

Title	In-air micro-beam PIXE/PIGE法を用いた根面象牙質の脱灰評価
Author(s)	八木, 香子
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61646
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (八木 香子)

論文題名

In-air micro-beam PIXE/PIGE法を用いた根面象牙質の脱灰評価

論文内容の要旨

【緒言】

近年、諸国においては、高齢者の根面う蝕の増加が問題となっている。根面象牙質の臨界pHはエナメル質に比べて高く、う蝕を発症しやすい。また、一度う蝕を形成すると、歯肉縁下に広範囲に広がる傾向にあるため、修復治療による対応には苦慮する場面も多い。よって、根面う蝕の予防・進行抑制は生涯にわたる口腔の健康を支えるために重要な課題である。フッ化物は、歯質の耐酸性を向上させ、再石灰化を促進することから、根面う蝕の予防・進行抑制に効果的であるといわれている。しかし、従来のう蝕研究がう蝕病変内でのフッ素(F)の元素レベルでの挙動とう蝕抑制効果について明らかにできていないため、どのような濃度や形態でフッ化物を作用させる方法が根面う蝕の予防により効果的であるかについては、さらなる検討の余地がある。

う蝕病変の脱灰および再石灰化の評価には、Transverse Microradiography(TMR)が広く用いられている。しかし、TMRは歯質内のミネラルの量的変化を評価するものであり、う蝕病変における元素レベルの変化を捉えるものではない。また、Electron Probe Micro Analysis(EPMA)は歯質表面の元素分析を行うことが可能であるが、試料の乾燥や蒸着、鏡面研磨などの前処理が必要となり、同一試料を用いた連続的評価を行うことはできない。このように従来の方法では、う蝕病態の質的な連続的変化を元素レベルで明らかにすることは実現していなかった。

本研究では、歯質内のカルシウム(Ca)とFを同時に連続的定量が可能な若狭湾エネルギー研究センターのIn-air micro-beam Particle Induced X-ray/Gamma-ray Emission(PIXE/PIGE)を用いることで、近年の急増が懸念される根面う蝕を想定し、根面象牙質の脱灰挙動の評価が可能かどうかを検討した。さらに、フッ化物徐放性材料(Fluoride releasing material :FRM)を根面に塗布した場合の脱灰抑制効果について評価した。

【材料と方法】

本研究は大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した(承認番号:H25-E28)。

実験1. In-air micro-PIXE/PIGEを用いた、根面象牙質における脱灰前後のCaおよびFの定量評価法の確立

ヒト健全第三大臼歯9本のセメント-エナメル境に近接する頬側面を歯軸に平行に切断し、根面象牙質を露出させた2ブロックを各歯より切り出した。一方の象牙質露出部に、アドシールド®GI(クラレノリタケデンタル)を塗布し(以下FRM群)、他方は塗布しないコントロールとして(以下CO群)、37℃生理食塩水中に浸漬した。生理食塩水は1週間ごとに交換し、1ヵ月後にFRMを除去して、頬舌かつ歯軸方向に500µm幅に切り出して測定試料とした。象牙質の切断面表層より800µmの部位に基準となる銅箔を貼付し、根面象牙質表層から銅箔まで歯質内をPIXE/PIGEを用いて線分析にてCaおよびF濃度を測定した。その後、象牙質露出面をpH 4.5の脱灰溶液に3日間浸漬後、再びPIXE/PIGEによる同部位の分析を行った。脱灰前後の線分析の結果を、銅箔を基準として重ね合わせ、Ca喪失量と歯質内F量およびF浸透深さを算出し、相関関係について検討した。また、PIXE/PIGE測定の前後に全ての試料のマイクロCT撮影を行ってミネラル喪失量を算出し、前述のPIXE/PIGEによるCa喪失量との相関を検討した。Ca喪失量、歯質内F量、F浸透深さ、およびミネラル喪失量における2群間の比較については、Mann-Whitney's U-testを用いて危険率を5%として評価した。Ca喪失量とミネラル喪失量、歯質内F量、およびF浸透深さとの相関関係については、Spearman's rank correlation coefficientを用いて危険率を1%として検定した。

