

2020 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	フッ素歯面塗布後の酸蝕症起因酸とpH濃度による象牙質耐酸性比較
キーワード	①フッ素、②酸蝕症、③象牙質

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	エグチ タカコ 江口 貴子
配付時の所属先・職位等 (令和2年4月1日現在)	学校法人東京歯科大学 東京歯科大学短期大学 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	学校法人東京歯科大学 東京歯科大学短期大学 講師
プロフィール	研究者は、2016年4月より東京歯科大学大学院歯学研究科に社会人大学院生として入学し、衛生学講座で食物性酸と高濃度フッ化物溶液の関係についての研究を進め学位を取得した。この研究で、酸蝕症起因酸の種類による脱灰性状とフッ化物歯面塗布後の象牙質耐酸性を検討し、APF 歯面塗布を行った象牙質は、乳酸、リン酸、酢酸、クエン酸の4種酸蝕症起因酸に対して耐酸性の向上を示すが、耐酸性能は酸の種類によって影響を受け、キレート作用を持つクエン酸の場合は十分な耐酸性を得られないことを明らかにした。また、2017年に東京歯科大学短期大学が開学となり、大学院にて修得したスキルをもとに専攻科における研究において酸蝕症に関連する研究指導を行っている。

1. 研究の概要

近年、残存歯増加に伴う歯根露出と高頻度の酸性飲食物摂取から酸蝕症が増加し予防法確立が求められている。酸蝕症の臨床的予防法としてフッ化物応用が挙げられているが、酸蝕症起因酸の種類によるフッ化物歯面塗布後の象牙質耐酸性は十分に検討されていない。本研究の目的は象牙質における4種酸蝕症起因酸による脱灰性状と耐酸性の違いを明らかにし、酸蝕症予防法として象牙質へのフッ化物歯面塗布の有効性を検討することである。本研究では牛歯歯根部唇側を象牙質に平滑面を作成し、表面を鏡面研磨した小ブロックを試料とした。APF 溶液に4分間浸漬したフッ化物歯面塗布を行う実験群とフッ化物処理を行わない対照群を設定し、両群を再石灰化溶液に37℃で1時間浸漬した。再石灰化処理後に両群の試料から5試料ずつを乳酸、リン酸、酢酸、クエン酸の4種の酸蝕症起因酸に37℃で6時間浸漬し、酸蝕症脱灰処理を実施した。脱灰性状および象牙質耐酸性は、算術平均表面粗さ(Sa)、高低差プロファイル、およびコンタクトマイクロラジオグラム(CMR)により算出したミネラル喪失量(ΔZ)と脱灰深度(Ld)、さらにSEMによる観察を行った。また、APF 塗布による象牙質表面のフッ化物動態と生成化合物性状を評価するためEPMA分析およびXPS定性分析を行った。本研究よりAPF 歯面塗布を行った象牙質が乳酸、リン酸、酢酸、クエン酸の4種酸蝕症起因酸に対して耐酸性の向上を示すことが明らかとなった。しかしながら耐酸性能は酸の種類によって影響を受け、乳酸や酢酸は高石灰化層を形成し耐酸性を発揮するが、キレート作用を持つクエン酸の場合は十分な耐酸性が認められないことが示唆された。また、象牙質のフッ化物歯面塗布後の歯面表層にはフッ化カルシウムが生成し、象牙細管を経路とした管周象牙質へのフ

