

|         |                                                                  |
|---------|------------------------------------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | 桜井有子(北海道)                                                        |
| 学位の種類   | 博士(歯学)                                                           |
| 学位記番号   | 甲第93号                                                            |
| 学位授与の日付 | 平成13年3月16日                                                       |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条1項該当(課程博士)                                                |
| 学位論文題目  | エナメル質初期う蝕の再石灰化に及ぼすフッ素<br>およびキシリトールの効果                            |
| 論文審査委員  | 主査 教授 五十嵐 清 治<br>副査 教授 矢 嶋 俊 彦<br>副査 教授 大 野 弘 機<br>副査 教授 田 隈 泰 信 |

## 論文内容の要旨

### 【緒 言】

小児歯科臨床においてはエナメル質の初期う蝕(白斑)がしばしば観察される。この白斑は表層下脱灰の状態であり、適切な処置で健全歯への回復が可能であるといわれている。このように、う蝕の進行を初期段階で停止させ再石灰化能を活用して歯質の保存と歯髄保護をはかることは8020運動達成のためにも重要である。そのため様々なプロフェッショナルケアが試みられており、フッ化物応用をはじめ、最近ではキシリトールなども注目されている。エナメル質再石灰化におけるフッ化物の作用については多くの研究がなされているが、キシリトール単独やフッ素とキシリトールを併用した場合についての再石灰化現象については未だ不明な点が多い。

そこで本研究ではフッ素およびキシリトールのエナメル質の初期う蝕病変における再石灰化機序を解明することを目的とし、ヒト埋伏第三臼歯の薄切片(single thin section法)を用いて表層下脱灰標本を作製し、pH-cycling処理におけるミネラル濃度分布の変化、形態観察、および結晶性の解析を行った。

### 【材料および方法】

被検歯としてヒト埋伏第三臼歯を用いた。

#### 1. 試料の調製

・エナメル質切片の作製

被検歯は表面研磨後、硬組織切断機を用いて頬舌的に切断し、これを耐水研磨紙にて研磨して厚さ約100 $\mu$ mの試料切片を作製した。次にエナメル質表面を残して試料

切片を光重合レジンにて被覆し、約3mm $\times$ 100 $\mu$ mのwindowを形成した。

・初期う蝕の形成

作製した切片は脱灰溶液に37 $^{\circ}$ Cで浸漬し、表層下脱灰病変を形成した。

#### 2. 再石灰化処理

表層下脱灰の形成が確認できた試料を溶液処理の違いにより群分けをし、以下のpH-cycling処理(脱灰・再石灰化処理)を行った。すなわち、①5分間の溶液への浸漬(1. 浸漬なし, 2. キシリトール水溶液, 3. NaF水溶液, 4. キシリトール+NaF水溶液)②約4時間の脱灰溶液への浸漬③5分間の①溶液への浸漬④約20時間の再石灰化溶液への浸漬とし、この一連の処理を14回、継続して2週間繰り返した。なおキシリトール水溶液の濃度は5%, 10%, 20%, NaF水溶液のF濃度は100ppm, 300ppm, 600ppm, 950ppmに、キシリトール+NaF水溶液はキシリトール10%, F950ppmのそれぞれの条件にて行った。

#### 3. 再石灰化のCMR(Contact Microradiogram)による測定

表層下脱灰形成後とpH-cycling7日目と処理終了後に、脱灰程度および再石灰化度を定量的に評価するためCMRを撮影した。得られたCMR像をNIHImageにより画像解析を行い、Mineral profileを作成し、このProfileより総ミネラル喪失量( $\Delta Z$ )を求め、脱灰および再石灰化評価のパラメーターとした。統計処理はノンパラメトリック法(Mann-WhitneyU-test)を用いた。

#### 4. SEMによる形態観察とEPMAによる元素分析

表層下脱灰形成後とpH-cycling処理終了後（キシリトール+NaF群）の試料を用いてエナメル質の内部構造を試料切片の自然断面で観察した。またCa, P, Fの分布を検索する目的で波長分散型X線分析（X-650型、日立製）を行った。

