

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 16 日現在

機関番号：32404

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24593109

研究課題名(和文) 口腔内 pH の日内変動と幼若永久歯の萌出後成熟に関する研究

研究課題名(英文) Studies on Circadian Rhythms of Intraoral pH and Mature of Young Permanent Tooth

研究代表者

渡部 茂 (Watanabe, Shigeru)

明海大学・歯学部・教授

研究者番号：60113049

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：1) 9:00-17:00の唾液pHモニターでは、UAL(上顎中切歯唇側面)、UPB(第一大臼歯頬側面)共にpH5.5以上で、最低pHは約5.5、最高pHは約7.5を示した。9:00-12:00ではUALがUPBより高値で、13:00-17:00ではUPBが高値を示した。0:00-17:00の睡眠中pHはUALがUPBより高値を示した。睡眠中UALの高値は小唾液腺の影響と思われた。2) 萌出過剰歯と埋伏過剰歯のエナメル質の $\mu$ CTの測定値(HUV)を比較すると、同じ深度では、埋伏過剰歯の方が高値を示し、萌出後の成熟によりミネラル密度が高まるという今までの説に疑問を呈する結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：1) The saliva pH monitoring from 9:00 a.m. to 5:00 p.m. showed above pH 5.5 on both UAL (labial surface of upper central incisor) and UPB ( buccal surface of upper first molar ). Minimum pH was about 5.5 and maximum pH was about 7.5 on both. UAL showed higher value than UPB from 9:00 a.m. to 0:00 p.m. and UPB showed higher value than UAL from 1:00 p.m. to 5:00 p.m. On the other hand, while sleeping, from 0:00 a.m. to 7:00 a.m., UAL showed higher value than UPB. We presume that UAL is affected by its contact with labial mucosa, in other words, saliva from minor salivary gland while sleeping.

2) Compared two Hounsfield unit values (HUV), measured values of  $\mu$ CT of enamel, of extracted erupted and impacted supernumerary tooth, the impacted tooth tended to show higher value than erupted supernumerary tooth in the same depth. We obtained a result that challenges conventional theory that, after tooth erupts, enamel matures and bone mineral density gets higher.

研究分野：小児歯科学、 障害者歯科学

キーワード：唾液pH 日内変動 幼若永久歯 エナメル質  $\mu$ CT ミネラル 成熟 石灰化

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 口腔内唾液量：口腔内では、安静時唾液量、1回の嚥下で嚥下される唾液量、嚥下直前・直後に口腔内に停滞する唾液量がクリアランスの能率に影響を与えており、申請者らはそれまで一口腔単位で考えられていた唾液クリアランスには部位特異性がみられることを明らかにした(J.Dent.Res, 69: 1150-53, 1990: S. Watanabe and C. Dawes)。

(2) 口腔内 pH 測定：pH を口腔内にてモニターする研究は、Igarashi ら (Archs Oral Biol. 26:203-207, 1981) が水素イオン感応性電界トランジスタ電極 (ISFET) を用いて採取したブランク中 pH の変化を、Millward ら (Caries Res 31:44-49, 1997) はガラス電極を用いて採取した唾液の pH をモニタリングしているのみである。

(3) 脱灰・再石灰化：永久歯エナメル質表層のミネラル密度が深層に較べて高いことは萌出後、唾液中ミネラルがエナメル質に取り込まれたことによると思われるが、このことを実際に確認した報告はみられない。

## 2. 研究の目的

(1) 口腔内 pH 環境の標準的な変動幅を明らかにするため、1日(24時間)の唾液 pH の変動を部位的にモニターする。

(2) 唾液 pH の変動で、エナメル質表層のミネラル密度がどのように変動するか、エナメル質 - 唾液中ミネラル移動の実態をマイクロ CT で明らかにする。

(3) 幼若永久歯の萌出後の成熟(エナメル質表層のミネラル密度)を検討するために、埋伏過剰歯の表層エナメル質のミネラル量を  $\mu$ CT で測定し、萌出後抜歯した過剰歯と比較する。

