

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：43905

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K11442

研究課題名(和文) 口腔内環境と歯の酸蝕症の成立に関する基礎的研究

研究課題名(英文) Basic study on the oral environment and effects on the dental erosion

研究代表者

犬飼 順子 (Inukai, Junko)

愛知学院大学短期大学部・その他部局等・教授

研究者番号：40319190

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトエナメル質試料を用いて歯の酸蝕症をより口腔内環境に近づけた条件で、歯の酸蝕症の具体的で効果的な予防方法を検討した。歯の酸蝕症は微小表面硬さと表面粗さで評価した。その結果、1) 飲料の温度、2) 飲料の酸の種類、3) カルシウムやリンの含有、4) フッ化物の存在、5) 脱灰・再石灰化処理時間やサイクルの条件が歯の酸蝕症に影響した。また、歯の酸蝕症は口腔内のpHに最も影響を受け、次いでフッ化物の有無が影響されていた。さらに、プラークのようにpHが低い条件であってもフッ化物があることで、歯の酸蝕症を抑制できることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の生活習慣や口腔外の疾患に起因する歯の酸蝕症は酸によって発生するう蝕や歯周疾患に続く疾患として着目されている。しかし実際の口腔内では酸が存在しても唾液やペリクルの緩衝作用、再石灰化が作用ならびに歯質保護作用により、歯質の侵襲が妨げられていることが考えられ、これまでの基礎的研究結果が直接的に口腔内の症状として発現するとは言えない。本研究では、歯の酸蝕症に臨床応用につながる口腔内環境を反映させた基礎的研究をさらに積み上げ、より臨床応用できる歯の酸蝕症の予防方法や歯科保健指導内容に反映させることのできる学術的・社会的成果を得た。

研究成果の概要(英文)：The effective methods of tooth erosion prevention were investigated by using human enamel surface under conditions closed to the oral environment.

The tooth erosion was evaluated with surface microhardness and surface average roughness. As a result, these conditions, 1) temperature of drinks, 2) acid kinds of drinks, 3) the composition of calcium and phosphorus, 4) the containing of fluoride, 5) demineralization-rem mineralization time and cycles, were effect on tooth erosion. Furthermore, first, pH of oral environment and secondly containing fluoride was contributed with the surface microhardness and the surface roughness. It was also suggested that fluoride can inhibit the tooth erosion even under low pH conditions such as dental plaque.

研究分野：口腔衛生学

キーワード：歯の酸蝕症 エナメル質 微小表面硬さ 表面粗さ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

歯の酸蝕症は以前より酸を取り扱う職種に起因する職業性歯科疾患の一つとして位置づけられていた。しかし、近年の生活習慣や口腔外の疾患に起因する歯の酸蝕症は、職業性疾患としての歯の酸蝕症とは異なり、飲料水等の食品やサプリメント、胃内容物等に含まれる酸によって発生するう蝕や歯周疾患に続く疾患として着目されるようになってきている。実際、1970年代は歯の酸蝕症に関する論文報告が5題未満であったが、現在では年間50題以上の論文が報告されている<sup>1)</sup>。このように、国内外で多くの基礎的研究ならびに歯科診療における診査や診断および治療方法に関する臨床的な勧告が行われている<sup>2)</sup>。「食後30分のブラッシングを避ける」<sup>3)</sup>といった保健指導もこの歯の酸蝕症に焦点をあてた保健指導方針である。

歯の酸蝕症のメカニズムは、歯質が酸により侵食されることでは近似しているものの細菌が関与するう蝕と異なり、そのほとんどがヒドロキシカーボネートアパタイトより構成される歯質と酸との無機化学的反応で説明できる<sup>4,5)</sup>。多要因による感染性の疾患の発生率が高い歯科疾患の中で歯の酸蝕症の無機化学的メカニズムは単純で理解されやすい。これまでの歯の酸蝕症に関する基礎的研究はこのメカニズムを裏付ける研究であり、歯や人工エナメル質としてのヒドロキシアパタイトを用いた試料の酸による浸漬実験が多く行われている<sup>6-8)</sup>。また酸蝕後の評価は、微少硬さ<sup>7)</sup>、電子顕微鏡像<sup>9)</sup>、脱灰深度<sup>8)</sup>などによるものが一般的である。