### 5. 結晶性の解析

EPMA分析が終了した試料についてX線回析法によりエナメル質の結晶性の評価を行った。測定には微小領域X線回析装置（RINT-2000, 理学電気）を用いた。

#### [結果および考察]

#### 1. 再石灰化のCMRによる評価

##### ・無処理群

8試料中5試料に再石灰化が認められた。再石灰化処理前後での再石灰化の進行には有意な差が認められなかった。

##### ・キシリトール群

5%濃度で6試料中1試料, 10%濃度で8試料中2試料, 20%濃度で5試料中2試料に再石灰化が認められた。10%濃度では再石灰化処理前後で有意に脱灰が進行した。

##### ・NaF群

全ての試料（7試料）に再石灰化が認められ, 再石灰化処理前後で有意に再石灰化が進行した。

##### ・キシリトール+NaF群

全ての試料（8試料）に再石灰化が認められ, 再石灰化処理前後で有意に再石灰化が進行した。

また再石灰化処理後における値を各群間で見ると, 無添加群と他群との間では全てに有意差が認められた。

これらの結果より, 今回の実験モデルにおいては, 無処理群, キシリトール群では一部の試料に再石灰化が認められ, NaF群, キシリトール+NaF群では全ての試料に再石灰化が認められた。再石灰化には, CaイオンやPイオンなどの物理化学的作用の他に, 細菌, プラーク, 唾液蛋白なども大きく関与しているといわれている。無処理群, キシリトール群で一部の試料に再石灰化が認められなかったのは, 今回の実験モデルはこれらの細菌, プラーク, 唾液蛋白が含まれていないことが要因と推察された。

#### 2. SEMによる観察

pH-cycling処理終了後, NaF群とキシリトール+NaF群の試料切片にエナメル質の表層から層状に付着生成物が生じていた。この生成物は無処理群やキシリトール群の試料では認められなかった。試料切片を割断して, エナメル質内部を観察したところ, 初期う蝕形成試料では表層下の脱灰部分において小柱構造が失われ,

針状や板状の結晶構造が観察された。またキシリトール+NaFは再石灰化処理を行った試料では, 棒状や板状の結晶構造が認められた。初期う蝕形成試料の結晶構造より大きなものも認められた。表層下脱灰部分では脱灰や再結晶などにより構造に変化が生じているものと推察された。

#### 3. EPMAによる分析

##### ・Ca, Pについて

いずれの群においても表層下の脱灰部分はCa, P強度は低く, 表層エナメル質と健全エナメル質でほぼ同程度を示した。フッ素群とキシリトール+NaF群では表層下の脱灰部分でCaの強度よりもPの強度が低くなっており, 部分的にハイドロキシアパタイト以外の結晶の存在が疑われたが, 本実験では特定できなかった。なお付着生成物は表層エナメル質, 健全エナメル質の強度と同程度であった。

##### ・Fについて

Ca, Pの分析と同様に, エナメル質表層から深層にかけて, Fは表層で高く脱灰部で低くなり, 健全エナメル質に向かい強度は高まった。しかしNaFを作用させていない試料でも作用群以上に強度が高い場合もあり, 試料の個体差の大きいことが推察された。

#### 4. 結晶性の解析

脱灰部, 健全エナメル質, 付着生成物の結晶性の解析では, これら全て波形は近似し, 強度もほぼ同じ回析線が得られた。これらの回析線はハイドロキシアパタイトの回析線とほぼ一致したことから, ハイドロキシアパタイトが大部分であると判断された。しかし表層下の脱灰部分においてはEPMA分析でCaとPの強度が一致しない部分があることから, わずかにその他の結晶が含まれていることが考えられた。

