

氏名	小川 あゆみ
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第 561 号
学位授与年月日	平成 31 年 3 月 20 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学位論文名	S-PRG フィラー含有歯科材料から放出されたマルチイオンのヒトエナメル質への吸着挙動の評価と予防歯学への応用
論文審査委員	(委員長) 教授 黒尾 誠 (委員) 教授 竹下 克志 教授 西野 宏

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

わが国では予防環境の整備などにより、小児期の齲蝕は減少傾向が続いているが、永久歯においては寿命の延長や残存歯の増加により高齢者で齲蝕歯を持つ者の割合は増加している。フッ素 (F) は齲蝕の予防に大きく貢献してきたが、近年ストロンチウム (Sr) にもヒドロキシアパタイト (HAP) への取り込みで抗齲蝕作用が報告されている。本研究では歯科修復材料やシーラントなどに使用される S-PRG (Surface Pre-reacted Glass-ionomer) フィラーから放出される  $F^+$  や  $Sr^{2+}$  をはじめとした 6 種類のイオンのエナメル質への経時的な吸着挙動を調査し、齲蝕予防から生活の質の向上に貢献することを目指している。

### 2 研究方法

抜去永久歯を薄切、乾燥し、エナメル質を取り出して粉碎した。0.2g に計量したエナメル質粉末を 8ml の S-PRG フィラー溶出液、Sr 溶液、B 溶液に浸漬した。それぞれの溶液に浸漬したエナメル質粉末を一定期間 (1, 2, 8 時間、1, 3, 7, 28 日間) 37°C に設定したインキュベーター中にローターで常時回転させながら保管した。浸漬する溶液はイオンの吸収により溶液の消耗を避けるため 1, 3, 7, 14 日後に溶液を新しいものに交換した。浸漬の後、エナメル質粉末は遠心分離機を用いて超純水で 3 回洗浄し、乾燥させた。その後正確に計量したエナメル質粉末を塩酸で溶解し ICP-AES 分析に供した。また、S-PRG フィラー溶出液 1 日浸漬後のエナメル質を EXAFS 解析し、そこから得られた動径分布関数を 3 ヶ月浸漬後のエナメル質と比較して Sr 周囲構造を検討した。

### 3 研究成果

エナメル質中の Al, B および Sr 含量は、S-PRG フィラー溶出液に浸漬することによって対数的に増加した。2 時間の浸漬で既に最終濃度の半分量程度まで増加していた。特に Sr に関しては浸漬された S-PRG フィラー溶出液中の濃度は 149ppm であったが、エナメル質中の最終濃度が浸漬の 28 日後に 7900ppm に達しており効率的な吸収が起こっていた。対照的に、Mg, Na および Zn は、浸漬によって濃度の変化を認めなかった。特に Mg および Zn は S-PRG フィラー溶出液中中に存在し

ておらず、浸漬したエナメル中の濃度は、それらの天然レベルから変化していない。Na は溶出液中にも 277ppm 存在しているが、天然エナメル質中にも約 7000ppm と高濃度で存在しているため、S-PRG フィラー溶出液の浸漬に影響されなかった。S-PRG フィラー溶出液と Sr および B 溶液への浸漬に基づく Sr, B 含有量を比較すると、Sr と B の両方が S-PRG フィラー溶出液に浸漬した後、有意に高い濃度でエナメル質中に存在していた。また、S-PRG フィラー溶出液 1 日浸漬後のエナメル質と 3 ヶ月浸漬後のエナメル質の動径分布関数は類似しており、1 日浸漬後の Sr は 3 ヶ月後も同じ状態にあると予想された。以前の実験の 3 ヶ月浸漬時の結果から Sr は HAP の  $\text{Ca}^{\text{I}}$  サイトに組み込まれると考えられており、浸漬 1 日後の S-PRG フィラー溶出液から吸収された Sr も同様に HAP の  $\text{Ca}^{\text{I}}$  サイトに組み込まれる可能性が高いことがわかった。

