

研究者：筒井 廉（所属：鶴見大学歯学部小児歯科学講座）

研究題目：リン酸化オリゴ糖カルシウムおよびフッ化物によるエナメル質再石灰化促進効果について

目的：

エナメル質初期う蝕の有効な再石灰化療法の開発のために in vitro で POs-Ca と各種フッ化物の組み合わせによる効果について検討すること。

対象および方法：

牛歯を $5 \times 7 \times 3$ mm に切り出し新鮮エナメル質面を露出させ、 1×5 mm の実験面 2 カ所を除いてネイルバーニッシュで被覆した。その後、乳酸二層法により pH 4.5 で 37°C 2 週間脱灰（Demineralization：DEM）させ、1 日 PBS に浸漬させた。ネイルバーニッシュを除去後、脱灰面を QLF で平均蛍光強度減少度（ ΔF （%））、総脱灰量（ ΔQ （%・ mm^2 ））、および脱灰面積（WS area（ mm^2 ））を測定した。実験面を除いたエナメル質面を同じバーニッシュで再び被覆した。その後、実験面を 37°C で 1 週間再石灰化（Remineralization：REM）させた。試料の再石灰化は、1.5 mM CaCl_2 、3.6 mM KH_2PO_4 、100 mM KCl、20 mM HEPES の人工唾液を control とし、① C 群：Ca/P 比 0.4 の control-1、② 1.67C 群：Ca/P 比 1.67 の control-2、CF 群：control-1+緑茶 F（1.2 ppmF）、④ 1.67CF 群：control-2+緑茶 F（1.2 ppmF）、⑤ CP 群：control-1+POs-Ca（0.48%）、⑥ CPF 群：control-1+POs-Ca+緑茶 F（1.2 ppmF）、⑦ CPAPF 群：control-1+POs-Ca+酸性フッ素リン酸（1.2 ppmF）、⑧ CPNaF 群：control-1+POs-Ca+NaF（1.2 ppmF）の 8 群について分析した。尚、本研究では各評価項目の回復量として脱灰後の定量値を各々 ΔF_{DEM} 、 ΔQ_{DEM} 、WS area_{DEM} とし、再石灰化後の定量値を各々 ΔF_{REM} 、 ΔQ_{REM} 、WS area_{REM} と定義し、最終的に $\Delta\Delta F$ ： $\Delta F_{\text{DEM}} - \Delta F_{\text{REM}}$ 、 $\Delta\Delta Q$ ： $\Delta Q_{\text{DEM}} - \Delta Q_{\text{REM}}$ 、 $\Delta\text{WS area}$ ： $\text{WS area}_{\text{DEM}} - \text{WS area}_{\text{REM}}$ と設定した。その後、TMR で再石灰化試料のミネラル喪失量（ ΔZ ）および脱灰深度（ld）を測定した。また再石灰化率の算出には以下の式を用いた。

再石灰化率（ ΔZ_{REM} 率） = $\{(\text{脱灰後}\Delta Z - \text{再石灰化後}\Delta Z) / \text{脱灰後}\Delta Z\} \times 100$ 、再石灰化率（ld_{REM} 率） = $\{(\text{脱灰後}ld - \text{再石灰化後}ld) / \text{脱灰後}ld\} \times 100$

尚、統計処理は分散分析（ANOVA）を行った後、Tukey-Kramer 法により各群間の有意差検定を行った（ $p < 0.05$ ）。

結果および考察：

本研究では再石灰化期間の決定の際に 3 日間、1 週間、3 週間、5 週間再石灰化させた結果、QLF および TMR で 1 週間、3 週間、5 週間の全てで 3 日間再石灰化した群に対して有意に高かった（ $p < 0.05$ ）。また 1 週間以降で定常状態になったことから、本研究の再石灰化期間を 1 週間とした。

