

**研究者：**岩崎 美友（所属：東京歯科大学 衛生学講座）

**研究題目：**バイオアパタイト歯面塗布法による象牙質耐酸性強化法の検討

**目的：**

杉原らの研究によると日本における40歳代で80%以上、50歳代ではほぼ100%近くが歯肉退縮を引き起こしている。歯肉退縮により露出した歯根部象牙質は、酸への抵抗性が低く、根面齲蝕のリスクを高める。さらに象牙質はエナメル質と比較してミネラル含有量が少ないため、再石灰化は困難である。根面齲蝕に対する予防処置が重要となる。根面齲蝕の予防にはフッ化物応用法が有効と報告されているが、最適化された予防策は確立されていない。本研究の目的は、ナノ粒子アパタイトの新規生体材料であるバイオアパタイト（BioHap）に着目し、フッ化物歯面塗布と併用した新規根面齲蝕予防法の開発および従来法との象牙質耐酸性の評価を検討した。

**対象および方法：**

試料は牛歯象牙質ブロックとし、予防処置は（1）フッ化物応用なし（Control群）、（2）リン酸酸性フッ化ナトリウム溶液（APF、9048ppmF、pH3.6）処理した従来法（APF群）、リン酸を加えたBioHapにAPF処理した新規予防法（BioHap群）の3群で行った。予防処置後、再石灰化溶液に1時間、乳酸脱灰ジェルに24時間浸漬したアシッドチャレンジを実施した。耐酸性評価は3Dレーザー顕微鏡による段差プロファイルと算術平均粗さ（Sa）の測定、Micro-Vickers硬度試験機による表面硬さ（HV）の測定を行った。表面と矢状断面の脱灰性状は走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて観察した。脱灰評価はコンタクトラジオグラフィー（CMR）による脱灰深度（Ld）とミネラル喪失量（ $\Delta Z$ ）の測定を行った。3群間の比較には、一元配置分散分析（ANOVA）およびBonferroni多重比較検定を用いた。

**結果：**

1. アシッドチャレンジ後の3Dレーザー顕微鏡による象牙質の高低差プロファイルの測定

Control群は、非脱灰面と比較して $1.821 \pm 0.025 \mu\text{m}$ の脱灰による著しい実質欠損を認めた（ $p < 0.001$ ）（図1A, D）。APF群は、 $0.921 \pm 0.024 \mu\text{m}$ の実質欠損を認めたが、欠損量はControl群と比較して減少した（ $p < 0.001$ ）（図1B, D）。BioHap群は $0.452 \pm 0.042 \mu\text{m}$ であり、すべての群で最も小さい実質欠損の減少を認めた（ $p < 0.001$ ）（図1C, D）。

2. 3Dレーザー顕微鏡による象牙質表面の算術平均高さおよびMicro-Vickers硬度試験機によるMicro-Vickers硬度の測定

Saは、Control群が最も小さく $0.128 \pm 0.012 \mu\text{m}$ であった。APF群は $0.203 \pm 0.016 \mu\text{m}$ 、BioHap群は $0.933 \pm 0.286 \mu\text{m}$ とSaの増加を認めたがControl群とAPF群間には有意な差は認められなかった（図2A）。Control群とBioHap群間およびAPF群とBioHap群間には有意差を認めた（ $p < 0.05$ ）（図2A）。

