ＤＬＣコーテイングの義歯への応用に関する技術評価

調査委託先

国際アパタイト研究所

平成１５年１０月

追加掲載

※『ピカパワーコーティング』
P. 35～：銀イオン注入による抗菌性能及び物性強度試験

※ 参考資料『DLCの新聞及び月刊誌記事』
P. 44～

目次

1， 序

2， 摩耗性試験：重量変化とラマンスペクトル機器分析

3， 色彩変化試験：色彩計による測定

4， モノマー遊離試験：ガスクロマトグラムによる分析

5， 細胞毒性試験：歯肉細胞をつかった安全性試験

6， 生体親和性試験：ウサギの皮下に埋め込み組織親和性試験

7， 文献と謝辞

1. 序

DLC は diamond like carbon の略で、ダイヤモンドに近い性質を有する非晶質炭素（アモルファスカーボン）である。高硬度、低摩擦係数、耐摩耗性など優れた特性をもつ。金属、ポリマーおよびセラミックスの表面に DLC を薄膜コーティングすることにより材料表面の改質が可能で、自動車部品、切削工具、電子部品などへの広い応用が期待される。医療分野でもカーボン材料が有する抗血栓性を利用して人工血管などへの利用が考えられている。しかし歯科領域への応用はまだ未知数である。

人工歯（義歯）の材料としては、金属、高分子（レジン）、セラミックス（ポーセレン）の 3 種類があるが、それぞれ一長一短がある。たとえば金属ではゴールド（金）が生体親和性や加工性に優れるが、保険がきかないので高価である。審美性の観点から前歯には使えない。レジン歯は、審美性や、加工性に優れ、保険がきくので安価である一方、口腔内で磨耗、膨潤や変色などがおこり長期の使用に耐えられない。ポーセレンは審美性、耐久性には優れているが、保険がきかないので非常に高価であるが、硬くてもろい欠点が指摘されている。総入れ歯などはレジン歯がほとんどである。入れ歯の床に食べかすがつき嫌な臭いを発するのは大きな問題である。レジン歯にＤＬＣコーティングを行うことにより、臭いが付きにくく、レジンの磨耗性や変色性などの欠点が改善されれば、歯科における革命的なものとなる。

本技術評価の目的は、レジン歯の表面に DLC コーティングを施し、耐磨耗性や安全性を評価し、DLC の義歯への応用が臨床的に可能かどうかを総合的に評価することである。また市場調査も行ない企業化への指針とする。

2．摩耗性試験

1）　**目的：**

本試験の目的は、レジン歯の表面にＤＬＣを薄膜コーティングすることにより、耐磨耗性や色彩変化に与える影響を調べ、ＤＬＣコーティングの有用性を検討する。

2．実験方法：

磨耗試験は、回転、往復、スウイングが同時にできる下図に示した歯科用磨耗試験機を用いた。アクリル板上に一つ一つの歯に合わせた溝を彫り、そこにレジン歯をセットし、水または水と歯磨き剤を浸し一定加重、一定速度で磨耗試験を行なった。1回の歯ブラシ時間を1分間として、1日2回歯を磨くとすると24時間の磨耗は2年間の歯ブラシと同等と考えた。次いで72時間の試験を追加した。加重：250g、歯磨き剤：ハケアー、磨耗量：重量減少を測定。

さらに、70℃、1週間の熱湯に浸漬した加速試験も行なった。

磨耗試験機　　付属装置

実際の磨耗試験中

3．実験結果：

1）室温、24 時間（2 年分）の摩耗試験結果：歯磨き剤を使用した。

CONTROL は DLC をコーティングしていないもの。A1, A2, B1, B2, C2, E1 は、条件を変えて DLC コーティングしたもの。

図 1．化学天秤によるレジン歯の重量減少測定結果。

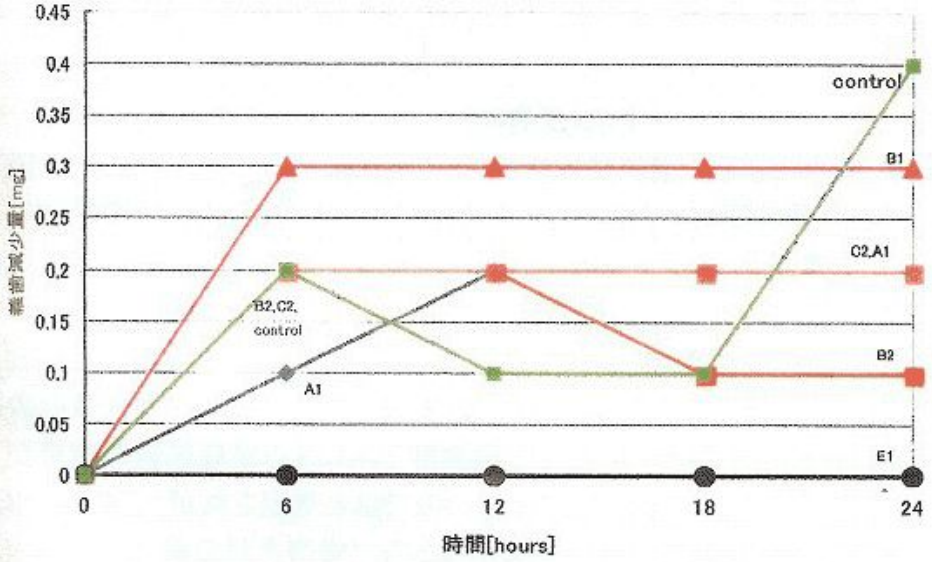
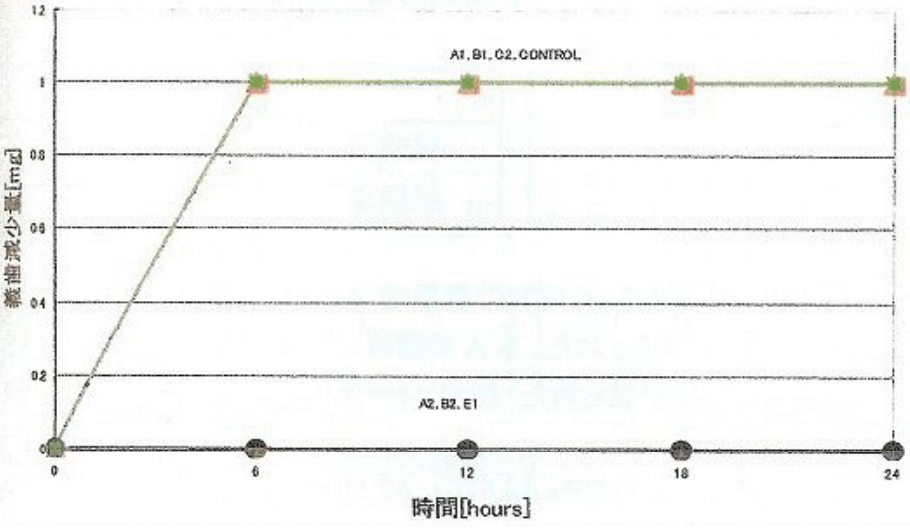


図 2．図 1 の結果を小数点 4 桁以下を四捨五入したもの。



DLC コーティングにより摩耗量が減少すること、および DLC コーティングの条件によって、摩耗量が異なることがわかった。

2） 室温、72 時間磨耗試験の結果：歯磨き剤を 72 時間一定に添加できなかったので蒸留水のみで磨耗試験を行なった。

ア）アクリルレジン歯（TL5 NEW ACE 50　F3）：

重さ [g]		
試験前	0.2561	+0.27%
試験後	0.2568	

重さ [g]		
試験前	0.2606	+0.42%
試験後	0.2617	

室温、24 時間の結果と比べて、コーティング有りは、0.27%の重量増加が見られた。コーティング無しは、0.42%とその増加は大きかった。本人工歯は、72 時間（6 年間のブラッシング相当）の長時間の磨耗試験において、両者とも膨潤や水分の吸収によると思われる僅かな重量の増大が見られた。コーティング無しの方がその増大は大きかった。DLC コーティングは水分吸収の抑制になると推定されるが、コーティング層の剥離も推定される。歯磨き剤の有り無しについては、歯磨き剤による磨耗性で重量の減少があるとすると、水に浸漬しただけの実験では膨潤および水分吸収の抑制効果のみを検討したことになる。以前の各種歯磨き剤による磨耗試験の結果からは、歯磨き剤による磨耗はあまり考えなくていいのではと推定されが、このような自動磨耗試験機を使わず、長期の試験ではなかったので歯磨き剤の磨耗量も考慮に入れる必要があるかもしれない。

イ）硬質レジン歯（06 SOLUUT Px A3 F2 ）：F2 は DLC コーティングの条件

重さ [g]		
試験前	0.3835	−0.18%
試験後	0.3828	

重さ [g]		
試験前	0.3854	+0.13%
試験後	0.3859	

硬質レジンの DLC コーティング有りは、0.18%の重量減少が見られた。一方、コーティング無しは、0.13%とその増加が見られた。本人工歯は、72 時間の長時間の磨耗試験において、重量の減少と増加が見られた。DLC コーティングは膨潤や水分吸収効果の抑制になると推定された。

ウ） 硬質レジン歯（06 SOLUUT Px A3 F20）：A3 は DLC コーティングの条件

重さ [g]		
試験前	0.2604	+0.85%
試験後	0.2626	

重さ [g]		
試験前	0.3203	+0.91%
試験後	0.3232	

コーティング有りは、0.85%の重量増加が見られた。コーティング無しは、0.91%とその増加は大きかった。本 DLC コーティングの条件では、剥離が起こり、水分を吸収したものと推定された。しかし、DLC コーティングは水分吸収効果の抑制になるとことは推定された。

3) 70℃、1 週間浸漬したときのレジン歯の重量変化:

37℃に比べて約 30℃高い70℃の熱湯で加速試験を行なった。一般に 10℃の温度上昇で、約 2~3 倍の加速試験となるので、37℃の約 20 倍の加速試験ということで、37℃、5 ヶ月間浸漬した実験と同等と考えた。これは医薬部外品である歯磨き剤の加速試験でよく使われる方法である。この場合は70℃、数時間の試験である。

