

歯質の脱灰/再石灰化メカニズムとフッ化物によるう蝕予防メカニズム

-化学的側面からの考察-

- 元東京医科歯科大学大学
う蝕制御学分野（特任講師）
- 鶴見大学歯学部
保存修復学教室（非常勤講師）
中嶋省志（2019年11月作成）

【目次】

緒言：本稿の目的

第1章：歯質アパタイトとそのモデル物質であるハイドロキシアパタイトの化学的特性

第2章：歯質アパタイト（HA）の酸溶解のメカニズム

第3章：HAにおける飽和度の意味すること

第4章：HAに関する飽和度の定義と例

第5章：HAに関する飽和度の計算法

第6章：脱灰液に含まれるミネラルイオンが脱灰に及ぼす影響

第7章：脱灰液に含まれるフッ化物イオンが脱灰に及ぼす影響

第8章：プラークに取り込まれたフッ化物の効果と動態

第9章：脱灰液に含まれる有機酸の濃度や種類の影響

第10章：初期う蝕（表層下脱灰）の特徴

第11章：表層下脱灰の形成メカニズム

第12章：局所塗布剤の作用メカニズムとフッ化カルシウム様物質

第13章：フッ化物による初期う蝕の再石灰化促進メカニズム

第14章：唾液タンパク質（リン・タンパク質）と再石灰化現象

第15章：隠れう蝕（hidden caries）の形成メカニズムと多様な病理所見

第16章：象牙質における過石灰化現象（インビトロでの結果）

【文責】

本稿の内容の文責は筆者1人にあり、東京医科歯科大学および筆者が属していた教室（う蝕制御学分野）や鶴見大学の関係者の方々とは、いっさい関わりはありません。ご意見やご質問のある場合は、筆者のアドレス（nakashima_japanjp@yahoo.co.jp）に直接、お問い合わせ下さい。

なお本稿では必要に応じ、日本での疫学調査（厚労省による実態調査など）や国内外の学術論文も参考に、目次に沿って解説を行った。それらの論文や著書の引用に当たって、本稿が商用を目的としていないので特段の引用許可を得ていない。読者には本稿を商用の目的で使用しないようお願いいたします。

また引用した図には、筆者によって改編（英語から日本語、説明文の追記・削除や変更、原文では表であるが分かりやすくするため図に改編など）されたものも含まれる。

本稿はあくまで私的な学習資料であって、いわゆる論文や書籍ではない。従って、考察や推察以外に筆者の感想や願望も含まれている。また誤字脱字や重複があるかも知れないが、ご容赦願いたい。読者が本稿の内容に関連した論文を公表する時は、本稿そのものは引用しないで、本稿で引用したオリジナル論文を引用して頂きたい。

さらに詳しく学習したい方は、図書「Demineralisation and remineralisation of the teeth: Proceedings of workshop in Samos Greece 1982, ed by Leach SA and Edgar WM. IRL Press. PO Box 1, Eynsham Oxford England」などを参照して下さい。

【筆者の略歴】

省略（本教室の HP に既報の「歯磨剤のはなし」を参照）

次のサイトにアクセス：<http://www.tmdu.net/publications/dissertations/>

緒言：本稿の目的

う蝕予防におけるフッ化物の研究の歴史は、PubMed に登録されている年代では古くは 74 年前の 1945 に遡る。それ以来、今日まで途絶えることなく基礎研究や臨床研究が行われ、素晴らしい成果をあげてきた。同時に予防の実践でも大きな実績をあげ、「フッ化物によってう蝕は予防できる」ことは、「当たり前なこと」として歯科界や社会に受け入れられてきた。また日本歯科保存学会の傘下にある「う蝕治療ガイドライン」でも、フッ化物の使用を推薦する時代となった。

しかしながら筆者には、歯科界でのフッ化物への関心が、この「当たり前なこと」だけに注がれるうに感じられる。本稿では、この「当たり前のこと」を支えている予防メカニズムやフッ化物のユニークさに関する基礎研究を紹介するため、本稿を執筆した。

そこで本稿では、フッ化物がなぜう蝕予防（脱灰抑制あるいは再石灰化促進）に有効を中心に、その化学的側面からのメカニズムについて先人達の研究成果、および筆者ら自身が行った研究成果を交えて解説した。先人達に心からの感謝を捧げたい。しかしフッ化物について化学的側面からのメカニズムに関する論文数は、膨大であり、とても筆者ひとりでもまとめられるものではない。そこで本稿では、先人達が残した実績のうち、かつて筆者が米国の Forsyth Institute に留学していたときに知り得た知見や、その後、筆者の研究領域と関連の深かった分野の研究、筆者が在籍した会社（ライオン株式会社）と東京医科歯科大学で在職中に、筆者ら自身が行った実験結果を中心に本稿の執筆に臨んだ。なお本稿で引用した筆者らの実験結果の 1 部には、予備実験で得られたもの（これらは未発表の資料）や学会の抄録のみの資料も含まれている。

本稿では「筆者ら」と記載しているのは、必ずしも筆者自身が筆頭著者とは限らない。煩雑さをさけるため、筆頭か否かにかかわらず全て「筆者ら」とした（共著名や協力者名は明記しなかった）。これらの研究の協力者にはここで感謝を述べたい。本稿が、う蝕学やフッ化物について勉学する人にとって少しでも役に立てれば、筆者の本望である。

謝辞：う蝕制御学分野の HP (<http://www.tmdu.net/publications/dissertations/>) に、本稿の掲載を許可して下さい。下された田上順次先生に感謝申し上げます。

第1章：歯質アパタイトとそのモデル物質であるヒドロキシアパタイトの化学的特性

歯の硬組織にはエナメル質、象牙質およびセメント質が含まれるが、セメント質は象牙質と類似している。従って脱灰や再石灰化を論ずる場合、本稿ではエナメル質と象牙質のみ取り上げる。

脱灰現象の解説をする前に、エナメル質と象牙質のミネラル分の特徴を解説する。その主要成分はリン酸カルシウムである。より特定すればヒドロキシアパタイト (HA) に”近い”リン酸カルシウムである。”近い”とは、純粋な HA と比べて少量または微量であるが、マグネシウム (Mg) やナトリウム (Na) などの金属イオンや炭酸イオン (CO_3^{2-}) などの陰イオンを不純物として含んでおり、HA と比べて非常に複雑な構成からなる。

例えば Moreno らは Ca, リン酸イオンおよび炭酸イオンに注目して、ヒトエナメル質と象牙質の化学組成の分析を行い、以下のような組成を報告した¹⁾。

エナメル質： $(\text{Ca})_{4.633} \cdot (\text{OH})_{0.633} \cdot (\text{PO}_4)_{2.633} \cdot (\text{HPO}_4)_{0.080} \cdot (\text{CO}_3)_{0.287}$

象牙質： $(\text{Ca})_{4.438} \cdot (\text{OH})_{0.438} \cdot (\text{PO}_4)_{2.438} \cdot (\text{HPO}_4)_{0.141} \cdot (\text{CO}_3)_{0.422}$

純粋な HA の化学式 $(\text{Ca})_5 \cdot (\text{OH}) \cdot (\text{PO}_4)_3$ と比べると以下のような点に気付く。①整数ではなく小数ばかりのイオン数で構成されている。②Ca と PO_4 のイオン数は HA のそれらより若干少ない。③HA に無い HPO_4 と CO_3 が含まれている。④エナメル質と比べて象牙質では Ca, PO_4 および OH のイオン数は少ない、その代わり HPO_4 と CO_3 のイオン数が多い。

エナメル質と象牙質の組成などの違いを表 1 に示した²⁾。これらの数値 (重量%) において、無機成分の値は、水分と有機成分を完全に除去し、残った無機物を元素分析して得られた数値である。一方、有機成分の値は、そのような操作を行わずそのまま分析した得られた数値である。この表で特徴的なことを下記に列挙する。①エナメル質と象牙質において、

Ca とリン酸 (表 1 では P) の含有量とその比は、ほぼ同じである。しかし HA より若干小さい、すなわち Ca の含有量が相対的に少ない。②象牙質において Mg と炭酸 (CO_3) の含有量がエナメル質より明らかに多い。逆に塩化物 (Cl) 濃度はエナメル質において高い。③無機成分の全量としては、エナメル質において多く、逆に水分は格段に少ない。④結晶性インデックスは象牙質においては、エナメル質の約半分である。すなわち結晶としては不純物のため歪んだ結晶である。⑤結晶の大きさは、HA と比べるとエナメル質および象牙質とも明らかに小さい。さらに象牙質の結晶の体積は、エナメル質と比べて、約 1/71 でしかない。このようにエナメル質と比べて象牙質の特性はかなり異なる。そのため象牙質では隙間や水分が多く、歯は柔らかい。またこの隙間が多いため酸が象牙質内に浸透しやすく、さらに小さい結晶性インデックスと小さい結晶サイズのため、エナメル質と比べて酸に溶解しや

表 1 エナメル質、象牙質および HA の組成の比較

組成 (wt%)	エナメル質	象牙質	HA
Ca	36.5	35.1	39.6
P	17.7	16.9	18.5
Ca/P	1.63	1.61	1.67
Na	0.5	0.6	-
Mg	0.44	1.23	-
K	0.08	0.05	-
CO_3	3.5	5.6	-
F	0.01	0.06	-
Cl	0.3	0.01	-
全無機成分	97	70	100
全有機成分	1.5	20	-
水分	1.5	10	-
結晶性インデックス	70~75	33~37	100
結晶サイズ	100 × 50 × 50 μm	35 × 25 × 4 μm	200~600 μm

すい。口腔内 (*in-situ*) での検討によると、象牙質はエナメル質よりも単位時間あたり約 3.1 倍速く脱灰される³⁾。

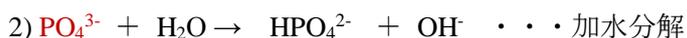
このような特性の違いのため、エナメル質および象牙質と HA とでは、酸溶解性はかなり異なる。しかし本稿では、リン酸カルシウムとしての酸溶解現象は、HA と同様に扱うことにする。すなわち HA をエナメル質および象牙質のミネラル分のモデル物質として考える。こうすることで歯質の脱灰や再石灰化現象に関し、理論的考察が簡潔となり、脱灰や再石灰化現象の理解が容易になる。本稿では全般にわたって、HA と表記した場合、化学的に純粋な HA を指す場合と、Mg や炭酸イオン (CO_3^{2-}) あるいは酸性リン酸イオン (HPO_4^{2-}) など様々な成分を含むエナメル質などの歯質ミネラル成分を指す場合と、必ずしも便宜的に区別していない。また FA と表記した場合も同様に、純粋な FA $[(\text{Ca})_5 \cdot (\text{F}) \cdot (\text{PO}_4)_3]$ を指す場合と、HA あるいは歯質ミネラルの水酸基 (OH) が部分的に F に置換されたフッ化物含有アパタイト (fluoridated apatite) 場合と区別していない。具体的にはフッ化物含有アパタイトは、 $(\text{Ca})_5 \cdot (\text{OH})_{1-x}(\text{F})_x(\text{PO}_4)_3$ と書き表され、x は 0~1 の範囲内で任意の数値を取る。ここでもフッ化物含有の歯質アパタイトは、Mg や炭酸あるいは酸性リン酸イオンを含む。このような煩雑を避けるため、単純に HA あるいは FA と表記したが、読者には文脈の中でこれらの区別は容易にできると思う。

表 2 に歯科分野で取り扱うリン酸カルシウムやカルシウム含有物質の化学式などを示した。命名法、化学式、略表記は文献や研究者によって若干異なるが、その差異にあまり拘る必要はない。この表で示した種々のリン酸カルシウムおよびその略表記は、本稿で随時言及する。

表 2. 歯科で取り扱う主なリン酸カルシウムとカルシウム含有化合物

リン酸カルシウム	英語表記	化学式	略表記	備考
ハイドロキシアパタイト	hydroxyapatite	$(\text{Ca})_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$	HA	歯、骨、歯石
フルオロアパタイト	fluoroapatite	$(\text{Ca})_5(\text{F})(\text{PO}_4)_3$	FA	歯、サメの歯
第 2 リン酸カルシウム 2 水和物	dicalcium phosphate dihydrate	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	DCPD	歯石、う蝕エナメル質
第 2 リン酸カルシウム無水和物	dicalcium phosphate anhydrate	CaHPO_4	DCPA	DCPD が脱水したもの
α, β リン酸 3 カルシウム	α, β -tricalcium phosphate	$\alpha, \beta-(\text{Ca})_3(\text{PO}_4)_2$	α, β -TCP	β タイプ : 歯石、う蝕象牙質
オクタ・リン酸カルシウム	octacalcium phosphate	$(\text{Ca})_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	OCP	歯石、骨?
アモルファス・リン酸カルシウム	amorphous calcium phosphate	$(\text{Ca})_a(\text{PO}_4)_b(\text{HPO}_4)_c \cdot \text{H}_2\text{O}$	ACP	自発的石灰化のできる。組成は一定しない
第 4 リン酸カルシウム	tetra calcium phosphate	$(\text{Ca})_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	TTCP	リン酸カルシウムセメントの原料
フッ化カルシウム	calcium fluoride	CaF_2	-	フッ化物塗布面
炭酸カルシウム	calcium carbonate	CaCO_3	-	犬などの動物の歯石

酸溶解性の観点からの HA の化学的特長は、この物質が非常に強い塩基性化合物であることを強調したい。身近な塩基性化合物は、水酸化ナトリウム (NaOH) や塩化カルシウム ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) などである。これらの水溶液が強い塩基性を示すことは誰もが知っている。HA の塩基性の由来は、この化合物に水酸基 (OH) が存在することによる。またリン酸基 (PO_4) が存在することも塩基性の要因となる。それは、 PO_4 が以下のような加水分解という反応を引き起こすからである。まず下の式 1) では、HA がそれぞれの構成イオンに解離し、OH⁻イオンを放出してアルカリ性をもたらす。式 2) では PO_4^{3-} は、 H^+ との結合定数 (K_3) が非常に大きいため ($K_3 = 2.2 \times 10^{12}$)、 H_2O の水素と反応して HPO_4^{2-} となり OH⁻ が生成される。



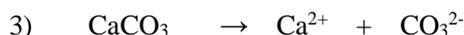
$$\text{結合定数} : K_3 = [(\text{HPO}_4^{2-})(\text{OH}^-)] / (\text{PO}_4^{3-}) = 2.2 \times 10^{12}$$



$$\text{結合定数} : K_w = (\text{H}_2\text{O}) / [(\text{H}^+)(\text{OH}^-)] = 10^{-14}$$

その結合定数 (K_3) は、水素イオン (H^+) と水酸基イオン (OH^-) が結合して水 (H_2O) が生成されるときに結合定数 ($K_w = 10^{-14}$) に、ほぼ匹敵する。ちなみに水のイオン積は、 K_w の逆数 (10^{14}) である。こうした2つの要因から、潜在的には HA は強いアルカリ性物質としての性質を有する。しかし pH 中性領域での HA の溶解性は極めて低いため、 HA の水スラリーはアルカリ性を示さない。FA の場合は、その構成イオンに OH^- は存在しないが、 PO_4^{3-} が存在するため HA と同様、潜在的には強いアルカリ性を示す。もし HA および FA が水に溶解性であれば、 NaOH と同様、強いアルカリ性を示すはずである。そのような物質を「潜在的にアルカリ性物質」と呼ぶ。

同様に、 PO_4^{3-} を含むリン酸カルシウム (TCP , OCP , ACP , TTCP) も、潜在的にはアルカリ性の特性を有する。それらと比較して PO_4^{3-} を含まないリン酸カルシウム (DCPD , DCPA) は、ほぼ中性の特性を有する。表 2 には記載していないが、 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ というリン酸カルシウムは、酸性の性質を示す。ちなみに炭酸カルシウム (CaCO_3) は下記の加水分解と脱炭酸ガス反応を起こし (式 3 と 4) , その結果、弱アルカリ性の性質を示す。



(CO_2 は気体として水系から空気中に拡散し、反応が右に進む)

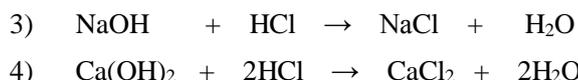
第 2 章 : 歯質アパタイト (HA) の酸溶解のメカニズム

下記の式 1) と 2) を用いて、 HA の酸溶解のメカニズムを解説する。 HA 粉末を水に分散すると、下記の式 1) のようにわずかに溶解して化学平衡に達する。



化学平衡とは化学変化が自然に起きる環境下において、もうそれ以上は変化が起きない状態で、一般的には最も安定な状態である。より厳密には、式 1) において右に進む反応速度と左に戻る反応速度が同じになった状態である。式 2) に示したように、この平衡状態に酸 (H^+) が導入されると、右辺に示したような変化が起きる。すなわち H^+ の一部は OH^- と結合して水 (H_2O) を形成する。また H^+ の一部は PO_4^{3-} と結合して 3HPO_4^{2-} となる。すなわち平衡状態での OH^- と PO_4^{3-} の濃度が低下する。すると平衡状態が崩れ、不安定になる。 HA はこの平衡状態を維持するため、低下した OH^- と PO_4^{3-} の濃度を回復しようとして HA から OH^- と PO_4^{3-} を遊離する。その結果、安定な HA 結晶性が崩壊し、 Ca^{2+} も HA から遊離する。こうして HA は式 1) で示した平衡状態に戻ろうとする。この一連の化学変化は酸塩基反応 (または中和反応) と同じであり、 HA の溶解現象の本質である。ただし 1) と 2) の反応式は、概念的に分りやすく

するため簡略化して示してある（実際には、 PO_4^{3-} 以外に HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , CaHPO_4 などが関与）。この HA の溶解反応は、下記の 3) と 4) 式で示した水酸化ナトリウムあるいは水酸化カルシウムと塩酸の反応と同じである。生成した NaCl あるいは CaCl_2 はその溶解度の範囲内でイオン化して溶ける。このような酸



塩基反応は、化学反応の中では極めて強い反応で、酸と塩基が共存する限り避けられない反応である。すなわち HA は、酸に対して極めて弱い性質（宿命）を有する。

しかしここで留意しなければならないことは、プラークにおけるエナメル質の脱灰では、プラークに含まれる酸は、エナメル質に含まれる塩基の量と比べてはるかに少ない（有限の量）。そのため、酸は短時間で中和されて消失し、一定の短時間後には脱灰は停止する。この中和反応と唾液による酸の除去作用（中和と洗い流し）によって酸性 pH は中性に回復する。このような一連の現象を **Stephan curve** と呼ぶ¹⁾。Bowen は、さらにプラークではアンモニアやアミン類などの塩基性物質も産生されているので、**Stephan curve** に対して中和する作用があると解説している¹⁾。

EDTA には酸性ではないが、歯質を溶かす作用があり、根管の清掃でしばしば使用される。そのメカニズムは、上述の酸で歯質を溶解させるメカニズムとは若干異なる。上で解説したように HA はわずかに溶けて平衡状態となる（式 5）。ここに EDTA が導入されると、 Ca^{2+} は EDTA と強く結合し、主に $[\text{EDTA} \cdot (\text{Ca})]^{2+}$ となる（Ca のキレート

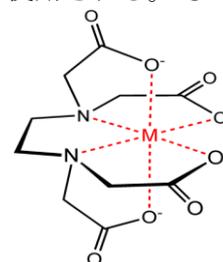


図 1 EDTA が M (Ca) に結合した状態

ト化：式 6)。図 1 に Ca^{2+} がキレート化された様子を示す。通常 EDTA と Ca^{2+} とは、ほぼ定量的に結合反応を起こす。すなわち Ca^{2+} が EDTA より過剰に溶解していれば、ほぼ 100% の EDTA は Ca^{2+} と結合する（逆も同様）。その結果、キレート化されていない Ca^{2+} 濃度が低下して、酸の場合と同様、平衡状態が崩れる。HA はこの平衡状態を維持しようとして、 Ca^{2+} を遊離する。同時に安定な HA 結晶性が崩壊し、 PO_4^{3-} と OH^- も HA から遊離する。こうして HA は平衡状態に戻ろうとして歯質は溶解する。この溶解に伴い OH^- と PO_4^{3-} とが遊離して EDTA 溶液の pH は上昇するはずである。しかし pH が中性領域では、一部の EDTA 分子は H^+ と結合 ($\text{EDTA} \cdot \text{H}_2^{2-}$) しているので、この H^+ は遊離した OH^- および PO_4^{3-} と反応して、 H_2O および HPO_4^{2-} を形成し pH は上昇しにくい。

さて歯質の脱灰と再石灰化を考えると、HA 以外に数種類のリン酸カルシウムの酸溶解性を理解しておく必要がある。図 2 にそれらのリン酸カルシウムの酸溶解性を示した²⁾。このグラフは、**solubility isotherm**（等温溶解）と呼ばれる。横軸は pH、縦軸は対数表示の Ca 溶解量（mol/L およびそれに対応する ppm）である。この図は、後で述べる「熱力学的溶解度積」という特性値と密接に関係しており、ある計算に基づいて作成される。この図にはエナメル質の溶解性曲線は記載されていないが、HA の曲線から垂直方向に少し上に平行移動した位置すると推察される（緑色の破線）。この図から重要なポイントを以下に列挙する（DCPD と OCP の略記の意味は、第 1 章の表 2 を参照）。

① HA では、pH が中性から弱アルカリ性付近で最も低い溶解性を示し、pH が 1 ずつ低下すると約 10 倍の高い溶解性を示す。エナメル質の方が HA より数倍高い溶解性を有すると推察される。

② DCPD は、中性付近から pH 弱酸性の領域では、HA と比べて高い酸溶解性を示すが、それ以下の pH ではむしろ低い溶解性を示す。両者におけるこの違いは、エナメル質での表層下脱灰の形成メカニズムと深くかかわっている。このことは、第 11 章で詳しく解説する。

③ OCP は HA と類似な pH 依存性の溶解特性を示すが、溶解性は HA より高い。この特性は、脱灰歯質の再石灰化を促進する歯科材料の 1 つとして注目されている³⁾。また OCP はエナメル質や骨の石灰化形

成あるいは歯石形成の過程にて観察され、HA の前駆体として知られている^{4,5)}。すなわち生体内ではまず OCP が生成し、その後、これが加水分解を受けて、より安定な HA に”近い”リン酸カルシウムに変化する。

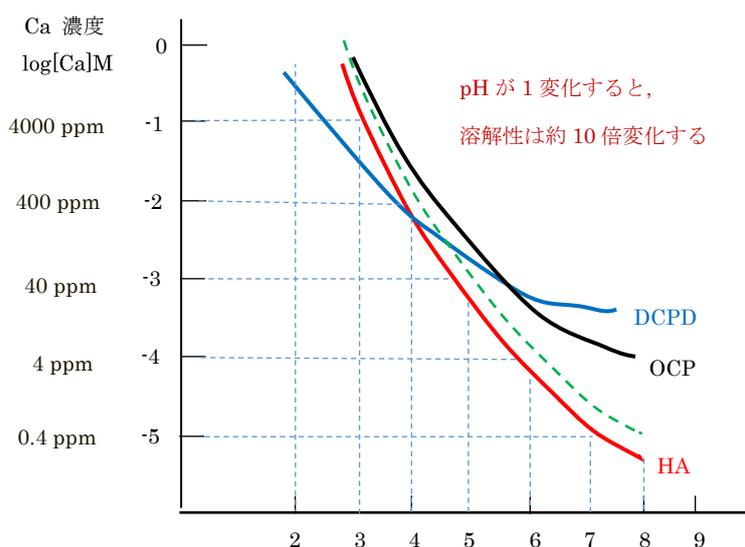


図 2. 代表的リン酸カルシウムの酸溶解性 (solubility isotherms)

第 3 章 : HA における飽和度の意味すること

飽和度^{1,6)}とは、脱灰と再石灰化現象を定量的に理解するために必要な考え方であるが、その内容はかなり物理化学的な側面が強く、一般には理解しにくい。本章では理論的な解説を行うが、必ずしも全て理解する必要はない。以下のような 4 つの定性的な結論だけを理解すれば十分である。詳しくは第 4 と 5 章で解説する。

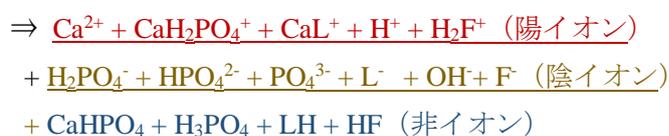
- 1) 脱灰されやすさは、pH の程度だけでは左右されない。
- 2) pH の値や酸の濃度が同じでも、Ca やリン酸イオンの濃度が高いほど脱灰されにくくなる。場合によっては、pH4.3 でも脱灰されなくなる。このことと 1) と合わせて、臨界 pH は一定の値をとらず Ca やリン酸イオンの濃度によって変動する⁶⁾。臨界 pH については、第 6 章で言及する。
- 3) 仮に pH や酸の濃度が同じで、かつ Ca やリン酸イオンの濃度が通常の範囲内であっても、ppm あるいはサブ ppm レベルのフッ化物イオン (F) が存在すれば、脱灰は効果的に抑制され、1 ppm レベルで pH4.3 でも脱灰されなくなる場合がある。
- 4) フッ化物による脱灰抑制効果とは、脱灰される歯質ミネラルの量をフルオロアパタイト (FA) の沈着として補う現象である。この現象は、酸性下で歯質アパタイトの表面に FA が石灰化沈着する反応である。このことと 3) と合わせて第 7 章で詳しく言及する。
- 5) 実験室実験において、もし脱灰液の組成 (Ca, リン酸イオン, 有機酸の種類と濃度, pH, F 濃度など) が事前に判明していれば、その数値を用いて飽和度が計算でき、歯質の脱灰の起きやすさ (あるいは再石灰化の起きやすさ) が事前に推定できる。このことから、人工初期う蝕のモデルとして脱灰程度の異なるサンプルを作成できる。同様に、再石灰化の進行程度も任意に選ぶことができる。
- 6) プラークを採取し、そこに含まれる溶解したミネラル成分 (Ca とリン酸イオン濃度) の分析と pH の

測定を行うことで、そのプラークの脱灰作用の程度を推定することができる。同様に唾液のミネラル成分の分析と pH を測定することで、その唾液の再石灰化作用の程度を推定することができる。ちなみに唾液が、HA 以外の各種リン酸カルシウム (TCP, OCP, DCPD) に関して過飽和であることが確かめられている⁷⁾。

第4章：HA に関する飽和度の定義と例

次のような1つの具体的な例を用いて、本章を解説する。HA 粉末を乳酸と低濃度の F⁻ (ただしフッ化カルシウム CaF₂ を形成しない程度の F 濃度) を含む溶液に溶解させ、まだ HA 粉末が溶け切らない「平衡状態」を想定する。このとき乳酸の溶液には、下記の式 1) で右に示した成分 (陽イオン, 陰イオン, 非イオン: 表 1 も参照) が溶解している。なお下記の式 1) と表 1 では乳酸を LH, 乳酸イオンを L と表記した。表 1 に示した成分のうち, CaH₂PO₄⁺, CaL⁺ あるいは CaHPO₄ を「イオンペア」と呼ぶこともある。

1) HA + LH + F⁻



ここでの平衡状態では、陽イオンとして 5 種類、陰イオンとして 6 種類、非イオンとして 4 種類を示した (ただし、これ以上のイオン種と非イオン種を扱った論文もある)。

表 1 にて赤枠で囲ったイオンのみに着目して、平衡状態における $(\text{Ca})^5 \times (\text{OH})^1 \times (\text{PO}_4)^3$ という掛け算で表される量 (べき乗の積) を考える。 $(\text{Ca})^5 \times (\text{F})^1 \times (\text{PO}_4)^3$ も同様である。この値を K_{HA} と表記する (FA の場合は K_{FA})。ここで、カッコはそれぞれのイオンの活量 (ion activity) と呼ばれる量で、その濃度に活量係数 (activity coefficient: $0 < \gamma \leq 1.0$) を掛けた量である。なお非イオン性の溶解成分の活量係数は 1.0 と定められている。 K_{HA} の値は温度が一定であれば、それぞれのイオン濃度や pH に関係なく常に一定の値を示す。化学の分野では、これを熱力学的溶解度積という (一般に K_s と表記)。 K_{HA} の実測値は、研究者によって若干異なるが、 $10^{-58} \sim 10^{-59}$ レベルである。もし HA を $(\text{Ca})_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ と表記してある場合は、 K_{HA} の値は $(\text{Ca})^{10} \times (\text{OH})^2 \times (\text{PO}_4)^6$ という式で計算 (2 乗倍) され、 $10^{-116} \sim 10^{-118}$ レベルとなる。ちなみに $(\text{Ca})_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ と表記される場合は、HA 結晶の最小単位である単位胞を意味し、 $(\text{Ca})_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$ と表記される場合は化学組成式を意味する。

HA 以外に種々のリン酸カルシウムの熱力学的溶解度積が知られている¹⁻⁵⁾ (表 2)。この

表 1 関与するイオン種と非イオン種

陽イオン	陰イオン	非イオン
Ca ²⁺	H ₂ PO ₄ ⁻	CaHPO ₄
CaH ₂ PO ₄ ⁺	HPO ₄ ²⁻	H ₃ PO ₄
CaL ⁺	PO ₄ ³⁻	LH
H ⁺	L ⁻	(H ₂ O)
H ₂ F ⁺	OH ⁻	HF
	F ⁻	

表 2 各種 Ca 化合物の熱力学的溶解度積

Ca 化合物	熱力学的溶解度積 [-log(Ks)]	-log(Ks)/N*
(Ca) ₅ (F)(PO ₄) ₃ ¹⁾	60.5	6.72
(Ca) ₅ (OH)(PO ₄) ₃ ¹⁾	58.4	6.51
ヒトエナメル質 ³⁾	54.26 (平均値)	6.03
ヒト象牙質 ⁴⁾	44.52	5.65
β-(Ca) ₃ (PO ₄) ₂ ¹⁾	28.9	5.78
(Ca) ₈ (H) ₂ (PO ₄) ₆ ·5H ₂ O ²⁾	96.9	4.29
CaHPO ₄ ·2H ₂ O ¹⁾	6.59	3.30
CaF ₂ ⁵⁾	10.45	3.48

*N: 関与するイオンの数

表では、対数にマイナスの符号を付けた値が示してある。この数値から、水に対する溶解性が推定できる。それには、この数値を構成イオン数 (N) で除した値で比較する (表の $-\log(K_s)/N$)。この値が大きいほど、水に対する溶解性が低い。例えば FA と HA では水に対する溶解性に大きな差はない。それに対し、HA とヒトエナメル質では、ある程度の差はあると推察される。さらにヒトエナメル質とヒト象牙質では、もっと大きな差が推察される。

さて次に、飽和度について概念的に解説する。1例としてプラークや唾液あるいは歯髄液を化学分析して、Ca と全リン酸イオン濃度および pH が測定できたとする。別の例として、インビトロ実験で調製した脱灰液や人工唾液に含まれるこれらの数値が既知とする。そしてこれらの値から、まず $(Ca)^5 \times (OH)^1 \times (PO_4)^3$ の値を計算する。この量を $I_{p(HA)}$ と表記する (I_p は Ion Product の略)。次いでこの $I_{p(HA)}$ を K_{HA} で割った値を求める。この商の値を DS_{HA} と表記する (Degree of Saturation regarding HA)。すなわち $DS_{HA} = (Ca)^5 \times (OH)^1 \times (PO_4)^3 / K_{HA}$ の値を計算する。この DS_{HA} を HA に関する、それぞれの溶液 (プラーク, 唾液, 歯髄液) の飽和度と呼ぶ。FA の場合は、 $(Ca)^5 \times (F)^1 \times (PO_4)^3$ という量を考える。この値を K_{FA} と表記する。この測定値も研究者によってやや異なるが、 10^{-60} レベルである。 K_{HA} の場合と同様、 $DS_{FA} = (Ca)^5 \times (F)^1 \times (PO_4)^3 / K_{FA}$ の値を計算する。

表3に示したように、 DS_{HA} または DS_{FA} の値が 1.0 より小さい場合は、HA あるいは FA の溶解が起きる。1.0 より大きい場合は HA あるいは FA の石灰化沈着が起きる。FA の場合は、フッ化物による脱灰抑制あるいは再石灰促進効果が期待できる。1.0 の場合は平衡状態にあり、見かけ何も起きない。

表3 飽和度の値と脱灰・再石灰化の可能性

$DS > 1.0$	→ HA または FA の析出 (再石灰化)
$DS < 1.0$	→ HA または FA の解 (脱灰)
$DS = 1.0$	→ 平衡 (変化なし)

上の説明を図1にて図解する。飽和度を決定する因子には、HA または FA を溶かす因子とこれらを析出させる因子がある。前者には酸の pH と濃度や種類などが該当し、後者には Ca やリン酸イオンあるいは pH (すなわち OH) や F などの HA や FA の構成イオンが該当する。図の中央は、コップに水がちょうど満杯となっている。これは平衡

状態を示し、見かけ何も変化が起きない。左のコップは水で満たされていなく、まだ水を受け入れる余地がある。この余地のため、このコップのカラの容積部分だけ HA や FA を脱灰できるポテンシャルがある。右のコップはその容積以上に水が注がれ、溢れる状態にある。この溢れる容積分だけ HA や FA を析出 (石灰化) できるポテンシャルがある。

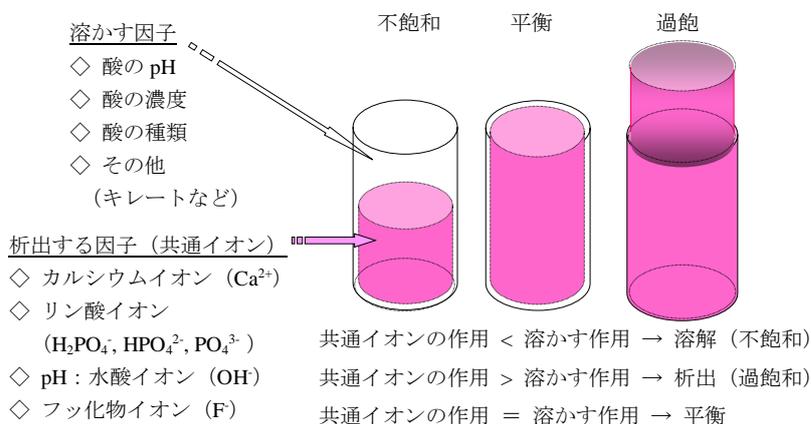


図1 コップに水を満たすモデルで飽和度を理解する概念図

in-vivo 試料液 (プラーク液, 唾液, 血液, 歯髄液など) やそれを模した人工的に調製した試料液の飽和度が、これから検討したい研究において事前に既知であると、以下のようなメリットが得られる (一部、第3章での解説と重複する)。

1) その試料液は、HA あるいは FA などのミネラルを生み出す (あるいは溶かす) ポテンシャルが分り、

個々の結果の比較やその考察が有機的に結びつく。*in-vitro* 研究では、実験計画の立案に威力を発揮する。

- 2) もしその試料液が過飽和にもかかわらず、石灰化物の形成や沈着が見られなかった場合は、石灰化を抑制する物質がその試料液に一定濃度以上に含まれていることが推察される。その代表的な物質の1つがリン・タンパク質⁶⁻⁹⁾であり、もう1つの物質が歯石形成を抑制するピロリン酸塩と亜鉛化合物などである¹⁰⁻¹⁴⁾。その物質が化学的に特定できれば、その条件下での石灰化のメカニズムが、より深く理解できる。リン・タンパク質については第14章でも言及する。また筆者による総説「歯石? もう一度見直してみよう、この不思議」に詳しい (<http://www.tmdu.net/publications/dissertations/>)。

さて Moreno らは、う蝕経験の異なる被験者のプラーク液について、ミネラルイオン濃度や有機酸の濃度および pH などを分析した¹⁵⁾。筆者はそのデータをもとに、HA に関する飽和度を計算した。ただし計算の都合でミネラルイオン以外のイオン

(K⁺, NH₄⁺, Cl⁻など) の濃度は 50 mM の NaCl で代替した。その結果を表4に示した。う蝕経験のない被験者と DMFT スコアが 10 以上の被験者では pH 以外、その組成に大きな違いはない。しかし飽和度に関しては、う蝕経験のない被験者で高い値を示した。これは、同被験者において pH が高いからである。飽和度に関し、pH が大きく寄与することが分る。この表には記載していないが、彼らは pH の高さアンモニウムイオン (NH₄⁺) 濃度と相関性を認めている¹⁵⁾。恐らく NH₄⁺ は、唾液に含まれる尿素の加水分解 (ウレアーゼ酵素) によってもたらされるアンモニア (NH₃) に由来すると考えられる。NH₃ は、水 (H₂O) を加水分解して水酸基 (OH⁻) を生成し、その液体をアルカリ性にする性質がある (下式 1, 2)。



このことからう蝕に罹患しにくい人は、何らかの理由で唾液由来の尿素濃度が高く、かつウレアーゼ活性も高いことから、プラーク pH の低下が起こりにくくなる。その結果、う蝕になりにくいことが推察される¹⁶⁾。

第5章：HA に関する飽和度の計算法

上で飽和度の概念を解説した。これが理解できれば本章での計算プロセスは、必ずしも理解できなくとも、以下の脱灰および再石灰化現象やフッ化物の作用メカニズムは十分理解できる。従って本章はスキップしても差し支えない。しかしながら本稿の目的の1つが、これらの現象やメカニズムを理論的に理解すること、そのためには飽和度の計算方法を明確に示しておくことは必要である^{1,2)}。

まず乳酸が産生されたプラーク液を想定する。便宜的に、その液体には一定濃度のミネラルイオンや乳酸などが含まれ、一定の pH であるとする。表1にその状態を、化合物の種類とその濃度およびその化合物の活量係数 (γ) を用いて記述した。非イオンの化合物の活量係数は 1.0 である。この表にて化合物

表4 HA に関する唾液およびプラーク液の飽和度

構成	DMFT = 0	DMFT > 10
可溶性全 Ca ²⁺ (mM)	5.6	5.8
可溶性全リン酸 (mM)	15.5	16.3
NaCl (mM)	100	100
全有機酸 (mM)*	93.6	87.7
pH	6.35	5.85
飽和度 (HA)	1.0×10 ¹¹	1.7×10 ⁸

*有機酸：コハク酸、乳酸、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、ブチル酸の合計濃度

の濃度は[]で示し、その濃度が既知量である場合は[]*とした。また後の計算の便宜のため、全 Ca 量 (total Ca) , 全リン酸量 (total P) , 全乳酸量 (total L) および全フッ化物量 (total F) も導入した。

次いで、これらの化合物について成立している 4 つの化学法則 (①結合定数, ②電気的中性の原理, ③質量保存の法則, ④濃度と活量および活量係数の関係) に従って、表 1 で示した記号 (濃度, 活量係数) を用いて、化合物同士の「関係式」を記述する。表 2 に示した 16 の「関係式」には、9 の既知量と 13 の

表 1 イオン濃度の計算方法 (1)

<例> CaCl ₂ + KH ₂ PO ₄ + 乳酸 (LH) + NaCl + KOH (pH)								
化合物	濃度	活量係数	化合物	濃度	活量係数	化合物	濃度	活量係数
Ca ²⁺	[m]	γ_m	LH	[LH]	$\gamma_{L1} (=1.0)$	H ⁺	[H]*	γ_{H1}
CaHPO ₄	[X]	$\gamma_x (=1.0)$	L ⁻	[L]	γ_{L2}	OH ⁻	[OH]*	γ_{H2}
CaH ₂ PO ₄ ⁺	[Y]	γ_y	CaL ⁻	[CaL]	γ_{L3}	Na ⁺	[Na]*	γ_{Na}
(total Ca)	[M]*	-	(total L)	[L ₀]*	-	K ⁺	[K]*	γ_K
H ₃ PO ₄	[P ₀]	$\gamma_{P0} (=1.0)$	F ⁻	[F]	γ_F	Cl ⁻	[Cl]*	γ_{Cl}
H ₂ PO ₄ ⁻	[P ₁]	γ_1	HF	[HF]	$\gamma_{F1} (=1.0)$			
HPO ₄ ²⁻	[P ₂]	γ_2	HF ₂ ⁻	[HF ₂]	γ_{F2}			

既知量 (計 9) : [M]*, [P]*, [L₀]*, [F₀]*, [H]*, [OH]*, [Na]*, [K]*, [Cl]*
非イオン種の活量係数 ($\gamma_x, \gamma_{P0}, \gamma_{L1}, \gamma_{F1}$) は、1.0 と定められている。

未知量の濃度と 14 の未知量の活量係数が含まれている (未知量の合計は 27)。すなわち 27 の未知量を含む 16 の関係式からなる連立方程式が成立している。また活量係数は、溶液中のイオン強度 (ion strength: I) と密接な関係があることから、下記の Debye-Huckel³⁾の式も連立方程式の解を得るときに考慮に入れる。この式にある A と B は温度に依存した定数、 z_i はそれぞれのイオンの電荷数 (定数) , r_i は

表 2 イオン濃度の計算方法 (2)

結合定数	電気的中性の原理	質量保存の法則
(既知)	<陽イオンの電荷数>	[P]*=[P ₀]+[P ₁]+[P ₂]+[P ₃]+[X]+[Y] 12)
(H)(H ₂ PO ₄)/(H ₃ PO ₄)=K ₁ 1)	2[m]+[Y]+[CaL]+[H]+[Na]+[K]	[M]*=[m]+[X]+[Y]+[CL] 13)
(H)(HPO ₄)/(H ₂ PO ₄)=K ₂ 2)	<陰イオンの電荷数>	[L ₀]*=[LH]+[L]+[CaL] 14)
(H)(PO ₄)/(HPO ₄)=K ₃ 3)	[P ₁]+2[P ₂]+3[P ₃]+[L]+[F]+	[F ₀]*=[F]+[HF]+[HF ₂] 15)
(CaHPO ₄)/(Ca)(HPO ₄)=K _x 4)	[HF ₂]+[OH]+[Cl]	
(CaH ₂ PO ₄)/(Ca)(H ₂ PO ₄)=K _y 5)	陽イオンの総電荷	
(LH)/(H)(L)=K _a 6)	= 陰イオンの総電荷 11)	
(CaL)/(Ca)(L)=K _b 7)		
(H)(F)/(HF)=K _{F1} 8)		
(HF ₂)/(HF)/(F)=K _{F2} 9)		
(H)(OH)=K _w 10)		
		濃度と活量の関係式 (A)=[A] γ_A 16)

それぞれのイオンの半径 (定数) である。これらの定数は理化学辞典などに掲載されている。下記のイオン強度⁴⁾を求める式にて、 M_{conc} は個々のイオンの濃度で、 M_{charge} はそのイオンの電荷である。 Σ はその溶液に含まれているイオンの数 (1 から n まで) の総和を意味する。

このような場合、この 16 の連立方程式から 27 の未知量は計算できない。しかし次のようなループ計

$$\text{Debye-Hückel の式 : } -\log\gamma_i = [A \times (z_i)^2 \times \sqrt{I}] \div [1 + B \times r_i \times \sqrt{I}]$$

$$\text{イオン強度 : } I = \Sigma [M_{\text{conc}} \times (M_{\text{charge}})^2]_n \div 2$$

算を実行できるコンピュータソフトを用いて、活量係数 ($0 < \gamma < 1$) の近似解を得ることができる。ループ計算の概要は以下のようなものである。まず活量係数を 0~1 の範囲の既知の値とみなして計算を行い、その未知量の近似解を得る。最終的には、近似解の有効数字 (例えば 3 桁) が変動しなくなるまでループ計算を行う。こうして得られた未知量の濃度と 14 の未知量の活量係数の近似解を正解とみなす。

こうして得られた近似解のうち、HA の構成イオンとなっているイオン種 (Ca^{2+} , PO_4^{3-} , OH^-) の濃度と活量から活量積 $[(\text{Ca})^5 \times (\text{OH})^1 \times (\text{PO}_4)^3]$ を計算し、その値を K_{HA} にて除し HA に関する飽和度 (DS_{HA}) を求める。同様に FA の構成イオンとなっているイオン種 (Ca^{2+} , PO_4^{3-} , F^-) の濃度と活量から活量積 $[(\text{Ca})^5 \times (\text{F})^1 \times (\text{PO}_4)^3]$ を計算し、その値を K_{FA} にて除し FA に関する飽和度 (DS_{FA}) を求める。

本章では HA と FA についての飽和度の計算方法を解説したが、関連するリン酸カルシウム (DCPD, OCP, TCP) やフッ化カルシウム (CaF_2) についても、同様な方法で飽和度が計算できる。

第 6 章：脱灰液に含まれるミネラルイオンが脱灰に及ぼす影響

上述の飽和度の解説から、エナメル質の脱灰が pH だけで決まるわけではなく、共存するミネラルイオン (Ca^{2+} やリン酸イオン) の濃度によっても強く影響されることが理解される。そこで実際にどの程度の影響があるか、Margolis らの研究を紹介する

1)。彼らは、プラークで酸が産生されている状態をインビトロで想定し、以下のような実験を行った。一定濃度の乳酸 (100 mM) の溶液に、異なる濃度の Ca^{2+} やリン酸イオンを添加し、pH を 4.3 に調整した脱灰液 (A から F) を調製した (表 1)。この表にて、 DS_{EN} の値 (指数表示) が小さいほど飽和度が高く、脱灰する作用が強い。逆にその値が大きいほど、脱灰する作用は弱まる。すべての脱灰液にて DS_{EN} 値が 1 より小さい

ので、脱灰が起きるはずである。

これらの脱灰液に、ヒトエナメル質試料を浸漬して 3 日間の脱灰を行った。その後、この試料の切片を作成し脱灰状態を偏向顕微鏡で観察した (図 1)。

その結果を表 1 の右端に示した。結果を要約すると、①ミネラルイオン濃度が低い場合、う窩状

の脱灰を呈した (脱灰液：A)。②ミネラルイオン濃度やや高くなると、表層下脱灰 (図 1 の中央) を呈した (脱灰液：B, C, D)。その特徴は、表層の形成とその下層でミネラル密度の低下である。これはいわ

表 1 飽和度 (DS_{EN}) の脱灰病変の変化との関係

脱灰液	Ca(mM)	PO ₄ (mM)	飽和度: DS_{EN}	結果
A	10.86	6.29	3.56×10^{-9}	う窩 (表層なし)
B	14.26	7.44	2.15×10^{-8}	表層下脱灰
C	12.41	10.00	2.57×10^{-8}	表層下脱灰
D	14.72	10.57	6.83×10^{-8}	表層下脱灰
E	26.92	10.75	1.24×10^{-6}	脱灰認めず
F	34.97	10.70	4.11×10^{-6}	脱灰認めず

乳酸イオン = 100 mM, pH4.3

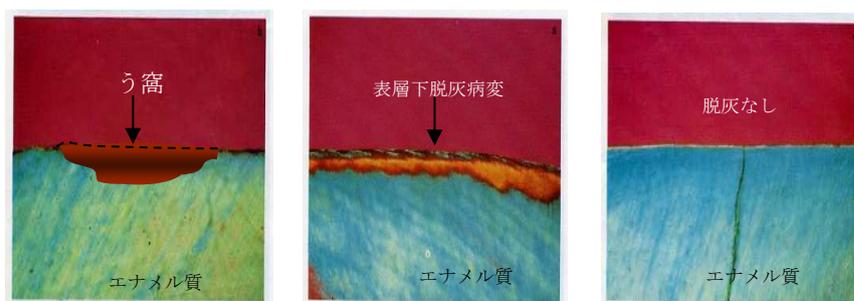


図 1 エナメル質の脱灰に及ぼす低フッ化物濃度の影響
偏向顕微鏡による エナメル質切片 (100 μm) の観察

ゆる臨床的に観察されるホワイトスポット（または白斑）である（**図 2**: 筆者らの資料）。

筆者らは、**図 2**で示した試料から約 100 μm の厚さの切片を作成し、そのマイクロラジオ画像

（Transverse Micro-Radiography：以下 TMR 画像）を得た（**図 3**）。暗く見える領域は、脱灰によりミネラル密度が減少した部分である。この画像では、隣接面と咬合面に初期う蝕病変が広く認められる。またエナメル象牙境の下部に強い脱灰領域が認められる。これを隠れう蝕とい



図 2 広範囲に白斑を有する臼歯の概観

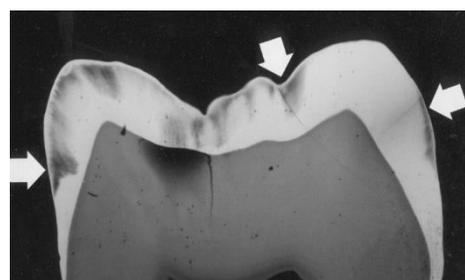


図 3 エナメル質初期う蝕の TMR 画像
隣接面と咬合面の白色の矢印は表層下脱灰。注) 象牙質には隠れう蝕が認められる。

う²⁻⁸⁾。この画像から、う蝕の進行過程が推察される。すなわち、う蝕は表層下脱灰から始まり、実質的な欠損を伴うことなく脱灰は象牙質に達する。さらに脱灰が進行すると、エナメル質表面の硬さが大きく低下して何らかの外力でう窩が形成される。むろん隠れう蝕に至る前に、エナメル質表面の硬さが大きく低下すれば、う窩に至ることも考えられる。表層下脱灰を呈する病変は、ある一定の脱灰条件が満たされれば、人工的に（インビトロでも）作成できる（**図 4**）。なぜ表層下脱灰のような特異な脱灰病変が形成されるか、そのメカニズムについては、第 11 章で詳しく述べる。

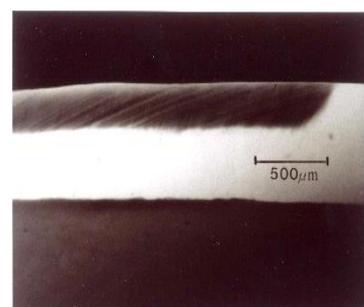


図 4 人工的に作製された表層下脱灰病変の TMR 画像：表層が残ったまま内部が選択的に脱灰された様子

③さらにミネラルイオン濃度が高くなると、エナメル質には全く脱灰像は観察されなかった（脱灰液：E, F）。これらの結果を総括すると、 DS_{EN} の値が大きくなるに伴い脱灰程度は抑制され、ある値以上になると実質的に脱灰されなくなる。

この結果を、第 4 章の**図 1**で示したコップのモデルを用いてもう一度考えてみる。これらの脱灰液の DS_{EN} の値は、ミネラルイオン濃度が高いほど大きい。つまり DS_{EN} の値が 1.0 に近いほどコップのカラの体積が小さくなり、脱灰しにくくなることに対応する。これらの結果から、プラークまたは脱灰液中のミネラルイオン濃度が高いほど、同じ酸濃度で、しかも同じ pH でも脱灰は顕著に抑制されることが分かる。

ここで 1 つ指摘したいことがある。脱灰液 E と F では、 DS_{EN} が 1.0 より明らかに小さい（すなわち不飽和）にもかかわらず、どうして 3 日間後でも脱灰は観察されなかったか。これは、数 10 倍程度の光学顕微鏡レベルでは、脱灰の兆候を示す変化は確認されなかった、換言すれば実質的な脱灰は認められなかったということである。電子顕微鏡のような方法を用いて、もっと精密な観察をすれば、脱灰の兆候は認められたかも知れない。あるいは HA に関しては、過飽和に近い状態となり、エナメル質アパタイトの溶解部位に HA が再石灰化沈着したかも知れない。筆者の経験によると、 DS_{EN} の値が 10^{-5} レベルでも 1 ヶ月後において、数 10 倍程度の光学顕微鏡レベルでは実質的な脱灰は認められなかった。

このことから飽和度と脱灰程度（速度）との関係は、**図 5**に示した概念図のようではないかと推察される。すなわち DS_{EN} の値が 1.0 未満～ 10^{-5} 程度までは、非常に緩慢な脱灰速度となり、数日や 1 ヶ月後においても実質的には脱灰が観察されないが、それ以上の値では急激に速くなると推察される。

このように、ミネラルイオンがプラーク内に取
り込まれると脱灰が抑制される可能性が示唆される。
これに関し、以前からチーズなどの乳製品は、う蝕抑
制効果を有するとする多数の *in-vitro* 研究が報告され
ている。しかし実際の臨床試験の報告は、その実施の困
難さのため数は少ない。Ohlund らは、う蝕経験の少な
い4歳児を対象に疫学調査を実施し、う蝕の罹患状況
と様々なパラメータ（チーズを含む飲食物の摂取状
況、ブラッシング習慣、プラークの付着状況、口腔内

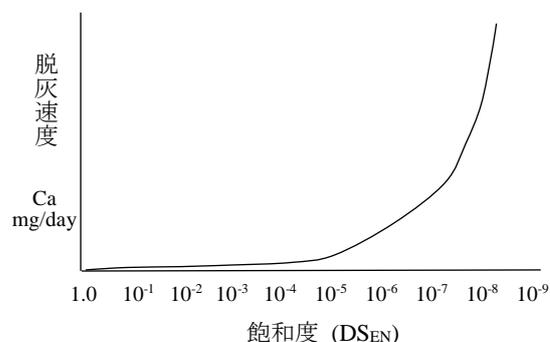


図5 飽和度と脱灰速度の概念図

細菌の状況、フッ化物の利用状況など)を調査し、多変量解析を行った。その結果、チーズ摂取頻度とう蝕指数とのあいだで逆相関性を認めた⁹⁾。また Jensen らは、①被験者のプラークに10%の砂糖液を与えてプラーク pH の低下を確認後、チーズを食してもらおうと低下したプラーク pH が有意に回復すること、②被験者の口腔に、人工的に作製したエナメル質初期う蝕および脱灰象牙質を装着し、1ヶ月のあいだ、摂取する食品にチーズを加えてチーズの影響を検討した。その結果、エナメル質初期う蝕の再石灰化の促進効果および脱灰象牙質の進行抑制効果を認めた¹⁰⁾。彼らは、この結果についてチーズは酸発酵性が低いこと、あるいは酸の産生を抑制する効果があると推察した。同様に、Somaraj らも砂糖によって低下した pH の回復効果を確認している¹¹⁾。このようにチーズの作用メカニズムとして、チーズに含まれる高い濃度のミネラルイオンによる脱灰抑制および再石灰化促進作用以外に、様々な間接的作用（酸緩衝能、唾液クリアランス作用、細菌付着への抑制作用）が示唆されている^{12,13)}。

ここまでは永久歯を用いた研究成果であるが、乳歯ではどうであろうか。一般に乳歯は永久歯より脱灰されやすい（う蝕になりやすい）ことは、良く知られて事実である。Wang らは、乳歯は永久歯と比べて約5.8倍もの高い脱灰感受性があることを報告した¹⁴⁾。その要因として、ミネラル分の重量ベースにて乳歯では81.3-94.2 wt%であるのに対し、永久歯では約97%であることと関連していると考えられる¹⁴⁾。つまり乳歯では空隙率が永久歯より高い。そのためエナメル質表面からの酸(H⁺)の浸透性が乳歯では高く、エナメル質内部まで酸が浸透しやすいことが第1の要因と考えられる。それ以外に、乳歯エナメル質では結晶性（その結晶の大きさや不純物の量）が低いことが関与していると考えられる。

ここでエナメル質と象牙質の臨界 pH について、少し解説する。エナメル質の臨界 pH は、5.3 付近と広く認識されている。しかし本章で解説したように、エナメル質の溶解は、pH だけで決まるものではなく、共存するミネラルイオン濃度やエナメル質の熱力学的溶解度積によって、かなり異なる。筆者らは、プラークに含まれるミネラルイオン濃度を用いた計算から、エナメル質の臨界 pH は5.15と推定した¹⁵⁾。またエナメル質の熱力学的溶解度積の違い（分布）により、pH5.02～5.81と推定した。

それでは象牙質の臨界 pH はどであろうか。Hoppenbrouwers らは、象牙質の臨界 pH は6.7と推定した¹⁶⁾。その後、多くの論文でこの値が引用され、中性域の pH で象牙質は溶解が起きると、驚きをもって語られるようになった。しかしこの推定値が得られた実験条件を詳しく吟味すると、実際の口腔ではこの pH では、脱灰は起きないのではないかと筆者には思えた。その理由を以下に述べる。この推定値には、次のような3つの仮定条件が含まれおり、それらに留意しなければならない。①彼らは、50 mmol/L の酢酸溶液に0.42～7.50 mmol/L の CaHPO₄を溶解して、pH を5.0～6.5に調整した脱灰液を用いた。特に pH が6.5のときの CaHPO₄濃度は0.41～1.35 mmol/Lであり、これらの濃度はプラークに含まれているミ

ネラルイオン濃度と比べると非常に低い¹⁷⁾。ミネラルイオン濃度が高いほど脱灰が起きる pH (臨界 pH) は低くなることは、本章で解説した通りである。このことから、プラークの影響下で脱灰が始まる pH は、この推定値より低いと考えられる。②脱灰に用いられた象牙質試料は一度も口腔内に露出されたものではないので、口腔内に露出している象牙質には必ずしも当てはまらない。象牙質も口腔に露出すると、エナメル質の場合と同様、「成熟」という現象が経時的に起き、溶けにくい歯質に変化するはである。従って臨界 pH は、この推定値より低くなると考えられる。③彼らは、象牙質試料が溶解し始めたときの $I_{p(HA)}$ [HA に関する活量積; 105 ± 0.4] を参考に臨界 pH を推定している。すなわち象牙質ミネラルの成分を HA と仮定している。しかし象牙質ミネラル成分の結晶性は、HA の結晶性より低い (すなわち溶けやすい)。従ってこのような方法で、臨界 pH を推定することには、一定の制約が残る。

臨界 pH は酸に対する溶解挙動を考える場合、非常に分かりやすい概念である。そのためエナメル質の場合と同様、象牙質の臨界 pH の値でも上述の 3 つの仮定条件が無視されて、この数字だけが一人歩きをしている。この象牙質の臨界 pH (6.7) では、安静唾液の pH の値 (6 から 7) を考えると、根面象牙質は、う蝕になる前に溶けてなくなってしまうのではないか。このようなことが臨床的に起きていない。象牙質の臨界 pH を考える場合、注意が必要である。

筆者らも、象牙質の酸溶解性を検討するために、ヒト象牙質の粉末を調製

して検討した¹⁸⁾。用いた脱灰液には、100 mM の酢酸と 6 種類の異なる濃度の CaCl_2 (Ca) と KH_2PO_4 (P) が含まれる (表 2)。またこれらの脱灰液の pH は 6.0~7.4 のあいだで調整されている。これらの脱灰液に象牙質粉末を 1 週間、攪

表 2 脱灰の組成: Ca は CaCl_2 , P は KH_2PO_4 を示す

脱灰液	Ca; mM	P; mM
①	0.0	0.0
②	0.5	0.3
③	1.0	0.6
④	1.5	0.9
⑤	2.0	1.2
⑥	2.5	1.5

拌・浸漬し、脱灰前と比べて Ca 濃度の変化を測定した。その結果、1) 脱灰液に Ca と P が全く含まれてい

ない場合、または濃度が低い場合 (①と②), pH7.0 以上でも Ca が溶出した。この結果は、象牙質ミネラルには、アパタイト以外のリン酸カルシウムが含まれていることを示唆している。2) これらのイオン濃度が高くなるほど、pH7.0 以下 (約 6.4~6.0) でも Ca が取り込まれた (③, ④, ⑤, ⑥)。Ca の取り込みを認めた条件では、HA に関して過飽和な状態であったため、石灰化が進行したと考えられる。これらの結果から、象牙質が酸に溶解し始める pH は共存するミネラルイオン濃度によって異なることが示され、固定した臨界 pH を想定することは、エナメル質の場合と同様、妥当ではないと考えられる。

さらにミネラルイオン濃度以外に、象牙質を試料とする場合、その構造的な多様性 (管間・管周象牙質、表層と内層、象牙細管など) や口腔内に露出した期間の長さ違いなど、エナメル質と比べて脱灰に及ぼす要因が多数存在する。これらのことを勘案すると、特定の臨界 pH の値というものを想定してよいか、筆者は疑問を感じる。

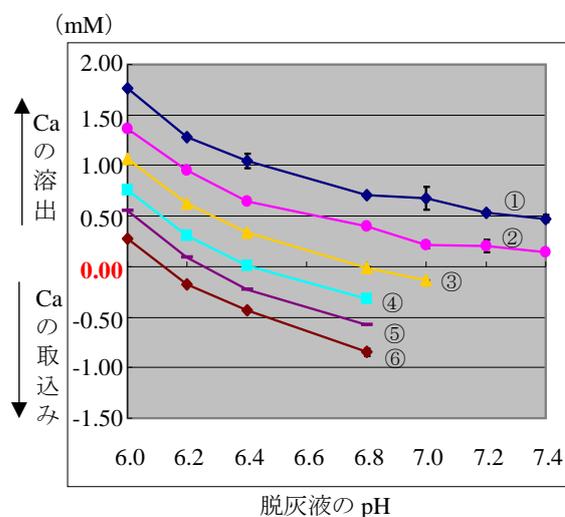


図 6 脱灰液に含まれるミネラルイオン濃度が象牙質の脱灰に及ぼす影響

第7章：脱灰液に含まれるフッ化物イオンが脱灰に及ぼす影響

従来から信じられてきたフッ化物によるう蝕予防メカニズムは、比較的高濃度のフッ化物を塗布することで「耐酸性のフルオロアパタイト：FAがエナメル質表層に形成され、これが酸による脱灰を防ぐ」という考え方が主流であったように思われる。従っていくらF歯磨剤で歯を磨いても、そのあと直ぐに水で口を漱いでしまえば、大部分のフッ化物は口から吐き出されて、FAとして形成されないから、予防効果は微々たるものと考えられていた。いわゆる「FA説」であり、恐らく日本では多くの歯科専門家が、今でもそのように考えているのではなかろうか。確かに「FA説」は分りやすく、患者にも説明しやすく、学術図書でもそのような解説がなされている。果たしてそうであろうか。

本章では、このFA説では説明できない脱灰抑制効果を紹介し、フッ化物の作用メカニズムを正しく理解してフッ化物の利用に役立ててほしいと思う。

その前に「FA説」生まれた背景を、筆者の想像も入れて推察する。1980年代の当時の日本では、FA

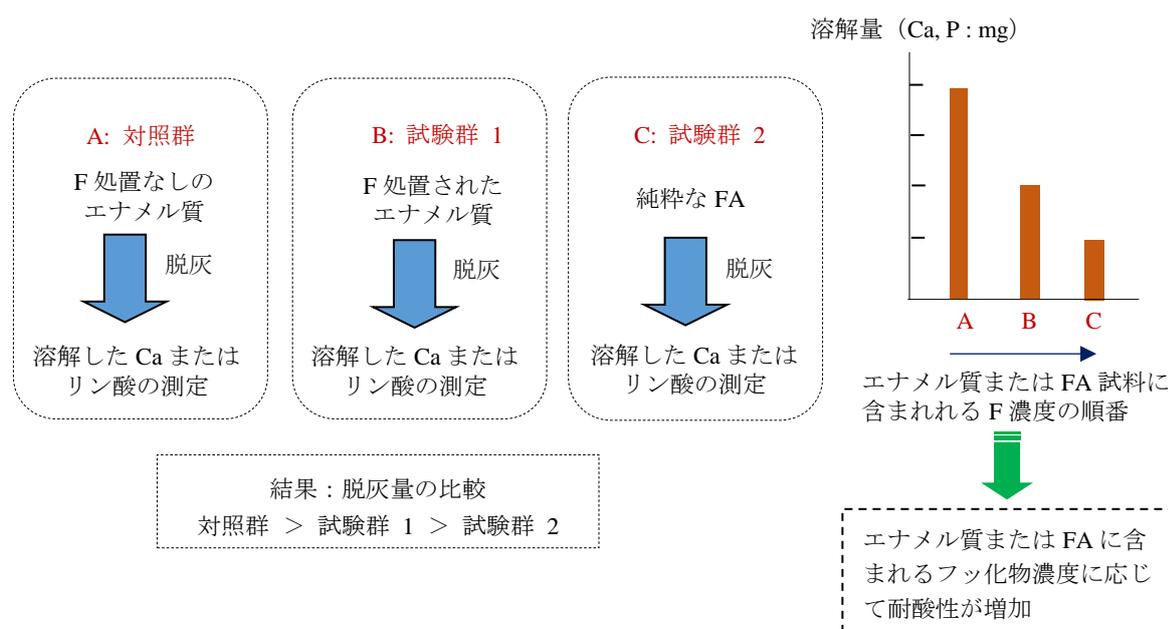


図1 フルオロアパタイトの形成による耐酸性説

はHAあるいはエナメル質より酸に溶けにくいことは、周知のことであった。このことを前提に、「FA説」を図1で示したモデルを用いて解説する。まず3つの異なった試料を用意する。A（対照群）はフッ化物で処置されていないエナメル質、B（試験群1）はフッ化物（例えばAPF）で処置されたエナメル質、Cは純粋なFA（試験群2）である。これらの試料を同一条件で脱灰し、溶出したCa²⁺またはリン酸イオンを測定して3群の脱灰程度の比較を行う。その結果、対照群>試験群1>試験群2の順番で、脱灰量は少なくなる。一方でその要因を考察するため、エナメル質に含まれる（あるいは取り込まれた）フッ化物の濃度を測定すると、対照群 < 試験群 1 < 試験群 2の順番で濃度が高い結果が得られる。

すなわち試料中のフッ化物の濃度が高いほど、高い耐酸性が得られる。また最も高い耐酸性を示した試験群2のFAの結晶状態を機器分析し、FAはエナメル質結晶より高い結晶性（少ない歪みと不純物）であることを見出す。このような知見からこの実験を行った研究者らは、試料に含まれるフッ化物の濃度が高いほどあるいはFAに近いほど、う蝕予防効果は高いと結論付ける。この結論から、エナメル質を最も高いフッ化物含有のFAに変換すること（あるいは方法）が、理想的なフッ化物の利用法（ゴー

ル)と結論付ける。これが「FA説」の生まれた背景であろう。その結果、様々な方法でエナメル質にフッ化物を適用し、研究者はエナメル質がどの程度FAに変換されたか機器分析し、FA化率が小さい場合は、う蝕予防効果が小さいと判断する。このような考え方が長く続いた。

FAの形成がう蝕抑制の達成にとって必ずしもゴールでない1例を示す。Ogaardらは、サメ由来のエナメル質試料(100%FA)をヒト口腔内に装着し、4週間、試料表面のブラッシングを停止してプラークを蓄積させて脱灰を誘発し、脱灰程度を検討した。その際、ヒト由来のエナメル質試料(EN)と比較した。またフッ化物洗口(0.2%NaFを毎日使用)の影響も検討した^{1,2)}。4週間後、各試料を取り出し、TMR法にて脱灰程度(深さ:μmと脱灰量:vol%・μm)を評価し、比較検討した。その結果、ヒトエナメル質試料では、脱灰深さは約90μm、脱灰量は1680vol%・μmであった。それに対しサメFA試料では、脱灰深さは約36μm、脱灰量は965vol%・μmであった。一方、NaF洗口の影響を受けたヒトエナメル質試料では、サメFAとほぼ同じ脱灰程度であった(図2)。

この検討と平衡して、0.2%NaF洗口を行った場合、サメの試料表面にどの程度のCaF₂様物質(第12章を参照)が形成されたかも検討した^{1,2)}。その結果、サメの歯ではCaF₂様物質は検出されなかった。なおヒトエナメル質では、CaF₂様物質が形成されることを以前の検討で確認している。CaF₂様物質の形成は、フッ化物の効果을推定する一種のマーカーであり、歯質表面で多量に形成され長く存在しているときは、フッ化物の効果は高いと考えられている。CaF₂様物質はFAと異なり、唾液中に少しずつ溶け出る性質がある(FAは中性領域では唾液中に不溶)。そのため、いずれこの物質は消失してしまうが、そのあいだ、Fを口腔内に徐放して、脱灰抑制と再石灰化促進の作用を発揮する重要な沈着物である。サメFAの場合、CaF₂様物質が形成されなかったことは、そのような2つの作用が十分発揮されなかったと考えられる。

以上の結果から、彼らは以下のような推測をした。

- ①サメFAといえどもプラーク・コントロールを行わなかったら、比較的短期間(4週間)で脱灰される。このことから、仮にヒトエナメル質をFAに変換しても、脱灰抵抗性には一定の限界がある。
- ②フッ化物洗口(0.2%NaF)は、効果的に脱灰を抑制する。これは、毎日フッ化物が供給されるからである。この結果はF歯磨剤や洗口剤など、高頻度で使用する前提の根拠となる。
- ③フッ化物洗口の効果が発揮されるには、CaF₂様物質の沈着形成が必須である。

なおフッ化物の作用メカニズムとして、CaF₂様物質の沈着形成が重要であることは知られているが、それだけではないことの1つとして、「プラークへのフッ化物の取り込みの重要性」について第8章で言及する。以下に、近年の研究で明らかになったFA耐酸性説とは異なるメカニズムを紹介する。筆者はこのメカニズムにより、F歯磨剤やF洗口剤などの予防効果が科学的に説明できると考えている。

Margolisらは、プラーク内で酸が産生されている状態をビーカー内でモデル化した実験を行った³⁾。すなわちプラーク内に存在するミネラルイオン(Ca²⁺、リン酸イオン)と同じような濃度のミネラルイオンと100mMの乳酸を含むpH4.3の脱灰液を調製し、さらに表1に示すA)からG)の7種類の異なる濃

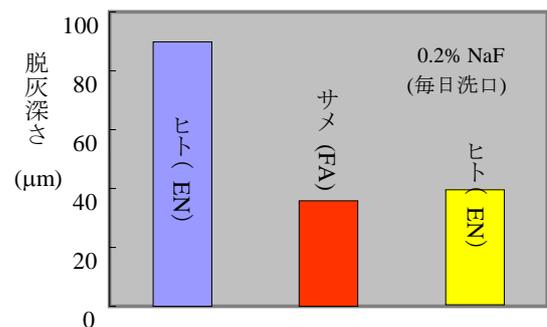


図2 ヒトエナメル質(EN)とサメエナメル質(FA)の脱灰抵抗性の比較

度のフッ化物イオン (F: 0.004~1.004 ppm) を添加し、そこにヒトエナメル質試料を浸漬した。第6章の図1の結果の場合と同様に、3日後にこの試料から薄切片を作製し、その断面を偏光顕微鏡にて脱灰状態を観察した。その結果を同表に示す。同表の「試料の数」とは各脱灰液にて浸漬したエナメル質試料の数である。ここで、「う窩」とはエナメル質表層に実質欠損を伴った脱灰病変、「表層下脱灰」とはエナメル質表層が残されたまま内部で脱灰が起こった病変、「脱灰なし」とは見かけ全く脱灰を呈しなかったものである。この順序は脱灰の程度の順番と考えてよい。

F濃度が最も低い場合 (A) では、18 試料のうち、16 試料が「う窩」に、2 試料が「表層下脱灰」に、そして「脱灰なし」の試料数は0であった。F濃度が少しずつ増していくと、「う窩」を呈した試料の数が減少し、その反面、「表層下脱灰」を呈した試料の数が増加した (B から E)。F濃度が 0.504 ppm (F) に増加すると、10 試料のうち 8 試料が「脱灰なし」となり、さらに F濃度が最大の 1.004 ppm (G) に増加すると、12 試料の全てが「脱灰なし」となった。

これらの結果は、1 ppm 以下の低濃度 Fでも常時プラーク内に存在していれば、脱灰は強く抑制されることを示唆している。実際、フッ化物配合歯磨剤 (以下 F 歯磨剤) を使用した直後の唾液やプラーク内での F濃度は数 10 ppm であるが、数時間後には 0.1 ppm 前後まで低下する^{4,7)}。この結果は、日々数回の F 歯磨剤の使用により、う蝕予防が可能であることを示唆している。通常、一般の人ではプラークをブラッシングだけで完全に除去することは困難である (特に隣接面や交合面の深い溝)。ましてや子供の場合はそうである。F 歯磨剤を使用すれば、磨き残しのプラーク内にも 0.1 ppm 前後の濃度の Fは十分残存できる。このようなことから、必ずしも完全なプラーク除去ができなくとも、F 歯磨剤を毎日使用することで一定のう蝕予防効果が達せられる。

筆者らも同様な実験法にて、F濃度 (0.0003~20 ppm) が脱灰に及ぼす抑制効果を再検討した⁸⁾。上述の実験では、ミネラルイオン濃度は固定され (すなわち DS_{EN} の値は固定)、F濃度の影響を検討した実験であった。筆者らの実験では、 DS_{EN} の値を 10^{-14} から 10^{-6} まで変化させ場合の F濃度の影響を検討した (DS_{EN} と F濃度について不完全な二元配置)。この検討には2つの目的があった。第1は、脱灰条件が非常に強い場合 (10^{-14} ~ 10^{-11})、どの程度の F濃度で脱灰が抑制できるか。

第2は逆に、脱灰条件が非常に弱い場合 (10^{-8} ~ 10^{-6})、どの程度の極微の F濃度で脱灰が抑制できるか。 DS_{EN} の値は、脱灰液に添加するミネラルイオン濃度 ($CaCl_2$ と KH_2PO_4) および pH (4.11~4.30) を調整することで設定した。表2に示した極微の F濃度 (0.003~0.0007 ppm および 0.001~0.004 ppm) とは、F (NaF 由来) を添加したのではなく、原料 ($CaCl_2$ と KH_2PO_4) に不純物として含まれる Fを、HA 粉末で吸着除去した後に残った F濃度である。また横軸に示した F濃度は、実際には端数を伴う測定値

脱灰液	試料の数	F, ppm	う窩	表層下脱灰	脱灰なし	DS(FA)
A)	18	0.004	16	2	0	0.7
B)	15	0.009	8	6	0	1.6
C)	10	0.024	2	8	0	3.7
D)	10	0.054	1	9	0	8.3
E)	10	0.154	0	9	1	28.5
F)	10	0.504	0	2	8	96.8
G)	12	1.004	0	0	12	187.0

表1. エナメル質の脱灰に及ぼす低濃度フッ化物イオンの影響

脱灰液の組成; $CaCl_2=11.7mM$, $KH_2PO_4=6.0mM$, lactic acid =100mM, pH=4.3

であり、そのまま測定値を表記すると煩雑となるので、その測定値の近辺の値として表示した。表の縦軸は、 DS_{EN} の値の指数ごとに示した値である。

3日間の脱灰後の結果を同表2に示した。この表に示した数字(9:0:0など)は、9試料のうち左から「う窩」を呈したエナメル質試料数、中央は「表層

表2 エナメル質脱灰に及ぼす溶液中の低濃度Fの

DS_{EN}	脱灰液中のF濃度 (ppm)								
	0.0003~0.0007	0.001~0.004	0.1	0.5	1.0	2.0	2.0~3.6	4.8	20
10^{-14}	9:0:0				9:0:0		9:0:0	9:0:0	9:0:0
10^{-11}		9:0:0			9:0:0	9:0:0	9:0:0		0:0:9
10^{-10}		9:0:0	9:0:0	0:9:0	0:6:3		0:0:9		
10^{-9}		9:0:0			0:2:7				
10^{-8}	1:8:0	2:7:0							
10^{-7}	0:6:3	0:5:4							
10^{-6}	0:2:7	0:1:8							

下脱灰」を呈した試料数、右は「脱灰なし」を呈した試料数である。

脱灰条件が非常に強い場合 ($DS_{EN} = 10^{-14}$)、20 ppm の F濃度でも全く脱灰抑制効果は認められなかったが、この条件がやや緩和されると ($DS_{EN} = 10^{-11}$)、20 ppm にて明瞭な脱灰抑制効果が見られた。脱灰条件がさらに緩和されると ($10^{-10} \sim 10^{-9}$)、1桁 ppm 以下の F濃度範囲内で、その濃度に応じて脱灰抑制効果が見られた。しかし脱灰条件が弱くなると ($10^{-8} \sim 10^{-6}$)、もはや極微の F濃度 (0.004 ppm 以下の範囲内：同表では点線の四角で囲まれた条件) の影響は明瞭には観察されなくなった。しかし DS_{EN} そのものの影響は顕著であり、 DS_{EN} の値が1桁大きくなるごとに脱灰は強く抑制された。

表2の結果は、総じて表1で示した結果と同様な傾向を示した。しかしFによる脱灰抑制効果は、 DS_{EN} の値によりかなり異なることが示された。すなわち脱灰傾向が強い場合、これを抑制するには高い濃度のFが必要となる。これに反し脱灰傾向が非常に弱い場合、Fによる脱灰抑制効果が発揮される最低濃度は、この実験条件では明らかにすることはできなかった。

後者の結果は、フッ化物によるう蝕予防効果を評価する臨床試験において、う蝕感受性の低い被験者(脱灰傾向が弱い被験者)が多く含まれると、フッ化物の効果が検出できない可能性を示唆している。フッ化物の利用は、全ての人に推奨される。しかし臨床試験の場合は、有効性の結果を検出する効率性を考えなければならない。臨床試験の実施者は、この点を考慮しておく必要がある。

それでは、なぜそのような低濃度でも脱灰が抑制できるのか、表1をもとに解説する。上述したように脱灰が起きる理由は、エナメル質表面と接している液体(酸とミネラルイオンを含むプラーク液)がエナメル質アパタイト(以下EN)に関して不飽和であるからである。すなわちどの脱灰条件(A~G)でもエナメル質は脱灰される。一方でFが存在すると、プラーク液はFAに関して過飽和になる。表1の右端の欄に記載してある $DS(FA)$ は、FAに関する飽和度を計算した数値である。脱灰条件Aを除いて $DS(FA)$ の値は1.0より大きい。すなわちBからGの脱灰条件では、FAに関して過飽和である。そしてF濃度の増加とともに、その過飽和度は大きくなる。このような条件下では、一方で溶解し、他方ではFAが沈着するという、「脱灰と再石灰化が同時に進行する」現象が起きている。言い換えれば、F濃度

に関係なくエナメル質は溶解するが、F濃度に応じてFAの沈着（この場合は、酸性下の再石灰化）が同時に進行している。

図3を用いて、もう少し詳細に考察すると、次のような現象が起きていると考えられる。①F濃度が非常に低い場合（0.01 ppm レベル以下）、脱灰が優位となり「う窩」となる。②F濃度が中程度の場合（0.01～0.5 ppm）、脱灰の進行に対し、再石灰化がある程度拮抗し「表層下脱灰」となるケースが現れる。③F濃度が高い場合（0.5 ppm 以上）、脱灰と再石灰化が拮抗し（または再石灰化が優位）、見かけ「脱灰なし」となる。我々がフッ化物による耐酸性効果と考えているメカニ

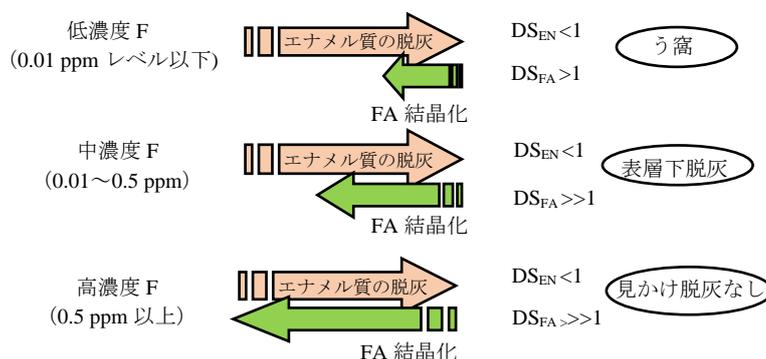


図3 エナメル質の脱灰に及ぼすフッ化物濃度の影響

ズムは「エナメル質の脱灰によるミネラルの損失量とFによるFAの沈着量の“差”」であることを理解してほしい。この研究の眼目は、Fによる脱灰抑制効果は決してFAの形成による耐酸性という考え方ではない。むしろFAの形成は、脱灰抑制の原因ではなく、抑制ができた結果（FAの形成）である。それでは図1で解説したFAの形成による脱灰抑制メカニズム（FA説）と、表1の結果を説明するメカニズムとのあいだに、どのような関連性があるか考えてみる。

FA説を解説した先の図1において、フッ化物で処置されたエナメル質試料およびFA試料が脱灰抵抗性を示した理由を、図4を用いて説明する。フッ化物処置でエナメル質（図4のB）に取り込まれたフッ化物は、その化学的状態が何であれ、F（イオンのかたち）として脱灰液に溶け出す。同時にCa²⁺とリン酸イオンも溶け出す。すると脱灰液は、FAに関して一定の過飽和状態になる。その結果、「エナメル質の脱灰」と「FAの沈着（一種の副反応）」が同時に起こり、これが脱灰抑制効果として評価される。FA試料の場合も同様のメカニズムである。すなわちFAも脱灰液で一部溶解し、Fが脱灰液に溶け出し、これが脱灰抑制効果を担う。この場合のFAは、Fを口腔に供給する一種の貯留サイト（reservoir）と見なすこともできる。なおFAそのものも、エナメル質あるいはHAと同様に、酸に溶解しやすいという事実については、本章の後半で解説する。

現実の口腔内では、歯質やプラークに取り込まれたFは唾液などで洗い流され失われる。従って、ここで解説したような作用メカニズムが発揮されるには、毎日、F歯磨剤やF洗口剤を使用することで、低濃度でもよいので、常時Fが供給される必要がある。

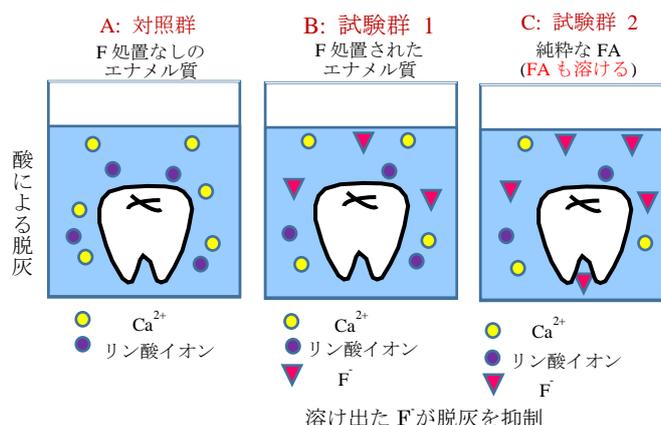


図4 フルオロアパタイト (FA) による耐酸性説

ところで図3で解説した「FAが沈着する」ということが本当に起こっているか、という疑問が湧く。そこで彼らは次のような追加実験を行って、その左証とした。すなわちエナメル質歯面に”window”を設定し、この部分を除いてすべての歯面をマニキュアで覆った。その後、1 ppm Fを含む脱灰液（CaCl₂=11.7 mM, KH₂PO₄=6.0 mM, 乳酸=100 mM, F=1 ppm, pH4.3）に10日間浸漬した。次いでエナメル質に取り込まれたフッ化物を分析した。コントロールとして、脱灰液の代わりに蒸留水に浸漬したときのフッ化物を分析した。その結果、1 ppm Fを含む脱灰液に浸漬した場合、コントロールの場合より明らかに高い濃度のフッ化物が検出された（図5）。この図の数値の単位は、”window”の面積（8.2 mm²）において、深さ3.5 μmまでの層に取り込まれたフッ化物量（mg F）である。

彼らは、取り込まれたフッ化物が純粋なFAのかたちで存在している証拠を示していないが、このような低濃度のFとエナメル質との反応で形成されるリン酸カルシウムは、熱力学的に最も安定な結晶系であるFAに類似した結晶以外、知られていない。このようにFがFAという結晶の構成イオンとして存在しなくても（すなわち、プラークなどの溶液に存在するだけで）、十分脱灰が抑制できることが示された。

「ここで言う純粋なFAではない」の内容を少し詳細に説明すると、このFAは結晶学的に完全なFA [(Ca)₅(F)(PO₄)₃]ではなく、HAのOHが部分的に置換したものの「例えば、

(Ca)₅(F)_{0.3}(OH)_{0.7}(PO₄)₃」である。場合によっては、HAのCaの

部位にMgやNaが、OHの部位にCO₃やHPO₄が、PO₄のところにCO₃やHPO₄に置換されたフッ化物含有アパタイトである。逆に言えば純粋なFAは人工的な化学的条件でないと合成できない。しかしこのような完全ではないフッ化物含有アパタイトであってもエナメル質と同じ硬さと外観を示すので、エナメル質の歯質として全く問題はない。

それでは、そのような極めて低濃度（サブ ppm レベル）のFでもなぜ高い脱灰抑制効果が得られるのか。それは、この脱灰液がFAに関して過飽和であるからと前述した。このことを別の視点から見ると、HAの構成要素である「OHと水素イオン（H⁺）との結合性」そしてFAの構成要素である「FとH⁺との結合性」に関して、両者で化学的性質が大きく異なっていることから説明できる。すなわち脱灰が起きる酸性下では、OHはH⁺と反応してH₂O（水）となり、OH濃度は著しく低下する（式1）。これはH⁺に対するOHの結合力が極めて強いからである。それに対し、「H⁺に対するFの結合力はそれほど強くない」（式2）。そのため酸性下では、FはOHに比べて圧倒的に多く存在できる。わずかではあるが、生成したHFにFが結合する反応も知られているが、その反応はHF生成よりはるかに少ない（式3）。この

- 1) OH⁻ + H⁺ → H₂O（この結合反応は極めて強く、弱酸性域ではOHはほとんど消失）
- 2) F⁻ + H⁺ → HF（弱酸性域ではほとんど結合しなく、Fは遊離したイオンとして温存される）
- 3) F⁻ + HF → HF₂⁻

ような違いにより、エナメル質に関しては不飽和となるが、FAに関しては過飽和な状態が維持できる。もしFにそのような化学的性質がなかったら（OHと同様であったら）、フッ化物にう蝕予防効果は発現しない。これは自然界における偶然的恩恵の1つである。米国の著名な研究者は、フッ化物（神）は自然からの恩恵であると述べた。

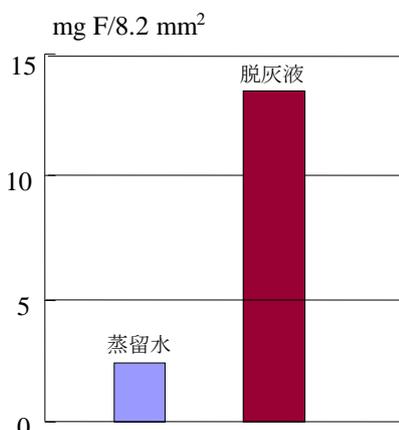


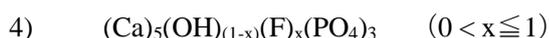
図5 脱灰中に取り込まれたフッ化物濃度

「H⁺に対するFの結合力はそれほど強くない」というFの性質に関連して図6を見て欲しい。これはpHが異なった場合、Fとして存在できる割合を示した図である（フッ素イオン電極の使用書から転記）。脱灰が起きるpH範囲内（pH4~5）でも80%以上のフッ化物がFイオンとして存在できることを示している。

このことを、簡単な数字を用いて以下に解説する。例えば脱灰液（あるいは酸を産生しているプラーク）のpHが4.5とする。またその状態にFが存在しているとする（0.1, 1.0, 10.0 ppm）。これらのppm濃度をモル濃度（mol/L）に変換する。pH4.5でのOH⁻濃度は、水のイオン積の関係式（ $K_w = [H^+] \times [OH^-] = 10^{-14}$ ）から、 $10^{-9.5}$ mol/Lとなる。従ってFとOH⁻の割合（ $F \div OH^-$ ）は、表3に示したようになる。このことから、非常に低濃度のFでもOH⁻濃度と比べれば、圧倒的に高い割合でFは存在でき、その結果、FAの形成に関してHAよりはるかに優勢となる。

ここでFAについて幾つか補足説明をする。純粋なFAは、比較的高い温度と高いpHの条件下で合成される。そのような条件は、我々の口腔内では有り得ない。生理的条件下（37°C, pH中性付近, 1気圧）では、先に述べたように、部分的に置換された不完全なフッ化物含有アパタイト（fluoridated apatite）しか生成されない。それでは、そのような不完全なフッ化物含有アパタイトと純粋なFAとで、どの程度の溶解性の違いがあるのだろうか。

Morenoらは、置換度の異なるフッ化物含有アパタイトを合成し、異なるpH環境下での溶解性を検討した⁹⁾。化学式で表記すると、下記4)のように書かれる。xがゼロのとき純粋なヒドロキシアパタイト（HA）であり、1のときが純粋なフルオロアパタイトである。



その結果、奇妙な溶解性が認められた（図7）。

pH5の場合、純粋なHA（x=1）のときに最も低い溶解性を示した。この場合、置換率0%と100%で溶解性の差は、約6倍（約60 ppm, 10 ppm）であった。一方、大きな溶解性の差ではないが、pH7とpH6のとき置換率が0.4付近で最も低い溶解性を示した。置換率が1.0のとき、最も溶解性が低くなるのは、ここではpH5の場合であった。

その後2007になって、Panらは新しく開発された別の方法（solid titration法）にて、純粋なHAとFAの酸溶解性の比較実験を行った¹⁰⁾。この方法は以下のようなものである。ガラスビーカー内にHAまたはFA粉末を分散させ、ビーカーの壁面にレーザービームを照射する。粉末が存在すると、レーザー光は散乱を受け、照射側と反対側に設置した検出器で検出される光強度は、入射光より弱くなる。粉末が酸によ

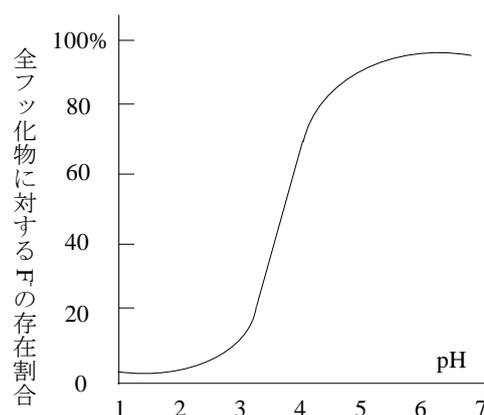


図6 F⁻の存在量に関するpH依存性

表3 pH4.5でのF⁻とOH⁻の濃度の比較

F ⁻ (ppm)	モル濃度 (mol/L)	F ⁻ ÷ OH ⁻
0.1	5.3×10^{-6}	16,000 倍
1.0	5.3×10^{-5}	160,000 倍
10.0	5.3×10^{-4}	1,600,000 倍

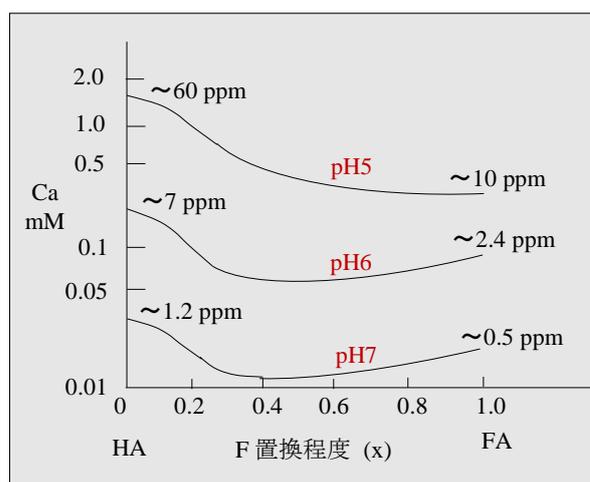


図7 フッ化物含有アパタイトの酸溶解性

って溶解すると、レーザー光は散乱を受けず、入射光と同じ強度で検出される。この原理を利用して、ビーカー内の溶液の pH を所定の値に設定し、アパタイト粉末の溶解性と pH の関係を検討した。

その結果は予想外のものであった。その結論は、少なくとも pH3.0 付近から 5.0 のあいだでは、HA と FA のあいだで酸溶解性に際立った差は存在しない、というものであった。図 8 にて「●: FAp+wax」あるいは「○: HAp+wax」と表示してあるものが、純粋な FA あるいは純粋な HA の場合である。wax とは、ガラス容器の壁と F との反応が起きないように、その壁に wax を塗ったことを意味する。

縦軸は溶解した HA または FA のモル濃度

(mol/L) の対数表示である。なお図 8 に示した他の 3 種類の記号は、実験をより厳密に行うために装置の工夫を行った場合のデータや参照データである（ここではそれには言及しない）。これまで FA は HA より酸溶解性が低いと考えられてきたが、必ずしもそうではないことが示された。先の Moreno らの古典的な方法（反応が平衡に達するまで溶液 pH やミネラルイオン濃度の測定；例えば本章の図 7 で示した値および第 4 章の表 2 で示した値）と、当時は知られていなかった solid titration 法とでは、結果がかなり異なった。恐らく solid titration 法において、次に述べるような誤差が少なく、正しい測定法かも知れない。

すなわちこの方法では、用いる酸の溶液の量（体積）と比べて、用いる FA 粉末の量は極めて少ないため、FA から溶け出た F による F 濃度の上昇は無視できる程度となる。従って、図 4 で示したような FA から溶け出た F による脱灰抑制作用という副反応が起きない。

エナメル質あるいは象牙質う蝕に関連して、我々が念頭に置くアパタイトには、酸溶解性の面から種々のものが考えられる。①もともとのエナメル質アパタイト、②F の影響を受けないで再石灰化したエナメル質アパタイト、③F で部分置換された置換エナメル質アパタイト、④純粋な HA、⑤純粋な FA、⑥もともとの象牙質アパタイト、⑦F の影響を受けないで再石灰化した象牙質アパタイト、⑧F で部分置換された置換象牙質アパタイトなどである。

これらの酸溶解性の序列を同一条件で評価した研究論文は見当たらないが、アパタイトの結晶性と酸溶解性とのあいだに一定の相関性があるとすると、以下のように推察される。

象牙質： もともとの象牙質アパタイト > F の影響を受けないで再石灰化した象牙質アパタイト > F で部分置換された象牙質アパタイト

エナメル質： もともとのエナメル質アパタイト > F の影響を受けないで再石灰化したエナメル質アパタイト > F で部分置換されたエナメル質アパタイト > 純粋な HA ≧ 純粋な FA

再石灰化の影響を受けた F 置換の歯質アパタイト自身は、置換されない場合より脱灰されにくい性質に変化することは確かである。その理由は以下のように説明される。前述したように、置換される前の（もともとの）歯質アパタイトには Mg や炭酸イオンなどの不純物がかなり含まれており、結晶性が低い酸に溶解しやすい。しかし脱灰と F による再石灰化の影響を受けると、これらの不純物の少ない

溶解アパタイト量
Log(mol/L)

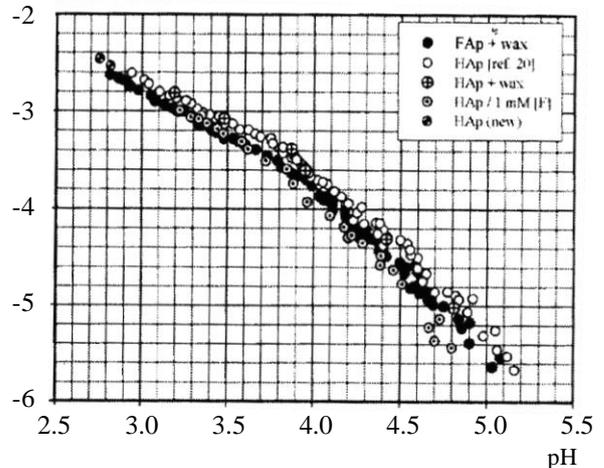


図 8 純粋な FA と HA の酸溶解性の比較

フッ化物含有アパタイトに変化するはずである。このアパタイトは結晶性が改善されているので、より酸に溶けにくい性質を獲得する。またこのフッ化物含有アパタイトがプラーク液に溶けたとき、Fが放出され脱灰を抑制する。ここで推察した内容が確かであるか文献調査を試みたが、残念ながら該当する論文は見出すことができなかった。しかしこの推察を支持する研究は、部分的ではあるが報告されている。Iijima らの研究を紹介する。

彼らは、初期う蝕の白斑を有する抜去歯の切片（サンプル）を口腔内に2週間装置し、この期間、サンプルに脱灰が進行するようプラーク除去の停止と砂糖液の適用を行った。比較のため、同一サンプルの白斑近傍の健全エナメル質についても、脱灰が進行するよう同様な操作を行った。その後、サンプルを取り出し、脱灰病変の変化（脱灰深さ： μm とミネラルの溶出量： $\text{vol}\% \cdot \mu\text{m}$ ）をTMR法で評価した¹¹⁾。

その結果、白斑近傍の健全エナメル質と比べて、白斑部位では高い脱灰抵抗性が示された（図9）。すなわち白斑では、脱灰前の脱灰量（ $\text{vol}\% \cdot \mu\text{m}$ ）と脱灰後の差（青棒：1,482）であった。それに対し近傍の健全エナメル質では、その差（青棒：2,688）であった。また脱灰深さ（ μm ）の増加も白斑にて少なかった（オレンジ棒：白斑で390、健全全面で1,110）。

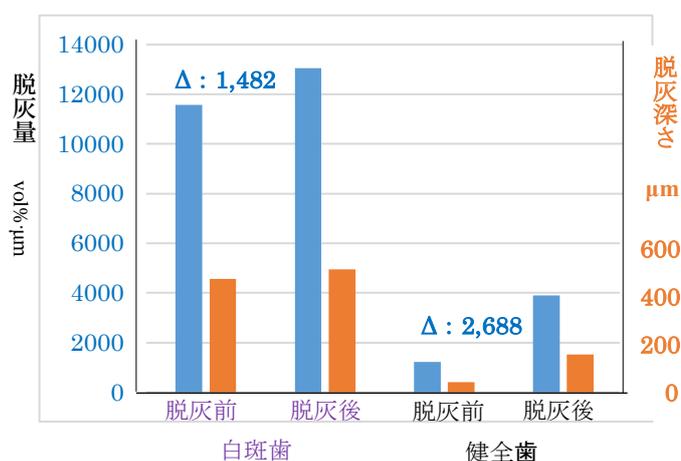


図9 口腔内での脱灰進行度について白斑歯と健全歯の比較

このように白斑での脱灰抵抗性は、白斑の表層は脱灰と再石灰化の影響を受けて、エナメル質の結晶性の改善あるいはフッ化

物を含むアパタイト結晶に変化したことによると推察される。白斑の場合の代表的なミネラルプロファイルを図10Aに、白斑近傍のエナメル質の場合は、図10Bに示した。白斑の場合、表層でのミネラル密

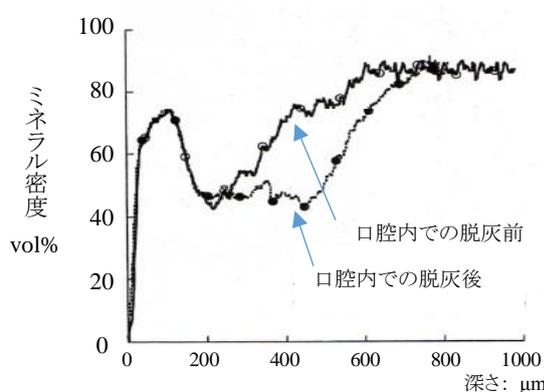


図10A 白斑：口腔内での脱灰前後のミネラルプロファイル

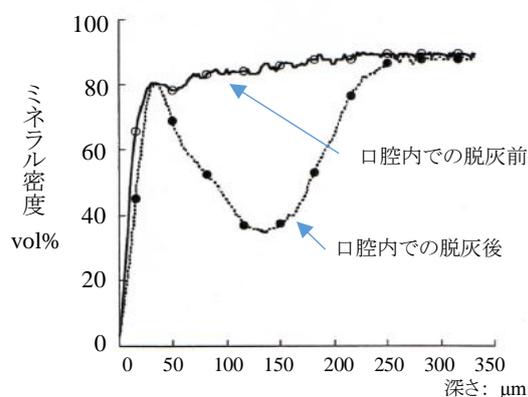


図10B 近傍エナメル質：口腔内での脱灰前後のミネラルプロファイル

度は、脱灰によってほとんど変化は見られず、また脱灰深さの増加もあまり顕著ではない。脱灰は、ミネラル密度の低い領域が深まるかたちで進行している。それに対し近傍エナメル質では、エナメル質表層のミネラル密度は維持されつつも、内層全体でミネラルの溶出が起きている。

また彼らは、人工的に形成したエナメル質初期う蝕サンプルを口腔内に装置し、一定期間の再石灰化処置を行い、その後、このサンプルを取り出し、実験室にて一定の条件下にて脱灰抵抗性を評価した。ここで採用した再石灰化処置は、有効成分として「カゼインとアモルファスリン酸カルシウム含有のチューイングガム」¹²⁾、または「お茶由来のフッ化物含有のチューイングガム」¹³⁾の使用である。その結果、有効成分を含まないガムを使用した場合と比べて、これを含む場合において高い脱灰抵抗性が認められた。これらの結果は、脱灰歯質が再石灰化することにより、酸抵抗性を獲得したと解釈される。

第8章：プラークに取り込まれたフッ化物の効果と動態

これまで述べてきたように、フッ化物と歯質アパタイトとのあいだには幾つかの相互反応が知られている。繰り返しとなるが、①静電的相互作用で歯面にFが吸着する。②歯質内に浸透して取り込まれる。③健全歯面あるいは初期う蝕病変内にフッ化カルシウム (CaF₂) 様化合物として沈着する。これらのフッ化物は、濃度勾配の原理あるいは唾液やプラークに存在する陰イオン (Cl⁻, HPO₄²⁻など) によるイオン交換の原理に従って、さらに CaF₂ 様物質の溶解性の特性に従って、唾液やプラークに除々に供給され、脱灰抑制と再石灰化促進作用を発揮すると考えられている。これらのメカニズムによる脱灰抑制および再石灰化促進作用は、多くのモデル実験で検証されている (第7と13章を参照)。こうした研究が、これまで多数を占めてきた (詳細は第12章)。

しかしながらフッ化物配合の歯磨剤 (以下F歯磨剤) や洗口剤 (以下F洗口剤) などの製剤を使用したとき、フッ化物は歯質以外にプラークにも取り込まれることが、下記で述べるように知られている。それでは、歯質とプラークとどちらに取り込まれたフッ化物が、より有効にう蝕予防効果を発揮するのだろうか、との疑問が湧く。通常、う蝕は隣接面や咬合面の小窩裂溝あるいは矯正装置の隙間などプラーク除去が困難な部位で発症しやすい。従ってプラークで覆われた部位でもフッ化物が有効性を発揮しなければ、臨床的意義は小さい。F歯磨剤を用いてブラッシングする場合、このようなプラーク滞留サイトに蓄積したプラークを完全に除去することは困難であるが、除去できなかったプラークにフッ化物が取り込まれることは十分考えられる。Zeroらは、F歯磨剤やF洗口剤を使用した後、プラークを採取してプラークに取り込まれたフッ化物濃度を経時的に測定した。その結果、2時間まではフッ化物製剤を使用する前と比べて明らかに高い濃度が検出され、その後、減少したが24時間後でも高い傾向を認めた¹⁾。また日中にフッ化物製剤を使用して、数時間経たした場合の濃度と比べて、就寝前に使用して翌朝に検出される濃度の方が高かったとも報告している¹⁾。F洗口剤の使用の場合では、必ずしもプラーク除去を前提としていないが、プラークが存在していてもう蝕予防効果を発揮することが想定されている。以下で述べるようにプラークは、ある意味でフッ化物の蓄積場所であると同時に、フッ化物を徐放する部位でもあると考えられる。すなわちプラークの存在はう蝕発症リスクでもあるが、フッ化物の滞留場所としてそのリスクを低下させているかも知れない。果たしてそのような視点は正しいのであろうか。

その前に、プラークに取り込まれたフッ化物 (以下、プラークF) の特性や挙動に関して、これまで報告されてきた知見の概要を以下に解説する。まずプラークFの分類と濃度の測定方法の概要を述べる。採取したプラークを10,000程度の回転数で遠心分離すると、沈殿相の細菌と液体に分離する。細菌はプラーク全体の体積の約70%を占める。残りの約30%は自由水でプラーク液と呼ばれ、その液体には石灰化成分であるCa²⁺やリン酸イオンあるいは脱灰を引き起こす各種の有機酸、さらには種々のアミノ酸も含まれ、そこにFも存在す^{2,3)}。沈殿相には、水で抽出できるフッ化物と水では抽出できない (非水

溶性) のフッ化物が存在する。

一方で、遠心分離をすることなくプラーク全体に含まれるフッ化物の全量を全フッ化物量という。この全フッ化物量には、少なくとも3種類の化学的に異なった状態のフッ化物が含まれる。第1は水で簡単に抽出されるもの、第2に乳酸などの弱酸 (pH4~5) で抽出されるもの、第3に強酸である 0.5N 程度の過塩素酸 (HClO₄) で抽出されるものである。このように、目的に応じて抽出処理されたフッ化物を含む試験液に、通常、TISAB (Total Ion Strength Adjusted Buffer) と呼ばれる試薬液を加え、フッ素イオン電極法にてその濃度を測定する。TISAB には次の3つの機能がある。①TISAB には高い濃度のイオン性物質が含まれ、これを試験液と標準液に一定量加えることで、両者の液のイオン強度を同じレベルに合わせる。②TISAB には強いキレート化合物が含まれ、多価陽イオン (Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, Fe³⁺などの金属イオン) と強く結合した金属フッ化物をキレート化して、これら金属イオンとイオン性の F⁻ に分離させる。ただし TISAB を使用すると、脱灰抑制や再石灰化促進に直接的には寄与しない、これら多価陽イオンに結合したフッ化物も測定してしまうので、注意が必要である。直接寄与するのは、イオン性の F⁻ のみである。③TISAB には、強い pH 緩衝作用のある化合物が含まれているので、試験液と標準液の pH をほぼ同じレベル (約 pH5.0-5.5) に合わせることができる。このように、試験液と標準液の化学的狀態を同じようにすることで測定誤差が少なくなり、フッ化物 (F⁻) の濃度を正確に測定することができる。ちなみにフッ素イオン電極で、モノフルオロリン酸ナトリウム (MFP) の F 濃度を測定する場合、まず MFP を強酸または強アルカリで加水分解してから TISAB を用いて分析する。

Tatevossian は、いくつかの論文をレビューしてプラークに含まれる全フッ化物量は、湿重量として 5~10 ppm と推定した⁴⁾。フッ化物による脱灰抑制作用および再石灰化の進行には、必ず FA の形成を伴う。そのためには完全にイオン化したフッ化物 (F⁻) 濃度が重要となる (第4章を参照)。FA の形成に直接関与する F⁻ の濃度について、彼は全フッ化物量の 5% 程度と報告している (すなわち 0.25~0.5 ppm)⁴⁾。一方、Margolis らは平均 0.076 ppm と報告している³⁾。両者のあいだでかなりの隔りがある。これは、プラークの採取条件 (フッ化物摂取の履歴やプラークの部位など) や測定条件 (フッ化物の抽出条件など) の違いに起因する。しかしながらこのような低い F 濃度でも、酸が産生されていないプラークの pH (約 6.5) では、理論的に十分に FA に関して過飽和になっているので、FA の形成は可能であり、脱灰抑制あるいは初期う蝕の再石灰化に寄与するはずである。

一方、プラークが石灰化したものが歯石と言われるように、比較的新しいプラークでも幼弱石灰化物 (種々のリン酸カルシウム) が存在する場合があります⁵⁾、F はこの石灰化物に吸着している可能性も考えられる。歯石については、筆者による「歯石? もう一度見直してみよう、この不思議」を参照して欲しい。

それではプラーク F は、ほんとうに脱灰の抑制効果を発揮するのであろうか (“仮説”)。発揮するとしたら、どのような実験方法を採用すれば、その“仮説”は証明されたことになるか。この疑問に答えた興味ある基礎研究を以下に紹介する。Tenuta らは、に示すような実験デザインを採用して、この仮説の妥当性を明らかにした⁶⁾。彼らは、被験者を大きく3つの実験群 (の A, B, C の3つのグループ) に分けた。A では、まず試験歯磨剤 (F 無配合, 500, 1100 ppm の3つのサブグループを含む) の水スラリーにて牛エナメル質試料片 (以下、試料片) を口腔の外で5分間処置し、軽く洗浄した後、直ちにこれを人工プラークで覆い、上顎の口蓋に装着した。この人工プラークは、*S mutans* Ingrid-1600 株を培養し、

遠心分離して同菌を濃縮し、これを用いた擬似プラークである。Bでは、口腔の外では試験歯磨剤処置を行わず、試験歯磨剤にて自分の歯を口腔内で1分間ブラッシングし、その唾液スラリーを吐き出し、口漱ぎを行わず、直ちに人工プラークで覆われた試験片を口腔内に装着した。CではAと同じように、まず試験歯磨剤のスラリーにて試験片を口腔の外で5分間処置し、軽く洗浄した後、これを人工プラークで覆い、直ちに人工プラークで覆われた試験片を口腔内に装着したまま、もう一度Bの場合と同じように、試験歯磨剤にて自分の歯を1分間ブラッシングし（試験片には直接ブラッシングは行わない）、その唾液スラリーを吐き出し、口漱ぎを行わなかった。

装着30分後に、人工プラークと試験片（各処置条件ごとに試験片の1部）を口腔から取り出し、人工プラークに取り込まれたフッ化物濃度を測定した。また口腔内に残された試験片に対して、これを脱灰させるため20%の砂糖液の含漱を1分間行い、45分後（装着後75分）に人工プラークと試験片を取り出して、プラークに残されたフッ化物濃度の測定と試験片の硬さ（脱灰程度）を測定した。プラークに取り込まれたフッ化物は、これを遠心分離して得られた液体（プラーク液）に存在する量と、遠心分離後に得られた固形分に残ったフッ化物濃度を上述の電極法にて測定した。

なお著者らは、試験片をどのように人工プラークで覆ったか、またどのように硬さを測定したか、詳しくは解説していないが、筆者は次のように推察した（図2）。人工プラーク（緑色の線で示された層）とエナメル質試験片との接触界面を除いて、耐水性の皮膜で試験片を被覆する。次いで人工プラークの層を試験片と固着させた状態にし、図の右端の緑色の窓から砂糖液を浸透させる。砂糖液は赤色の矢印に沿って左側に拡散し、*S. mutans*によって代謝されて酸が産生される。この酸によってエナメル質表面は脱灰される。脱灰後（含漱45分後）、口腔から試験片を取り出し、人工プラーク層を取り除いた後、エナメル質表面の硬さを測定する。測定は、測定表面ゼロμmから図で示した赤線に沿って2,500μmの深さまで行う。

結果1：脱灰後のエナメル質の硬さの%減少率（%SHC）： $[健全硬さ - 脱灰後の硬さ] \div 健全硬さ \times 100\%$

① 実験群Aでは、Fなし歯磨剤の場合と比べてF歯磨剤の場合にてエナメル質硬さの減少率は、平均してどの測定点でも小さかった（図3：横軸は Distance from the block edge; 縦軸は%SHC; アルファベッ

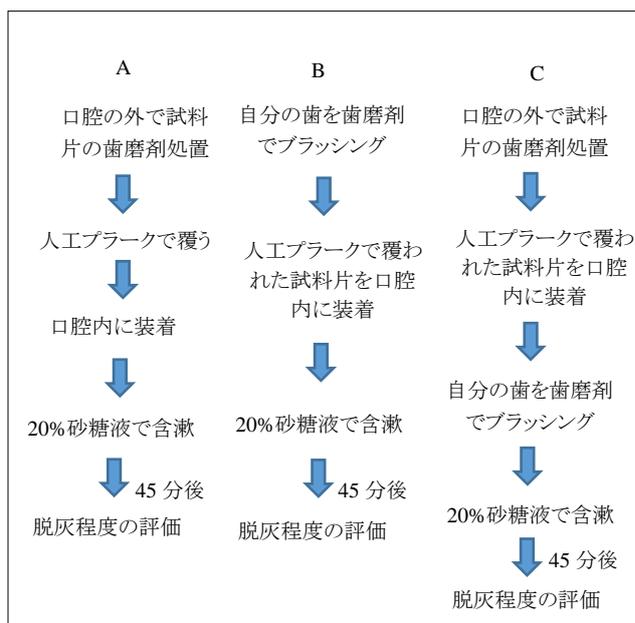


図1 プラークに取り込まれたFの有効性を検証する実験群

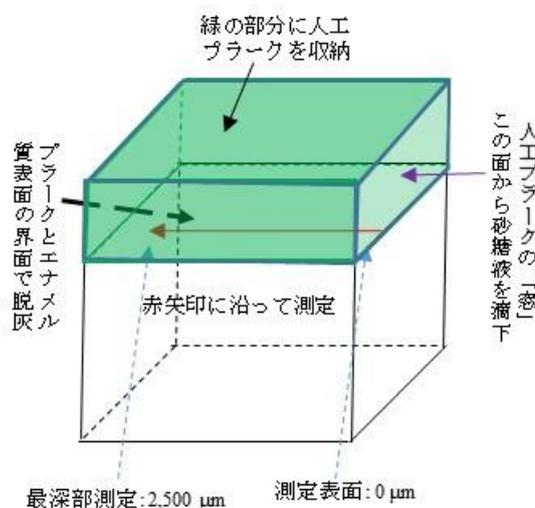


図2 エナメル質試験片の解説図と硬さ測定

トの違いは有意差あり)。しかし両 F 歯磨剤 (500 と 1100 ppm) のあいだで有意差は認められなかった。

- ② それに対し実験 B と C では、A と異なった結果であった。なお B と C では、どの測定点でも硬さの減少率に関して有意差が認められなかった。すなわち口腔の外での歯磨剤処置の影響は認められなかった。そこで、この両結果をプールして解析した (図 4)。その結果、両 F 歯磨剤の影響を受けた人工プラークにおいて、F なし歯磨剤の場合と比べて有意に硬さの減少率は小さかった。

以上の結果から、以下のことが推察される。

<1> 上述したように、実験 B (試料片への歯磨剤処置なし) と C (試料片への歯磨剤処置あり) では、どの測定点でもエナメル質硬さの減少率に関して、有意差が認められなかったことから、F 歯磨剤で試料片を処置しなくても、プラークが F 歯磨剤で処置されていれば、同じ脱灰抑制効果が得られること、すなわち必ずしもエナメル質を F 歯磨剤で処置しなくてもよいことを示唆している。換言すればプラークへのフッ化物の取り込みの方が、エナメル質へのフッ化物の取り込みよりも脱灰抑制効果に大きく寄与する。

<2> エナメル質の硬さの減少率について、実験 A (図 3) と B (および C; 図 4) を比較すると、下記のような推察が可能である。F なし歯磨剤において、図 3 と 4 では、ほぼ同様な減少率である。従って F 歯磨剤による脱灰抑制効果の比較が可能である。そうすると、実験 A では 2,500 μm の測定点までの硬さの減少率は約 15~35% と読み取れる。それに対し、実験 B (および C) では、5~18% と読み取れる。前述の<1>での推察と同様、脱灰抑制効果に関してエナメル質へのフッ化物の取り込みと比べて、プラークへの取り込みの方が大きな抑制効果を発揮したと推察される。

結果 2: プラーク液および固体成分に取り込まれたフッ化物濃度

1) プラーク液について (図 5):

① エナメル質試料片を口腔外にて試験歯磨剤で処理した場合 (図 5 では「歯磨剤処理あり」と記載) と処置しない場合 (図 5 では「歯磨剤処理なし」と記載) とのあいだで、プラーク液に取り込まれた F 濃度に有意差は認められなかった。すなわちプラーク液に取り込まれる F 濃度に及ぼす口腔外での F 試験歯磨剤処置の影響は、全く無いことを示唆している。

② プラーク液に取り込まれた F 濃度は、砂糖液の含漱の前および後のいずれにおいても、試験歯磨剤の F

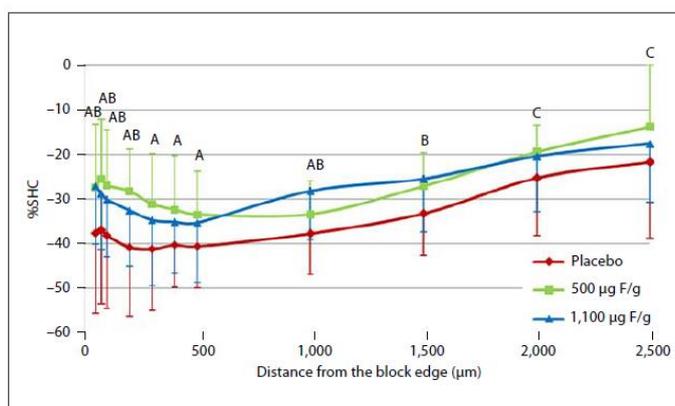


図 3 実験 A) 青線: 1,000 ppm 歯磨剤, 緑線: 500 ppm 歯磨剤, 赤線: プラセブ歯磨剤.

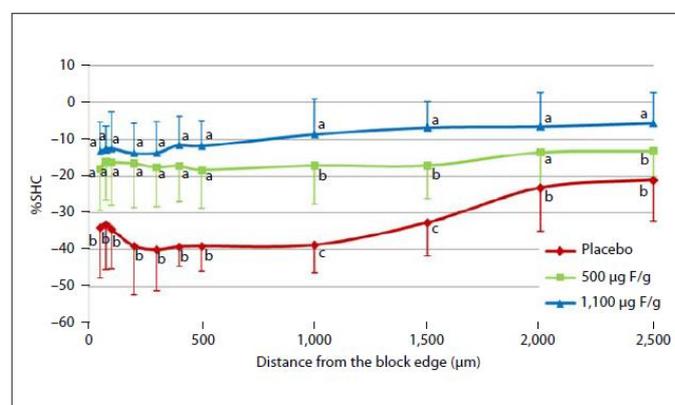


図 4 実験 B または C: 両者は統計的に優位差なし) 青線: 1,000 ppm 歯磨剤, 緑線: 500 ppm 歯磨剤, 赤線: プラセブ歯磨剤

濃度と有意な濃度依存性が認められた。

③砂糖液で含漱することにより（産生された酸の影響も含めて）、F濃度は大きく低下した。

2) プラークの固体成分について：(図6)

①各実験群と試験歯磨剤に関して、プラーク固形分に取り込まれたF量は、全体の傾向としてプラーク液と同様であった（上述の①、②、③）。

②砂糖液で含漱することにより、F濃度は大きく低下したことから、う蝕予防が達成されるためには、毎日、F歯磨剤やF洗口剤を使用して補わなければならないことが示唆される。

なお実験Aでは、試料片に取り込まれたフッ化物濃度は、試験歯磨剤のF濃度に対応して有意に濃度依存性が認められたとの記載はある。残念ながら実験BとCではそのようなデータは示されていない。従って、試料片に取り込まれたフッ化物の濃度が、エナメル質の脱灰抑制に対して、どのように影響するか推察はできない。しかしながら筆者がこれまで推察したように、エナメル質へのフッ化物取り込みよりは、プラークへの取り込みの方が、脱灰抑制に関して支配的に作用しているのではないと思われる。

最後に本論文の著者らは、この研究結果の限界について以下のようなコメントをしている。①単一細菌 (*S. mutans*) によるモデルプラーク（口腔内では複数の細菌によるプラーク）であること、②1回だけの歯磨剤処置（実際は多数の長年による歯磨剤の使用）であること、またエナメル質初期う蝕では健全エナメル質と比べて隙間が多くなり、その結果、フッ化物と反応できる歯質表面積が大きくなることで、フッ化物取り込み量は多くなること（臨床的には初期う蝕の場合も想定される）、③その結果、今回の健全エナメル質の場合とはフッ化物の作用効果が異なるとかも知れない。この②と③については、下記にて追記する。

上記の実験結果から、F歯磨剤やF洗口剤を使用した場合、歯質よりもプラークFの方が脱灰抑制効果に対して大きな影響力を及ぼしていることが推察された。このような背景から、一部の研究者らは、フッ化物をプラークにより積極的に取り込ませる新しい技術（Ca化合物とフッ化物の組み合わせ）の開発を検討している⁷⁾。

ここまでは、プラークに取り込まれたフッ化物による脱灰抑制の重要性を解説してきた。しかしこれとは異なる研究報告も見られる。Zangらは、脱灰し

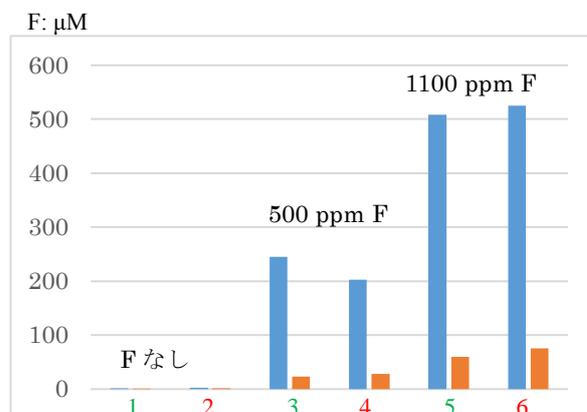


図5 プラーク液に取り込まれたフッ化物量

青色:砂糖含漱のまえ 桃色:砂糖含漱の後
1, 3, 5: 歯磨剤による自分の歯の処置なし
2, 4, 5: 歯磨剤による自分の歯の処置あり

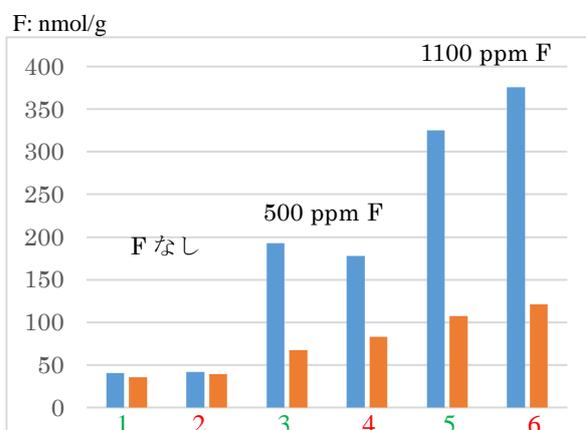


図6 プラークの固形分に取り込まれたフッ化物量

青色:砂糖含漱のまえ 桃色:砂糖含漱の後
1, 3, 5: 歯磨剤による自分の歯の処置なし
2, 4, 5: 歯磨剤による自分の歯の処置あり

たエナメル質表面に *S. mutans* からなる人工バイオフィルムを付着させ、NaF (350 ppm F; 1日2回塗布) とナノアパタイト (10% nHA スラリー; 1日2回塗布) 処置による脱灰抑制効果を評価した⁸⁾。すなわち彼らは、これらの薬剤の効果について、人工バイオフィルムで覆われた脱灰エナメル質を、pH4.5の脱灰液と pH7.0の再石灰化液に交互に浸漬する pH サイクリング法にて評価した (19日間)。比較群として、人工バイオフィルムで覆われていない場合でも評価した。その結果を以下に示す。

まずコントロール群と NaF 群を比較する。バイオフィルムの有無にかかわらず、NaF の脱灰抑制効果は認められた。しかしバイオフィルムで覆われている場合は、初期値の脱灰量から増加した (図7では上向きの棒の e)。それに対し覆われていない場合は、初期値の脱灰量は減少した (図7では下向きの棒の d: 再石灰化が進行)。

すなわちこの結果は、上述の Tenuta らの結果と異なる (バイオフィルムの存在は NaF の効果にとって有利)。この原因に関して、少なくとも2つの可能性を筆者は考えている。第1は、Zang らの実験では、エナメル質試料はあらかじめ脱灰したものをを用いた。そのため NaF 処置した場合、バイオフィルムで覆われていない場合は、その影響を受けることなく、脱灰病変の内部に効率的に F が浸透し、多くの CaF₂ 様沈着物形成されたと思われる。それに対し Tenuta の場合は、健全エナメル質を用いた。そのためエナメル質表面での CaF₂ 様沈着物の形成は、脱灰エナメル質の場合と比べて、かなり少なかったと推察される。この CaF₂ 様沈着物の形成量の差が、両者の結果に影響したと考えられる。

第2は、脱灰エナメル質の場合、バイオフィルム由来の様々な物質、特にリポタイコ酸 (lipoteichoic acid) が、脱灰表面に吸着してエナメル質アパタイトの結晶への F の吸着が抑制されたのではないかと推察される (F 取り込みの減少)。さらにはリポタイコ酸が脱灰病変の内部に侵入してアパタイト結晶の表面に吸着して⁹⁻¹²⁾、F による再石灰化作用が抑制されたのではないと思われる (第13章を参照)。このようにプラーク (バイオフィルム) の存在は、実験条件の違いによってフッ化物の効果にポジティブ作用する場合とネガティブに作用する場合があると思われる。う蝕は脱灰と再石灰化を繰り返しながら、健全歯質が悪化する場合 (脱灰が優位) と改善する場合 (再石灰化が優位) がある。う蝕の発症は、プラークが除去しにくい部位で起きる。プラーク除去が困難という前提で、フッ化物の作用メカニズムについて、さらなる検討が必要である。

上述の Zang らの実験に戻って、nHA の効果について解説する。バイオフィルムの有無にかかわらず、コントロール群 (水処置) と比べて、nHA 群では baseline 値 (脱灰直後の初期値) からの脱灰量の増加量 (vol%・ μm) は有意に少なかった。興味あることは、NaF の場合と異なり、バイオフィルムで覆われた場合の方が、そうでない場合と比べて高い脱灰抑制効果が認められたことである。これは、nHA の微粒子がバイオフィルムのマトリックス内で吸着したことによる (表1; コントロール群や NaF 群の約9~15倍高い Ca 濃度)。その結果、バイオフィルム内での Ca²⁺ とリン酸イオン濃度が高まって、HA に関して飽和度が上昇して、脱灰を抑制したと考えられる。それに対し、バイオフィルムで覆われていない場合は、脱灰エナメル質の表面への nHA の吸着は非常に限定的であったと推察される。なぜならば、バイオ

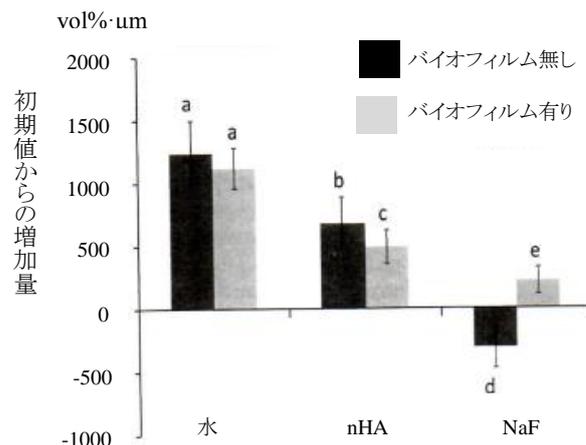


図7 バイオフィルム系にて評価した nHA および NaF の脱灰抑制効果: 異なるアルファベットは有意差あり

フィルムマトリックス内にて nHA が吸着できる面積は、脱灰エナメル質の表面で吸着できる面積と比べて圧倒的に広いことによると思われる。

ただし留意しなければならないことは、一般に微粒子は、水系ではお互いが凝集して一次粒子（乾燥状態での粒子の大きさ）の大きさの数 10 倍

にもなることがある。そのため脱灰エナメル質の表面への吸着、あるいは内部への進入は限定的になると思われる。しかしながら両者の差は有意ではあるものの、それほど大きくはないので、nHA の効果はプラークの有無にかかわらず発揮されると考えられる。当然、NaF と nHA を併用することで、それぞれの作用メカニズムが異なることで高い脱灰抑制効果や再石灰化促進効果が期待できる。

表 1 バイオフィルムの活性（生菌数と乳酸産生量）の比較

群	生菌数 log CFU/BF	乳酸の産生量 mM	BF 中の Ca 量 μmol/g (w/w)
コントロール(水)	9.4 ± 0.1	22.6 ± 0.1	4.0 ± 1.6
nHA	9.5 ± 0.1	23.4 ± 0.1	60.7 ± 15.3
NaF	9.4 ± 0.1	21.8 ± 0.7	7.1 ± 5.9

CFU: colony forming unit, BF: biofilm, w/w: weight/weight

さらに彼らは、バイオフィルムの活性（生菌数、乳酸産生量）に及ぼす NaF の影響についても検討した。その結果、生菌数と乳酸産生量に関して、コントロール群と NaF 群のあいだで有意差は認められなかった（表 1）。Ciacaman らも、類似な人工バイオフィルム（*S. mutans* を使用）を用いて、エナメル質と象牙質の脱灰抑制効果およびバイオフィルムの活性抑制効果に及ぼす 0.05% NaF 塗布（F として 226 ppm, 1 日 2 回）の影響を評価した¹³⁾。その結果、NaF を塗布していない群と比べて、塗布群ではエナメル質と象牙質の脱灰を有意に抑制した。しかしながらコントロール群（水処置）と比べて、NaF 処置群におけるバイオフィルムによる酸産生能（pH の低下）およびバイオフィルムの活性（バイオフィルムの量、細菌数、不溶性/可溶性の菌体外多糖、菌体内多糖）に有意差は検出されなかった。すなわちこれらの結果は、このような濃度の F 濃度では、F は菌体の活性抑制には全く影響しないことを示唆している。

日本ではフッ化物の作用メカニズムとして、プラーク細菌への抑制効果（抗菌、酸産生など）を認める論調が多い。すなわちこの効果が、う蝕予防の作用メカニズムの 1 つとして認知されている。この論調は、多くはインビトロの実験結果による。しかしそのエビデンス（プラーク細菌に対する抑制効果が、う蝕を予防する効果の立証）を支持する臨床研究は、筆者の知る限り、見当たらない。その理由の 1 つとして、仮にプラーク細菌への抑制効果が臨床的に確認されたとしても、フッ化物の直接的な作用メカニズムである脱灰抑制と再石灰化促進効果との区別が困難であることによると思われる。

次にプラーク F の動態について解説する。フッ化物が口腔（プラーク）から失われることに関連して、Birkeland らも同様な知見を報告した。彼らは 1 ppm F を添加した水道水を飲用している住民からプラークを採取し、これに砂糖液を加えて酸を産生させ、遊離したフッ化物濃度を測定した。その結果、低下した pH の程度と遊離した F 濃度とのあいだに有意な比例関係を認めた。しかし砂糖液の代わりに生食水を加えた場合（pH6）では、F の遊離は認められなかった¹⁴⁾。

また Agus らも 10 歳前後の児童から、砂糖液を摂取する前と後にてプラークを採取し、プラーク液の pH とそこに含まれる F 濃度、およびプラークを遠心分離して得られた沈殿に含まれる水不溶性（菌体との結合性）のフッ化物の違いを検討した¹⁵⁾。その結果、砂糖液を摂取した後ではプラーク液に含まれる F の濃度は、砂糖液の摂取前と比べて有意に低下した。砂糖液の摂取前では、F の濃度は全フッ化物濃度のわずか 2.8% であったが、後では 8.4% に増加した。このことからプラーク F は、酸が産生されるたび

に減少すること、および全フッ化物の一部は F に変化することが示唆された。

こうしてプラーク F は、プラークが酸性になると F として遊離し、その濃度がプラーク液内で上昇する。この場合、酸が産生されるので、F の遊離と同時に脱灰による Ca^{2+} などのミネラルイオンの遊離、さらにはプラークからもこれらのイオンの遊離も起きるのではないだろうか。Tanaka らは、プラークに存在する結合性無機イオン（水では遊離しない Ca, 全 PO_4 ）が、砂糖液に曝した後に産生された酸で、プラーク本体から遊離するかどうか検討した。その結果、砂糖液に曝す前の pH（約 6.5）が pH5.4 に低下し、それに伴い Ca 濃度は 1.9 mM から 5.0 mM に増加した、しかし PO_4 はわずかにしか増加しなかったと報告している¹⁶⁾。少なくとも Ca 濃度も上昇することで、FA に関する飽和度がさらに高くなり、より効果的に歯質の脱灰が抑制できると推察される。

通常、唾液にて検出される F 濃度は、約 0.1 ppm 以下の非常に低い濃度である。それに対してプラークでは前述したように数 ppm である。文献値を参照すると、両者で最大で数 100 倍もの濃度差がある。にもかかわらず、プラークにおいて高い濃度でフッ化物が存在すること、すなわちこの事実は、濃度勾配に逆らってプラークに取り込まれるメカニズムが存在することを示唆している。それではプラークはどのようなメカニズムでフッ化物を取り込み、取り込まれたフッ化物はどのような化学的状态で存在するのか。また酸産生によって取り込まれたフッ化物が、どのようなメカニズムで F が遊離するのか。入手できた論文と筆者の推察から、以下のように考えられる。

まず取り込みのメカニズムの候補として、①細菌内の陽イオン性の物質（アミンやアミド基を含む塩基性アミノ酸やタンパク質）と結合する、②糖類などに存在する水酸基（OH）との水素結合を介してプラーク成分に結合する、③幼弱石灰化物に吸着する、④Ca ブリッジを介して結合する（後述の 4）などが考えられる。一方、プラークが酸性になることでフッ化物が失われるメカニズムの候補として、一部のフッ化物はフッ化水素酸（HF）となって遊離するか、あるいは上述した 4 つのタイプの結合から F として遊離するのではないかと推察される。

以下に、これらの点について幾つかの研究成果を紹介するが、必ずしも知見が一致していない。これは、それぞれの実験条件がかなり異なるからであろう。例えば代表的な口腔細菌を用いた *in-vitro* における実験条件の違い、あるいは *in-vivo* で形成された実際のプラークやプラーク液を得る条件（プラークが形成された時間の長短、砂糖液を摂取した後の時間経過あるいはプラークの採取部位など）、さらには F の測定条件など違いによるかも知れない¹⁷⁾。

なおここではフッ化物は NaF しか取り扱わない。モノフルオロリン酸ナトリウム（MFP）の場合、この分子は宿主または細菌由来のフォスファターゼによって加水分解を受けるので、NaF の場合のメカニズムは直接適用されない、もっと複雑であることが予想される。紙面の都合上、MFP については本稿ではこれ以上は言及しない。

(1) Whitford らは、口腔細菌へのフッ化物の取り込みについて、細菌 (*S. mutans* 6715) を用いて F を含む緩衝液の pH の影響を検討し、以下のような知見を得た¹⁸⁾。

①F 取り込みは非常に短い時間（分単位）で起こる。取り込みは pH 依存性であり、pH が低いほど多く取り込まれる。一連の結果から、数分以内の短時間で起きる F 取り込みメカニズムは、細胞内への HF 分子の拡散と、細胞内に存在する何らかの成分による F の補足（弱い相互作用）と考えられる（筆者の考察）。またあらかじめ酸性の緩衝液に浸漬した細菌では、取り込み量は顕著に減少する。これは細

菌内部の pH が低下することで、緩衝液と細菌内部のあいだで pH 差が小さくなり、pH 依存性の影響が小さくなるからである（筆者の補足：F は pH 中性領域では、イオン性の F として存在するが、酸性 pH では水素イオン（ H^+ ）と結合して電荷を持たない HF 分子として存在する；第 7 章の図 5 を参照）。しかしながら筆者は、F 歯磨剤や F 洗口剤のような pH 中性の製剤では、このようなメカニズムは実際には適用できないと考えている。一方 APF 塗布剤（pH3.5）の場合は、このメカニズムが機能すると考えられる¹⁹⁾。

- ②取り込み量は、緩衝液への浸漬時間が短いほど多くなり、時間が長くなると減少する。これは一旦細菌に取り込まれた F が、緩衝液に戻ってくることを示している。この知見は、取り込まれたフッ化物が細菌内の物質と強固な化学結合をしていないことを示唆している。
- ③細菌の活性に影響する物質（エネルギー源としてのグルコース、細胞毒としてのシアン、解糖系の酵素の阻害剤であるヨード酢酸）を緩衝液に加えても、取り込み量に影響しなかった。これは、フッ化物の取り込みが、エネルギー依存性ではないことを示唆している。

しかし彼らは、なぜ取り込み量は HF の形成量に比例するかの推察は行っていないが、筆者は以下のように推察する。pH が中性の場合、フッ化物の大部分は陰イオンの F として存在する。一方プラーク内の細菌の細胞膜はリン脂質 2 重膜で形成されているので、同じくマイナスの電荷を帯びている。そのような場合、マイナス電荷同士の反発作用で、F はプラーク内には浸透しにくいと考えられる。それに対し pH が低い場合、F の一部は H^+ と反応して HF となり、電荷がゼロとなる。細菌の細胞膜も H^+ が吸着して電荷がゼロに近づく。すると pH 中性の場合で起こる、マイナス電荷同士の反発は小さくなる。その結果、HF あるいは F は pH 中性の場合より容易に膜を通過でき、細菌に取り込まれやすくなる。取り込まれた HF は、pH 中性の細胞内では、F として存在し、 H^+ の一部は中和されて水となる。しかし細胞内に一定以上の HF が流入すると pH の低下が起こり、細菌への取り込み量は頭打ちになる。Cardoso ら²⁰⁾や Eisenberg ら²¹⁾も同様な傾向の結果を報告している。

(2) Kashket らは、*Streptococcus sanguis* strain H7PR3 を用いて以下のような知見を報告した²²⁾。この細菌を 1 ppm の F を含む培養液に浸漬すると、細菌内の濃度は約 6 ppm に上昇した。また細菌は、フッ化物を取り込むためにエネルギーを使用しなかった。さらに、取り込まれたフッ化物は、緩衝液で比較的簡単には取り除くことができるものと、取り除くことができない（非可逆的）ものが存在する。すなわち細菌内に含まれる物質に、一部の F は化学的に結合していると推察される。

(3) Tokura らは、*in-vivo* で形成したプラークを用いて、F の取り込みとプラーク内のフッ化物の分布状態に及ぼす pH の影響を検討した²³⁾。あらかじめ 1 および 3 週間かけてプラーク形成し、このプラークに pH3 と pH7 の 2 種類の 1,000 ppm F 洗口剤を作用させた。その結果、pH3 のときの方が、pH7 の場合と比べて、プラークの各層（1～7 層）でのフッ化物の取り込み量は少なかった（図 8）。この結果は、一般的に考えられてきた上記 Whitford らの(1)の結果とは一致していない。

彼らはその理由として、pH3 の F 洗口剤を使用した酸性では、全フッ化物の 60% は HF として存在するため、この HF がプラークの表層に存在するプラーク・マトリックス（特にタンパク質と炭水化物のグルカン）とのあいだで水素結合を形成し、その結果、HF はプラーク内部への拡散が抑制されるからとしている。さらに同様に、pH 酸性では負に帯電したプラーク細菌の表面が非帯電性となり（ $R-COO^- + H^+ \Rightarrow$

RCOOH), イオン化している F (全フッ化物の 40%) はこの RCOOH の H 部位と水素結合して、プラーク内部への拡散が抑制されるからとしている。

一方, pH 中性の F 洗口剤を使用した場合は, そのような制約 (プラーク表層での水素結合による補足) が少ないからとしている。しかしいずれの pH でも, 取り込まれたフッ化物はプラーク表層で高く, エナメル質に近い深層では少なかった。同様な結果を Watson ら²⁴⁾ も報告している。これに対し, 先の Cardoso も酸性と中性の F 歯磨剤を比較し, 両者の F 歯磨剤にてプラーク F の取り込み量に有意な差はなかったと報告した²⁰⁾。

ここで筆者を含め読者は, 単一細菌で得られた結果とヒト口腔内の自然のプラークで得られた結果と

で, 結果が大きく異なることに疑問を抱くであろう。筆者は, その理由の 1 つとして自然のプラークには Ca^{2+} やリン酸イオンなどの無機イオンや有機物 (有機酸とアミノ酸など) の成分 (表 2: * は測定せず) が, 唾液と比べてかなり高い濃度で存在し, これらの成分と F との相互作用が起きると考えている。表 2 の数値は代表的な 1 例であり, 文献では様々な濃度が報告されている^{2,3,4)}。相互作用の 1 例として, プラークに含まれる Ca^{2+} 濃度³⁾ と F による CaF_2 (あるいは CaF_2 様物質) の形成沈着が挙げられる (第 12 章を参照)。ちなみに CaF_2 の溶解度積 $[\text{Ksp} = (\text{Ca}^{2+}) \times (\text{F}^-)^2]$ は,

3.9×10^{-11} であるので, 便宜的に活量係数を 1.0 とすれば計算上, 数 ppm の F が一定時間プラーク液に存在すれば, CaF_2 の形成は可能と推察される。ただし活量係数しだいでは, その可能性は小さくなる。

Whitford らは, プラークに含まれる Ca 濃度が高いほど, フッ化物もより多く含まれると報告した²⁵⁾。この可能性について Vogel らは, 48 時間ブラッシングを控えて形成された *in-vivo* プラークを用いて検討した²⁶⁾。彼らは, プラーク形成を終えた被験者に 228 ppm F の洗口 (1 分間) を要請し, 30 分後あるいは 1 時間後にプラークを採取した。このプラークを遠心分離し, プラーク液についてはイオン化した Ca^{2+} と F 濃度の測定を行い, 遠心分離した沈殿相については CaF_2 様物質の形成の有無を検討した。その結果, CaF_2 様物質の形成は認められなかった。この結果について, 彼らは以下のように考察した。 CaF_2 様物質は形成されたかも知れないが, 30 分以内に溶解してしまったのではないか。あるいは理論的には形成されるはずであるが, プラークには CaF_2 様物質の形成を抑制する物質 (タンパク質など) が含まれているため, 形成が抑制されたのではないか。彼らは, この結果からプラークへのフッ化物の取り込みと

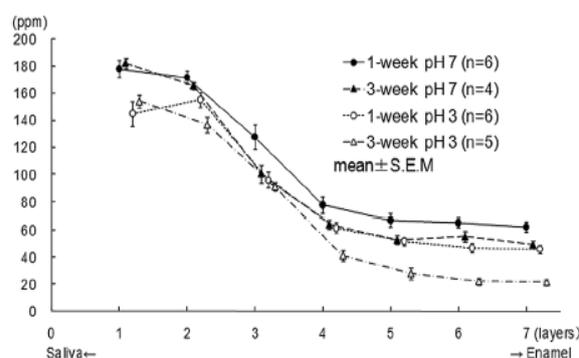


図 8.1 および 3 週間プラークに対して, pH3 または 7 の F 洗口剤 (1000 ppm) を使用したときの各層での F 濃度

表 2 プラーク液, 唾液および血清中に含まれる成分の比較

成分	プラーク液	全唾液	血清
pH	5.7	6.7	7.4
全Ca	7.1 mM	2.5 mM	2.3 mM
全PO ₄	23.2 mM	6.0 mM	1.3 mM
全Mg	2.0 mM	0.2~0.6 mM	0.8~1.0 mM
Na ⁺	18.6 mM	5.0 mM	140 mM
K ⁺	85.1 mM	22.0 mM	4.0 mM
NH ₄ ⁺	26.3 mM	0.6~7.0 mM	*
HCO ₃ ⁻	*	4~40 mM	*
Cl ⁻	23.8 mM	10~56 mM	98~108 mM
酢酸	45.2 mM	*	*
プロピオン酸	30.8 mM	*	*
乳酸	1.4 mM	*	*
全有機酸	93.6 mM	*	*
全アミノ酸	22~30 mM	*	*
全タンパク質	*	0.1~0.6 %	*

徐放性は、 CaF_2 様物質によるものではなく、プラーク細菌に結合したフッ化物によるものであると推察した。この推察は、筆者が先に述べた4つの可能性に相当すると思われる（①細菌内の陽イオン性の物質との結合、②糖類などに存在する水酸基（OH）との水素結合を介してプラーク成分との結合、③幼弱石灰化物への吸着、④Caブリッジを介した結合）。

さらにこの表2で注目すべきことは、上述したようにプラーク液では唾液と比べて、これらの無機イオンや有機物の濃度がかかなり高いことである。このような大きな濃度差であれば、唾液への拡散が起きて両者で濃度差が無くなるはずである。なぜ唾液との濃度差が維持できるか。筆者は以下のように考えている。菌体表面の負の電荷と Ca^{2+} や $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{NH}_4^+$ などの正に荷電したミネラルイオンとのあいだのイオンの相互作用によるこれら陽イオンの滞留、あるいは不溶性グルカンの粘性によるこれら陽イオンの拡散の抑制である。フッ化物の取り込みに関しては、上で言及したようにプラーク内の有機物とミネラルイオンあるいはFとのあいだの水素結合の形成が推察される。このようなプラーク液の特性は、砂糖やグルコースなどの糖類分子をプラーク内に一定時間保持できることと関連していると思われる。このことにより、糖類を摂取後、数10分のあいだpHが低下し（いわゆる Stephan curve）、その結果、歯質の脱灰に繋がると思われる。

(4) Rose らは、Fがプラークに取り込まれるメカニズムとして、Caブリッジの可能性を *Streptococcus mutans* R9 を用いて検討した。Caブリッジとは、 Ca^{2+} が介在して、Fが負に帯電した菌体表面に結合するという仮説を言う。具体的には、負に帯電した菌体表面と、同じく負に帯電したFのあいだに、正に荷電した Ca^{2+} が介在するモデルである（図9）。彼らは、 Ca^{2+} 以外の2価金属イオンとして Mg^{2+} と Zn^{2+} も検討した。その結果、菌体とFとの結合定数およびFを取り込む量は、いずれの金属イオンでも増加した²⁷⁾。

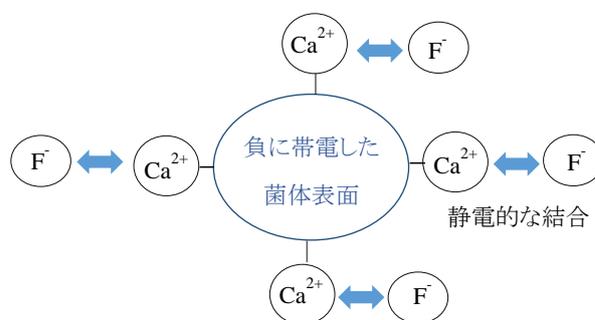


図9 カルシウムブリッジによるFの捕獲

それでは、プラークFとう蝕罹患状況とのあいだにどのような関連性があるのか。この疑問に厳密に答えることは、以下のような理由で困難である。①プラークFの分析値は、日常生活の様々な場面の1場面での値でしかない。う蝕の発症は、個人における長いあいだの生活様式の違い（飲食物の摂取パターン、F製剤の使用頻度、ブラッシング・テクニック、プラーク細菌叢など）の蓄積の結果である。従って、単純な相関性を議論することは危険である。②フッ化物は、プラーク以外にも歯質や口腔粘膜²⁸⁾にも取り込まれ、フッ化物の徐放源となり得るので、プラークFとの厳密な区別はできない。③飲料水のフッ素化した地域では、Fは唾液腺からも供給される²⁹⁾。

このような制約を踏まえた上で、プラークFとう蝕罹患指数とのあいだの関連性について疫学調査を行った1例を示す。Agus らは、飲料水に含まれるF濃度の異なる3地域（0.1, 1.0, 1.0 ppm）に生活する10歳前後の児童（72人）を対象に、プラークFとDMFT値の関連性を調査した³⁰⁾。その結果、プラークF濃度とDMFT値とのあいだに有意な逆相関性が認められた。ただし3地区総計の相関係数（r）は、-0.28と大きくはない（残りの72%はフッ化物以外の要因が関与）。相関係数が小さいことは、上述の①と②の制約を反映していると思われる。Hartshorne らも同様な関連性を調査した³¹⁾。彼らは被験者（南

アフリカの原住民と思われる)の大部分(78.5%)がブラッシング習慣はなく、飲料水に含まれるF濃度が異なる3地域(0.4 ppm以下, 0.4~1.6 ppm, 1.6 ppm以上)で生活する児童を対象に調査した。その結果、飲料水に含まれるF濃度とDMFT値とのあいだで有意な相関性は認められなかったが、プラークFとのあいだでは有意な相関性を認めた。

最後に、「フッ化物は細菌活性や酸産生能を抑制して、う蝕予防に寄与するか」について、再度、私見を述べてみたい。『う蝕予防の実践：フッ化物局所応用実践マニュアル；日本口腔衛生学会フッ化物応用委員会編、初版：2017年6月4日』には、フッ化物による予防メカニズムとして、歯質への作用(脱灰抑制と再石灰化の促進)と歯垢への作用(細菌の酵素作用の抑制による酸産生の抑制)の両方が挙げられている。前者の作用(効果)に関しては、様々な実験的環境下(*in-vitro*, *in-vivo*, *in-situ*)で行われた多くの研究によって実証されている。

しかしながら後者に関しては、本章の前半でも言及したように、様々な疑問が残されている。例えばBradshawらは各種の口腔細菌を糖類含有の培地に接種し、連続培養後の酸産生に及ぼすF(19 ppm)の影響を検討した。その結果、Fによる培地のpH低下の抑制効果が認められた³²⁾。同様にVan Loverenらは、う蝕関連細菌として最も重視されている*S. mutans*の酸産生能に及ぼすF濃度の影響を検討した³³⁾。その結果、酸産生能を完全に抑制するF濃度は、pH7の環境下では517 ppmであり、pH4.5では1.9 ppmであった。これらの結果は、臨床的には達成が困難な高濃度のフッ化物、しかもかなり長時間にわたってFに曝された場合の結果である。このような高濃度のFを長時間に維持することは、臨床的には困難である。最も頻繁に使用されているF歯磨剤を使用した場合は、数100 ppmの高濃度のFが観察される時間は、最大でも歯磨き時間は通常3分に満たない。歯磨き後の口腔内(唾液とプラーク)のフッ化物濃度は、10分以内で1 ppm程度ないしはそれ以下に低下する。F洗口剤でも同様な傾向である。従って、このような高濃度で長時間、菌体と接触させた実験結果は、実際の口腔では起こり得ないことから、臨床的にう蝕予防に寄与するとは考えにくいと筆者は考える。

酸産生に関連して、プラークFが細菌内に存在するエノラーゼ(解糖系に関与して酸を産生する酵素、同酵素の活性化にはMg²⁺が好適)の活性に必要なMg²⁺と結合することで、酵素活性を阻害することは良く知られている³⁴⁻³⁷⁾。

Takahashiらは、グルコースから代謝される乳酸の量に及ぼすF洗口剤の影響を検討した。被験者は、10 mLのNaF洗口剤(Fとして225または900 ppm)を1分間洗口し、次いで10分後に10 mLのグルコース液(10 mol/L)を1分間含漱した。その後、プラークを採取して乳酸イオンの濃度を測定した

³⁸⁾。その結果、225 ppmで34%、900 ppmで46%の乳酸イオンの濃度の減少が認められた(表3；*と**のあいだで有意差あり)。この結果から、フッ化物には糖類の代謝を抑制して、う蝕を予防する効果が期待されるとの見解が示されるが、その見解に疑念や未解決の課題を示す研究も認められる^{39,40)}。先のTakahashiらの結果は、F洗口剤を使用した1分後の効果である。通常、F歯磨剤やF洗口剤を使用した場

表3 プラークによる酸産生に及ぼすフッ化物洗口剤の影響
(乳酸イオンの生成量)

リンス剤	プラーク中の乳酸イオン濃度(nmol/mg wet weight)
グルコース液	45.3 ± 21.7*
225 ppm F洗口剤の後にグルコース液	29.9 ± 11.6**
900 ppm F洗口剤の後にグルコース液	24.4 ± 12.5**
キシリトールとグルコース混合液	41.1 ± 17.8
キシリトール液単独	4.21 ± 2.90
精製水(プラセボ)	4.89 ± 6.20

合、30分以上は飲食の摂取は控えることが推奨されている。はたして30分後（あるいはそれ以上の時間後）でも、そのような酸産生抑制効果は得られるであろうか。

しかしNaFと異なり、フッ化第1スズ (SnF_2) の場合は事情が異なるように思われる。 Sn^{2+} は⁴¹⁻⁴³、 Ag^+ や Zn^{2+} あるいは Cu^{2+} と同様に⁴⁴⁻⁴⁸、口腔細菌の活性や酸産生能を抑制する作用に関して、NaFより強いからである。

第9章：脱灰液に含まれる有機酸の濃度や種類の影響

プラーク内には、様々な有機酸（乳酸、酢酸、プロピオン酸、桂皮酸、蟻酸、ブチル酸など）が検出される。図1に10%砂糖液を2分間含漱した後、プラークで産生された有機酸について、その経時的濃度変化を示した¹⁾。含漱前は酢酸の濃度が高く、次いで乳酸の濃度が高い。その後、酢酸の濃度が減少して乳酸の濃度が増加した。これは、砂糖から乳酸が産生されたことによる。23分後になると、乳酸濃度は低下し、酢酸が増加傾向にあった。これは、乳酸から酢酸が産生されたことによると思われる。その他の有機酸（プロピオン酸、蟻酸、コハク酸）の濃度に、大きな変動は見られなかった。一方、酸を産生していない（通常）状態では酢酸が最も高い濃度（数10 mM）で検出される。それに対し乳酸の濃度（数 mM）は、かなり低い¹⁾。これらの有機酸の濃度は、プラークを採取した後、遠心分離して得たプラーク液（ μL ）をイオンクロマトグラフィという装置を用いて分析された。

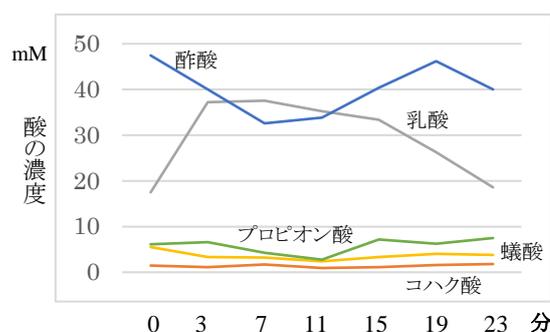
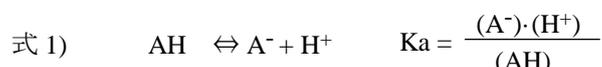


図1 10%砂糖液を含漱した後の各種の酸の濃度変化

これらの有機酸の中で、比較的強い酸としては乳酸が、弱い酸としては酢酸が該当する。強い酸（この場合は乳酸）とはイオン化しやすく H^+ を遊離しやすい酸であるが、酸緩衝能は小さい。弱い酸（この場合は酢酸）ではその逆である。このことは、酢酸イオン濃度が高いプラークほど、乳酸が産生されたとき pH の低下は抑制され、脱灰されにくいことが示唆される²⁾。また同じモル濃度であれば、酢酸より乳酸において低い pH を示す。これは酸解離定数 ($\text{pK}_a = -\log \text{K}_a$) が酢酸で 4.76 であるのに対し、乳酸では 3.86 と大きいからである（式1にて A は乳酸または酢酸イオン）。



このように有機酸といえども弱い酸と強い酸とでは、異なった化学的性質が見られる。さらには、乳酸分子にはカルボキシル基 (R-COO^-) と水酸基 (OH) の2つの末端基が存在し、弱いながらもこれらの末端基は Ca^{2+} とキレート結合する（本章の式2と3を参照）。そのような違いが、歯質の脱灰速度にどのような影響を及ぼすか、本章にて解説する。

まず第1に、pH の影響を見てみる。図2に同一飽和度でありながら、異なる pH 値の場合（4.3, 5.0, 5.5 または 6.0）の脱灰程度を比較した結果を示す³⁾。ただし飽和度を一定に保つため、またそれぞれに指定された pH を設定するため、ミネラルイオン濃度はそれぞれの脱灰液で異なる。酸としては乳酸を使用した。ここでは2つの飽和度の事例 ($\text{DS}_{\text{EN}} = 0.15$; 図2の左, $\text{DS}_{\text{EN}} = 0.17$; 図2の右) で検討した。なおここでは、第4章で定義した飽和度の値をその構成イオン数である9で開いた値 ($\text{DS}^{1/9}$) である（以下同様）。この値が1より小さいほど、脱灰ポテンシャルは強いことを示している。

その結果、いずれの飽和度の場合も pH が低いほど脱灰程度 (vol%・ μm) は大きかった。例えば、 $DS_{\text{EN}} = 0.15$ において脱灰日数が 9 日の場合、pH4.3 では pH5.5 と比べて、約 4 倍以上もの多い脱灰程度を示した (図 2 の左)。

$DS_{\text{EN}} = 0.17$ においては、脱灰日数が 10 日の場合、pH4.3 では pH5.5 と比べて、約 2.5 倍程度多い脱灰程度を示した (図 2 の右)。

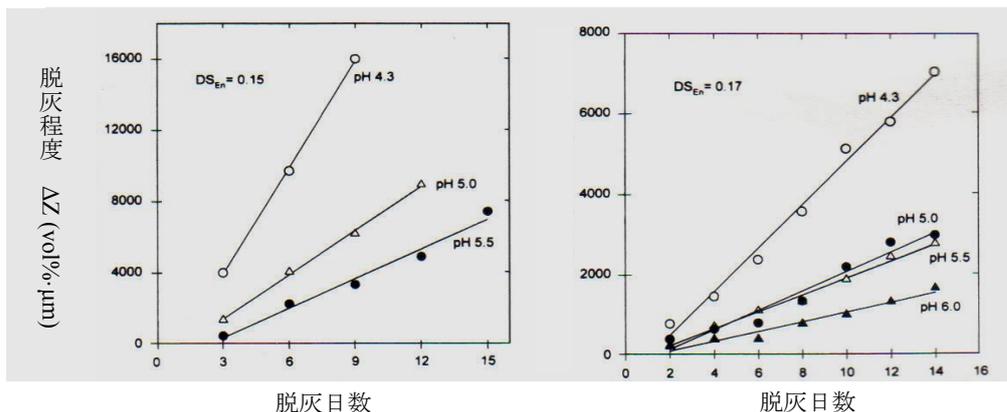


図 2 同一飽和度において、脱灰程度に及ぼす pH の影響

この 2 つの結果は、 DS_{EN} の値が同じ条件であれば、pH が低い

ほど強く脱灰されることを示している。その理由は、解離していない酸の濃度が関係する。解離していない酸とは、 H^+ がカルボキシル基 (R-COO) に結合した状態にあることを指す。その程度を酸度 (acidity) ともいう。非解離の酸は、無電荷であるためエナメル質結晶に存在する荷電イオン (Ca^{2+} , PO_4^{3-} , OH^-) と相互作用をしないため、容易にエナメル質内部に浸透できる。エナメル質内部は pH 中性の環境下であるため、非荷電の酸はただちに H^+ を遊離してエナメル質を脱灰する。すなわち非解離の酸の濃度は pH が低いほど高い濃度で存在するため、強い脱灰作用を呈することになる。さらには、酸度が大きいことは酸緩衝能が高いことを意味しているので、酸の緩衝能が大きいほど酸の pH が長く維持され、脱灰が持続的に進むと考えられる。

第 2 に、彼らはこの酸度の違いを 2 つの有機酸 (乳酸と酢酸) を用いて確認した。ただし pH は 4.30 - 4.37 の範囲とした。図 3 に、3 つの異なる飽和度 ($DS_{\text{EN}} = 0.155, 0.166, 0.175$) において、それぞれの飽和度を固定して「乳酸: lactic」と「酢酸: acetic」とのあいだで、脱灰速度 ($\Delta Z/\text{day}$) に関する違いを示した。ただし飽和度を一定に保つため、また酸度の程度を調整するため、pH やミネラルイオンあるいは有機酸濃度は、それぞれの脱灰液で異なる。縦軸は脱灰期間を通して 1 日あたりの脱灰程度 ($\Delta Z/\text{day}$)、横軸は酸度 (mol/L) である。図 3 では、もともとの乳酸と酢酸の濃度は 0.1 mol/L であるので、横軸の数値はイオン解離していない酸の濃度 (mol/L) である (計算によって求められる数値)。

この図 3 から 3 つの特徴が読み取れる。①いずれの飽和度の値においても、酸度が大きいほど脱灰速度は速い。②酸度が同じ場合、飽和度が小さいほど脱灰速度は速い。③酸度と飽和度が同じ場合、乳酸の方が脱灰速度は速い。

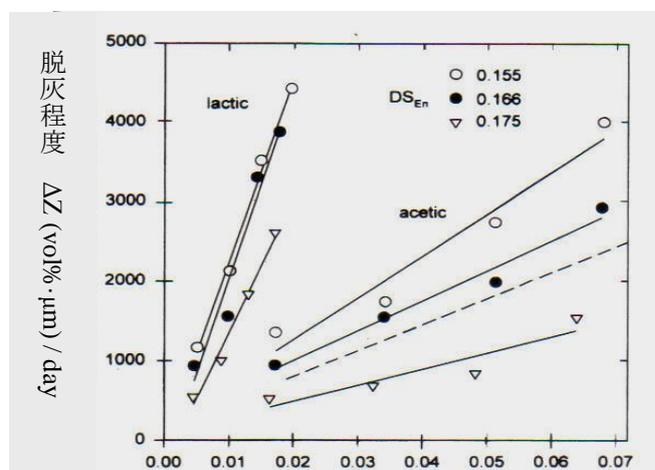
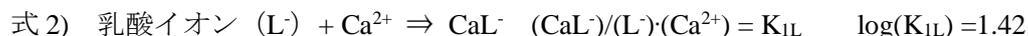


図 3 同一の飽和度において有機酸の酸度とその種類が脱灰に及ぼす影響

これらの知見について以下のように説明できる。①に関しては、上記で解説した内容と同じ（非解離の酸によるエナメル質内部への高い浸透性および高い緩衝能）。②に関しては、前述したように当然の結果である。③に関しては、酢酸の場合と比べて乳酸の場合において、 Ca^{2+} との結合定数が高いからである（下の式2と3）⁴⁾。すなわち脱灰が進むと、 Ca^{2+} が溶け出し飽和度の上昇（脱灰ポテンシャルの低下）



をもたらすが、乳酸の場合、溶解した Ca^{2+} とキレート結合して乳酸カルシウムというイオンペアを形成する。その結果、完全にイオン化している Ca^{2+} 濃度の上昇を抑えることができる。それに対し酢酸の場合は、完全にイオン化している Ca^{2+} 濃度は、乳酸の場合より高い。つまり乳酸の場合、 DS_{EN} （脱灰ポテンシャル）の上昇を効果的に抑えることができるため、より長く脱灰ポテンシャルを維持できる。

第3の検討として、彼らは脱灰液の飽和度が一定のとき（乳酸: $\text{DS}_{\text{EN}} = 0.155$ で一定、酢酸: $\text{DS}_{\text{EN}} = 0.166$ で一定）、これらの有機酸の濃度（25, 50, 75, 100 mol/L）が異なると脱灰速度にどのような影響が

現れるか検討した。個々の脱灰液は、飽和度が同じレベルになるようにミネラルイオン濃度と有機酸の濃度および pH（4.33 - 4.37）を調整して作製した。これらの脱灰液を用いて、経時的に脱灰量（ ΔZ : vol% $\cdot\mu\text{m}$ ）を評価した（図4の右が乳酸の場合、左が酢酸の場合）。その結果、乳酸と酢酸のいずれの場合も、これらの酸の濃度に比例して脱灰速度

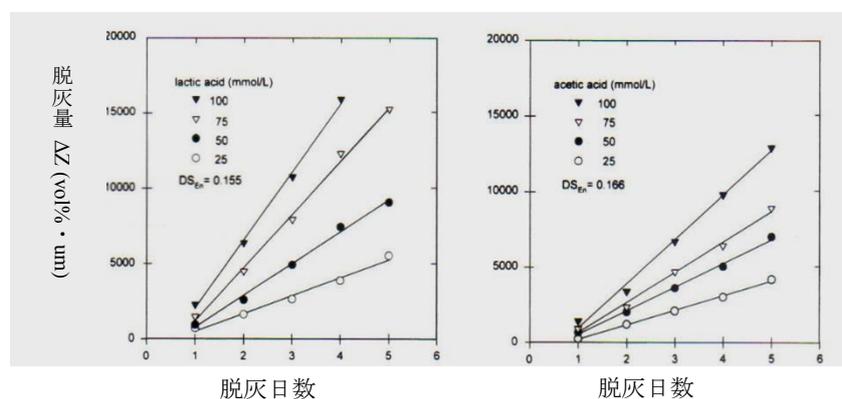


図4 飽和度が同じとき脱灰液中の有機酸の濃度が脱灰量（速度）に及ぼす影響

度は大きかった。これらの結果は、「非解離の酸の濃度は、用いた酸濃度に比例する」ことから説明できる⁵⁾。

これら全ての結果を受けて彼らは、脱灰程度（速度）に及ぼす飽和度と酸度の影響を以下のような一般式として書き表した。ここで C は係数（一定値）、 DS_{EN} はエナメル質に対する脱灰液の飽和度、 $\Sigma(\text{B}_i\text{H})$

$$\text{脱灰速度} = C \times [1 - \text{DS}_{\text{EN}}]^m \times [\Sigma(\text{B}_i\text{H})]^n$$

は脱灰液に存在するイオン化していない有機酸（ i 個）の全濃度（ $\Sigma(\text{B}_i\text{H})$ ）、そして m と n は実験結果に最も近似できる調整パラメータである。なおイオン化していない有機酸の濃度は、その酸解離定数

（ $K_i = [(\text{B}_i) \cdot (\text{H})] / [\text{B}_i\text{H}]$ ）から計算で得られる。このように、脱灰現象に及ぼす化学的因子（飽和度、pH、酸度、酸の濃度、その種類）について、系統的にここまで検討を加えた報告は、エナメル質の脱灰現象を化学的に理解する上で非常に貴重である。

上記のような研究のほかに、熱力学的観点から HA の単結晶レベルでの脱灰メカニズムあるいは脱灰速度を検討した研究が多数報告されている⁶⁻⁸⁾。しかしこれらの研究をここで紹介するには、非常に複雑な内容を含み、筆者の理解を超える点が多いので割愛する。

第10章：初期う蝕（表層下脱灰）の特徴

いわゆる白斑という初期う蝕病変は、「エナメル質表層が比較的、健全状態で維持されつつも、その下層部が選択的に脱灰される」という不思議な特徴を有する。これを病理学的には、表層下脱灰病変（subsurface lesion）という。すなわち脱灰は、エナメル質の内層から優先的に進行する。この不思議な現象については¹⁾、すでに1930年代にその存在を確認したという²⁻⁴⁾。残念ながら、筆者はPubMedでは確認できなかった。しかしながらそれ以来、なぜそのような特異な脱灰様式となるか、そのメカニズムについての研究の進展は見られなかった。1980年代になって、本格的にそのメカニズムに関する研究がなされるようになった。それについては、第11章で解説する。本章では、そのような特徴的な病変が予防歯科にどのような影響を及ぼしてきたか解説する。

まず指摘しておかなければならないことは、初期う蝕の検出や定量的診断は容易ではないことである。初期う蝕病変は、**図1**（筆者らの資料）に示したように歯のどの面（平滑面、隣接面、咬合面）でも見られるが、その検出や診断は、特に隣接面と咬合面では、現時点でも困難な課題として残されている。

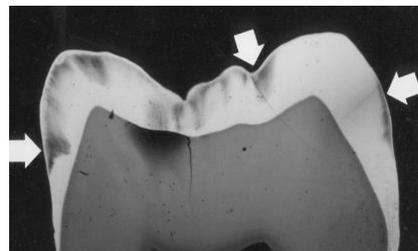


図1 エナメル質初期う蝕病変
隣接面と咬合面に病変を認める。

隣接面では、もともと見えにくい部位に病変が存在するので、発見が遅れてかなり進行した状態で見つかることが多い。また病変の広がりや判然としない場合がある。現時点の共通認識として、視診と比べてレントゲン診断の方が、信頼性に優れているとされている^{1,5,6)}。咬合面では、小窩裂溝に沿って着色が見られることが多い。しかしこの着色と脱灰の程度の関連性は乏しい。もしこの関連性を鵜呑みすると、健全歯質を不要に研削することになりかねない。また隣接面の場合と同様、咬合面での病変の確定および定量的診断に関しても、レントゲン診断が最も信頼性が高いとされている^{1,5,6)}。しかしレントゲンで確認された場合は、すでに病変は象牙質まで進行している場合が多いと思われる。またエックス線の多用は、当然、生体に対する為害性の懸念を生じさせる。このような状況は、臨床医にとって非常にジレンマとなっている。

そのためエックス線を用いない光学的・電気的方法による、初期段階にある病変の検出と診断システムの開発が、現在も活発に続けられている⁶⁾。例えば、蛍光を用いたDiagnodent^{7,8)}やQLF法(Quantitative Light-induced Fluorescence)⁹⁻¹¹⁾、光干渉現象を用いたOCT(Optical Coherence Tomography)¹²⁻¹⁴⁾、電気抵抗を用いたECM(Electrical Conductance or Caries Meter)^{15,16)}、透過光の散乱現象を利用したFOTI(Fiber Optical Trans Illumination)¹⁷⁻¹⁹⁾などが期待されている。しかし、特に光学的方法には簡便で定量的測定ができるというメリットがあるものの、偽陽性となるリスクが無視できないなど、それぞれの診断システムにおいて一長一短があり、今後の研究の進展が待たれる^{8,20)}。

このようにエナメル質う蝕の初期段階は、「正確には見えない、偽陽性のリスクを伴う」という困難で特徴づけられる。従ってう蝕予防学の歴史は、その検出法や診断法の研究で多く占められてきた²¹⁻²⁴⁾。この問題については、1つの研究分野を形成するほど沢山の研究がなされ、現在も続いている。しかし本稿の趣旨を超えるので、これ以上の言及は控える。

一方、もしエナメル質の脱灰が表層下脱灰を伴わず、常にう窩から出発すると仮定すると、ICDAS²⁵⁻²⁸⁾やCO(Caries Observation)²⁹⁾などう蝕の診断法は、現在の診断基準とは異なり、もっと単純な基準となったと思われる。つまり初期う蝕の発見や診断はもっと容易であったと思われる。当然、隠れう蝕³⁰⁻³⁶⁾のような厄介な問題は存在しなかったであろう(第15章を参照)。またう蝕の予防方法も全く別の歴史

を辿ったであろう。すなわち、初期う蝕（表層下脱灰）病変の再石灰化というアプローチは成立せず、う蝕予防のアプローチはひたすら「脱灰抑制」だけが中心となったであろう。またう蝕性の病変は、表層下脱灰の病変より早期の段階でしかも比較的容易に検出できるので、う蝕罹患率は今より低かったのではないかと筆者は推察している。

医学の分野でもその病気が、初期段階で視認できる場合や痛みなどの違和感を自覚できる場合は、深刻な状態には至らず回復できるチャンスが高い。しかしそうではない場合、例えば肝臓や膵臓など特定の病気に対して「臓器が沈黙」している場合、痛みなどの違和感に気がついたら末期の段階であったという話をしばしば聞く。

表層下脱灰という言い方は臨床的には用いられていない。これは、エナメル質病変の切片などで観察される病理組織学的に名づけられたものである。一般的には初期う蝕と呼ばれる。本章での解説は、その形成メカニズムに関する内容なので表層下脱灰という言い方をする。しかし表1に示したように、臨床的命名に関しては英語とそれに対応する日本語表記

に、類似した紛らわしい命名が沢山ある。表1に示した命名の病変は、①エナメル質表層に実質欠損はないが、脱灰が疑われる場合、②あるいは実質欠損があっても侵襲がエナメル質に局限したう窩の場合に対応している。ただし少なくとも「隠れう蝕」は、初期病変の場合と進行した病変の場合の両方があり得る。

本章で定義したエナメル質初期う蝕（表層下脱灰）について最も強調したい点は、この病変のみが再石灰化回復が可能であり、実質欠損が存在する場合には再石灰化は期待できないことである。その理由は、第14章で詳しく解説する。

なお日本の学校歯科保健で独自に使われているCO（要観察歯）の定義は、平成14年日本学校歯科医会理事会で以下のように定められている²⁹⁾。ただし一部の専門家では、実質欠損がエナメル質に局限した場合（C1）でも、これを初期う蝕と言うこともあるので、誤解を招かないよう注意が必要である。

- ・小窩裂溝において、エナメル質の実質欠損が認められないが、褐色窩溝等が認められるもの。
- ・平滑面において、脱灰を疑わしめる白濁や褐色斑が認められるが、エナメル質の実質欠損（う窩）の確認が明らかでないもの。
- ・精密検査を要するう蝕様病変のあるもの（特に隣接面）。

しかし白斑を認めたからといって、それが初期う蝕とは限らないことに注意が必要である。すなわち非脱灰性白斑が一定の頻度で見られるからである。もし非脱灰性白斑を歯科医が初期う蝕と診断してフッ化物塗布やプラーク・コントロールを患者に勧めたりしても、全く再石灰化の効果は現れない。歯科医への信頼を揺るがす重大な問題である。

ここで筆者らの実験結果をもとに、肉眼的に白斑を認めるが、明瞭な形態的異常や実質欠損を認めない、非脱灰性の白斑と判断されたサンプルについて観察した結果を紹介する。筆者らが非脱灰性と判断した基準は、①白斑が歯面の中央部付近または切端付近（歯肉辺縁は除外）に見られる場合、②白斑の

表1 初期う蝕について様々な表記例

- ・ early carious lesion（初期う蝕）
- ・ subsurface lesion（表層下脱灰）
- ・ white spot lesion（ホワイトスポット）
- ・ incipient lesion（初期う蝕）
- ・ enamel lesion（エナメル質う蝕）
- ・ hidden caries（隠れたう蝕）
- ・ non cavitated lesion（非う窩）
- ・ brown spot lesion（ブラウンスポット）
- ・ Co（現在、公式には使用せず）
- ・ C1（エナメル質う蝕）
- ・ CO：Caries Observation（要観察歯）
- ・ sticky fissure（軟化裂溝）

形状が明瞭な斑状や帯状を呈している場合、③表面のツヤが健全面に近い滑沢な場合、④白斑の部位と健全部位との境界が比較的明瞭な場合：これらすべてを満たすエナメル質をサンプルとした。非脱灰性の白斑と判断された抜去歯（永久歯 15 本, 25 ヶ部位）について、実態顕微鏡による観察とその切片のミネラル密度（TMR 解析法）の測定を行った。その結果、24 ヶ部位において、TMR 解析法で測定されたミネラル密度は白斑のない健全部位と同じであった³⁷⁾。この結果から、非脱灰性の白斑を判断する上で参考になるポイントは、①非脱灰性白斑は比較的高い頻度で見られる、②どの歯でも見られる、③左顎と右顎で対称的に見られる場合がある、④エナメル質表面がツルツルしている、⑤脱灰されそうもない部位での白斑（歯切端など）、⑥白斑部位と健全部位との境目が明瞭、である。筆者の知る限り、このような非脱灰性の白斑に対する正式な病名は与えられていないが、恐らく軽度なエナメル質形成不全あるいは石灰化不全（Hypomineralization）と思われる。

図2に筆者らが観察したサンプルの1例を示す。図の左は、写真では明瞭に見えないが、2つの白斑が存在する（矢印と黒四角のあいだ）。中央は、その白斑を含む部位を長軸に切断した切片の実態写真である。矢印の部位に2つの白斑が認められる。右は、その切片のTMR画像である。エナメル質の白さは一様で、ミネラル密度が低下した部位は見当たらない。ちなみにQLF法にて、脱灰性白斑と非脱灰性白斑の識別ができるかどうか検討した。

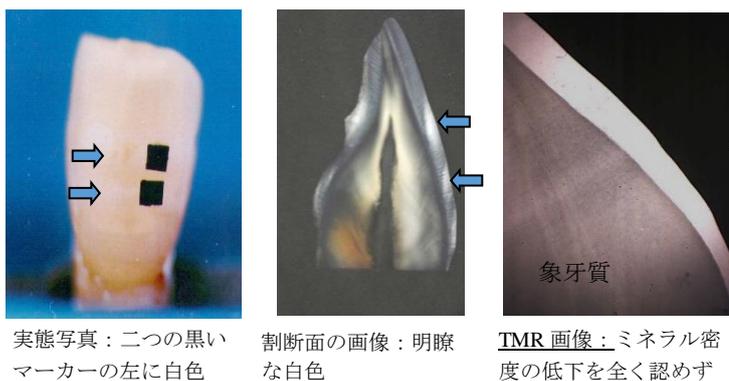


図2 視診にて白斑であっても必ずしも脱灰している（初期う蝕）とは限らない → 非脱灰性の白斑に注意

QLF法はエナメル質初期う蝕（脱灰性の白斑）を定量的に評価できる装置である³⁸⁻⁴⁰⁾。QLF法にて非脱灰性の白斑部位を画像観察すると、ほとんどの部位で「脱灰を示す蛍光強度の減少」を認めた（偽陽性）。このことは、QLF法でも正しい診断は困難であることが示唆された。この識別法の確立は、フッ化物による初期う蝕（エナメル質白斑）の再石灰化効果を検討するためには重要と思われる。しかしながら筆者の知る限り、両者の識別法を詳しく検討した研究は見当たらない。

本章の前半でも、表層下脱灰を呈する病変は再石灰化が可能と述べた。しかし全ての表層下脱灰病変が再石灰化できるとは限らないし、事実、臨床的に確認されていない。例えば、図3で示したように軽い（前期の）初期う蝕は再石灰化可能であるが、進行した初期う蝕は果たして再石灰化可能であろうか。この図3で示した「進行した初期う蝕」は、いわゆる「隠れう蝕」かも知れない。残念ながらこのような白斑の経年的変化を追跡した研究は、非常に少ない。筆者らはF歯磨剤による再石灰化の臨床研究にて、軽度の白斑を約1年間観察したが、白斑の改善（再石灰化の進

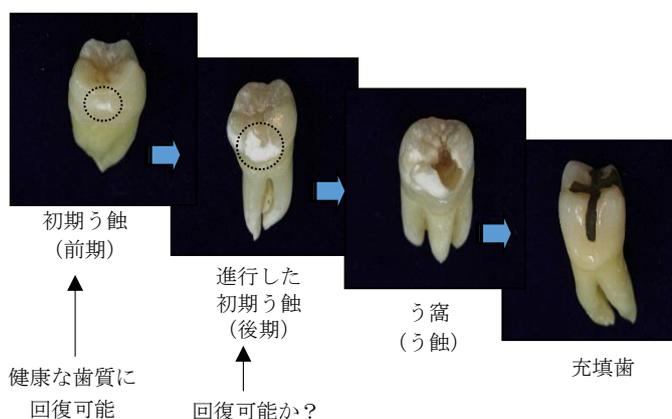


図3 う蝕の進行プロセス

行) は予想したより少なかった⁴¹⁾。Mattousch らは、矯正終了後の歯面で見られた 351 の白斑を 2 年間にわたって観察した⁴²⁾。その間、被験者への特段の介入は行わなかった。その結果、大半 (171) の白斑 (48.7%) はほとんど変化せず現状維持であったが、145 白斑 (41.3%) が改善した。その中で 10 の白斑が完全に消失した。しかし 35 の白斑 (10%) が悪化した。

ここで、エナメル質初期う蝕の定量的評価法について追記する。フッ化物などのう蝕予防剤や再石灰化促進剤などの有効性をインビトロ条件下あるいは臨床的に評価しなければならない必要性は高い。また上述の機器を用いた初期う蝕の診断システム (Diagnodent, QLF, ECM, OCT, FOTI など) の妥当性 (validity) や再現性を評価する必要性もある。このようなとき、通常、TMR 法で得られた結果を真値 (gold standard) として診断システムの妥当性を評価する。TMR 法の詳細な方法論は、別の機会に解説する予定である。図 4 に TMR 法にて定量的に評価できるパラメータを示した。この図は、エナメル質サンプル試料を約 100 μm の厚さの切片に研磨し、この切片を柔エックス線にて撮影した画像を解析することで得られる。5 つのパラメータが表示されている。

①脱灰深さ：深さの定義は次のように定められている。健全エナメル質の体積密度は約 87 vol% (volume/volume)⁴³⁾であるが、エックス線の検出感度の限界や測定誤差 (5%) を勘案して、その値の 95% に相当するミネラル密度に対応した深さを脱灰深さとする。従ってそのときのミネラル密度は約 83% である。②脱灰量：健全エナメル質密度 (83%) の水平ラインと脱灰後のミネラルプロファイル (曲線) とで囲まれた面積である。単位は vol% $\times\mu\text{m}$ (これを ΔZ , または Integrated Mineral Loss; IML と表記) である。この数値は、脱灰状態を表す最も重要なパラメータである。③表層の厚さ：一般的な定義はないが、エナメル質表面から最低ミネラル密度までの深さである。④表層での最大ミネラル密度：再石灰化の進行に影響を及ぼすことが知られている (第 13 章を参照)。⑤病変での最低ミネラル密度：う窩に至るリスクと関係しているかも知れない。

ここでなぜ vol% という単位を用いるか、簡単に説明する。脱灰・再石灰化現象を考えると、エナメル質表面から内部への酸の浸透効率あるいは再石灰化に必要な、病変内部へのミネラルイオンの浸透効率が、これら 2 つの現象の程度に大きな影響を及ぼすからである。すなわち脱灰・再石灰化現象は、ミネラルイオンが歯質内でどのような速度で動くかに依存している。その速度 (あるいは浸透率) は、空隙率 (porosity) が大きいほど大きくなる。従って空隙率は、脱灰・再石灰化現象を支配する要因の 1 つである。空隙率とは、図 5 で示すように問題にしている体積 (V) に対して、隙間が占める体積 (赤い球で表示; それ以外はエナメル質結晶が占める体積) の割合として定

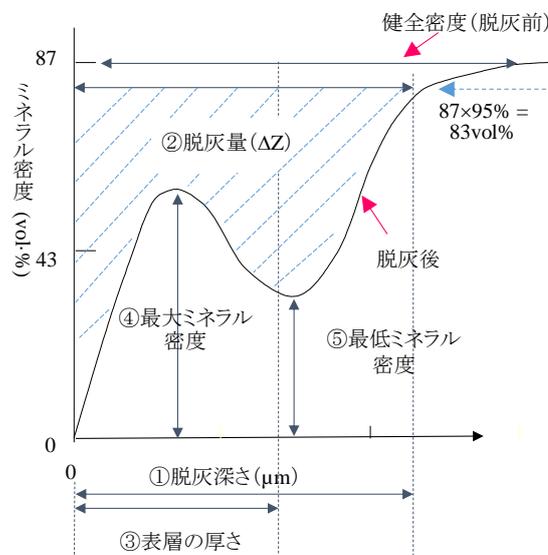
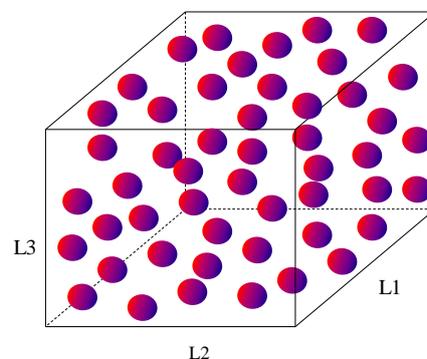


図 4 初期う蝕のミネラルプロファイル



$$\text{vol\%} = \frac{\text{エナメル質結晶が占める体積}}{\text{問題にしている領域の体積 (V=L1 \times L2 \times L3)}}$$

図 5 TMR における vol% の考え方

に対して、隙間が占める体積 (赤い球で表示; それ以外はエナメル質結晶が占める体積) の割合として定

義される。また空隙率は、歯質の硬さも敏感に反映する。上で健全エナメル質の体積密度は約 87 vol%と述べたが、残りの体積の大部分は、湿潤状態では水分であるが、有機質分がわずかに（約 1 vol%）含まれている。

それではなぜ重さの単位（weight/weight %または weight/volume %）で問題が起きるか。もし銀（Ag）やストロンチウム（Sr）のような、Ca より重い元素が再石灰化の反応プロセスで歯質サンプルに取り込まれたとする（これを A とする）。一方サンプル B では Ca だけが取り込まれたとする。再石灰化後、仮に両サンプル A と B で空隙率が同じとする。もし重さの単位で再石灰化率を評価すると、サンプル A の方が高い再石灰化率と評価される。しかし歯質の硬さおよびエナメル質組織としての欠損率（この場合、空隙率の同義）は同じと考えられる。重さで評価すると、再石灰化の程度が過大評価されることになる。

第 11 章：表層下脱灰の形成メカニズム

さてここでエナメル質の脱灰を考える上で、最も厄介な問題の 1 つであり、また不思議な現象である「表層下脱灰」がどのようなメカニズムで起きるか、幾つかの仮説を紹介する。科学には、その現象が不思議であるからこそメカニズムの解説に迫られる。この問題に関して、古くは 1960 年代¹⁾から 1990 年代まで継続的に研究され、多くの研究者がそのメカニズムの検討結果を報告している。その中で Anderson らは、歴史的経緯を踏まえて、様々なメカニズムを紹介している²⁾。本章では彼らの報告も参照しながら、筆者が知り得た論文や情報も加えて解説する。筆者の理解では、大きく分けて 4 つの考え方（仮説）が見られる。これらの仮説は全く独立したものではなく、それぞれの特徴の有しながら相互に関係し合っている部分がある。

<1> エナメル質の表層と内層での酸溶解性の差に起因する説

この溶解性の差の要因としては、内層と比べて表層での高いミネラル密度が考えられる。Weidmann らはヒト永久歯のエナメル質の表層と内層での密度の違いを検討し、表層のミネラル密度は 3.00 g/cm^3 であり、内層の深部では 2.84 g/cm^3 と報告した³⁾。He らも、若年者（18-24 歳）と高齢者（55 歳以上）においても⁴⁾、さらに Wong らは乳歯においても同様の密度差の存在を確認した⁵⁾。ミネラル密度が高いことは、恐らくエナメル質の結晶性も表層で高いと推察される。またミネラル密度が高いということは、空隙率が小さいことを意味する。すなわち酸に曝された場合、表層においてはこの酸を含む液体とエナメル質結晶との接触面積が小さくなるため、エナメル質の溶解性が内層より低くなることが示唆される。

Moreno らは、ヒトエナメル質の空隙率についてエナメル質表層と内層（ED 境）での違いを検討した⁶⁾。18 歳の側切歯と 25 歳の臼歯について、これらの部位のエナメル質を調製し、水分の吸着量を測定した。その結果、内層では表層と比べて 2 倍強の高い吸着量（空隙）が認められた（図 1）。また空隙には大きいサイズと小さいサイズの 2 つに分極した分布が認められ、犬歯では 0.7 nm と 1.3 nm に、臼歯では 1.0 nm と 2.5 nm に最大値を有する構造となっている。

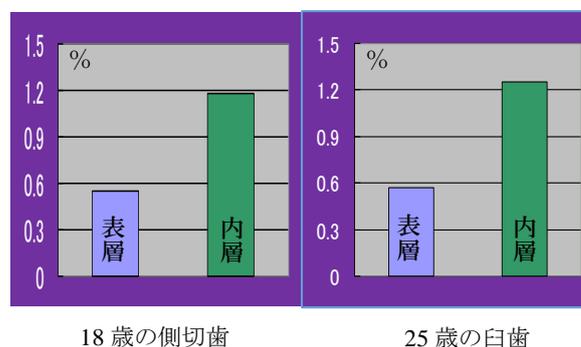


図 1 エナメル質に吸着した水分量(%)25°C

さてエナメル質の結晶性に関係する成分として炭酸イオンや Mg イオンが知られている（第 1 章の表

1)。Robinsonらは、エナメル質の表層と内層におけるMgイオン濃度の違いを分析した。その結果、内層より表層においてその濃度が低いことを確認した⁷⁾。その報告の中で、Mg濃度が低いほどミネラル密度が高いこと、およびMg濃度が高いほどエナメル質に含まれるタンパク質の量も多いと述べている。またKusabeらも、異なった児童被験者（健常者、脳性麻痺の患者、ダウン症患者）から脱落乳歯のエナメル質に含まれるMg濃度に関して、異なった深さ（表層、中層、EDJ付近）におけるMg濃度を測定し、被験者のあいだでの違いを検討した。その結果、どの被験者においても表層<中層<EDJの順番でMg濃度の上昇を認めた。さらに健常者と比べて両患者において、どの層でもMg濃度の高い傾向が認められた、疾患との関連性が疑われた⁸⁾。こうした知見から、エナメル質の形成や成熟過程に、Mgおよびタンパク質が重要な役割を演じていることが示唆される。

またエナメル質表面に様々な外来性の物質が吸着して、脱灰抵抗性を付与することが考えられる。例えば、唾液由来のペリクル膜の形成⁹⁾、あるいは第7章で解説したようにフッ化物の沈着（第12章で詳しく言及）やポリリン酸イオン^{10,11)}の吸着が考えられる。

さらには人工的にはdiphosphonate（図2）のような有機リン酸化合物（これを脱灰抑制剤という）を脱灰液に添加すると、脱灰が抑制される¹²⁻¹⁷⁾。この図においてRは様々な炭素と水素から成る側鎖を示す。この化合物には、 PO_3H_2 が中心

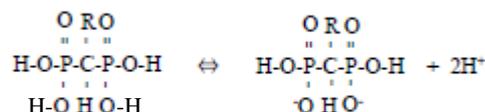


図2 Diphosphonateの分子構造とイオン化

の炭素（C）に2つ直接結合している。この PO_3H_2 はイオン化して1価の陰イオン（ PO_3H^- ）となる。その脱灰抑制メカニズムは、この化合物の2つリン酸基がHAのCaサイトに強く吸着することによると考えられる。この場合、低濃度領域（5 mmol/L以下）では脱灰抑制作用は確認されたが、高濃度領域（25-100 mmol/L）ではむしろ脱灰を促進したという¹²⁾。これは、恐らく脱灰液に溶存している Ca^{2+} とdiphosphonateとが強く結合して、遊離の Ca^{2+} 濃度が減少して、飽和度が減少した結果によると推察される。

余談であるが、diphosphonateには人工プラークやin-situ環境下での研究にて、細菌による酸産生能の抑制効果も発揮しているとする見解も見られる^{12,13)}。これは、糖類が酸に代謝されるときのエノラーゼ（enolase）の活性を抑制することによると推察される。この酵素は、Mg要求酵素であり、diphosphonateはMgと強く結合することで酵素活性の低下が起こったと考えられる。

さて「エナメル質の外層と内層とで酸溶解性に違いがある」とすれば、どのようにして表層下脱灰病変が形成されるか、図3を用いて説明しよう。エナメル質が酸に曝されると、その表面付近の液体（外界）に存在する水素イオン濃度（ H^+ ）が高まる。エナメル質は塩基性なので、その内層と外界のあいだで H^+ の濃度勾配が発生する。す

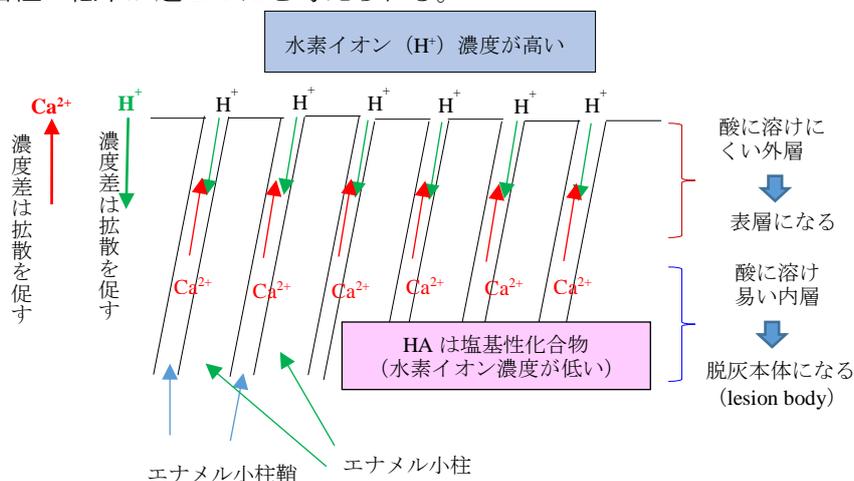


図3 エナメル質の表層と内層での酸溶解性の差に起因する説

るとこの濃度勾配のため H^+ が内層に拡散する。またエナメル質の構造にはエナメル小柱鞘（約 $0.1 \mu m$ の隙間）が存在し、そこでのミネラル密度は低い（すなわち空隙率が高い）。そのため、 H^+ はこの小柱鞘（通路）に沿って優先的に拡散する。

表層は相対的に酸に溶けにくいと想定しているため、このようなマイクロの世界では表層のエナメル質結晶が完全に溶解する前に H^+ は内層に拡散する余地がある。内層に拡散した H^+ は、その環境が高い塩基性なので直ちに塩基との中和（溶解）反応が起きる。するとアパタイトから Ca^{2+} とリン酸イオンが溶け出し、空隙率の高いエナメル小柱鞘でそれらのイオン濃度が上昇する。この濃度は、エナメル質表面付近（外界）に存在する脱灰液に含まれる Ca^{2+} とリン酸イオンより高くなる。その結果、その濃度勾配によって内層から外界に向かって、これらのイオンが拡散する。一方で脱灰の最前線では H^+ が消費されてその濃度が低下する。すると内層と外界の脱灰液のあいだで H^+ の濃度差が再び生じ、その濃度差に沿って H^+ がふたたび内層に拡散し、 Ca^{2+} とリン酸イオンを溶かし出す。このような繰り返しが連続的に起こり、脱灰が内層で優位に進行し、表層下脱灰病変を形成する。その過程で表層のエナメル質も少しずつ溶解し、健全エナメル質の密度より低下する（第10章の図4）。図4に人工的に作成した表層下脱灰病変のTMR画像を示す。左上から右下に沿って、黒い筋が確認できる（筆者らの資料；未公開）。この筋は、エナメル小柱鞘の周辺が溶解してミネラル密度が低下した部分であろう。表層のミネラル密度は、平均的には内層より高く見える。

この仮説は、上述したようにエナメル質の表層と内層での酸溶解性の差に拠っている。しかしながら筆者らの経験では、表層と内層において酸溶解性が、ほとんど

または全く存在しない人工的条件でも表層下脱灰の形成が可能である。例えばエナメル質の表層を相当深く研磨除去して、脱灰液の条件（ミネラルイオン濃度と pH）を適切に選定すれば、表層下脱灰を作成することは可能である^{18,19}。あるいは合成 HA の粉末の高圧凝集体（ペレット）でも作製可能である。この凝集体の場合、表層と内層での酸溶解性の差あるいはエナメル小柱鞘のような拡散の通路も存在しない。ただし表層の存在はエナメル質と比べてやや不明瞭である^{20,21}。従って、この説の主眼である「エナメル質の表層と内層での酸溶解性の差」は、必ずしも必須要件ではないが、形成されやすさの要因の1つであろう。

最後に、表層と内層での酸溶解性の差を視覚的に知ることができる写真を紹介する（図5：未公開資料）。臼歯のエナメル質表面をダイヤモンド・ポイントにて縦方向に軽く数本のキズを付けた後、表層下脱灰の病変を形成できる脱灰液（ 0.1 mol/L 乳酸、 1.0 mmol/L $CaCl_2$ 、 3.0 mmol/L リン酸イオン、 $pH4.3$ ）に24時間浸漬して脱灰した。その結果、キズの部分が優先的に脱灰され、白い線として確認できた。この部分を探針で軽く擦るだけで白い粉が取れてきた。キズを付けていない表面では、ほぼ元の滑沢性が認められ、硬い表面状態を維持していた。またこの図にて歯冠部と歯根部の境に沿って、エナメル質



図4 エナメル小柱鞘に沿って脱灰が優先的に進行

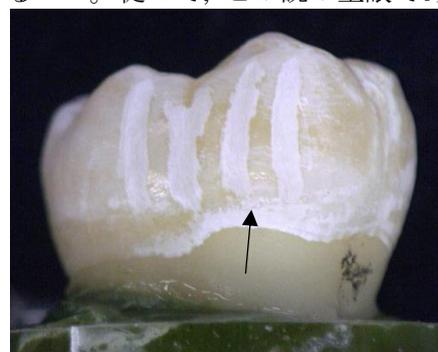


図5 エナメル質にキズを付けた後の脱灰の様子

(キズは付けていない)でも矢印で示したように、白い脱灰の痕が認められた。これは、歯頸部のエナメル質は、歯冠部のそれより脱灰されやすいことを示唆している。歯頸部は、う蝕の好発部位の1つであるが、必ずしもプラークが蓄積されやすいからだけではなく、もともと酸に溶けやすい性質が関与しているかも知れない。

<2>脱灰の最表層での再石灰化沈着説

この説についてモデル(図6)を用いて解説する(暗いエリアでミネラル密度が低い)。エナメル質の表層が弱い酸に曝されると、表層付近で脱灰が起きて、明瞭な表層を持たないスポンジ状の脱灰病変がつくられる(図6の左)。このような脱灰が繰り返し長く続くと、100 μmレベルの深いスポンジ状の脱灰病変(softened lesion)となる。実際、抜去歯でも類似の脱灰病変を認めることがある^{22,23)}。その後、プラークコントロール、砂糖摂取の制限あるいはフッ化物の利用などにより、口腔の環境が再石灰化しやすい環境に変わり、プラーク液はHAあるいはFAに関して過飽和になる。するとスポンジ状の脱灰病変の表層付近でHAあるいはFAが再石灰化沈着する。こうしてエナメル質の表層が形成される

(図6の右)。実際、インビトロで作成したスポンジ状の脱灰試料を、フッ化物に曝すことなく再石灰化液に浸漬すると、典型的な表層下脱灰病変が得られることを筆者は経験している。フッ化物を使用すればもっと顕著な表層下脱灰病変となる。しかしながら *in-vivo* あるいは *in-situ* 条件下にて、このような変化を観察した報告は、筆者が調査した範囲内では見当たらなかった。

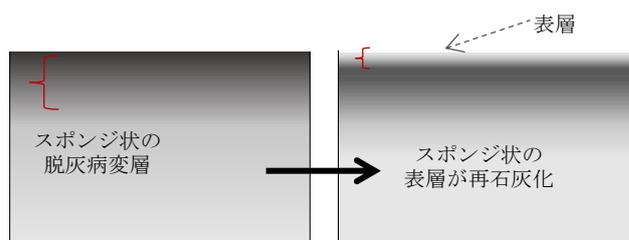
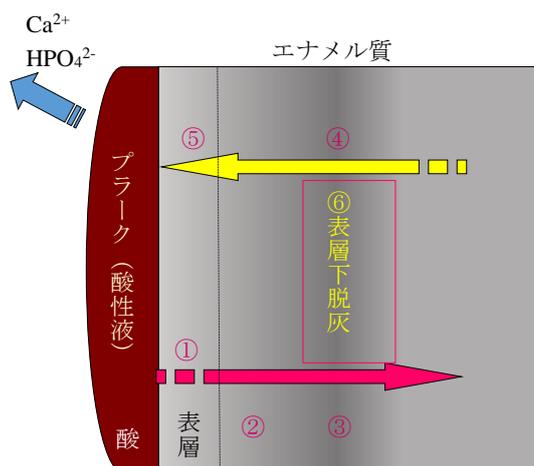


図6 スポンジ状の脱灰病変の表層が再石灰化され、表層下脱灰病変に変化するモデル図

<3>DCPD 形成説^{24,25)}

この仮説は、Moreno と Margolis らのグループによって理論的および実験的根拠に基づいて提案された^{24,25)}。この仮説は、上の2つの仮説と比べるとやや難解である。これを理解するためには、かなり専門的知識が必要となる。そこで図7とステップ表を用いて、その要点だけを説明する。

エナメル質表面がプラークで覆われ、比較的強い酸(pH5以下)が産生されたとする。ステップ①: エナメル質表層では、HAの一部が酸の影響を受けてDCPD($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)に変化する。これは、pHが5.0付近より低いpH領域では、エナメル質アパタイトは結晶として不安定になり、より安定なDCPDに変化する傾向にあるからである(第2章の図2を参照)。この図2ではHAとDCPDの交差するpHは、4.5付近と読み取れる。エナメル質の熱力学的溶解度積($K_{sp} = 10^{-55,26}$)



- ステップ1: エナメル質表層の部分的溶解と
- ・ DCPD ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) の形成
 - ・ DCPD は pH5.0 付近の酸性下では HA より溶けにくい
- ステップ2: エナメル質内部への酸の浸透/拡散
- ステップ3: エナメル質内部の溶解
- ステップ4: 内層から、 $\text{Ca}^{2+}/\text{HPO}_4^{2-}$ が外部に拡散
- ステップ5: DCPD層でのHAの部分的沈着
- ステップ6: 脱灰巣(表層下脱灰)の形成

図7 DCPDが関与した表層下脱灰病変の形成仮説

は、HA ($K_{sp} = 10^{-58.4}$) より大きい (第4章の表2を参照)。従って交差する pH は、4.5 より高くなり、5.0 付近と推定される。しかし DCPD も一定の酸溶解性を有しているため、徐々に溶解が進む。この状態ではアパタイトの脱灰は、やや抑制された状態で維持される。ステップ②: エナメル質表面の外界では、酸性の液体が存在し、 H^+ の濃度が高い状態にある。そのため濃度勾配に従ってエナメル質内層に向かって H^+ が拡散 (浸透) する。ステップ③: エナメル質内層では、この拡散してきた酸によってアパタイトが溶解する。ステップ④: この溶解により、内層ではミネラルイオン濃度 (Ca^{2+}/HPO_4^{2-}) が上昇し、ミネラルイオン濃度の低い外部の液体 (プラーク) とのあいだで濃度勾配が発生して、ミネラルイオンは外部に向かって拡散する。ステップ⑤: 外部に向かって拡散するミネラルイオンは、表層にできた DCPD と反応してアパタイトが形成される (恐らく epitaxy 現象; 第13と14章で言及)。こうして DCPD がエナメル質表層の過度な脱灰を抑制し、またエナメル質内部で溶け出したミネラルイオンをアパタイトとして結晶化沈着 (一種の再石灰化現象) を助けることで、表層が形成される。このようにして形成された表層では、エナメル質の結晶性が改善される^{25,26}。この結晶性の改善は、多くの研究で確認されていることから、この DCPD 仮説の妥当性は部分的に支持される。

ここで注意しなければならない点が2つある。第1は、脱灰液の pH が 5.0 付近より高い条件の場合では DCPD は形成されず、スポンジ状 (あるいはう窩状) のまま脱灰され、表層下脱灰に至らないと予想される。実際、彼らは pH (4.26~6.14) の異なった脱灰 (HA に関して 50% の不飽和度) を調製し、エナメル質を脱灰して脱灰病変の形態を観察した。その結果、脱灰液の pH が 5 付近より高い場合は、う窩となり、それより低い場合は表層下脱灰となることを報告した²⁷。すなわち DCPD の形成は必須要件であり、その形成が許される pH 領域での脱灰となる。実際、僅かであるが、DCPD の形成は確認されている²⁷。一方で別の研究では、脱灰病変内部では DCPD は認められたが、表層では確認できなかったとする報告も見られる²⁸。これは、表層での DCPD の形成量が少なかったかも知れない。

砂糖の代謝で産生される酸の強度は比較的強く、プラーク pH は十分 5.0 より低くなり得る。図8に、3つの状態 (う蝕のない歯面: SOUND, 非活動性のう蝕歯面: INACTIVE, 活動性のう蝕歯面: ACTIVE) において、10% 砂糖液を口に含んだ後のプラーク pH の時間的推移を示した²⁹。ACTIVE のプラークでは、pH が 5.0 付近より低い時間帯が認められる。

注意点の第2は、外界の脱灰液中のミネラルイオン濃度が小さすぎる場合、高い濃度勾配のため内部で生じたミネラルイオンの拡散速度が速くなり過ぎて、表層でのアパタイト結晶の沈着が十分に起きず、表層が形成されることなく、う窩状の病変となる。この拡散速度に影響する因子として、最も大きいものは脱灰液 (プラーク液) に含まれるミネラルイオン濃度である。この濃度は、脱灰液の飽和度 (第3, 4, 5章を参照) を決定する因子の1つである。すなわちその濃度が高いほど飽和度が高くなり、ミネラルイオンの拡散速度は遅くなり (脱灰しにくくなり)、表層が形成されやすくなる。またペリクルやプラークそのものが物理的膜あるいは粘性膜として機能し、その結果、拡散を抑制するバリアーとなって表層が形成されやすくなる

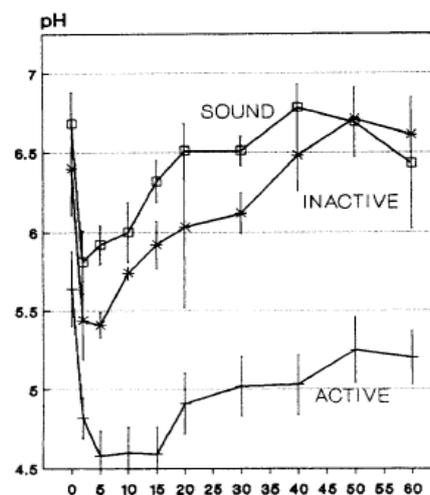
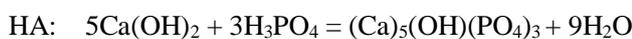


図8 10% 砂糖液を含んだ後のプラーク pH の時間的推移 (横軸: 分)

ことも考えられる¹⁴⁾。DCPD 仮説では、このような第 1 と 2 の条件は実際の口腔で常に満たされていると考えられる。

ここで、この仮説においてエナメル質の表層で DCPD が形成されるプロセスを図 9 にて解説する。ここでは次の 2 つを前提とする。①エナメル質 (HA) あるいは DCPD は、下記の式のように酸性のリン酸 (H_3PO_4) とアルカリ性の水酸化カルシウム $Ca(OH)_2$ とから構成されていると見なすことができる。

②それぞれの結晶は、水において一定の溶解度積 (エナメル質:



$K_{sp}=10^{-54.26}$; DCPD: $K_{sp}=10^{-6.59}$) を有しており、そのため両結晶の酸溶解性は、それぞれの溶解度積の支配の影響を受けて挙動する。そこでまずこの 2 つのことから、横軸 (x 軸) を $(Ca)(OH)^2$ の化学ポテンシャル (p), 縦軸 (y 軸) を $(H)^3(PO_4)$ の化学ポテンシャル (p) とし, HA および DCPD の溶解度積を用いて $p(Ca)(OH)^2$ と $p(H)^3(PO_4)$ の関係を作成する。この図に示した 2 つの関係式 (実線と点線からなる 2 つの直線) の導き方は、引用文献を参照されたい^{24,25)}。ここで p は, HA あるいは DCPD が溶解して平衡状態にあるときの構成イオン (Ca^{2+} , OH^- , H^+ , PO_4^{3-}) の活量の積の対数である。ただし p は, その対数値にマイナスの符号を付して表される。この場合, それぞれの化学ポテンシャル (p) は, HA あるいは DCPD の形成反応を引き起こす原動力と見なすことができる。

この図 9 において, それぞれの直線の上の領域では, そのリン酸カルシウムに対して過飽和を, 下の領域では不飽和であることを示す。次いで, 任意の脱灰液についてその組成に対応する p 値を求めてこの図にプロットする。この図では, その任意の脱灰液の p 値を A にプロットしてある。ここからエナメル質 (HA) の脱灰が始まり, A から点線上の B の点に移る。ここではエナメル質の溶解性に関して平衡状態 (これ以上, 溶けない状態) にある。しかし DCPD に関しては過飽和であるので, DCPD が形成 (析出) されて実線上の C の点に移る。ここでは DCPD の溶解性に関して平衡状態 (これ以上, 析出しない状態) にあるが, 一方で再びエナメル質の溶解性に関して不飽和であるので, エナメル質は点線上の平衡状態になるまで溶解する。同様な「溶解と析出」がエナメル質と DCPD のあいだで繰り返され, 最終的にエナメル質と DCPD の溶解性が一致する点 (S: Singular point) まで脱灰反応が進む。すなわちこの点 (S) で A の条件で開始した脱灰液は, エナメル質と DCPD の両方のリン酸カルシウムに関して平衡状態になる。脱灰開始の点 (A) の溶液条件である pH やミネラルイオン濃度を, 実線の下範囲内 (エナメル質に関し不飽和の条件) で変更しても, S における pH は常に 5.0 付近となることが計算で確かめられている。つまりこの図で分ることは, ある濃度の Ca^{2+} とリン酸イオンを含む脱灰液 (pH5.0 以下) でエナメル質を脱灰すると, エナメル質表層には DCPD が必ず形成されるということである。

上記にて, 表層下脱灰の形成メカニズムに関する仮説を紹介したが, その病変は経時的にはどのような変化するのか, 筆者らはある特定の条件下で同一サンプル (切片) を経時的に追跡し, その様子を観察した¹⁸⁾。すなわちエナメル質の薄切片 (約 100 μm) の両面を樹脂で被覆し, 脱灰されるエナメル質面だ

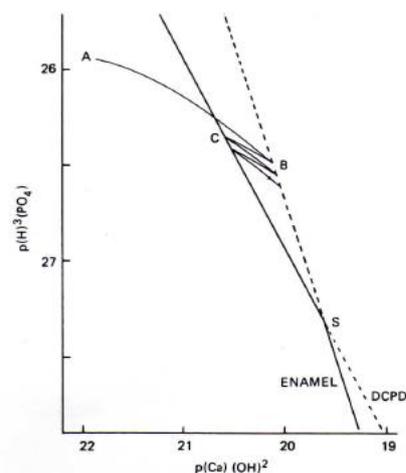


図 9 表層下脱灰病変の形成プロセスを説明する chemical potential 図

けを露出させ、この面を表層下脱灰が形成される脱灰液に浸漬し、脱灰病変の経時変化（1～5日間）をTMR画像（図10の左）にて観察した。

次いでこの画像から表層の厚さ、脱灰の深さ、表層の最大ミネラル密度および病変内部の最低ミネラル密度を計測した（第10章の図4を参照）。その結果、脱灰の深さは脱灰日数とともに深くなったが、表層の厚さはほとんど変化しなかった（図10の右）。一方、病変内部の最低ミネラル密度は、脱灰日数とともに低下したが、表層の最大ミネラル密度はほとんど変化しなかった（図11の右）。

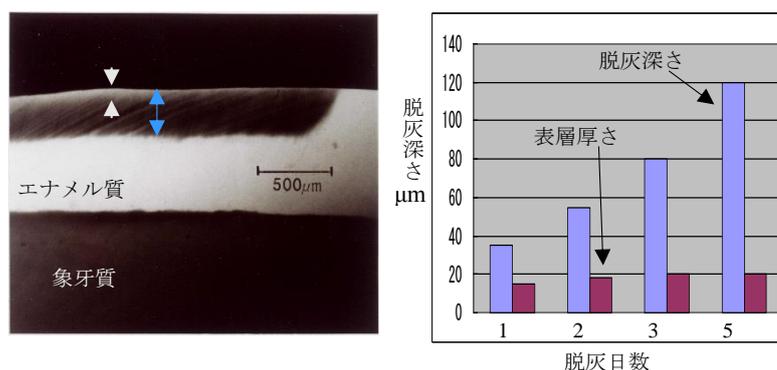


図10 エナメル質切片に形成された人工初期う蝕の経時変化
右図で白矢印は表層の厚さ、青矢印は脱灰深さを示す

このような特異な変化が、どのような理由で起きるか。筆者は以下のように推察している。上述の仮説3に従い、表層ではDCPDの形成とそれに伴う表層の形成が起きる。この表層で新たに再石灰化によって形成されたアパタイトは、もともとのエナメル質アパタイトより結晶性の良い（酸に溶けにくい）アパタイトと考えられる。従って表層での脱灰は、それほど顕著には進まない。一方、酸（ H^+ ）は拡散によって病変内部へ浸透し、より溶解しやすい内部のエナメル質アパタイトを溶解し続ける。

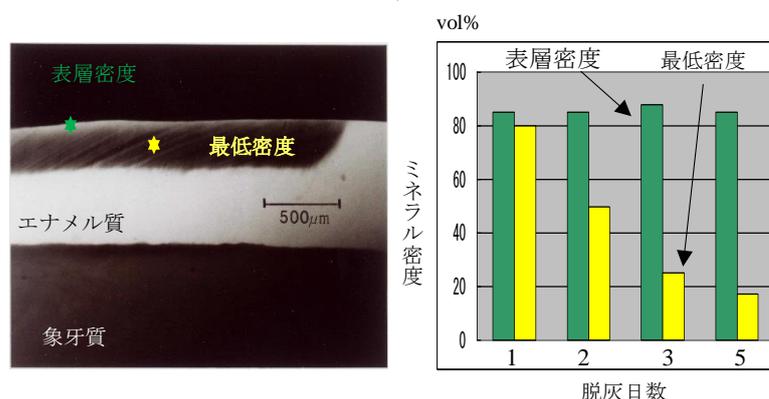


図11 エナメル質切片に形成された人工初期う蝕の経時変化

こうして病変内部では、ミネラル密度の低下が進み、同時に脱灰最前線は深部へと進む。そのように進行する表層下脱灰病変の時間的推移をモデルとして図12に示した。このような現象は、第6章で言及した「隠れう蝕」の形成メカニズムと同じと筆者は考えている。

<4>フッ化物の影響によるFA沈着

この仮説は、第7章の「脱灰液に含まれるフッ化物イオンが脱灰に及ぼす影響」にて、脱灰条件（ミネラルイオンF濃度など）によって、表層下脱灰が形成されることを解説したので、重複を避けるためここでの解説は、省略する。

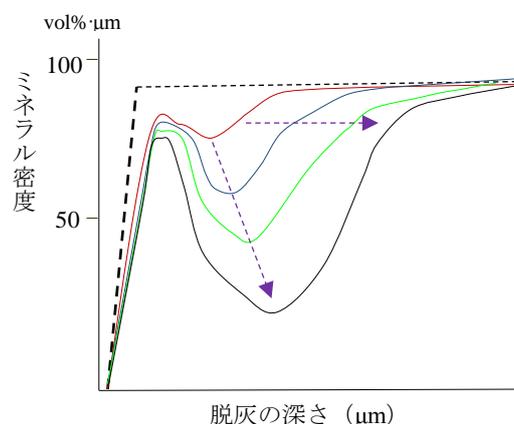


図12 表層下脱灰の経時変化のモデル
矢印に沿って脱灰深さと最低ミネラル密度が変化

ここで上記の4つの仮説とは別の観点から、脱灰現象を支配するメカニズムについて言及したい。それは、脱灰（溶解）速度を支配する因子は、アパタイト結晶が溶解する速度か、それとも溶解したミネラル

イオンが外界へ拡散する速度か、という疑問である。これを一般に「律速段階」という。HAの脱灰現象に関しては、これまで2つの律速段階の可能性が議論されてきた。第1は、HAの結晶表面からミネラルイオンが脱離する段階の速度 (surface-controlled process) である。具体的には、エナメル質の結晶表面で、酸 (H^+) とアパタイトの結晶格子のイオン (PO_4^{3-}, OH^-) とが反応して、これらのミネラルイオンがアパタイトから脱離する速度である。すなわち H^+ と OH^- あるいは PO_4^{3-} とが反応して、 H_2O あるいは HPO_4^{2-} や $H_2PO_4^-$ が形成されるプロセスである。同時に Ca^{2+} が離脱するプロセスも含まれる。第2は、脱離したミネラルイオンが、HA結晶を取り巻く外界の脱灰液に拡散する段階の速度 (diffusion-controlled process) である。後者の場合の例として、3つ挙げる。①脱灰液に粘性物質を加えて、粘性の高い脱灰液で脱灰すると拡散速度は遅くなり、脱灰速度は遅くなる。②脱灰液に、ミネラルイオン (Ca^{2+} , リン酸イオン) を加えると、HAの結晶表面からの離脱した格子イオンの拡散が抑制され、脱灰速度が遅くなる。③アパタイトを酸溶解すると、溶け出たミネラルイオン濃度が結晶の近傍で高くなって、その近傍の脱灰液は飽和状態となり、それ以上脱灰は進行しなくなる (結果的に②と同じ)。

この2つの律速段階のうち、拡散現象や拡散速度がエナメル質初期う蝕の形成や進行に深く関与しているとする説を紹介する。Vogelらは非常に巧妙な実験を行って、脱灰の律速段階は「拡散速度」であると報告した³⁰⁻³⁴。彼らは自然に形成されたエナメル質初期う蝕の切片 (厚さ $400\ \mu m$) を作製し、そこに直径 $150\ \mu m$ ほどの小さな12個の穴を掘り、次いでエナメル質に関してほぼ過飽和の液体 (pH5.57; K^+ と Cl^- を含む) でその穴を満たした (図13)。穴を掘った部位は、初期う蝕病変の中心部と病変の一番深い底部および病変から離れた健全部位とした (図13)。次いで、この切片の両面を耐水性のシートで完全に被覆し、これをミネラルイオン含有の pH3.25 の脱灰液 (エナメル質に関し不飽和) に浸漬した後、平衡に達するまで待った (5~7日)。平衡後、穴の溶液の組成 (pH やミネラルイオン濃度など) の分析を行った。

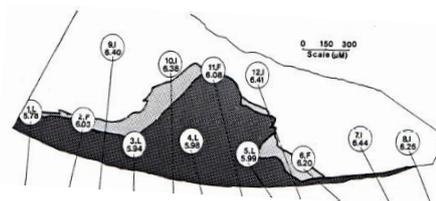


図13 初期う蝕病変のエナメル質切片に、いくつもの小さな穴をあけた様子: 黒い部分は脱灰病変, 白い部分は健全部位, その境界は病変の底部

主な結果を表1に示した (原表を筆者が改変)。①健全部位以外のどの穴の溶液も、エナメル質に関してほぼ飽和状態であった (表中の $-\log I_{AP}$ の値が $56.8 \sim 58.0$)。②穴の内部液の pH 値は、pH3.25 の脱灰液に浸漬する前と比べて、若干の変動が認められた (pH5.57 \Rightarrow pH5.36~5.84)。③穴の内部液の Ca^{2+} とリン酸イオン濃度は増加した。④ Ca^{2+} とリン酸イオンの濃度モル比 (Ca/P) は、1.52 から $1.8 \sim 2.14$ に増加した。⑤ Cl^- 濃度は増加し、 K^+ 濃度は低下する傾向にあった。⑥エナメル質表面では、マイナスの電位が増加した (逆に穴の内部液はプラスの電位となる)。

これらの結果に関して、以下のような説明が可能と考えられる。①に関して: もし律速段階が「ミネラルイオンの脱離速度 (surface-controlled process)」とすると、穴を満たした溶液はエナメル質に関して不飽和でなければならないが、実際にはほぼ飽和であった。つまり外部への拡散速度がミネラルイオンの脱離速度より遅いので、穴の内部でのミネラルイオン濃度が上昇し、ほぼ飽和状態となった。②に関して: 外部の脱灰液 (pH3.25) がエナメル質の表層を介して穴に拡散侵入し、拡散途中あるいは拡散後にエナメル質を溶解して、酸が中和され pH が上昇したと推察される。③に関して: エナメル質が脱灰され、ミネラルイオン濃度が上昇した結果による。④と⑤と⑥に関して: Ca/P 比の上昇は、「 Ca^{2+} がよ

表 1 (1)脱灰前の穴を満した液体組成, (2)脱灰液の組成, (3)エナメル質表層に近い病変の穴を満した液組成, (4)病変の最深部に近い穴を満した液組成

		pH	Ca: mM	全 PO ₄ mM	K ⁺ mM	Cl ⁻ mM	Ca/P	膜電位: mV	-logI _{AP}
穴を満した液(1)	-	5.57	0.88	0.58	30	31	1.52	-	60.5
脱灰液(2)	-	3.25	0.22	0.14	30	31	1.52	-	81.5
表層に近い穴(3)	直後 (n=4)	5.92 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.15	30.0 ± 0	33.0 ± 0	1.4 ± 0.3	-0.25 ± 0.5	57.7 ± 0.3
	3日後	5.38 ± 0.2	3.1 ± 0.4	1.6 ± 0.5	29.0 ± 0	35.8 ± 2.5	2.14 ± 0.6	-1.6 ± 0.25	58.0 ± 0.9
病変の最深部に近い穴(4)	直後 (n=3)	6.10 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.1	30.0 ± 0	33.0 ± 0	0.9 ± 0.24	-0.1 ± 0.2	57.5 ± 0.4
	3日後	5.84 ± 0.2	1.7 ± 0.8	1.0 ± 0.2	29.7 ± 0.6	35.7 ± 1.5	1.8 ± 1.0	-1.2 ± 0.3	56.8 ± 0.5

り多く、リン酸イオンはより少なく外界に拡散した」ことを示唆している。その結果、病変内部では相対的に Ca²⁺濃度が高まってプラスの電位に傾き、陰イオンである Cl⁻を引き付けてその濃度が増加したと解釈される。同様に Ca²⁺濃度が高まることで、穴の内部液の電位はプラスに傾き、その結果、その電位とバランスを取るため、エナメル質表層の電位はマイナスに傾いたと考えられる。ただし内部液の電位とエナメル質表層の電位は、いつもこのように決まるのではなく、脱灰液（あるいはプラーク液）に含まれる構成成分の種類やその濃度によって決まるという³⁰⁻³⁴。例えば、*in-vivo* ではマイナスに帯電した唾液タンパク質がエナメル質表面に吸着することで、表層電位はマイナスに傾くと考えられる。

この研究で最も重要な知見をまとめると以下ようになる。①脱灰期間中、内部液はエナメル質に関して常に飽和状態に近いことは、「エナメル質内層での脱灰は、溶け出たミネラルイオンの拡散速度によって支配されること、すなわち脱灰の律速段階は拡散速度」であることを示唆している。②つまり病変内部での脱灰は、まず酸の浸入によって速やかにアパタイトの溶解が起こる（すなわち律速段階とならない）。その結果、病変内部でのミネラルイオン濃度が上昇して、外界の不飽和の脱灰液とのあいだで濃度勾配が発生する。この濃度勾配のため、エナメル質表層を介して、外界の脱灰液に向かってミネラルイオンの拡散が起きる。この拡散速度が病変内部でのアパタイトの溶解速度より格段に遅いため、この拡散速度が全体の脱灰進行速度の律速段階となる。

ちなみに筆者は、これまで酸によってエナメル質初期う蝕エナメル質が形成されるとき、脱灰病変の内部は外界の脱灰環境液（プラーク液）と同様の酸性と想像していたが、実際には pH は弱酸性レベルで脱灰が進行していることを知らされ、非常に驚いた。

このエナメル質表層の膜機能に関連して、Okazaki らは下記のように、拡散現象の重要性を明らかにした²⁰。彼らは、合成 HA 粉末を用いてペレットを作成し、これをイオン選択性の透過膜で覆い、酢酸の脱灰緩衝溶液（0.5 mmol/L, pH4.0）に浸漬して脱灰した（図 14）。そのときの透過膜として、陰イオン選択性の透過膜（Anion Membrane; A-M）を用いた場合と、陽イオン選択性の透過膜（Cation Membrane; C-M）を用いた場合とで、脱灰にどのような違いが生じるか検討した。A-M は、架橋した R-NH⁺基（R は樹脂構造の骨格）を有する樹脂で、陰イオンを交換する機能を有する。従って陰イオンはこの膜を通過できるが、Ca²⁺のような陽イオンは陽電荷同士の反発により、通過しにくい。

一方 C-M は、架橋した R-SO₃²⁻基を有する樹脂で、陽イオンを交換する機能を有する。従ってイオン透過性は、A-M の場合と逆となる。その結果、6 週間の脱灰後、A-M の場合には、内部液（透過膜と HA ペレットとの間に存在する溶液：図 14）において、HA から溶け出した Ca²⁺が蓄積され、内部液中の Ca/P モル比（16.1）は、もとの HA ペレットの値（1.61）と比べて 10 倍もの高い値を示した。同時に、HA ペレット表層部には再石灰化層が観察された。一方、C-M の場合には、内部液中の Ca/P モル比（0.469）は、もとのペレットの値よりかなり低い値を示し、再石灰化層は観察されなかった。A-M 膜の場合、再石灰化層が形成されたのは、A-M 膜のイオン選択性のため外界への Ca²⁺の拡散が抑制され、その結果、内部液で Ca²⁺濃度が上昇し、表層の形成（HA の沈着）に有利に作用したと考えられる。

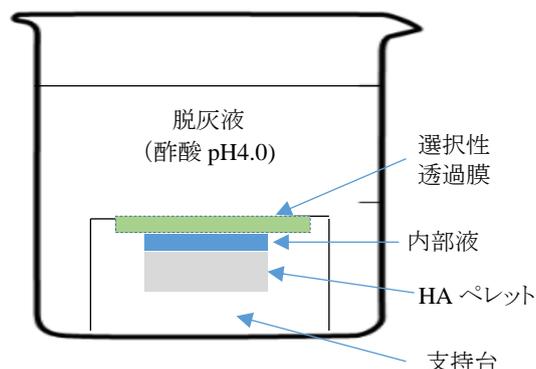


図 14 選択性透過膜を用いた脱灰実験装置

A-M 膜を用いた場合、内部液で Ca²⁺濃度が上昇したことは、上述の Vogel らの結果と一致している。この上昇は、両実験において表層の形成あるいはその維持に関係していると推察される。

以上 Anderson らの論文²⁾を参照に、4 つの仮説を解説した。彼らは同論文で HA 以外の物質でも同様な検討を行い、以下のような知見を得た。①Ca(OH)₂や Mg(OH)₂の固体ペレットを蒸留水に浸漬すると、表層下脱灰が認められた。Leaist も同様な結果を報告している³⁵⁾。②ストロンチウムアパタイト：(Sr)₅(OH)(PO₄)₃でも、酸脱灰することで表層下脱灰を認めたが、バリウムアパタイト：(Ba)₅(OH)(PO₄)₃では形成されなかった。これらの結果から、彼らは表層下脱灰の形成には、表層と内層の溶解性の違いは必須要件ではなく、空隙を有する固体が溶解するとき、条件を整えば表層下脱灰は形成され、普遍的現象であろうと推察している。しかし Anderson らは、上記の 4 つの仮説を特徴づける要因は、表層下脱灰が形成されやすい条件を付与していると結論づけている。筆者もどの仮説が最も臨的に妥当性が高いか、判断はむづかしいと感じる。恐らく上記の 4 つの仮説（現象）が混在していると推察される。

これら 4 つの仮説は、インビトロでの検討結果をもとに考察されているが、インビボでの脱灰の進行過程と比べて、少なくとも以下の点で異なる。①インビトロでは脱灰時間は数日から 1 ヶ月以内とかなり短い。それに対しインビボでは数ヶ月から数年と長い。②前者では脱灰一辺倒である実験条件である場合が多いのに対し、後者では脱灰と再石灰化のサイクル変化での結果である。すなわち実際のプラークではエナメル質が脱灰される時間はせいぜい 30 分以内である。その後、pH は中性付近に戻り、長い再石灰化時間が続く。このサイクルが何度も繰り返し起こる。③細菌を関与させた実験系で、表層下脱灰の形成を検討した研究報告は見当たらない。すなわち細菌あるいは細菌叢（バイオフィーム）が、表層下脱灰の形成にどんな影響を及ぼしているか、不明な点が多い。④インビボでは歯質の表面積に対して脱灰液となるプラーク液は、非常に少ない。大雑把な計算を試みる。例えば 1 つの隣接面では、最大限に見積もっても 10 μL 以下で、プラークの厚みもせいぜい 0.5 mm 以下であろう。その面積も 2 mm 四方（4 mm²）であろう。それに対してインビトロでは、通常、脱灰液が大過剰に多い。例えば 4 mm²のエナメル質の面積に対して脱灰液は 1 mL（1000 μL）程度は使用している。するとこれをプラークの厚みとして換算すると 25 mm となり、実際のプラークの厚みの 50 倍となる。プラーク液を 10 μL とすると約 100 倍の液量となる。すなわち 50～100 倍もの酸の体積量に、長時間にわたって曝されることにな

る。この推定が妥当とすれば、脱灰現象に対して、インビボとインビトロでは大きな違いが生じると考えられる。その理由は、上述したように、脱灰現象（速度や病変の形態）は、エナメル質への酸の進入拡散および溶解による酸の中和とミネラルイオンのプラークへの拡散などの物理化学的変化の程度によって、大きく左右されるからである。従ってインビトロの条件下で、う蝕の発症・進行あるいは表層下脱灰の形成メカニズムの真の姿を知ることは、容易ではないように思える。このように、インビトロでエナメル質の脱灰現象を研究したときに得られる結果と、インビボで起こっている複雑・多岐な現象のあいだに乖離が存在するという問題が付きまとうが、それでも一定の科学的知見は得られると、筆者は信じている。

以下に、インビトロにて表層下脱灰病変を人工的に作成する方法を紹介する。現在も、このうちのどれかを用いて、種々の研究に貢献している。ただしヒトエナメル質と牛エナメル質とでは、脱灰条件がかなり異なる。牛エナメル質の表面はセメント質で覆われている場合があるので、必ず表面を研磨して使用すべきである。またヒトエナメル質でも表面を研磨した場合としない場合とでは、脱灰条件が異なることにも注意が必要である。

- 1) 上記の仮説 3 に準拠して、DCPD の形成が可能な pH (5.0 以下) で脱灰液を調整し、かつミネラルイオン (Ca^{2+} , リン酸イオン) の拡散を遅くするよう、これらのイオン濃度の高い (飽和度の高い) 脱灰液で脱灰する。
- 2) 脱灰液にミネラルイオンが全く含まれなくても、脱灰液にゲル化剤を配合して粘性を高くし、エナメル質内部から外部へのミネラルイオンの拡散を抑えた状態で脱灰する。これは上記の仮説 3 に対応する。ゲル化剤として、カルボポール、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロースなどがよく使用される^{35,36}。脱灰液の粘性が高くなるので、pH 調整が困難となることやこれらの添加物に含まれる不純物の影響を受ける欠点がある。
- 3) 同様に、脱灰液にミネラルイオンが全く含まれなくても、エナメル質表層での脱灰を抑制するため有機リン化合物を脱灰液に微量添加することで可能である。これは上記の仮説 1 に対応する。添加物として例えば、EHDP (ethan hydroxyl di-phosphonate) などがある¹²⁻¹⁷。これらの分子は、エナメル質表層に存在するアパタイト表面に強く吸着しその脱灰を抑制する。しかしその強い吸着性のため、この分子のエナメル質内層へは進入しない。結果的にエナメル質内層での脱灰が優位になり、表層下脱灰が形成される。しかしこの方法で作成した表層下脱灰サンプルでは、吸着した有機リン化合物が、その後、その実験の目的に不測の影響 (例えば再石灰化の妨害) を及ぼすことがあるかも知れないので、注意が必要である。
- 4) ミネラルイオンを含む脱灰液に ppm またはサブ ppm レベルの F を添加し、表層での FA の形成・沈着を促進して表層下脱灰サンプルを作成する (これまで多くの論文を紹介したので、ここでは文献引用は省略)。このサンプルを用いてフッ化物による再石灰化の実験をする場合、添加した F の影響が、実験者が得たい結果に対してどのような影響を与えるか分からないという欠点がある。

これまで表層下脱灰の形成メカニズムについて、エナメル質を舞台として解説してきた。実は象牙質も同様な表層下脱灰病変が認められる。図 15 に、抜去歯で見つかった脱灰病変の実画像 (左) とこれを切片にして撮影した TMR 画像 (中央と右) を示した (筆者らの非公開資料)。実画像では、顕著なう窩は認められず、褐色を呈している (leathery)。中央は、実画像の着色部を含む患部面から得られた TMR 画像である。同画像で赤色の点線で囲った病変が実画像の着色部に対応する。青色の点線で囲った病変

は、実画像の面の裏側に対応する。右の TMR 画像は、中央の右側の TMR 画像を拡大したものである。拡大した TMR 画像でも、明瞭な表層（表層下脱灰病変）を認める。また中央の TMR 画像の左側にもエナメル象牙境に小さな表層下脱灰病変が認められる。ここで見られる表層下脱灰の形成メカニズムは、エナメル質で述べた 4 つの仮説のいずれと対応しているだろうか。

仮説 1 の「外層と内層の溶解性の差」についてはどうか。象牙質でもそのよう「差」が存在する可能性は考えられる。例えば、根面が露出される

ことで、フッ化物の沈着や脱灰・再石灰化のサイクルによる象牙質ミネラルの結晶性の向上が考えられるからである。また酸溶解性に関わる象牙質の構造として、象牙細管の数（密度）とその太さが考えられる。歯髄に近いほど細管の径は太く、その数も多いことが知られている^{38,39}。このようなことから、内層では外層より酸溶解性が高いことが予想される。しかし筆者は、象牙質試料を用いて人工的に表層下脱灰病変を作成したとする報告を見出すことはできなかったが、エナメル質の場合のように脱灰液の飽和度や粘性を適度に調整することで、その表層下脱灰の作成は可能と考えられる。

一方 Moron らは、脱灰液に diphosphonate を配合することで、表層下脱灰の形成を認めたと報告している⁴⁰。実際のインビボ条件で diphosphonate のような強力なアパタイト吸着物質に曝されることはないであろう。そのような意味で人為的という制約はあるが、象牙質表層の脱灰を抑制することで、表層下脱灰を作成することは可能となる。また彼らは、同じ研究にて *in-situ* 条件下で（健全な象牙質試料を口腔内に装着して、自然に沈着したプラークにて脱灰）、健全象牙質から典型的な表層下脱灰の形成を確認した⁴⁰。また Nyvad らも同様な *in-situ* 条件下で表層下脱灰を確認している⁴¹。しかしこれがどのようなメカニズムで形成されたかは、研究者らは言及していない。

仮説 2 の「脱灰された後の再石灰化沈着」についてはどうか。Smith らは、*in-situ* 研究にて人工的に形成された表層ミネラル密度の低い（恐らくスポンジ状の象牙質脱灰）が再石灰化され、表層ミネラル密度の高い表層下脱灰を呈する状態になったと報告している⁴²。もちろんフッ化物の使用やプラークコントロールの実施により、より明瞭な表層下脱灰を呈すると推察される。このことから、仮説 2 は象牙質病変でも起こる可能性がある。

仮説 3 の「DCPD 説」についてはどうか。この仮説のポイントは 2 つある。第 1：アパタイトが DCPD に相転化する pH（5.0 付近）以下で脱灰される条件；第 2：エナメル質内層で溶け出したミネラルイオンが外部に拡散する速度は、十分遅い条件；この 2 つが満たされることである。象牙質はエナメル質と比べてはるかに溶解しやすく、pH5.0 以上で容易に溶けるので表層の形成は困難のように思われる。しかし先で言及した Moron らはインビトロの研究にて、一定のミネラルイオン濃度と pH の条件下にて表層下脱灰の形成を確認している⁴⁰。また Kawasaki らもインビトロで表層下脱灰の形成を確認している⁴²。「DCPD の形成を必須とする」という条件は、彼らの実験内容からは不明である。

仮説 4 の仮説「フッ化物の影響による FA 沈着」については、筆者らが行った研究で解説しよう⁴⁴。牛歯の根部から象牙質試料を作成し、これらに種々のフッ化物を塗布した後、適度な濃度のミネラルイオンを含む酢酸脱灰液にて脱灰した。用いたフッ化物は、SDF（フッ化ジアミン銀）、SDF と同濃度のフ

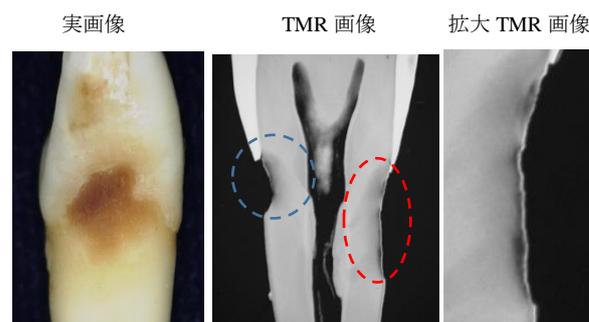


図 15 根面う蝕にも表層下脱灰が見られる

ッ化物を含むフッ化カリウム水溶液, APF, フッ化亜鉛を塩酸で溶かした水溶液およびフッ化亜鉛の水分散液である。脱灰後, これらの薄切片を作成して TMR 観察を行った。その結果, フッ化物を塗布しなかった試料では, 表層を欠いた窩性の病変 (softened lesion) が認められた。それに対しフッ化物を塗布した試料では, いずれも典型的な表層下脱灰病変が認められた (図 16)。また筆者は, エナメル質の場合と同様, ミネラルイオンを含む脱灰液に F (1 ppm) を添加した場合, 図 16 で示したような典型的な表層下脱灰の形成を認めた (未発表資料)。

これらの結果から, 象牙質に高濃度のフッ化物を塗布することで, あるいは低濃度の F を脱灰液に添加することで, 表層下脱灰が形成されることが分った。この場合の形成メカニズムは, 第 7 章で述べたエナメル質の場合と同様であろう。すなわち象牙質に取り込まれたフッ化物 (たぶん大半は CaF_2 類似物質) がサブ ppm レベルで溶け出すことで, あるいは添加して低濃度 F の作用により, 象牙質表層付近では FA に関して脱灰液が過飽和となる。その結果, もともとの象牙質アパタイトが溶解する一方, FA が沈着し, 表層下脱灰病変となったと考えられる。

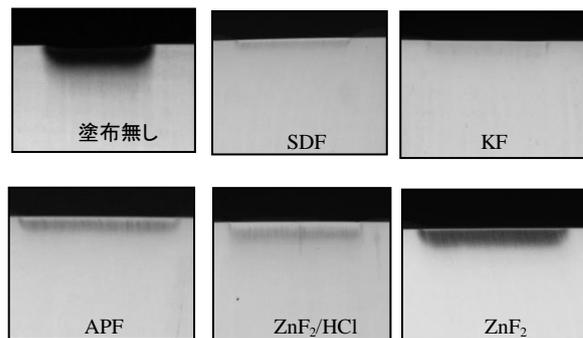


図 16 各種フッ化物塗布後の脱灰において象牙質で認められた表層下脱灰 (TMR 画像)

第 12 章：局所塗布剤の作用メカニズムとフッ化カルシウム様物質

フッ化物の応用には, 2 つの方法が知られている。第 1 は歯面局所に作用させる方法 (飲み込みを前提としていない topical application), 第 2 は飲み込みを前提としている全身的適用 (systemic application) である。前者には, 歯磨剤や洗口剤のような自己にて家庭で使用方法と, 歯科専門家による高濃度フッ化物の塗布剤 (以下, F 塗布剤) による塗布法が含まれる。F 塗布剤としては, 中性の NaF, 酸性の APF (acidulated phosphate fluoride), F バーニッシュ, フッ化ジアミン銀 (silver diammin fluoride: SDF) などが市販されている。これら F 塗布剤の作用メカニズムには, フッ化カルシウム様の沈着物の形成と徐放性という特徴的な現象を伴う。下記にその詳細を解説する。

ちなみに, 全身的適用法 (フッ化物を含む水道水, 錠剤, 卓上塩, ミルクなど) についての作用メカニズムは, 現在でも必ずしも明瞭ではない。その大きな理由の 1 つは, 局所塗布として使用されたフッ化物の一部は必ず飲み込まれるため, 局所作用と純粋に全身的に適用されたフッ化物によるメカニズムを区別することが困難であるからである¹⁾。同様に全身的に適用されたフッ化物は, 歯面やプラークに取り込まれて, 局所的適用による作用と区別できない。これまでの仮説は, エナメル質の萌出前 (pre-eruptive effect) と萌出後 (post eruptive effect) に区別して, そのメカニズムが推察されている。前者では, エナメル質形成期において歯胚によって F が取り込まれて, フッ化物含有エナメル質が形成され, これが耐酸性を発揮するとの見方である。後者では, 飲み込まれたフッ化物が唾液腺を介して唾液に移行して, これが局所塗布されたフッ化物と同様に作用するとの見方である。全身的適用法の 1 つとして, 人為的にフッ化物をミルクに添加する方法があり, 一定のう蝕予防効果が知られている。しかしその使用を停止すると, う蝕が増加することも知られている²⁾。このことから, う蝕予防に関して post eruptive effect の方が大きく寄与しているとの見解が主流のようである³⁾。

う蝕予防に使用されるフッ化物には様々な化合物があり, それらの特徴の一部を表 1 に示した。それらはフッ化ナトリウム (NaF), フッ化物第 1 スズ (SnF_2), モノフルオロリン酸ナトリウム (MFP),

アミン性フッ化物である (R-NH₂F)。このうち局所塗布剤に使用されるフッ化物は, NaF, SnF₂ およびフッ化ジアミン銀 (商品名はサホライド) : Ag(NH₃)₂ である。歯磨剤には, その他に MFP やアミンフッ化物も使用される。これらのフッ化物のうち, SnF₂ 以外は pH 中性を示す。SnF₂ は加水分解を受けて酸性を示す。これを NaOH など で中性にすると, 不溶性の白く濁ったスズの水酸化物や酸化物が沈殿し, 可溶性のスズイオン (Sn²⁺) 濃度が減少する。その結果, 他のフッ化物にはない, Sn²⁺ に固有な酸産生抑制効果やプラーク抑制効果は減少する⁴⁻⁶。アミンフッ化物は欧州で使用されているが, 日本では使用されていない。う蝕予防効果に関して, NaF と比べてアミンフッ化の方が優れているとするエビデンスは報告されていない。

MPF は主に歯磨剤に使用され, 水には容易に溶けるが, イオン化した F は存在しない (ただし原料の NaF が微量含有)。従って MFP それ自身にはう蝕予防効果はない。しかし口腔内では, 細菌または宿主由来のフォスファターゼによって容易に加水分解され, F が放出される⁷⁻¹⁰。この F は NaF 由来の F と同じであるので, NaF と同等のう蝕予防効果を発揮すると報告されている¹¹⁻¹³。

健全エナメル質に F 塗布しても, フッ化物を含むアパタイト (以下, FA 類似物質) はほとんど形成されない¹⁴。口腔内でこれが優位に形成される条件は, 2 つの場合である。第 1 はエナメル質が脱灰され, その後で再石灰化が起きる場合, 第 2 は F の存在下で脱灰と再石灰化が同時進行する場合である (第 7 章参照)。すなわち脱灰歯質が再石灰化されるときに, FA が形成されやすい。これ以外のプロセスで起こる FA 類似物質の形成は, 非常に緩慢である。すなわち HA の OH が ppm レベルの濃度の F と置換することで FA が形成されるが, 実質的にその存在が検出されるまでには, 長い時間を必要とする。

健全エナメル質に APF や NaF を塗布すると大部分はフッ化カルシウム様物質 (calcium fluoride like material ; 以下 CaF/P と略) が形成される¹⁴⁻¹⁶。ここで「・・・様物質」と表現しているのは, 純粋なフッ化物カルシウム (CaF₂) ではなく, リン酸イオンも含まれているからである。またそれらのイオンの構成比も, 塗布後の時間的変化や唾液の影響を受けて一定ではない。この化合物の特性について, 以下に解説する。

まず CaF/P の形成メカニズムについて述べる。その前に, 理解を簡単にするために CaF₂ の形成の可否を考える。筆者は 2 つの可能性があると考える。第 1 は, 歯質アパタイト表面に存在する唾液由来の Ca²⁺ との反応である。純粋な CaF₂ の溶解度積 ($K_{so} = 10^{-10.4} = 3.98 \times 10^{-11}$) を用いて, 以下に CaF₂ 形成の可否を推定する。この溶解度積の値から推定されることは, Ca²⁺ の活量と F⁻ の活量の積 (活量積) の値が K_{so} の値以上であれば, CaF₂ は形成され得るということである。塗布剤の F 濃度を 9000 ppm (4.74×10^{-1} mol/L) とし, 便宜的に唾液に含まれる Ca²⁺ 濃度を 1×10^{-3} mol/L とし, また Ca²⁺ と F⁻ の活量係数を 1.0 とみなす。そうすると, 活量積は $[1 \times 10^{-3}] \times [4.74 \times 10^{-1}]^2 = 2.25 \times 10^{-4}$ となる。この値は, K_{so} よりはるかに大きい。仮にこれらのイオンの活量係数を 1/10 ~ 1/100 とした場合でも $2.25 \times 10^{-7} \sim 2.25 \times 10^{-10}$ となり, まだ K_{so} より大きい。このことは, 唾液の Ca²⁺ と反応して CaF₂ は容易に形成・沈着できることを示唆している。しかしながら, 塗布面に存在する唾液の量は微々たるもので, 期待される CaF₂ の形成も, う蝕予防効果

表 1 う蝕予防に用いられるフッ化物

•NaF : Na ⁺ + F ⁻	pH 中性
•Na ₂ PO ₃ F : 2Na ⁺ + PO ₃ F ²⁻	pH 中性
フォスファターゼによる加水分解:	
PO ₃ F ²⁻ + H ₂ O	→ H ₂ PO ₄ ⁻ + F ⁻
•SnF ₂ : Sn ²⁺ + 2F ⁻	pH 酸性
加水分解:	
Sn ²⁺ + H ₂ O	→ Sn(OH) ⁺ + H ⁺
Sn ²⁺ + 2H ₂ O	→ Sn(OH) ₂ + 2H ⁺
•アミンフッ化物: R-NH ⁺ •F ⁻	pH 中性
•Ag(NH ₃) ₂ F : Ag(NH ₃) ₂ ⁺ + F ⁻	pH 弱アルカリ性

を期待するには微々たる量であると考えられる。すなわち、塗布剤由来の F が多量に存在していても、唾液由来の Ca^{2+} の量が制限されていれば CaF_2 の形成量も制限される。

もう 1 つの形成メカニズムは、歯質アパタイトが唾液を介した間接的あるいは直接的に関与して、 CaF_2 が形成されるというものである。HA は第 2 章で解説したように、pH 中性の水に対して一定量の溶解性を示す。唾液由来の Ca^{2+} 量が CaF_2 の形成のために消費されて、その濃度が一定濃度以下になると、HA は化学平衡の維持するために溶解する。溶解した Ca^{2+} は、高濃度で多量に存在する F と反応する。この CaF_2 の形成と HA の溶解が連鎖して、より多量の CaF_2 の形成が可能となる（間接的関与）。この場合、唾液由来の Ca^{2+} の関与がなくとも、HA との直接的な反応も同時に起きると考えられる。筆者は、直接反応がメインと考えている。このとき同時に HA からリン酸イオンも溶け出す。このリン酸イオンも巻き込んで CaF/P が形成される。その意味でアパタイトミネラルが溶け出したといえるが、歯質全体の量と比べれば微々たる量なので問題はない。

一般に NaF より APF の場合の方が CaF/P は多く形成される¹⁷⁾。その理由は以下のようなものである。APF は酸性のため、歯質アパタイトは若干溶解されて、 Ca^{2+} の溶け出し量が多くなり、この Ca^{2+} と APF の F とが容易に沈着反応を起こす。しかしう蝕予防効果に関する systematic review の結果では、両者に有意な違いはないと報告されている¹⁸⁾。う蝕予防効果のメカニズムに関しては、エナメル質表面で形成された CaF/P そのものに耐酸性がなくても良い。しかし CaF/P が、長期にわたって微量濃度の F の供給源として機能することで、脱灰抑制効果と再石灰化促進効果を発揮する¹⁶⁾。下記に CaF/P の特性に関する研究を紹介する。

通常、このような F 塗布剤を適用する前に歯面清掃を行う。これは主にプラークや食物残渣が歯面へのフッ化物の沈着を妨害するので、その除去のために行う。それではペリクルの影響はどであろうか。Cruz らは以下のような方法で、健全エナメル質へのフッ化物の取り込みに関してペリクルの影響を検討した。彼らは、ペリクルで皮膜形成を行ったエナメル質とペリクルを形成させないエナメル質に 2% NaF を塗布し、その後、1.0 M KOH の溶液に浸漬して、この溶液に溶け出した F 濃度を測定した。その結果、ペリクルの有無に関わらず、溶け出した F 濃度に差はなかった¹⁵⁾。つまり日常の臨床現場では、強いてペリクル除去をする必要はないことを示している。

このとき用いた KOH の役割について述べる。1.0 M KOH には高濃度の OH^- イオンが存在する。すると Ca^{2+} は OH^- と結合して水溶性の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を形成し、 Ca^{2+} 濃度は低下する。化学平衡を維持するため、 CaF/P に含まれる「 Ca^{2+} と結合していた F とリン酸イオン」は解離して、KOH 液に溶け出る。また吸着した F も溶け出るので、KOH で抽出できるフッ化物は、ほとんどは CaF/P と吸着 F と考えられる。しかしながら FA の場合、FA の結晶格子の成分として存在している Ca^{2+} は、非常に強い結合力で結びついていて、高濃度の OH^- でも $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を形成することはない。従ってエナメル質に取り込まれた F が CaF/P として存在しているか FA として存在しているか、ある程度区別できる¹⁹⁾。また彼らは、以下のような方法で CaF/P の溶解性についても検討した¹⁹⁾。健全エナメル質に F バーニッシュ (Duraphat™, 5% NaF) または 2% NaF を塗布後、24 時間または 48 時間蒸留水に浸漬し、KOH を用いて取り込まれた F を測定した。その結果、塗布直後 ($1.82 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) と比べて、24 時間後で $1.02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、48 時間後で $0.80 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ となり、意外にも短時間で F は溶け出してしまふことが分かった。ただしここでは、塗布後のエナメル質試料を 100 mL もの大量の蒸留水に浸漬・攪拌した後に残ったフッ化物量である。実際の口腔内では、もっと緩やかに減少すると思われる。一方 2% NaF の場合、Duraphat™ と比べて塗布直後では約 7.4 倍

(13.39 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) も高い濃度であったが、蒸留水への浸漬後に残ったフッ化物量のデータの記載はなかった。Duraphat™にて、エナメル質に取り込まれたフッ化物量がかなり少なかった理由として、Duraphat™ではNaFはアルコール溶媒に分散しているだけで、溶けていない(Fとしてイオン化していない)。そのためエナメル質の Ca^{2+} との反応性がかなり低下していると考えられる。同時に彼らは、蒸留水に浸漬後に酸で塗布面をエッチングし、KOHに溶けないフッ化物(たぶんFA様の物質)の量を測定した。その結果、Fバーニッシュおよび2% NaFの場合でも、その量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)はKOHで抽出されたフッ化物量の1/10程度あるいはそれ以下の量であった。なおこの量は、塗布しないエナメル質に存在するフッ化物とほぼ同レベルであった。すなわちFAの形成は無視できる量であることを示唆している。ただしFバーニッシュの使用のメリットは、バーニッシュの素材によって沈着したフッ化物が保護され、長期間のFの徐放が期待される。また余剰なフッ化物の飲み込みも抑制できる。

さて歯面に沈着したCaF/Pの滞留性およびFの徐放性は、以上のインビトロ研究成果からは、やや短いのではないかと推察される。例えばGroblerらは、塗布後、Fは数週間にわたって唾液やプラークに供給されると報告している²⁰⁾。通常、F塗布剤は1年に数回使用される。そうだとすると、数週間のF徐放期間では、十分な蝕予防効果が発揮されないのではないかとと思われる。

CaF/PからのF徐放性に関して、Saxegaadらはヒトの実際の唾液を用いて*in-vitro*にて評価した²¹⁾。唾液にはCaF/Pと共通のイオンである Ca^{2+} とリン酸イオンが含まれているので、CaF/Pの溶解性を低下させることが予想された。そこでまず、これらのイオンの単独の影響を調べた。すなわち1.0 mM CaCl_2 あるいは2.0 mM リン酸ナトリウムの試験液(pH6.8)に試薬由来の CaF_2 を12分のあいだ浸漬し、そこに溶け出したFを測定した。また同様な測定を、ヒト唾液を用いて検討した。次いで残った CaF_2 を再び新しい試験液あるいはヒト唾液に浸漬し、同様にFを測定した。この操作を合計6回繰り返した。その結果を図1に示した。主な結果は以下のようであった。

①水の場合での CaF_2 の溶解性と比べて、 CaCl_2 試験液に浸漬した場合、 Ca^{2+} は溶解性を約半分抑制し、その影響は6回まで継続した。②リン酸イオンの試験液の場合、繰り返し操作が行われるごとに、溶解性は著しく減少した。そのメカニズムとして彼らは、リン酸イオンがCaF/Pの表面に吸着したことによるとしている。③唾液の場合は、リン酸イオンの場合と同様に、顕著な抑制作用が認められた。この場合は、リン酸イオンの影響と合わせて、唾液タンパク質の吸着も関与していると推察している²²⁾。また彼らはリン酸イオンで事前に試薬の CaF_2 を1時間処置し、蒸留水中での溶解性、およびその後に残ったフッ化物についてKOH溶液中での CaF_2 の溶解性を検討した。その結果、リン酸イオンで事前処置をしていない場合、蒸留水での CaF_2 の溶解度は69.7 μg 、KOHによる抽出度は199.9 μg であった。これに対しリン酸イオンで前処置した場合、前者では4.8 μg 、後者では132.6 μg であった。この結果は、上で述べた結果(リン酸イオンによって CaF_2 の溶解性は著しく抑制される)に加えて、KOH溶液でもかなり抑制されることが示された。これは、CaF/Pの一部がFAに近い結晶

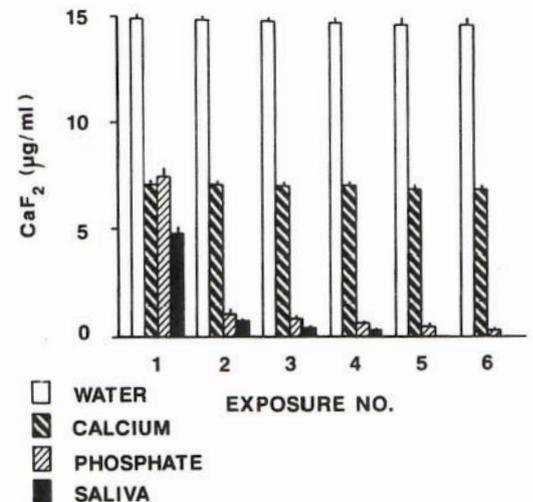


図1 CaCl₂、リン酸Na試験液(pH6.8)および唾液中におけるCaF₂の溶解性の比較

に変化したからと筆者は推察している。これらの結果は、*CaF/P* は実際の口腔ではかなり長期にわたって存在し続けることを示唆している。

唾液やプラークには、微量ではあるがピロリン酸イオン ($P_2O_7^{4-}$) が存在する²³⁾。Lagerlof らは、 CaF_2 の溶解性に及ぼすピロリン酸イオンの影響 (0.1~10 mM) を検討した。その結果、リン酸イオンと比べて、 CaF_2 の溶解を抑制する作用は小さいながらも、明らかにその作用を有することが示された²⁴⁾。このように、唾液中に含まれるミネラルイオンや唾液タンパク質、さらにはピロリン酸イオンのため、口腔内での *CaF/P* の徐放性は上述の Grobler らの報告で示された蒸留水中よりも遥かに長いと推察される。

ここまでは、高濃度 F の塗布剤による健全エナメル質表面での *CaF/P* の沈着についての検討であった。それでは、F 塗布剤より低濃度の F 歯磨剤では、*CaF/P* の沈着は起こるのであろうか。この疑問は、F 歯磨剤の作用メカニズムを考える場合、非常に重要である。Arends らは、*in-situ* の条件で人工的に脱灰したエナメル質試料 (サンプル) で、*CaF/P* の沈着は起きるかどうかが検討した²⁵⁾。用いた歯磨剤は 6 種類である (濃度は 1,000 または 1,500 ppm の F : フッ化物は 3 種類 : NaF, MFP, SnF₂)。サンプルを矯正装置に固定し、これを被験者の口腔に装着し、1 日 2 回の歯磨きを被験者に依頼した。2 週間の F 歯磨剤の使用後、KOH 溶液を用いて *CaF/P* の沈着量を測定した。その結果、いずれの F 歯磨剤でも KOH 溶液に一定量の *CaF/P* 由来のフッ化物と Ca^{2+} およびリン酸イオンを検出した。さらにサンプルの表面を SEM で観察した結果、*CaF/P* に特有な形状 (球状の沈着物) を確認した

(図 2 の右)。KOH 処理後では、この球状の沈着物は消失していた (図 2 の左)。確認のため、Raman 分光分析器にてサンプル表面の球状の沈着物を分析した結果、*CaF/P* が同定された。しかし健全エナメル質では

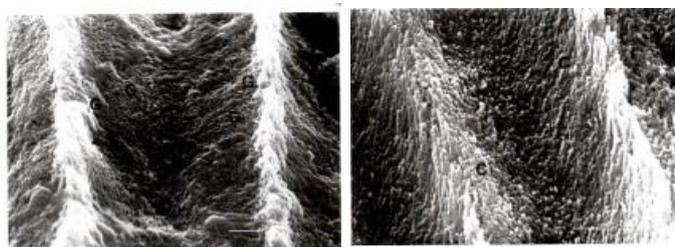


図 2 F 歯磨剤を *in-situ* にて 2 週間したときのエナメル質小柱に沈着した *CaF/P* (球状)。右:KOH 処置前 左:KOH 処置後に球状物が消失し、エナメル質単結晶が見える。

CaF/P は、ほとんど検出されなかった。これは 2 週間の F 歯磨剤の使用によっては、健全エナメル質では FA はほとんど形成されないことを示唆している。その理由として、筆者は 2 つの可能性を考えた。①単位領域において、脱灰されたエナメル質の表面と比べて、健全エナメル質の表面の面積は小さいため F との反応効率が低いこと、あるいは②脱灰されたエナメル質表面は、アパタイト以外のリン酸カルシウム (例えば DCPD など) で覆われ、これらのリン酸カルシウムはアパタイトと比べて F との反応性が高いこと。

また彼らは、エナメル質試料に取り込まれた全フッ化物量に対する *CaF/P* 由来のフッ化物量を測定した。その結果、約 40% が *CaF/P* 由来であり、残りの約 60% は F 含有のアパタイト (fluoridated apatite) であると推察した。この F 含有のアパタイトは、試料として用いた脱灰エナメル質が再石灰化されるとき、*CaF/P* 由来の F が取り込まれて形成されたと推察される。

第 13 章 : フッ化物による初期う蝕の再石灰化促進メカニズム

まず再石灰化という現象を化学的観点から考えてみる。エナメル質や象牙質のアパタイト結晶が酸によって溶解され、結晶のサイズが小さくなる。その変化が臨床的には、エナメル質の白斑や物理的強度の低下となって現れる。さらにその結晶が脱灰によって消失した場合、それはう窩として認知される。

象牙質では、白斑とはならないが脱灰によりその部位は柔らかくなる（軟化）。再石灰化とは、その小さくなった結晶がミネラルイオン（ Ca^{2+} 、リン酸イオン）を取り込んで大きくなることである（図1）。

このときFの添加や弱アルカリ性化（これによって、 OH^- の供給と PO_4^{3-} 濃度の上昇が同時進行）することで、再石灰化の進行が促進される。アパタイト（あるいはHA）の結晶が成長する化学変化を簡単な装置で再現することができる。図2にその装置の概要を示した（ここでは、F添加した場合を図示）。ビーカーに、脱灰で小さくなった結晶の代わりにHAの微結晶を入れ、唾液の代わりにミネラルイオンを含みpHを中性付近に調製した人工唾液を入れる。

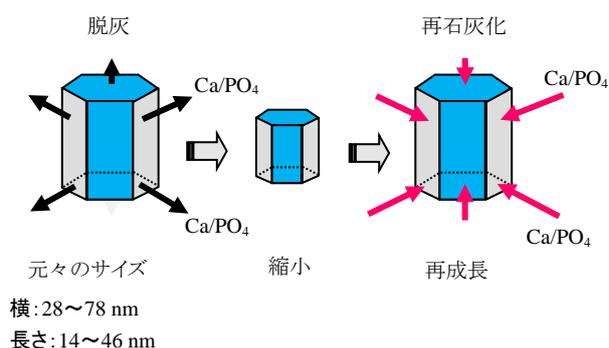


図1 アパタイト結晶の再成長（再石灰化）

この人工唾液は、HAに関して過飽和の状態にある溶液である。一般にpHが中性付近では、唾液やプラーク液ではHAに関して過飽和である。これらの液体にはミネラルイオンが過剰に溶けており、その濃度はHAを水に溶解したときの濃度より高い。pH7の水に溶けるHAの最大濃度は、 Ca^{2+} として約0.1 mM、リン酸イオンとして約0.06 mMである。ヒトの無刺激唾液では、 Ca^{2+} として平均約1 mM、リン酸イオンとして平均約3 mM

濃度である。従って Ca^{2+} では約10倍、リン酸イオンでは約50倍となる。一方、プラーク液では Ca^{2+} では約57倍、リン酸イオンでは約265倍となる¹⁾。すなわちこれらの液体では、HAに関して過飽和な状態となっており、潜在的にはHAと形成・沈着が可能な状態にある。

この過飽和の人工唾液にpH電極を差し込んで、pH変化をモニターする。するとpHは低下し始める。pH電極の代わり Ca^{2+} 電極を用いると、 Ca^{2+} 濃度の低下が起きる。あるいは人工唾液から一定量の溶液を採取して、溶液に溶けているリン酸イオン定量すると、やはりリン酸イオンの低下が認められる。このようなことから、ビーカーの中では、式1)に示すような化学反応が起きていることが理解される。すなわちHAの微結晶が、溶液に溶けているミネラルイオンを取り込んで成長する。同時に、水分子



(H_2O)が分解されて OH^- と H^+ とが生成され、 OH^- はHAに取り込まれ、 H^+ は溶液に残る。また HPO_4^{2-} 由来の H^+ も溶液に残る。その結果、pHの低下が起きる。これは、HAという「塩基性（アルカリ性）物質の形成」と「溶液の酸性化」が相殺して反応系全体では、 H^+ と OH^- の量は反応前後で不変であることを意味している。この化学反応は反応開始の時点では、非常に速く進行するが、時間とともに遅くなる。それは、原料であるミネラルイオン濃度の低下とpH低下による。この2つの要因の変化により、この溶液の過飽和度が低下するからである。もしこの反応にミネラルイオンを追加すれば、反応速度は回復す

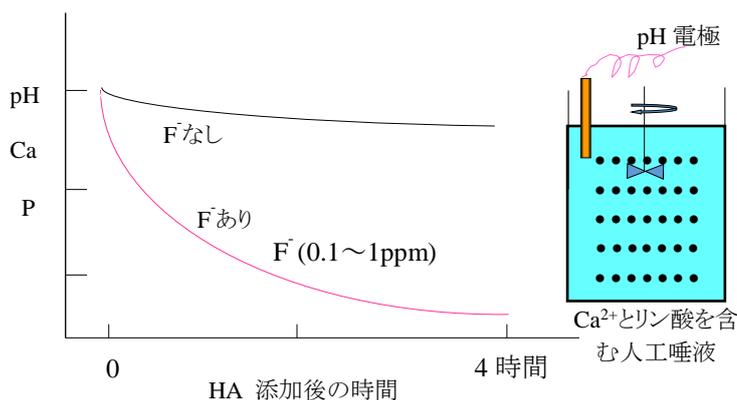


図2 フッ化物によるフルオロアパタイト(FA)の結晶成長の促進

る。また pH を上げて回復する。これは前述したように、OH⁻の供給と同時に PO₄³⁻濃度の上昇が同時進行するからである。従って初期う蝕の再石灰化はフッ化物が存在していなくても、ミネラルイオン濃度が一定以上高い場合や pH が弱アルカリ性であれば十分進行する。

次に F をこの反応系に添加した場合を考えてみる。この場合も HA の微結晶を使用する。F を添加しない場合は、**図 2** の黒の曲線で描いたような、なだらかな時間変化で HA の微結晶の成長が起きる。ただし F を添加した場合は、HA の表面に FA 結晶が沈着して、全体として結晶は大きくなる。本来、HA と FA では結晶としては異なるが、両者で類似の結晶構造を有していることから、このような反応が起きる。これをエピタキシー (epitaxy) と呼ぶ。epitaxy とはギリシア語に由来する結晶学用語で、「規則的に重なる」に由来する。このときもミネラルイオン濃度の低下と同時に、pH の低下が起きる。F を添加しない場合と比べて、pH の低下や Ca²⁺の濃度の低下は、非常に顕著である (**図 2** の赤の曲線)。このときの pH の低下は、下記の式 2 で示したように、H₂O の分解によるものではなく、結果的には 3HPO₄²⁻の



H⁺に由来する。

フッ化物が再石灰化の進行に関して、非常に優れた効果を発揮する理由 (メカニズム) を以下に解説する。最も簡単な理由として、HA の構成イオンの 1 つである OH⁻と FA の場合の F⁻に注目して、石灰化液 (人工唾液、唾液、プラーク液) における OH⁻と F⁻の存在割合を比較する。

HA の形成量は、石灰化液に含まれるミネラルイオン濃度と pH で決まる、すなわち $(\text{Ca})^5 \times (\text{OH}) \times (\text{PO}_4)^3$ の式で示される量に比例する。カッコは同イオンの活量を示し、肩の小文字はべき乗の数値である。この式からミネラルイオン濃度が高いほど、また OH⁻濃度が高いほど (つまり高い pH) HA の形成は促進される。

フッ化物による再石灰化促進効果のメカニズムは、上述の HA の形成の場合と同じである。通常、再石灰化が起きる pH は中性付近である場合が多いので、ここでは pH7.0 とする。pH7.0 では OH⁻濃度は 10⁻⁷ である。この値は、水のイオン積 ($K_w = (\text{H}^+) \times (\text{OH}^-) = 10^{-14}$) から求まる。pH7.0 の場合、F⁻との割合 ($\text{F}^- \div \text{OH}^-$) は、F⁻濃度に応じて **表 1** に示した値となる。0.1 ppm でも 53 倍もの高い濃度の F⁻が存在することになる。

この簡単な計算から、F⁻が唾液やプラーク液に存在すると、

HA より FA が優先的に形成されることが理解される。実際には FA の形成ポテンシャルは、第 5 章で解説した活量積 $I_{p(\text{FA})} = (\text{Ca})^5 \times (\text{F}) \times (\text{PO}_4)^3$ の式で示される量に比例する。この式からミネラルイオンと F⁻濃度が高いほど、FA の形成は促進されることが分かる。HA の場合と同様、pH が高いほど PO₄³⁻濃度が高まるので、FA の形成にも有利である。**図 3** に、HA と比べて FA がより有利に形成される構図を示した。pH7 の場合を例に解説する。pH7 では OH⁻濃度は 10⁻⁷ M である。フッ化物を使用して唾液やプラーク液に 0.1 ppm 残ったとする。その場

表 1 pH7.0 での F⁻と OH⁻の濃度の比較

F ⁻ (ppm)	モル濃度 (M)	F ⁻ ÷ OH ⁻
0.1	5.3×10 ⁻⁶	53 倍
1.0	5.3×10 ⁻⁵	530 倍
10.0	5.3×10 ⁻⁴	5,300 倍

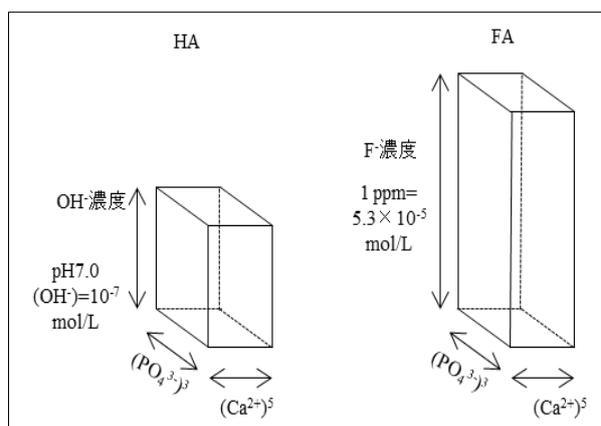


図 3 HA と FA の形成能の比較：
pH7 で 1 ppm F⁻ が存在している場合

合のFAとHAの形成量の違いは、 $[(Ca)^5 \times (F) \times (PO_4)^3] \div [(Ca)^5 \times (OH) \times (PO_4)^3]$ の値(Rとする)を知ること
で推定できる。今、 Ca^{2+} と PO_4^{3-} 濃度は同じなので、Rの値は $[(F)] \div [(OH)]$ となる。0.1 ppm Fの濃度は
 $5.3 \times 10^{-6} M$ であるので、Rの値は表1で示したように53 ($[5.3 \times 10^{-6}] \div [10^{-7}]$)となる。すなわち53倍もFA
が形成されやすい。もし1 ppmのFが残れば530倍となる。しかしpHが7.0以上では、Fの効果は小さ
くなる。例えば0.1 ppm Fの場合pH8では、Rは5.3倍となり、pH9では0.53倍となってFそのものの効果
は再石灰化に寄与しなくなる。

さて次に、実際の表層下脱灰病変での再石灰化現象について考えてみる。先にエナメル質で再石灰化
が期待できるのは、「表層下脱灰病変」の初期う蝕(第6章の図3,4)だけであると述べた。臨床的に
は、白斑あるいはホワイト・スポットと呼ばれる病変である。再石灰化とは、脱灰によって小さくなった
病変内のエナメル質結晶が再び大きくなる(再成長する)ことを先に解説した。従って病変がエナメル
質内に限定されていても、実質欠損のある病変では再石灰化は起きない。その理由(メカニズム)は第
14章で解説する。

Dijkmanらは、F歯磨剤が本当に再石灰化を促進するかどうか、ヒト口腔での*in-situ*実験にて検討した²⁾。人工的に作製したエナメル質表層下脱灰(初期う蝕)の試料を被験者数(11-13人)人に装着した。被験者は3回にわたって異なった指示を受けた(ラテン方格方式)。^①試料表面の歯磨きをしない(ブ
ラーク除去なし)。^②F無配合の歯磨剤を使用して試料表面を歯磨きする(ブラーク除去あり)。^③F
歯磨剤を使用して試料表面を歯磨きする(ブラーク除去とFの作用あり)。それぞれ3ヶ月後、試料
を取り出し、脱灰の深さをTMR法にて測定し比較した。その結果、^①試料表面の歯磨きをしない場
合、脱灰の深さは約30%増大した(悪化)。^②Fなし歯磨剤を使用した場合、不変であった。^③F歯磨
剤を使用した場合、脱灰深さは約35%減少し、再石
灰化の促進が確認された(図4)。これらの結果に