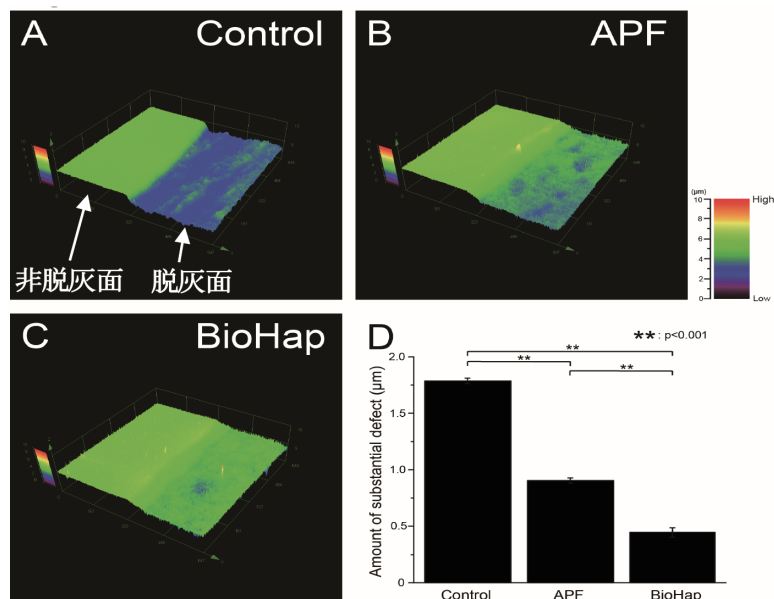


図1 アシッドチャレンジ後の非脱灰と脱灰の境界面の画像および高低差プロファイルの測定値の比較

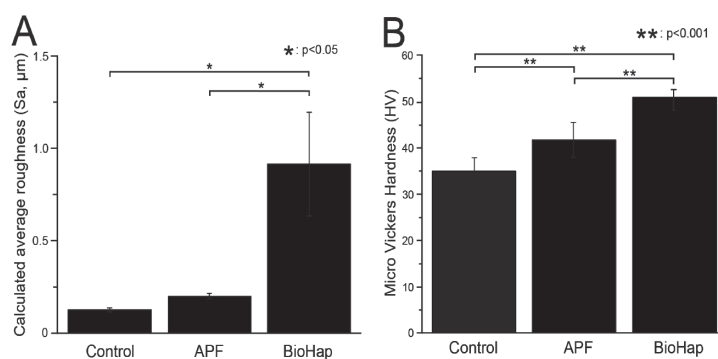


図2 アシッドチャレンジ後の実験面の算術平均粗さ (Sa) および硬度 (HV) の測定値の比較 (A) は Sa のグラフ、(B) は HV のグラフを示す。

HV は Control 群が  $35.487 \pm 2.956$  と最も小さく、APF 群は  $42.349 \pm 3.845$  と Control 群と比較して有意に大きくなった ( $p < 0.001$ ) (図 2B)。BioHap 群は  $51.697 \pm 2.855$  であり、すべての群で最も大きい値となり、各群間に有意差を認めた ( $p < 0.001$ ) (図 2B)。

### 3. 表面および矢状断面の SEM 観察

Control 群の表面 SEM 像では象牙細管開口部の拡大が認められた (図 3A)。APF 群では象牙細管開口部の縮小および一部閉鎖と表面に球状の生成物の沈着を認めた (図 3B)。BioHap 群では象牙質表面に APF 群よりも多量で径の大きい球状および不定形の生成物の沈着により象牙細管開口部の閉鎖を認めた (図 3C)。Control 群の矢状断面の SEM 像では象牙質表層の脱灰および象牙細管の拡大を認めた (図 3D)。APF 群では象牙質の最表層に厚さの薄い耐酸性層の形成を認め、象牙細管内部の細管壁に表層を維持した脱灰像を認めたが細管の拡大は軽度であった

(図 3E)。BioHap 群では象牙質表層に厚い被膜上の層を出現し、被膜の表層には球状の粒子を認めた (図 3F)。被膜内部は均一ではなく、被膜と象牙質表層間に薄い脱灰層と耐酸性層を認め、象牙細管は APF 群よりも細管の拡大が小さく、細管内部に石灰化物の沈着が確認できた (図 3F)。

#### 4. CMR 解析による象牙質の脱灰深度およびミネラル喪失量の測定

Control 群の Ld は  $65.395 \pm 7.972 \mu\text{m}$  と最も大きく、APF 群は  $57.023 \pm 7.247 \mu\text{m}$  に減少傾向を示したが、Control 群と APF 群間には有意差を認められなかった (図 4A)。BioHap 群はすべての群で最も小さい  $40.465 \pm 2.867 \mu\text{m}$  であり、Control 群と BioHap 群間および APF 群と BioHap 群間に有意差を認めた ( $p < 0.05$ ) (図 4A)。

Control 群の  $\Delta Z$  は  $5635.143 \pm 387.001 \text{ vol}\% \mu\text{m}$  と最も大きく、APF 群は  $5075.751 \pm 298.689 \text{ vol}\% \mu\text{m}$  に有意に減少を示した ( $p < 0.05$ ) (図 4B)。一方、BioHap 群は  $4723.856 \pm 238.578 \text{ vol}\% \mu\text{m}$  とすべての群で最も小さい値であった。APF 群と BioHap 群間には有意差はなく、Control 群と BioHap 群間に有意差を認めた ( $p < 0.05$ ) (図 4B)。

