

学位論文題名

添加物 (FN-CP, POs-Ca, CPP-ACP) 配合ガムの
実験的初期齲蝕エナメル質に及ぼす再石灰化促進効果

学位論文内容の要旨

<目的>

本研究の目的は、再石灰化効果を持つ特定保健用食品の指定を受けているガム3種類の抽出液を脱灰エナメル質試料に作用させ、TMR (transverse microradiography) 画像で得られたミネラルプロファイルから各種パラメーターを算出し、再石灰化のパターンを比較検討することである。

<材料と方法>

1. 脱灰エナメル質試料の作製

表面にホワイトスポットなどが認められないヒト抜去第三大白歯(7本)の歯冠を4分割し、3×4mmの窓を残すようにスティッキーワックスで被覆した。これらを0.01mol/l 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.0)で50℃、2日間脱灰し、実験的に表層下脱灰を伴う初期齲蝕病変を作製した。その後、窓の半分をワックスで覆い、脱灰エナメル質試料とした。ワックスで窓の半分を被覆することにより、同一試料で脱灰および再石灰化の比較を可能とした。

2. 再石灰化処理と観察試料の作製

特定保健用食品に指定されている市販のタブレットタイプの3種類のガム(添加物として、それぞれFN-CP:フノリ抽出物と第二リン酸カルシウム、POs-Ca:リン酸化オリゴ糖カルシウムおよびCPP-ACP:カゼインホスホペプチド-非結晶性リン酸カルシウム複合体を配合)10gに、60℃に加温した再石灰化溶液(1.0mmol/l CaCl_2 , 0.6mmol/l KH_2PO_4 , 100mmol/l NaCl , pH7.3, KOH溶液で調整)を加えて抽出液を作製した。

3種類のガムの各抽出液に、脱灰エナメル質試料を37℃、2週間浸漬し再石灰化処理を行ったものをガム群とし、ガムの種類によりFN-CP群、POs-Ca群、CPP-ACP群とした。また、同一条件のもと再石灰化溶液のみに浸漬した脱灰エナメル試料をコントロール群とした。なお、各群での歯のバラツキを少なくするために、4分割した各エナメル質ブロックを各群に均等に配分した。

再石灰化処理後、ワックスを除去した各脱灰エナメル質試料をアルコールで脱水処理した後、ポリエステル樹脂(Rigolac樹脂)を用いて包埋した。

その後、脱灰部、再石灰化処理部を含むようにアイソメットで切断したのち、砥石を用いて研磨し、厚さ100μmの研磨切片を作製した。

3. 再石灰化の評価法

1) TMR 画像の観察

アルミステップウェッジ (24 μ m $\times$ 11 段) とともに、軟X線非破壊検査装置 (Softex[®]) を用いて加速電圧 15kV, 加速電流 4mA, 研磨標本一焦点間距離 10 cm, 照射時間 20 分間の条件下で撮影し、通法に準じて現像された研磨試料の TMR 画像を 3 種類のガム群およびコントロール群で観察し、比較検討した。

2) ミネラルプロファイルにおける検討

Matsuda らの方法に準じて (Dent Mater J 5, 414-421, 2007), 脱灰部および再石灰化処理部のミネラルプロファイルを算出し, 9 つのパラメーター (Ld $\cdot$ Δ Z $\cdot$ LBd $\cdot$ LB $\cdot$ SZ $\cdot$ SZd $\cdot$ OSZ $\cdot$ SA $\cdot$ ILB) をそれぞれ求め, その差 (脱灰部 - 再石灰化部) を再石灰化処理による変化量 (Δ Ld $\cdot$ Δ Δ Z $\cdot$ Δ LBd $\cdot$ Δ LB $\cdot$ Δ SZ $\cdot$ Δ SZd $\cdot$ Δ OSZ $\cdot$ Δ SA $\cdot$ Δ ILB) とした。

4. 統計学的解析

各パラメーターの変化量を one sample *t* test を用いて解析した。また, 変化量の各群間における比較には, 一元配置の分散分析 (ANOVA) および Tukey' s Test を用いて解析した。