ア)アクリルレジン歯(TL6 NEW ACE　50 F20)(70℃　蒸留水)

重さ [g]		
試験前	0.4376	-1.23%
試験後	0.4322	

重さ [g]		
試験前	0.4279	+3.25%
試験後	0.4418	

DLCコーティングの場合は、前記した 24 時間の実験と同様に、やや重量減少が見られたが、DLC コーティング無しの場合は、重量の大きな増加が見られた。長期になるとDLC コーティング無しのレジン歯は劣化が著しいことが推定された。

イ)アクリルレジン歯(TL5 NEW ACE　50 F3)(70℃　蒸留水)

重さ [g]		
試験前	0.2604	+0.845%
試験後	0.2626	

重さ [g]		
試験前	0.3203	+0.905%
試験後	0.3232	

ウ)硬質レジン歯(06 SOLUUT Px A3 F2)(70℃　蒸留水)

重さ [g]		
試験前	0.3931	+0.890%
試験後	0.3966	

重さ [g]		
試験前	0.3973	+0.881%
試験後	0.4008	

DLC コーティングの条件によって異なる結果となった。

4．DLC コーティング層の剥離の機器分析:

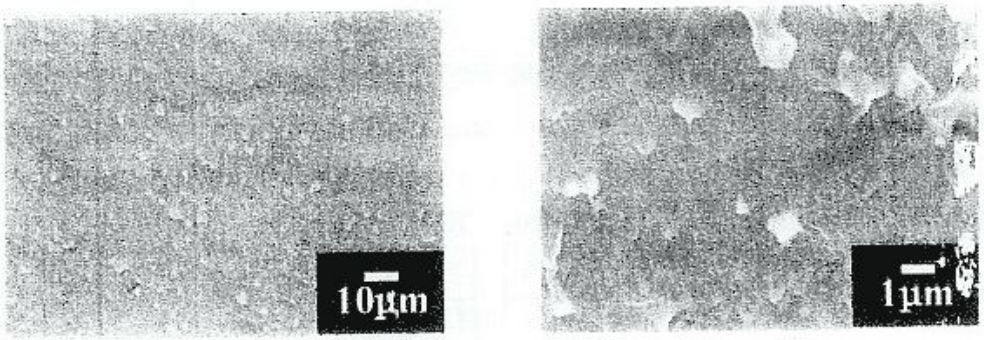
DLC コーティングアクリルレジン歯の磨耗試験後にDLCの剥離を、SEMとラマンスペクトルで検討した。

1) SEM観察

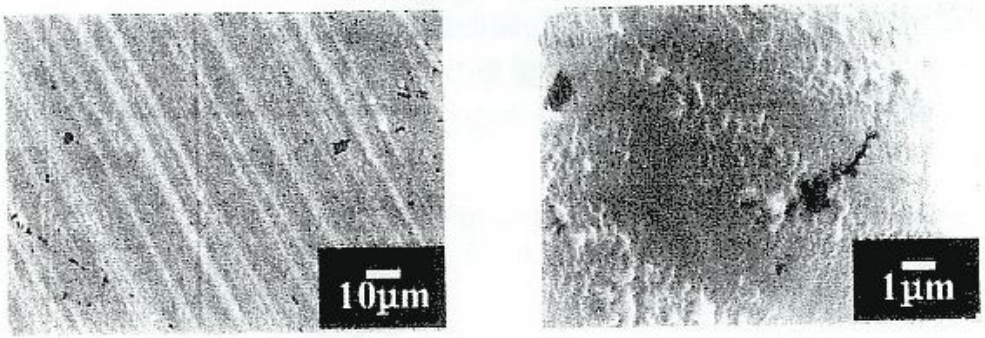
下図にアクリルレジン歯とそれに DLC コーティングしたもの、さらに 72 時間磨耗試

験後のSEM像を示した。

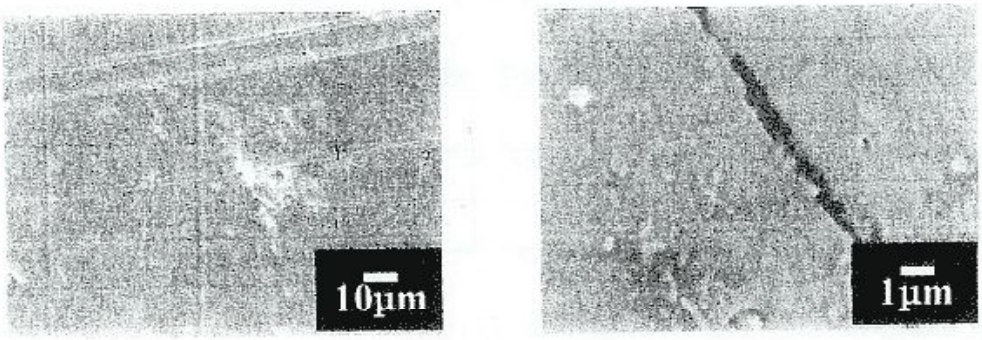
倍率は 1,000 倍と 10,000 倍である。上図は DLC コーティングしたアクリルレジン歯の表面である。スムースで緻密な面であることが観察される。中図は、72 時間磨耗試験後の表面である。歯ブラシの傷が見られ、わずかではあるが、所々に剥離によると思われる空孔が観察される。



DLC/TL6



DLC/TL6 磨耗試験後

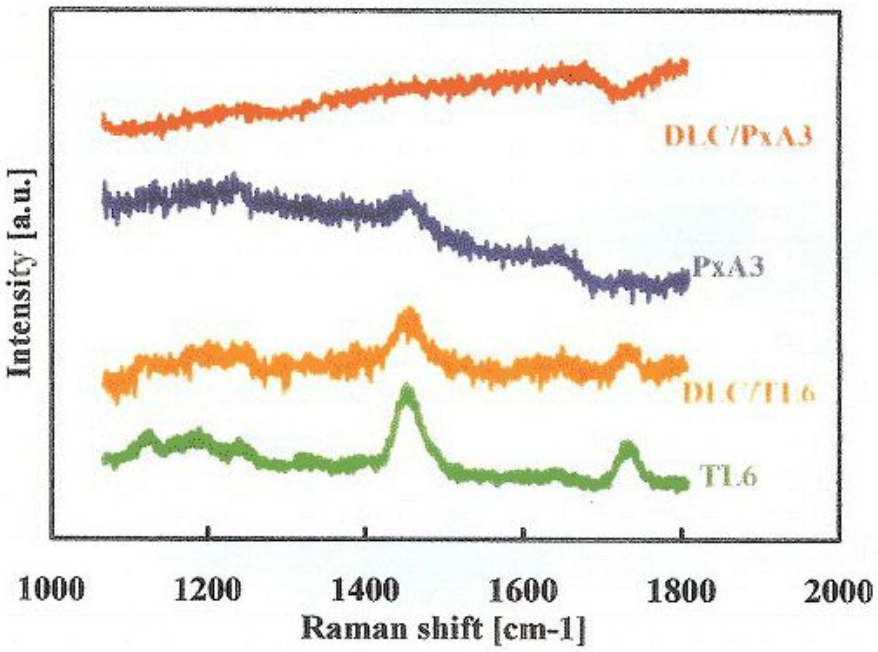


TL6

ラマン分光法

ラマン分光法は、コーティング膜の内部構造を非破壊で、大気中測定が可能である。測定時間も短く、1μmの空間分解能という優れた特徴を有する。

下図にアクリルレジン歯と硬質レジン歯の DLC コーティング有り無しのラマンスペクトルである。アクリルレジン歯はDLCコーティングにより大きな差異は見られないが、硬質レジン歯の方は明確な差異が見られた。



5．結論：

以上、DLC コーティングによるレジン歯の耐摩耗性に関する磨耗試験による重量変化、色彩変化、ＳＥＭ観察などを行なった。歯磨き剤を使った 24 時間（2 年間の歯磨きに相当する）の磨耗試験では、DLC コーティングにより磨耗量を減少させる効果があることがわかった。ただしコーティング条件によってその効果が異なることもわかった。72 時間（6 年間の歯磨きに相当する）の水を使った磨耗試験（歯磨き剤を 72 時間連続して添加することができないため）では、DLC コーティングは、アクリルレジンレジン歯の水分を吸収し、膨潤し劣化することを防止するのに効果があった。色彩変化はわずかに白色度を増大する傾向にあった。ＳＥＭ観察では、DLC コーティングが僅かに剥離することがわかった。今後は、コーティング条件と剥離の関係を追及する必要がある。

