

学位論文の内容の要旨

| | |
|--|---|
| 論文提出者氏名 | 中村 真理愛 |
| 論文審査担当者 | 主査 和泉 雄一 副査 高橋 英和、川口 陽子 |
| 論文題目 | Impact of toothpaste on abrasion of sound and eroded enamel : An in vitro white light interferometer study |
| <p><緒言></p> <p>歯の酸蝕は、歯が酸に暴露することにより細菌の関与なく発症する、硬組織の病的、慢性的かつ局所的な喪失である。酸がエナメル質に作用すると、エナメル質表層からミネラルが溶け出し、酸蝕されたエナメル質は物理的的刺激をより受けやすくなる。過去の研究報告によると、酸蝕され軟化した歯質表面は摩耗しやすく、ブラッシングなどの機械的刺激により部分的に失われやすいことが明らかとなっている。</p> <p>一般的に、歯磨剤の研磨性は、相対的エナメル質摩耗値 (Relative Enamel Abrasion: REA) や相対的象牙質摩耗値 (Relative Dentin Abrasion: RDA) といった放射性トレーサー法によって評価される。また、その評価は、歯の磨耗に与える影響やクリーニング効果という視点から、臨床家やメーカーにとって非常に関心のある問題である。酸蝕した歯の硬組織の磨耗は、歯磨剤の研磨性が大きいほど増加する傾向にあるが、健全および酸蝕エナメル質間における歯磨剤の研磨性の比較検討は、未だ不明である。さらに、歯磨剤の研磨剤、pH 値、滴定酸度が酸蝕エナメル質に与える影響に関しても不明である。</p> <p>近年、酸蝕後のエナメル質表面粗さや喪失量の分析において、白色干渉計 (White Light Interferometer: WLI) が使用されている。この分析法は、比較的短時間で分析ができ、歯質に対して非接触ならびに非破壊的に測定可能である。Stenhagen らは、WLI の分析精度を触針式、光学的測定法、原子吸光分析法 (Atomic Absorption Spectrometry: AAS) と比較検討し、エナメル質酸蝕における表面変化の評価において、WLI の精度が最も高かったと報告している。また、WLI を用いた研磨エナメル質の表層分析において、0.02 μm の精度で測定できることを示した。</p> <p>日常生活において、歯磨剤の研磨性は唾液やペリクルの存在により変化する。歯質表層が酸性の食べ物にさらされると、唾液による清掃効果が数秒間阻害される。この場合、早期段階における歯の酸蝕は、ナノメートル単位での歯質の喪失であるため、健全および酸蝕エナメル質の磨耗における歯磨剤の影響を理解するためには、ナノメートル単位での分析が必要である。そこで本研究では、市販歯磨剤 4 種類を用い、健全および酸蝕エナメル質の歯ブラシ磨耗を in vitro で行い、WLI を使用してナノメートル単位でその喪失量を比較検討した。</p> | |

<材料および方法>

歯磨剤－ホワイトニング、歯周病予防、酸蝕歯対策、う蝕予防を目的とする市販の4種を用い、Milli-Q水にて3倍希釈したスラリーを用意した。

エナメル質試料の準備－抜去牛前歯の歯冠部を切り出し、レジンにて包埋後、そのエナメル質表層を鏡面研磨した。同研磨試料を4試料に切断、ネイルバーニッシュを用いて測定基準面を被覆した後、測定面(約2mm×4mm)を規定した。その後、試料をランダムに10群(n=10)に分け、以下のようにそのうち6群を酸蝕群(実験群1～6)、4群を健全群(実験群7～10)とした。

- ・実験群1：酸蝕のみ
- ・実験群2：酸蝕+Milli-Q水のみでブラッシング
- ・実験群3：酸蝕+ホワイトニング歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群4：酸蝕+歯周病予防歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群5：酸蝕+酸蝕歯対策歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群6：酸蝕+う蝕予防歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群7：酸蝕なし+ホワイトニング歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群8：酸蝕なし+歯周病予防歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群9：酸蝕なし+酸蝕歯対策歯磨剤スラリーでブラッシング
- ・実験群10：酸蝕なし+う蝕予防歯磨剤スラリーでブラッシング