#### [結 論]

single thin section法およびpH-cycling法を用いてinvitroにおける永久歯エナメル質初期う蝕病変の再石灰化を種々の条件下で検討したところ, NaF単独, キシリトール+NaF群で有意な再石灰化が認められ, 初期う蝕病変の再石灰化にはフッ化物が重要な役割を果たすことが示唆された。またキシリトール単独の再石灰化能については本実験では確認できなかったが, 口腔内環境では異なる作用を示すことも報告されているため, 今後, 口腔内における再石灰化の過程を検討する必要性が示唆された。

## 学位論文審査の要旨

小児歯科臨床においては、エナメル質の初期う蝕である白斑の形成がしばしば観察される。これは表層下脱灰状態を特徴としており、表層の高石灰化層は歯質表面から口腔内へのイオンの遊離を防ぎ、歯質内での再石灰化が可能な微小環境を保持していると考えられる。さらに、この表層下脱灰病変は、適切な処理により健全歯への回復が可能であるといわれている。このため、様々なプロフェッショナルケアが試みられており、フッ化物の応用をはじめ、最近ではキシリトールなども注目されている。キシリトールには唾液分泌を促進する作用があり、その唾液自身の再石灰化能によって、唾液の影響が大きいとも考えられている。しかし、キシリトール自体の再石灰化能の存在については不明である、今後の詳細な検討が必要である。一方、フッ素とキシリトールを併用した場合についての再石灰化現象とその機序についても未だ不明な点が多い。そこで本研究では、永久歯エナメル質初期う蝕病変の再石灰化に及ぼすフッ素およびキシリトールの影響について解明することを目的として行った。表層下脱灰の観察にはSingle thin section法、およびpH-cycling法を用いたin vitro人工う蝕モデルを応用し、再石灰化過程を種々の条件下で検討した。得られた結果は

次の通りである。

1. 再石灰化のCMRによる測定では、NaF群、キシリトール+NaF群で、有意な再石灰化が認められた。
2. キシリトール単独の再石灰化能については本実験では確認できなかった。
3. 表層下脱灰部の構造は、正常なエナメル小柱が失われ、針状、板状の構造が認められ、再石灰化処理後では大型の棒状、板状の構造が出現した。
4. 微小領域X線回析による結晶の同定を行ったところ、健全エナメル質、表層下脱灰部、表層下再石灰化部、エナメル質表層の付着生成物は、その大部分がハイドロキシアパタイトであると同定された。

以上より、初期う蝕病変の再石灰化にはフッ化物が重要な役割を果たし、キシリトールはフッ素による再石灰化を促進する傾向を示した。また、再石灰化エナメル質各部位のSEMによる構図は異なっていたが、微小領域X線回析による結晶の分析より、大部分がハイドロキシアパタイトであると判断された。

これらの結果は歯科医学、特にう蝕学の進歩発展に寄与するところ大であり、よって審査の結果、本論文は博士（歯学）の学位を授与に値すると判定した。

|         |                                                                    |
|---------|--------------------------------------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | 島袋 鎮太郎 (沖縄県)                                                       |
| 学位の種類   | 博士 (歯学)                                                            |
| 学位記番号   | 甲 第94号                                                             |
| 学位授与の日付 | 平成13年3月16日                                                         |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条1項該当 (課程博士)                                                 |
| 学位論文題目  | <b>Basic-FGFとTGF-<math>\beta</math>がヒト歯槽骨由来骨芽細胞様細胞の増殖・分化に及ぼす作用</b> |
| 論文審査委員  | 主査 教授 五十嵐 清 治<br>副査 教授 矢 嶋 俊 彦<br>副査 教授 賀 来 亨                      |

## 論文内容の要旨

### 【目 的】

顎の成長・発育に関する研究は、咀嚼機能の発達にも

関わる重要な研究課題である。顎を構成する骨体部と歯槽骨の骨形成に中心的な役割を担っている骨芽細胞の増殖と分化の制御メカニズムは、多くの因子が関与する複