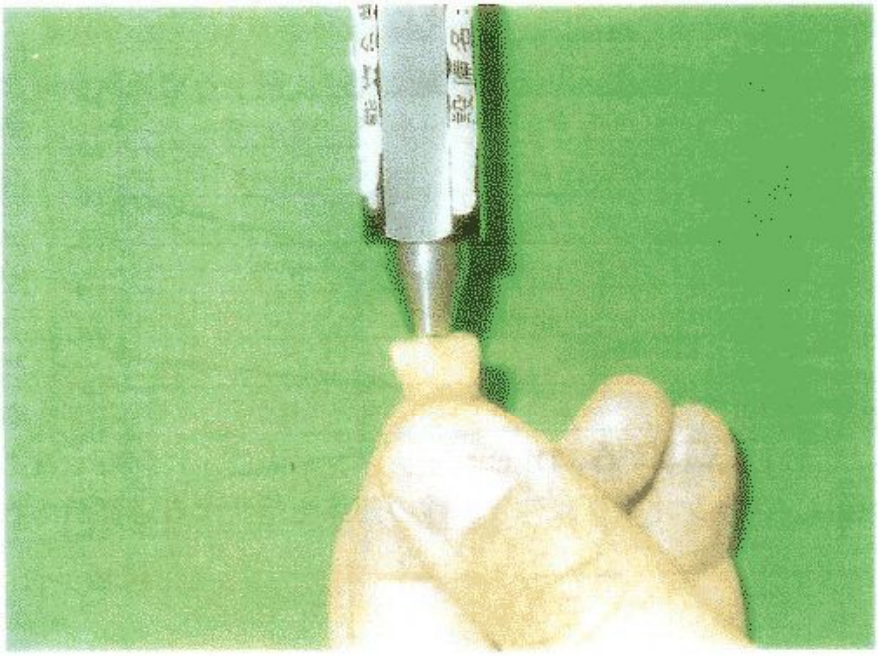
3．色彩変化：

日本電色製の色彩計SE5000を使って、レジン歯の磨耗性試験前後の色彩変化を検討した。

ア)色彩計：

色彩計SE5000

ファイバースコープ



イ）24時間後の研磨性試験前後の色彩変化：

白さ(白色度)、は、研磨後いずれも増加傾向が見られたが、赤みと黄みは減少傾向にあったが、DLC コーティング条件の B1 にはほとんど変化が見られなかった。

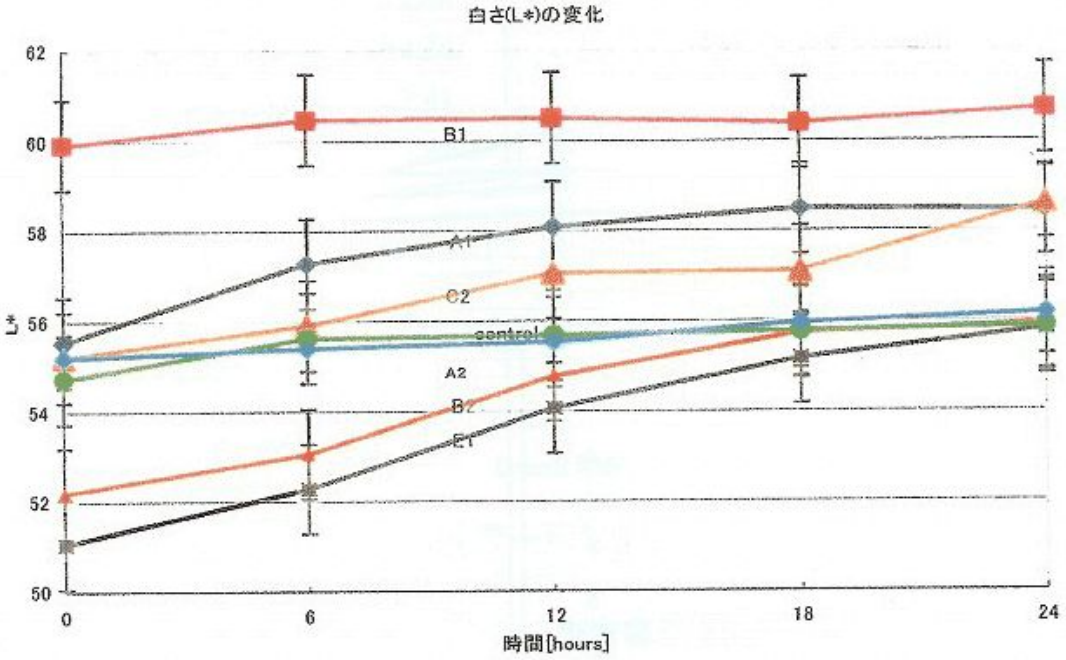


図１　歯みがきによる、各ＤＬＣコーティング義歯の白さ（L*）の変化

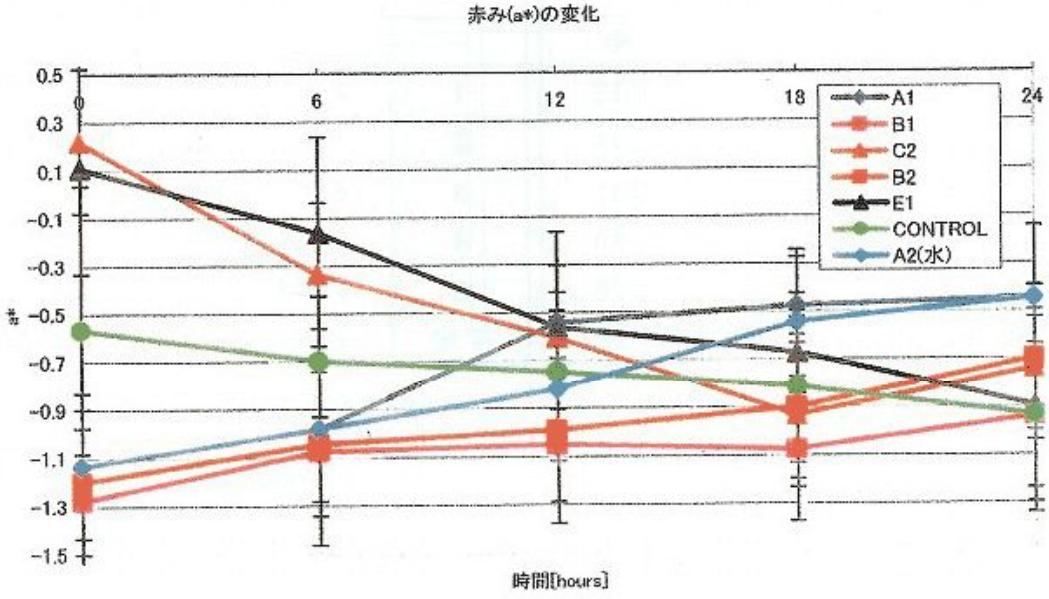


図２　歯みがきによる、各ＤＬＣコーティング義歯の赤みさ(a*)の変化

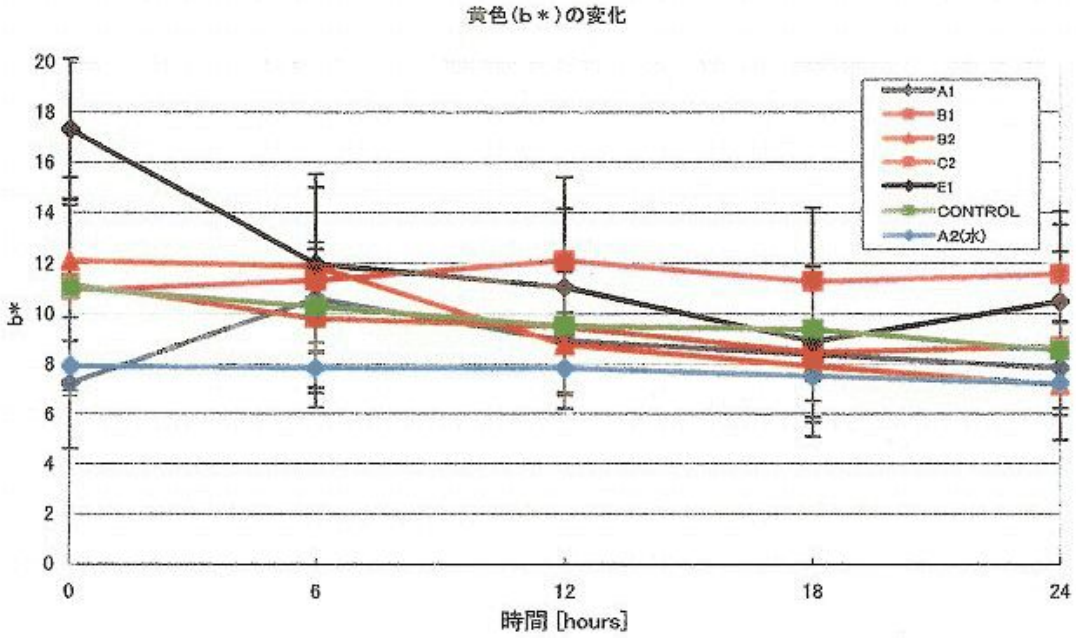


図３　歯みがきによる、各ＤＬＣコーティング義歯の黄色(b*)の変化

ロ）72 時間後の研磨性試験前後の色彩変化:

ア）アクリルレジン歯(TL5 NEW ACE 50　F3)

コーティング有（試験前）			
－	*L	*a	*b
1	48.56	−1.59	2.12
2	46.90	−2.41	3.11
3	48.18	−2.14	2.41
4	49.65	−1.79	2.49
5	49.42	−1.96	1.78
平均	48.54	−1.98	2.38

コーティング無（試験前）			
－	*L	*a	*b
1	47.85	−2.14	3.26
2	49.57	−1.83	2.99
3	47.87	−2.19	3.40
4	47.46	−1.97	3.49
5	47.65	−2.11	3.56
平均	48.08	−2.05	3.34

コーティング有（試験後）			
−	*L	*a	*b
1	50.35	−2.57	1.26
2	51.77	−1.93	1.60
3	47.17	−2.42	2.48
4	48.93	−2.36	(4.28)
5	44.84	−2.19	2.41
平均	48.61	−2.29	1.94

コーティング無（試験後）			
−	*L	*a	*b
1	50.27	−2.15	2.72
2	45.77	−1.99	2.43
3	43.12	−2.48	3.05
4	41.72	−2.30	3.09
5	44.35	−1.89	2.21
平均	45.05	−2.16	2.70

イ） アクリルレジン歯（06 SOLUUT Px A3 F2 ）

コーティング有（試験前）			
−	*L	*a	*b
1	51.97	−1.30	3.83
2	53.49	−1.93	4.37
3	52.70	−1.90	4.14
4	52.52	−1.88	4.55
5	52.31	−2.40	3.76
平均	52.60	−1.88	4.13

コーティング無（試験前）			
−	*L	*a	*b
1	55.69	−1.27	4.36
2	52.25	−1.52	3.50
3	53.11	−1.89	3.37
4	53.09	−1.75	3.64
5	52.75	−1.35	3.55
平均	53.38	−1.56	3.68

コーティング有（試験後）			
−	*L	*a	*b
1	57.08	−1.15	1.67
2	57.05	−1.20	1.91
3	57.06	−1.02	1.52
4	57.01	−1.38	2.02
5	56.92	−1.30	2.15
平均	57.02	−1.21	1.85

コーティング無（試験後）			
−	*L	*a	*b
1	55.90	−0.85	1.40
2	56.73	−0.67	1.41
3	56.34	(−2.12)	(0.03)
4	55.24	−0.51	0.68
5	56.20	−1.43	1.67
平均	56.08	−0.87	1.29

