

持続的抗う蝕性を有する歯科矯正用ジルコニアブラケットの開発

河野博史

鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 歯科生体材料学分野

890-8544 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1

TEL : 099-275-6172

要旨

ワイヤーを用いた歯科矯正治療では、歯の表面にブラケットを長期装着しなければならず、う蝕のリスクが高いことが課題である。そこで、う蝕原因菌に対し、抗菌性を有するブラケットが求められている。我々は、ジルコニアブラケットの添加物であるランタノイドが、歯磨剤等の抗菌成分であるピリジニウム化合物と錯体を形成することを応用して、持続的抗う蝕性を有する歯科矯正用ブラケットを開発することを目的とした。本研究では、その基礎として、ジルコニア表面への抗菌分子である第四級アミンの吸着性について評価を行った。単斜晶ジルコニアは正方晶ジルコニアに比べ、口腔ケア用品に用いられる抗菌分子が約 5 倍吸着することが明らかとなった。また、正方晶ジルコニアでは、Y 含有量が増加するにつれ抗菌分子吸着量も微増する結果が得られた。本研究により、ランタノイド含有ジルコニアでは、口腔ケア用品含有抗菌分子と錯体を形成することが示唆された。

1. 緒言

近年、日本においても、歯列に対する審美的意識の向上から歯科矯正治療を行う者が増加してきている。最も一般的な治療法であるワイヤーを用いた方法では、歯の表面にブラケットと呼ばれる装置を装着することが必須であるが、その装着期間は通常 1~3 年の長期に渡る。ブラケットとワイヤーを装着すると、歯垢や食べかすなどの汚れが残りやすく、歯磨きでも簡単に除去できないことから、う蝕のリスクが非常に高くなることが大きな課題となっている。そこで、*S. mutans* や *S. sobrinus* といったう蝕原因菌に対し、半永久的に抗菌性を持続させるブラケットが求められている。我々は、市販されているジルコニアブラケットの必須添加物であるランタノイドが、

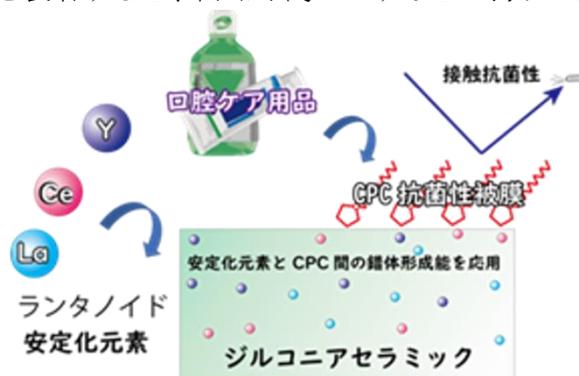


図1. ランタノイド錯体による抗菌作用機序

歯磨剤等の抗菌成分であるピリジニウム化合物と錯体を形成すること（図 1）に着目した。これを応用して、持続的抗う蝕性を有する歯科矯正用ブラケットを開発することを目的とする。本研究では、その基礎研究として、ジルコニア表面への抗菌分子である第四級アミンの吸着性について評価を行った。正方晶ジルコニアおよび単斜晶ジルコニアを用いて、それぞれの結晶系のジルコニアへの抗菌分子担持性を評価し、ジルコニアの結晶系と抗菌分子の吸着性の関係性について検討した。

2. 材料および方法

結晶相の異なるジルコニア粉末の調製

本研究では、 ZrO_2 （富士フィルム和光純薬株式会社）、3mol% Y-TZP（TZ-PX-245：以下 3Y-TZP）、4mol% Y-TZP（TZ-PX-524：以下 4Y-TZP）および 6mol% Y-TZP（TZ-PX-430：以下 6Y-TZP）粉末（全て東ソー株式会社）を使用した。各試料をアルミナ焼成皿にて、 ZrO_2 は 600°C で 10 時間、3Y-TZP、4Y-TZP および 6Y-TZP 粉末は 1100°C で 5 時間焼成した。

