

原 著

フッ素徐放性材料からエナメル質へのフッ素取込みについて ——EPMA 線分析プロファイルの画像解析——

小林さくら子 高橋建作* 中原リザ子**

日本歯科大学歯学部附属病院小児・矯正歯科診療科

*日本歯科大学歯学部附属病院保存学講座

**日本歯科大学歯学部歯科矯正学講座

KOBAYASHI Sakurako, TAKAHASHI Kensaku* and NAKAHARA Rizako**

The Nippon Dental University Hospital at Tokyo, Orthodontics & Pediatric Dentistry

*Department of Endodontics and Operative Dentistry, The Nippon Dental University, School of Dentistry at Tokyo

**Department of Orthodontics, The Nippon Dental University, School of Dentistry at Tokyo

キーワード：フッ素，エナメル質，EPMA，スプリットマウス法

抄録：本研究では、同意の得られた矯正治療患者 10 名（男子 3 名，女子 7 名，平均年齢 13.3 歳）における抜去予定の小白歯を対象として，*in vivo* でのエナメル質表層へのフッ素の取込みに関して，酸処理，フッ素徐放性材料（ガラスアイオノマーセメント）の充填，5% NaF 製剤によるバーニッシュの影響を比較検討した。エナメル質のフッ素濃度測定には X 線マイクロアナライザ（EPMA-8705，（株）島津製作所，京都）を用い，その後，得られたフッ素濃度の線分析プロファイル画像処理することにより，歯面処理とフッ素取込みとの関連について統計学的解析に適したデータを収集し比較検討したところ以下の結果が得られた。1）EPMA による線分析プロファイルに画像解析を施すことにより，エナメル質へのフッ素取込み（浸透距離に対するフッ素濃度の積分値）の相対比較が可能となった。2）無処置歯面（対照群）に比べて，ガラスアイオノマーセメントの充填によってフッ素浸透量は有意に増加した。また，実験に使用した 2 種類のガラスアイオノマーセメント（Fuji II LC[®]，Fuji Ionomer Type III[®]，（株）ジーシー，東京）の間では有意差は認められなかった。3）ガラスアイオノマーセメント充填時の酸処理はフッ素浸透量を有意に増加させる効果を示した。バーニッシュ処置では有意差は検出できなかったが，増加傾向は認められた。4）本報で示した EPMA 線分析と画像解析を併用した解析法は，歯質内へのフッ素取込みに及ぼす多重要因の効果判定に有効であることが示唆された。

(Orthod Waves 61(5) : 367~375, 2002)

Enamel fluoride uptake from fluoride-releasing materials *in vivo* ——Use of EPMA line profile analysis——

Abstract : To evaluate the fluoride uptake by enamel surface *in vivo*, we compared acid etching treatment, filling fluoride-releasing material (glass ionomer cement), 5% NaF varnish treatment, and their combinations. We used premolars which were to be extracted from 10 orthodontic patients with consent (3 boys and 7 girls, average age 13.3 years). For the measurement of fluoride concentration in enamel, we used an x-ray microanalyser (EPMA-8705; Shimadzu Corporation, Kyoto). Line analysis data of fluoride concentration was converted to graphic data. Using these graphic data, we investigated the relationship between surface treatments and fluoride uptake by enamel.

The results were as follows; (1) the graphic data enabled relative comparison of fluoride uptakes by enamel (integral of the fluoride concentration over the depth of infiltration). (2) fluoride uptake by enamel was significantly increased in teeth filled with glass ionomer cement, compared with untreated controls. No significant difference was found between the two types of glass ionomer cement (Fuji II LC[®] and Fuji Ionomer Type III[®], GC, Tokyo). (3) acid etching treatment followed by glass ionomer cement significantly increased fluoride uptake by enamel, but fluo-

ride uptake increased slightly with varnish treatment, which revealed no statistical significance. (4) graphic data was found to be a useful method to evaluate the

effects of treatments that contribute to the fluoride uptake by enamel.

(Orthod Waves 61(5) : 367~375, 2002)

