

フッ化物配合口腔保湿剤による根面齲蝕予防の基礎研究

南 健太郎¹ 大橋 明石¹ 佐藤 俊郎³ 大石 泰子³
岸 光男³ 岡田 英俊² 瀬川 洋¹ 廣瀬 公治¹

Effect of the Oral Moisturizer on Remineralization and Increasing Hardness of Dentin Lesions *in vitro*

Kentaro MINAMI¹, Akashi OHASHI¹, Toshiro SATO³, Taiko OISHI³
Mitsuo KISHI³, Hidetoshi OKADA², Hiroshi SEGAWA¹ and Kimiharu HIROSE³

The aim of this study was to investigate the effects of oral moisturizer that contains fluoride on dentin remineralization and hardness *in vitro*. The bovine teeth dentin blocks were cut out and embedded in a normal temperature polymer resin as 1 group 6 samples per group. All of the samples were demineralized by immersion in a lactic acid gel containing 1wt% carboxymethylcellulose (pH 5.0) at 37°C for 5 days and formed an artificial early caries lesion. The samples were divided into 4 groups of 6 samples, which is group A : Dem, group B : mineral solution, group C : oral moisturizer+0 ppmF, group D : oral moisturizer+2 ppmF. Group A was only demineralization, and the others were immersed in the mineral solution (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 20 mM Hepes, pH 7.0) and all the samples were incubated at 37°C for 14 days. For group C and D, during the same time, this oral moisturizer was applied to the dentin surface of the samples 3 times a day and the samples were left in on incubator at 100% humidity, 37°C for 3 hours. Group B was only treated with mineral solution. After 14 days experiment, the samples were micro radiographed to measure lesion depth(μm) and mineral loss value(vol% · μm). Group C : oral moisturizer+0 ppmF and group D : oral moisturizer+2 ppmF showed significantly lower *ld* and ΔZ values compared with group B : mineral solution. Then measured the Vickers hardness (Hv) of the dentin surface was measured with Vickers hardness tester. The group D : oral moisturizer+2 ppmF hardness increase significantly higher than that of the other groups.

In conclusion, it was suggested that the oral moisturizer developed the remineralization of dentin lesion and the fluoride in it may have increased the hardness of the dentin surface.

Key words : oral moisturizer, dentin, remineralization, hardness, fluoride

受付：令和元年12月24日，受理：令和2年1月29日
奥羽大学歯学部口腔衛生学講座¹
奥羽大学歯学部生体材料学講座歯科理工学分野²
岩手医科大学歯学部口腔医学講座予防歯科学分野³

Division of Preventive Dentistry, Department of Preventive Dentistry, Ohu University School of Dentistry¹
Division of Dental Material Science, Department of Biomaterial Science, Ohu University School of Dentistry²
Division of Preventive Dentistry, Department of Oral Medicine, Iwate Medical University, School of Dentistry³

緒 言

現在の日本は、国民4人のうち1人が65歳以上という超高齢社会を迎えている。平成28年の歯科疾患実態調査¹⁾より、8020達成者の割合が過去最高になっており、残存歯数は増加傾向にある。それに伴い、根面齲蝕に罹患する高齢者も増加している²⁾。また、加齢や疾患への服薬により、再石灰化に必要なカルシウムとリン酸が供給される唾液の分泌が減少する。そのため再石灰化の効率が低下し、根面齲蝕が重症化しやすい。また、介護が必要とされる要介護者の増加が社会問題となっている。要介護者では、十分なセルフケアが困難で自覚症状を訴えることも少ない。そして要介護者は抜歯が困難な場合が多いため、重症化した根面齲蝕歯は残根状態へ移行してプラーク保持因子や口腔内感染源となる。

近年、口腔清掃不良や口腔の感染源が全身疾患と強く関連することが明らかになっており、それ故超高齢社会を迎えた我が国では、根面齲蝕の予防は高齢者の口腔のみならず要介護者の全身の健康状態の維持向上にとって重要な課題である。著者らは根面齲蝕予防において、口腔乾燥への対処法として一般的に用いられている「口腔保湿剤」^{3~5)}に着目した。