錯体形成能評価

試薬は全て富士フィルム和光純薬株式会社から購入した（試薬特級）。各ジルコニア試料 0.33 g を 0.5%塩化セチルピリジニウム（CPC）含有リン酸緩衝生理食塩水（PBS）30 ml および 0.5%塩化ベンザルコニウム（BKC）含有 PBS 30 ml に浸漬し、恒温振とう培養機（BR-23FP、タイテック株式会社）にて 60 rpm, 37 °C で 24 時間振とうさせ、錯体を形成した。比較対象は PBS とした。その後、各懸濁液を遠心分離機（AX-310、株式会社トミー精工）にて遠心分離し、上澄み液を除去したものを蒸留水で洗浄し 40°C で完全に乾燥させた。また、各溶液の pH を pH 電極（LAQUA-PH-SE、株式会社堀場製作所）にて測定した。

特性評価

作製した試料を、電子顕微鏡観察用オスミウムコーティング装置（HPC-1SW、株式会社真空デバイス）にて Os でスパッタリングした後、電界放出形走査電子顕微鏡（FE-SEM）（JEM6700z、JEOL）にて加速電圧 3 kV、電流 20 μ A の条件で形態観察を行った。結晶学的特性は、X 線回折法（XRD）（MiniFlex600、株式会社リガク）を用いて、CuK α 、加速電圧 40 kV、電流 15 mA、測定速度 5°/min で $20^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$ の範囲を測定した。作製試料中における化学組成を、蛍光 X 線分析法（XRF）（EDX-8100、株式会社島津製作所）にて加速電圧 50 kV で測定した。また、BET 法（NOVA1200e、Anton Paar Inc.）により、錯体形成能に影響する因子である作製試料の比表面積を測定した。加えて、試料について CHN 元素分析（CHN コーダー MT-6、ヤナコ分析工業）をキャリアーガス Ar にて分析し、CPC および BKC の吸着量を評価した。ジルコニア粉末試料の PBS 中での表面電位をゼータ電位測定によって評価した。作製した各試料 5

ml の質量を測定し、計算で得られた密度から各試料 0.05 ml の質量をそれぞれ算出した。各試料 0.05 ml を、アルミナ乳鉢にて PBS を潤滑剤としてすり潰し、スラリー状にした。すり潰された各試料を蒸留水にて 10 倍希釈した PBS 50 ml に浸漬し 0.1vol% の溶液を作製した。作製した溶液はそれぞれ 1 分間、ボルテックスミキサー (VMX-3000V、アズワン株式会社) にて攪拌した。その後、ゼータ電位測定システム (ELSZ-2000、大塚電子株式会社) を用いて、各溶液のゼータ電位を測定した。高出力半導体レーザーを使用し、溶媒温度 25 °C の条件で測定した。セルとして標準石英セルユニット (ELSZ シリーズ、大塚電子株式会社) を使用した。

統計

得られたデータに対し、二元配置分散分析 (SPSS Statistics 27, IBM) を行った。

3. 結果および考察

浸漬実験に用いたジルコニア粉末試料について、結晶構造の評価を行った。図 2 に熱処理前後のジルコニアの XRD パターンを示す。熱処理前の試料において、和光の ZrO_2 は単斜晶相に相当するピークを認めた。3Y-TZP と 4Y-TZP は単斜晶相が混在した正方晶相であることが判明した。6Y-TZP は正方晶相であることが明らかとなった。熱処理後の試料においては、和光の ZrO_2 は熱処理前と同様に単斜晶相に相当するピークのみを認めた。一方、3Y-TZP、4Y-TZP および 6Y-TZP は単斜晶相に相当するピークは認められなかった。このことから、本試料群は正方晶ジルコニア単相となっていることが明らかとなった。以後、熱処理後の和光の ZrO_2 を単斜晶ジルコニア、Y-TZP シリーズを正方晶ジルコニアと呼称する。熱処理を行うことにより、それぞれ純粋な単斜晶、正方晶ジルコニア粉末を調製することに成功した。

XRF の結果、全試料について熱処理前後で Y 含有量には有意差が無かった。Y 含有量のメーカー公表値との比較では、近似曲線を求めて確認したところ、熱処理前後で各プロットは近似曲線上から逸脱しておらず、測定された Y 含有量はメーカー公表値と比例関係にあることを確認できた。