緒 言

矯正治療にはマルチブラケット装置が広汎に使用されているが、ブラケット装着時の酸処理によりエナメル質表層が脱灰されることや、装着後の歯面が不潔域となりやすいことから、う蝕に罹患する危険性も無視しえない¹⁾。したがって、歯列交換期におけるう蝕予防、とりわけ矯正装置の装着期間における歯質防護を達成することは歯科矯正臨床の重要な課題となっている。近年のカロロジーの研究成果では、う蝕病変の発生・拡大は一方的に進行するのではなく、唾液が保有する再石灰化能によって歯質保護と初期う蝕の回復が起こりうるということが指摘されている²⁾。特に、口腔内の溶液相（唾液、プラーク溶液）に含まれるフッ素イオンは再石灰化反応を促進し、フッ素イオンが歯質結晶に取込まれた場合には、歯質アパタイトの化学的安定性を高め、脱灰速度を遅らせる働きを示す³⁾。このフッ素イオンによる抗う蝕作用には、低濃度のフッ素イオンを持続的に供給することが不可欠であることも強調されている。矯正治療期間におけるう蝕予防やエナメル質初期う蝕（白斑病変）の回復に向けて、歯面局所へのフッ化物応用が期待されるなかで、種々の矯正用フッ素徐放性材料（結紮用ゴムや歯間離開用ゴムなど）が開発されている^{4,5)}。市販されているフッ素徐放性材料のなかで、ガラスアイオノマーセメント（以下 GIC と略す）は口腔環境下で含有するフッ素を徐放する機能に加えて、充填後にフッ化物洗口あるいはバーニッシュなどによる外来性のフッ素イオンを再吸収する機能（リチャージ効果）を有することが注目されている^{6~10)}。また、隅田ら⁸⁾も矯正患者 10 名を対象とした *in vivo* での実験から、2 種類（Fuji II LC[®]、Fuji Ionomer Type III[®]、(株)ジーシー、東京）の GIC 修復物のリチャージによる唾液中のフッ素濃度の上昇を確かめている。これらの研究成果はいずれも、GIC が長期的フッ素徐放性機能装置として機能しうることを示唆しており、矯正装置の装着時でのフッ素による歯面保護への応用を期待させる。欧米の矯正治療では、プロフェッショナルによる歯面清掃（いわゆる PMTC）後、歯間隣接面部などにう蝕予防の目的でバーニッシュ応用も薦められている。ただし、わが国においては、バーニッシュ用フッ化物は象牙質知覚過敏用薬剤として市販されているのみで、GIC 充填物へのリチャージ効果によるう蝕予防への適応に関する研究報告は少ない。

本研究では、矯正治療のために抜去予定の小白歯を

実験歯として、GIC のフッ素徐放効果と 5% NaF 含有バーニッシュ製剤による GIC へのリチャージ効果を応用した口腔内 (*in vivo*) でのエナメル質へのフッ素イオンの取込みを調べた。これまでの歯質へのフッ素取込みに関する報告では、フッ素濃度の定性・定量を目指した評価法^{11~13)}とフッ素イオンの取込みに起因する歯質の耐酸性の向上を指標とする評価法^{14~19)}が用いられている。今回の実験では、エナメル質表層から内部に向けたフッ素イオンの歯質内濃度分布を X 線マイクロアナリシスにより実測し、ついで、フッ素濃度の線分析プロファイル画像処理（基準値の設定と実測強度の補正、処置群と対照群での差分プロファイルの演算）することにより、歯面処理とフッ素取込みとの関連について統計学的解析に適したデータを収集することを考案した。

材料と方法

I. 小白歯試料

小白歯試料の提供者は日本歯科大学矯正診療科に来院した不正咬合を主訴とする患者のうちで、本研究の主旨を理解し、その遂行に賛同した男子 3 名、女子 7 名（計 10 名、平均年齢 13.3 歳）であった。いずれの患者も矯正治療の既往はなく、歯列矯正の目的で上下顎第一または第二小白歯 4 本を抜歯し、マルチブラケット装置の装着を要すると診断された。さらに、今回の実験では、GIC 充填物からのエナメル質へのフッ素取込みを目的としたため、小白歯の提供者を選択する基準として、フッ化物による予防処置を実施していないことを確認した。最終的に同意の得られた上記 10 名の口腔内診査では、平均 DMFT が 2.7、平均 DMFS が 5.0、10 名中 4 名はう蝕罹患率がゼロであった。また、処理歯面となる小白歯咬合面の視診では、小窩裂溝を含むいずれの部位においても明らかな白濁や変色、う窩形成は検知されなかった。

II. 実験材料と歯面処理

フッ素徐放性 GIC として光硬化型で修復用 Fuji II LC[®]（製造番号 液；060931、粉；270451、(株)ジーシー、東京、以下 II LC と略す）と従来型でシーラント用 Fuji Ionomer Type III[®]（製造番号 液；100931、粉；160932、(株)ジーシー、東京、以下 Type III と略す）を用いた。また、バーニッシュ製剤として、象牙質の知覚鈍麻用として臨床応用されている F バーニッシュ（5% NaF 含有、東洋製薬化成(株)、大阪）を用いた。

今回の実験では、上記の小白歯提供者 10 名を無作為に II LC 充填群 5 名と Type III 充填群 5 名に分けた。各充填群において、3 つの要因（歯面の酸処理、充填、バーニッシュ）がエナメル質へのフッ素取込みに及ぼす効果をそれぞれ独立して判定する目的で、スプリットマウス法に準じて、1 口腔単位として上下顎左右側 4 本の近遠心側の小窩を中心とした 2 領域（総計 8 領域）について、図 1 に示す組合せで異なる歯面処理を施した。例えば、①の小窩裂溝部では酸処理後にバーニッシュを施しており、②ではバーニッシュのみによる効果と比較している。⑧の下顎右側小白歯遠心側は無処理歯面（コントロール）とした。歯面の酸処理として、歯面清掃用ブラシで清掃後、エッチングジェル（リン酸濃度約 40%，K エッチャントゲル[®]，（株）クラレ，岡山）で通法に従って 30 秒間酸処理し、水洗，乾燥した。2 種類の GIC はいずれも添付された指示書に従い、裂溝部へシーラント処理を施した。硬化後の咬合調整とともに、近遠心側小窩での処理内容を識別できるようエナメル質表面にダイヤモンドポイントにより小さなマーカを付与した。充填から 2 週間後に患者（被験者）をリコールし、実験歯である上顎小白歯咬合面に F バーニッシュを 20 分間作用させた。バーニッシュ処理から 2 週間後に処置歯 4 本を一度に抜歯した。抜歯後、ただちに手用器具にて咬合面部の充填材をすべて除去し、実験に使用するまでプラスチックビーカーに保管した。