ウ）硬質レジン歯（06 SOLUUT Px A3 F20）

コーティング有（試験前）			
−	*L	*a	*b
1	60.88	−1.16	4.00
2	58.43	−1.20	4.30
3	59.14	−1.45	4.89
4	59.11	−1.66	4.76
5	58.54	−1.44	4.67
平均	59.22	−1.38	4.52

コーティング無（試験前）			
−	*L	*a	*b
1	58.38	−0.21	4.56
2	58.22	−0.77	5.16
3	57.60	−0.50	5.08
4	56.97	(−0.04)	4.58
5	57.72	−0.78	4.72
平均	57.78	−0.57	4.82

コーティング有（試験後）			
−	*L	*a	*b
1	60.17	−1.16	5.13
2	60.43	−1.25	5.12
3	59.96	−1.47	5.60
4	60.02	−1.34	5.46
5	60.35	−1.38	5.61
平均	60.19	−1.32	5.38

コーティング無（試験後）			
−	*L	*a	*b
1	58.20	−0.11	(1.10)
2	58.66	−0.64	4.19
3	57.52	−1.83	5.98
4	57.87	−1.78	6.39
5	59.88	−1.52	5.73
平均	58.43	−1.18	5.57

以上、室温で72時間の蒸留水中に浸漬した実験では、DLC コーティングしたアクリルレジン歯の白色度は重量の変化にかかわらずすべて増加していた。

ハ） 70℃の熱湯に1週間浸漬後の色彩変化：

ア）レジン歯（06 SOLUUT Px A3 F2）（70℃　蒸留水）

コーティング有（試験前）			
−	*L	*a	*b
1	55.05	−1.76	4.44
2	56.99	−1.55	4.78
3	52.70	−2.19	4.64
4	56.34	−2.03	3.46
5	55.08	−1.53	3.95
平均	55.23	−1.81	4.25

コーティング無（試験前）			
−	*L	*a	*b
1	53.78	−0.90	2.49
2	53.89	−1.40	3.32
3	55.18	−1.25	3.10
4	54.62	−1.36	3.11
5	54.41	−1.11	2.93
平均	54.38	−1.20	2.99

コーティング有（試験後）			
－	*L	*a	*b
1	55.32	−1.32	2.88
2	55.11	−1.57	2.89
3	55.01	−1.63	2.91
4	55.89	−1.38	2.88
5	56.14	−1.62	3.01
平均	55.49	−1.50	2.91

コーティング無（試験後）			
－	*L	*a	*b
1	54.63	−1.13	1.66
2	52.86	−1.44	2.26
3	50.55	−1.22	2.01
4	53.96	−1.44	4.98
5	54.00	−1.39	4.48
平均	53.20	−1.32	3.08

イ)レジン歯（TL6 NEW ACE　50 F20）（70℃　蒸留水）

コーティング有（試験前）			
－	*L	*a	*b
1	47.01	−1.98	1.99
2	48.18	−1.86	1.60
3	47.70	−1.88	1.92
4	47.94	−1.67	1.72
5	45.77	−2.29	1.99
平均	47.32	−1.94	1.84

コーティング無（試験前）			
－	*L	*a	*b
1	48.59	−1.81	2.07
2	45.91	−2.15	2.25
3	47.48	−2.08	2.44
4	47.25	−1.77	2.00
5	46.31	−1.73	2.58
平均	47.11	−1.91	2.27

コーティング有（試験後）			
－	*L	*a	*b
1	45.58	−2.14	3.17
2	49.22	−1.55	1.96
3	48.76	−1.56	2.24
4	49.45	−1.79	2.19
5	49.22	−1.77	2.14
平均	48.45	−1.76	2.34

コーティング無（試験後）			
－	*L	*a	*b
1	49.46	−1.31	1.34
2	49.69	−1.71	1.79
3	49.52	−1.73	2.15
4	49.25	−1.93	2.56
5	48.88	−2.04	2.36
平均	49.36	−1.74	2.04

ウ)レジン歯（TL5 NEW ACE　50 F3 ）(70℃　蒸留水）

コーティング有（試験前）			
–	*L	*a	*b
1	46.97	−3.57	(9.07)
2	48.41	−2.22	4.54
3	48.76	−2.33	4.60
4	48.52	−2.60	4.71
5	47.46	−2.49	4.48
平均	48.02	−2.64	4.58

コーティング無（試験前）			
–	*L	*a	*b
1	51.35	−2.30	3.10
2	44.90	−2.25	3.62
3	51.40	−1.83	2.55
4	49.83	−2.38	3.30
5	48.13	−2.55	3.50
平均	49.12	−2.26	3.21

コーティング有（試験後）			
–	*L	*a	*b
1	47.87	−2.02	3.14
2	50.46	−1.81	3.38
3	47.30	−2.57	4.16
4	50.97	−2.36	2.75
5	49.69	−1.81	2.28
平均	49.26	−2.11	3.14

コーティング無（試験後）			
–	*L	*a	*b
1	49.45	−1.85	3.08
2	49.26	−2.04	3.09
3	46.66	−2.09	3.01
4	42.54	−2.24	3.49
5	41.17	−2.61	4.45
平均	45.82	−2.17	3.42

エ）レジン歯（06 SOLUUT Px A3 F2）（70℃　蒸留水）

コーティング有（試験前）			
–	*L	*a	*b
1	55.05	−1.76	4.44
2	56.99	−1.55	4.78
3	52.70	−2.19	4.64
4	56.34	−2.03	3.46
5	55.08	−1.53	3.95
平均	55.23	−1.81	4.25

コーティング無（試験前）			
–	*L	*a	*b
1	53.78	−0.90	2.49
2	53.89	−1.40	3.32
3	55.18	−1.25	3.10
4	54.62	−1.36	3.11
5	54.41	−1.11	2.93
平均	54.38	−1.20	2.99

コーティング有（試験後）			
－	*L	*a	*b
1	55.32	−1.32	2.88
2	55.11	−1.57	2.89
3	55.01	−1.63	2.91
4	55.89	−1.38	2.88
5	56.14	−1.62	3.01
平均	55.49	−1.50	2.91

コーティング無（試験後）			
－	*L	*a	*b
1	54.63	−1.13	1.66
2	52.86	−1.44	2.26
3	50.55	−1.22	2.01
4	53.96	−1.44	4.98
5	54.00	−1.39	4.48
平均	53.20	−1.32	3.08

1） 歯の実体写真

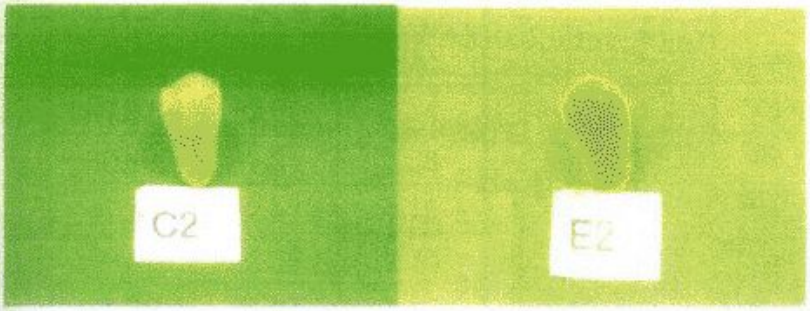
磨耗試験前

磨耗試験後

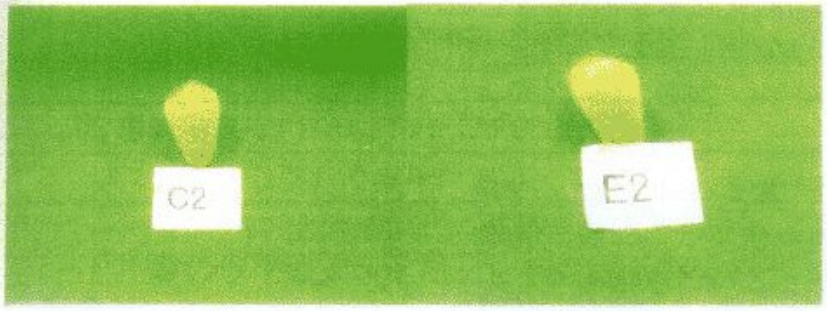
磨耗試験前

磨耗試験後

磨耗試験前



磨耗試験後



6．結論：白色度は幾分増大する傾向にあり、表面の凹凸の減少や、剥離、赤や黄色の減少による結果と推定された。

4．モノマー遊離試験

1．　目的：

口腔内でアクリルレジン歯が劣化して、モノマーが溶出することが推定される。ＤＬＣコーティングがモノマー溶出に対してどれだけ抑制効果があるかを明らかにする。

2．　実験方法：

1）37℃の培養液中にアクリルレジンの粉末を投入：1週間後に溶液をガスクロマトグラフィー（ＧＣ）で分析した。

ＧＣの条件；

Column　　：DB-WAX(0.53mmx30m)
Column Temp.：70℃
Inj/Det Temp.　：180/230℃
Carrier Gas　　：He 4ml/min
Detector　　：FID

2）70℃の熱水 20m l 中にレジン歯 1 本を 1 週間浸漬：溶液に溶け出すモノマーをＧＣで分析した。70℃は、37℃のときの 10 倍以上の加速試験であるので、37℃で約１年の浸漬実験に相当する。

3. 実験結果：

1）　および２）の実験において、いずれも定量下限値未満であったため、ＤＬＣのコーティングの効果が確認できなかった。しかし、２）の加速試験の以下のガスクロマトグラムからわかるように、未知のピークがノンコーティングの義歯から溶出しているのが見られ、一方、ＤＬＣコーティングの義歯からはその溶出は見られない。図１は、２）の実験コントロールとしてMMAモノマー3.8μg/ml のＧＣカーブである。図２、図３はアクリルレジン歯（TL6 New Ace 50）のＤＬＣコーティング有りと無しを 70℃の熱湯に浸漬した後のＧＣカーブである。図４、図５は同じくアクリルレジン歯（TL5 New Ace 50）のＤＬＣコーティング有無のＧＣカーブである。

