OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	象牙質における抗う蝕性イオンのマルチスケール解析
Author(s)	内藤, 克昭
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/82158
rights	This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC-BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　内藤　克昭　）	
論文題名	象牙質における抗う蝕性イオンのマルチスケール解析

論文内容の要旨

【研究目的】

近年，先進国における高齢者の根面う蝕の増加が社会的な問題となっている．象牙質は，主として有機質であるⅠ型コラーゲン線維と無機成分であるハイドロキシアパタイト (HAp) から構成されている．象牙質のHApには結晶学的な空孔に加え，炭酸イオン，フッ化物 (F)，ナトリウム，亜鉛 (Zn) などの微量元素やイオンが含有されており，脱灰や再石灰化などう蝕の進行に複雑に関与していると考えられている．またFは，う蝕予防に有効であることが知られ，昨今では，F単独よりも他元素と組み合わせることで，さらなる耐酸性の向上が期待され始めているが，その詳細なメカニズムについては未だ不明である．

本研究では，大気陽子線励起X線/ガンマ線分析法 (In-air μ-PIXE/PIGE), X線吸収微細構造 (XAFS) 測定に加えて，マイクロコンピュータ断層撮影 (μCT), 薄膜X線回折法 (XRD), およびX線光電子分光法 (XPS) を用いて，人為的に抗う蝕性イオンを導入した象牙質の耐酸性獲得メカニズムを，特にZnに着目し，明らかにすることを目的とした．

【材料および方法】

1. 象牙質への抗う蝕性イオン導入による元素分布と耐酸性評価
   1. 試料作製
      セメントエナメル境から歯冠側に0.5 mm，歯根側に7.0 mmの位置で歯軸と垂直方向に切断した．次に頬舌側面を歯軸に平行に切断し，根面象牙質を露出させ，頬舌および近遠心方向に半切して4ブロックに切り分けた．露出根面象牙質以外をワックスで被覆し，露出部位に下記のいずれかのイオン徐放材料を塗布した。
      a. ZIF-10 (フルオロジンクシリケートガラスを含有したセメント)
      b. Fuji VII (一般的に用いられている歯質保護用グラスアイオノマーセメント)
      c. FRC-02 (Fuji VIIのストロンチウム (Sr) mol%比の50%をカルシウム (Ca) に置換したセメント)
      なお，材料を塗布しない試料をコントロールとした．試料を湿度100%, 37 ℃にて1時間保管後，生理食塩水10 ml中に3ヶ月保管した．その後，材料をナイフで除去し，厚さ500 μmの測定試料を作成した．
   2. In-air μ-PIXE/PIGE法による多元素の分布及び濃度の定量評価
      象牙質内のCa, F, Zn, Srの元素分布をIn-air μ-PIXE/PIGE法 (群馬県) を用いて評価した．また象牙質に含まれる元素濃度を，検量線法により定量的に評価した．
   3. μCTによる耐酸性の定量的分析
      脱灰溶液による脱灰前後の歯質をμCTで撮影し，各群におけるミネラル密度の変化を比較した．
   4. 脱灰後の形態学的評価
      脱灰後の試料をエポキシ樹脂包埋し，金/白金蒸着後，電界放出型走査型電子顕微鏡にて観察した．
   5. 統計学的解析
      In-air μ-PIXE/PIGE法から得られた元素濃度の比較については，Steel-Dwass検定を用い，ミネラル密度の変化に関しては，一元配置分散分析およびTukeyの多重比較検定を行い，比較検討した．

2. 抗う蝕性イオン (Zn) のう蝕抑制効果のメカニズム解明
   1. Zn含有象牙質 (Zn doped dentin) およびZn含有HAp (Zn doped HAp) の作製と参考試料の準備
      1.1と同様の方法で根面象牙質を露出させ，ZIF-10を塗布し，1ヶ月間浸漬保管した試料: Zn doped dentinを作製した．また比較試料として，0.1M $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$と0.1M $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$および0.06 M $(NH_3)_2HPO_4$を混和し，Zn doped HApを作製した．合成した試料は，化学量論比および結晶学的な特性を誘導結合プラズマ発光分光分

析およびXRDで評価した．また以後の測定の参考試料として，亜鉛箔 (Zn foil), 酸化亜鉛 (ZnO), リン酸亜鉛四水和物 [$Zn_3(PO_4)_2 \cdot 4H_2O$], フッ化亜鉛四水和物 ($ZnF_2 \cdot 4H_2O$), 炭酸亜鉛 ($ZnCO_3$), ZIF-10を準備した．