III. 樹脂包埋薄切標本の作製と EPMA による元素分析

すべての抜去歯は、通法に従い、脱水・樹脂透徹を経て、エポキシ樹脂（Sty Cast，（株）日本エイプルスティック，神奈川）に包埋した。樹脂包埋した小白歯を頬舌矢状断方向に硬組織薄切装置（ブロンウィル，USA）を用いて分割し（切断面は図 1 の破線で示す），処置領域の中心に位置する近心小窩および遠心小窩を含む歯質薄切片（1.5 mm 厚さ）を作製した。各薄切片の切断面を 0.3 μm のラッピングフィルム（マルトー（株），東京）で最終研磨し，測定に先立ちカーボン蒸着を施した。元素分析には X 線マイクロアナライザ（EPMA-8705，（株）島津製作所，京都）を使用し，フッ素およびカルシウムとマグネシウムの 3 元素について線分析を行った。カルシウムは小白歯試料間でのエナメル質石灰化度の指標として，マグネシウムはう蝕による歯質変化に敏感な指標として測定対象に加えた。測定条件として加速電圧 15 kV，試料電流 0.1 μA ，特性 X 線は $\text{CaK}\beta$ ， $\text{FK}\alpha$ ， $\text{MgK}\alpha$ であった。測定部位としては，解剖学的形態が複雑な小窩裂溝周辺を避け，頬側方向に約 1 mm 離れた頬側斜面を選んだ。各測定部位において，エナメル質表面からエナメル象牙境に

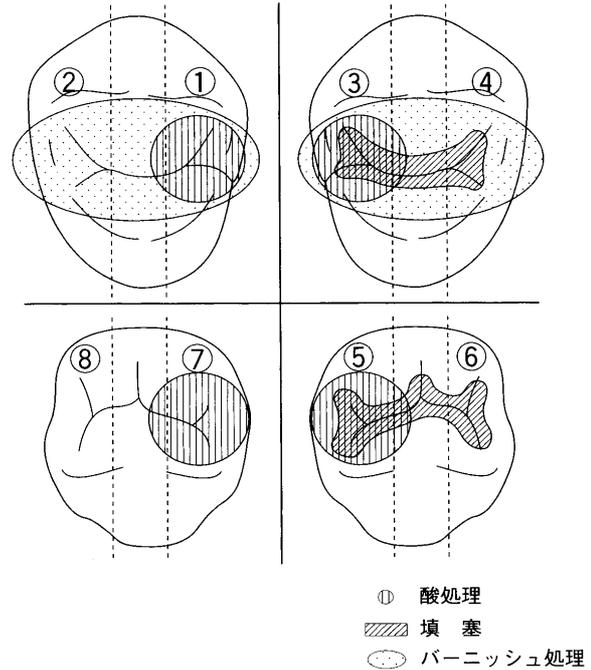


図 1 歯面処理の種類

上下顎左右側小白歯 4 本の咬合面での歯面処置。各小白歯を近心側・遠心側に異なる歯面処理（酸処理、充填、バーニッシュ）を施すことにより，無処置歯面⑧を含む計 8 群を設定した。各小白歯に記入した 2 本の破線は，測定用試料作製のための薄切片を示す。

向けて，エナメル小柱の方向に沿って走査速度 50 $\mu\text{m}/\text{min}$ で約 300 μm 深さまで線分析を実施し，0.4 μm 間隔（計測時間 0.5 sec）で計測されたシグナル強度（カウント/sec）をデジタル処理により記録した。

IV. エナメル質へのフッ素取込みの解析

総数 80 か所（小白歯 40 本 \times 2 か所）でのフッ素線分析プロファイルから統計学的な解析に適した数値データを求めるために，以下の演算処理を行った。最初に，すべての実測プロファイルを精査し，処理歯面①～⑦（図 1）でのフッ素濃度の高まりはエナメル質表面から 100 μm 深さの範囲にとどまっており，100 μm を越えたエナメル質内部ではほぼ平坦なフッ素濃度を示すことを確かめた。同一口腔内の測定部位 8 か所での実測プロファイルを標準化する目的で，エナメル質内部 100～300 μm でのフッ素濃度レベル（デジタル入力したカウント数，cps）の平均値（ $n=8$ ）を計算し，この平均値をフッ素濃度のベースラインを意味する基準値とした。エナメル質表面（0 μm ）から 100 μm までの実測データについて，基準値に対する相対シグナル強度を計算し，フッ素濃度についての一次補正プロファイルを求めた。次に，異なる小白歯間での個体差およ