次に、浸漬実験に用いた試料の微細構造を評価した。いずれのジルコニア粉末においても、100 nm 程度の一次

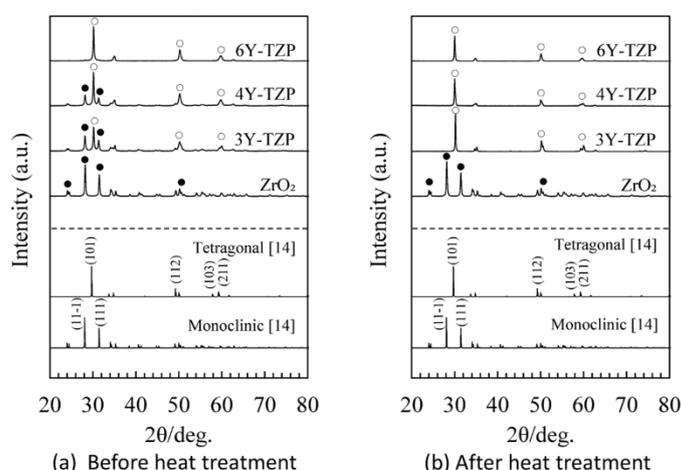


図2. 熱処理前後のX線回折図：● 単斜晶 ○ 正方晶

粒子が集積した二次粒子の構造を取っている様子が観察された。単斜晶ジルコニアにおいては、やや二次粒子は大きさ、形態が不均一であった。その一方で、正方晶ジルコニアの二次粒子は、いずれも非常に形状の整った球状の粒子形状をしていた。

試料の微細構造、粒子径に起因する比表面積については、BET 法にて評価した。比表面積は、単斜晶ジルコニアに比べ正方晶ジルコニアの比表面積は 2 倍から 3 倍大きかった。正方晶ジルコニアの中では、6Y-TZP に比べ、3Y-TZP、4Y-TZP の比表面積が大きかった。

浸漬実験での溶液の状態変化、特に抗菌分子担持による PBS の物性について評価するため、各溶液の試料浸漬前後の pH を測定した。表 1 に各溶液の pH 測定の結果を示す。この結果について、二元配置分散分析を行ったところ、溶液間、試料間での有意差は認めず、ジルコニア粉末試料を浸漬した全溶液が中性範囲であった。以上より、この実験において pH による影響は認めず、口腔内類似環境であることが分かった。

抗菌分子の吸着量を評価するため、CHN 分析を行い、ジルコニア試料に吸着した抗菌分子を C 含有量として測定した。図 3 (a) に各溶液に浸漬したジルコニア粉末の単位面積当たりの C 吸着量を示す。CPC、BKC 含有 PBS において、単斜晶ジルコニアと正方晶ジルコニアの結果を比較すると、単斜晶ジルコニアのほうが正方晶ジルコニアより 5~6 倍、C 吸着量が多かった。二元配置分散分析を行ったところ、単斜晶ジルコニアはすべての正方晶ジルコニアに対して有意差があった。単斜晶系のジルコニアは正方晶系のジルコニアに比べ、単位面積当たりおおよそ 5 倍程度の抗菌分子吸着性を発揮することが分かった。歯科用ジルコニアは一般に正方晶が使用されており、そのため安定化元素が微量添加されている。図 3 (b) に、図 3 (a) の正方晶ジルコニア粉末に着目した単位面積当たりの C 吸着量を示す。正方晶ジルコニア間で比較すると、ジルコニア中の Y 含有量が増加するにつれ、僅かに C 吸着量も増加する傾向にあった。正方晶ジルコニア間では、6Y-TZP は 3Y-TZP、4Y-TZP に対して有意差を認めたが、3Y-TZP と 4Y-TZP には有意差がなかった。ジルコニアに含まれる Y をはじめとする希土