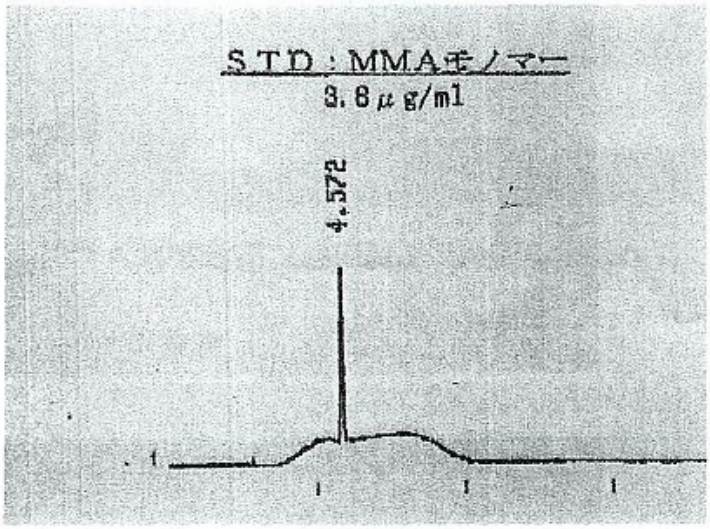


図1．コントロールとしてとったMMAのガスクロマトグラムである。

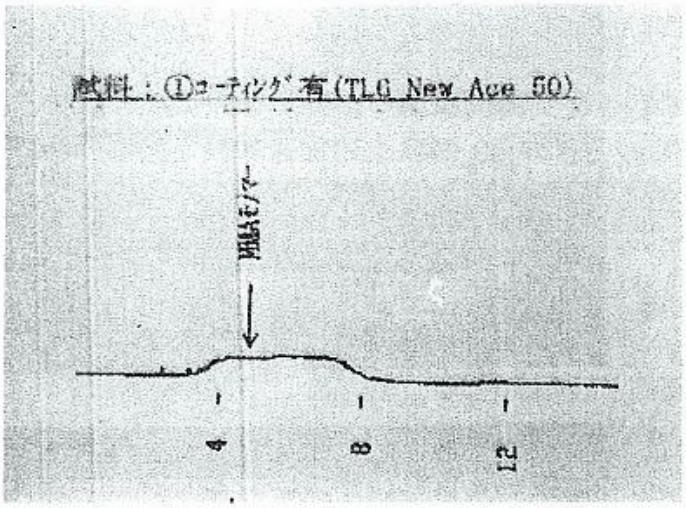


図2．レジン歯(TL6 New Ace 50)にDLCコーティングしたもののガスクロマトグラムである。MMAのピークは見られない。

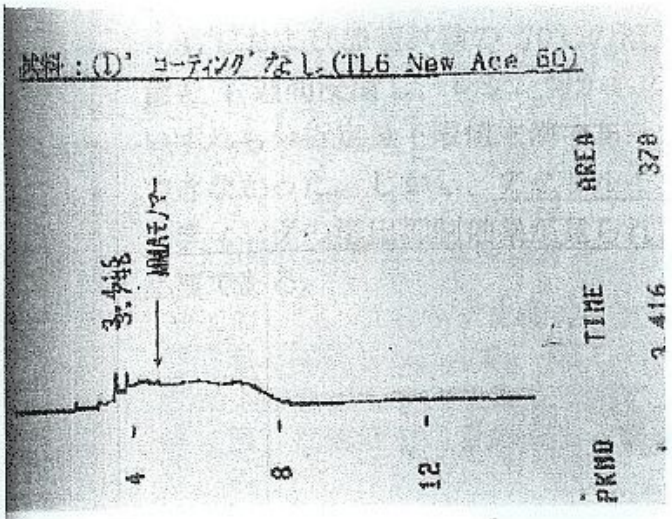


図３。ノンコーティングの試料である。アクリルモノマーより低分子側に数本のピークが見られる。

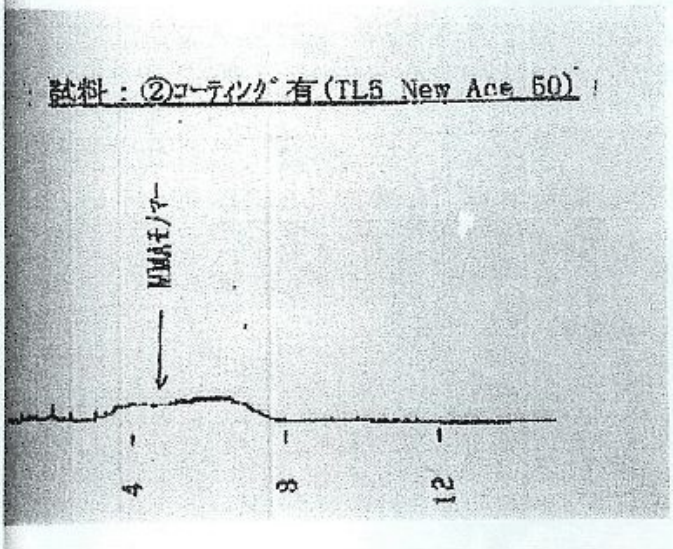


図４．　レジン歯（TL5 New Ace 50）のガスクロマトグラムである。

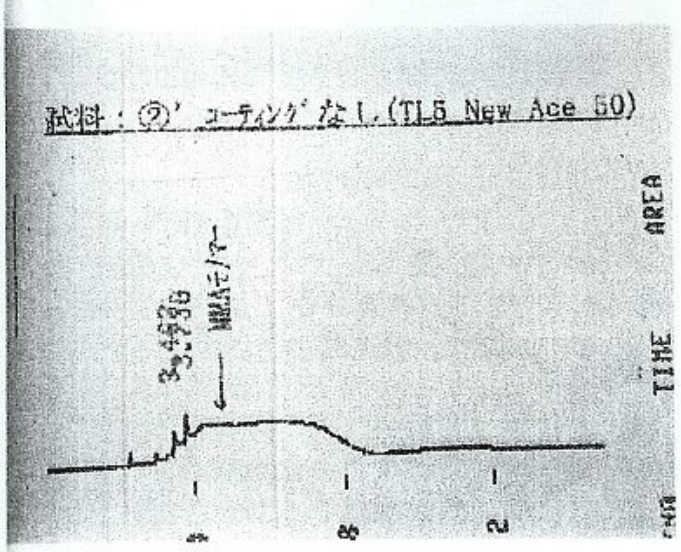


図５．　上記試料のノンコーティングのガスクロマトグラムでやはり低分子のモノマーの遊離が見られる。

結論

37℃および加速試験の 70℃の溶液中にＤＬＣコーティングアクリルレジン歯を 1 週間浸漬し、レジン歯からのMMAモノマー遊離試験を行ったところ、いずれも分析定量下限値未満であったので、ＤＬＣコーティングの効果は断定できなかった。しかし、アクリルモノマー以外のピークに関しては、ＤＬＣコーティングの溶出抑制効果が見られた。今後はさらに長期の実験を行うことが必要である。

5．細胞毒性試験

1．　目的

ヒト歯肉細胞を使ったDLCコーティングレジン歯の細胞毒性評価

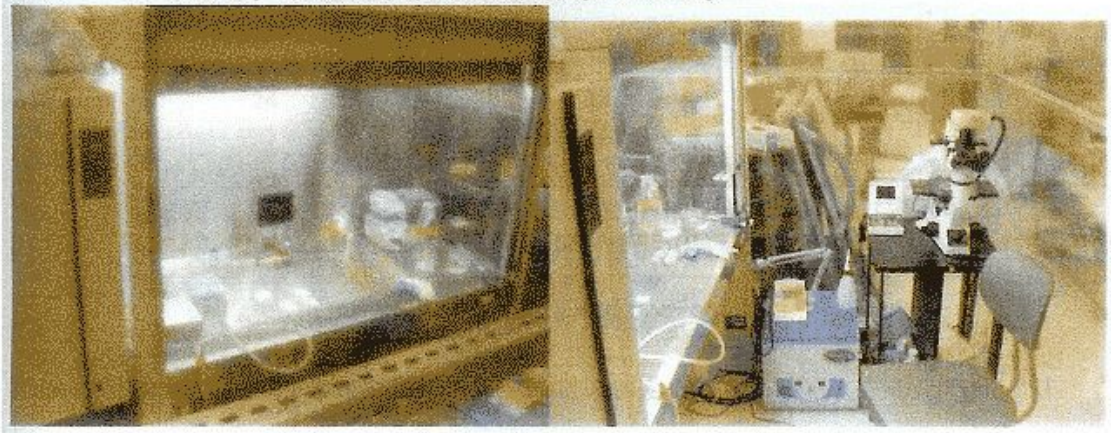
2．材料及び方法

（1）　プラズマCVD法を用いて、粉砕したレジン義歯粉末にDLCをコーティングした。この粉末を歯肉細胞の培地に投入して細胞増殖曲線および形態を観察した。また、DLCコーティングアクリルレジン歯を1本20m lの蒸留水中に投入し、70℃、1週間浸漬して、モノマーなどが溶け出した溶液を、歯肉細胞の培地に添加し、細胞増殖曲線および形態観察を行なった。

（2）細胞の分離方法

実験には、成人歯肉由来繊維芽細胞を使用した。抜歯時に摘出した臨床的に健康な歯肉片をCa^{2+}, Mg^{2+}を含まない0.01Mリン酸緩衝液[pH7.4, 以下PBS(-)と略す]で洗浄し、1mm角に分割した。これを、Eagle's MEM　1mlに入れ、継代培養した。

