

歯エナメル質の再結晶化におよぼすリン酸化オリゴ糖カルシウム およびフッ素の効果

The effect of phosphoryl oligosaccharides of calcium and/or fluoride on recrystallization of tooth enamel

田中智子^a, 石塚 紗和子^a, 滝井 寛^a, 釜阪 寛^a,
太田 昇^b, 松尾龍人^b, 八木 直人^b, 米谷 俊^a
Tomoko Tanaka^a, Sawako Ishiduka^a, Hiroshi Takii^a, Hiroshi Kamasaka^a,
Noboru Ohta^b, Tatsuhito Matsuo^b, Naoto Yagi^b, Takashi Kometani^a,

^a江崎グリコ(株)健康科学研究所, ^b(財)高輝度光科学研究センター

^aHealth Science Laboratory, Ezaki Glico Co.,Ltd., ^bThe Japan Synchrotron Radiation Research Institute,

リン酸化オリゴ糖カルシウム (POs-Ca[®]) は初期う蝕における再石灰化を促進する。これまでの研究により、POs-Ca によって再石灰化した部位では健全なエナメル質と同様の配向性を持った hidroキシアパタイト(HAp)結晶が回復していることが明らかになった。本研究では、SPring-8 BL40XU における広角 X 線回折解析により、う蝕予防効果が高いことが知られているフッ素と、POs-Ca の併用が、再結晶化をさらに促進することを見出した。(214)

Phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) enhance the remineralization in early caries lesions. In the previous studies, we revealed that hydroxyapatite crystallites were restored and oriented in the similar way as those in sound enamel in the remineralized region by POs-Ca. In this study, we found that the combined application of POs-Ca and fluoride, which was known to have the preventive effect of caries, further enhances recrystallization of enamel by wide-angle X-ray diffraction analysis at SPring-8 BL40XU.

背景と研究目的：

初期う蝕は、視覚的に実質欠損を伴わず、歯エナメル質の表層下からリン酸イオンとカルシウムイオンが溶出する（表層下脱灰）減少である。初期う蝕は、pH の改善や、失われたカルシウムとリン酸が唾液などから供給されると、表層下脱灰部位の再石灰化が起こり、歯の実質欠損を起こすう蝕（むし歯）になることを防げる可能性がある。近年の医療の分野では、健康 21 の 8020 運動や、医療費削減などの観点から、いかにう蝕を防ぐ

か、歯の健康寿命を延ばすかについて検討され始めている。その 1 つの取り組みとして初期う蝕の進行を防ぐことで、実質欠損を起こすう蝕の進行を防ぐ検討が注目されている。その取り組みはプロフェッショナルケアからホームケアまで多種多様である。そのなかで手軽に摂取できる食品によるアプローチがある。つまり有効成分を添加した食品を摂取することで唾液の持つ再石灰化・再結晶化効果を高めてやることは、健康な歯を維持することと貢献する 1 つの重要な手法であると考えら

れている。

江崎グリコ（株）では、馬鈴薯澱粉からブドウ糖を調製する際に未消化画分として生じるリン酸化オリゴ糖とカルシウムを結びつけ、リン酸化オリゴ糖カルシウム（POs-Ca）として調製し、カルシウムの新素材として実用化することに成功した。POs-Ca のもつカルシウムは水溶性が高く、pH が中性の唾液においてもリン酸と塩を形成することなく安定に存在する。この特徴から、POs-Ca 素材および POs-Ca 配合ガムには初期う蝕の再石灰化を促進する効果をもつことが報告されている。実際に、我々は、エナメル質のミネラル量を測定する国際的な標準方法である transversal microradiography (TMR) 法により、POs-Ca の再石灰化効果を定量的に明らかにしてきた⁽¹⁾。

我々は、再石灰化によるエナメル質のミネラル量の回復のみならず、歯質も改善できるような予防効果の高い POs-Ca 利用法の開発を目指している⁽²⁾。そこで我々は、SPring-8 BL40XU のマイクロビームを用いた広角 X 線回折により POs-Ca により再石灰化された部位のヒドロキシアパタイト(HAp)結晶構造と結晶量についての解析を行っている。これまでに元の健全な歯と同様の配向性を持った HAp 結晶が再生していることも示されている。⁽³⁾

本研究では、さらに再結晶化効果の高い素材の開発を目指し、POs-Ca と歯科分野でう蝕予防効果が高いことが広く知られているフッ素の併用効果についての検討を、SPring-8 のマイクロビームを利用した WAXRD 法を用いて行った。フッ素の効果として、HAp に取り込まれフッ化アパタイトもしくはフルオロキ