すべての統計学的解析は有意水準 5% で行った。

< 結果および考察 >

1. TMR 画像の観察

TMR 画像より, いずれの群においても脱灰部と再石灰化処理部で, 表層の不透過像とその下層に幅のある透過像が認められ, 実験的脱灰エナメル質試料が表層下脱灰をとまなう初期齲蝕であることが確認できた。

また, ガム群では, 再石灰化処理部は, 脱灰部と比較して透過像の幅が最深部から表層方向へ狭くなっており, 各群間で比較する FN-CP 群では, P0s-Ca 群と CPP-ACP 群と比較して, 透過像の幅がより狭くなっている像が観察された。一方, コントロール群では表層下の透過像の変化がほとんど認められなかった。

したがって, この手法は初期齲蝕に対するガムの再石灰化効果を比較検討するのに適したものと考えられる。

2. ミネラルプロファイルにおける各パラメーターの検討

各パラメーターの検討の結果, ガム群においては FN-CP では表層の深さは変わらず, 深層での深さの回復を伴う, 深層を主体とした, 初期齲蝕病変全体的な再石灰化を促進すると考えられた。P0s-Ca では初期齲蝕病変の深層におけるミネラル量の増加による再石灰化の促進が主体と考えられた。CPP-ACP では初期齲蝕病変の中間層と深層を主体とした再石灰化を促進すると考えられた。

一方, コントロール群では, 最も脱灰している部位の密度の減少でのみ有意差が認められた。

このことは、本実験条件においては、この再石灰化溶液による再石灰化効果は顕著でないことを示している。したがって、ガム抽出物の再石灰化促進効果はそれぞれの添加物によるものと考えられる。

また、ガム群とコントロール群を比較すると、FN-CP でのみコントロールと比較して初期齲蝕病変の中間層と深層からの再石灰化を促進する効果が強いと考えられた。

これまでの研究の多くは表層下脱灰の深さの変化や表層下脱灰の再石灰化量のみをパラメーターとして用いた再石灰化の量や初期齲蝕病変の深層の変化の比較検討のみであった。一定の深さごとの領域で再石灰化率の違いについての報告はあるが、再石灰化のパターンの分析まではなされていなかった。

とくに、表層の密度や最も脱灰している部位の密度で規定される点は、それぞれ初期齲蝕病変における表層と中間層を示している。したがって、これらの点を基準としたパラメーターを計測、検討することで、それぞれ初期齲蝕の特徴である表層と病変本体の変化を分析することが可能となった。

< 結論 >

1. 3 種類のガムで表層下脱灰の再石灰化量と深層の再石灰化量の増加で有意差が認められたことから、全てのガムが深層を主体とした再石灰化を促進する効果があることが認められた。
2. FN-CP のみ表層の再石灰化量の増加で有意差が認められたことから、POs-Ca や CPP-ACP では表層の再石灰化を促進する効果は認められなかった。

以上のことから、全てのガムで再石灰化を促進する効果があるが、その再石灰化パターンには違いがあることが明らかとなった。また、FN-CP は最も再石灰化が促進されており、コントロールと比較しても深層を主体とした初期齲蝕病変全体を再石灰化する傾向が強いことから初期齲蝕の再石灰化に有用であったことが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 佐 野 英 彦
副 査 教 授 八 若 保 孝
副 査 准教授 土 門 卓 文

学 位 論 文 題 名

添加物 (FN-CP, POs-Ca, CPP-ACP) 配合ガムの 実験的初期齲蝕エナメル質に及ぼす再石灰化促進効果

審査は、審査員が一同に会し、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口答試問により行われた。以下に提出論文の要旨と審査の内容を述べる。

【目的】

再石灰化効果を持つ数種類のガムが、特定保健用食品として認められている。本研究の目的は特定保健用食品の指定を受けているガム3種（添加物として FN-CP: フクロフノリ抽出物と第二リン酸カルシウム, Pos-Ca: リン酸化オリゴ糖カルシウム および CPP-ACP: カゼインホスホペプチド-非結晶性リン酸カルシウム複合体を配合）の再石灰化パターンを比較検討することである。