下図の左側はクリーンベンチである。図中の左側に見えるのは、炭酸ガスインキュベータである。右側は、位相差顕微鏡である。



（3）細胞増殖

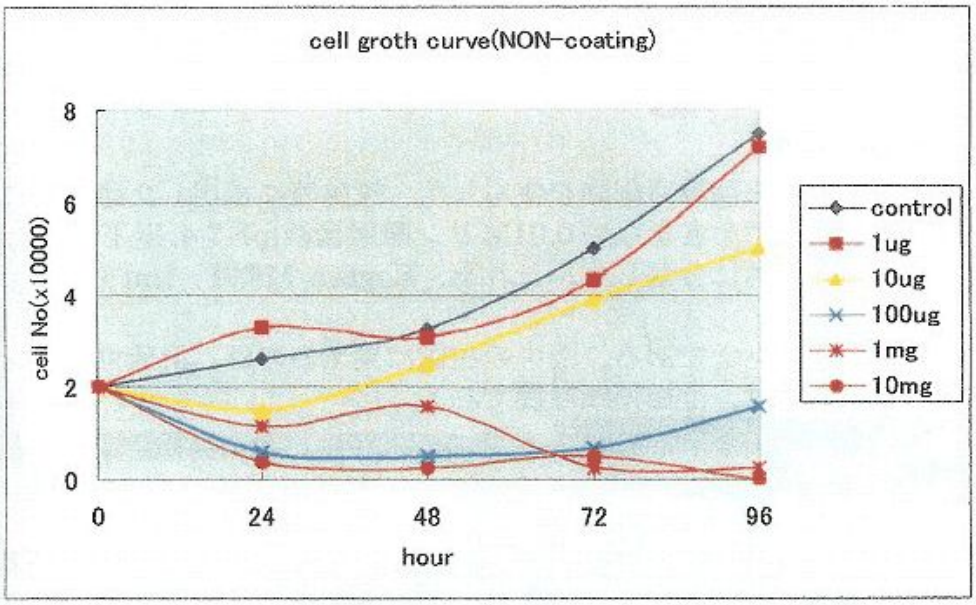
細胞をプラスチック製24穴マルチウェルディッシュ（直径16mm, FALCON）に1ウェルあたり2.0×104個になるように培養液で調整後播種した。24時間の前培養を行った後に、レジン粉末　1μg/ml、10μg/ml、100μg/ml及び同様のDLCコーティングレジン粉末の濃度を含む培養液となるように培地を調整後、培地交換をした。この時点を培養0時間として、以降24時間ごとに生細胞数を改良型Neubauer式血球計算盤（サンリード、東京）にて算定することにより細胞増殖を測定した。

2． 実験結果

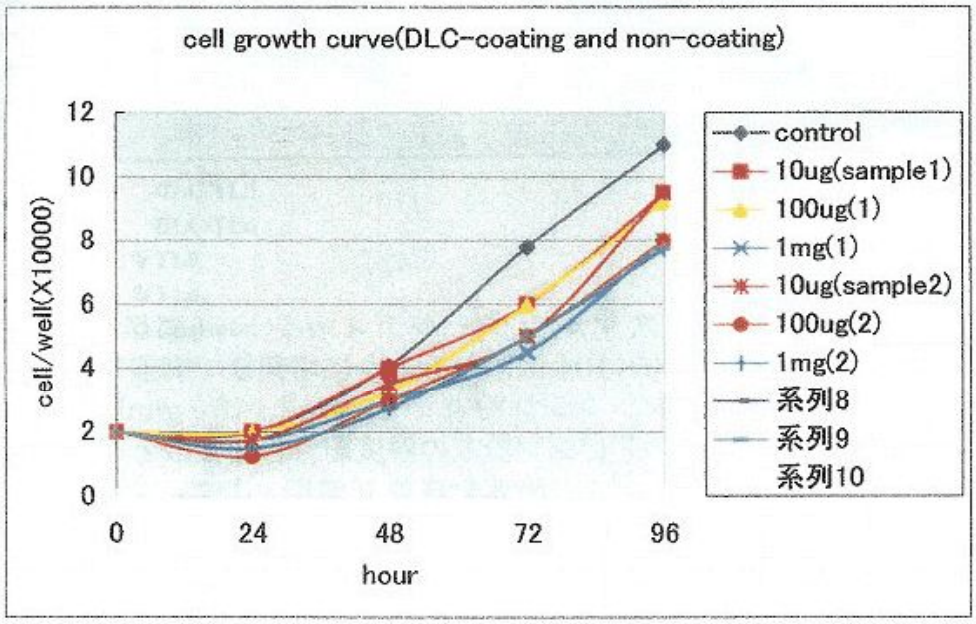
1） 細胞増殖曲線：

歯肉細胞を培養している培地にアクリルレジン歯の粉末を投入し、4 日間培養し細胞増殖曲線を求めた。粉末の添加量は、1μｇ、10μｇ、100μｇ、1ｍｇ、10ｍｇの５種類である。

ノンコーティングアクリル歯の粉末添加の時の細胞増殖曲線



DLC コーティングアクリルレジン歯粉末の細胞増殖曲線



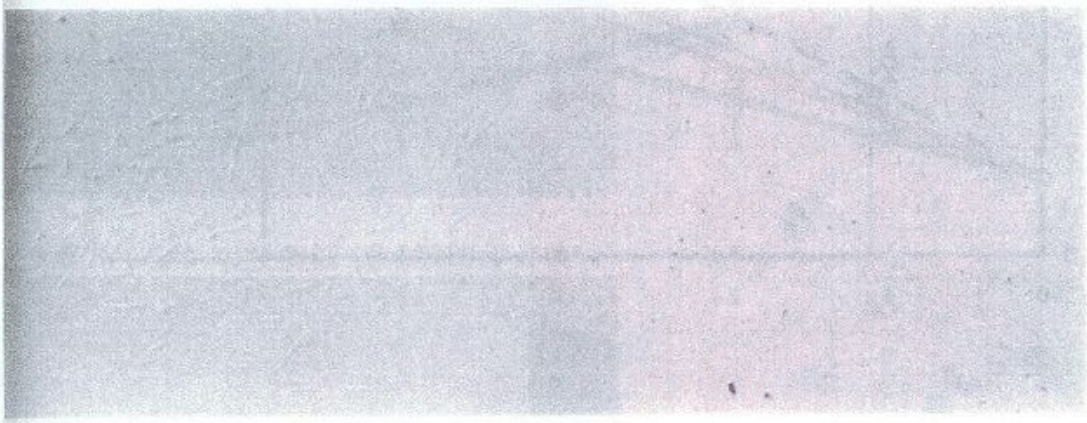
上図のノンコーティングアクリルレジン歯粉末添加の場合の細胞増殖曲線から

わかるように、粉末量を 10μg以上添加すると劇的に細胞増殖が減少する。一方、DLC コーティングされた粉末を添加してもいずれもコントロールに近づき、毒性が減少することが推定された。

2）　位相差顕微鏡写真による形態観察：

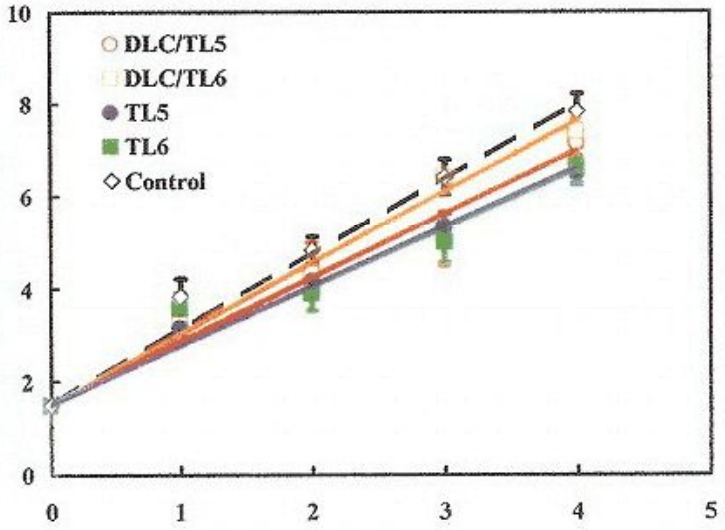
DLC コーティングされていないノンコーティングのレジン歯を添加すると細胞が死んだり変性しているのが観察される。

コントロール　　ノンコーティング義歯 100μg

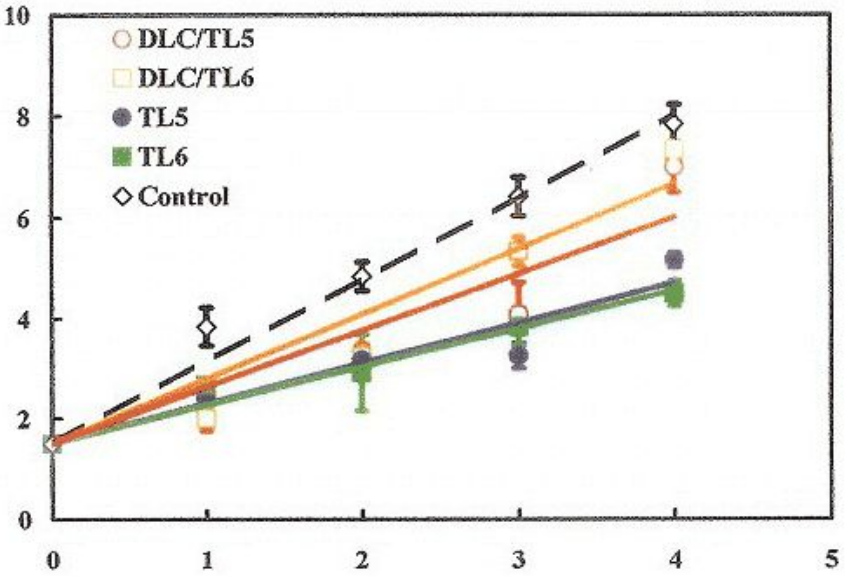


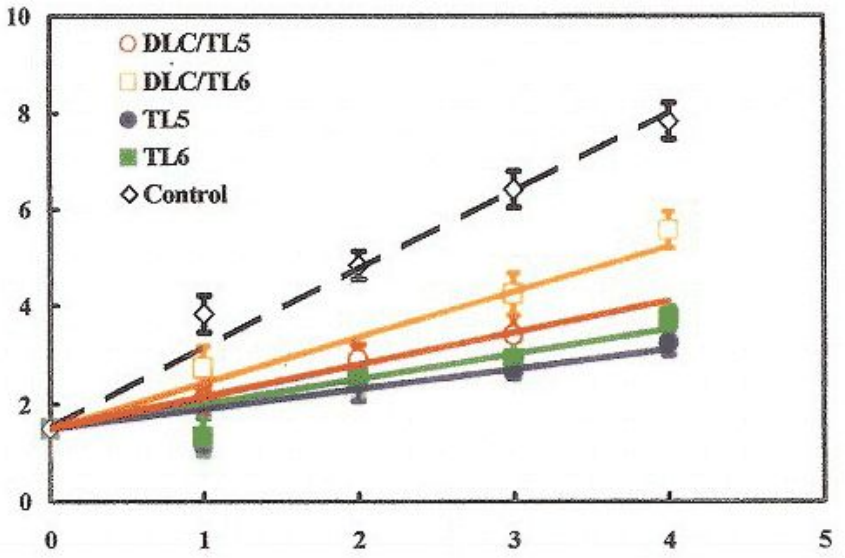
3）　70℃の蒸留水中にレジン歯とＤＬＣコーティングレジン歯を１週間浸漬した液を培地に添加したときの細胞増殖曲線：