ッ化物イオンの取り込みが行われ耐酸性を向上させる機序が存在することも明らかとなった。

2. 研究の動機、目的

近年、平均寿命の延長や口腔衛生への意識の向上により高齢者の残存歯数は増加傾向である。残存歯数の増加に伴い、65 歳以上の高齢有歯顎者の口腔内では大半に生理的もしくは病的な歯肉退縮が認められ、歯根部象牙質が露出していると報告されている。健康志向の意識の高まりは食生活習慣の変化をもたらし、食事における柑橘系果物の摂取量の増加や疲労回復効果を前面に出したクエン酸やリン酸などを含有する清涼飲料水の習慣的摂取により、若年者から高齢者の幅広い年齢層において酸蝕症が顕著に増加していると報告されている。酸蝕症は微生物の作用が関与しない化学的作用による歯の溶解と定義されている。酸蝕症の原因には内因性と外因性が考えられており、内因性の要因には慢性胃腸障害、外因性要因には柑橘類の摂取、炭酸飲料、スポーツ飲料、アルコール飲料といった酸性食品の習慣的な摂取が挙げられる。また、バッテリー工場などの塩酸や硫酸といった強酸を取り扱う職業に従事する者においても酸蝕症の発生が報告されており、職業的曝露も原因の一つとして挙げられる。これらの原因のうち、近年の酸蝕症増加に最も寄与するのは、外因性要因の酸性飲食物の習慣的摂取である。柑橘類、炭酸飲料や清涼飲料水などの酸性飲食物には、乳酸、リン酸、酢酸、クエン酸などの酸蝕症の原因となる酸蝕症起因酸が多く含有している。一般的に乳酸は乳酸菌飲料、リン酸は炭酸飲料、酢酸は健康飲料、クエン酸は柑橘類に多く含有しており、市場で容易に入手できる。特に炭酸飲料はリン酸とともに多量の糖類を含有し、低い pH と高い滴定酸度により酸蝕症だけでなく齲蝕リスクも懸念されている。エナメル質の臨界 pH5.5 より小さい酸性飲食物がエナメル質と接触した場合、ハイドロキシアパタイト (HAp) の構成成分であるカルシウムやリンなどのミネラルの喪失により急激な脱灰が生じることが先行研究より明らかにされている。また、酸性飲料の摂取がエナメル質の硬度を低下させることも報告されている。歯肉退縮により露出した象牙質はエナメル質と比較してコラーゲンの含有量が多く、臨界 pH も 6.0-6.2 と高いため酸による影響を顕著に受けやすい。それゆえに、象牙質の酸蝕症は進行速度や範囲もエナメル質と比較して大きく、エナメル質よりも早期かつ効果的な酸蝕症への対応が必要と考えられる。しかし、現在の日本の臨床現場においては、酸蝕症の予防はエナメル質と象牙質の両方で部位や歯質に関わらず、画一的にフッ化物応用による耐酸性の向上を行うのみである。フッ化物による齲蝕予防の効果は、多くのエナメル質に対する先行研究によりエビデンスが確立されており、酸蝕症の予防にも有効性が報告されている。セルフケアにおけるフッ化物応用法としては、フッ化物配合歯磨剤によるブラッシングが挙げられる。しかし酸蝕症予防の場合、酸暴露直後は最表層ならびに表層近傍のエナメル質が脱灰により軟化し、ブラッシング圧や硬さの条件次第では摩擦の影響を受けやすく実質欠損へとつながることが懸念されている。また、歯磨剤のフッ化物イオン濃度は 1500ppm を上限としており、齲蝕予防ではなく酸蝕症予防を目的とした場合、より高濃度のフッ化物応用が可能なプロフェッショナルケアによる予防法の確立が急務である。しかし、エナメル質と比較して象牙質の酸蝕症予防を目的とした酸蝕症起因酸に対するフッ化物歯面塗布後の耐酸性は十分に検討されていない。本研究の目的は、乳酸、リン酸、酢酸、クエン酸の 4 種類の酸蝕症起因酸を用いて、フッ化物歯面塗布後の象牙質における耐酸性を検討し、象牙質の酸蝕症予防法としてフッ化物応用の有効性を検討することとした。

3. 研究の結果

3-1 酸処理後の表面粗さ (Sa) について

各種酸蝕症起因酸で処理した実験面 (APF 浸漬面) と対照面 (未浸漬面 non-F 面) の表面粗さ (Sa) の結果を示す (Fig. 1)。乳酸は実験面で $0.41 \pm 0.02 \mu\text{m}$ 、対照面で $0.35 \pm 0.04 \mu\text{m}$ であり、フッ化物歯面塗布処理を行った実験面が対象面より Sa が大きかった。同様に、リン酸は実験面で $0.36 \pm 0.03 \mu\text{m}$ 、対照面は $0.24 \pm 0.04 \mu\text{m}$ であり、酢酸は実験面が $0.53 \pm 0.03 \mu\text{m}$ 、対照面は $0.31 \pm 0.04 \mu\text{m}$ 、クエン酸は実験面が $0.53 \pm 0.05 \mu\text{m}$ であり、対照面は $0.40 \pm 0.12 \mu\text{m}$ であり、いずれもフッ化物歯面塗布処理を行った実験面が有意に大きい結果となった ($p < 0.05$)。酢酸は 4 種の酸で最も対照面と実験面の差が大きく、乳酸は最も 2 群間の差が小さかった。

フッ化物歯面塗布を行わなかった対照面において4種酸のSaを比較するとクエン酸が最も粗さが大きく、乳酸、酢酸の順で小さくなり、リン酸が最も粗さの小さい傾向を示したが、4群間に有意差は認められなかった(ANOVA、 $p>0.05$)。フッ化物歯面塗布を行った実験面においてはクエン酸と酢酸の表面粗さが大きく、リン酸が最も小さいのは同様であり、リン酸と比較してクエン酸および酢酸は有意に粗さが大きかった($p<0.05$)。