現在、これらの基礎的研究を基に臨床応用されるようになってきているが、実際の口腔内では酸が存在しても唾液やペリクルの緩衝作用、再石灰化が作用ならびに歯質保護作用により、歯質の侵襲が妨げられていることが考えられ基礎的研究結果が直接的に口腔内の症状として発現するとは言えない。しかし、多くの基礎的研究においては、これらの生物学的・生化学的作用を考慮した報告は少ないことが現状であり、口腔内の状況から大きくかけ離れた基礎的研究を基に臨床応用されている問題点があり、より臨床に近づいたさらなる研究が必要である学術的背景がある。

### 2. 研究の目的

近年着目されている歯の酸蝕症に関して、現在報告されている基礎的研究は生物学的・生化学的作用を考慮した報告が少なく、口腔内の状況からかけ離れた研究を基に臨床応用されている問題点があり、より臨床に近づいた研究が必要である。これまでの数多い基礎的研究からさらに口腔内環境に近づけた研究条件を設定することで、歯の酸蝕は促進・抑制されることが予測される。本研究は、歯の酸蝕症に臨床応用につながる口腔内環境を反映させた基礎的研究をさらに積み上げることを目的としている。そして、本研究より得られた結果から国民のニーズに叶う、より臨床応用できる歯の酸蝕症の予防方法や歯科保健指導内容に反映させることを目的とした。

### 3. 研究の方法

研究は口腔内環境を反映させた次の5つから構成されており、1年間に1項目の研究を実施した。

#### (1) 研究1: 清涼飲料水の種類と温度がヒトエナメル質表面に及ぼす影響について

清涼飲料水はレモンティー、オレンジジュース、乳酸菌飲料を用いた。各清涼飲料水を低温(5)、常温(25)、高温(37)の3種に設定し、飲料の種類と濃度の9種類の浸漬液に、ヒトエナメル質試料を各10個ずつ15分間浸漬後、ヌーブ硬さと表面粗さ(Ra)を測定した。また試料の二次電子像を観察した。結果は飲料の種類と温度を要因とした二元配置分散分析とTukeyの多重比較を行った。

#### (2) 研究2: 脱灰 再石灰化処理サイクルを調節し、サイクルの違いとフッ化物の存在がエナメル質に与える影響について

鏡面研磨した57個のヒトエナメル質試料を5群(G1, G2, G3, G4, G5)に分けた。G1およびG2は脱灰処理5分後蒸留水で水洗し、再石灰化処理を5分、蒸留水で水洗のサイクルを1回とし、このサイクルを4回繰り返した。G3およびG4は脱灰処理1分後、蒸留水で水洗、再石灰化処理1分、蒸留水での水洗のサイクルを1回として、このサイクルを20回繰り返した。G5はコントロール群とした。脱灰処理溶液にはpH3.5の酢酸溶液を使用し、再石灰化処理溶液にはG1およびG3には人工唾液、G2およびG4は225ppmFのフッ化物添加人工唾液を使用した。脱灰処理前、脱灰 再石灰化処理20分後に試料表面のヌーブ硬さと表面粗さを測定した。結果は処理時間ごとに5群の一元配置分散分析およびTukeyの多重比較とフッ化物の有無と処理サイクル時間を要因とした2元配置分散分析を行った。

#### (3) 研究3: 歯の酸蝕症の口腔内環境を模した脱灰 再石灰化のサイクルと脱灰時のpHもしくは再石灰化時の2種のフッ化物環境がエナメル質表面に与える影響について

ヒトエナメル質の表面を鏡面研磨した試料88個を作成し8グループに分けた。試料は脱灰溶液による脱灰と再石灰化溶液による再石灰化を繰り返し、浸漬条件を脱灰溶液はpH3.5とpH4.5、再石灰化条件は再石灰化溶液をフッ化物添加なしと225ppmのフッ化物添加あり、脱灰 再石灰化の繰り返しサイクル条件は1分サイクル20回と5分サイクル4回のそれぞれ各2条件として各グループに割り付けた。各条件下でエナメル質試料を浸漬後、硬度計を用いたヌーブ硬さおよびナノスケールハイブリッド顕微鏡を用いた表面粗さ(Ra, Rq)を測定した。結果はpH、フッ化

