

広角 X 線回折および小角 X 線散乱法による ppm オーダーのフッ素を含むカルシウム含有食品による再石灰化が歯エナメル質の
ハイドロキシアパタイト結晶に及ぼす構造の変化の解析
**Analysis by Wide-angle X-ray Diffraction and Small-angle X-ray Scattering
Methods for the Structural Change of Hydroxyapatite Crystallites in
Enamel by the Remineralization with Calcium Containing Food with
ppm-order Fluoride**

田中 智子^a, 小林 隆嗣^a, 滝井 寛^a, 釜阪 寛^a, 太田 昇^b, 八木 直人^b
Tomoko Tanaka^a, Takatsugu Kobayashi^a, Hiroshi Takii^a, Hiroshi Kamasaka^a, Noboru Ohta^b, Naoto Yagi^b

^a江崎グリコ(株), ^b(公財)高輝度光科学研究センター
^aEzaki Glico Co., Ltd., ^bJASRI

我々は、これまでの研究から初期う蝕(初期むし歯)におけるカルシウムイオンの再結晶化効果を見出してきた。フッ素を併用すると、さらに高いう蝕予防効果が見込まれるが、再結晶化に及ぼす効果は未だ解明されていない。そこで本研究では、低濃度のフッ素イオンが硬組織である歯エナメル質結晶に対する効果を、微細結晶レベルから解析した。結果、極微量のフッ素イオンの存在でカルシウムイオン単体とは異なる効果をもたらすことが判明した。

キーワード： ハイドロキシアパタイト、フッ素、広角 X 線回折

背景と研究目的：

従来フッ素は、歯科医療においてう蝕予防効果が高いとされる素材である[1][2]。その活用法は大まかに分けると、高濃度処理による局所的な手法と低濃度による全身的手法の2種類がある[3]。局所的な手法はプロフェッショナルケアが主流である。一方、低濃度による全身的手法は、海外では水道水に添加するウォーターフロリデーションなどに代表される。フッ素による歯質強化については、ある程度コンセンサスが得られているが、主にフッ素取り込みによるフッ化アパタイトへの置換がもたらす耐酸性などの化学的要因が主とされてきた。一方、フッ素があることによりハイドロキシアパタイト結晶の成長が促進されるという示唆もあるものの、実際に結晶の質や成長量にどのような影響を及ぼすかは明らかではない。また研究者の中には、低濃度のフッ素イオンの再石灰化・歯質増強に対する効果について疑問視する声もある。その背景には、低濃度のフッ素イオンが歯エナメル質に浸透してアパタイト結晶の配列や強度に影響を与えていることを検証する適切な手法が構築されていなかったことが挙げられる。そこで本研究では、これまでの研究成果においてSPring-8の高輝度マイクロX線を用いたX線回折法により初期う蝕の微細構造変化を明らかにした手法[4][5][6]を活用することで、低濃度のフッ素イオンが歯エナメル質のハイドロキシアパタイト結晶に与える効果を検証することとした。特に、初期う蝕におけるカルシウムの再石灰化効果との相違について種々のカルシウム素材の効果と比較しながら検討した。

実験：

歯の表面を削ってエナメル面を出し、脱灰処理および再石灰化処理を行って、1歯片上に健全・脱灰・再石灰化部を作成したものを厚さ150 μmに切り出し、サンプルとした。再石灰化処理には、表1に示すような唾液組成に近づけたミネラル溶液をPOs-Ca+フッ素、POs-Caで調製した各再石灰化処理液で反応を行い、その効果を比較した。試料には、ウシ歯およびヒト歯を用いた。ウシ歯は年齢および食生活が比較的均一であること、試料数が揃えやすいことから頻用されている。ヒト歯は、年齢、食生活のばらつきから、均一な試料を一定数揃えることがきわめて困難であることから、本研究では予備的試験として数サンプルを検討するものとした。

各試料は下記のように調整した。

- ・ウシエナメル質薄片サンプル(厚さ 150 μm , 表面積 5 mm \times 10 mm)
- ・ヒトエナメル質薄片サンプル(厚さ 150 μm , 表面積 5 mm \times 10 mm)

上記の試料について、エナメル質-象牙質方向（歯の深さ方向）に対して垂直にビームを当てるようにビームラインの2次元に移動可能な試料ステージにセットし、X線を照射した。測定は、6 μm 程度の大きさのX線ビームとなるように、ピンホールを通して調整した 15 keV 前後のX線を照射し、回折像を得た。これを 60 サンプルについて、エナメル表面から深部に向かって 5 μm ごとに深さ 200 μm まで行った。得られたX線回折データについては、HAp 結晶の c 軸の細かな違いに影響されにくい HAp 由来の (100) の反射について強度積分を行い、健全部の強度で相対値化することによって、各測定点における HAp 結晶含有量を算出した（結晶プロファイル・図 1-A 参照）。結晶のプロファイルから回復率を計算した。