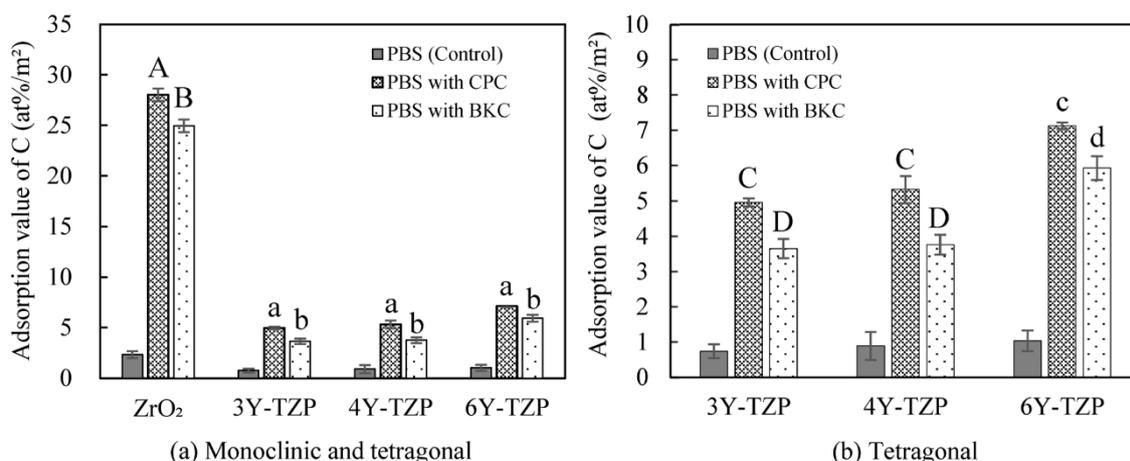


図3. 単位面積当たりのC吸着量：(a) 単斜晶および正方晶 (b) 正方晶

類元素は CPC、BKC などの第四級アミンと錯体を形成する¹⁾。このため、ジルコニアの Y 含有量が増加することで、CPC、BKC と Y の錯体形成量が増えたことが影響していると考えられる。したがって、抗菌分子の吸着に対する安定化元素の影響も検討することが望ましいと考える。

本実験において、単斜晶ジルコニアを CPC 含有 PBS に浸漬した際の C 吸着量は 28.9 at%/m²、BKC 含有 PBS では 25.7 at%/m²であった。理論値と比較すると、単斜晶ジルコニアは正方晶ジルコニアに比べ、CPC 含有 PBS で約 11 倍、BKC 含有 PBS で約 26 倍の吸着量であった。このことから、室温において単斜晶ジルコニアは正方晶ジルコニアと比較し、安定化元素の影響を除外しても、抗菌分子が有意に吸着することが示唆された。

固体に対する物質の吸着には、表面性状、特に表面電荷が大きく関与する^{2,3)}。溶液中での吸着性において、最も重要な要素の一つが試料表面の電位であることから、溶液中の電位である試料のゼータ電位について測定した^{4,5)}。図 4 に、PBS 浸漬下での各ジルコニアのゼータ電位を示す。ゼータ電位測定結果は、PBS 中の単斜晶ジルコニアが -22.11、正方晶ジルコニア 3Y-TZP が -18.89、4Y-TZP が -19.70、6Y-TZP が -19.25 であり、全ての試料において表面が負に帯電していることが明らかとなった。しかし単斜晶ジルコニアと正方晶ジルコニアで値に有意差は見られなかった。また、これらの値は先行研究と同様の傾向であった^{6,7)}。バルクのゼータ電位は、単斜晶、正方晶間に有意差は存在しなかった。一方、両者のジルコニア結晶において露出している結晶面は異なる。このため、より対称性の低い単斜晶系のジルコニア結晶において露出する、より負に帯電した結晶面が抗菌分子の吸着性に大きく寄与していることが示唆された。

本研究では、正方晶ジルコニアに比べ単斜晶ジルコニアの方が、抗菌分子が多く吸着することがわかった。歯科用ジルコニアは正方晶であるが、経年劣化によるマイクロクラックなどの損傷部位は相変態を起こし単斜晶となることは知られている⁸⁾。本研究結果より、使用期間が長くなるほど単斜晶の割合が大きくなり、抗菌分子の吸着量が増えるため、抗菌作用が向上することが示唆された。特に、Y などを多く含む高透過性ジルコニアの場合、安定化元素の吸着効果が更に追加される。高透光性ジルコニアは審美性が高いためブラケット用として望ましく、社会