物の有無，サイクル時間を要因とした3元配置分散分析により分析した。

(4) 研究4：フッ化物の作用時期と，F-濃度のヒトエナメル質表面性状への影響 その硬度と表面粗さおよび摩耗量

56個のエナメル質試料を作成し，浸漬パターンとして，脱灰後NaF溶液に浸漬し，その後人工唾液で再石灰化させるパターン（浸漬パターン1）および脱灰後フッ化物添加人工唾液で再石灰化させるパターン（浸漬パターン2）に設定した。また，F-濃度は3種，500，1000，1500ppmFに設定した。試料を対照群とそれぞれの浸漬パターンとF-濃度パターンを組み合わせた7群に分け，各溶液に繰り返し浸漬した。処理前と処理後に試料のヌーブ硬さおよび表面粗さ(Ra, Rq, Rku)，摩耗量を測定し，浸漬パターンとF-濃度パターンを要因とする二元配置分散分析とTukeyの多重比較で分析した。

(5) 研究5：唾液やプラークの存在を考慮した再石灰化溶液と再石灰時間の要因がエナメル質の表面性状に与える影響について

鏡面研磨した90個のヒトエナメル質試料を作成し10個ずつ9群に分けた。再石灰化溶液は一般的な全唾液の組成（再石灰化溶液1），歯質に近接した唾液の組成（再石灰化溶液2），フッ化物含有プラーク下環境の組成（再石灰化溶液3）の3種を調整した。また再石灰化時間は5，10，15分間の3通りとした。37℃，20mlの脱灰溶液，再石灰化溶液を使用してそれぞれの条件を組み合わせた各群の脱灰5分，再石灰化を4回繰り返すpHサイクリングを行った。浸漬後にエナメル質のヌーブ硬さおよび表面粗さを測定し，結果は再石灰化溶液の種類と再石灰化時間を要因とした二元配置分散分析とTukeyの多重比較で分析した。

#### 4. 研究成果

(1) 研究1：清涼飲料水の種類と温度がヒトエナメル質表面に及ぼす影響について

ヌーブ硬さは飲料の温度により有意差が認められ(p<0.001)，低温よりも温度の高い常温，高温でヌーブ硬さが低下したことから，歯の酸蝕症は温度が高くなり反応が促進する無機化学反応によると考えられた(図1)。また，表面粗さは飲料の種類により有意差が認められ，乳酸菌飲料はオレンジジュースより有意に高かった(p<0.05)(図2)。これは乳酸菌飲料に含まれる，CaやPが脱灰を抑制し，脱灰されやすいエナメル小柱間質から選択的に酸蝕されて表面に高低差が出現したことで表面粗さが高くなったと考えられる。オレンジジュースは脱灰能の高いクエン酸が含有されており，クエン酸によりエナメル小柱も同時に酸蝕され表面が平坦になり表面粗さが低下したと考えられる。さらに二次電子像はこれらの結果を裏付ける所見であった。

