

#### 4. 唾液中の無機ピロリン酸に関する研究

—測定法についての検討—

伊部峰子, 斎藤恵美, 渡部 茂  
五十嵐清治, 市田篤郎\*  
(小児歯科, 口腔生化\*)

生体における無機ピロリン酸は代表的な石灰化抑制因子の一つと考えられており, 血清尿, 唾液中にその存在が認められている。しかし, その存在濃度は極めて低く, 速やかに加水分解されるため, 十分な感度と正確さを有する簡便な測定法はいまだに確立されていない。

我々はシグマ社の Pyrophosphate assay Reagent を利用して, 唾液中ピロリン酸濃度を測定しているが, 今回はサンプルの前処理として適当な除タンパク法を検索するとともに, 本法の信頼性等について検討したので報告する。

なお唾液採取対象者は23歳から30歳の健康成人とし, 吐出法により唾液を採取し, 除タンパク後, Pyrophosphate assay Reagent を加え, 分光光度計にて測定した。

##### 結果

1. 唾液の除タンパクは遠心分離後に, 24Centrifro25を用いて限外濾過するのが適当と思われた。
2. 理論値と測定値の比較, 添加回収試験, 同時再現性試験より本法の信頼性の高いことがわかった。
3. 唾液中ピロリン酸濃度は, 採取時間を一定にしても, 同時再現性を上回る日差変動を示した。

4. サンプルは室温保存は不可能であったが, 冷凍保存では変動が少なかった。

5. ピロリン酸が多く添加されている食物摂取による唾液中ピロリン酸濃度の変化は, 今回の測定では確認できなかった。

6. サンプルの pH が至適 pH7.0から極端にずれると低い成績をとるが, 通常の唾液ではこの恐れはなかった。

質問 田隈 泰信 (口腔生化)

1. 唾液ピロリン酸は血液からろう出して来たものか唾液腺が作ったものか。

2. 唾液ピロリン酸が歯石形成を抑制している報告はあるか。

以上2点について教えて下さい。

回答 伊部 峰子 (小児歯科)

1. 血清中からの漏出によるものが大部分であると思われます。

2. 唾液中ピロリン酸と歯石形成の関係については Vogeil, Amdur らが報告しているものなどありますが, 報告例はわずかです。

#### 5. 唾液中の酵素活性と齲蝕現症との関連性について

三浦宏子, 上田五男, 磯貝恵美子  
脇坂仁美, 井藤信義  
(口腔衛生)

唾液が口腔内の健康状態を維持するために重要な役割を果たすことは, 多くの研究者によって報告されている。しかし, 唾液中の酵素活性と齲蝕現症との関連性については,  $\alpha$ -Amylase などの2,3の酵素について報告があるのみで, その大部分は解明されていない。唾液中の酵素活性は口腔内細菌の影響を受けるという報告もあり, 唾液中の酵素活性と, 齲蝕との関連性を調べることは極めて有意義であると考えられる。本研究は19種類の酵素活性が4時間で測定できる APIZYM を用いて, ヒトの唾

液中の酵素活性と齲蝕現症との関連性を研究したものである。用いた対象は本学歯学部院内生40名である。同時に唾液中の細菌数と酵素活性との関連性も調べ以下の結論を得た。

齲蝕現症を表わすDMF歯数と Alkaline Phosphatase, Leucine aminopeptidase, Phosphoamidase,  $\beta$ -Galactosidase,  $\alpha$ -Glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosamidase といった6種の酵素活性との間に有意の相関性を認めた ( $P < 0.01$ )。また, これらの6種の酵

素活性は唾液中の総嫌気性菌数および総レンサ球菌数との間に極めて高い相関性 ( $P < 0.01$ ) を示し、齶蝕原因菌のひとつである *S. mutans* とも有意の相関性を示した ( $P < 0.01$ )。

