

「口腔バイオフィルムによる S-PRG フィラー配合歯磨剤から溶出した
無機イオンの取り込み」

愛知学院大学歯学部口腔衛生学講座

加藤一夫

「Uptake of Mineral Ions Released from Experimental Toothpaste
Containing S-PRG Filler by Oral Biofilm」

Department of Preventive Dentistry and Dental Public Health,
School of Dentistry, Aichi Gakuin University

Kazuo Kato

【研究の背景と目的】

フッ化物イオンは、酸性条件下でミネラルイオン (Ca、P、F) の供給源を提供するフッ素化相として一時的に口腔バイオフィルム内に蓄えられ、①エナメル質の結晶に取り込まれエナメル溶解性を減少させること、②エナメル質初期病変の再石灰化を促進すること、また③口腔バイオフィルム内での酵素阻害による細菌の酸産生を抑制することを通じて、抗齲蝕作用 (cariostatic effect) を示す。一般には、フッ化物応用後にみられる口腔バイオフィルム中のフッ化物濃度上昇は一時的で長く持続しない¹⁾ため、こうした抗齲蝕作用は限定的である。一方、ミネラル強化溶液を作用させたりカルシウム洗口直後にフッ化物洗口を行うなど一定の条件の下では、フッ化物がバイオフィルム中に長く停滞することが知られている^{2,3)}。

表面改質型酸反応性無機ガラス (S-PRG) フィラーは、ガラスコアの表層に安定化したガラスアイオノマー相を形成させたもので、フッ化物、ナトリウム、ホウ酸、アルミニウム、ケイ酸およびストロンチウムの各イオンを徐放する特性を有している。この特性を生かし、フッ化物イオンを多種類の陽イオンや陰イオンと同時に口腔バイオフィルムに作用させることで、バイオフィルムのフッ化物停滞能が改善される可能性が予想される。もしそうであれば、このような特性の付与された歯磨剤の普及は、カリエスリスクを低下させる集団アプローチのひとつとして有益な手段になり得る。

本研究では、そのための基礎的な検討として、depth-specific analysis の手法を用いて、S-PRG フィラーを配合した試験歯磨剤から抽出される無機イオンのバイオフィルム浸透性を分析した。

【材料および方法】

informed consent の得られた被験者 18 名 (19-39 歳) を対象に、左右上顎臼歯部にバイオフィルム堆積装置を装着し、その部位のブラッシングを避けるこ

とで装置内のエナメル質スラブ 2 片にバイオフィルムを堆積させた。

3 日後、装置を口腔から取り外し、一方は S-PRG フィラー(粒径 $3\mu\text{m}$, 5 wt%) を配合した歯磨剤スラリーの濾過液に、もう一方はフィラー未配合の歯磨剤から調整した濾過液に、それぞれ 1 分間浸漬した (表 1)。フィラー未配合の歯磨剤で処理したものを対照群とした。両者の成分の比較から、ナトリウムとケイ酸を除く、フッ化物、ホウ酸、アルミニウムおよびストロンチウムを分析対象とし、それらのイオンのバイオフィルム浸透性を評価するために、装置を再び口腔内に戻し 30 分間保持した。