口腔保湿剤は1日に数回、乾燥がより強い場合はより頻回に歯肉や口腔粘膜に塗布し、唾液の代わりに口腔内に湿潤と保湿を与えるものであり、また、口腔内に長く停留することを目的とした物性が与えられている。現在、口腔保湿剤は医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律において化粧品扱いであり、フッ化物が配合された歯磨剤のように医薬部外品の製品は存在しない。そこで口腔保湿剤に1日摂取量として低濃度のフッ化物が配合されれば、口腔保湿剤本来の使用目的の乾燥した歯肉や口腔粘膜に湿潤と保湿効果を維持し、初期脱灰した象牙質の再石灰化に寄与するものと考えられる。

本研究では2 ppmFの低濃度のフッ化物を配合した口腔保湿剤を作製し、人工初期齲蝕を形成した歯根象牙質に定期的に塗布することにより、再石灰化が生じるのか、また、象牙質表層の硬度に

変化が生じるのか *in vitro* で検討し、新たな口腔ケア製品開発の基礎的資料を得ることを目的とした。

材料および方法

1. 材 料

材料には牛歯切歯を用い、その歯根から象牙質ブロック(各24試料)を切り出し、5 mm × 5 mmの正方形の象牙質ブロックを作製した。これらを1群6試料として常温重合レジン(Unifast-Trad, ジーシー, 東京)に包埋し、全体を縦50mm, 横15mm, 厚さ7 mmに調整した。そしてそれらをモデリングトリマー(Y-230N, ヨシダ, 東京)にて、象牙質表面を平滑にした後、800番の耐水ペーパーで表面を研磨して平滑な新鮮象牙質を露出させ試料とした。

2. 脱灰・再石灰化方法

すべての試料を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム(以下CMC)添加0.1M乳酸gel(pH5.0)に37°Cで5日間浸漬して、人工初期齲蝕を形成した⁶⁾。その後、試料を6試料ずつの4群に分け、A群:未処理、B群:ミネラル溶液(1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 20 mM Hepes, pH7.0)、C群:口腔保湿剤+0 ppmF、D群:口腔保湿剤+2 ppmFに分け、A群は脱灰のみの未処理とし、他のB, C, D群はミネラル溶液に浸漬し37°Cの恒温槽内に静置した。その間、C群には口腔保湿剤+0 ppmFを、D群には口腔保湿剤+2 ppmFを試料の歯面上にスポンジブラシ(型番039-112061-00, カワモト, 大阪)で塗布し、湿度100%にて37°Cの恒温槽内で3時間静置した。これを14日間継続し再石灰化処理とした。

3. 評価方法

1) ミネラル濃度分布の評価 (TMR)

硬度の測定が終了した象牙質試料を硬組織カッター(Isomet, Buhler)により切り出し、厚さ300μmの平行切片を作製した。各切片を撮影用試料ホルダーへ脱イオン水とともに封入し、完全な湿潤状態でマイクロラジオグラフィを撮影した。撮影条件は管電圧25kV, 管電流25mA, 管球・被写体間距離370mmに設定した。ついで画像定量法^{7~9)}より脱灰深度ld(μm)、およびミネラル喪失量

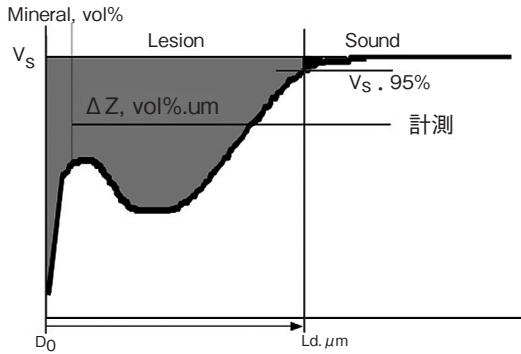


Fig. 1 Schematic mineral distribution and measurement mineral parameters
 V_s=mineral vol% level of sound dentin,
 L_d=lesion depth(μm),
 ΔZ=mineral loss value(vol% · μm)