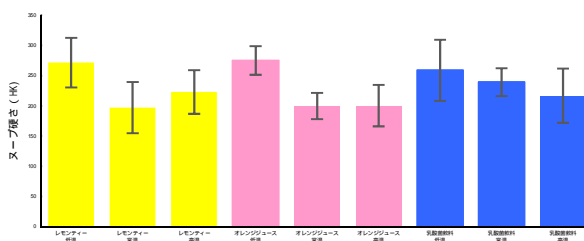


図1 各種清涼飲料水と各温度におけるエナメル質試料のヌーブ硬さ

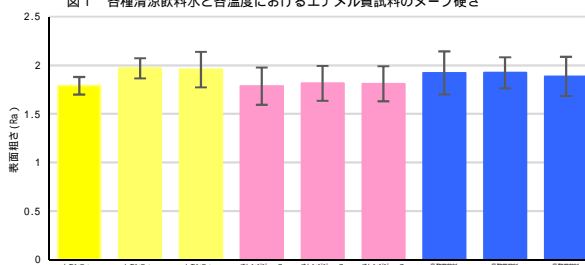


図2 各種清涼飲料水と各温度におけるエナメル質試料の表面粗さ

(2) 研究2：脱灰 再石灰化処理サイクルを調節し，サイクルの違いとフッ化物の存在がエナメル質に与える影響について

脱灰 再石灰化処理 20分後は5群間のヌーブ硬さに有意差が認められ(p<0.01)，G2が最も高かった。また，フッ化物添加群は人工唾液群と比較してヌーブ硬さが有意に増加した(p<0.05)。処理サイクル5分は1分と比較してヌーブ硬さが有意に増加した(p<0.05)(表1)。一方表面粗さは群間に有意差は認められなかったが，フッ化物の添加が表面粗さを有意に低下させた(p<0.05)。フッ化物イオンがエナメル質の表面や結晶周囲に被覆・防護して脱灰を抑制し再石灰化させヌーブ硬さおよび表面粗さに影響を与えたものとする。また再石灰化処理の時間の増加に伴いエナメル質の耐酸性が向上することが示唆された。

表1 研究2 各処理ごとのエナメル質試料のヌーブ硬さ HK (Mean ± SD)

		artificial saliva		artificial saliva + 225 ppm F	
5 minutes cycle	Group 1	96.95 ± 33.65 <sup>a</sup>	Group 2	134.95 ± 37.10 <sup>de</sup>	
1 minute cycle	Group 3	84.14 ± 20.37 <sup>bd</sup>	Group 4	96.44 ± 41.11 <sup>ce</sup>	
Before exposure		Group 5		169.10 ± 29.37 <sup>abc</sup>	

Same letters indicate significant difference among the groups.

abc: p < 0.001, d: p < 0.01, e: p < 0.05

表2 研究2 各処理ごとのエナメル質試料の表面粗さ nm (Mean ± SD)

		artificial saliva		artificial saliva + 225 ppm F	
5 minutes cycle	Group 1	205.88 ± 46.62	Group 2	153.77 ± 71.91	
1 minute cycle	Group 3	177.31 ± 63.80	Group 4	139.26 ± 56.87	
Before exposure		Group 5		144.12 ± 67.29	

(3) 研究3：歯の酸蝕症の口腔内環境を模した脱灰 再石灰化のサイクルと脱灰時のpHもしく

は再石灰化時の 2 種のフッ化物環境がエナメル質表面に与える影響について

エナメル質試料のヌーブ硬さは pH4.5, フッ化物添加あり, 5分サイクルが最も高く, pH3.5, フッ化物なし, 1分サイクルが最も低かった(図3). 表面粗さは pH4.5, フッ化物添加あり, 1分サイクルが最も小さく, pH3.5, フッ化物なし, 5分サイクルが最も大きかった(図4). 3元配置分散分析の結果, ヌーブ硬さは pH4.5 が pH3.5 よりも有意に高く ( $p < 0.001$ ), フッ化物添加がフッ化物なしより有意に高く ( $p < 0.01$ ), 5分サイクルが1分サイクルよりも有意に高かった ( $p < 0.05$ ). また, 表面粗さは Ra および Rq とともに pH4.5 が pH3.5 よりも有意に小さく ( $p < 0.001$ ), フッ化物添加がフッ化物なしより有意に小さく ( $p < 0.05$ ), サイクル時間による有意差は認められなかった. ヌーブ硬さの寄与率は pH > フッ化物 > 脱灰 再石灰化のサイクル時間であり, 表面粗さの寄与率は pH > フッ化物 > 脱灰-再石灰化のサイクル時間であった.