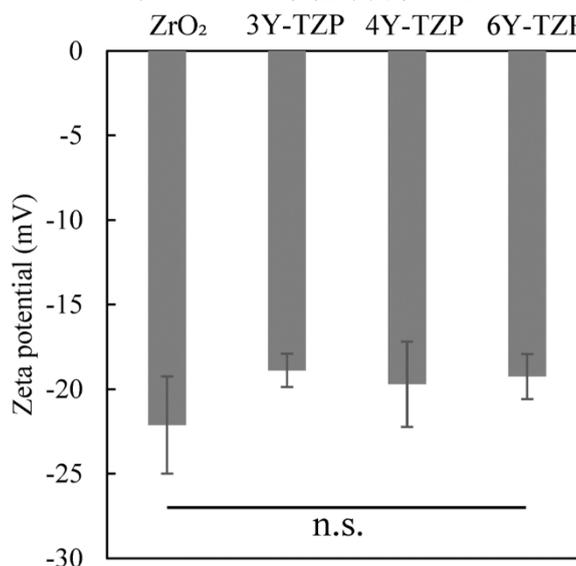


図4. PBS浸漬下におけるジルコニア試料のゼータ電位

実装に向けて有用な知見が得られたと考える。

4. 結論

我々は、正方晶および単斜晶ジルコニアの結晶系のジルコニアへの、口腔模擬環境下での抗菌分子担持性を評価した。本研究において、単斜晶系のジルコニアは正方晶系のジルコニアに比べ、口腔ケア用品に用いられる抗菌分子である CPC、BKC が約 5 倍吸着することが明らかとなった。また、正方晶系のジルコニアでは、Y 含有量が増加するにつれ、CPC、BKC 吸着量も微増する結果が得られた。本研究により、Y 含有歯科用ジルコニアでは、口腔ケア用品に含有されている抗菌分子である CPC、BKC などと錯体を形成することが示唆された。

5. 謝辞

本研究を実施するにあたり、研究助成を頂いた公益財団法人サンケイ科学振興財団に厚く感謝申し上げます。

6. 引用文献

- 1) Z. Guo, R. Huo, Y.Q. Tan, V. Blair, G.B. Deacon, P.C. Junk, Syntheses of reactive rare earth complexes by redox transmetallation/protolysis reactions—A simple and convenient method, *Coordination Chemistry Reviews*. 415 (2020) 213232.
- 2) G. Decher, J.D. Hong, J. Schmitt, Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces, *Thin Solid Films*. 210 (1992) 831–835.
- 3) M. Rabe, D. Verdes, S. Seeger, Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces, *Advances in Colloid and Interface Science*. 162 (2011) 87–106.
- 4) R. Greenwood, K. Kendall, Selection of suitable dispersants for aqueous suspensions of zirconia and titania powders using acoustophoresis, *Journal of the European Ceramic Society*. 19 (1999) 479–488.
- 5) D. Hanaor, M. Michelazzi, C. Leonelli, C.C. Sorrell, The effects of carboxylic acids on the aqueous dispersion and electrophoretic deposition of ZrO₂, *Journal of the European Ceramic Society*. 32 (2012) 235–244.
- 6) W. Hertl, Surface chemistry of zirconia polymorphs, *Langmuir*. 5 (1989) 96–100.
- 7) T. Fengqiu, H. Xiaoxian, Z. Yufeng, G. Jingkun, Effect of dispersants on surface chemical properties of nano-zirconia suspensions, *Ceramics International*. 26 (2000) 93–97.
- 8) M. Guazzato, M. Albakry, S.P. Ringer, M.V. Swain, Strength, fracture toughness and microstructure of a selection of all-ceramic materials. Part II. Zirconia-based dental ceramics, *Dental Materials*. 20 (2004) 449–456.

Development of Orthodontic Zirconia Brackets with Sustained Anticaries Properties

Hiroshi Kono

Biomaterials Science, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan
Tel: +81-99-275-6172

Orthodontic treatment with wires requires the long-term attachment of brackets to the tooth surfaces. It has a high risk of dental caries. Therefore, there is a need for brackets with antibacterial properties against caries causative agents. We aimed to develop orthodontic brackets with sustained anti-caries properties by applying the fact that lanthanoid, an additive of zirconia brackets, form complexes with pyridinium compounds, which are antibacterial components of toothpaste and other products. As a basis for this study, we evaluated the adsorption of quaternary amines, which are antibacterial molecules, on the zirconia surface. It was found that monoclinic zirconia adsorbed about five times more antibacterial molecules used in oral care products than tetragonal zirconia. In addition, the amount of antibacterial molecules adsorbed on tetragonal zirconia slightly increased as the yttrium content increased. This study suggests that lanthanoid-containing zirconia can form complexes with antibacterial molecules used in oral care products.