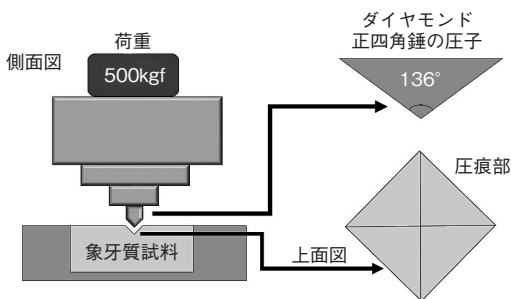


Fig. 2 Schematic Vickers hardness tester

Δ Z(vol% · μm)を計測した (Fig. 1)。

2) 象牙質表層の硬度測定 (ビッカース硬度試験法)

すべての試料は、表層の硬度をビッカース試験法^{10,11)}により測定した。ビッカース硬度計 (NT-M001, SHIMADZU SEISAKUSYO, 東京) の対面角136度ダイヤモンド正四角錐の圧子を押込み荷重500kgfと時間30秒の条件で象牙質試料に押し込み圧痕を付与した (Fig. 2)。その圧痕を、押し込み加重 (500kgf) と対角線の長さ×2乗から求めた表面積より象牙質表層の硬度を算出した。

結 果

1) ミネラル濃度分布の評価 (TMR)

画像定量法より、脱灰深度 l_d、およびミネラル喪失量 Δ Zの結果を Fig. 3に示す。脱灰深度 l_dにおいて、5日間の脱灰直後の A 群：未処理の脱灰

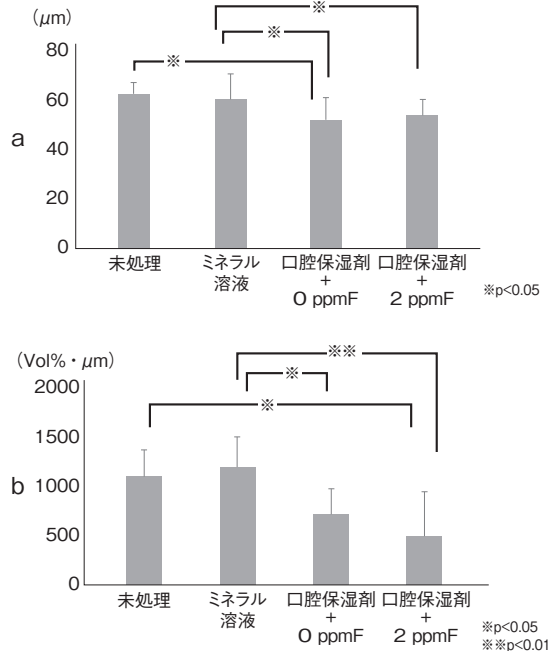


Fig. 3 Comparison of l_d (a) and ΔZ (b) values by type of oral moisturizer (oral moisturizer +0 ppmF and oral moisturizer +2 ppmF)
 The oral moisturizer +0 ppmF and oral moisturizer +2 ppmF showed a significantly lower l_d value and Δ Z value compared with the mineral solution. Each column and bar represent the mean±SD of 6 samples

深度 l_d (l_d = 63.2 ± 3.8 μm) と比較して、C 群：口腔保湿剤 + 0 ppmF (l_d = 52.5 ± 8.7 μm) は有意 (p < 0.05) に脱灰深度の減少が認められた。また、B 群：ミネラル溶液 (l_d = 60.9 ± 10.6 μm) と比較して C 群：口腔保湿剤 + 0 ppmF (l_d = 52.5 ± 8.7 μm) および D 群：口腔保湿剤 + 2 ppmF (脱灰深度 l_d = 54.2 ± 6 μm) がそれぞれ有意 (p < 0.05) に脱灰深度 l_d の減少を示し、口腔保湿剤は再石灰化の促進に寄与することが示唆された。