## 3. 研究の方法

(1) 唾液 pH の日内変化：pH センサーを口腔内2箇所(上顎前歯部唇面(UAL)、上顎臼歯部頬面(UPB))に設置し、睡眠時

(0:00-7:00) 覚醒時(9:00-17:00)の安静時の pH をモニターした。pH 計はアンチモン電極を用いた。PH センサー装着前に口腔内清掃を十分に行い、2点校正(pH4、pH7)した pH 電極を上顎中切歯唇側面(UAL)および第一大臼歯頬側面(UPB)にそれぞれコンポジットレジンで装着し、睡眠中は5分間隔で、覚醒中は1分間隔で pH を自動測定した。対象は健康成人男子5名(25~40歳)とした。

## (2) エナメル質 - 唾液中ミネラルの移動：

あらかじめマイクロ CT にて牛前歯唇面の表層から深さ 600  $\mu$ m までのミネラル密度を測定し、その Hounsfield unit value (HUV) 平均値の 1 SD 以内のものを標本として用いた。健全エナメル質(ST群)の表層から深層に向けて 150  $\mu$ m 間隔で得た HUV をコントロールとして、pH5.5 及び 7.0 に調整した人工唾液浸漬 10 日間後のエナメル質各層の HUV を比較した。一方、その際の人工唾液中カルシウム(Ca)、リン酸塩(P)の濃度を測定した。

## (3) 過剰歯のエナメル質表層のミネラル量：

本学付属病院小児歯科外来で抜去された、萌出過剰歯(n=5)および埋伏過剰歯(n=3)をマイクロ CT(SKYSCAN1172)にて撮影し、任意の部位にてエナメル質の表層からの深度ごとに平均 Hounsfield Unit 値(HUV)測定し(0-100  $\mu$ m、100  $\mu$ m-200  $\mu$ m、200-300  $\mu$ m、300-400  $\mu$ m)、各歯における各深度の HUV を歯の種類(萌出過剰歯、埋伏過剰歯)およびエナメル質表面からの深度に基づいて比較した。比較にあたっては、多元配置分散分析および Scheffe's method を用い、 $p < 0.05$  を有意とみなした。

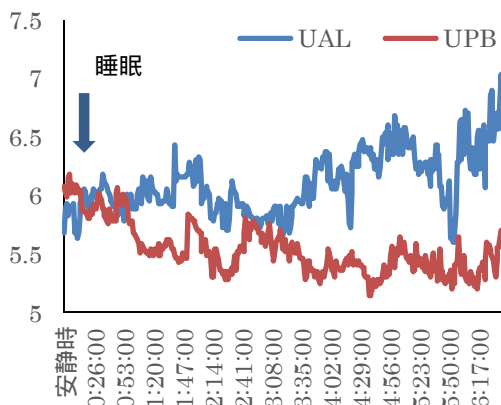
## 4. 研究成果

### (1) 1日の pH の変動：

睡眠中の口腔内唾液 pH のモニタリング：被験者の平均安静時唾液分泌速度は 2.8~3.0ml/min を示し正常値の範囲であった。就

寝して完全睡眠(睡眠)に至るまでの安静時唾液 pH は全被験者で UPB が UAL より高い値を示した。睡眠直後より唾液 pH の変動が少なくなり、UAL は速やかに UPB は徐々に pH がそれぞれ 1 程度下降した。その後両部位の pH は平衡を保ち、UPB の方が UAL より低い状態が起床時まで続いた。UAL の pH の最低値は 5.5 前後であり、UPB は 5.0 程度であった(図 1)。