び歯種によるエナメル質フッ素含有量の違いを補正する目的で、各小白歯試料 (n=10) の基準値について平均値を算出し、この平均値を新たなフッ素濃度レベルの基準値とした二次補正プロファイルを求めた。以上の演算処理により補正したフッ素濃度プロファイル (相対シグナル強度 vs. エナメル質表面からの距離) から、エナメル質表面から 100 μm 深さまでのフッ素取込み量 (ΔF) を $\Delta F = \Delta FT - \Delta FC$ として数値化した。図 2 では、この演算過程を図示しており、 ΔFT は処理歯面 ①~⑦ でのフッ素濃度プロファイル、 ΔFC は無処理歯面 ⑧ での同プロファイルの意味する。補正プロファイルの重ね合わせ、および ΔFT と ΔFC に相当する面積計算には画像解析ソフト (NIH, Image Ver. 1.55) を使用した。

今回の歯面処理に依存したエナメル質へのフッ素取込みについて、その要因効果 (酸処理の有無、填塞の有無、バーニッシュの有無、填塞とバーニッシュとの比較) の判定の際には、一次補正プロファイルから求められた ΔF 値に基づき、対応する 2 群間での有意差を検定した。この統計学的解析においては、 ΔF データは正規分布しないことが予想されたため、ノンパラメトリック検定の Wilcoxon signed rank test を採用した。また、3 つの主要因 (酸処理、填塞、バーニッシュ) とその複合効果の解析のための 3 元配置分散分析には、全小白歯試料から求められた二次補正プロファイルに基づく ΔF 値を採用した。最後に、グラスアイオノマーセメントの種類 (II LC と Type III) による影響に

ついては、各群 5 本の歯の 4 計測か所 (③, ④, ⑤, ⑥) での ΔF 値 (二次補正データ) について t 検定 (n=20) を行った。すべての統計処理には解析用ソフト (StatView-4.02, Abacus Concepts Inc., (株) ヒュー

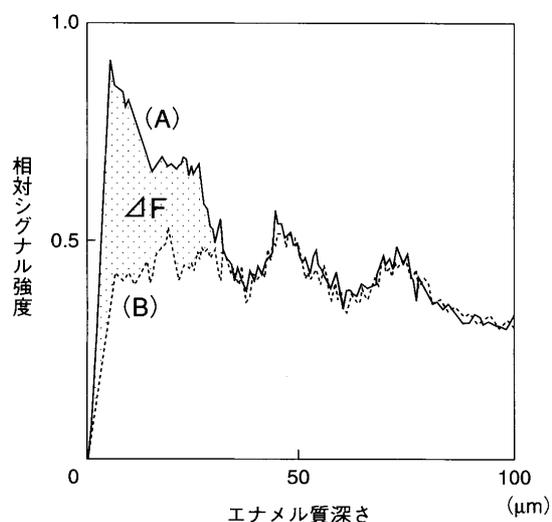


図 2 エナメル質表面からの距離

エナメル質表面 (0 μm) から歯質内部に向けたフッ素の EPMA 線分析結果。(A) 処理歯面で求められた一次補正プロファイル、(B) 無処理歯面 ⑧ での同プロファイル。両プロファイルは 100 μm の位置で同じレベルに基準化しており (本文参照)、差分を求めることにより、歯面処理に起因して取込まれたフッ素量 ΔF (浸透距離と歯質内濃度の積分値) を算出した。

表 1 エナメル質へのフッ素取込みと歯面処理

比較要因	対象	歯面数 (n)	検定結果	
(1) 酸処理	① vs. ②	10	p < 0.05 (n=40)	
	③ vs. ④	10		
	⑤ vs. ⑥	10		
	⑦ vs. ⑧	10		
(2) 填塞	II LC and Type III	⑤ vs. ⑦	p < 0.05 (n=20)	
		⑥ vs. ⑧		10
	II LC	⑤ vs. ⑦	5	有意差なし
	Type III	⑥ vs. ⑧	5	有意差なし (n=10)
(3) バーニッシュの効果	① vs. ⑦	10	有意差なし (n=20)	
	② vs. ⑧	10		
(4) バーニッシュと填塞の比較	① vs. ⑤	10	有意差なし (n=20)	
	② vs. ⑥	10		
(5) II LC と Type III との比較	③, ④, ⑤, ⑥		有意差なし (n=20)	

(1)~(4) Wilcoxon signed rank test (5) t 検定

リンクス, 東京) を使用した。

結 果

今回の実験に使用した小白歯試料は, 視診により咬合面(小窩裂溝)う蝕は検知されなかったが, 全測定か所での Ca と Mg の線分析プロファイルにおいても同様に, う蝕あるいは形成不全を示唆する元素濃度分布の異常は検出されなかった。図 2 では, 填塞(II LC または Type III 填塞, 測定か所 ③, ④, ⑤, ⑥, 図 1 参照) と無処理部(⑧)での一次補正プロファイルを例示している。無処理エナメル質(対照)では表面からの距離に依存したフッ素濃度の勾配は不明瞭であったのに対して, 処理歯面ではエナメル質表層で最高値(フルオロapatite を標準物質とした定量測定の結果では, 重量比で約 0.45% F)を示し, 約 30 μm 深さまで