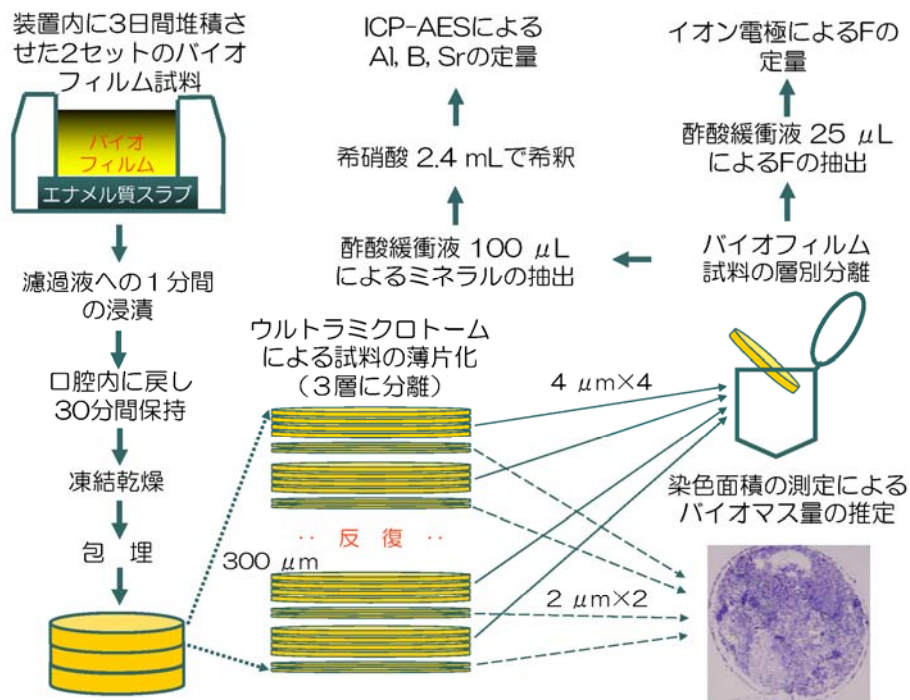
表 1 歯磨剤濾過液の無機イオン濃度 (ppm)

歯磨剤	Al	B	Na	Si	Sr	F
S-PRG	369.4	506.4	1725.8	28.8	1216.0	193.0
対 照	0	0	1813.3	26.6	0	0

バイオフィルム試料は直ちに装置ごと凍結乾燥した後、2 組のスラブを回収し methacrylate に包埋した。試料の表面から底部のスラブに到達するまで、ウルトラマイクロトーム (ULTRATOME III、LKB) により観察用切片 ($2\mu\text{m} \times 2$ 片) と分析用切片 ($4\mu\text{m} \times 4$ 片) を交互に切削することにより、3 層の層別試料分画 (厚さ $300\mu\text{m}$) に分離した。試料分画からの無機イオンの抽出には、酢酸緩衝液 (pH 5.2, 1M 過塩素酸 : 1M 中性酢酸緩衝液 = 1 : 4) を用いた。1 組の試料分画には緩衝液 $25\mu\text{L}$ を加え、フッ化物濃度をイオン電極 (9409BN, Thermo Scientific) にて測定した。もう 1 組の試料分画には緩衝液 $100\mu\text{L}$ を加え無機イオンを抽出した後、蒸留水 2.375mL と濃硝酸 0.025mL で希釈し、ICP 発光分光分析装置 (ICPS-8000, 島津) を用いてホウ酸、アルミニウムおよびストロンチウムの定量を行った。観察用切片はトルイジンブルー染色し、画像解析ソフト (Image Pro-Plus 6.2J, 日本ローパー) を用いて染色面積を求め、その面積と切片の厚さから推定したバイオマス量を用いて、試料分画中の各成分の濃度を補正した。この手順を図 1 に示す。

統計的検討は一元配置分散分析および多重比較で行った。バイオフィルム層間の比較は、Bonferroni または Games-Howell 法で、対照群との比較は Student または Welch の t 検定で行った。なお、この研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認 (No. 366) の下で実施した。

図 1 バイオフィルムの処理手順



【結果および考察】

分散分析の結果（表2）から、バイオフィルムの層、即ちバイオフィルムの表層からの距離は、フッ化物、ホウ酸、アルミニウムおよびストロンチウムのいずれも、フィルター濾過液の作用した群のみで有意な因子となり、バイオフィルム内のミネラル成分は、フィルター濾過液への短時間の曝露により、depth-specificな影響を受けることが示唆された。