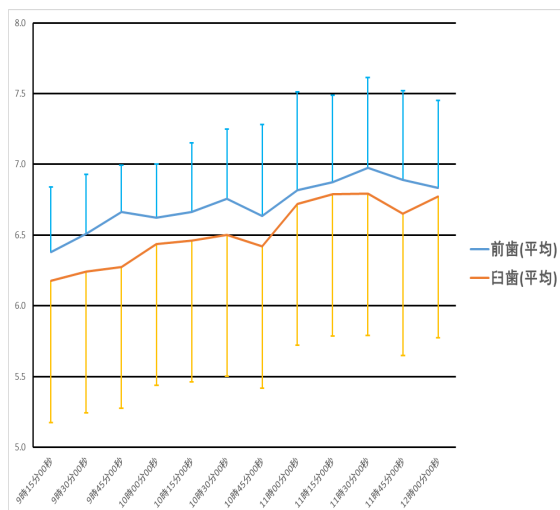
【図 1 睡眠時 pH の変化】



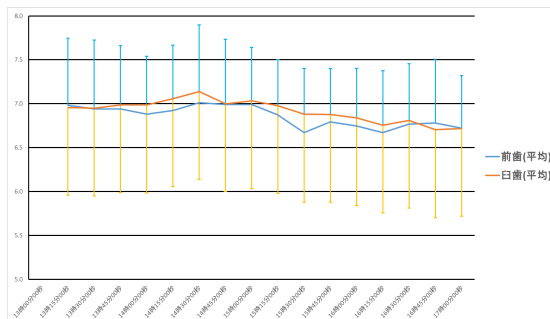
日中の pH の変化

唾液 pH は、UAL・UPB 共に常時 pH5.5 以上であった。UAL・UPB の pH の最低値は約 5.5 であり、最高値は約 7.5 であった。午前(9:00-12:00)においては UAL が UPB に比べ高値を示したが、午後(13:00-17:00)は UPB が UAL に比べ高値を示した。この傾向は 5 人中全員が同じであった(図 2、3)。

【図 2 午前の pH 変化】



【図 3 午後の pH の変化】



(2) 唾液 エナメル質間ミネラルの移動:

pH5.5 浸漬群では、人工唾液中 Ca, P 濃度が有意に上昇し、エナメル質のミネラル密度は ST 群(コントロール群)に比べ有意に減少した。pH5.5 浸漬群でのエナメル質からのミネラルの放出は、表層(0-150 μm)から最も多く行われていた。一方、pH7.0 浸漬群においては有意な変化は認められなかった。

pH5.5 浸漬群で脱灰されたエナメル質を pH7.0 の人工唾液中に浸漬した結果、エナメル質ミネラル密度は有意に増加した。このときの人工唾液中 Ca 濃度の減少が確認された。このことは、pH7.0 の人工唾液中ミネラルがエナメル質中に取り込まれたことを示唆していると思われる。

(3) 幼若永久歯の成熟:

萌出過剰歯(7008 ± 856)と埋伏過剰歯(7865 ± 1177)の間において、HUV に有意差を認めた(p<0.05)。その後の検定 Scheffe's method において、萌出過剰歯の 0 μm 以上 100 μm 未満における HUV (7779 ± 584) が埋伏過剰歯の 300 μm 以上 400 μm 未満の HUV (7054 ± 963) よりも有意に高値を示した(p<0.05)。

5. 主な発表論文等

【雑誌論文】(計 4 件)

Koji Watanabe, Toshiko Tanaka, Kenshi Maki, Hideaki Nakashima, Shigeru Watanabe: Amount of Calcium Elution and Eroded Lesion Depth in Bovine Enamel Derived from Single Short Time Immersion in Carbonated Soft Drink in Vitro, Open Journal of Stomatology. 2015;5:80-86. DOI:

10.4236/ojst.2015.53012 (査読有)

San Ling Zhou, Jun Zhou, Shigeru Watanabe, Koji Watanabe, Ling Ying Wen, Kun Xuan: In vitro study of the effects of fluoride-releasing dental materials on remineralization in an enamel erosion model, Journal of Dentistry 40(3):255-263 2012. DOI:10.1916/j.jdent.2011.12.016 (査読有)

Koji Watanabe, Tomomi Nakamura, Takashi Ogihara, Yoshiyuki Ochiai, Shigeru Watanabe: Longitudinal Evaluation of Mineral Loss at the Earliest Stage of Enamel Demineralization Using Micro-Computed Tomography, Health 4(6):334-340, 2012. DOI:10.4236/health.2012.46055 (査読有)

A.M. Acra, H.Sakagami, T.Matsuda, K. Adachi, S.Otsuki, H.Nakajima, T.Koh, M.Machino, T. Ogihara, K. Watanabe, S. Watanabe, AV.Salgado and N.M.M.Bastida : Effect of three fluoride compounds on the growth of oral normal and tumor cells, in vivo 26, 657-664, 2012 (査読有)

[学会発表](計 14 件)