フッ素濃縮は検出された。同様のプロファイル解析から, フッ素の取込み範囲としてエナメル質表層から 80 μm に達した例も認められた。処理歯面 ①~⑦ のエナメル質表層部では, 類似したフッ素濃度勾配は検出され, 対照プロファイルとの差分演算により求められた ΔF 値の統計学的解析により, 以下に述べる有意差が検出された。

表 1 では, エナメル質へのフッ素取込みに及ぼす歯面処理効果についての判定結果をまとめている。Wilcoxon signed rank test による効果判定においては, 2つの要因(酸処理, 填塞)について危険率 5% で有意差が認められた。これらの要因に関連した測定か所での ΔF の平均値 (\pm S. D.) の比較から, 酸処理後のフッ素取込みは約 2.5 倍まで増加しており, 填塞後で約 2.0 倍の増加が確かめられた(図 3)。他方, バーニッシュの有無, バーニッシュと填塞, および填塞材料間

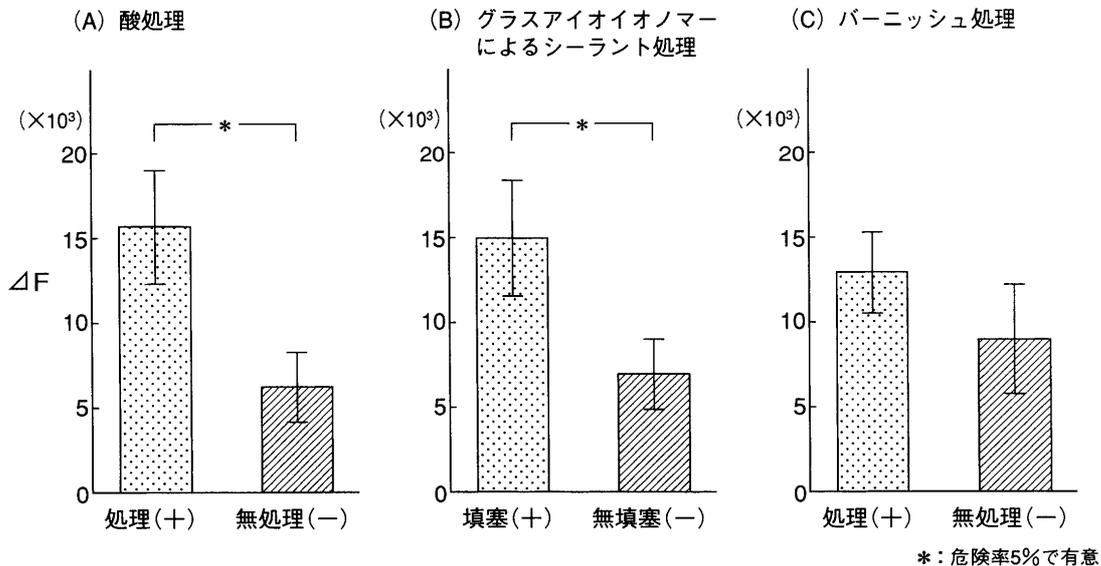


図 3 ΔF 値による歯面処置の効果の比較

(A) 酸処理; (B) 填塞; (C) バーニッシュ処理 各ヒストグラムは ΔF の平均値 (S. D.) を示す。

表 2 ΔF に関する三元配置分散分析表 ($\times 10^5$)

要因	s. s.	d. f.	m. s.	Fo	F'	判定	寄与率 (%)
A: 酸処理	17692.82	1	17692.82	5.71	6.02	*	5.7
B: 填塞	12686.69	1	12686.69	4.10	4.32	*	3.8
C: バーニッシュ処理	3153.99	1	3153.99	1.02	1.07		
A×B	219.16	1	219.16	.79 p	—		
A×C	172.77	1	172.77	.06 p	—		
B×C	1.58	1	1.58	.00 p	—		
A×B×C	93.17	1	93.17	.03 p	—		
誤差	222904.10	72	3095.90				
T	256924.28	79					100.0
Pe	223390.78	76	2939.35				91.5

*: 危険率 5% で有意

(II LC と Type III) では、いずれも有意差は検出されなかった。

表 2 では、2 次補正プロファイルの差分演算で得られた ΔF 値に基づき、酸処理、填塞、バーニッシュの 3 因子についての 3 元配置分散の分析結果を示している。主効果 A (酸処理) と主効果 B (填塞) については、表 1 での有意差の検定結果と同じく、危険率 5% で有意とみなしうる事が確かめられたが、それぞれの寄与率は酸処理で 5.7%、填塞で 3.8% であった。主効果 C (バーニッシュ) については、有意と判定しうる効果は検出されなかった。

