

大気マイクロ PIXE/PIGE による歯学試料の定量方法の効率化： フルボ酸を適用した歯牙試料の脱灰抑制およびフッ素の浸透について

Improving the efficiency of the determination method of dentinal samples by in-air-
micro-PIXE/PIGE: Effects of fulvic acid for inhibition of dentin demineralization
and fluorine distribution

奥山克史¹⁾、松田康裕²⁾、山本洋子³⁾、斎藤隆史²⁾、林美加子³⁾、玉置幸道¹⁾、佐藤隆博⁴⁾、
山田尚人⁴⁾、山縣良平⁴⁾、石井保行⁴⁾

Katsushi OKUYAMA, Yasuhiro MATSUDA, Hiroko YAMAMOTO, Takashi SAITO, Mikako HAYASHI,
Yukimichi TAMAKI, Takahiro SATO, Naoto YAMADA, Ryohei YAMAGATA, and Yasuyuki ISHI

¹⁾朝日大学 ²⁾北海道医療大学 ³⁾大阪大学 ⁴⁾量研高崎

（概要）

これまでの研究で得られた改良された標準試料を用い、腐植物質から抽出されたフルボ酸の脱灰抑制効果の評価・検討を大気マイクロ PIXE/PIGE を用いて行った。その結果フルボ酸使用群は使用しない群と比較して、象牙質の脱灰深さや脱灰量（カルシウム変化量）に差を認め、フルボ酸が脱灰抑制効果の可能性があることが示唆された。

キーワード：フルボ酸、PIXE/PIGE、脱灰抑制効果

1. 目的

大気マイクロ PIXE/PIGE を用いた歯科（歯牙）試料の定量方法の効率化に向けて、これまで標準試料の開発、改良に取り組んできた。本研究ではその標準試料を用いて、歯牙試料に対する分析等を行った。

フルボ酸は腐植物質より抽出される自然由来の物質であり、健康食品などに使用されている。フルボ酸の効果としてキレート作用や pH 緩衝作用、細菌増殖抑制作用などが報告されており、歯科分野ではフルボ酸配合歯磨材の使用により、歯周病臨床症状の改善を認めた報告がある¹⁾。また、MMP の活性抑制を示す報告も認められており²⁾、う蝕抑制に効果的ではないかと期待できる物質である。今回の研究では改良した標準試料を用いて、フルボ酸使用前後におけるカルシウム、フッ素等の元素の浸透、分布を解析することにより、フルボ酸による脱灰抑制効果等を検討することである。

2. 実施方法

実験では粉末状のバオブアブエクストラフルボ酸（バオブアブ社）を使用し、1%フルボ酸水溶液（FL）、飲用で使用する 0.02%フルボ酸水溶液（2F）、1%フルボ酸に 0.02% NaF を添加した水溶液（FN）、対照として脱イオン水（Cont）をそれぞれ用いた。（Fig. 1）

牛歯唇側歯頸部象牙質に平滑面を作製し、近遠心方向に幅約 2mm、歯軸方向に長さ約 5mm の window を残し、牛歯試料をスティッキーワックスで被覆した。試料を緩衝液（0.2 M 乳酸，3.0 mM CaCl₂，1.8 mM KH₂PO₄，2%カルボキシメチルセルロース，pH:4.5）中に 37℃で 48 時間保存し、脱灰部分を作成した。その後牛歯試料を、脱灰部を含むようにして歯軸に垂直方向に約 500 μm の厚みに切断し薄切試料を作製した。切断面をワックスで被覆し、試料を上記に示

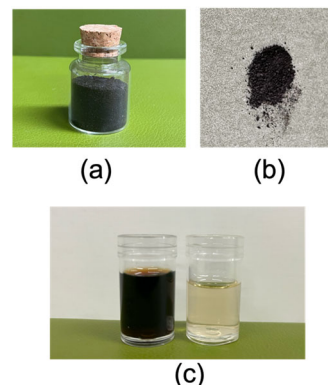


Fig.1 フルボ酸粉末 (a, b) とフルボ酸水溶液 (c ; 左 : 1%、右 : 0.02%)