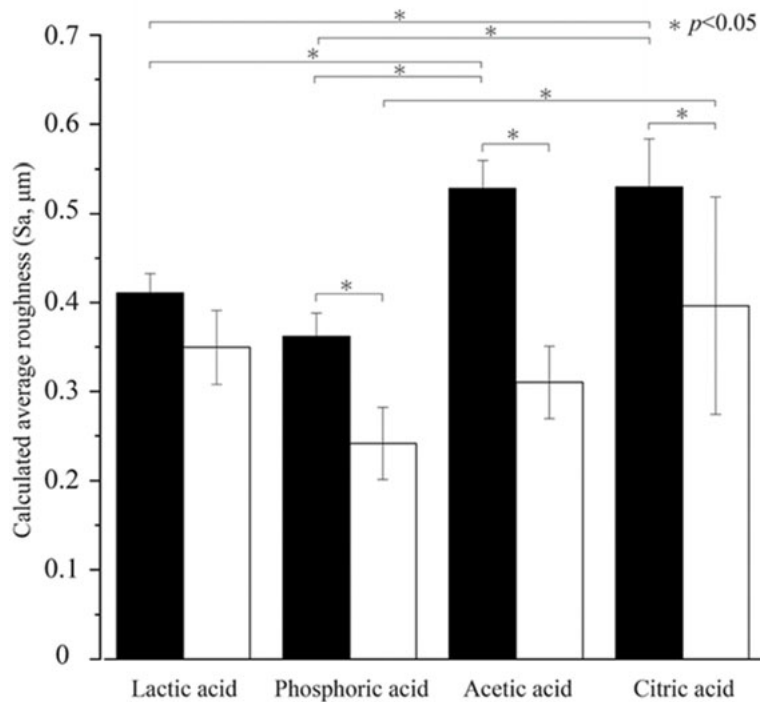


Figure 1

酸蝕症起因酸処理後の表面粗さ(Sa)比較

酸蝕症起因酸処理後の算術表面粗さ(Sa)を示す。黒棒は実験面(APF 浸漬面)を示し、白棒は対照面(未浸漬面 non-F 面)を示す。横軸は各種酸蝕症起因酸の種類を示す。縦軸は表面粗さ(μm)を示す。4種の酸蝕症起因酸のいずれもフッ化物歯面塗布処理を行った実験面で表面粗さ(Ra)が大きい結果となった。酢酸は4種の酸で最も対照面と実験面の差が大きかった。

3-2 コンタクトマイクロラジオグラム(CMR)観察と画像解析

4種酸蝕症起因酸脱灰処理後の実験面(APF浸漬面)と対照面(未浸漬面 non-F面)境界域におけるCMR像を示す(Fig. 2)。乳酸による脱灰処理後の対照面では約 $100\mu\text{m}$ の実質欠損を伴う脱灰を認めた(Fig. 2B)。脱灰面の底部は粗造で象牙細管の周囲の象牙質が一部残存し、底部から深部への脱灰像は認められなかった(Fig. 2B)。フッ化物歯面塗布を行った実験面は、実質欠損は $5\text{--}10\mu\text{m}$ ほどであり、表層から $50\text{--}70\mu\text{m}$ のほぼ均一な深さに脱灰層が形成され、表層は高度に石灰化し脱灰層を覆う典型的な表面下脱灰像を呈していた(Fig. 2A)。表層から $100\mu\text{m}$ ほどの深層では未脱灰領域と近似した値を示し、脱灰層を認めなかった(Fig. 2A)。リン酸の実験面は明確な脱灰層を確認できず、表層から深層まで未脱灰領域と近似した値を示した(Fig. 2C)。対照面は基準面との境界部に一部深い脱灰層を認めるが、実質欠損はほとんど認められず表層から $20\text{--}30\mu\text{m}$ の範囲で若干の透過性の亢進を認めた(Fig. 2D)。酢酸の実験面は、実質欠損が $5\text{--}10\mu\text{m}$ ほどで、表層から $120\text{--}130\mu\text{m}$ の深い位置にほぼ均一な脱灰層が形成され、ごく表層のみが石灰化し脱灰層を覆う典型的な表面下脱灰像とは異なり、表層から $20\text{--}80\mu\text{m}$ もの広い範囲に帯状の高石灰化像を認めた(Fig. 2E)。対照面は底面が平らな約 $100\mu\text{m}$ ほどの実質欠損を認めた(Fig. 2F)。クエン酸は実験面と対照面の両方で実質欠損を認め、実験面は約 $50\mu\text{m}$ 、対照面は約 $100\mu\text{m}$ の粗造な底面像が観察された(Fig. 2G and 2H)。クエン酸は他の3種の酸と異なり、実験面でも高石灰化層が認められず、4種のうちで最も実験面の実質欠損が大きかった(Fig. 2G)。