ミネラル喪失量 Δ Z は、D 群：口腔保湿剤 + 2 ppmF (Δ Z = 497 ± 474 vol% · μm) は A 群：未処理 (Δ Z = 1,224 ± 274 vol% · μm) と比較して有意にミネラル量の回復が認められた (p < 0.05)。また、同様に B 群：ミネラル溶液 (Δ Z = 1,225 ± 310 vol% · μm) と比較してミネラル喪失量 Δ Z の減少が認められ、有意に再石灰化傾向を示した (p < 0.01)。C 群：口腔保湿剤 + 0 ppmF

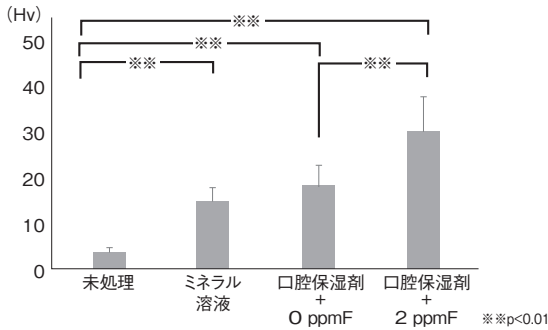


Fig. 4 Comparison of hardness values by type of oral moisturizer (mineral solution, oral moisturizer + 0 ppmF and oral moisturizer + 2 ppmF)

The oral moisturizer + 2 ppmF hardness increase significantly higher than that of the other groups. Each column and bar represent the mean \pm SD of 6 samples

($\Delta Z = 725 \pm 274 \text{ vol}\% \cdot \mu\text{m}$) は B 群: ミネラル溶液と比較して、ミネラル喪失量 ΔZ の減少が認められ ($p < 0.05$)、脱灰深度 1d 同様に再石灰化の促進が認められた。

また、C 群: 口腔保湿剤 + 0 ppmF、および D 群: 口腔保湿剤 + 2 ppmF の群間において、脱灰深度 1d 及びミネラル喪失量 ΔZ に有意差は認められず、口腔保湿剤へのフッ化物配合の有無による再石灰化効果に違いは認められなかった。

2) 象牙質表層の硬度測定 (ビッカース硬度試験法)

ビッカース硬度計を用いて、試料表面の硬度の結果を示す (Fig. 4)。D 群: 口腔保湿剤 + 2 ppmF ($30.5 \pm 7.7 \text{ Hv}$) の表層の硬度が、A 群: 未処理 ($4.2 \pm 0.7 \text{ Hv}$)、B 群: ミネラル溶液 ($15.2 \pm 2.8 \text{ Hv}$)、C 群: 口腔保湿剤 + 0 ppmF ($18.7 \pm 4.4 \text{ Hv}$) と比較して有意に増加した。以上の結果からフッ化物配合口腔保湿剤は、象牙質表層の硬度を有意に増加させることが示唆された。

考 察

高齢者の口腔内の特徴の 1 つとして、自浄作用の低下が挙げられる。唾液の分泌が低下することにより口腔内が乾燥し、唾液緩衝能や再石灰化能が低下し、根面齲蝕の進行や発症のリスクが増加する。また、高齢の要介護者は手足が不自由なこ

とが多く、自身でブラッシングを行うことが困難であるため根面齲蝕のリスクが増加する。これら根面齲蝕の予防法には、フッ化物応用法が挙げられる。フッ化物は、歯質の再石灰化、耐酸性の向上、フルオロアパタイトの形成といった齲蝕予防には有効な方法の一つであることが知られている¹²⁻¹⁴⁾。著者らは、以前にフッ素徐放性のガラスイオノマーセメントの歯質再石灰化の有用性を検討し、その結果からフッ化物が含まれた材料には、その周囲の歯質を再石灰化させることが可能であることを報告した^{15,16)}。