表 1. 各種再石灰化処理液

組成	①	②
Ca (POs-Ca)	6 mM	6 mM
KH ₂ PO ₄	3.6 mM	3.6 mM
F (Tea extract)	1 ppm	0 ppm
HEPES	20 mM	20 mM
pH	6.5	6.5
Total	100 mL	100 mL

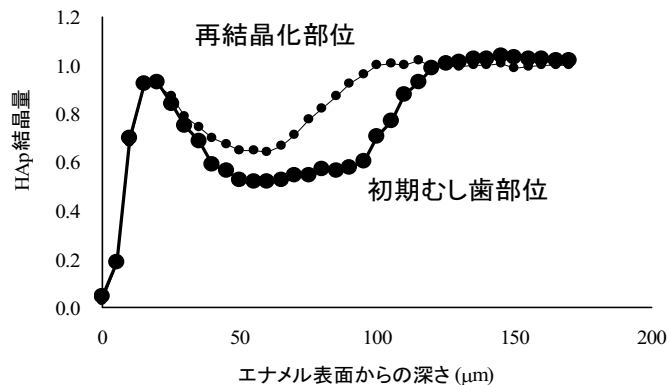


図 1-A. 広角 X 線回折解析によるアパタイト結晶変化量プロファイル

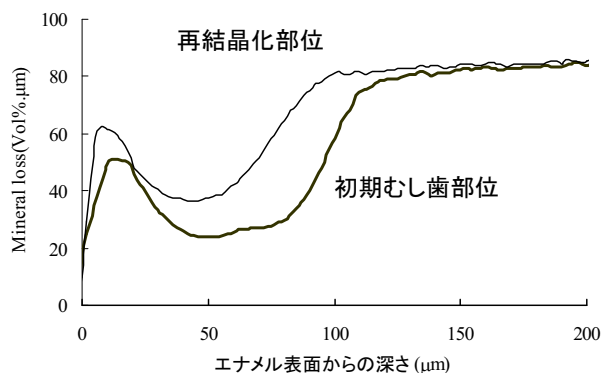


図 1-B. X 線透過法によるミネラル変化量プロファイル

結果および考察：

【利用方法および利用の結果得られた主なデータ】

X線マイクロビームを用いた WAXRD の解析から再石灰化された部位の回復の一部は少なくとも、POs-Ca+フッ素(F)および POs-Ca で再石灰化したいずれの歯も健全部のエナメル質と同じ配向性を有したヒドロキシアパタイト結晶の回復が観られた(図 1-A)。また POs-Ca+F のほうが POs-Ca 単独処理よりも再結晶化をより促進する傾向が示された。この結果は、X線透過法による再石灰化の評価結果と同様の傾向であった(図 1-B)。このことから、極微量の F 添加を行うと、POs-Ca と相乗的に再石灰化・再結晶化効果を発揮することが明らかとなった。一方今回の検証では、ヒト歯における個体差が大きく、ヒト歯での明瞭な成果を得ることができなかった。また今回の検証ではフッ素の歯への浸透度、取り込み形態(フッ化アパタイト、フッ化カルシウム、ヒドロキシアパタイトのいずれが存在するのか等)について評価することはできなかった。今後、他の解析法などを活用し多面的に評価してフッ素の取り込み形態を明らかにすること、ヒト歯で、できるだけバラツキを改善する方法等について検討することが必要であると考えられた。

参考文献：

- [1] Dean H. T., et al., Domestic water and dental caries. Additional studies of the relation of fluoride domestic waters to dental caries experience in 4,425 white children, aged 12 to 14 years, of 13 cities in 4 States. *Pub. Health Rep.*, **57**, 1155-1179, (1942).
- [2] Dean H. T. Chronic endemic dental Fluorosis (Mottled Enamel), *J. Am. Med. Assoc.*, **107**, 1269-1272, (1936).
- [3] フッ化物臨床応用のサイエンス, 監修 高江洲 義矩, 永末書店, 東京, 101, (2002).
- [4] Yagi N., Ohta N., Matsuo T., Tanaka T., Terada Y., Kamasaka H., To-o K., Kometani T., Kuriki T. Evaluation of enamel crystallites in subsurface lesion by microbeam X-ray diffraction. *J. Synchrotron Radiat.*, **16**, 398-404, (2009).
- [5] Tanaka M. et al., Effect of chewing gum containing Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium (POs-Ca) on remineralization and hydroxyapatite crystallites of enamel subsurface lesions in situ. *日本歯科保存学会誌*, **52**, 534-542, (2009).
- [6] Tanaka T., Yagi N., Ohta N., Matsuo T., Terada Y., Kamasaka H., To-o K., Kometani T., Kuriki T. Evaluation of the distribution and orientation of remineralized enamel crystallites in subsurface lesion by X-ray diffraction. *Caries Res.*, **44**, 253-259, (2010).