Ogihara T, Nakamura A, Watanabe K and Watanabe S: The effect of zinc on enamel remineralization, 93rd General Session & Exhibition of the IADR, Boston, USA, 2015.3.10

渡辺泰平、市川智久、中村昭博、渡辺幸嗣、渡部 茂 他：睡眠中の口腔内唾液 pH のモニタリング 第 52 回日本小児歯科学会、東京、2014.5.20

中村昭博、佐藤智之、春藤真知子、渡辺泰平、渡辺幸嗣、渡部 茂 他：オレンジジュース飲用時における口腔内唾液 pH のモニタリング 第 52 回日本小児歯科学会、東京、2014.5.20

Koji WATANABE, Toshiko TANAKA, Takashi OGIHARA, Shigeru WATANABE: Depth of erosive lesion due to carbonated soft drink intake -In vitro study- The 11th International Conference of Asian Academy of Preventive Dentistry, 2014.9.10

荻原 孝, 中村昭博, 渡辺幸嗣, 渡部 茂: フッ化物存在下における亜鉛濃度の違いがエナメル質再石灰化に与える影響, 日本小児歯科学会第 29 回関東地方会大会, 埼玉, 2014.0.28

Watanabe K., Ogihara T., Sasabe T & Watanabe S : Evaluation on anti-demineralization effects of fluoride releasing coat material, The 24th IAPD, Seoul, Korea, 2013.6.15

Ogihara T, Watanabe K and Watanabe S : Effect of Fluoride on Remineralization Using Micro CT, 2nd Meeting of the International Association for Dental

Research Asia Pacific Region, Bangkok, Thailand, 2013.8.22

Watanabe K, Ogihara T, Sasabe T and Watanabe S : Evaluation on Anti-demineralization Effects of Fuji R, 2nd Meeting of the International Association for Dental Research Asia Pacific Region, Bangkok, Thailand, 2013.8.22

荻原 孝, 渡辺幸嗣, 渡部 茂: エナメル質再石灰化に関する基礎的研究 マイクロ CT によるエナメル質ミネラル密度の評価, 第 51 回日本小児歯科学会大会, 岐阜, 2013.5.24

落合慶行, 荻原 孝, 渡辺幸嗣, 渡部 茂: マイクロ CT によるエナメル質表層脱灰のミネラル密度の評価, 第 51 回日本小児歯科学会大会, 岐阜, 2013.5.24

渡辺幸嗣, 荻原 孝, 落合慶行, 渡部 茂: PRG バリアコートの抗脱灰作用に関する検索, 第 51 回日本小児歯科学会大会, 岐阜, 岐阜, 2013.5.24

S.WATANABE, T.OGIHARA, K.WATANABE, H.KURIHARA, and X.WANG: Mineral Transfer between Enamel and Artificial Saliva. 90th General Session & Exhibition of the IADR, Iguacu Falls, Brajirul, 2012.6.22

Takashi Ogihara, Koji Watanabe, Shoji Takahashi, Shigeru Watanabe: Evaluation of Successive Changes of Enamel Remineralization by Micro CT, The First China International Workshop of Pediatric Dentistry, China, 2012.6

Koji Watanabe, Tomomi Nakamura, Takashi Ogihara, Yoshiyuki Ochiai, Shigeru Watanabe: Longitudinal and pH-dependent evaluation of enamel demineralization using micro-CT, 90th General Session & Exhibition of the IADR, Iguacu Falls, Brajirul 2012.6.22

[図書](計 2 件)

渡部 茂: 唾液の役割。In オーラルヘルスケア機能性食品の開発と応用 -アンチエイジングを応用した口腔ケアを中心に-, 坂上宏監修、シーエムシー出版、東京、p30-38, 2013

Watanabe S: Estimation of the Velocity of the Salivary Film at the Different Regions in the Mouth -Measurement of Potassium Chloride in the Agar Using Atomic Absorption Spectrophotometry, In : MACRO TO NANO, INTECH, Croatia, pp51-70, 2012

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡部 茂 (WATANABE Shigeru)

明快大学歯学部形態機能成育学講座口腔小児科学分野・教授

研究者番号：60113049

(2)研究分担者

渡辺幸嗣 (WATANABE Koji)

明海大学歯学部形態機能成育学講座

腔小児科学分野・講師

研究者番号：30570650