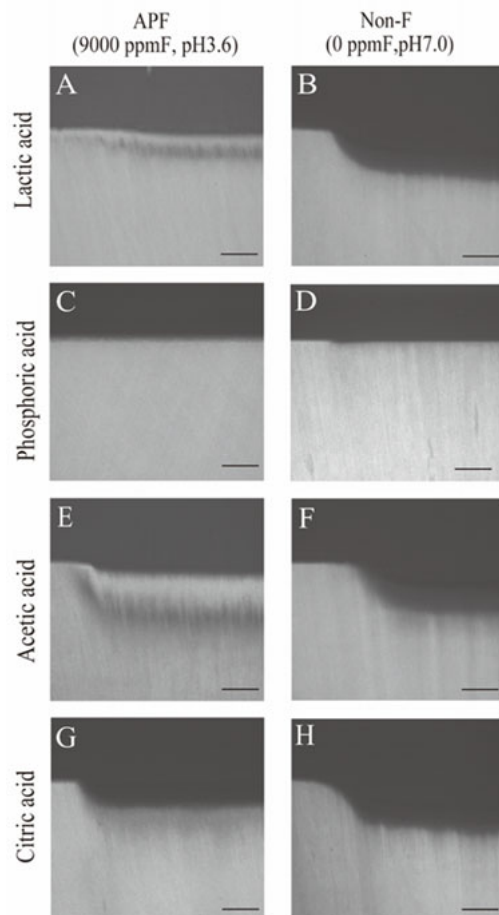


Figure 2

酸蝕症起因酸処理後の CMR 画像所見

酸蝕症起因酸後の CMR 画像を示す。左列が実験面 (APF 浸漬面) (A、C、E、G)、右列が対照面 (未浸漬面 non-F 面) (B、D、F、H) である。上段より乳酸 (A、B)、リン酸 (C、D)、酢酸 (E、F)、クエン酸 (G、H) を示す。スケールバーは $100\mu\text{m}$ を示す。実験面における CMR 画像において、乳酸では表層が高度に石灰化し、表面下脱灰層を呈していた。リン酸では、明確な脱灰層は確認できなかった。酢酸では表層から $20\text{--}80\mu\text{m}$ の範囲に高石灰化像を認めた。クエン酸は、実質欠損が認められた。

4. 研究者としてのこれからの展望

本研究より APF 歯面塗布を行った象牙質が乳酸、リン酸、酢酸、クエン酸の 4 種酸蝕症起因酸に対して耐酸性の向上を示すことが明らかとなった。しかしながら耐酸性能は酸の種類によって影響を受け、乳酸や酢酸は高石灰化層を形成し耐酸性を発揮するが、キレート作用を持つクエン酸の場合は十分な耐酸性を認められない可能性があることが示唆された。また、象牙質のフッ化物歯面塗布後の歯面表層にはフッ化カルシウムが生成し、象牙細管を経路とした管周象牙質へのフッ化物イオンの取り込みが行われ耐酸性を向上させる機序が存在することが示唆された。酸蝕症予防として画一的に象牙質に APF による歯面塗布を実施するのは、キレート作用のある酸に対しては不十分である可能性があり、酸の種類に考慮した新たな酸蝕症予防法の開発を進めていきたい。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

近年、平均寿命の延長や口腔衛生への意識の向上により高齢者の残存歯数は増加傾向である。残存歯数の増加に伴い、歯根部象牙質が露出している口腔内が今後も増加することが考えられる。また、健康志向の意識の高まりは食生活習慣の変化をもたらし、食事における柑橘系果物の摂取量の増加や疲労回復効果を前面に出したクエン酸やリン酸などを含有する清涼飲料水の習慣的摂取により酸蝕症のリスクというのは、増加すると考えられる。今回の結果では酸蝕症起因酸により象牙質が溶解するという結果が得られたが、酸性食品類の摂取を制限するのではなく、フッ化物を上手に用いて口腔内の健康と酸がもたらす全身の健康の両立を目指してほしいと考える。今回の研究では歯科医院で用いられる 9000ppm という高濃度フッ化物溶液を使用した。歯科医院にて塗布することにより酸蝕症予防ができると考えるため、定期的な歯科医院への受診を勧めたいと考える。また、低濃度にはなるが、歯磨剤や洗口剤に含まれるフッ化物も有効と考えられるため、対象者や患者のセルフケアに取り入れて頂けるよう周知していきたいと考える。