シアパタイト結晶が出来ることで、歯の硬度を上昇させるということやフッ素がエナメル質表面をコーティングすることで耐酸性が改善されること、さらには従来よりも再石灰化促進されることが報告されている。しかしフッ素とカルシウムは非常に結合しやすく、フッ化物イオンとカルシウムイオンが存在すると直ちにフッ化カルシウム等の不溶物になり沈殿してしまうことが知られている。しかし、フッ素とカルシウムが共存する製品はなかなか開発できないのが現状であった。そこで POs-Ca を用いることで、フッ素とカルシウムの組み合わせによる HAp の再結晶化効果が促進されるかどうかを口腔内試験で検討することができたことを報告する。

実験：

[試料]

ウシ歯エナメル質切片を試験試料とする。本試料は牛海綿状脳症対策特別措置法に基づき大阪市食肉衛生検査所内で検査され、許可され分譲を受けたウシ歯から調製した。試料作製のために、まずウシ歯冠部よりブロック状に切り出し（約 10 mm × 10 mm × 2 mm）、レジン樹脂にエナメル質面以外を包埋し、新しいエナメル質面を研磨処理で露出させた。処理を施さないコントロール部位（健全部）としてエナメル質表面約 1/3 をネイルバーニッシュで被覆した後、脱灰処理（表層下脱灰病巣形成）を行った。脱灰処理後、再石灰化されないように脱灰表面約 1/2 を被覆し、脱灰部位とした。

次に、このエナメル質ブロックをヒト口腔内に装着し、被験食を摂取することで再石灰

化処理を口腔内で行わせた。被験食として、(1) 低ポリフェノール茶抽出物由来フッ素+POs-Ca 添加ガム (2) POs-Ca 添加ガム, (3) 無添加ガム、の 3 種類のガムを用意し、3 群に分けた被験者にそれぞれのガムを与えたクロスオーバー試験とした。被験者には、エナメル質ブロックをつけた口腔内装置を装着した状態で被験食を 20 分間咀嚼させ、これを 1 日 3 回、14 日間繰り返すことで再石灰化処理とした。なお、被験者には試験期間中は試験結果に影響を及ぼす可能性のある歯磨剤・洗口剤などの使用を禁止し、フッ化物非配合歯磨剤を配布した。

再石灰化処理後、エナメルブロックから健全・脱灰・再石灰化領域を含むように、エナメル表層から象牙質側へ向かってワイヤーソーで薄切片を切り出した。切断面を鏡面研磨し、 $150\ \mu\text{m} \times 10\ \text{mm} \times 5\ \text{mm}$ の切片をつくり、これを試験試料とした。

[方法]

① Transversal microradiography(TMR)法の実験横断面を切り出したスライス標本を Cu-K α 線の照射が可能な顕微 X 線装置 (PW3830, Panalytical, the Netherland) を用いて 20kV, 20mA, 13 分の条件で撮影を行った。その後、歯質ミネラル濃度分析用ソフト (TMR2000, Inspektor Research System, The Netherland) を使用して、得られたミネラルプロファイルからミネラル喪失量 (Vol.% $\cdot\mu\text{m}$) を算出した。

② 広角 X 線回折 (WAXRD) 法による HAp 結晶プロファイルの解析
BL40XU の X 線を、ピンホールを通して直径約 $6\ \mu\text{m}$ のマイクロビームとした。カメラ長は 3000 mm 程度とした。広角散乱は、フラットパネル検出器 (C9728DK, 浜松ホトニク

ス) を真空パイプの前に置いて記録した。スライス状の試料を X 線が垂直に入射するようにセットし、X 線ビームがエナメル質の上端から歯の内部に入る方向に、試料を $5\ \mu\text{m}$ ステップで移動し、逐次回折データを収集した。ハイドロキシアパタイトの (100) 面由来の反射に相当する X 線回折斑の強度積算から、ハイドロキシアパタイト結晶量を定量した。さらに、プロファイルにわたって表層から $200\ \mu\text{m}$ までのハイドロキシアパタイト量を積分により求め、結晶割合量測定値 (健全部 ; s、脱灰部 ; d、再石灰化部 ; r) とした。再結晶化率は $(r-d) / (s-d) \times 100$ の計算値より算出した。