した溶液へ 24 時間浸漬し、その後脱灰面の半分をワックスで被覆した後、口腔内環境をシミュレートした自動 pH サイクルシステム（pH: 4.5-7.0）に 4 週間にわたって試料を供した。（Fig. 2）サイクル期間終了後、高崎量子応用研究所所有大気マイクロ PIXE/PIGE 装置で、各試料におけるカルシウムおよびフッ素の分布を測定し、同時に標準試料を測定することで濃度を算出した。測定領域を幅 270 μ m、深さ方向に 500 μ m とし、健全象牙質部のカルシウム量の 5%を示す位置を試料表層と定め、健全部の 95% Ca 量を示すまでの深さを脱灰深さと規定した。（Fig. 3）各試料サイクル前後の脱灰深さおよび脱灰領域の Ca 量の差を求めることで、処理剤の脱灰抑制効果を評価した。各群の試料数を 6 とし、得られたデータは Kruskal-Wallis test および Steel-Dwass 法により統計解析（危険率 5%）を行った。

3. 結果及び考察、今後の展開等

pH サイクル前後の各群の表層からのカルシウム分布（Fig. 4）とフッ素量の分布（Fig. 5）をそれぞれ示す。測定群により pH サイクル前における表層から健全部位を示すカルシウム量が 95%をまでの深さが異なるが、cont 以外はサイクル前後における健全部までの深さに大きな差を認めなかった。またフッ素量ではフッ素を含む FN が表層から 100 μ m の深さで大きなフッ素の沈着を認めた。Fig. 6, 7, 8 には pH サイクル処理と未処理部における脱灰深さの差、カルシウム量の差および表層より 200 μ m までの累積フッ素量をそれぞれ示す。フルボ酸を用いた群（FL, 2F, FN）が Cont 群より有意に小さい値を示した。カルシウム量の変化ではフルボ酸を用いた群で pH サイクル処理部のカルシウム量が未処理部よりもわずかに多いかほぼ同じであり、フルボ酸を用いることで脱灰抑制だけでなくわずかではあるが脱灰領域での石灰化度が上昇し、再石灰化が生じていたことが考えられる。フッ素量においては、NaF を含有した FN 群が他の群より有意に大きな値を示した。

フルボ酸の使用によりカルシウム量や脱灰深さに差を認めたのは、フルボ酸の pH 緩衝作用によって、pH サイクルによる酸の侵襲に対して弱酸性から

中性付近に変化したことから、コントロールと比較して脱灰が進まなかったものと考えられる。FL と FN でカルシウム量や脱灰深さの結果に差を認めなかったことより、今回研究ではフルボ酸による影響が添加したフッ素よりも大きいことが考えられるが、この点についてはより詳細な検討が必要である。