酸蝕－酸蝕群は、10mlのコカコーラ(日本コカコーラ株式会社、pH2.2)に90秒間浸漬し、その後Milli-Q水で10秒間洗浄した。

歯ブラシ摩耗－実験群1を除いたエナメル質試料では、歯ブラシ摩耗試験機(k236、株式会社東京技研)および歯ブラシ(プロスペックヤング、硬さ：ミディアム、株式会社GC)を用い、荷重250gf、ストローク幅5mm、120ストロークの条件下にて、スラリー内で60秒間ブラッシングを行った。ブラッシング後、各試料を10秒間Milli-Q水で洗浄し、その後人工唾液に2時間浸漬した。コカコーラによる酸蝕から人工唾液への浸漬までの過程を3サイクル繰り返した。

WLI測定－歯ブラシ摩耗を評価するために、ネイルバーニッシュを除去後、エナメル質喪失量(Enamel Surface Loss: SL)をWLI(NanoMap-D、AEPテクノロジー社)を用いて測定した。

追加実験－3倍希釈した4種の歯磨剤スラリーのpHをTwin pH(株式会社堀場製作所)を用いて評価した。その中で、pH6.5以下の2種の歯磨剤スラリーの滴定酸度を測定した。滴定酸度は3回測定し、平均値を算出した。

統計－one-way ANOVAとBonferroni法を用いて有意水準5%にて検定を行った。

<結果>

酸蝕群の平均SL値(±SD)は、実験群1で273±88nm、実験群2で291±102nmと両群に有意差は認められなかった。しかしこの両群は、実験群3(814±175nm)、実験群5(557±139nm)、実験群6(563±129nm)よりも有意に平均SL値が低かった(p<0.001)。また、

実験群 3 はその他の全ての実験群よりも有意に SL 値が高かった ($p < 0.001$)。実験群 4 の平均 SL 値 \pm SD は $428 \pm 88\text{nm}$ であった。

健全群では、実験群 7 のみで SL 値が測定可能であった ($280 \pm 140\text{nm}$)。

< 考察 >

in vitro において、酸蝕により引き起こされた SL を評価するために、様々な方法が使用されてきた。本研究で用いた WLI は、光学的スキャンを 3 次元で行うことができ、エナメル質表層を全く損傷することなく、短時間で SL を計算することができる。SL の評価の研究において、WLI は光学式や触針式での測定と比較して最も精度が高かった。本研究は、WLI を用いて SL をナノメートル単位で測定した最初の研究である。WLI での測定は、酸蝕歯だけでなく、健全歯における SL をナノメートル単位で測定するのに貢献すると思われる。

これまでの in vitro 研究において、歯磨剤に研磨性があることが示されてきた。そして、歯ブラシ磨耗は歯磨剤に加え、ブラッシング時間、頻度、歯ブラシ圧など多くの要因に影響されると報告されてきた。本研究では、荷重、ブラッシング時間および頻度、酸蝕時間などの実験手順は、適切と思われる日常生活の条件を適用した。それゆえ、SL は極めて小さく、ナノメートル単位での測定が必要である。

本研究において、酸蝕群は健全群よりも歯ブラシ磨耗の影響を受けやすいことが明らかとなった。また、平均 SL 値において、実験群 1 と 2 の間で有意差は認められなかったことから、歯磨剤をつけずにブラッシングをするだけでは、酸蝕エナメル質に対してさらなるエナメル質喪失は起こさないことが示唆され、酸蝕エナメル質表面は歯ブラシによる物理的刺激に耐えうると考えられる。しかし、本研究においては、ミディアムタイプのナイロン製歯ブラシ種類のみでしか実験を行っていないことに留意する必要がある。