そこで、唾液分泌が減少した高齢者や要介護高齢者の、口腔乾燥を予防するために使用される「口腔保湿剤」に低濃度のフッ化物を配合し、口腔内の保湿の目的をそのままに、さらに齲蝕予防という観点から根面齲蝕の予防が可能であると考えた。

マイクロラジオグラフィの結果からは、C 群: 口腔保湿剤 + 0 ppmF とフッ化物を配合した D 群: 口腔保湿剤 + 2 ppmF は、B 群: ミネラル溶液と比較して脱灰深度 1d およびミネラル喪失量 ΔZ が有意に減少した。これらの結果は本研究で用いたミネラル溶液、および口腔保湿剤の主成分である CMC によることが大きいと考える。ミネラル溶液の組成はヒトの唾液を基準¹⁷⁻¹⁹⁾ としており、Ca/P 比も 1.67 とハイドロキシアパタイトの値と近似している。また、ミネラル溶液に脱灰エナメル質を 3 週間浸漬した場合、再石灰化が生じるという報告²⁰⁾ もある。本研究において、すべての試料は口腔保湿剤を塗布する時間を除けば、ミネラル溶液に浸漬している。その間にミネラル溶液中のカルシウム塩とリン酸塩は、試料の象牙細管内部に沈着し、脱灰象牙質の底部から表層に向かって再石灰化層を形成することにより、脱灰深度 1d とミネラル喪失量 ΔZ の減少に寄与したと考える。さらに、口腔保湿剤を塗布することにより、口腔保湿剤の主成分である CMC が象牙細管内に沈着したカルシウム塩とリン酸塩を維持し、さらなる再石灰化の現象を促進したと考える。また、脱灰直後および再石灰化直後の SEM 像において、脱灰直後では象牙細管が明確に認められるが、再石灰化直後では象牙細管が封鎖されるという報告²¹⁾ があることや、再石灰化はリン酸カルシ

ウムの結晶の新たな沈着，そして脱灰により溶解した結晶の修復と再成長によってもたらされるという点²²⁻²⁴⁾からも，本研究の再石灰化の現象は，人工初期齲蝕病巣の底部から表層に向かって発現したと考える。これらの結果より，口腔保湿剤はフッ化物の配合の有無に関わらず，それ単体で口腔内の状態や唾液の条件さえ整えば，歯質の再石灰化が可能であることが示唆された。

脱灰深度 $1d$ およびミネラル喪失量 ΔZ とともに C 群：口腔保湿剤 + 0 ppmF，D 群：口腔保湿剤 + 2 ppmF におけるフッ化物配合の有無による有意差は認められなかった。本研究では口腔保湿剤の塗布時間は3時間とした。これは1日3食の毎食後に口腔保湿剤を塗布し，また，保湿成分は口腔内に1時間は停留すると想定したからである。この口腔保湿剤の塗布時間を延長することにより，口腔内のフッ化物の停留時間が延長され，さらに再石灰化が促進すると考える。しかし，実際の臨床の場において，口腔保湿剤を塗布する回数は個人の口腔乾燥度の状況によって大きく異なるため，塗布する時間の検討は今後の検討課題である。

マイクロラジオグラフィの測定結果から，口腔保湿剤を塗布することにより再石灰化を促進することが示唆されたが，この新生された再石灰化層が非弱なものであれば容易に齲蝕に罹患することから，再石灰化層の硬度がより重要であると考えられる。そこで象牙質表層の硬度を測定するためにビッカース硬度試験を行った。