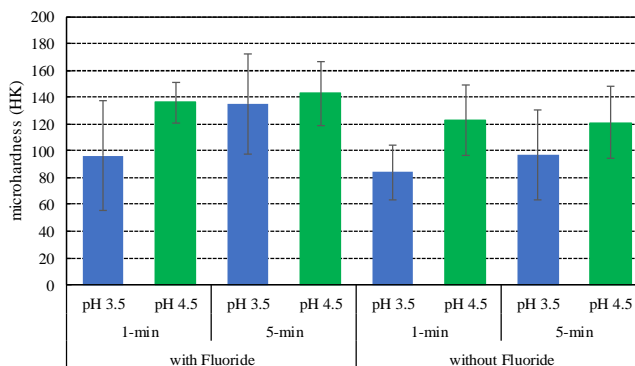


図3 研究3の各条件におけるエナメル質試料のヌーブ硬さ

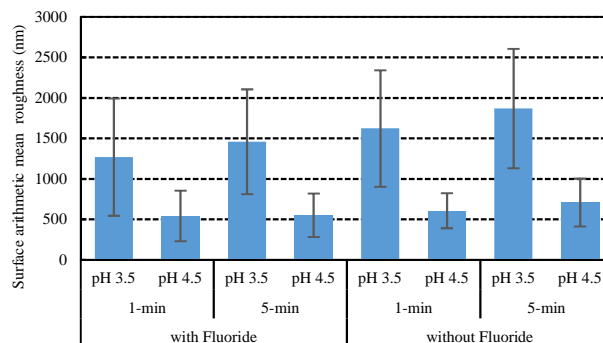


図4 研究3の各条件におけるエナメル質試料の表面

#### (4) 研究 4: フッ化物の作用時期

と, F-濃度のヒトエナメル質表面性状への影響 その硬度と表面粗さおよび摩耗量

試料のヌーブ硬さはフッ化物作用群が, 非作用群と比較して有意に高かった ( $p < 0.001$ ) が, 浸漬パターン, および F-濃度パターンのどちらの要因も有意差は認められなかった. Ra および摩耗量は浸漬パターン間に有意差が認められたが ( $p < 0.05$ ), 多重比較による有意差は認められなかった. また, 二元配置分散分析の結果フッ化物の作用時期で再石灰化時に人工唾液作用群は単独作用群と比較して Ra, Rq が有意に小さく ( $p < 0.05$ ), Rku が有意に大きく ( $p < 0.05$ ), 摩耗量は有意に少なかった ( $p < 0.05$ ). しかし F-濃度によって有意な表面性状の違いは認められなかった. したがって, 人工唾液中のフッ化物の作用時期はエナメル質の表面性状に影響しているが F-濃度との関連が認められず, 500 ppmF を超える高濃度のフッ化物はエナメル質の脱灰抑制・再石灰化には十分な濃度であり他のミネラルの存在が影響すると考えられた. また, 高濃度フッ化物は長期間歯質とフッ化物が作用し, より再石灰化, 脱灰抑制作用を示すと推測された.