ホワイトニング歯磨剤の高い研磨性については、過去の研究においても報告されてきたが、本研究においても、ホワイトニング歯磨剤は他の歯磨剤と比較して、健全・酸蝕の両群において SL が大きかった。本研究において使用した 4 種類の歯磨剤のうち、ホワイトニング歯磨剤は最も pH 値が低く ($\text{pH} 5.3$)、滴定酸度が高かった。このため、ホワイトニング歯磨剤スラリーは簡単に唾液で中和されず、エナメル質表層の磨耗を促進したことが示唆される。また、この歯磨剤には成分としてリンゴ酸が含まれていた。リンゴ酸はホワイトニングの効果を促進するが、酸蝕したエナメル質にさらなる酸蝕作用をもたらすと考えられる。さらに、ホワイトニング歯磨剤の高い研磨性は、pH や滴定酸度のような化学的要因と研磨剤といった物理的要因の両方が関係している可能性がある。本研究において使用した全ての歯磨剤に研磨剤としてシリカが配合されていた。今後、研磨剤の種類だけでなく、粒度分布、形、硬さ、REA/RDA に関するさらなる研究が必要である。

過去の in vitro 研究において、フッ化物含有歯磨剤は、フッ化物非含有歯磨剤よりも健全および酸蝕エナメル質の磨耗性が低いことが証明されている。しかしながら、単価のフッ化物 (NaF 、 MFP など) は、多価で高濃度のフッ化物 (TiF_4 、 SnF_2 など) と比較するとエナメル質磨耗抑制効果は低い。本研究では、歯周病予防歯磨剤にフッ化物は含有されていなかったが、他の歯磨剤には 1500ppm 以下の低～中濃度の NaF が含有されていた。本研究結果

からは、これら低～中濃度フッ化物のエナメル質磨耗抑制作用は不明であるが、多価で高濃度のフッ化物が酸蝕後の歯ブラシ磨耗抑制に対して有効であることが期待されている。一方、*in vivo* においては、pH や緩衝能に影響を与える唾液が存在する。酸蝕後の歯ブラシ磨耗量は、唾液の影響により、酸蝕後時間が経つにつれ減少していくことが過去に報告されている。唾液の緩衝能には個人差があるが、本研究では、唾液の緩衝能が低いまたは期待できない人や、唾液分泌量が十分でないような高リスクの状況を想定し、スラリーの媒介として Milli-Q 水を使用した。実験条件が臨床状況に近似するほど、そして酸蝕条件を緩和するほど、磨耗量は減少する傾向にある。

< 結論 >

WLI による測定は、エナメル質喪失量分析において、ナノメートル単位で測定できる有効な測定法であることが明らかとなった。さらに、エナメル質磨耗に関して、酸蝕歯は健全歯よりも歯ブラシ磨耗の影響を受けやすいことが証明された。また、歯磨剤間で研磨性に違いがあり、使用する歯磨剤によっては、特に酸蝕後においてエナメル質の磨耗が促進される可能性が示唆された。このため、高い酸蝕リスクのある患者に対して日常的に使用する歯磨剤やブラッシング方法を選択する際、臨床家は歯磨剤の特性を考慮すべきである。