1. QLFによる再石灰化量の検討

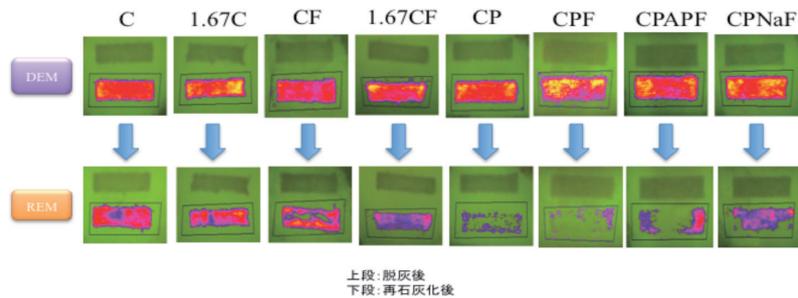
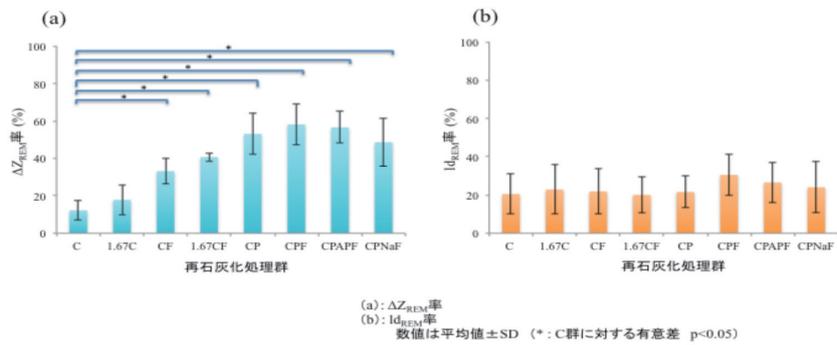
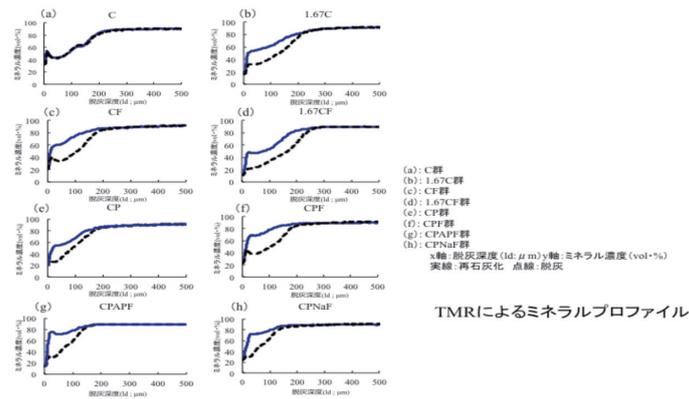
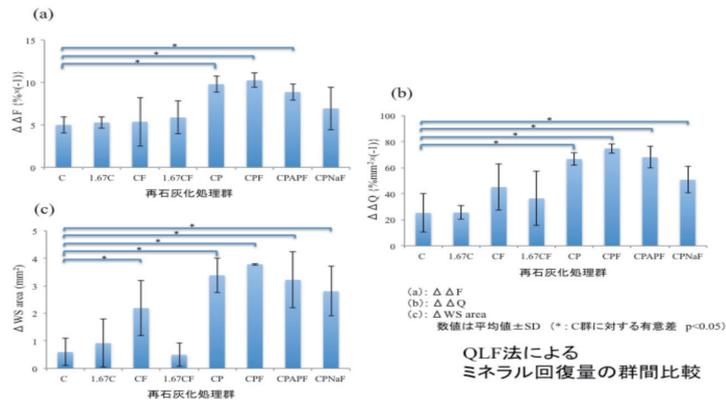
QLFの $\Delta\Delta F$ について検討したところ、CP群、CPF群、CPAPF群は、C群、1.67C群、CF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。CP群、CPF群は、1.67CF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。また $\Delta\Delta Q$ について検討した結果、CP群、CPF群、CPAPF群、CPNaF群は、C群および1.67C群と比較して再石灰化量が有意に高かった。CPF群は、CF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。CP群、CPF群、CPAPF群は、1.67CF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。CPF群は、CPNaF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。さらに ΔWS areaについての検討したところ、CF群、CP群、CPF群、CPAPF群、CPNaF群は、C群と比較して再石灰化量が有意に高かった。CP群、CPF群、CPAPF群、CPNaF群は、1.67C群と比較して再石灰化量が有意に高かった。1.67CF群、CPF群は、CF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。CP群、CPF群、CPAPF群、CPNaF群は、1.67CF群と比較して再石灰化量が有意に高かった。

2. TMRによる再石灰化率の検討

ΔZ_{REM} 率を検討した結果、CF群、1.67CF群、CP群、CPF群、CPAPF群、CPNaF群は、C群と比較して再石灰化率が有意に高かった。1.67CF群、CP群、CPF群、CPAPF群、CPNaF群は、1.67C群と比較して再石灰化率が有意に高かった。CP群、CPF群、CPAPF群は、CF群と比較して再石灰化率が有意に高かった。また Id_{REM} 率を検討したが全ての群間で有意差はなかった。QLFによる $\Delta\Delta F$ 、 $\Delta\Delta Q$ 、 ΔWS areaと、TMRによる ΔZ_{REM} 率のすべての結果において、C群、1.67C群、CF群、に対して有意に高い再石灰化量および再石灰化率を認めたのはCPF群のみであった。再石灰化促進物質としてこれまでに、カゼインホスホペプチド・非結晶性リン酸カルシウム (CPP-ACP)、糖アルコール、フノリ抽出物フノラン・リン酸一水素カルシウム・キシリトールの組み合わせ、POs-Caなどが知られており、これらは実際に特定保健用食品に配合され、ガムや錠菓として市販されている。

本研究では、エナメル質初期う蝕の有効な再石灰化方法の開発を目的としてエナメル質再石灰化能をもつPOs-Caと各種フッ化物を組み合わせ、QLFおよびTMRから得られた各種パラメーターを用いて比較検討した。POs-Caに緑茶F、APF、またはNaFを組み合わせることにより対照群よりも再石灰化を促進することが分かった。POs-Caは水溶性の高い食品カルシウム素材であり、リン酸カルシウムの沈殿形成阻害効果をもち、エナメル質再石灰化効果をもつオリゴ糖である。フッ化物は脱灰抑制効果ならびに再石灰化効果をもつことが知られている。この両者の性質が組み合わさることは再石灰化作用に有利と思われる。事実、北迫らはPOs-Caによる再結晶化が緑茶Fを添加することにより促進することを報告している。フッ素の効果は濃度依存ではなく頻度依存と言われている。本研究では各種フッ素の濃度は1.2 ppmFであったが、明らかに再石灰化を促進していた。また高濃度のフッ素を年に数回応用するよりも、低濃度のフッ化物を頻回に応用する方が予防効果が高いことが分かっている。低濃度フッ素イオンが結晶周囲のイオン吸着層に存在することにより、結晶内の OH^- と必ずしも置換していなくても脱灰を抑制し再石灰化を促進しているからと考えられる。今後は、本研究で得られた結果を小児のう蝕予防に生かす方法を考えていく必要がある。

図



各群の脱灰後および再石灰化後のQLF画像

成果発表：(予定を含めて口頭発表， 学術雑誌など)

小児歯科学会北日本地方会ポスター発表

JADR 大阪大会ポスター発表

小児歯科学雑誌 53 巻 1 号 P35～ P46 掲載