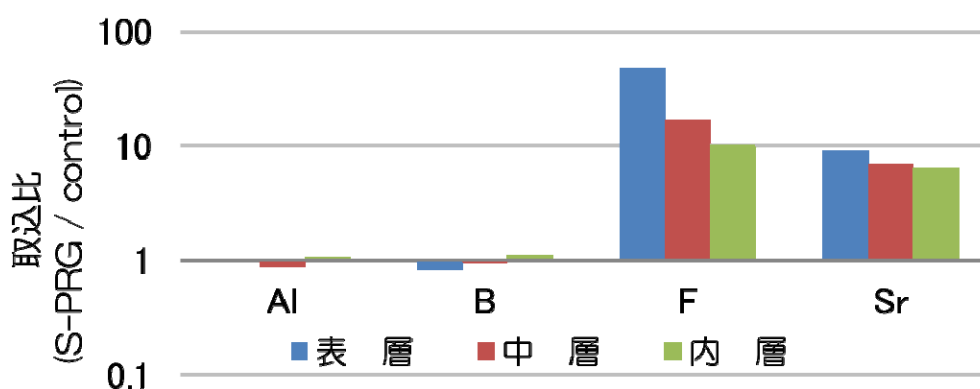
表2 バイオフィルム層間の分散分析表
従属変数：ミネラル濃度

		平方和	df	平均平方	F	P
F S-PRG	群間	47659.546	2	23829.773	13.553	0.000
	群内	84397.031	48	1758.271		
	合計	132056.577	50			
F 対 照	群間	2.315	2	1.158	2.306	0.110
	群内	25.603	51	0.502		
	合計	27.918	53			
Sr S-PRG	群間	206873.344	2	103436.672	5.102	0.010
	群内	1033917.475	51	20272.892		
	合計	1240790.818	53			

Sr 対 照	群間	1073.373	2	536.686	0.669	0.517
	群内	40900.140	51	801.964		
	合計	41973.513	53			
B S-PRG	群間	479150.025	2	239575.012	5.152	0.009
	群内	2371551.410	51	46501.008		
	合計	2850701.435	53			
B 対 照	群間	179092.178	2	89546.089	0.532	0.591
	群内	8580745.854	51	168249.828		
	合計	8759838.032	53			
Al S-PRG	群間	436668.202	2	218334.101	4.402	0.017
	群内	2529540.226	51	49598.828		
	合計	2966208.427	53			
Al 対 照	群間	129847.217	2	64923.608	0.344	0.711
	群内	9624274.955	51	188711.274		
	合計	9754122.172	53			

バイオフィームによる各成分の層別平均取込比（図2）から、フッ化物とストロンチウムは、全層でフィラー作用群に有意な濃度上昇がみられた。また、ストロンチウムは、バイオフィーム内部まで、比較的均等に浸透していた（図3）。