論文審査の要旨および担当者

| | | |
|--|---|--------|
| 報 告 番 号 | 甲 第 5002 号 | 中村 真理愛 |
| 論文審査担当者 | 主 査 和泉 雄一 副 査 高橋 英和、川口 陽子 | |
| 論 文 題 目 | Impact of toothpaste on abrasion of sound and eroded enamel : An in vitro white light interferometer study | |
| <p>近年、う蝕、歯周病に続く第三の歯の疾患として、酸蝕歯を含む Tooth wear が注目されている。酸蝕の影響により軟化した歯質表面は、摩耗しやすく、ブラッシングなどの機械的刺激により消失しやすいことが報告されている。また、in vitro における歯ブラシ摩耗研究において、健全エナメル質に対する歯磨剤の研磨性が示され、特にホワイトニング歯磨剤は高い研磨性を有することが報告されてきた。しかしながら、健全および酸蝕エナメル質間における各種歯磨剤の研磨性の比較検討は未だ行われていない。</p> <p>一方、白色干渉計 (White Light Interferometer, WLI) は、光の干渉作用を利用して、非接触・非破壊的に測定対象物表面形状を計測する微細表面形状測定装置である。主に、工業製品の三次元形状測定に利用されているが、その精度の高さから、歯科分野における研究での応用が期待されている。</p> <p>このような背景のもと本研究は、白色干渉計を用いて、健全および酸蝕エナメル質に歯ブラシ摩耗を行い、各種市販歯磨剤の影響を検討した新規性の高い研究である。使用した白色干渉計は、過去の関連研究において、その高い検出感度や再現性が確認されており、評価機器として妥当な選択である。また、本研究は日常生活に近い条件下で実験を行い、エナメル質喪失量をナノメートル単位で測定したことも評価に値する。過去の関連研究では、分析機器の検出限界の関係上、エナメル質喪失量をマイクロメートル単位で測定する必要があり、同喪失量を得るためやや過剰な条件下にて実験が行われていた。ブラッシングは日常行為であるため、歯磨剤を用いることで生じる可能性がある歯の喪失量に関しては、生活環境に近似した条件下にて比較検討する必要があり、微小領域から得られたデータはブラッシングを再考する上で興味深い。さらに、得られた結果に対する統計学的な検討も適切に行われ、十分な情報と知識を背景に、周到な準備のもと本研究計画が綿密に練られ、遂行されたことがうかがわれる。</p> <p>本研究で得られた主な結果は、以下のとおりである。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 酸蝕群における平均エナメル質喪失量は、歯ブラシ摩耗をしていない実験群 1 と歯磨剤をつけずに Milli-Q 水のみでブラッシングした実験群 2 の間に有意差は認められなかった。 2. 実験群 1 および 2 は、ホワイトニング歯磨剤でブラッシングした実験群 3、酸蝕歯対策歯磨剤でブラッシングした実験群 5、う蝕予防歯磨剤でブラッシングした実験群 6 よりも有意に平均エナメル質喪失量が少なかった。 3. ホワイトニング歯磨剤でブラッシングした実験群 3 はその他の全ての実験群よりも有意に平均エナメル質喪失量が大きかった。 | | |

4. 健全群では、ホワイトニング歯磨剤でブラッシングした実験群7のみでエナメル質喪失量が測定でき、それ以外においては測定不可能であった。

本研究により、白色干渉計は、酸蝕群だけでなく、健全群におけるエナメル質喪失量をナノメートル単位で測定できる有効な測定法であることが示された。また、エナメル質摩耗に関して、酸蝕群は健全群よりも歯ブラシ摩耗の影響を受けやすいことが明らかとなった。さらに、歯磨剤をつけずにブラッシングするだけでは、酸蝕エナメル質に対してさらなるエナメル質喪失は起こさないことが示唆され、酸蝕エナメル質表面は、本実験条件下における歯ブラシによる物理的刺激に耐えうると考察している。なお、これらの検討事項は、口腔内環境と異なり、いずれも唾液の関与のない *in vitro* 結果を基にした検証であるため、同結果と関連文献とを比較しながら慎重に考察を展開している。

一方、健全群および酸蝕群ともに歯磨剤間で研磨性に違いがあり、使用する歯磨剤の種類により、特に酸蝕後において、エナメル質の磨耗が促進される可能性が示唆された。このため、臨床家は、高い酸蝕リスクのある患者に対して歯磨剤やブラッシング方法を選択する際、使用する歯磨剤の特性を考慮する必要があると結論付けている。

これまで、歯磨剤を用いた歯ブラシ摩耗試験におけるエナメル質喪失量分析は、研究に用いる分析機器の検出限界の関係上、マイクロメートル単位で測定する必要があり、日常生活レベルに近似した条件下における微小変化は不明であった。本研究では、ナノメートル単位での高い検出能と再現性をあわせ持つ白色干渉計に着目し、日常生活で生じる可能性がある微小領域変化を検出する新たな評価法を提唱している。この手法は、歯ブラシ摩耗試験におけるエナメル質喪失量の検出だけでなく、酸蝕研究における微小領域変化の評価に新たな展開を生み出すものである。さらに今回得られた結果は、酸蝕症に関する貴重な情報を提供しており、今後の歯科保存学ならびに臨床歯学の発展に大いに寄与するものと考えられる。したがって、本論文は博士（歯学）の学位請求論文として十分価値のあるものと認められた。