【方法】

健全第三大臼歯のエナメル質を 0.01M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH4.0) で50℃, 2日間脱灰し、実験的に初期齲蝕を作製した。この脱灰エナメル質試料をガム群は再石灰化溶液を用いた各ガムの抽出液に、コントロール群は再石灰化溶液のみに、37℃, 2週間浸漬し再石灰化処理を行った。再石灰化処理を行った試料から作製された研磨試料を TMR (transverse microradiography) 撮影し、ミネラルプロファイルを作成した。その後、新たに開発されたプログラムを用いて9項目のパラメーターを算出し、再石灰化の促進効果について比較検討した。

【結果・考察】

1. TMR 画像の観察

TMR 画像より、いずれの群においても脱灰部と再石灰化処理部で、表層の不透過像とその下層に幅のある透過像が認められ、実験的脱灰エナメル質試料が表層下脱灰をともなう初期齲蝕であることが確認できた。

また、ガム群では、再石灰化処理部は、脱灰部と比較して透過像の幅が最深部から表層方向へ狭くなっており、各群間で比較する FN-CP 群では、POs-Ca 群と CPP-ACP 群と比較して、透過

像の幅がより狭くなっている像が観察された。一方、コントロール群では表層下の透過像の変化がほとんど認められなかった。

したがって、この手法は初期齲蝕に対するガムの再石灰化効果を比較検討するのに適したものと考えられる。

2. ミネラルプロファイルにおける各パラメーターの検討

各パラメーターの検討の結果、ガム群においては FN-CP では表層の深さは変わらず、深層での深さの回復を伴う、深層を主体とした、初期齲蝕病変全体的な再石灰化を促進すると考えられた。POs-Ca では初期齲蝕病変の深層におけるミネラル量の増加による再石灰化の促進が主体と考えられた。CPP-ACP では初期齲蝕病変の中間層と深層を主体とした再石灰化を促進すると考えられた。

一方、コントロール群では、最も脱灰している部位の密度の減少でのみ有意差が認められた。このことは、本実験条件においては、この再石灰化溶液による再石灰化効果は顕著でないことを示している。したがって、ガム抽出物の再石灰化促進効果はそれぞれの添加物によるものと考えられる。

また、ガム群とコントロール群を比較すると、FN-CP でのみコントロールと比較して初期齲蝕病変の中間層と深層からの再石灰化を促進する効果が強いと考えられた。

これまでの研究では、表層下脱灰の深さの変化や表層下脱灰の再石灰化量をパラメーターとして用いた比較検討が多かったが、本研究では、そのほかに新たなパラメーターを計測、検討することで、それぞれ初期齲蝕の特徴である表層と病変全体の変化を分析することが可能となった。

【結論】

1. 3種類のガムで表層下脱灰の再石灰化量と深層の再石灰化量の増加で有意差が認められたことから、全てのガムが深層を主体とした再石灰化を促進する効果があることが認められた。

2. FN-CP のみ表層の再石灰化量の増加で有意差が認められたことから、POs-Ca や CPP-ACP では表層の再石灰化を促進する効果は認められなかった。

以上のことから、全てのガムで再石灰化を促進する効果があるが、その再石灰化パターンには違いがあることが明らかとなった。また、FN-CP は最も再石灰化が促進されており、コントロールと比較しても深層を主体とした初期齲蝕病変全体を再石灰化する傾向が強いことから初期齲蝕の再石灰化に有用であったことが示唆された。

各審査員が行った主な質問は、以下の通りである。

- (1) フクロフノリ抽出物はフノリからの抽出物なのか？
- (2) フッ素による再石灰化部位の硬さとガムによる再石灰化部位の硬さに違いはあるのか？
- (3) ミネラルプロファイルを作成する際の基準の決め方は？
- (4) 表層下脱灰の一般的な深さはどのくらいまでなのか？

(5) 脱灰部と再石灰化处理部の境界はどのようにみえるのか？

これらの質問に対し申請者はそれぞれ適切に回答し、さらに今後の研究の発展性に対して明確な方向性を持っていることが確認された。

よって、申請者は博士（歯学）を授与するに値するものと判断された。