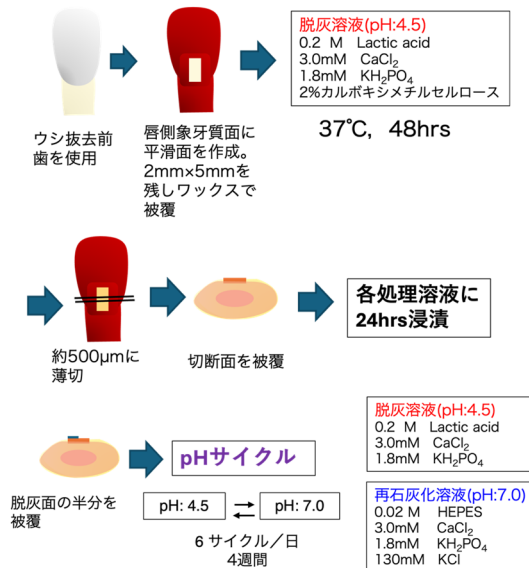


Fig. 2 実験方法の概要

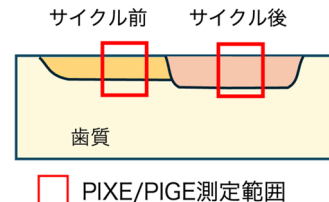


Fig. 3 PIXE/PIGE による測定範囲

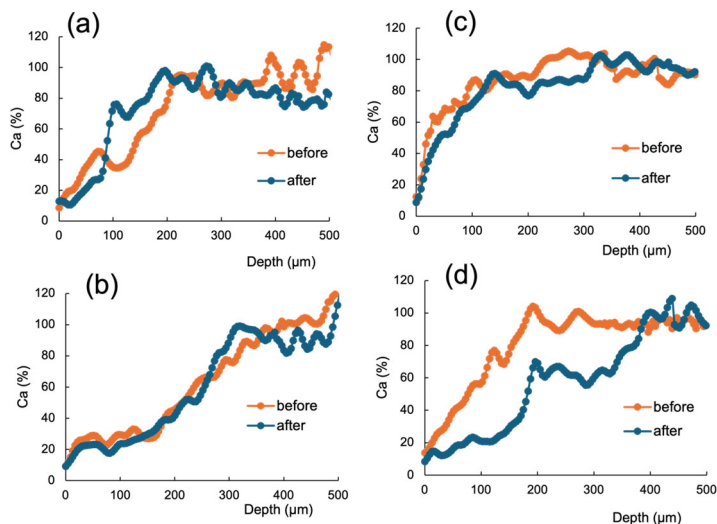


Fig. 4 pH サイクル前後の表層からのカルシウム量の分布。(a) FL, (b) 2F, (c) FN, (d) Cont

今回の研究よりフルボ酸の使用による脱灰抑制効果の可能性が示唆された。

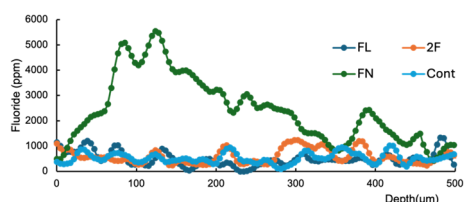


Fig. 5 pH サイクル後の表層からのフッ素量の分布

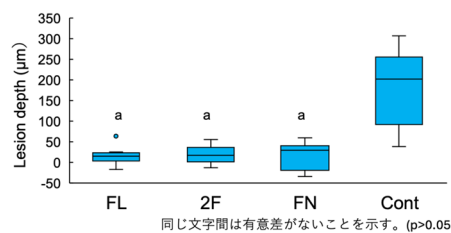


Fig. 6 pH サイクル前後の脱灰深さの差（後-前）

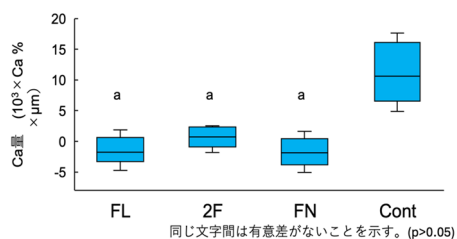


Fig. 7 pH サイクル前後のCa量の差（後-前）

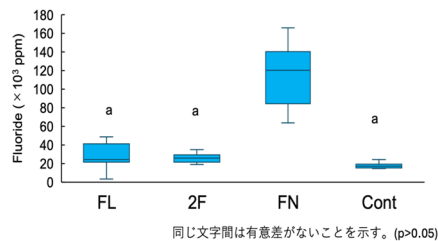


Fig. 8 pH サイクル後表層より200μmまでの累積フッ素量

4. 引用(参照)文献等

- 1) 渡辺久ほか, 日歯保存誌 2017; 60: 135-144.
- 2) 木下央子ほか, 西日皮膚 2012; 74: 427-431.