下図は培地に対して、0.2%の浸漬液を添加したときの歯肉細胞の増殖曲線である。いずれもコントロールの黒い点線に近いが、オレンジは DLC コーティングしたもの、青と緑はノンコーティングである。DLC コーティングしたものが毒性が少ない。



下図は、2%の浸漬を投入した場合の細胞増殖曲線である。コントロール、DLCコーティング、ノンコーティングの順で細胞増殖曲線の勾配が小さくなる。

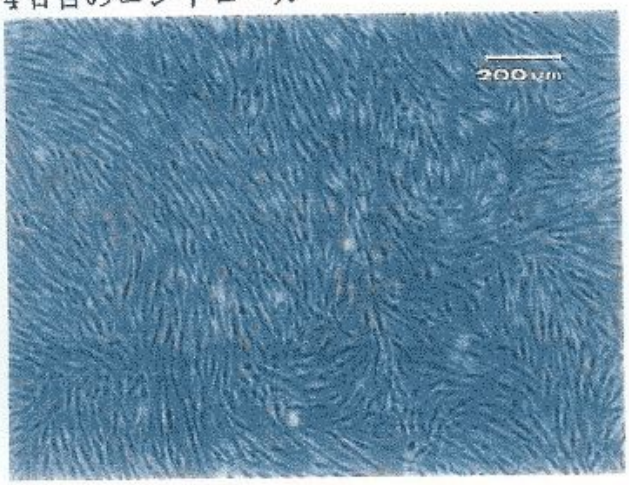




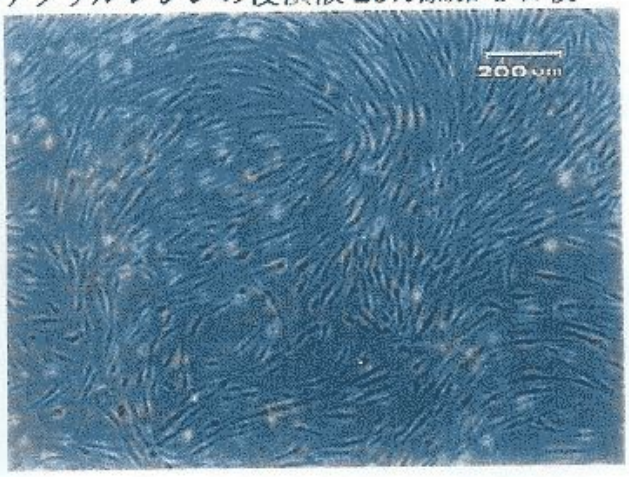
4）　歯肉細胞の形態観察：

以下に70℃の熱湯中に1週間アクリルレジン歯を投入した浸漬液を培地に対して20%添加して、4日間培養した後の位相差顕微鏡写真のを示した。

4日目のコントロール



アクリルレジンの浸漬液20%添加4日後



DLCコーティングの浸漬20%添加4日後

コントロールに比べて、ノンコーティングのアクリルレジン片の浸漬液では、細胞の増殖はまばらであるのが観察される。一方、DLC コーティングすることにより、コーティングの場合に近づく。

3．　結論：

ＤＬＣコーティングすることにより、細胞毒性が減少することがわかった。

6．生体親和性

1．　　目的:DLC コーティングレジン歯の生体親和性を調べるためにウサギの皮内に 1 ヶ月間埋め込んで周囲の組織反応を調べた。これより安全性試験を検討した。

2．　　実験方法：

1）　材料：A３，A４，B３，B４

2）　動物実験:麻酔下で、成兎背部皮下４箇所に４種類の各義歯（A3、A4、B3、B4）を厚さ 2mm にスライスし、片面を DLC コーティングした試料を埋め込んだ。埋入 4 週後、試料を皮下ごと摘出し、病理切片を作製した。

摘出した試料は、10%ホルマリンに 3 日間浸し、固定化、アルコールによる脱水の後、60℃、21 時間でパラフィン包埋を行った。これをミクロトーム（ヤマト精機）により、厚さ５ミクロンに薄切し、キシロール、アルコールにて脱パラフィンを行い、ヘマトキシリン・エオジン染色を行った。染色した切片は、プレパラート上に封入し、光学顕微鏡にて病理観察を行った。試料の表裏を観察し、DLC コーティングとノンコーティングにおける組織反応を観察した。ヘマトキシリン・エオジン染色により、細胞核は青藍色に、結合組織は赤色に染まる。

手術後背部の様子

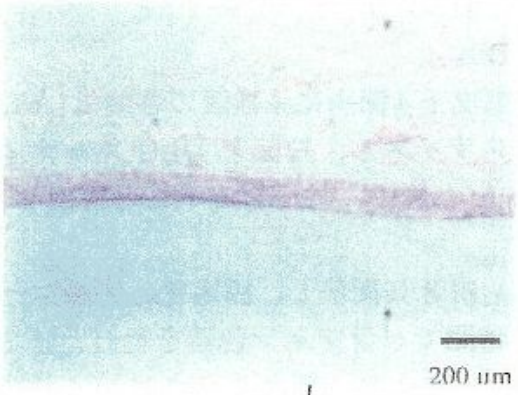
3.　実験結果

ＤＬＣコーティング無しと DLC コーティング有りの病理観察写真を以下に示

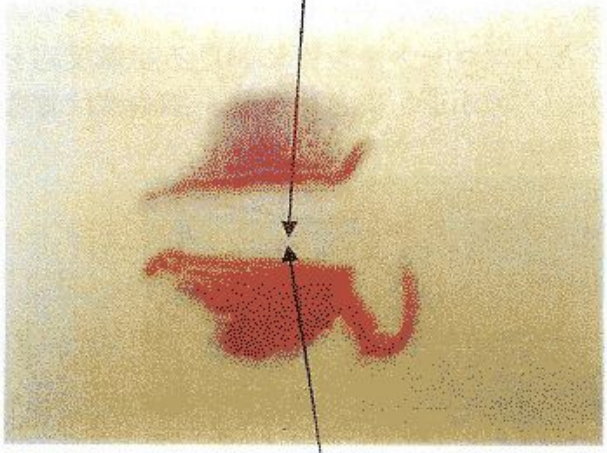
す。図から、いずれの試料においても、界面に結合組織が見られ、その厚みも60～100ミクロンと違いは認められなかった。試料A4について：帯状の結合組織は60μmと薄く、炎症細胞は少なく、以前に行なったシリコンゴムよりはるかに毒性が少ないことが認められた。