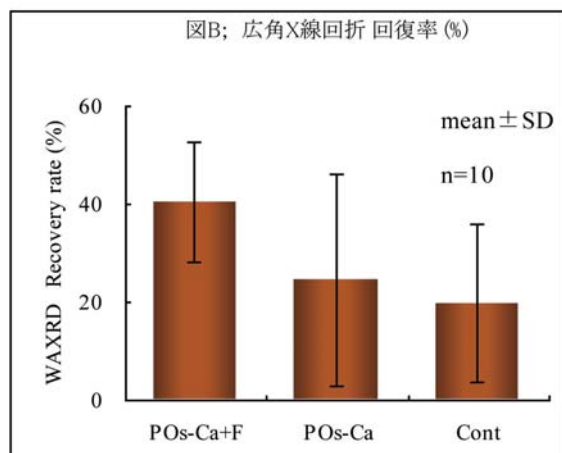
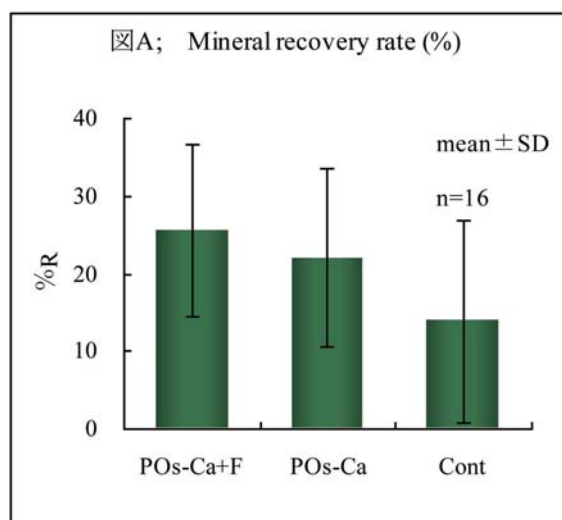
結果と考察

3 群 (低ポリフェノール茶抽出物由来フッ素+POs-Ca 添加群, POs-Ca 添加群, 無添加群) のガムを被験食として口腔内で咀嚼し再石灰化処理をした歯片について、TMR 法を用いてミネラル回復量を調べ再石灰化効果について解析した。その結果、低ポリフェノール茶抽出物由来フッ素+POs-Ca 添加群が最も再石灰化効果があることが示された。(図 A) 次に、この再石灰化された部位について、マイクロビームを用いた WAXRD で結晶回復量を解析した。その結果、TMR 法の結果と同様に低ポリフェノール茶抽出物由来フッ素+POs-Ca 添加群で最も良い値を示し(図 B)、またその配向性は元の健全な歯と同様であることが分かった。これらの結果から、確かにフッ素+POs-Ca の組み合わせでは POs-Ca 単体に比べ、優れた再石灰化効果・再結晶化効果があることが示された。

今後の課題

再石灰化した部位で確かめられた結晶は HAp のみである。フッ素が HAp 取り込まれると、フッ化アパタイト、もしくはフルオロキシアパタイトであることも十分に考えられることから、今後は HAp 以外の結晶についても明確に区別して検出する検討を行いたい。また、今回の検討からは、フッ素が表層からどの程度の深さまで浸透しているかの検出も出来ていないことから、今後はフッ素がどのように再石灰化部位に取り込まれるのかを多面的に評価する必要がある。

今後、本効果の詳細が明らかになれば、生涯健康な歯を保てるような新たな手法として貢献できるものと考えられた。



参考文献

- [1] H. Kamasaka, D. Inaba, K. Minami, T. Nishimura, K. To-o, T. Kuriki, S. Imai, N. Hanada, and M. Yonemitsu : Application of Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium (POs-Ca) for Oral Health. J. Appl. Glycosci. 51, 129-134 (2004) .
- [2] Yagi N, Ohta N, Matsuo T, Tanaka T, Terada Y, Kamasaka H, et al. Evaluation of enamel crystallites in subsurface lesion by microbeam X-ray diffraction. J Synchrotron Rad 2009; 16:398-404
- [3] Tomoko Tanaka, Yshinobu Terada, Hisorishi Kamasaka, Takashi Kometani , Takashi Kuriki, and Naoto Yagi. Correlation analysis between remineralization and recrystallization of subsurface lesion by phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca®) ORCA congress 2008

論文発表状況・特許状況

特許出願中

2009 年秋期歯科保存学会発表予定

キーワード

初期う蝕、再石灰化、リン酸化オリゴ糖カルシウム、再結晶化