#### 4 考察

エナメル質中の Al, B, Sr の濃度は S-PRG フィラー溶出液中の濃度と比べ Al, Sr は同等、B は低かった。したがってこれらのイオンは S-PRG フィラー溶出液からエナメル質へ容易に取り込まれたと考えられる。反対に、エナメル質中の Na の初期濃度は S-PRG フィラー溶出液と比較し、かなり高かった。そのため溶出液からの Na の取り込みは容易に起こらなかったと考える。S-PRG フィラー溶出液中に存在しないエナメル中の Mg および Zn の濃度は、浸漬しても変化を認めなかった。

Al, B, Sr の中で Al と Sr はエナメル質への取り込み率が高い一方で、B が最も低かった。Al および Sr イオンは原子イオン ( $\text{Al}^{3+}$  および  $\text{Sr}^{2+}$ ) であり、B は分子イオン ( $\text{BO}_3^{3-}$ ) を形成する。 $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  および  $\text{BO}_3^{3-}$  のイオン半径はそれぞれ 53, 118 および 191pm と報告されており、分子イオンである  $\text{BO}_3^{3-}$  のイオン半径は、単原子イオンである  $\text{Al}^{3+}$  および  $\text{Sr}^{2+}$  の半径よりも大きい。エナメルマトリックス中の吸収されたイオンの内部拡散は、イオン半径に関係するため単原子イオンはより速い拡散が期待される。したがって、Al と Sr の方が効率的に取り込まれたと考えられる。

組み込まれた Sr の局所構造に関しては、浸漬 1 日後（比較的初期の S-PRG フィラー溶出液浸漬）に HAP の  $\text{Ca}^{\text{I}}$  部位に位置することが予想された。Sr イオンは Ca と同様に二価であり、イオン半径もほぼ適合する。したがって、Sr の取り込みは容易に起こり、Sr の最終濃度は他のイオンの濃度よりも高くなったと考えられる。

イオン取り込み挙動を比較すると、カチオン ( $\text{Sr}^{2+}$ ) およびアニオン ( $\text{BO}_3^{3-}$ ) の両方が、Sr および B 溶液への浸漬と比較して、S-PRG フィラー溶出液への浸漬でエナメル質へのより大きな取り込みを示した。S-PRG フィラー溶出液ではカチオン/アニオンの電荷のバランスがとれているため、イオンの同時取り込みが容易に起こったと考えられる。従って、S-PRG フィラー溶出液において同時の多種イオン取り込みが示唆された。

#### 5 結論

本研究では、ICP-AES を用いて、S-PRG フィラー溶出液からエナメル質へのイオンの時間依存的な取り込みを推定した。エナメル質中の Al, B および Sr 濃度は、S-PRG フィラー溶出液中に浸漬すると時間依存性に増加した。これらのイオンは高スピードで取り込まれ、2 時間の浸漬後には最終濃度（28 日で測定した濃度）の半分程度にまで達した。S-PRG フィラー溶出液中の Al および

Sr の濃度は比較的低いにもかかわらず、これらのイオンは効率的にエナメル質に取り込まれた。また、S-PRG フィラー溶出液浸漬初期（1日後）と浸漬3ヶ月後のエナメル質におけるSrは同じ構造（Ca<sup>I</sup>サイトに取り込まれる）で存在することが示された。BはS-PRG フィラー溶出液中で最も高い濃度を示したが、Bの取り込みはより低いものであった。取り込み挙動の違いは、含まれているイオンの種類や半径によるものの可能性がある。単一イオン溶液（SrおよびB）と比較すると、S-PRG フィラー溶出液ではイオンが高濃度に取り込まれた。イオンは溶液中で電荷のバランスをとるように動く。バランスのとれた電荷状態でのカチオンとアニオンの同時取り込みは、効果的なイオンの取り込みを促進し得る。

以上より、S-PRG フィラーまたはその溶出液の接触は歯のエナメル質に短時間で効果的に取り込まれ、脱灰抑制や抗菌作用などの生物活性効果が得られると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本学位論文は、歯科領域で使用されているS-PRG フィラーに含まれる各種イオン、特に齲歯予防効果の高いストロンチウムが、歯のエナメル質に取り込まれる動態を明らかにすることを目的としている。