考 察

近年、若年者におけるう蝕罹患率が低下している現状において、患者および歯科医師のいずれの立場からも歯科矯正治療中のう蝕発生は是非とも防止し、歯質保護を達成することが望まれる。歯科矯正治療に伴うう蝕罹患リスクに関連して、Büyükyılmaz ら²⁰⁾はフッ化物応用を施さない場合に、50~75%の患者の処置歯エナメル質唇側面に白斑病変を認めたと報告している。この矯正治療時のう蝕予防に向けてフッ素徐放性材料の有用性が注目されている。Marcusson ら²¹⁾のエナメル質白斑病変の罹患率についての報告でも、矯正装置 (マルチブラケット装置) の装着前は 7% 程度であったのが、8~39 か月を経た装置除去の時点では、ジアクリレート接着剤の使用では白斑病変が 42% にまで増加したのに対して、GIC 合着例では白斑病変の増加は 24% に抑えられたと報告している。さらに、ブラケット接着に GIC を使用した場合に、唾液²²⁾やプラーク²³⁾でのフッ素濃度の上昇、プラーク中でのミュータンス菌と乳酸桿菌の減少²⁴⁾が認められている。また、GIC による長期間のフッ素徐放効果に関して、Koch ら²⁵⁾は唾液でのフッ素濃度の上昇と GIC 修復歯面数と関連すると述べており、Kofman ら²⁶⁾は GIC 修復後 1 年経過しても唾液のフッ素濃度が 0.3 ppm 程度に維持されていたと報告している。この長期におよぶフッ素徐放効果の作用機序として、元の GIC のフッ素含有量のみでは説明できないことから、口腔内での種々のフッ素供給源 (例えば、フッ化物配合歯磨剤) から GIC 充填物へのフッ素の取込み (リチャージ現象) とその後の再放出がくり返されていることが想定される。GIC のリチャージに関する *in vitro* での実験^{7,9,10)}から、2.0% NaF 溶液への 3 分間浸漬によっても GIC へのフッ素取込みが起ころうることと、フッ素取込み量は溶液濃度に依存していることが証されている。

本研究では、歯科矯正治療時のう蝕予防に向けた GIC 応用を視野におき、口腔内での GIC 填塞からエナメル質へのフッ素の取込みに注目した。これまでの充

填後のエナメル質へのフッ素取込みに関する報告では、材料学的な見地からの比較検討に重点が置かれており、処置操作 (酸処理、充填後のリチャージなど) を含めた多要因の効果を統計学的に判定した報告は少ない。歯質内でのフッ素濃度の定量には、一般に、歯質を酸溶液中に溶出させ、溶液中のフッ素濃度をフッ素イオン電極により測定し、歯質量に占めるフッ素濃度を求める方法が用いられる。この方法では低濃度のフッ素までも精度高く測定できるが、歯質組織内での濃度変化を捉えられない欠点を有している。

歯面処理後のエナメル質へのフッ素取込みの解析に際しては、量的変化とともに歯質表面から内部への拡散浸透範囲を明らかにする必要がある。そのため、今回のフッ素分析では EPMA による線分析を選んだ。本研究で用いた EPMA の特徴は、組織変化に対応した元素濃度の分析が可能ながあげられる。ただし、近年、画像解析ソフトの開発により、プロファイル解析や歯質内での石灰化度の変動や微量元素の濃度分布について新たな定量・半定量的な解析法が開発されてきた。代表例として、エナメル質う蝕の顕微 X 線像のデンストメトリを画像解析し、標準物質 (通常、Al 薄片が用いられる) を参照することにより、X 線透過度から歯の無機質量を定量し、脱灰深度と X 線透過度の積分により無機質減少量を測定する方法がある^{18,19)}。本研究では、同様の画像解析システムを EPMA によるフッ素濃度の線分析データに応用し、エナメル質内での浸透距離とフッ素濃度変化からフッ素取込みの相対値を求め、歯面処理による効果判定を試みた。この分析法の問題点として、フッ素などの微量元素の定量においては精度の高い測定が困難であり、分析結果は部位別あるいは試料間での相対比較が主目的となる。また、測定用試料間でのバックグラウンドの補正の問題を生じる。これらの問題点を考慮に入れ、統計学的な解析が可能で数値データを収集するため、画像処理ソフトを用いて線分析プロファイルにバックグラウンドレベルに対する補正を施すため、実験期間内にエナメル質表面から浸透してくるフッ素の影響が及ばないエナメル質内部 (100~300 μm 深さ) でのフッ素濃度を基準値として、実測プロファイルに強度補正を行った。処置群と無処置 (対照) 群での補正プロファイルから求めた差分シグナル強度 (ΔF) については、酸処理、填塞、バーニッシュ処理のいずれにおいても、エナメル質表層部でフッ素取込みを示すプラスの値が得られ、統計学的な有意差の検定では、酸処理と填塞によりフッ素取込みが有意に増加することが確かめられた。バーニッシュ処理後のフッ素取込みに関しては、 ΔF の平均値で表した場合に約 1.4 倍であったが、統計学的な有意差を確証するに至らなかった。以上の結果から、エナメル質表層での微量なフッ素濃度変化を

検出するうえで、EPMA による線分析プロファイルの画像解析は有効な手法と考えられる。

矯正患者での抜去予定の小白歯を対象とした研究においては、左右一対の歯を比較するスプリットマウス法が多用される^{12,23,24)}。今回の実験計画においては、シーラント処置後のエナメル質へのフッ素取込みに寄与すると予想される要因として、酸処理、填塞、バーニッシュの3要因に注目したため、同一口腔内の上下顎の小白歯4本を実験計画に組み込んだ。この実験モデルにおける3元配置分散分析の結果では、酸処理と填塞の効果は有意であり、さらに各要因効果の寄与率として酸処理、填塞、バーニッシュの順であることが判明した。ただし、これら寄与率の合計が10%に満たない問題点が残された。この理由として、矯正患者の選択に際して外来性のフッ化物使用に制限を設けたため、試料数(患者10名、対象歯数40本)が限定されたことがあげられる。また、上下顎小白歯間での形態・組成・唾液流量の違い(あるいは咀嚼・口腔清掃などの生活習慣の影響)も、小白歯試料間での実測データの標準偏差を大きくする方向に働いたと推測される。