実験2. FRMの塗布期間および脱灰時のpHを変えた条件でのFRMが根面象牙質の耐酸性に及ぼす影響の検討

ヒト健全第三大臼歯21本を用いた。根面象牙質を露出させた4ブロックを各歯より切り出し、3ブロックの象牙質露出部に、FRMとしてFuji VII(ジーシー)(F7)、MI Varnish(ジーシー)(MI)、アドシールド®GI(Ad)を各々塗布した。一方、FRMを塗布しない1ブロックをコントロール(CO)とした。これらを、37℃で1ヵ月もしくは3ヵ月間、生理食塩水中に浸漬後、FRMを除去し、実験1.と同様に測定用試料を作製した。PIXE/PIGE測定後、1ヵ月塗布試料をpH 4.5あるいは5.0の脱灰溶液に、また3ヵ月塗布試料はpH 5.0の脱灰溶液に3日間浸漬した。脱灰後、再びPIXE/PIGEにて脱灰前と同一部位の分析を行い、脱灰前後の結果よりCa喪失量と歯質内F量を群間で比較した。さらに、脱灰後の表層の形態について、

表層に変化なし、表層下脱灰あり、および表層が後退、の3群に分類して評価した。Ca喪失量および歯質内F量における群間比較については、Steel-Dwass testを用いて危険率を5%として評価した。塗布期間による比較には、Mann-Whitney's *U*-test を用いて危険率を5%として評価した。また、Ca喪失量と歯質内F量の相関関係については、Spearman's rank correlation coefficientを用いて危険率を1%として検定した。さらに、表層の形態については、Kruskal-Wallis testを用いて危険率を5%として検討した。

実験3. Caを添加したFRMが根面象牙質の耐酸性に及ぼす影響の検討

Fuji VIIの組成中のSr/Ca比を100/0 (Fuji VII; F7), 50/50 (試作セメントP1), 0/100 (試作セメントP2)としたガラスアイオノマーセメントを実験に供した。ヒト健全第三大臼歯9本を用い、根面象牙質を露出させた4ブロックを各歯より切り出し、3ブロックの象牙質露出部に各セメントを塗布した。一方、FRMを塗布しない1ブロックをコントロール(CO)とした。実験1. と同様に、Ca喪失量と歯質内F量を群間で比較した。さらに表層の形態についても検討した。Ca喪失量および歯質内F量における群間比較には、Steel-Dwass testを用いて危険率を5%として評価し、相関関係については、Spearman's rank correlation coefficientを用いて危険率を1%として検定した。さらに、表層の形態については、Kruskal-Wallis testを用いて危険率を5%として検討した。

実験4. FRMからのイオン溶出濃度の測定

各セメント硬化体およびバーニッシュを溶液中に浸漬し、溶液中に溶出したCaイオンはICP発光分光分析装置を用いて、またFイオンはフッ素イオン電極を用いて28日間測定した。群間の溶出量の差は、Two-way ANOVAおよびTurkey's testを用いて危険率5%にて評価した。