ビッカース硬度試験の結果から，象牙質表層の硬度は，フッ化物が配合された D 群：口腔保湿剤 + 2 ppmF が他の3群よりも有意に増加した。フッ化物は歯質の再表層に蓄積することから，象牙質表層の硬度においては再石灰化の促進よりも，むしろ再石灰化層や象牙質のハイドロキシアパタイトの結晶の安定化に寄与したものと考えられる。また，口腔保湿剤の基質である CMC は，フッ化物を歯質に取り込ませる作用^{25,26)}があることから，CMC が積極的に象牙質試料表層にフッ化物を取り込み，象牙質表層の硬度を増加させたと考えられる。口腔保湿剤に配合したフッ化物濃度は2 ppmF と低濃度に設定したが，これはフッ化物配合歯磨剤等と比較してかなり低濃度の値である。しかし，

これ以上の高濃度のフッ化物を口腔保湿剤に配合することは，高齢者が毎日数回，口腔内に塗布することを想定すれば現実的ではない。しかし2 ppmF の低濃度のフッ化物の配合により，象牙質試料の表層の硬度が増加したということは，今後新たな口腔保湿剤を開発するにあたって，非常に有意義な結果が得られたと考える。また，歯質再石灰化と歯質の硬度には，相関関係が認められなかったことは非常に興味深い。

これらの知見から，歯根象牙質が露出している高齢者の根面齲蝕の予防には，フッ化物配合口腔保湿剤を口腔内に塗布することが有効であり，それに加えて露出した根面へのフッ化物塗布，フッ化物洗口，そしてフッ化物配合歯磨剤などの併用が必要と考える。

結論として，本研究の結果から，口腔保湿剤は根面齲蝕の再石灰化を促進し，また，口腔保湿剤に配合されたフッ化物は，象牙質表層の硬度を増加させることが示唆された。

本研究に関して開示すべき利益相反はない。

本研究の要旨の一部は，第2回みちのく歯科医療管理学会・学術大会（令和元年11月24日 山形県）において発表した。

文 献

- 1) 平成28年歯科疾患実態調査：厚生労働省。
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/62-28.html>
- 2) 田上順次，千田 彰，奈良陽一郎，桃井保子：保存修復学21. 第4版；24-27 永松書店 京都 2011.
- 3) 山本和彦，仲川卓範，露木基勝，堀田 聡，栗原 都，井上公秀，前田雅彦，山川延宏，桐田忠昭：口腔乾燥患者における保湿ジェルの効果。日口粘膜誌 11；1-7 2005.
- 4) 伊藤加代子，朝妻真澄，渡部 守，竹石英之，五十嵐敦子，野村修一：口腔乾燥症感を有する患者に対する保湿剤（ウェットケア®）の効果。老年歯学 20；63-67 2005.
- 5) 戸谷収二，二宮一智，田中 彰，山口 晃，又賀泉：口腔保湿剤の効果をみる－「ウェットキーピング」のドライマウス患者に対する臨床効果－。歯界展望 111；739-743 2008.
- 6) Joshi, A., Papas, A. S. and Giunta, J. : Root caries incidence and associated risk factors in