統計学的に有意と判定された酸処理後のエナメル質表面層へのフッ素の取込みについて、GIC 填塞直下のエナメル質では填塞物から徐放されたフッ素が主な供給源と考えられる。同時に、填塞を施していない歯面(図1の①と⑦)でも、酸処理後ではエナメル質表面層へのフッ素取込みは増加していた。この場合のフッ素の供給源としては、唾液中のフッ素が考えられるが、同一口腔内での填塞あるいはバーニッシュ処理は唾液のフッ素濃度を高めることが報告されている^{8,25,26)}。このような外部環境からのフッ素供給量の増加とともに、エナメル質表面での酸処理はエナメル結晶の表面性状を変化させ、フッ素取込みを促進することが考えられる²⁷⁾。エナメル質う蝕の電顕観察^{28,29)}から明らかにされているように、初期の酸脱灰をこうむったエナメル結晶はその表面の欠陥部(転位線や結晶粒界)から優先的に溶解を始める。酸侵襲がこの初期段階で停止した場合には、残された結晶表面はステップやキックを多く含む状態(rough surface)となり、周囲の溶液環境が不飽和状態から過飽和状態に遷移すると、この荒れた結晶表面は成長反応の開始点として働くことができる^{30,31)}。同時に、酸処理によってエナメル質表面に発生した小隙を介してフッ素イオンを含む唾液由来の電解質が歯質内部に拡散浸透していくことが促される。したがって、今回の実験系で酸処理されたエナメル質は唾液(歯質結晶に対して過飽和状態を維持している³²⁾)に接しており、酸処理後に填塞されたGICから徐放されてくるフッ素イオンは結晶成長反応を促進させ、この反応過程でフッ素自身は溶液相から結晶表面に取込まれる³³⁾。この一連の結晶成長とフッ素の結晶

格子内への取込みは、う蝕病巣での再石灰化反応と同じ反応機構といえる³⁴⁾。この酸処理後のエナメル質内部への外来性のフッ素(あるいは電解質)の浸透距離に関しては、今回のEPMAのフッ素濃度の線分析プロファイルから30 μm を越えることが確かめられた。なお、池田ら¹⁶⁾はGIC修復物直下のエナメル質へのフッ素の浸透距離として180~210 μm と大きな値を報告しており、歯面前処理によって拡散浸透範囲も大きく影響されることがうかがえる。今回のバーニッシュ処理には5%NaFという高濃度のフッ素濃度を用いたが、エナメル質表面層へのフッ素取込みは有意な増加として検出されなかった。この理由として、バーニッシュの実施時期が酸処理から2週間を経ており、この期間内に荒れた結晶表面では成長反応が進行しており、エナメル質の組織レベルでは電解質の拡散通路となる小隙も縮小、結晶表面レベルでは成長中心の減少(smooth surface)と種々の抑制因子による成長中心のブロッキング^{35,36)}が相乗的に作用したと考えられる。そのため、バーニッシュにより供給されたフッ素の大部分は直ちに歯質内に取込まれることなく、エナメル質表面でフッ化カルシウム(CaF_2)として沈殿(Ögaardら¹¹⁾やAdriaensら¹²⁾Cruzら¹³⁾)、あるいはGICへの吸収(リチャージ)に寄与したと考えられる。このような歯面(あるいは充填物)にプールされたフッ素は、その後の時間経過のなかで、 CaF_2 の溶解(充填物からの徐放)により唾液やプラークでのフッ素濃度の上昇、エナメル質表面での再石灰化反応(結晶格子への置換)の反応過程に寄与していく。この一連の反応回路は相対的に長い時間にわたって継続することから、う蝕予防の観点では極めて効果的と推察される。ただし、エナメル質へのフッ素取込みに着目した場合には、その進行速度は緩やかであり、今回の実験モデルではバーニッシュの処理回数が1度と限定されていたことやバーニッシュ後の観察期間が2週間に設定したことも、有意なフッ素取込み効果が検出できなかった理由としてあげられる。

現在の歯科矯正臨床で頻用されているマルチブラケット法では、動的治療に1~3年、動的治療後の保定処置に1~2年以上を要することが多い。この長期にわたる治療期間では、通常、1か月から数か月に1度の来院間隔で口腔管理が実施される。したがって、GIC系のフッ素徐放性接着材を矯正用ブラケットやバンドの合着、あるいはシーラント処理に用いた場合に、歯科医師の管理下での定期的なフッ化物応用によるフッ素供給(リチャージ)も実行可能である。このようなフッ素徐放性接着材の応用とリチャージを考慮した診療計画は、直接的な歯面保護とともに口腔環境への持続的なフッ素供給源を確保することにもつながり、う蝕予防の一助として有望と考えられる。さらに、矯正用材

料として、フッ素徐放性を有する可撤式保定装置の開発も今後の課題として注目される。

結 論

本研究では、同意の得られた矯正患者 10 名の抜去予定の小白歯を対象として、*in vivo* でのエナメル質表層へのフッ素の取込みに関して、酸処理、フッ素徐放性材料(グラスアイオノマーセメント)の填塞、5% NaF 製剤によるバーニッシュの影響を比較検討した。エナメル質のフッ素濃度の測定には EPMA 線分析を用い、以下の結果が得られた。

1. EPMA による線分析プロファイルに画像解析を施すことにより、エナメル質へのフッ素取込み(浸透距離に対するフッ素濃度の積分値)の相対比較が可能となった。

2. 無処理歯面(対照群)に比べて、グラスアイオノマーセメントの填塞によってフッ素浸透量は有意に増加した。また、実験に使用した 2 種類のグラスアイオノマーセメント(Fuji II LC[®], Fuji Ionomer Type III[®], (株)ジーシー, 東京)の間では有意差は認められなかった。

3. グラスアイオノマーセメント填塞時の酸処理はフッ素浸透量を有意に増加させる効果を示したが、バーニッシュ処置では増加傾向を認めるにとどまり、統計学的な有意差は検出できなかった。

4. 本報で示した EPMA 線分析と画像解析を併用した解析法は、歯質内へのフッ素取込みに及ぼす多重要因の効果判定に有効であることが示唆された。

稿を終えるにあたり、論文作成に際してご示唆を頂いた日本歯科大学歯学部病理学講座青葉孝昭教授に感謝いたします。また、本研究での EPMA 使用に多大のご協力を頂きました日本歯科大学歯学部 共同利用研究所 小川正明助教授に感謝の意を表します。最後にご協力をいただきました矯正学教室の諸先生方に心より御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 予防歯科臨床教育協議会：実践予防歯科学，第一版，東京，1999，医歯薬出版，35-36.
- 2) ten Cate, J. M. and Featherstone, J. D. B. : Physicochemical aspects of fluoride-enamel interactions *in* : Fluoride in dentistry, ed. Fejerskov, O., Ekstrand, J. and Burt, B. A., Copenhagen, 1996, Munksgaard, 252-272.
- 3) Aoba, T. : The effect of fluoride on apatite structure and growth, *Cri Rev Oral Biol Med* 8 (2) : 136-153, 1997.
- 4) Wiltshire, W.A. : *In vitro* and *in vivo* fluoride release from orthodontic elastomeric ligature ties, *Am J Orthod Dentofac Orthop* 115 : 288-292, 1999.
- 5) 伊東理夫：フッ素徐放性歯間離開用ゴムに関する研究，*小児歯誌* 38 : 562-575, 2000.
- 6) Forsten, L. : Fluoride release and uptake by glass ionomers, *Scand J Dent Res* 99 : 241-245, 1991.
- 7) Takahashi, K., Emilson, C. G. and Birkhed, D. : Fluoride release *in vitro* from various glass ionomer cements and resin composites after exposure to NaF solutions, *Dent Mater* 9 : 350-354, 1993.
- 8) 隅田能英, 高橋建作, 伊藤雅章, 他：グラスアイオノマーセメントのう蝕抑制効果に関する研究，第 1 報 唾液中のフッ素濃度の変化について，*歯学* 84 : 406-410, 1996.
- 9) 高橋建作, 江黒 徹, 前田 徹, 他：フッ化物溶液浸漬後のグラスアイオノマーセメントからのフッ素放出と間接引張強さについて，*日歯保存誌* 40 : 592-598, 1997.
- 10) 高橋建作, 伊藤雅章, 小川正明：矯正用フッ素徐放性歯科材料からのフッ素放出と唾液による酸処理エナメル質への作用，その 1. 脱イオン水へのフッ素放出とチャージアップにおよぼす要因の検討，*歯学* 86 : 886-890, 1999.
- 11) Ögaard, B., Rølla, G. and Helgeland, K. : Fluoride retention in sound and demineralized enamel *in vivo* after treatment with a fluoride varnish (Duraphat), *Scand J Dent Res* 92 : 190-197, 1984.
- 12) Adriaens, M. L., Dermaut, L. R. and Verbeeck, R. M. H. : The use 'Fluor Protector[®]', a fluoride varnish, as a caries prevention method under orthodontic molar bands, *Eur J Orthod* 12 : 316-319, 1990.
- 13) Cruz, R., Ögaard, B. and Rølla, G. : Uptake of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF solution *in vitro*, *Scand J Dent Res* 100 : 154-158, 1992.
- 14) Eliades, T., Viazis, A. D. and Eliades, G. : Enamel fluoride uptake from an experimental fluoride-releasing orthodontic adhesive, *Am J Orthod Dentofac Orthop* 101 : 420-424, 1992.
- 15) 高橋建作, 伊藤雅章, 小川正明：矯正用フッ素徐放性歯科材料からのフッ素放出と唾液による酸処理エナメル質への作用，その 2. 人工唾液中のフッ