以上の結果より、Alkaline phosphatase をはじめとする 6 種の唾液中の酵素活性の測定は齶蝕活動性を予測するうえで重要であることが示唆された。また、本研究で用いた方法は培養器以外の特別の設備を必要とせず、培養時間も 4 時間と他の既存の齶蝕活動性試験 (スナイダーテスト、カリオスタットなど) と比較して短時間であるため、臨床応用の可能性も大と思われる。

**質問** 市田 篤郎 (口腔生化)

1. 白血球数との相関は何でしょうか。
2. エステラーゼ活性との相関は認められませんか。

**回答** 三浦 宏子 (口腔衛生)

1. 今回の実験では、白血球数との関係はみませんでした。今後、検討していきたいと思っております。
2. 今回の実験ではエステラーゼ活性との間の相関関係は認められませんでした。

**質問** 小田島武志 (口腔生化)  
お調べになった酵素の酵素活性と細菌数がなぜ相関 (比例) するのでしょうか？

**回答** 三浦宏子 (口腔衛生)  
唾液の酵素活性の由来は、唾液中の細菌、白血球、および剝離細胞などがよく知られております。このうち、唾液中の細菌が唾液の酵素活性の主要な origin であることが、多数の研究者によって報告されております。今回、用いたアピザイムは元来、細菌の同定補助キットであるため、特に細菌由来の酵素活性を測定するのに有効であると考えられます。

**質問** 馬場 久衛 (口腔細菌)  
う蝕活動性と唾液中の酵素活性について、経時的な関係は如何ですか。

**回答** 三浦 宏子 (口腔衛生)  
今回の実験では、あくまでもう蝕現症の状態は DMF 歯数のみで調べました。経時的なう蝕増量を調べる RID index などを用いた検討も、今後行っていきたいと思っております。

## 6. う蝕自然発症ラットの研究

— 歯面の形態について —

渡辺敏彦, 原口克博, 三浦宏子\*  
荊木祐司, 井藤信義\*, 松田浩一  
(保存第 II, 口腔衛生\*)

第 5 回本学会において、三浦らによって、市販の固形試料のみで、う蝕が自然発症する Caries susceptible (SDC) ラットとその対照系 (CSC) ラットを紹介し、う蝕発現状況を報告した。今回、その両系統のラットを用いて、う蝕発症要因の一つと考えられる宿主要因のうち歯面形態、特に裂溝部について検討を行なったので報告する。

〈材料及び方法〉実験に供したラットは、SDC ラットと CSC ラットを用いた。その両系統の生後 1, 2, 3, 4 ヶ月のラットを用い、各月齢の歯の形態の測定を行なった。取り出した上下顎の臼歯部を片顎ずつ実体顕微鏡下で、咬合平面に垂直に上方より規格撮影した。その後エポキシ樹脂にて包埋し、近遠心的に厚さ約  $400\mu\text{m}$  に縦断した切片を規格撮影した後、パーソナルコンピューターシステム (NEC PC-9801) 及びデジタイザーに図形計測プロ

グラムを用いて計測を行なった。ラットの歯の咬合面においては、臼歯の長径及び幅径を、縦断試料では裂溝の角度、深さ及び最深部のエナメル質の厚さを計測し、両系統について比較、検討を行なった。

〈結果及びまとめ〉両系統のラットの裂溝の深さでは、生後 3 ヶ月の  $\overline{M}_1$  の第 1, 2 裂溝,  $\overline{M}_2$  の第 1 裂溝, 生後 4 ヶ月では  $\overline{M}_1$  の第 2 裂溝,  $\overline{M}_2$  の第 1 裂溝に有意差が認められた ( $P < 0.05$ )。裂溝の角度においては、生後 4 ヶ月では  $\overline{M}_2$  の第 1 裂溝に有意差が認められた。 ( $P < 0.01$ )。他の各月齢の各計測項目については有意差は認められなかった。このことは両系統のう蝕発現率が、生後 3, 4 ヶ月のラットの下顎臼歯部で、有意差が認められたことと、時期と部位が一致している。

以上の結果より、う蝕発症と裂溝部の形態には、なんらかの関係があることが示唆された。