- middle aged and older adults. *Gerodontology* **10** ; 83-89 1993.
- 7) Inaba, D., Iijima, I., Takagi, O. and Arends, J. : The influence of airdrying on hyper remineralization of demineralized dentin: A study on bulk as well as on thin wet section of dentin. *Caries Res.* **29** ; 231-236 1995.
 - 8) Inaba, D., Tanaka, R., Takagi, O. and Arends, J. : A computerassisted videodensitometric method to visualize mineral distributions in *in vitro* and *in vivo* formed root caries lesions. *Eur. J. Oral Sci.* **105** ; 74-84 1997.
 - 9) Inaba, D., Tanaka, R., Takagi, O., Yonemitsu, M. and Arends, J. : Computerized measurements of microradiographic mineral parameters of de and remineralized dental hard tissues. *J. Dent. Hlth.* **47** ; 67-74 1997.
 - 10) 西村文夫, 岡崎邦夫, 河野陽一, 小森一大, 野本直 : 人歯エナメル質と象牙質の圧縮挙動とピッカース硬さ. 歯科材料・器械 ; 449-454 1986.
 - 11) 何陽介, 岡本佳三, 馬場篤子, 本川渉, 松家茂樹: エナメル質及び象牙質に対する CO₂レーザー照射の影響—照射出力による蒸散幅, 炭化層幅, ピッカース硬度及び表面微細構造の変化に関して—. *J. Fukuoka Dent.* **33** ; 1-10 2007.
 - 12) Ten Cate J. M., Chaussain-Miller C. 飯島洋一監訳: 齲蝕予防における再石灰化メカニズム. 歯界展望 **109** ; 854-863 2007.
 - 13) 古賀寛, 眞木吉信, 松久保隆, 高江洲義矩: 市販フッ化物洗口剤作用後のエナメル質および歯根面への Fluoride Uptake の *in vitro* における検討. 口腔衛生会誌 **52** ; 28-35 2002.
 - 14) Petersson, L. G. : The role of fluoride in the preventive management of dentin hypersensitivity and root caries. *Clin. Oral Invest.* **17** ; 63-71 2013.
 - 15) Nagai, Y., Inaba, D., Minami, K. and Matsuda, K. : The effects of fluoride-releasing restorative materials on inhibition of secondary caries *in vitro*. *Cariology Today.* **1** ; 16-19 2000.
 - 16) 南健太郎, 永井康彦, 稲葉大輔, 染谷美子, 松田浩一, 米満正美: フッ素徐放性歯科材料による歯根象牙質の再石灰化. 口腔衛生会誌 **51** ; 293-297 2001.
 - 17) Inaba, D., Minami, K., Kamasaka, H., and Yonemitsu, M. : Effect of phosphoryl-oligosaccharides (POs) on remineralization of enamel lesion *in vitro*. 岩医大歯誌 **27** ; 197-202 2002.
 - 18) Inaba, D., Minami, K., Kamasaka, H. and Yonemitsu, M. : Remineralization of enamel and dentin by a chewing gum containing phosphoryl-oligosaccharides (POs) supplied by chewing gum Part II. Intraoral evaluation. 口腔衛生会誌 **52** ; 112-118 2002.
 - 19) 南健太郎: エナメル質の脱灰・再石灰化に果たす人工プラークの役割に関する *in vitro* 研究. 口腔衛生会誌 **52** ; 91-102 1995.
 - 20) Ten Cate, J. M., Shariati, M. and Featherstone, J. D. B. : Enhancement of (salivary) remineralization by 'Dipping' solutions. *Caries Res.* **19** ; 335 1985.
 - 21) Iijima, M., Ishikawa, R., Kawaguchi, K., Ito, S., Saito, T. and Mizoguchi, I. : Effects of pastes containing ion-releasing particles on dentin remineralization. *Dental Materials Journal.* **38** ; 271-277 2019.
 - 22) Tohda, H., Yanagisawa, T., Tanaka, N. and Takuma, S. : Growth and fusion of apatite crystals in the remineralized enamel. *J Electron Microsc.* **39** ; 238-244 1990.
 - 23) 柳澤考彰: 齲蝕エナメル質結晶の超微構造. 日歯医師会誌 **46** ; 1167-1176 1994.
 - 24) Tohda, H., Takuma, S. and Tanaka, N. : Intracrystalline structure of enamel crystals affected by caries. *Dent. Res.* **66** ; 1647-1653 1987.
 - 25) 飯島洋一, 高木興氏: 再石灰化エナメル質へのフッ素取り込み量に及ぼす再石灰化液の組成成分の効果. 口腔衛生会誌 **43** ; 70-77 1993.
 - 26) 川崎浩二: 脱灰エナメル質のフッ素取り込みと再石灰化に及ぼすカルボキシメチルセルロースの効果. 口腔衛生会誌 **39** ; 242-255 1989.
- 著者への連絡先: 南健太郎, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔衛生学講座
 Reprint requests: Kentaro MINAMI, Division of Preventive Dentistry, Department of Preventive Dentistry, Ohu University School of Dentistry, 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan