

健全な歯エナメル質の歯質強化による結晶構造変化の検証 A Wide-angle Diffraction Analyses for Enhanced Tooth Enamel Subsurface

田中 智子^a, 釜阪 寛^a, 鈴木 大介^a, 吉松 大介^a, 小林 隆嗣^a,

八木 直人^b, 太田 昇^b, 飯島 洋一^c

Tomoko Tanaka^a, Hiroshi Kamasaka^a, Daisuke Suzuki^a, Daisuke Yoshimatsu^a, Takatsugu Kobayashi^a,

Naoto Yagi^b, Noboru Ota^b, Youichi Iijima^c

^a江崎グリコ(株)健康科学研究所, ^b(公財)高輝度光科学研究センター, ^c長崎大学

^aHealth Science Laboratory, Ezaki Glico Co.,Ltd,

^bJapan Synchrotron Radiation Research Institute,

^cNagasaki University

リン酸化オリゴ糖カルシウム(POs-Ca[®])は初期う蝕における再石灰化を促進する。これまでの研究により、POs-Caによって再石灰化した部位では健全なエナメル質と同様の配向性を持ったハイドロキシアパタイト(HAp)結晶が回復していることが明らかになった。本研究では、SPring-8 BL40XUにおける広角X線回折解析により、う蝕予防効果が高いことが知られているフッ化物(極低濃度)とPOs-Caの併用が、学童期のヒト歯エナメル質の結晶化に影響を及ぼすことを明らかにした。

キーワード： 初期う蝕、ハイドロキシアパタイト、再石灰化、エナメル質、フッ化物

背景と研究目的：

う蝕は、人類のQOL(quality of life)に大きく影響を与える疾患の1つである。う蝕は、ある日突然形成されるものではなく、日々の生活の中で徐々に形成されていくものである。前段階として、まず初期う蝕が形成される。初期う蝕は疾病ではなく、ほとんどの人の口腔内に日常席に存在し得るといふ所見がある。毎食後、食物に含まれるショ糖などを歯垢細菌が資化し、産生する酸に歯エナメル質が長期間さらされた結果、エナメル質表面の表層下から歯の構成成分であるカルシウムとリン酸が唾液中に溶けだす脱灰が起こり、初期う蝕となる。一方で初期う蝕により歯から失われたミネラルは、唾液から歯に取り戻す(再石灰化)が可能となり回復することができる。しかし初期う蝕が進行し実質欠損を伴ったう窩形成(う蝕)を形成してしまうと、歯科治療なしに回復は不可能となる。健康体で一生涯を過ごすための1つの手段として、健全歯をいかに維持するかが鍵となる。そこで、江崎グリコ(株)では、自社で開発した新素材の高水溶性カルシウムリン酸化オリゴ糖カルシウム(POs-Ca)を用いて初期う蝕にアプローチできる機能性ガムを開発した[1]。日常生活の中で、唾液中のカルシウムイオン濃度を高め初期う蝕の再石灰化・再結晶化効果を見出し、特定保健用食品のシュガーレスガムとして一般市場に上市した。しかし歯質を強化するためには、カルシウムだけでなくう蝕予防効果が高いとされているフッ化物[2][3]の利用が望まれる。ところが従来、フッ素は反応性が高いためカルシウムとの併用は難しかった。ところがPOs-Caのもつカルシウムは水溶性が高く、pHが中性環境においてもリン酸と塩を形成することなく安定に存在することから、フッ化物とPOs-Caを用いて初期う蝕にアプローチ研究を行ってきた。本研究ではその効果について、歯質は結晶構造に依存する部分が多いことから、従来法であるtransversal microradiography(TMR)法によるミネラル含有量の評価に加え、WAXRDによる結晶性について、ヒト歯エナメル質を用いて検討した結果を報告する。

実験：

<サンプル調製>

歯エナメル質から歯片サンプルを調製し、脱灰処理を行ったのちに、歯質強化処理を行い、1歯片上に健全・歯質強化部、脱灰部を作成したものを厚さ150 μmに切り出し、サンプルとする。再石灰化処理には、表に示すように、唾液組成に近づけたミネラル溶液にカルシウム(POs-Ca 由来)もしくはカルシウムとフッ化物を強化した各種ミネラル溶液(A,B, 表1参照)を調製し、37°C 24時間処理反応を行いその効果を比較した。試料には、ヒト歯を用いた。試料は次のように調製した。

<測定>

エナメル質薄片サンプル(厚さ150 μm)調製されたサンプルは2次元に移動可能な試料ステージに、エナメル質-象牙質方向(歯の深さ方向)に対して垂直にビームを当てるようにセットし、X線を照射した[4]。ビームは6 μm程度の大きさのX線ビームとなるように、ピンホールを通して調整した15 keV前後のX線を照射し、回折像を得た。エナメル表面から深部に向かって5 μmごとに深さ200 μmまで行った。得られたX線回折データについては、HAp結晶のc軸の細かな違いに影響されにくいHAp由来の(100)の反射について強度積分を行い、健全部の強度で相対値化することによって、各測定点におけるHAp結晶含有量を算出した[4][5] (結晶プロファイル：図1-A, B 参照)。結晶のプロファイルから回復率を計算した。カメラ長は試料に応じて調整した。

表1. 各種再石灰化処理液

組成	A 溶液	B 溶液
Ca	6 mM	6 mM
KH ₂ PO ₄	3.6 mM	3.6 mM
Fluoride	0 ppm	1 ppm
HEPES	20 mM	20 mM
pH	6.5	6.5
Total	100 mL	100 mL

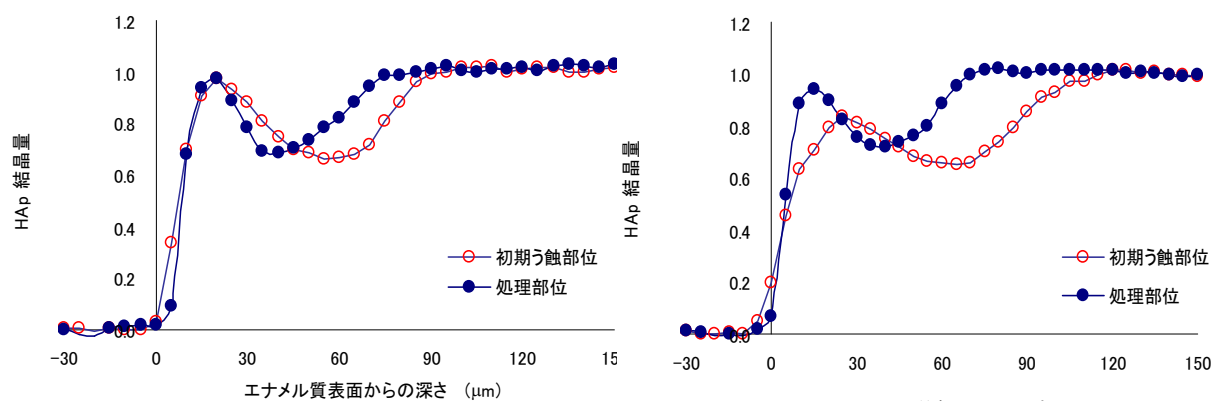


図 1-A.

図 1-B.

図 1. 各種ミネラル溶液(溶液 A,B)で処理をした場合に得られた
広角 X 線回折によるアパタイト結晶変化量プロファイル

結果および考察：

X線マイクロビームを用いた WAXRD の解析から、ヒト歯に形成された初期う蝕において、カルシウム(POs-Ca 由来)とフッ化物(F)もしくはカルシウム(POs-Ca 由来)で処理を行ったいずれにおいても、健全部のエナメル質と同じ hidroキシアパタイト結晶の回復が観られた。またカルシウムとフッ化物(F)で処理を行ったものとカルシウム単独処理とは、その回復傾向が若干異なっていた。このことから、極微量のフッ化物を添加することで再結晶化に影響を与えることが示唆された。今後、硬度や耐酸性等多面的評価を加えて、その効果について評価したい。

参考文献：

- [1] Tanaka M., et al., Effect of chewing gum containing Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium (POs-Ca) on remineralization and hydroxyapatite crystallites of enamel subsurface lesions in situ. 日本歯科保学会誌, vol.52 (6), 534-542, (2009).
- [2] Dean H. T., et al., Domestic water and dental caries. Additional studies of the relation of fluoride domestic waters to dental caries experience in 4,425 white children, aged 12 to 14 years, of 13 cities in 4 States. *Pub. Health Rep.*, **57**, 1155-1179, (1942).
- [3] Dean H. T., Chronic endemic dental Fluorosis (Mottled Enamel), *J. Am. Med. Assoc.*, **107**, 1269-1272, (1936).
- [4] Yagi N., Ohta N., Matsuo T., Tanaka T., Terada Y., Kamasaka H., To-o K., Kometani T., Kuriki T., Evaluation of enamel crystallites in subsurface lesion by microbeam X-ray diffraction. *J. Synchrotron Radiat.*, **16**, 398-404, (2009).
- [5] Tanaka T., Yagi N., Ohta N., Matsuo T., Terada Y., Kamasaka H., To-o K., Kometani T., Kuriki T., Evaluation of the distribution and orientation of remineralized enamel crystallites in subsurface lesion by X-ray diffraction. *Caries Res.*, **44**, 253-259, (2010).