

予防または保存修復歯科に用いられる一般的な歯科材料が象牙質透過性および再石灰化に及ぼす影響

S Sauro • I Thompson • TF Watoson

臨床的関連

生体活性ガラス（Sylc）は、唾液と反応し、脱灰したコラーゲン線維内でヒドロキシカーボネートアパタイト（HCA）を沈着させ、象牙細管を閉塞させる。したがって、象牙質知覚過敏症（DH）の治療に適した脱感作性生体活性物質として、かつ、歯組織の再石灰化させるため、および/または、レジンと象牙質の界面におけるさらなる脱灰を防ぐための接合処置前のエアークuttingパウダーとして使用できる可能性がある。

* Salvatore Sauro 博士、准研究員、生体材料・計量生物学・生体光通信学部門、King's College London Dental Institute、Guy's、King's College and St Thomas' Hospitals、ロンドン、英国。

Ian Thompson 博士、上級講師、准研究員、生体材料・計量生物学・生体光通信学部門、King's College London Dental Institute、Guy's、King's College and St Thomas' Hospitals、ロンドン SE1 9RT、英国。

Timothy F Watson 教授、BSc、BDS、PhD、FDS、教授・学部長、King's College London Dental Institute、Guy's、King's College and St Thomas' Hospitals、ロンドン、英国。

* 連絡窓口となる著者：17階、Guy's Tower、ロンドン、SE1 9RT、イングランド。

DOIコード：10.2341/10-225-1

要約

本研究の目的は、予防歯科および保存修復歯科で用いられる一般的な歯科材料に含まれる生体活性物質によって引き起こされる象牙質の再石灰化を評価することであった。いくつかの材料をヒトの象牙質セグメントに塗布した。象牙質の透過性は、20 cm H₂Oで作動する液体ろ過システムを用いて定量化した。顕微ラマン、SEM-EDX（走査型電子顕微鏡-エネルギー分散型X線分析装置）、微小硬度計算により、象牙質の石灰化度の変化を評価した。予防材で処理された象牙質は、特に再石灰化溶液（RSS）に浸漬後の象牙質透過性が異なる値を示した。生体活性ガラス（Sylc）は、再石灰化溶液に浸漬した後の象牙質の透過性を低下させ、象牙質の再石灰化の証であるハイドロキシアパタイトの沈着を示すことができる唯一の物質であった。本研究で使用した他の予防材料を塗布した後に得られた象牙質透過性の低下は、象牙細管に残存した材料が存在するためであり、再石灰化溶液に保存した後には再石灰化効果が見られなかった。以上のことから、生体活性ガラス予防パウダーが象牙質の即時の再石灰化を誘導する可能性が示唆された。

序論

象牙質知覚過敏症（DH）は、主にエナメル質の脱落や歯肉根面露出による象牙質の露出後の象牙細管液の移動によって引き起こされる。¹⁻³ 酸性の飲食物の摂取は、硬い歯科組織を侵食し、DHリスクを高める可能性がある。^{4,5} 実際、特定の酸性飲食物の摂取頻度と象牙細管の露出との間には本質的な関連がある。⁶⁻⁸ さらに、食事によ

る酸の摂取を想定した後の歯磨きは、象牙細管の露出を促進しDHを悪化させる可能性がある。^{7,9}

DH治療に用いられる脱感作性生体活性物質は、体液や唾液と反応し、脱灰したコラーゲン線維内にヒドロキシカーボネートアパタイト（HCA）を沈着させ、象牙細管を閉塞させることができるはずである。^{10,11} 石灰化プロセスは、細胞外液に非常によく似た尿細管液を介して起こることもあり、歯芽細胞プロセスと連動して石灰化プロセスを組織化する。¹²⁻¹⁴

本稿の目的は、予防用ペーストまたはエアージェリッシュ／カッティングパウダーに含まれる生体活性物質が、象牙質の再石灰化と象牙細管の閉塞を促進する能力を検証するために行った一連の実験結果を提示することである。本研究で検証した帰無仮説は、生体活性物質を含むすべての予防用ペーストまたはパウダーは、再石灰化溶液（RSS）中に24時間または48時間浸漬すると、象牙細管を閉塞し象牙質組織を再石灰化する能力を有するというものであった。

材料および方法

象牙質透過性評価

本研究では、外科的な理由で最近抜歯されたヒトの第三大臼歯35本を使用した。まず、低速水冷式ダイヤモンド・ソー（Labcut; Agar Scientific, Stansted, UK）を用いてセメント・エナメル質接合部（CEJ）より1.0 mm下の歯根を除去し、象牙質歯冠部を得た。その後、咬合エナメル質を平行切断で除去し、深部象牙質を露出させた。露出した歯髓腔から、組織鉗子を用いて歯髓組織を慎重に除去した。残存象牙質厚さ（RDT）は0.7 mmと0.9 mmであった。表1に示した材料に応じて

表1：象牙質透過性および被検査製品の微小硬度

活性成分	最大 Lp% (エッチングされた象牙質)	即時適用			PBS、24時間
		象牙質透過率 % ^a	象牙質透過低下率 % ^b	象牙質表面の微小硬度 ^c	象牙質透過率 % ^a
3 wt% モノカリウム-モノ水素シュウ酸水溶液 NaH C ₂ O ₄ H ₂ O pH 2.7	100	9.5 ± 1.4 ^{A1}	δ - 91.5	89.1 ± 1.5 ^{a1}	9.6 ± 1.5 ^{A1}
生体活性ガラス 100% SiO ₂ , Na ₂ O, CaO P ₂ O ₅ SYLC (Osspray Ltd, London, UK)	100	99.6 ± 5.2 ^{B1}	δ - 0.4	90 ± 1.3 ^{a1}	21.3 ± 6.2 ^{A2}
炭酸水素ナトリウム NaHCO ₃ Cavitront 予防用パウダー (Dentsply Corp, London, UK)	100	98.3 ± 3.5 ^{B1}	δ - 1.7	89.2 ± 1.1 ^{a1}	98.5 ± 3.7 ^{B1}
アミノ酸-グリシン NH ₂ CH ₂ COOH EMS Perio (EMS Corp,) Nyon, Switzerland)	100	98.9 ± 4.1 ^{B1}	δ - 1.1	90.1 ± 1.2 ^{a1}	91.6 ± 4.5 ^{B1}
CPP-ACP：カゼイン・ホスホペプチド - 非 晶質リン酸カルシウム § GC Tooth Mousse (GC Corp, Tokyo, Japan)	100	59.8 ± 9.5 ^{C1}	δ - 40.2	88.9 ± 0.8 ^{a1}	56.8 ± 9.1 ^{C1}
8%炭酸カルシウム-アルギニン § Colgate Sensitive Pro-relief (Colgate Palmolive, New York, NY, USA)	100	80.4 ± 6.5 ^{B1}	δ - 19.6	89.9 ± 0.9 ^{a1}	79.8 ± 6.4 ^{D1}
5%リン酸ナトリウムカルシウム NovaMint® § NUPRO Solution Prophy Paste (Dentsply)	100	85.6 ± 4.5 ^{B1}	δ - 14.4	88.9 ± 1.1 ^{a1}	76.5 ± 4.6 ^{D1}
^a 平均値で報告。35% PA処理後のLpを最大透過率 (Lp= 100%) とした。 ^b 処理前後の - Lp%および透過性の最大値。 ^c 括弧内の数値は歯質表面の微小硬度 [KHN]を表す。 同一の大文字は、同一の培地で保存された異なる製品処理において列間に差異がないことを示している。同一の数字は、RSS 浸漬時間に関して行間に差異がないことを示している (p>0.05)。記号 § が付されている製品は、活性成分に加えて他の成分が混合されている。 GC Tooth Mousse TM ：グリセロール、D-ソルビトール、二酸化ケイ素、CMC-Na、プロピレングリコール、酸化チタン、キシリトール、リン酸、酸化亜鉛、サッカリンナトリウム、p-ヒドロキシ安息香酸エチル、酸化マグネシウム、p-ヒドロキシ安息香酸ブチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル；Sensitive Pro-relief TM ：水和シリカ、グリセリン、水、炭酸水素塩、香料、セルロースガム、サッカリンナトリウム；NUSolutions TM ：水和シリカ、グリセリン、水、炭酸水素塩、香料、セルロースガム、サッカリンナトリウム。					

表 1 : 象牙質透過性および被検査製品の微小硬度 (続き)

PBS、24時間		PBS、48 時間		クエン酸			
象牙質 透過低下率 % ^b	象牙質表面の 微小硬度 ^c	象牙質透過率 % ^a	象牙質 透過低下率 % ^b	象牙質表面の 微小硬度 ^c	象牙質 透過率 % ^a	象牙質 透過低下率 % ^b	象牙質表面の 微小硬度 ^c
$\delta -91.4$	89.5 ± 1.4^{a1}	9.6 ± 1.6^{A1}	$\delta -91.4$	89.5 ± 1.4^{a1}	9.8 ± 1.1^{A1}	$\delta -91.2$	89.8 ± 2.1^{a1}
$\delta -78.7$	60.1 ± 3.5^{b2}	20.9 ± 5.9^{A2}	$\delta -79.1$	57 ± 3.4^{b2}	38.9 ± 5.5^{B2}	$\delta -61.1$	85.3 ± 1.3^{a1}
$\delta -1.5$	86.7 ± 1.0^{a1}	97.3 ± 3.5^{B1}	$\delta -2.7$	86.1 ± 0.9^{a1}	106.8 ± 6.5^{C1}	$\delta +6.8$	89.1 ± 1.2^a
$\delta -8.4$	88.9 ± 1.1^{a1}	93.4 ± 5.1^{B1}	$\delta -6.6$	88.6 ± 1.1^{a1}	105.2 ± 5.5^{C1}	$\delta +5.2$	89.9 ± 0.9^{a1}
$\delta -43.4$	80.2 ± 1.1^{a1}	54.3 ± 8.5^{C1}	$\delta -45.7$	78.9 ± 1.1^{a1}	84.2 ± 9.1^{D2}	$\delta -15.8$	89.5 ± 1.0^{a1}
$\delta -20.2$	88.1 ± 1.0^{a1}	79.1 ± 6.3^{D1}	$\delta -20.9$	87.7 ± 1.1^{a1}	89.7 ± 5.5^{D1}	$\delta -10.3$	89.1 ± 0.8^{a1}
$\delta -23.5$	87.1 ± 0.9^{a1}	74.9 ± 4.5^{D1}	$\delta -25.1$	87.7 ± 1.0^{a1}	85.1 ± 5.1^{D1}	$\delta -4.9$	89.3 ± 1.0^{a1}

7つのグループ (n= 5) に分けた。試料は、内径5 cmのゴム製"O"リングのペアを備えた改良型Perspex™ (Perspex Distributions Ltd, London, UK) 分割室装置内に配置し、流体ろ過のために象牙質表面を標準化した。¹⁵

25 μ L容量の内径極小チューブ (Microcaps; Fisher Scientific, Atlanta, Georgia, USA) を圧力容器 (20 cm H₂O) と象牙質表面の間に水平に配置した。内径極小チューブを用いて得られた透水量を象牙質透過率 (Lp) に換算した。Lp = Q/Atで表されるが、ここではLpは象牙質透過率 (μ L cm⁻² min⁻¹)、Qは流体量 (μ L)、Aは象牙質の面積 (cm²)、tは時間 (分) である¹⁶。

500グリットの研磨紙を30秒間用いて均質なスミア層を作り、象牙質の最小透過率を評価した。その後、スミア層を除去し、35%オルトリン酸溶液 (PA) で象牙質表面を30秒間処理し、最も高い透過率 (Lp最大値=100%を任意に割当て) を評価した。Lpが100%では、試験処理後の象牙質透過性の変化を評価することが可能になる。象牙質透過率を算出し、最大Lp値 (100%) に対するパーセンテージ (Lp%) で表すために、各グループの試料を実験製品で処理した。本研究の目的は、象牙質の再石灰化およびミネラル形成による象牙細管閉塞性能の評価であるため、試料はラクダ毛ブラシで優しくなでるように製品を塗布する方法で処理された。最後に、試料を軽く水洗いして余分な製品を除去した上でRSSで24時間および48時間保存し、再石灰化が象牙質透過性に及ぼす影響を評価した。RSS (単位: g/L) は、CaCl₂ (0.103)、MgCl₂·6H₂O

(0.019)、KH₂PO₄ (0.544)、KCl (30)、HEPES (酸) 緩衝液 (4.77)、pH7.4であった。RSS溶液は12時間ごとに交換した。本研究では、0.3%のクエン酸溶液 (pH 3.2) も5分間使用し、各試料の耐酸性を試験した¹⁵。

ラマン顕微鏡による評価

厚さ1.5±0.1 mmの象牙質試料35片 (2×2 mm) を0.02 Mクエン酸 (pH 3.5) 中で72時間、37°Cで一定攪拌 (120 rpm/s) しながら完全に脱灰した。その後、試料を脱イオン水で大量に洗浄し、上記の実験製品で処理した。対照試料は脱イオン水中に保存し、異なる製品で処理した象牙質試料は24時間および48時間RSS溶液中に浸漬させた。

再石灰化期間終了後、20×対物レンズ付きLeica DM/LM光学顕微鏡とCCD検出器に研究用モジュール型分光器 (Renishaw InVia; Renishaw plc, Gloucestershire, UK) を取り付けたコンピュータ制御共焦点レーザーラマン装置で、試料を湿潤状態で検査した。ラマン散乱効果を引き起こすために、785nmで動作する近赤外ダイオードレーザーのスポットサイズ≤1 μ mを使用した。このモデルの200から3000 cm⁻¹までのスペクトルを対象範囲としている。波長と強度の較正は、シリコン標準とソフトウェアに統合された較正システム (WiRE 3.2; Renishaw) を用いて、製造会社の仕様にしたがって行われた。象牙質表面全体を電動コンピュータ試料台を用いてX軸とY軸に10.0 μ mのステップで検査し、ソフトウェア Wire 3.2 (Renishaw) を用いて961 cm⁻¹のハイドロキシアパタイトのピークを分析した。^{20, 21}

SEM-EDX評価

共焦点ラマン分光分析の非破壊手順に従い、試料を脱イオン水に1時間浸漬した後、脱水し、アルミニウム製支柱に装着し、炭素でスパッタコーティングした。試料の形態と微細構造を、エネルギー分散型X線微量分析装置 (EDX)

(Oxford Instruments, Abingdon, UK) を取り付けた日立 S3500 走査電子顕微鏡 (Hitachi High Technologies, Maidenhead, UK) を用いて、加速電圧 8kV の条件下で分析した。

微小硬度評価

また、厚さ 1.5 ± 0.1 の象牙質ディスク 35 枚 (2×2 mm) をクエン酸溶液 (0.02M, pH3.5) に 5 分間浸漬して部分脱灰を行った。ヌーブ硬度数 (KHN) で表す微小硬度測定は、微小硬度計 (Leitz Microhardness Tester; Ernst Leitz Wetzlar GmbH, Wetzlar, Germany) のヌーブ圧子を用いて、荷重 100 g、滞留時間 20 秒という条件下で行われた。各象牙質スライスを 1 つの試料単位とした。各象牙質表面から湿潤状態で無作為に 5 回測定し、先端セラミックスのヌーブ圧子硬度法 ($KHN = \text{定数} \times \text{試験荷重} / \text{圧子対角線の2乗}$) の計算式を用いて精緻化した。すべての圧痕の寸法は歯面の機械的な回復による収縮を避けるため、圧痕の直後に測定された。

統計的分析

統計的分析は SPSS16.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) プログラムを用いて行われた。結果の妥当性および正規性の確認のために Shapiro-Wilk W テストと Levene テストを使用した。統計的差異は、異なる予防措置の効果および異なる課題の差異を評価する二元配置分散分析によって確認された ($p, 0.01$)。グループ間の有意差 ($p, 0.05$) の分離と比較には、フィッシャーの最小有意差検定を使用した。

結果

象牙質透過性評価

PA エッチングを施した象牙質試料の透水性を、任意に 100% とみなすとともに、その後いずれかの実験処理を施した各試料の対照グループを表すものとした。

本研究で使用したすべての製品は、塗布直後および RSS 浸漬後の象牙質透過率に異なる影響を与えた (表 1)。例えば、モノカリウムモノ水素シュウ酸水溶液 3wt% は最も高い象牙質透過率の低下 (-91.5%) を引き起こした。一方、RSS 浸漬およびクエン酸浸漬では、統計的な変化は認められなかった。

生体活性ガラス、炭酸水素ナトリウムおよびアミノ酸グリシンパウダーを酸エッチングされた象牙質上に塗布しても、塗布直後の象牙質透過性は統計的に減少しなかった。一方、生体活性ガラス (Sylc) を脱灰象牙質上に塗布し、RSS に 24 時間浸漬した場合、統計学的に象牙質透過性の低下が認められ、48 時間浸漬後の象牙質透過性の低下は -79.1% であった。炭酸水素ナトリウム (Cavitrone Prophylaxis Powder) およびアミノ酸グリシン (EMS Perio) 予防用パウダーは RSS 浸漬後の象牙質透過性の低下を示さず、クエン酸の攻撃は自身の対象グループよりも象牙質透過性を増加させた (表 1)。

カゼイン・ホスホペプチド-非晶質リン酸カルシウム含有予防用ペースト (GC Tooth Mousse) に関しては、塗布後最大 -40.2% の透過率低下が認められた。炭酸カルシウム-アルギニン含有プロフィペースト (Colgate Sensitive Pro-Relief) 8% とリン酸ナトリウムカルシウム含有予防用ペースト (NovaMin®; Nupro Solution) 5% はそれぞれ -19.6% 、 -14.4% の透過率低下が認められたが、しかし、これらの材料は RSS 浸漬後も透過性の低下は認められず、クエン酸の攻撃は処理象牙質の透過性を増加させた (表 1)。

ラマン顕微鏡による評価

ラマン分光法では、健全象牙質 (対照グループ) は、 $400 \sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ にまたがるピークが特徴的で、象牙質の鉱相 ($\nu_1\text{-PO}_4^{3-}$; 水酸化炭酸アパタイト [HCA])^{17,18} を代表

する 961 cm^{-1} のピークが最も顕著だった。有機基振動モード（アミドおよびCH）は $1200\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ の領域で検出された（図1A-a）。逆に、完全に脱灰した象牙質試料では、 $400\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ の領域にピークがなく、リン酸基が存在しないことを示し（図1A-b）、有機成分を表す強い自家蛍光信号が観測された。生体活性ガラス（Sylc）で処理し、その後RSSに浸漬した脱灰試料は、 $400\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ の領域にピークを示し、 961 cm^{-1} に顕著なピークを示した（図1A-c）。炭酸水素ナトリウム（Cavitron Prophyl Powder）の塗布とRSS浸漬後は逆に、完全に脱灰した象牙質試料では、 $400\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ の領域にピークがなく、リン酸基が存在しないことを示し（図1A-b）、有機成分を表す強い自家蛍光信号が観測された。生体活性ガラス（Sylc）で処理し、その後RSSに浸漬した脱灰試料は、 $400\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ の領域にピークを示し、 961 cm^{-1} に顕著なピークを示した（図1A-c）。炭酸水素ナトリウム（Cavitron Prophyl Powder）の塗布とRSS浸漬後はHCAのピークが観察されず、逆に脱灰した象牙質コラーゲンを表す強い信号が明確に確認された（図1A-d）。脱灰した象牙質を他の製品で処理した場合も、RSSに24時間および48時間浸漬した場合も、ラマン測定でHCAの形成は認められなかった（図2B-E）。