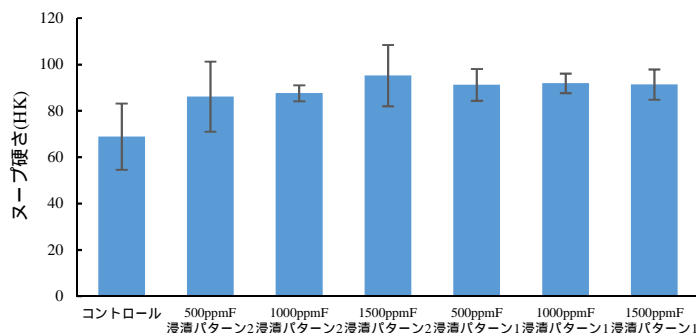


図5 研究4各実験群のエナメル質試料のヌーブ硬さ

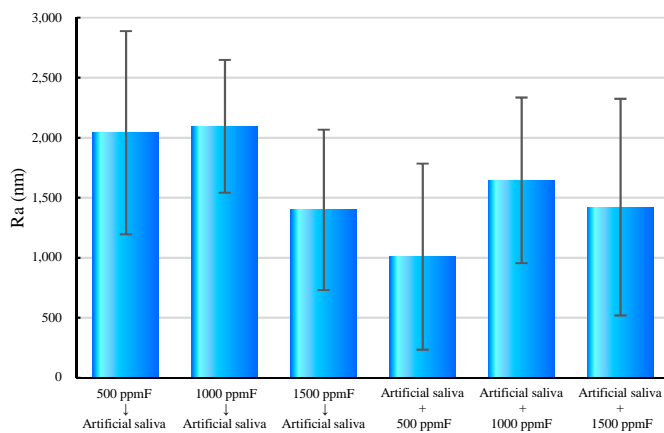


図6 研究4各実験群のエナメル質試料の表面粗さ

#### (5) 研究 5: 唾液やプラークの

存在を考慮した再石灰化溶液と再石灰時間の要因がエナメル質の表面性状に与える影響につい

て

再石灰化溶液ではフッ化物含有のブランク下環境の組成は唾液を再現した他2種と比較して有意にヌーブ硬さが高かった ( $p < 0.001$ )。再石灰化時間10分間は5分間と比較して有意にヌーブ硬さが高く ( $p < 0.001$ )、15分間は5分間と比較して有意にヌーブ硬さが高かった ( $p < 0.05$ )。また、表面粗さは一般的な全唾液の組成と比較して歯質に近接した唾液を再現した組成の再石灰化溶液を使用した群が有意に高かった。したがって、カルシウムおよびリン酸イオンおよびフッ化物による再石灰化促進および脱灰抑制作用に加えブランク下環境でも脱灰・再石灰化が動的に起こると考えられ、再石灰化時間が10分以上ではよりエナメル質表層が不純物の少ない歯質に置換され硬度が高くなると考えられた。

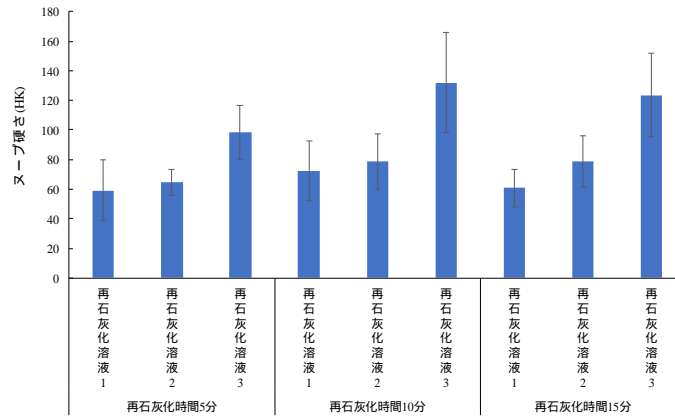


図7 研究5 各実験群のエナメル質試料のヌーブ硬さ

これらの研究結果より、より口腔内環境に近づけた食品の温度、食品の酸の種類やCa、Pの含有、フッ化物の存在、脱灰再石灰化処理時間の条件により歯の酸蝕症の発症は変化することが結論された。また、ヌーブ硬さや表面粗さで評価できる歯の酸蝕症は飲料などの物質のpHに最も影響を受け、次いでフッ化物の有無が影響されていた。しかし、プラークのようにpHが低い条件であってもフッ化物があることで、歯の酸蝕症の発症を抑制できることが示唆された。

これらの研究結果より、より口腔内環境に近づけた食品の温度、食品の酸の種類やCa、Pの含有、フッ化物の存在、脱灰再石灰化処理時間の条件により歯の酸蝕症の発症は変化することが結論された。また、ヌーブ硬さや表面粗さで評価できる歯の酸蝕症は飲料などの物質のpHに最も影響を受け、次いでフッ化物の有無が影響されていた。しかし、プラークのようにpHが低い条件であってもフッ化物があることで、歯の酸蝕症の発症を抑制できることが示唆された。

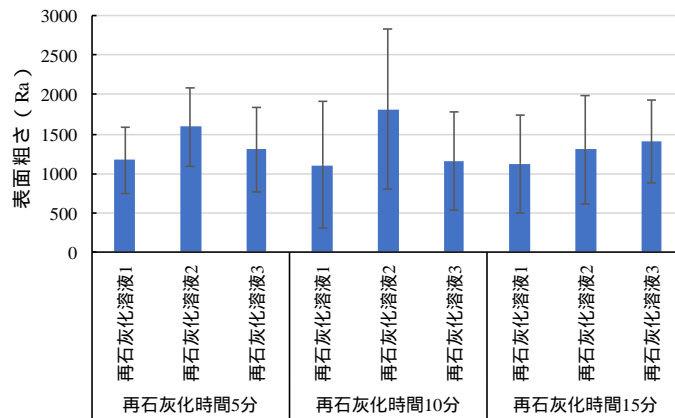


図8 研究5 各実験群のエナメル質試料の表面粗さ (Ra)