【結果および考察】

実験1. In-air micro-PIXE/PIGEにおけるCa喪失量と、マイクロCTにおけるミネラル喪失量には有意な高い相関が認められた(Spearman's rank correlation coefficient: $r=0.88$, $P<0.01$)。また、FRM群のCa喪失量はCO群に比べ有意に少なく(Mann-Whitney's *U*-test, $P<0.05$)、Ca喪失量と歯質内F量、およびF浸透深さは有意な負の相関を示したことから(歯質内F量: $r=-0.72$, $P<0.01$; F浸透深さ: $r=-0.74$, $P<0.01$)、FRM群は、F取り込みにより、CO群にくらべて耐酸性が向上したことが示された。In-air micro-PIXE/PIGEを用いて、根面象牙質における脱灰前後のCaおよびFの連続的定量評価が可能であり、従来の評価法であるTMRやマイクロCTと併用することで、より詳細なう蝕病変の評価に有用であると考えられた。実験2. FRMを1ヵ月間塗布した群と3ヵ月間塗布した群を比較すると、歯質内F量は3ヵ月の群において有意に増加したが(Mann-Whitney's *U*-test, $P<0.05$)、Ad群以外ではCa喪失量に有意差はなかった。これより、歯質内F量を増加させることによって量依存的に象牙質の耐酸性が向上したわけではなく、根面象牙質の耐酸性の獲得には一定以上のF量が歯質内に存在することが重要であるといえる。象牙質の脱灰時のpHの影響については、pH4.5において歯質内F量はMI, Ad, F7, CO群の順で多く、Ca喪失量は、MI群とAd群においてのみ、CO群との間に有意差が認められた(Steel-Dwass test, $P<0.05$)。また、各FRM群のみでCa喪失量と歯質内F量との間に有意な負の相関があった(Spearman's rank correlation coefficient: $r=-0.72$, $P<0.01$)。これは、歯質内にFが取り込まれることによって根面象牙質の耐酸性が向上するが、pHが低い場合には脱灰抑制に必要な歯質内のF量の閾値があがるため、その閾値以下のF量だけでは脱灰が抑制できなかったためと推察された。表層の形態については、特にAd群では他群と比較して有意に表層が保持される傾向にあった(Kruskal-Wallis test, $P<0.05$)。

実験3. 各群におけるCa喪失量は、CO, F7, P1, P2群の順で多く、P1およびP2群はF7およびCO群と比較して有意にCa喪失量が少なかった(Steel-Dwass test, $P<0.05$)。各群における歯質内F量は、P1, P2, F7群とCO群との間に有意差が認められ(Steel-Dwass test, $P<0.05$)、P1, P2, F7群の間には有意な差はなかった。表層の形態について、CO群では全て表層が後退していたが、P1およびP2群においてはほぼ全ての試料で表層が保持されていた。これらより、高フッ化物徐放性ガラスアイオノマーセメントのSrをCaに置換した材料を塗布することによって、根面象牙質の耐酸性がさらに向上する可能性が示唆された。

実験4. 各FRMからのCaイオン溶出濃度は、すべての群間に有意差が認められた(Two-way ANOVA, Turkey's test, $P<0.05$)。また、Fイオン溶出濃度は、MI Varnishとアドシールド®GIとFuji VII, P1, P2との間に有意差が認められ($P<0.05$)、Fuji VII, P1, P2の間には有意差は認められなかった。

【結論】

In-air micro-PIXE/PIGEを用いて、根面象牙質における脱灰前後のCaおよびFの連続的定量評価法を確立できた。また、高フッ化物徐放性ガラスアイオノマーセメントのSrをCaに置換した材料を塗布することにより、根面象牙質の耐酸性がより向上することが分かった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (八 木 香 子)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 林 美加子
	副 査	教授 今里 聡
	副 査	教授 長島 正
	副 査	准教授 久保庭 雅恵
論文審査の結果の要旨		
<p>本研究は、歯質内の Ca と F を同時に連続的定量が可能な In-air micro-beam Particle Induced X-ray/Gamma-ray Emission (PIXE/PIGE) を用いることで、根面象牙質の脱灰挙動の評価が可能かどうかを検討したものである。</p> <p>その結果、In-air micro-PIXE/PIGE を用いて、根面象牙質における脱灰前後の Ca および F の定量評価法を確立した。また、高フッ化物徐放性ガラスイオノマーセメントの Sr を Ca に置換した材料により、根面象牙質の耐酸性がより向上することが示された。</p> <p>以上の研究成果は、根面う蝕の予防法の開発に重要な知見を提供するものであり、本研究は博士(歯学)の学位授与に値するものと認める。</p>		