

鶴見大学大学院歯学研究科博士学位論文

内容の要旨および審査の結果の要旨

氏名(本籍) 筒井 廉(福岡県)
博士の専攻分野 博士(歯学)
学位記番号 甲第442号
学位授与年月日 平成27年3月13日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
研究科専攻 鶴見大学大学院歯学研究科
(博士課程) 歯学専攻
学位論文題目 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
小児歯科学雑誌, 第53巻, 第1号 35頁~46頁掲載 平成27年2月25日発行
論文審査委員 主査 教授 下田 信治
副査 教授 花田 信弘 副査 教授 朝田 芳信

内容の要旨

【緒言】

近年, 初期う蝕による脱灰性の白斑に対して, フッ化物応用や再石灰化促進物質などによる再石灰化療法の可能性に高い関心もたれている。小児歯科において治療対象のう蝕は減少している。しかし, 乳歯列でう蝕経験歯数の多い低年齢児については, 永久歯う蝕のハイリスク者になる傾向が強く, 低年齢児での予防は生涯を通じた口腔の健康維持の為に非常に重要である。

本研究は, 再石灰化促進効果があるリン酸化オリゴ糖カルシウム (POs-Ca) と各種フッ化物の組み合わせによる効果を, *in vitro* で定量的光誘導蛍光装置 (QLF) と定量的マイクロラジオグラフィ (TMR) を用いて評価した。

【材料と方法】

牛歯を5×7×3 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か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℃2週間脱灰 (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 (%・mm²)), および脱灰面積 (WS area (mm²)) 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℃で1週間再石灰化 (REM) させた。試料の再石灰化は, 1.5 mM CaCl₂, 3.6 mM KH₂PO₄, 100 mM KCl, 20 mM HEPESの人工唾液をcontrolとし, ① C群: Ca/P比0.4のcontrol1, ② 1.67C群: Ca/P比1.67のcontrol2, CF群: control1+緑茶F (1.2 ppmF), ④ 1.67CF群: control2+緑茶F (1.2 ppmF), ⑤ CP群: control1+POs-Ca (0.48%), ⑥ CPF群: control1+POs-Ca+緑茶F (1.2 ppmF), ⑦ CPAPF群: control1+POs-Ca+酸性フッ素リン酸 (1.2 ppmF), ⑧ CPNaF群: control1+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 $\Delta\Delta F: \Delta F_{DEM} - \Delta F_{REM}$, $\Delta\Delta Q: \Delta Q_{DEM} - \Delta Q_{REM}$, $\Delta WS area: WS area_{DEM} - WS area_{REM}$ 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。また最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) = {(脱灰後 ΔZ - 再石灰化後 ΔZ) / 脱灰後 ΔZ } × 100, 再石灰化率 (ld_{REM} 率) = {(脱灰後 ld - 再石灰化後 ld) / 脱灰後 ld} × 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】

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。

【考察】

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せ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う蝕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。

【結論】

- ① POs-Caに緑茶F、APFおよびNaFを添加することにより再石灰化が促進した。
- ② POs-Caを添加した各種フッ化物群間の再石灰化効果については有意差が認められなかった。
- ③ CPF群に関しては、全ての群と比較して再石灰化効果が高い傾向を示した。

審査の結果の要旨

初期う蝕による脱灰性の白斑に対して、フッ化物応用や再石灰化促進物質などによる再石灰化療法の可能性に高い関心が高まっている。小児歯科において治療対象のう蝕は減少しているが、乳歯列でう蝕経験歯数の多い低年齢児は、永久歯う蝕のハイリスク者になる傾向が強く、低年齢児での予防は生涯を通じた口腔の健康維持の為に非常に重要である。本研究では、再石灰化促進効果があるリン酸化オリゴ糖カルシウム (POs-Ca) と各種フッ化物の組み合わせによるエナメル質再石灰化効果を検討した。

牛歯エナメル質歯片を乳酸二層法によりpH4.5、37°Cで2週間反応させて作製した表層下脱灰試料に対して各種条件下

で再石灰化を行い、定量的光誘導蛍光装置 (QLF) と定量的マイクロラジオグラフィー (TMR) を用いて再石灰化促進効果を評価した。1.5 mM CaCl_2 , 3.6 mM KH_2PO_4 , 100 mM KCl , 20 mM HEPES の人工唾液を対照 (C 群) として、これに POs-Ca を加えた群 (CP 群), CP 群に 1.2 ppm の緑茶フッ素, APF または NaF を加えた群 (それぞれ CPF 群, CPAPF 群, CPNaF 群) について 37°C で 1 週間再石灰化反応させて再石灰化促進効果を検討した。

その結果, QLF の $\Delta\Delta F$, $\Delta\Delta Q$, ΔWSarea のいずれの項目による検討においても, C 群に対して CP 群, CPF 群, CPAPF 群は有意に高い再石灰化量を示した。また, TMR による検討では, C 群に対して CP 群, CPF 群, CPAPF 群, CPNaF 群は有意に高い再石灰化率を示した。なお, POs-Ca を添加した各種フッ化物群間の再石灰化効果については有意差が認められなかったが, CPF 群は全ての群と比較して再石灰化効果が高い傾向を示した。

本研究では, 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, リン酸イオンとカルシウムイオンがリン酸カルシウムとして沈殿形成するのを阻害する作用をもち, 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おり, 今回の結果からこれら両者の性質が組み合わせることは再石灰化作用に有利であることが示唆された。

以上の研究内容は, エナメル質初期ウ蝕の有効な再石灰化方法の開発を目的として計画, 立案された研究で, 綿密な実験計画と得られた結果に対する検証ならびに考察も十分であり, ウ蝕予防の歯科臨床の発展に大きく寄与するものと考えられる。

よって, 本論文は博士 (歯学) の学位請求論文として十分な価値を有するものと判定した。