#### <引用文献>

- 1) Lussi A: Erosive tooth wear –a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. In: Lussi A editor. Dental erosion from diagnosis to therapy. Karger AG, Basel, Monographs in oral science 20, 2006, pp.1-8.
- 2) 小林賢一: 歯が溶ける! エロージョンの診断から予防まで. 医歯薬出版, 東京, 第1版, 2009.
- 3) 北迫勇一: 臨床に活かす! 酸蝕歯の病態ケア食生活第3回. デンタルハイジーン, 32(12), 1272-1275, 2012.
- 4) Featherstone JDB, Lussi A: Understanding the chemistry of dental erosion. In: Lussi A editor. Dental erosion from diagnosis to therapy. Karger AG, Basel, Monographs in oral science 20, 2006, pp.66-76.
- 5) Lussi A, Jaeggi T: Chemical factors. In: Lussi A editor. Dental erosion from diagnosis to therapy. Karger AG, Basel, Monographs in oral science 20, 2006, pp.77-87.
- 6) Lussi A, Jaggi T, Jaggi-Schärer S: The influence of different factors on invitro enamel erosion. Caries Res 27: 387-393, 1993.
- 7) Lussi A, Jaggi T, Jaggi-Schärer S: Prediction of the erosive potential of some beverages. Caries Res 29: 349-354, 1995.
- 8) Hughes JA, West NX, Parker DM et al.: Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. J Dent 28: 147-152, 2000.
- 9) Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP: Effect of time on the remineralization of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. Caries Res 35: 211-215, 2001.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Junko Inukai, Ayaka Yanagida, Shozo Tsuruta, Sachiyo Takeichi, Toshimi Kosaka	4. 巻 3(3)
2. 論文標題 De and remineralization cycles and fluoride effect on microhardness and roughness of enamel surface	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Dental, Ortal and Craniofacial Research	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15761/DOCR.1000S1007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 犬飼順子、高阪利美
2. 発表標題 脱灰 再石灰化サイクルにおけるフッ化物の作用時期とその濃度がエナメル質の表面性状に与える影響
3. 学会等名 第68回日本口腔衛生学会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野まどか, 犬飼順子, 鶴田昌三, 高阪利美
2. 発表標題 脱灰 再石灰化におけるフッ化物作用時期とその濃度がヒトエナメル質表面の硬度に与える影響
3. 学会等名 日本歯科衛生学会 第14回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Junko Inukai, Yuka Hayashi, Syozo Tsuruta, Ayaka Yanagida, Toshimi Kosaka
2. 発表標題 Fluoride, pH and mineralization cycles effect on enamel surface condition
3. 学会等名 96th IADR (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林 由佳, 犬飼順子, 鶴田昌三, 高阪利美
2. 発表標題 脱灰時および再石灰化時におけるフッ化物の影響と浸漬サイクル時間がエナメル質硬度に与える影響
3. 学会等名 日本歯科衛生学会第13回学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 犬飼順子, 竹市幸代, 高阪利美
2. 発表標題 脱灰 再石灰化の処理サイクル時間とフッ化物添加がエナメル質表面の性状に与える影響
3. 学会等名 第66回日本口腔衛生学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Junko Inukai, Ayaka Yanagida, Shozo Tsuruta, Sachiyo Takeichi, Toshimi Kosaka
2. 発表標題 De and remineralization cycles and fluoride effect on microhardness and roughness of enamel surface
3. 学会等名 The 64th Congress of the European Organisation for Caries Research
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 柳田彩伽, 犬飼順子, 鶴田昌三, 竹市幸代, 高阪利美
2. 発表標題 フッ化物および脱灰・再石灰化のサイクルがエナメル質表面の硬度に与える影響
3. 学会等名 日本歯科衛生学会 第12回学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宮城並季、犬飼順子、竹市幸代、鶴田昌三、向井正視
2. 発表標題 清涼飲料水の種類と温度が歯の酸蝕症に及ぼす影響
3. 学会等名 日本歯科衛生学会第11回学術大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 神谷毬美、犬飼順子、鶴田昌三、高阪利美
2. 発表標題 pHサイクリングにおける再石灰化溶液の組成と時間がエナメル質の硬度に与える影響
3. 学会等名 日本歯科衛生学会第15回学術大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考