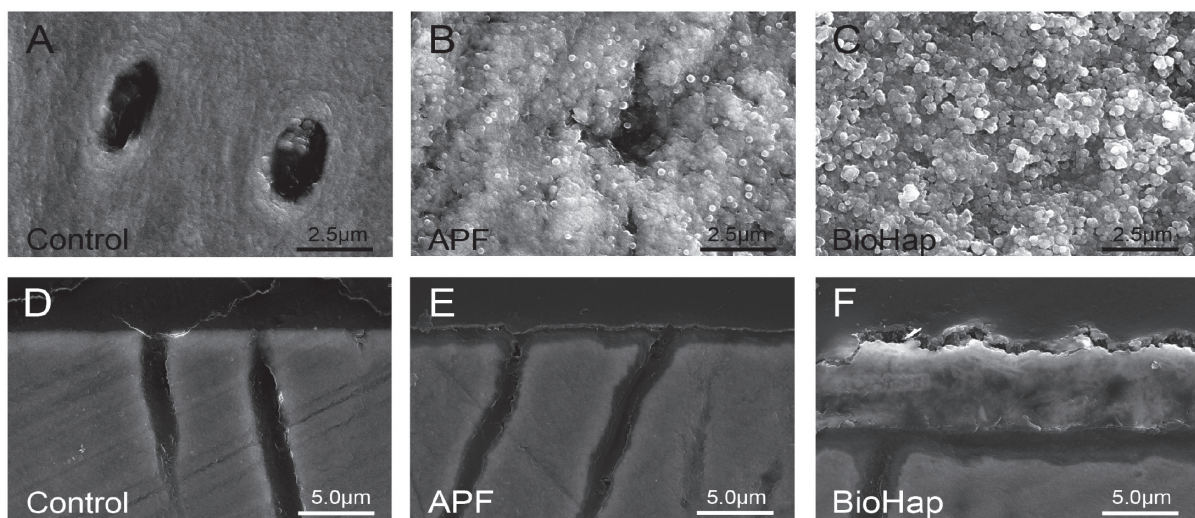


図 3 アシッドチャレンジ後の表面および矢状断面の性状観察の画像  
上段は表面 SEM 像、下段は矢状断面 SEM 像を示す。

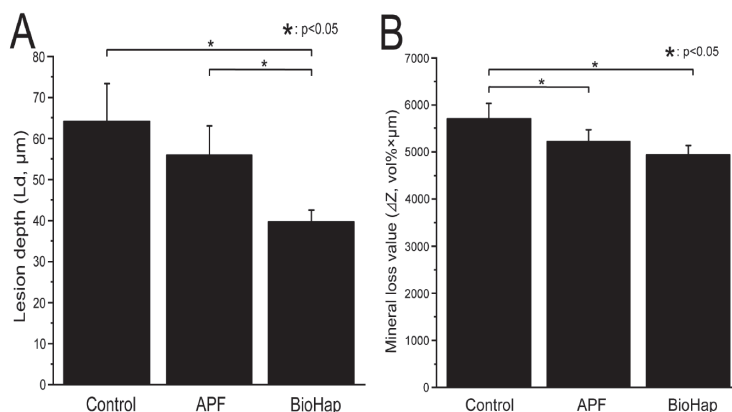


図 4 アシッドチャレンジ後の CMR による脱灰深度 (Ld) およびミネラル喪失量 ( $\Delta Z$ ) の測定値の比較 (A) は Ld のグラフ、(B) は  $\Delta Z$  のグラフを示す。

## 考 察：

本研究にて開発した新規予防処置後の象牙質は、リン酸カルシウム様およびフッ化カルシウム様の粒子から成る厚い耐酸性の被膜形成が認められた。アシッドチャレンジ後の BioHap 群の SEM 観察では、生成物による象牙細管の閉鎖と厚い被膜が確認でき、実質欠損量の減少と HV の増加、CMR による Ld と  $\Delta Z$  の減少など、従来法の予防処置と比較して高い耐酸性の向上が示唆された。BioHap の粒子径が小さく、フッ化物との反応に優れた特性により、厚い被膜が形成したと推測される。厚い被膜の存在によって物理的に酸が表層および結晶内部に進入するのを防ぎ、象牙質耐酸性の向上に寄与したと考えられる。開発した新規予防法は、根面齲蝕の予防に有力な候補となることを実証した。

成果発表：(予定を含めて口頭発表、学術雑誌など)

### I. 原著論文

1. Miyu Iwasaki, Ryouichi Satou, Naoki Sugihara. Development of Root Caries Prevention by Nano-Hydroxyapatite Coating and Improvement of Dentin Acid Resistance. Materials (Basel), 15 (22), 8263, doi : 10.3390/ma15228263, 2022

### II. 学会発表

1. 岩崎美友、佐藤涼一、杉原直樹、アパタイトコーティングによる象牙質耐酸性強化法の検討、第 71 回日本口腔衛生学会学術大会、令和 4 年 5 月 13-27 日、Web 開催、口腔衛生学会雑誌、72 (増刊号)、82、2022
2. 岩崎美友、佐藤涼一、杉原直樹、バイオアパタイト歯面塗布法による象牙質耐酸性の検討、第 64 回歯科基礎医学会学術大会、令和 4 年 9 月 17-19 日、徳島県、第 64 回歯科基礎医学会学術大会プログラム・抄録集、91、2022
3. 岩崎美友、佐藤涼一、杉原直樹、ナノアパタイトコーティングによる象牙質耐酸性向上の検討、第 314 回東京歯科大学学会 (総会)、令和 4 年 10 月 15-16 日、東京都、第 314 回東京歯科大学学会 (総会) プログラム、15、2022