SEM-EDX評価

さらに、象牙細管の咬合に伴う再石灰化過程を元素感受性検出器（EDX）を用いた走査電子顕微鏡によってさらに調査し¹⁹、実験計画に従って処理した象牙質表面内の元素組成（CaおよびP/O）を定性的に記録した。生体活性ガラス（Sylc）で処理し、その後RSSに浸漬した脱灰試料は、 400

$\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ の領域にピークを示し、 961 cm^{-1} に顕著なピークを示した（図1A-c）。対照となるCaおよびP/O比は、塗抹層に覆われた象牙質から記録された（図2A）。このグループの試料では、高いCaおよびP/O比が観察された（図2a）。生体活性ガラス（Sylc）で処理し、RSSに24時間および48時間浸漬した試料からは、同様のCa/PおよびO比が検出された（図2B）。炭酸水素ナトリウム（Cavitron Prophyl Powder）またはアミノ酸グリシン（EMS Perio）を塗布し、その後RSSに浸漬しても、象牙細管のCa濃度およびP/O比の増加は認められなかった（図2C、D）。

予防用ペーストで処理した試料でも同様の結果が得られた。これらの象牙質試料の細管からはCaおよびP/O比の増加は特に認められず（図3）、代わりに一定のケイ素（Si）の存在が認められた（図3c、d）。

微小硬度評価

この実験の結果、Knoop圧痕硬度（KHN）の値が高いほど、象牙質表面の表面硬度が低いことがわかった（表1）。例えば、健全象牙質（対照グループ）が最も高い表面硬度を示した（49.1）。一方、完全に脱灰された象牙質は、脱灰象牙質の粘弾性特性により、表層微小硬度値は89.9であった。脱灰象牙質に実験製品を即時に塗布した場合、脱灰象牙質で得られた微小硬度との比較において、微小硬度に変化は認められなかった。逆に、生体活性ガラス（Sylc）で処理した試料では、RSS浸漬により象牙質表層部の微小硬度が増加した。その他の製品で処理した試料には変化が認められなかった。

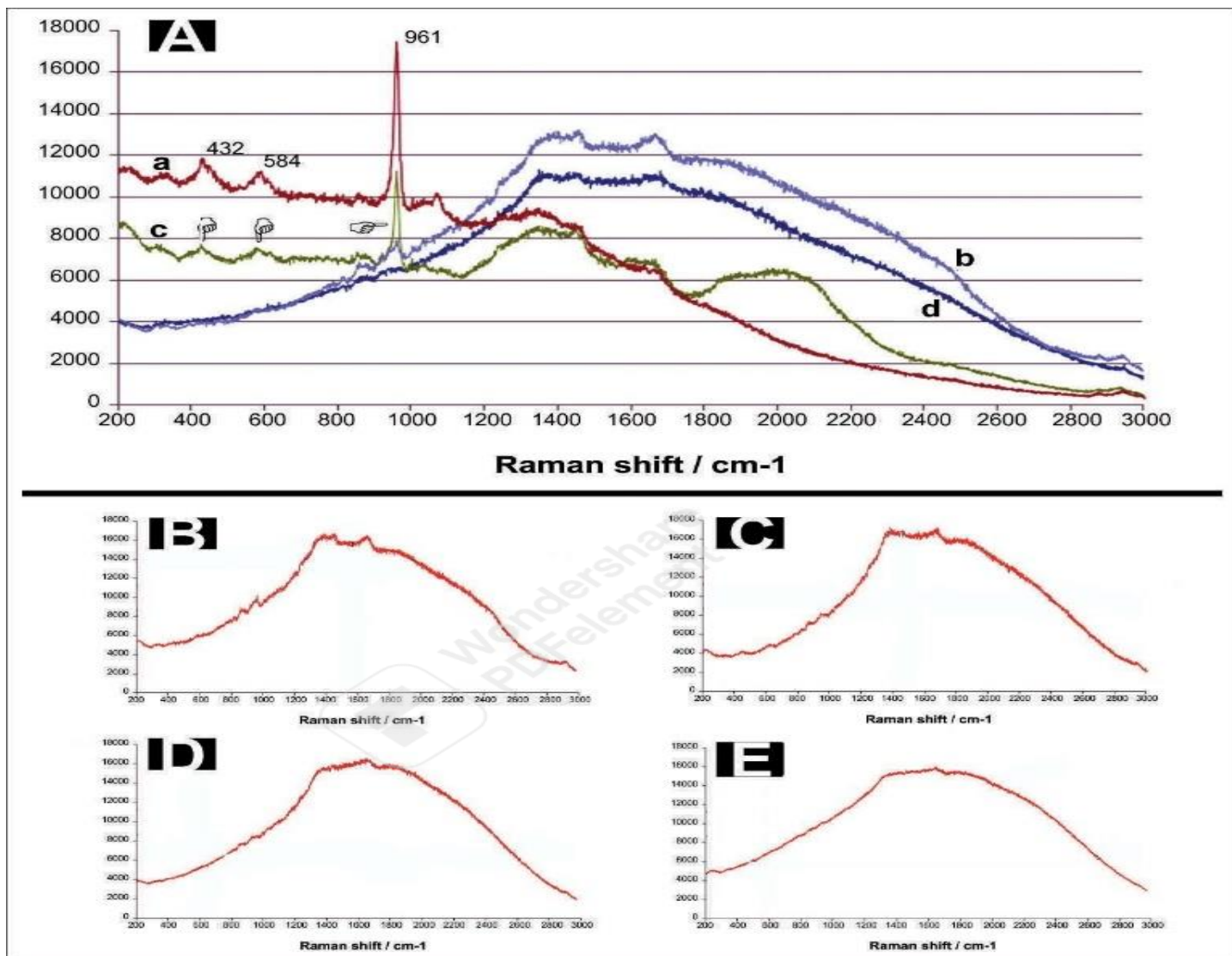


図1. 異なる再石灰化製品で処理し、その後24時間および48時間RSSに浸漬した象牙質の極小ラマン分光スペクトル。(A-a): 健全な象牙質は432、584cm⁻¹にピークがあることが示されており、960cm⁻¹に最も強度の高いピークがあることがHCA成分を表している(指示表示あり)。(A-b): 完全に脱灰された象牙質には、1200~3000cm⁻¹のラマン領域があり、象牙質の有機成分を表している。(A-c): 生体活性ガラスで処理し、RSS溶液に浸漬した象牙質のラマンスペクトル。432、584cm⁻¹にピークが存在し、960cm⁻¹にHCAの生成と沈着を表す最高ピークが存在することがわかる。(A-d): CPP-ACPで処理し、RSSに浸漬した象牙質のラマンスペクトル。HCAのピークは存在せず、有機成分を表す1200~3000 cm⁻¹の高強度領域のみが存在することが確認できる。この領域の強度は完全に脱灰された象牙質(A-b)で観察される強度よりもわずかに低い。炭酸水素ナトリウム(B)、アルギニンカルシウム-炭酸塩(C)で処理した試料でも同様の状況が観察された。Nupro(5%ノバミン生体活性ガラス含有)(D)、100%アミノ酸グリシン(E)でも同様の結果が得られた。

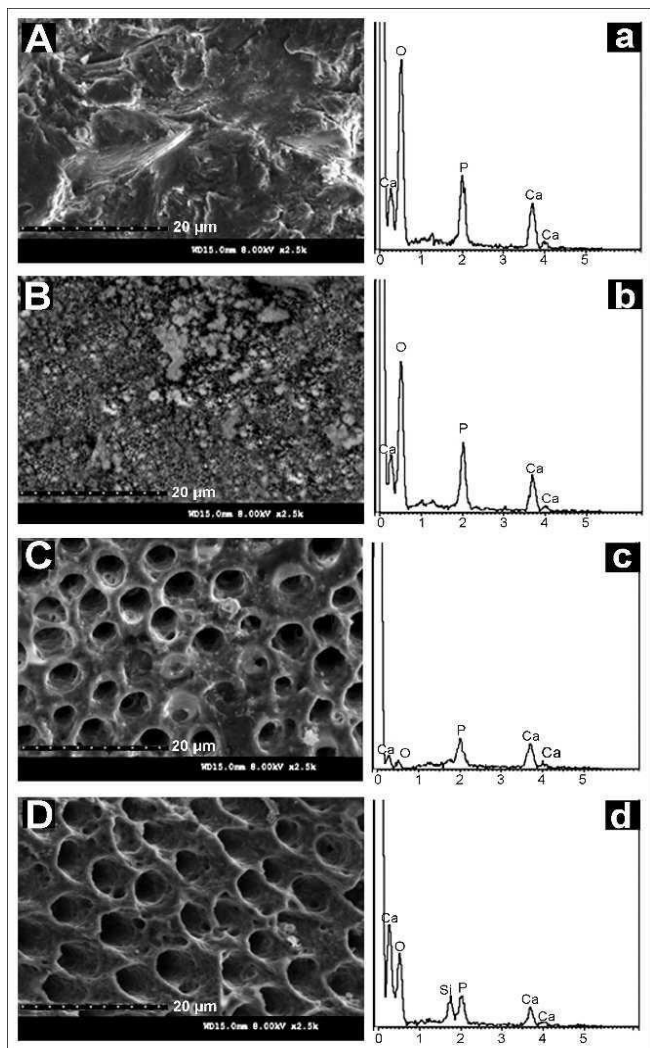


図2. 象牙細管が露出していないスミア層被覆象牙質（対照グループ）のSEM-EDX像（A）および鉱化象牙質特有のCaとP/Oの高いピークを有するEDXスペクトル（a）。脱灰象牙質表面を生物活性ガラス（Sylex）で処理し、RSSに浸漬すると、HCAの沈着が誘発された（B）。これらの試料のEDXスペクトルは、対照試料で観察されたものと同等の高いCaおよびP/Oピークの存在を示している（b）。（Cavitron Prophy Powder）（C）または（EMS Perio）（D）の塗布により、RSS浸漬後の信頼性の高いHCA沈着は認められなかった（c, d）。

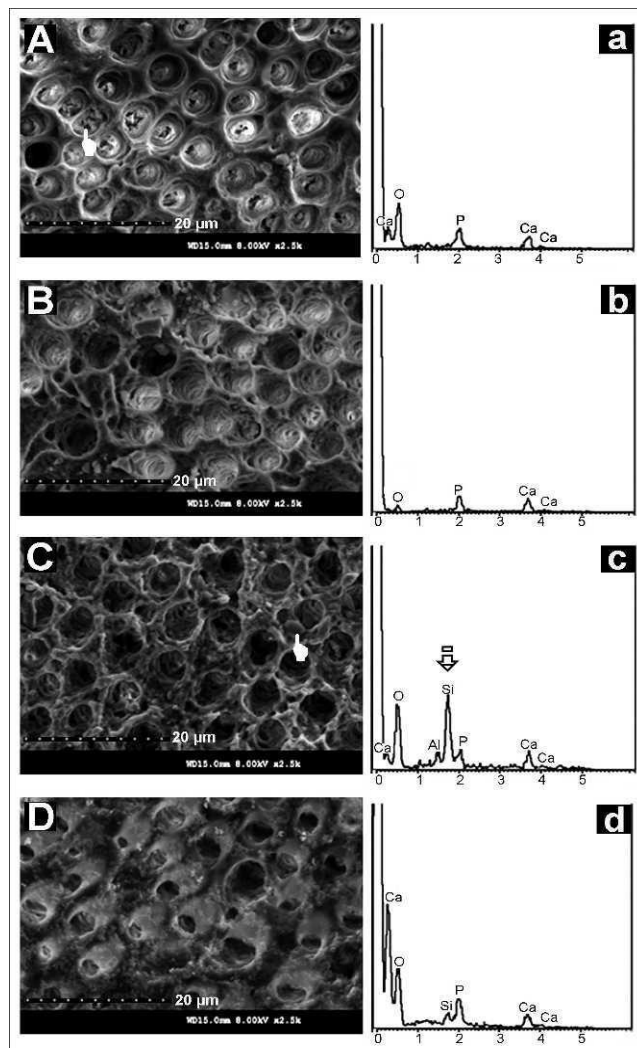


図3. (A): シュウ酸で処理した象牙質試料をRSSに48時間浸漬した際のSEM-EDX顕微鏡写真で、象牙細管（指示表示あり）内部の数ミクロン深さに結晶状の沈着物が存在することがわかる。EDXスペクトルは象牙質表面にCaとP/Oの低いピークを示している（a）。脱灰象牙質をNupro NU Solutions™で処理し、RSSに浸漬してもHCAの沈着は生じなかった。（B）：EDXスペクトルはCaとP/Oの低いピークを示している（a）。（C）：アルギニン-炭酸カルシウムを8%含むColgate Sensitive Pro-Reliefで処理した象牙質試料をRSSに48時間浸漬したSEM-EDX顕微鏡写真では、象牙質表面に破片が非常に少なく、多くの開いた象牙細管が存在する（指示表示あり）。また、この場合、EDXスペクトルは、CaとP/Oのピークが低く（a）、象牙細管内部にはケイ素が多く存在する（矢印）。GC Tooth Mousse（D）を塗布した場合、RSS浸漬後、管内に信頼性の高いHCAの沈着は生じなかった。しかし、象牙細管内腔の縮小（2-3μm）だけは認められた。同様に、CaとP/Oのピークが低く、象牙細管内にシリコンの存在が示唆された（d）。

考察

象牙質の再石灰化と象牙細管内の結晶性アパタイトの形成は、知覚過敏の臨床治療において、象牙質の透過性を低下させる信頼性の高いアプローチとなる可能性がある。^{11,12} さらに、この考え方は、レジン接着象牙質のハイブリッド層内の微小透過性を低減するために考慮される可能性がある。¹³ 予防歯科や保存修復歯科で使用される多くの歯科製品は、DHの臨床症状を軽減し、象牙質の再石灰化を誘導することをメーカーの主張として掲げてきた。しかし、これらの材料のほとんどは、人工スミア層やスミア栓の形成を促進する機械的な処置によってのみ、象牙細管を閉塞することができる。^{9,16} 現在利用可能な臨床材料の範囲では、活性成分の再石灰化の可能性に関する情報はほとんどない。本研究の目的は、一連の実験を行い、予防用ペーストやエアーパーリッシング/カッティングに含まれる生体活性物質が再石灰化や象牙細管の咬合を促進する能力を検査することであった。本研究では、生体活性ガラスパウダー (Sylc) が代替材料と比較して有意に象牙質再石灰化作用を示すことを実験的に確認した。生体活性ガラスは幅広い臨床応用が可能であり、現在では歯周病学における骨代替物、耐荷重性セラミックス製椎体スパーサー、エアーパーリッシュ法における象牙質脱感作剤として使用されている。^{15,17}

生体活性ガラスは、アルミナに代わる非機械的な窩洞形成剤として、エアカット/アブレーションユニットでの修復処置の際にも使用することができる。その臨床使用には、患者が感じる痛みの軽減、虫歯象牙質の選択的除去、応力集中を最小化する丸みを帯びた内腔角調製など、多くの利点がある。¹⁸ ラマン顕微鏡による評価では、Sylc生体活性ガラスで処理し、その後24時間および48時間RSSに浸漬した脱灰象牙質は、 432 cm^{-1} 、 584 cm^{-1} にピークが再出現するが、 961 cm^{-1} に高強度のシグナルを持つことを特徴とし (図1 Ac)、象牙質の再石灰化を示していた。^{19, 20} これらの試料で観察された象牙質の再石灰化は、RSSに浸漬した脱灰Sylcバイオガラス処理試料の表面微小硬度の増加と

いう結果により確認された (表1)。この結果は、本研究で使用したパウダーや予防用ペーストで処理した他のどのグループの試料でも観察されなかった。実際、生体活性ガラス以外の試験材料からは再石灰化を示すものは観察されなかった。象牙質のスペクトルは、完全に脱灰した象牙質の試料で観察されたスペクトルと同等であり、脱灰象牙質の存在を表す 1200 から 3000 cm^{-1} に及ぶ高強度領域が見られた (図1 Ab)。²⁰ また、今回使用したSylc生体活性ガラスが象牙質の再石灰化に適したアプローチであり得ることを、象牙質の透過性の評価によって確認することができた。実際、露出した象牙質をSylc生体活性ガラスパウダーで処理し、RSSに48時間浸漬した場合にのみ、象牙質透過性の低下が得られた (表1)。他方、予防用ペーストは脱灰象牙質への塗布直後には象牙質透過性を低下させたが、RSS浸漬後にはそれ以上の低下は認められなかった。

SEM-EDXの調査では、CaとP/Oのピークが低いスペクトルと、象牙細管内にケイ素のピークが一定に存在するスペクトルが示された (図3)。これらの結果から、本研究で用いられた予防用ペーストで処理した試料で観察された象牙質透過性の低下は、HCAの沈着を介さず、材料プラグの浸透による細管の閉塞によって誘導されたことが明らかになった。²¹ 逆に、SEM-EDXは、Sylc生体活性ガラスがHCAの細管内および象牙質表面への沈着を誘発することを示した (図2 B-b)。Sylc生体活性ガラスによる再石灰化プロセスは、同時の生体模倣プロセスによるものであり、ケイ酸 $\text{Si}(\text{OH})_4$ の放出およびそれに続くカルシウムとリン酸塩の沈着による重縮合反応によって特徴づけられる。実際、リン酸ナトリウムカルシウムを唾液や体液に類似した液体に浸すと、1分以内にナトリウムイオン (Na^+) は水素イオン (H^+ または H_3O^+) と置き換わり始める。²²⁻²⁴ この迅速なイオン交換により、カルシウム (Ca^{2+}) とリン酸塩 (PO_4^{3-}) 種が粒子構造から放出される。小幅な局所的かつ一時的なpHの上昇が起こり、粒子や唾液からカルシウムとリン酸塩の沈着を促進し、歯の表面と脱灰象牙質内に非晶質リン酸カルシウム層 (CaO-

P₂O₅)を形成する。化学反応とCa-P複合体の沈着が続くと、この層は結晶化しヒドロキシカーボネートアパタイトとなるが、化学的・構造的に生体アパタイトと類似している。^{22,23} 残留するリン酸ナトリウムカルシウム粒子とHCA層の組み合わせにより、再石灰化と象牙細管の物理的な咬合が実現する。HCAの形成を促進するリン酸ナトリウムカルシウムによって開始される化学反応は、接合処置中に使用された場合、脱灰した歯質の処理、さらなる脱灰の防止、および樹脂と象牙質の界面内のハイブリッド層の再石灰化にも有用である可能性がある。しかし、Nupro NU Solutions™はカルシウムイオンとリン酸イオンが塗布された生体活性ガラスを包含する唯一の予防用ペーストであるが、この製品は1回の塗布と24時間または48時間のRSS溶液への浸漬では象牙質の再石灰化を誘導できないことが本研究により証明された。

結論として、本研究で用いたすべての歯科材料は、再石灰化溶液(RSS)に24時間または48時間浸漬した後に象牙質を再石灰化し、象牙細管を咬

合することができるという帰無仮説を棄却しなければならない。

さらに、修復物の長寿命化を目的として、エアカットや接合の際に使用した場合のハイブリッド層に対する生体活性ガラスの再石灰化効果を評価するための研究が進められている。

謝辞

本研究は、Academy of Operative Dentistryの2010 Ralph Phillips Research Fundの支援を受けて実施した。また、「国立保健研究所(NIHR)イノベーションのための発明(i4i)プログラム」による、King's College London Trustに対する保健省の支援に謝意を表する。

(2010年12月6日受理)