2. 薄膜XRD
入射X線角度0.01°による薄膜XRDスペクトルを取得し, Zn導入による象牙質の結晶構造への影響を解析した．

3. XPS
材料塗布面から深さ方向50 μmまでを機械的に削り出し，粉末試料を採取後，化学結合状態をXPSにて分析した．測定元素は，炭素 (C 1s), 酸素 (O1s), Zn 2p, Zn Augerとした．

4. XAFS測定
粉末試料を圧接してφ = 7 mmのペレットを作成し, SPring-8 BL01B (兵庫県) にて, Zn K吸収端XAFS測定を行い, X線吸収端近傍構造 (XANES), 広域X線吸収微細構造 (EXAFS) を取得した．取得したデータは，汎用解析ソフトウェアAthenaおよびArtemisを用いて解析した．

【結果および考察】

1. 象牙質への抗う蝕性イオン導入による元素分布と耐酸性評価

1. 象牙質内の元素分布および濃度測定
In-air μ-PIXE/PIGE法による元素分析の結果, Fは表層で最も高濃度を示し，深部に向かうにつれて減少した. Znは表層約50 μmまでしか浸透しなかった. Srは約100 μmを超える深部においても，比較的高濃度で取り込まれた. F濃度に関して，ZIF-10は高い濃度を示したが，他の群と比較してばらつきが大きく，材料間で統計学的な有意差は認められなかった．Srでは, FRC-02とFuji VIIは，他の群と比較して有意に高い濃度を示した．

2. 耐酸性の定量的分析
ZIF-10はミネラル喪失量が少なく，コントロール群と比較して有意な差を認めた ($p < 0.01$). 同様にCaを含有しているFRC-02とコントロール群との間では，ミネラル喪失量に有意な差を認めた．

3. 脱灰後の形態学的評価
脱灰液に浸漬された根面象牙質は，ミネラルの喪失により反射電子像において脱灰部位が健全な象牙質と比較してより暗く示された．ZIF-10の表層は，10 μm未満の限られた領域のみに脱灰が認められた．ZIF-10とFRC-02では，滑らかな表層を維持していたが，Fuji VIIでは不規則で粗糙な表層を示した．

以上の結果より，表層に取り込まれたZnおよびFが耐酸性の向上に寄与していることが示された．

2. 抗う蝕性イオンのう蝕抑制効果のメカニズム解明

1. 薄膜XRD
Zn doped dentinとZn doped HApは, (002) 面と (211) 面に幅広いピークを示した．健全象牙質でも同様のスペクトルを認め，イオン導入は象牙質の結晶構造に大きな影響を与えていないことがわかった．

2. XPS
Zn doped dentinは，Zn 2pおよびZn Augerにおいて四面体構造を有するZnOやZIF-10と同様のピーク位置を示した．参考試料であるZn doped HApは，Zn doped dentinと比較して低エネルギー側へわずかなピークシフトを示した．

3. XAFS測定
XANESより，Zn doped dentinとZIF-10は類似したスペクトルを示した一方，ZnOとは異なることがわかった．EXAFSとフィッティングの結果，Zn doped dentinのZnに対する第一，第二配位殻はOとPであり，Znの結合状態は4配位構造をしていると推定された．

象牙質内で形成されたZn-O結合は，Caと比較して配位数の減少を認め，またZnはCaよりも電気陰性度が大きいことから共有結合の割合が高まり，耐酸性向上をもたらしたと考えられた．

【結論】

多様かつ未熟な結晶を含有する複雑な構造体である象牙質について，In-air μ-PIXE/PIGE法, XRD, XPS, XAFS測定を用いることにより，マルチスケールでのイオン動態を明らかにすることが可能となった．さらに原子，分子構造での結合状態が，マクロな耐酸性という性質に影響を与えていることが示唆された．マルチスケールでの観測と理論的な解析を組み合わせることで，う蝕の動態を深く理解できるようになり，生物学的なアプローチによる削らないう蝕治療の開発につながることが期待される．

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　内藤　克昭　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教授 副 査　教授 副 査　准教授 副 査　講師	林　美加子 池邉　一典 野村　良太 佐々木　淳一

論文審査の結果の要旨

本研究では，根面う蝕の効果的な予防および進行抑制を実現することを目的として，抗う蝕性イオンが象牙質に与える影響をマルチスケールで解析した．

その結果，フッ化物と亜鉛が象牙質の耐酸性向上に寄与しており，とくに象牙質に導入された亜鉛が，正四面体である 4 配位の Zn-O 結合を形成したことが関与したと考えられた．

以上の研究成果は，根面う蝕の新規予防・治療法を開発するうえで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．