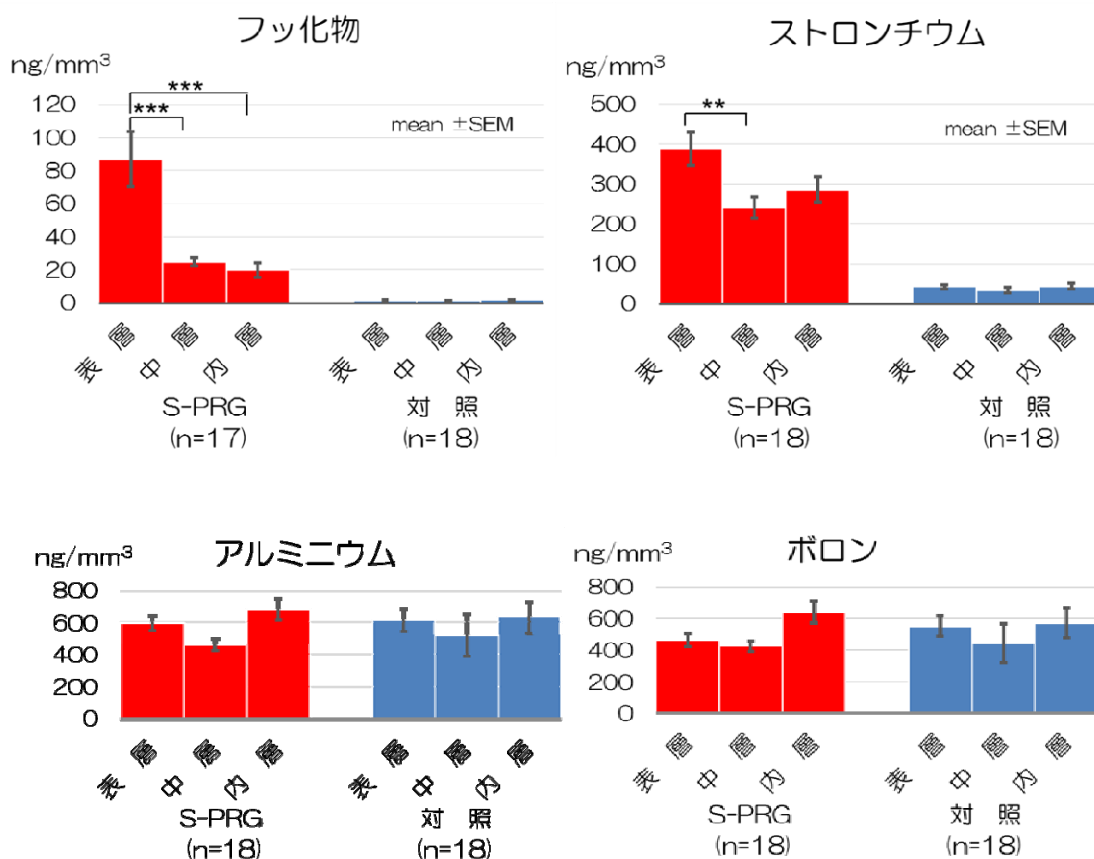
図2 バイオフィーム内への無機イオンの取込比



一方、アルミニウムとホウ酸に関しては、フィラー濾過液の作用による有意な濃度上昇は認められなかった。この2つの元素でバイオフィーム内への有意な取込が見られなかった原因は不明である。これらのイオンが何らかの理由でバイオフィームに浸透し難くなっていた可能性も考えられるが、自然な口腔バイオフィームがもともと高濃度のアルミニウムとホウ酸を含んでいて、ある種

飽和に近い状態だったためかも知れない。アルミニウムとホウ酸に関しては、今後、分析条件も含め、バイオフィーム内での分布や動態について更なる検討が必要である。

図3 バイオフィーム内の各無機イオンの分布



フッ化物とストロンチウムは、ともに単体でもエナメル質の再石灰化を促進する作用を有するが、両者が共存すると、その再石灰化作用は促進されることが知られている⁴⁾。

近年、カルシウムやマグネシウムなど 2 価の陽イオンは、バイオフィーム内のレンサ球菌とフッ化物の結合を促進し、フッ化物の停滞性を高め、フッ化物による細菌の乳酸産生能を抑制することが知られている⁵⁾。2 価の陽イオンであるストロンチウムも、同様に作用する可能性が期待される。S-PRG フィラー濾過液の作用したバイオフィーム内のフッ化物と他のミネラルの kinetics についての説明が必要であろう。

【今後の取り組み】

すでに述べたように、カルシウムやマグネシウムなど2価の陽イオンは、バイオフィーム内のレンサ球菌とフッ化物の結合を促進し、フッ化物による細菌の乳酸産生能を抑制することが知られていることから、ストロンチウムに同様の働きがあるか確認することが当面の課題である。具体的には、バイオフィーム内のフッ化物濃度分布を、フッ化物を単独で作用させた場合と比較することにより、S-PRG フィラー配合歯磨剤のフッ化物停滞性の促進効果を検討する。

【文 献】

- 1) Kato K et al. Arch Oral Biol, 1997; 42: 521-525.
- 2) Kato K et al. Caries Res, 2002; 36: 58-63.
- 3) Vogel GL et al. J Dent Res, 2008; 87: 466-469.
- 4) Thuy TT et al. Archs oral Biol. 2008; 53: 1017-1022.
- 5) Domon-Tawaraya H et al. Caries Res, 2013;47:141-149.

【外部発表】

K. Kato*, K. Tamura, Y. Shimazaki: Oral Biofilm Uptake of Mineral Ions Released from Experimental Toothpaste Containing S-PRG Filler. 62nd ORCA Congress. July 3, 2015, Brussels, Belgium.

加藤一夫、村上多恵子、嶋崎義浩：口腔バイオフィームによる S-PRG フィラー配合歯磨剤からの無機イオンの取り込み。第 74 回日本公衆衛生学会（長崎）2015.11.5.

【謝辞】

この研究は、科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)基盤研究(C)、課題番号 24593178 および 15K11437 の助成により行われた。