ノンコーティング側

×40



×200



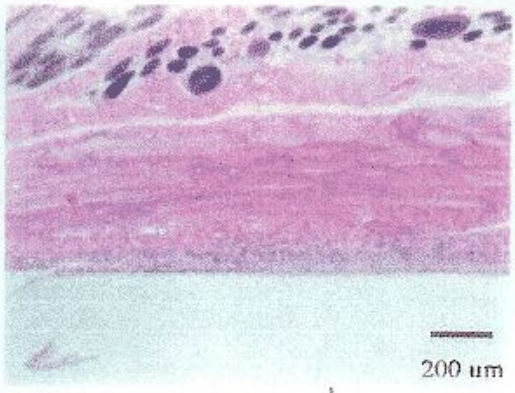
ＤＬＣコーティング側

×40

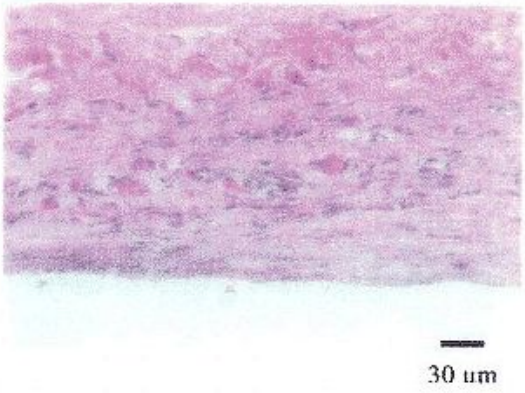
×200

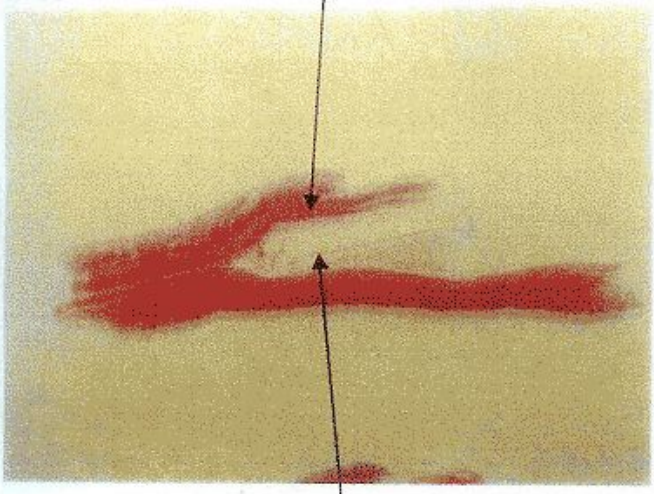
試料 B4 について：コーティング側の方が結合織組織が薄く、炎症細胞も少ない。

ノンコーティング側　×40

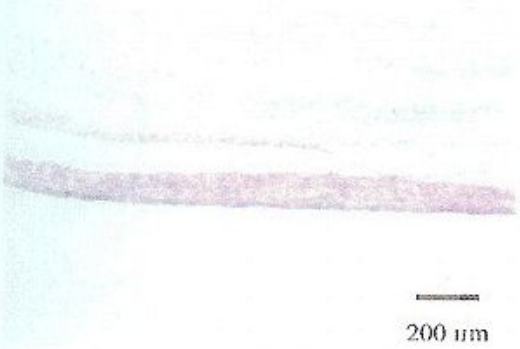


×200

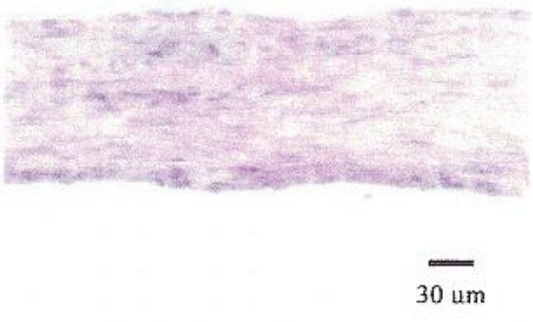




ＤＬＣコーティング側
×40

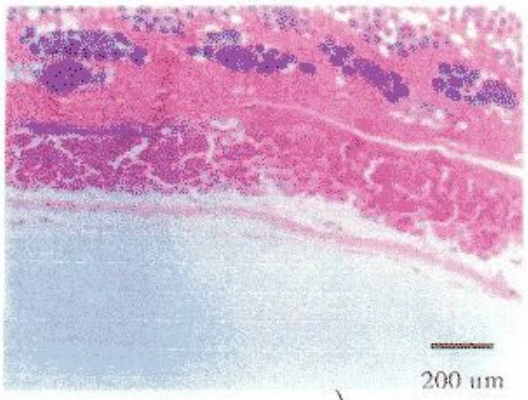


×200

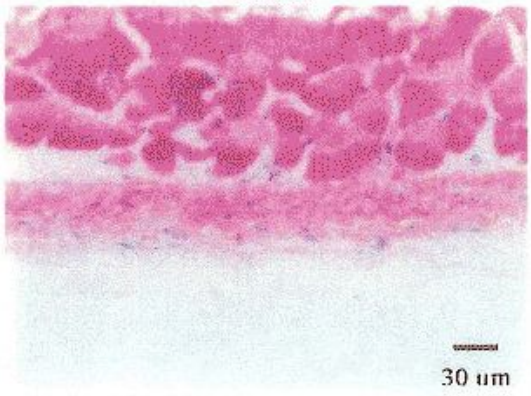


試料 A3 について：

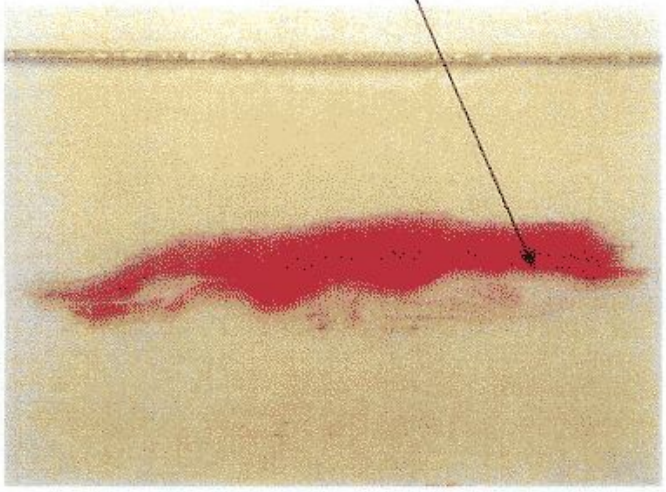
×40



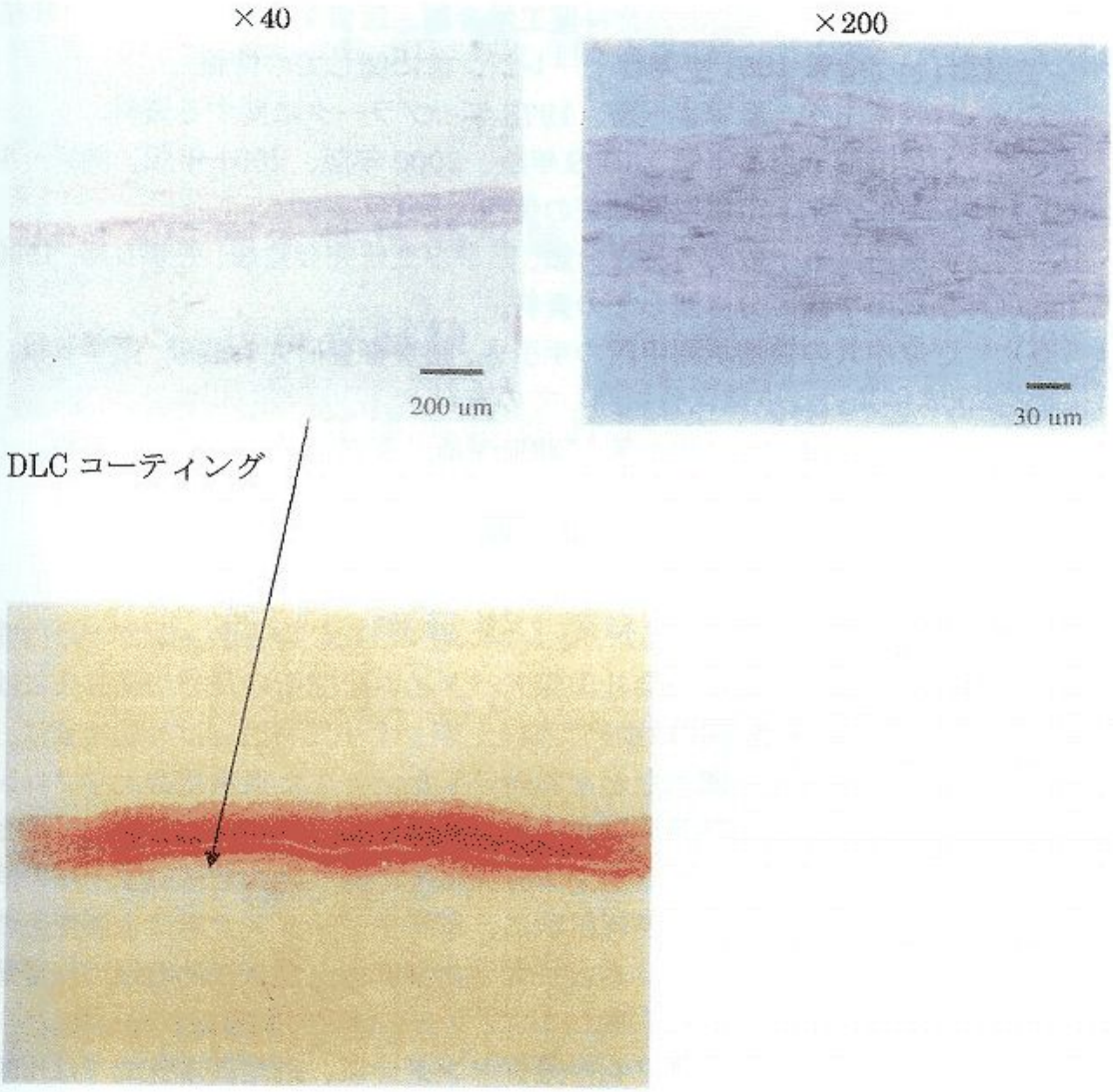
×200



ノンコーティング



試料B4について：



4. **結論：**レジン歯およびＤＬＣコーティングレジン歯は、いずれも埋め込み１ヵ月後には炎症細胞も少なく、安全な材料であることがわかった。今回のような短期間の試験では有意の差は認められなかったが、ノンコーティングの試料周囲に一部炎症細胞が多く見られた。さらに長期間の埋め込み試験を行なう必要がある。

7．文献と謝辞

1．文献

1）　歯科理工学、社団法人歯科理工学会編、医歯薬出版社（株），4章有機材料学各論1981年発行：　レジン歯に関しての情報。

2）　口腔衛生学、飯塚喜一著、1978年：プラークに関する資料。

3）　歯科機器・用品年鑑、1999年版、2000年版、2001年版、㈱アールアンドディ：市場に関しての情報。

4）　医療用具も一般的名称と分類、薬事審査研究会監修、薬事日報、1999年版：申請区分に関しての資料。

5）　医療用具の製造承認申請の手引き、薬事審査研究会監修、薬事日報、2003年発行：申請区分に関しての資料。

6）　医療用具関係法令通知集、2000年版：申請区分に関しての資料。

2．謝辞

本調査委託を実行するに当たり、レジン歯のDLCコーティングでは内富男氏にお世話になった。　有限会社国際アパタイト研究所の長谷川経夫氏には写真撮影を、青木秀夫獣医師には動物実験を、李　弋小児科医師は細胞培養に、李　団団歯科医師は義歯の購入などをお願いした。　また東京電機大学フロンティア共同研究センターの助手尾関和秀博士には動物実験やX線分析で、博士院生の大越君には細胞毒性試験とラマン分光法で、陳　翔両君にはウサギの飼育に、卒論生浅岡、大谷両君は摩耗試験に、留学生ジュリアナ君は色彩変化の測定に、ご協力いただいた。　日本歯科大学歯学部衛生学教室助教授の佐藤勉医学博士および講師の田中とも子博士にはプラーク試験でお世話になった。
モノマーのガスクロ分析では㈱クレハ分析センターに、病理標本作成では川崎臨床病理研究所にお願いした。　また市場調査では、時間があまりなかったもので、仕事場や研究室に突然押しかけたりしてご迷惑をかけました。　これらの方々にお詫びと感謝いたします。