粉碎したエナメル質をS-PRG フィラー溶出液に浸漬し、エナメル質に取り込まれたストロンチウム（Sr）、ホウ素（B）、アルミニウム（Al）、ナトリウム（Na）の量を、誘導結合プラズマ原子発光分光法（ICP-AES）を用いて定量したところ、Srは浸漬1時間以内に終濃度（28日後の取込み量）の1/3量の取込みが起きており、エナメル質への急速な浸透が期待できることが分かった。さらに、X線吸収スペクトルの解析から、SrがHydroxyapatiteのCa<sup>I</sup>部位に取り込まれている可能性を示した。本研究は、Srがエナメル質に取り込まれる動態の詳細を初めて明らかにしたものである。

Srが急速にエナメル質へ取込まれるという事実は、S-PRG フィラー含有の含嗽剤や歯磨剤などでもSrのエナメル質への取込みが期待できることを示しており、齲歯の予防だけでなく、齲歯に起因するさまざまな疾患、特に感染性心内膜炎、誤嚥性肺炎などの予防にも貢献できる可能性がある。

提出された学位論文は、ICP-AESやX線吸収スペクトル解析など、医学の分野ではあまり馴染みのない難解な物理化学的解析手法を駆使しているにもかかわらず、その原理などから分かりやすく記載されており、全体的に大変良くまとめられている。些細な点であるが、各種イオンのエナメル質への取込みのtime courseを示した図（Figure 3-6、3-7、3-8）の改定（時間軸をproportionalにし、各データポイントにerror barを付す）、および実験に使用した試薬や機器の入手先やメーカー名の記載を指示した。また、ICP-AES分析とXAFS測定の精度管理（キャリブレーションやポジティブ・ネガティブコントロールはどのように設定しているか、など）について、可能なら記載するように指示した。

超高齢者社会を迎える日本において、口腔衛生環境の改善は必要かつ有意義なことと思われる。新たな検証方法を用いてS-PRG フィラーに含まれるイオンのエナメル質への吸着を詳細に検討した本論文は、口腔衛生環境の改善に寄与し、博士論文にふさわしいと判断した。

## 最終試験の結果の要旨

本学位論文は、歯科領域で使用されている S-PRG フィラーに含まれるストロンチウム (Sr) が、歯のエナメル質に急速 (1 時間以内に) かつ相当量取込まれることを、*in vitro* で初めて明らかにした論文である。Sr は齲歯予防効果が高いので、S-PRG フィラー含有の含嗽剤や歯磨剤などでも齲歯の予防効果が期待できることが示された。そのような含嗽剤や歯磨剤が開発されれば、齲歯に起因するさまざまな疾患、特に感染性心内膜炎、誤嚥性肺炎などの予防にも貢献できる可能性がある。

Sr がエナメル質へ取込まれる動態は、誘導結合プラズマ原子発光分光法 (ICP-AES) を用いて定量し、さらに X 線吸収スペクトルの解析から、Sr が Hydroxyapatite の Ca 部位に取り込まれている可能性を示した。これら医学の分野ではあまり馴染みのない難解な物理化学的解析手法を駆使しているにもかかわらず、最終試験ではその原理などから分かりやすく解説し、全体的に大変良くまとまった明快なプレゼンテーションがなされた。

審査委員の質問にも、以下のように的確に回答した。

質問：S-PRG フィラーに関して現状の使用状況は？

答：実臨床に基づいてわかりやく適切に説明

質問：ICP-AES 分析と XAFS 測定は歯科口腔外科領域において汎用される研究手法なのか？

答：知り得る限りでは行われていない。新たな知見であることがわかった。

質問：粉碎されたエナメル質と歯の構造物におけるエナメル質ではイオンの吸着に差は生じるのか？

答：今まで検討されていないが、今回の実験結果と参考文献内容を交えて適切に説明された。

些細な点であるが、論文審査で改定すべきであると考えられた図 (Figure 3-6、3-7、3-8) も、プレゼンテーションでは適切に改定した図を提示していたので、論文の図と入れ替えるように指示した。

以上、小川氏は、学位に値する学識を備えているものと判断され、審査委員の全員一致で合格と判定した。