) seen on the surface are apatite single crystals. Scale bar is 50 nm.

e Image of newly grown F-HAP crystals (arrow) after 3 min of paste repair. Scale bar is 50 nm.

f Surface after repair completed (15 min). Grown F-HAP crystals are stacked three-dimensionally. Scale bar is 100 nm.

Figures