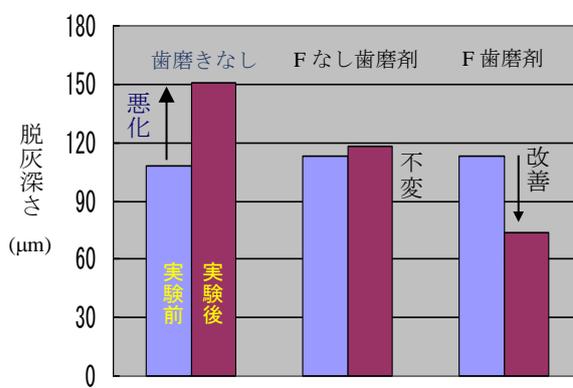


図4 フッ素歯磨剤の再石灰化促進効果

ついて^①と^②の比較から、Fなし歯磨剤でブラッシングした場合、その再石灰化効果は約30%とも解釈で
きる。そして^①と^②と^③の比較から、F歯磨剤の場合はブラッシング効果(約30%)とフッ化物の効果
(約35%)が合わさった効果(約65%)とも解釈できる。

これに関連して筆者らは、インビトロにてエナメル質初期う蝕の再石灰化の進行及ぼすF濃度の影響
を検討した³⁾。まずヒトエナメル質の薄切片を作製し、エナメル質表面を除いた全ての歯面を耐水性の
皮膜で覆い、脱灰液に浸漬して表層下脱灰病変(サンプル)を作製した。次いでサンプルの脱灰程度
(ΔZ: ミネラル損失量, 脱灰深さ, 表層での最大ミネラル密度など)をTMR法で評価した。次いでミ
ネラル損失量に関して同程度になるようにサンプルを4群に分け、4種類のF濃度の異なる再石灰化液
(無添加, 0.1, 0.5, 1.0 ppm)に浸漬した。2週間後、再石灰化させたサンプルを再びTMR法にて脱灰程
度を評価し、再石灰化前後での再石灰化率(R)を算出した。このように、同一サンプルを経時的に評価
する実験法をsingle thin section法という。この方法には、個々のサンプルにおいて脱灰・再石灰化に伴
う変化量を計測できるメリットがある。この実験での再石灰化率(R)とは、再石灰化前のミネラル損

失量を ΔZ_0 (vol% $\cdot\mu\text{m}$) , 再石灰化後のミネラル損失量を ΔZ_1 (vol% $\cdot\mu\text{m}$) としたとき, $[(\Delta Z_0 - \Delta Z_1) \div \Delta Z_0] \times 100(\%)$ で表される値である。

その結果, F無添加の群において平均値で最も高い再石灰化率を示し, 次いでF濃度に応じて再石灰化率が高くなった (図5)。なぜF無添加群が最大の再石灰化率を示したか。筆者らは, 再石灰化前のサンプルの表層での最大ミネラル密度との関連性を検討した。その結果, F無添加群では, 表層でのミネラル密度が最も低く (46%), 他の3群とは有意に低かった (62%)。このことから, F無添加群では再石灰化液に存在するミネラルイオンが表層の隙間 (porosity) を介して浸透しやすかったのではないかと推察された。表層のミネラル密度が同じであった残り3群では, 再石灰化率は, F濃度依存性であった。ただし, 0.5 ppm群と1.0 ppm群とのあいだで有意差は認められなかった。その理由として, 1.0 ppm群ではFAに関して, より高い飽和度となり, 表層でのFAの沈着が高度に亢進して, 病変内部に繋がる隙間の径が小さくなり, その結果, 再石灰化液に存在するミネラルイオンやFが病変内部に浸透しにくくなったことによると考えられる。

このように, 図5に示した結果には, 説明を要する疑問が幾つか存在する。その疑問に関する解説は第14章 (唾液タンパク質: リンタンパク質と再石灰化現象) にて詳しく論じる。図5の結果に関連して Strangらは, 筆者らの結果と同様な結果を *in-situ* 試験にて得た⁴⁾。彼らは, 脱灰程度の異なったエナメル質脱灰サンプル (薄切片試料) を作製し, 再石灰化前の脱灰程度 (baseline 値, ΔZ : vol% $\cdot\mu\text{m}$) をTMR法で評価した。次いでこのサンプルを被験者の口腔に装着して, 毎日1,000 ppm F (NaF) の歯磨剤を使用させた。毎週, 試料を口腔内から取り出し, TMR法にて再石灰化の進捗度を評価した (single thin section 法)。次いで, 再石灰化前の baseline 値 (表層でのミネラル密度: vol%) と再石灰化率との関連性を検討した (図6)。ここでの再石灰化率とは, 再石灰化前のミネラル損失量 ($\Delta Z_0 = \text{vol}\% \cdot \mu\text{m}$) に対する再石灰化後のミネラル損失量 (ΔZ_1) の減少率 ($[(\Delta Z_0 - \Delta Z_1) \div \Delta Z_0] \cdot \%$) である。その結果, baseline 値のミネラル密度が低いほど, 高い再石灰化率が認められた ($R = -0.6$)。表層のミネラル密度が60~70 vol%では, ほとんど再石灰化が起きないことが分かった。このことは, 白斑は再石灰化の過程の後半で, それ以上に再石灰化は進行せず, 白斑のままの状態が長く

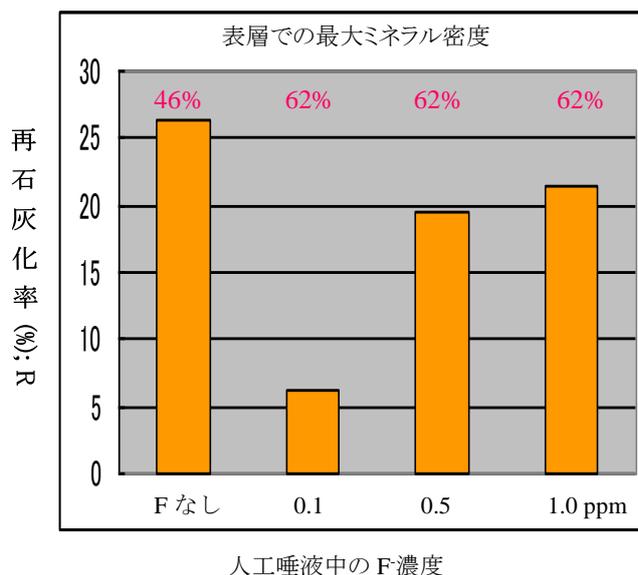


図5 低濃度Fによる脱灰エナメル質の再石灰化

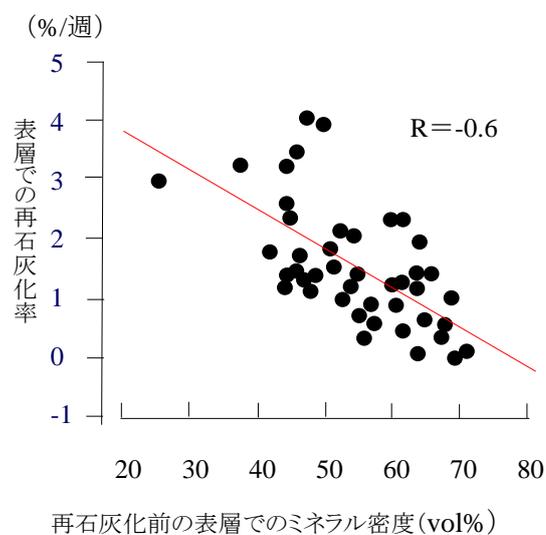


図6 エナメル質初期う蝕の表層のミネラル密度と再石灰化後のミネラル密度の関係

続くこともあり得ることを示唆している。またフッ化物を用いて再石灰化を促そうとしても、その効果が発揮されないことも念頭に入れておかなければならない。

さらにはこの結果は以下のような示唆を含む。フッ化物製剤の再石灰化効果を *in-situ* 試験で評価する場合、サンプルの **baseline** の値を群間（試験群と比較群）で同一レベルに合わせおかないと、誤った結果（フッ化物には、濃度により再石灰化を抑制する作用がある）をもたらす可能性がある。このことは、臨床試験でも当てはまると考えられる。

Lipperd は、再石灰化前の脱灰程度と再石灰化後のエナメル質表層の硬さとの関係を *in-vitro* での pH サイクリング法にて検討した⁵⁾。このとき脱灰程度は脱灰時間（8, 16, 24, 36 時間）として設定し、再石灰化の促進条件としてフッ化物処置濃度（F濃度: 0, 83, 367 ppm）とした。この濃度は、250 ppm の洗口剤または 1150 ppm の歯磨剤を 3 倍に水希釈した濃度に相当する。その結果の 1 部を図 7 に示す。この図では、縦軸に再石灰化処置に伴った硬さの増減 (Δ VHN) を、横軸にはエナメル質試料の脱灰時間を示す。また各脱灰時間に関して、3 つの棒は F濃度を示す（白棒: 0 ppm, グレー棒: 83 ppm, 黒棒: 367 ppm）。その結果、①F を含まない場合は、硬さが減少またはほとんど変化しなかった。②いずれの脱灰時間においても、F濃度が高いほど、より多く硬さが増大した。③脱灰時間が長いほど、硬さの増加量は、いずれの F濃度でも少なくなった。この図でのアルファベットは、群間の有意差を示している。すなわち、フッ化物濃度が同じ群内での比較において、同じアルファベット同士は有意差がないこと、異なったアルファベット同士では有意差があることを示している。この結果は、非常に重要なことを示唆している。すなわち、脱灰程度が進行すればするほど、フッ化物による再石灰化促進効果は小さくなることを示している。つまり初期う蝕は、より早期にフッ化物で介入した法が、より効果的な結果が得られることを示唆している。ただし彼は、ここでの初期う蝕の脱灰深さは 50 μ m 以下であるので、それより深い脱灰深さの初期う蝕でも同様な結果が観察されるかどうか、断言はできないとしている。

これまで述べてきたように、一般に再石灰化を期待するにはフッ化物の使用が推奨される。しかし図 4 で示唆されるように、プラーク除去単独でも再石灰化の進行に一定の影響力があるのではないかと考えられる。そこで筆者らは、ブラッシングによるプラーク除去が再石灰化の進行に及ぼす影響をインビトロで検討した⁶⁾。ヒトエナメル質試料に表層下脱灰病変（図 8）を形成し、その脱灰程度を QLF 装置（quantitative light-induced fluorescence）⁷⁻¹⁰⁾を用いて非破壊にて定量した。次いでこれらの脱灰試料を、脱灰程度の平均値が同じなるように、QLF 測定値 (Δ F) にて 2 群に分けた。また再石灰化前に、一部の試料を用いて脱灰程度 (Δ Z: vol% $\cdot\mu$ m) を TMR 法にて評価した。その後、2 群のうち一方の群には脱灰歯面上に、*S. mutans* 10449 株の人工プラークを形成させ（試験

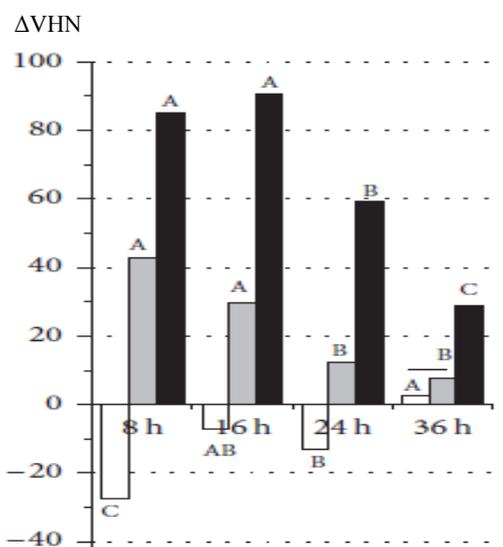


図 7 再石灰化の進行に及ぼす初期う蝕の脱灰程度とフッ化物濃度の影響。再石灰化の進行度合いはエナメル質表面での硬さの増減

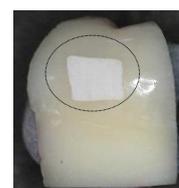


図 8 初期う蝕試料

群：n=13），もう一方にはこれを形成させない対照群（n=13）とした。そしてこれら2群の試料を、フッ化物を含まない再石灰化液に7日間浸漬し、再石灰化を起こさせた。再石灰化後、再びTMR法にて、再石灰化の進捗度を評価した。その結果、試験群（人工プラークあり： $\Delta Z=1499 \text{ vol}\% \cdot \mu\text{m}$ ）と比べて対照群（人工プラークなし： $\Delta Z=542 \text{ vol}\% \cdot \mu\text{m}$ ）において ΔZ の減少率（%）は、約67%小さかった（図9）。すなわちプラークは、再石灰化の進行を抑制することが示唆された。

またQLF法で評価した脱灰深さの減少率%と脱灰面積の減少率%（いずれも再石灰化の指標）は、いずれもプラークなし群で有意に高かった（図10）。

さらにQLF画像にて再石灰化の前後の試料面を観察した結果、プラークなしの試料において、その画像の暗い部分の明るさが回復し、面積も小さくなったことが分かる（図11）。これらのことから、プラークは再石灰化の進行を妨害していることが示唆された。この結果は、上述したDijkmanらの*in-situ*結果（図1）と一致している。すなわち、日々の適切なブラッシング（プラーク除去）は、う蝕の進行の抑制あるいは再石灰化の促進に有効ではないかと推察される。

プラークがなぜ再石灰化を妨害しているか、そのメカニズムは十分には明らかではない。このことに関連してDamenらは、細菌が産生するリポタイコ酸（lipoteichoic acid）がHAの結晶成長を抑制すること¹¹⁾、さらにはこれを含む再石灰化液にて表層下脱灰病変を再石灰化させた場合、これに含まない場合と比べて再石灰化が抑制されることを報告している¹²⁾。リポタイコ酸は、特にグラム陽性菌によってプラーク内で多く産生される。その分子の特徴の1つとして、分子内にリン酸エステルが存在することである。これは、次の章（第14章）で解説するリンタンパク質と分子構造が似ている。彼らは、リポタイコ酸がHAに強く吸着することも報告している^{13,14)}。一般に、このようなリン酸エステルを有する高分子あるいはタンパク質は、HAのCaサイトへの吸着力が非常に強いため、HAの結晶成長を強く抑制する。

第12章で解説したように、フッ化物による再石灰化促進効果は唾液やプラーク液にFが溶存していることを前提している。歯質に取込まれたFや高濃度のフッ化物塗布剤（例えばAPFやサホライド）によって歯面（健全および脱灰歯面）に沈着したフッ化カルシウム様物質（CaF/P）由来のFは、最終的には、口腔内で循環して唾液やプラーク液に移行する。これらのFが再石灰化過程でFAの形成に関与す

vol%・ μm

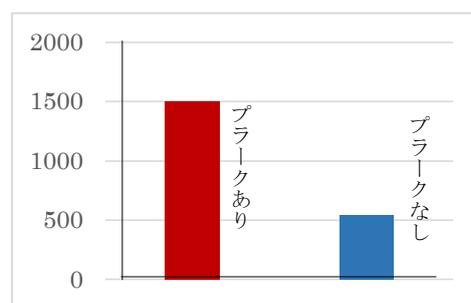


図9 エナメル質初期う蝕の再石灰化に及ぼすプラークの影響(ミネラル量の回復)

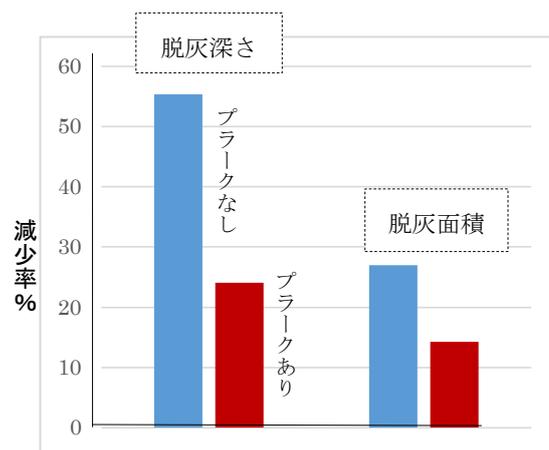


図10 エナメル質初期う蝕の再石灰化に及ぼすプラークの影響(左:脱灰の深さ, 右:脱灰面積の減少率)

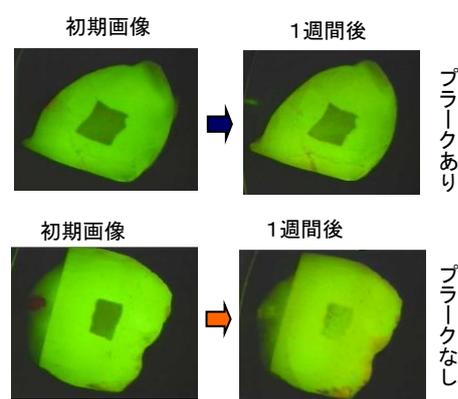


図11 再石灰化に及ぼす人工プラークの影響

ることになる。F 歯磨剤や F 洗口剤にて歯質に取込まれた F は、数時間内でほとんどなくなるので、毎日補給することが初期う蝕の再石灰化には必要となる。

このような唾液やプラーク液に存在する F が、脱灰抑制や再石灰化に有効であるとする考え方は、う蝕治療後の充填物や予防シーラントにフッ化物を配合させた製品に生かされている。これらの歯科材料は、できるだけ長期間にわたって F が徐放されるよう設計され、う蝕の初発および二次う蝕の予防が期待されている。筆者らが行ったインビトロ実験でも、1 ppm の F を含む人工唾液にエナメル質表層下脱灰を 4 週間浸漬すると十分な再石灰化が起きることを認めている（第 14 章にて紹介）。

この章では、主にエナメル質初期う蝕（表層下脱灰病変）の再石灰化メカニズムに関して解説したが、象牙質う蝕でも再石灰化現象は起きるのであろうか。起きるとすれば、エナメル質の場合のメカニズムと違いはあるのか。エナメル質の場合は、表層下脱灰病変でなければ再石灰化は起きない、換言すれば、う窩を呈する病変は再石灰化しない、と強調してきた。その理由やメカニズムについては、次の章（第 14 章）で解説する。

筆者らは、再石灰化前の脱灰程度および再石灰化液に含まれる F 濃度が再石灰化の進行に及ぼす影響をインビトロにて検討した¹⁵⁾。牛歯の根部象牙質を異なった期間（1, 3, 7 日間：pH4.6 の乳酸緩衝液）にて脱灰し、これを実験試料とし、再石灰化前の脱灰程度を TMR 法にて解析した。このときの脱灰病変は、表層のないう窩状であったが、表層付近では一定度のミネラル密度を呈していた。その後、異なる F 濃度（0, 0.1, 0.5 ppm）を含む再石灰化液にて 2 週間再石灰化させ、TMR 法にて再度、脱灰程度を解析した。再石灰化後の脱灰病変は、明瞭な表層を伴う表層下脱灰であった。そして再石灰化前の脱灰程度（ ΔZ_0 ）に対する再石灰化後の脱灰程度（ ΔZ_1 ）の割合（ $[\Delta Z_0 - \Delta Z_1] \div \Delta Z_0$ ）すなわち再石灰化率%を算出した（図 12）。

その結果、脱灰期間が長いほど再石灰化率は低下した。これは、長期間の脱灰により再石灰化に必要なアパタイト結晶核の数および核 1 つ当たりの表面積が減少し、再石灰化の効率が低下したことによると推察される。また 1 日間の脱灰の場合を除いて、F 濃度が高いほど再石灰化率は高い傾向であった。1 日間の脱灰の場合、F の影響は見られなかったが、これは脱灰期間が短い場合、再石灰化に必要なアパタイト結晶核が十分な量だけ存在し、再石灰化の効率が高かったからと考えられる。すなわち軽度の脱灰では、F の影響を受けることなく、すみやかに再石灰化が進行することが示唆される。さらに F による再石灰化効果は、3 日間の脱灰試料にて明瞭な濃度依存性が認められたことから、F による再石灰化作用は、脱灰程度にかなり依存することが示唆された。

う窩状のエナメル質病変の場合では再石灰化は起きないが、象牙質病変の場合、明瞭な再石灰化が進行した理由は、以下のように推察される。上述したように脱灰後の象牙質表層付近には、完全には溶け切らなかったミネラル分が残り、それが核となって再石灰化が進行したと考えられる。すなわちエナメル質初期う蝕と異なり、象牙質では表層の存在は必須ではないと考えられる。

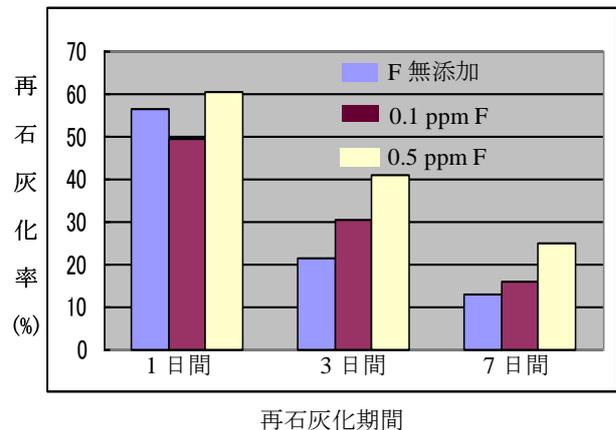


図 12 脱灰期間および F 濃度が再石灰化率に及ぼす影響

この表層でのミネラル密度と再石灰化に関連して、筆者らは3つの異なった脱灰条件にて作製した脱灰象牙質が再石灰化するかどうか検討した¹⁶⁾。①強い脱灰条件（100 mM, pH4.0 の酢酸）；これは表層でのミネラル密度が小さい場合；②弱い脱灰条件（100 mM, pH5.0 の酢酸），これは表層でのミネラル密度が高い場合，③EDTAによる完全脱灰の条件（50 mM, pH7.0）；これは表層のミネラルがほぼ完全に消失した場合。なお③の場合，脱灰過程にて酸性 pH と温度（体温）によるコラーゲンの変性が起きないように，中性 pH および 4°C の定温で脱灰した。いずれも 2 週間の脱灰とし，その後，1 ppm F を含む再石灰化液（FA に関して高い過飽和飽和な状態）に浸漬した。4 週間の再石灰化後，TMR にて再石灰化の進行状況を観察した。その結果，①と②では，再石灰化前には表層の存在は観察されなかったが，再石灰化後には明瞭な再石灰化表層が確認された。また全体の再石灰化の進行程度は，pH が高い（pH5.0）ほど明瞭に観察された。しかし③では，表層の形成や脱灰内部での石灰化の進展など，全く変化は観察されなかった（図 13）。このような結果は，以下のように説明できる。①と②において脱灰後，TMR 画像で一見，表層が見られない病変であっても，僅かながらコラーゲン層にアパタイトの微結晶が残存し，それが核となって結晶成長し，表層を形成したと推察される。それはあたかも，エナメル質の表層下脱灰病変にてアパタイト結晶が残存し，それが核となって結晶が増大する現象と同じであると考えられる。それに対し，③ではアパタイト結晶は完全に溶解して微結晶は全く残らず，その結果，結晶成長が全く起きなかったと推察される（これはエナメル質う蝕でのう窩に相当すると考えられる）。このことは，たとえコラーゲンの健全性が維持されていても，それは決して再石灰化の契機にはならないことを示唆している。また筆者は，この結果はコラーゲンの健全性は必ずしも再石灰化の可否に関与しないと考えている。

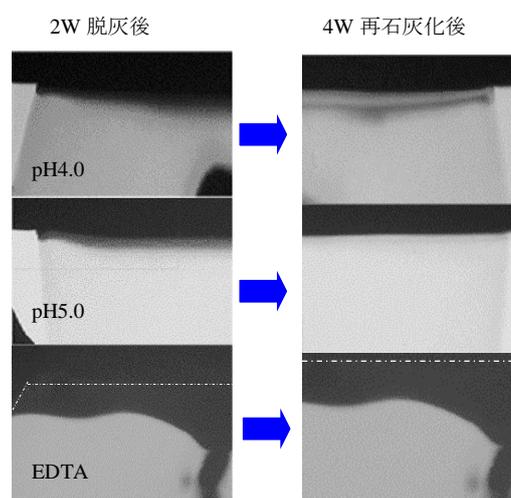


図 13 脱灰象牙質の再石灰化に及ぼす脱灰程度の影響：TMR 画像 破線は脱灰前の表面

ここで初期の根面う蝕の再石灰化の可能性について，臨床試験の結果を紹介する。プローブによる象牙質う蝕の診断基準によるとプローブの進入程度に応じて，硬化病巣（hard lesion），なめし革様病巣（leathery）およびソフト病巣（soft lesion）に分類される¹⁷⁾。ICDAS では，実質 2 つに分類される¹⁸⁾。Code 1；患部は着色によって明確に区別できるが，う窩状（深さ 0.5 mm 以下）ではない。Code 2；患部は着色によって明確に区別できるが，う窩状（深さ 0.5 mm 以上）を呈する。いずれの診断基準も，エナメル質初期う蝕のような，表層の存在の有無に触れていない。Baysan らは，NaF 配合歯磨剤（F として 1100 および 5000 ppm）による primary root caries（初期の根面う蝕：leathery lesions に分類）の再石灰化促進効果について，プローブ硬さに準拠した診断基準と ECM（Electrical Caries Meter：電気抵抗値による脱灰程度の評価）を用いて，F 濃度の違いを検討した。その結果，両歯磨剤にて leathery lesion から hard lesion への改善効果が認められた。また電気抵抗値の上昇も両群で認められた。この上昇は，再石灰化によって空隙が小さくなり電気が伝わりにくくなったことによる。これらの改善（変化）は，5000 ppm において高い効果が認められた¹⁹⁾。Hu らも，フッ化物を含まない歯磨剤を対照に，同様な診断基準を用いてモノフルオロリン酸ナトリウム配合（1450 ppm F）の再石灰化促進効果（leathery から hard lesion，お

よび soft から leathery lesion) を確認した^{20,21)}。この臨床試験では、フッ化物を含まない歯磨剤の使用群が採用されているが、その群でも一定程度の再石灰化の進行が観察されたことは興味深い。この事実から、少なくとも leathery lesion は、病変の表面が硬くなること、すなわち再石灰化が起きることは間違いない。

soft および leathery lesion には、上述したようにエナメル質初期う蝕と異なり明瞭な表層は見られない。それでも再石灰化現象は起きる。上述したように筆者らの研究を含め²²⁻²⁴⁾、多くの *in-vitro* 研究にて、表層のない象牙質脱灰病変でも再石灰化することが確認されている。しかしこれら leathery または soft lesion が、ミネラル密度の分布状態およびコラーゲンの残存状態に関して、どのような特徴を有するか、筆者が調べて範囲内では報告がない。今後、抜去歯を用いた検討が必要である。

補足) 根面う蝕および象牙質う蝕とコラーゲン分解の関係：

フッ化物と直接関係はないが、ここで象牙質の脱灰現象に特有なコラーゲンの「変性と分解」との関係について、要約を紹介したい。はたしてコラーゲンの存在は、根面う蝕を含め象牙質う蝕あるいはその再石灰化の進行とどのように関連しているのか。現在の知見をもとに結論を先に述べると、①臨床試験では検証されていないが、*in-vitro* および動物実験の結果から、コラーゲンの酵素的分解を抑制することで、象牙質う蝕の進行は抑制することができるとの見方が多い。②一方、再石灰化の進行に関しては、研究報告が少なく一定の見解を得るに至っていない。以下にこれらの事例を述べる。

その前に、象牙質コラーゲンの分解メカニズムやプロセスを理解しなければならない。象牙質には、潜在的コラゲナーゼ (latent collagenase) という酵素が、コラーゲン・マトリックスおよび象牙質ミネラルと複雑に絡んで存在している。これらの酵素は亜鉛を必須金属としていることから、Matrix-Metallo-Proteases (MMPs と略) と呼ばれている。この酵素は単一の酵素ではなく、複数の異なった特徴を有した一連の酵素群 (family) を構成している。潜在性の MMPs について、Tjäderhane らは MMPs に特有な抗体を用いて、脱灰された象牙質に MMPs の存在を確認した²⁵⁾。また彼らは、ヒト唾液にもゼラチンを分解する MMP 酵素 (MMP-2 と MMP-9) およびコラーゲンそのものを分解する酵素 (MMP-8) の存在も確認した。これらの酵素は、健全な象牙質では、MMPs の inhibitor (これを Tissue Inhibitor of MMP: TIMP-1 という) と結びつき、latent の状態にあるためコラーゲンは分解されない。しかしこれらの酵素は酸で処理されると、この inhibitor が解除されて活性化され、pH が中性付近でコラーゲンを分解し始める²⁵⁾。また酵素トリプシンを脱灰された象牙質に加えると、コラーゲンの分解が促進される²⁶⁾。トリプシンにより、何らかのメカニズムで inhibitor が解除されると考えられる²⁶⁾。しかしう蝕関連細菌には、コラーゲンを分解する酵素は検出されなかった²⁵⁾。これらのことから彼らは、う蝕関連細菌によって産生された酸によって MMPs が活性化され、象牙質う蝕の進行に大きな影響を与えると推察した。

MMPs 以外にも cysteine cathepsins という分解酵素も関与している。Mazzoni と Tjäderhane らは、象牙質う蝕の進行、および充填物の接着界面でのコラーゲン分解性と充填物の長期耐久性に及ぼす MMPs の役割について詳しく解説している^{27,28)}。なお唾液にも同様な MMPs が含まれおり、Hedenbjörk-Lager らは 451 人の被験者を対象に、唾液由来の MMP-8 (collagenase-2) あるいは TIMP-1 の水準と象牙質う蝕との関連性を調査した。その結果、象牙質う蝕を有する被験者において高いレベルの MMP-8 が検出されたが、TIMP-1 との関連性は見出されなかった²⁹⁾。非常に興味ある知見であるが、この結果から直ちに唾液に含まれる MMP-8 が、象牙質う蝕の進行に関与していると結論付けることはできないのではないかと、筆者は考えている。

一方、脱灰された象牙質のコラーゲンが分解される別のプロセスが報告されている。一般にコラーゲンそのものは、コラゲナーゼによってしか分解されない。しかしコラーゲンは酸や熱などによって容易に変性作用を受け、ゼラチンに変化する。ゼラチンは、コラゲナーゼ以外のゼラチナーゼやタンパク分解酵素によっても分解される。口腔内では、細菌および宿主由来の種々のタンパク分解酵素が知られており、これらの酵素によってコラーゲンは分解されることが考えられる。

Klont らは、脱灰程度のことなる象牙質に関して、細菌由来のコラゲナーゼ (*Clostridium histolyticum*) を作用させ、脱灰程度が大きいほど、分解程度が高いことを確認した³⁰⁾。また彼らは、脱灰 pH の異なる条件下で脱灰した象牙質試料を (ブロックおよび粉末) を生理的条件下で静置し、潜在的コラゲナーゼによって分解されたコラーゲンの量を測定した。また一方で、トリプシン酵素にて人為的に分解させたコラーゲンの量も測定した。その結果、脱灰 pH の影響は非常に小さかった。また潜在的コラゲナーゼによって分解されたコラーゲンの量より、トリプシンによって分解された量の方が多かった³¹⁾。この結果から、彼らは潜在的コラゲナーゼによる分解速度は、極めて遅いと推察した。すなわち根面う蝕におけるコラーゲンの分解プロセスに関して、潜在的コラゲナーゼの寄与より、細菌や宿主由来のプロテアーゼの寄与の方が大きいことが推察された³¹⁾。この推察を確認するため、彼らは脱灰した象牙質試料を7週間のあいだ被験者の口腔内に装着し、コラーゲンの変性と分解が起きるかどうかが検討した³²⁾。その結果、被験者によりコラーゲンの分解程度 (1~47%) は大きく異なっていたが、これは各被験者におけるタンパク分解酵素の活性の違いによると、彼らは考察した。またこのときの未分解 (残留した) のコラーゲンは、わずかし (0.5%) 残っていなかった。これらの結果からも、上述のコラーゲンの分解はかなり速く起こり、細菌や宿主由来のプロテアーゼの寄与率が大きいと、彼らは考察した。

Buzalaf らは、MMPs や cysteine cathepsins など、象牙質と唾液中に含まれる潜在性のコラーゲン分解酵素の活性を抑制することで、効果的な脱灰の抑制と再石灰化の促進が達成され、新しい象牙質う蝕の予防の道および充填物の長期耐久性の道が拓かれると、将来の研究の進展を期待している³³⁾。

それでは、コラーゲンの分解を抑制すると、脱灰は抑制されるのであろうか。Kleter らは、「A: 脱灰のみ方法」と「B: 脱灰とコラーゲン分解を交互に繰り返す方法」を用いて、様々なタイプの象牙質脱灰病変 (う蝕性の初期う蝕, 表層下脱灰状, 進行したエロージョン) を作成した。そして A と B で脱灰の進行程度を比較した。その結果、

いずれの病変でも B の方法を用いた場合、脱灰がより進行した^{34,35)}。

筆者らも、同様な検討を行った。すなわち試験群として1日のうち「6時間の脱灰と16時間のコラーゲン分解」を行い、これを3日間繰り返した。比較群として「6時間の脱灰のみ」を行い、残り16時間はコラーゲン分解を行わず、これを3日間繰り返した。その後、脱灰深さ (μm) と脱灰量 ($\text{vol}\% \cdot \mu\text{m}$) の比較を行った³⁵⁾。その結果、「脱灰と

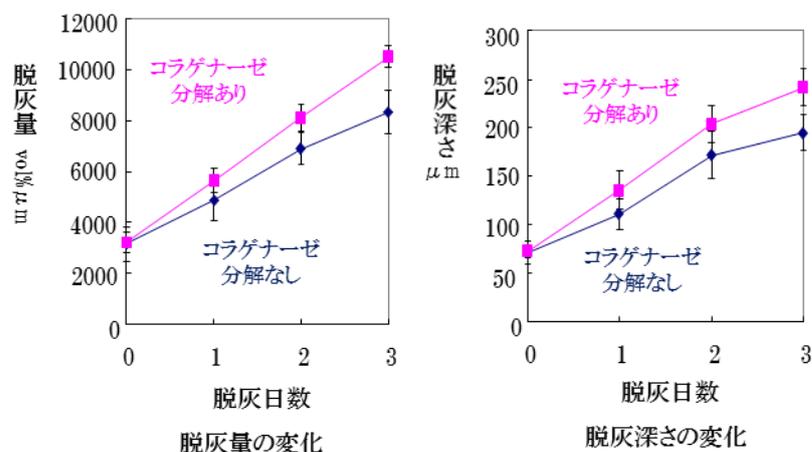


図14 コラーゲン分解が脱灰の進行に及ぼす影響

コラーゲン分解を交互に繰り返す」ことにより、「脱灰のみ」と比べて脱灰量および脱灰深さが大きくなることを確認した (図 14)。

それではコラーゲンの分解を抑制すると、なぜ脱灰が抑制されるか。以下のように推察される。分解されないで残ったコラーゲン層のため、プラークで産生された酸が病変の内部に拡散する速度が抑制され、脱灰が抑制される。また病変内部で溶解したミネラルイオンは、そのコラーゲン層のため外部への拡散が抑制され、脱灰が抑制される。すなわちこのコラーゲン層は、一種の「拡散バリアー」として機能していると考えられる。

根面う蝕の特徴の1つとして、患部が褐色に見えることである。これはメイラード反応 (Maillard reaction) による変化である。メイラード反応とは、タンパク質と糖の化学反応である。コラーゲンはタンパク質の一種であることから、飲食物に含まれる糖類あるいはその代謝物とコラーゲンとの間でメイラード反応が起こる。これは、コラーゲン分子と糖分子との間で架橋構造が形成される反応である。メイラード反応により、タンパク質 (この場合はコラーゲン) は、その反応の程度に応じて淡い褐色から濃い褐色を呈する。これが根面う蝕や象牙質う蝕にて、褐色を呈する原因である。興味あることに、メイラード反応を受けたコラーゲンは、コラゲナーゼや MMPs などによる酵素分解の抵抗性を獲得する。このことは、褐色を呈したコラーゲンはう蝕の進行に関して、一種の自然防御機構を備えているとも考えられる。これに関連して Boonstra らは、酸脱灰された象牙質をグルタルアルデヒドで処理すると、脱灰抵抗性が発現したと報告した³⁶⁾。これも架橋構造が形成されるからである。筆者らも、脱灰した象牙質にピロクトン・オラミン (PO) で処置すると、細菌由来のコラゲナーゼによるコラーゲン分解が抑制されること、同時に脱灰が抑制されることを見出した³⁵⁾。この場合、PO がコラーゲン分子と結合し、コラゲナーゼの攻撃からコラーゲンを保護しているか、または PO がコラゲナーゼと結合し、その分解活性を抑制しているか、あるいはその両方が考えられる。

このコラーゲン分解の抵抗性に関して Xu らは、殺菌作用のないテトラサイクリン系化合物である CMT-3 という化合物 (Chemically Modified Tetracycline: MMPs によるコラーゲン分解を強く抑制する物質) をラットに塗布し、う蝕の発症率に及ぼす影響を検討した³⁷⁾。その結果、エナメル質う蝕と象牙質う蝕を合算した場合、塗布群ではう蝕となった歯面の割合は 75.0%、非塗布群では 83.5%であった (有意差なし)。しかし象牙質う蝕だけに限って評価した結果、塗布群では 33.3%であったのに対し、非塗布群では 70.8%であった (有意差あり)。このことから、CMT-3 は、エナメル質う蝕の発症抑制には無効であるが、象牙質う蝕の進行抑制には有効であることが示唆された。また Sulkala らは CMT-3 に加えて、同様な作用を有する化合物 (zoledronate) についても同様な動物実験を行い、いずれの化合物も象牙質う蝕 (う蝕となった歯面の面積) が約半数に抑制されたと報告した³⁸⁾。この結果から、コラーゲン分解を抑制すれば、根面う蝕を予防できる可能性のあることが示唆された。またフッ化物との併用で、より高い予防効果が得られる可能性が考えられる。

それではコラーゲンの分解は、それ以後の再石灰化の進行にどのような影響を及ぼすのであろうか。Klont らは、表層のない象牙質病変と表層のある病変を作成し、次いで細菌由来のコラゲナーゼでこれら病変を処置し、その後、再石灰化させた³⁹⁾。その結果、コラーゲンを分解しても再石灰化の進行には影響がないことが示された。この結果は、象牙質での再石灰化においては、コラーゲンそのものが核となって再石灰化が進行するのではなく、脱灰で残ったアパタイトの核が成長することで進行することを物語っ

ている。この考察は、筆者らが本章の図 13 で示した結果に関する考察と同様である。

さてここで初期根面う蝕の進行停止（あるいは再石灰化）について、Nyvad らが行った見事な *in-situ* 研究結果を紹介する⁴⁰。彼らは象牙質試料を口腔内に3ヶ月装着し、そのあいだプラーク除去を行わないで、初期う蝕病変を作成した。次の3ヶ月間は、まず最初に2% NaFを2分間、その1.5ヶ月後にもう1回病変に塗布した。またこの3ヶ月の間、1100 ppmのF歯磨剤を1日1回使用した。そ

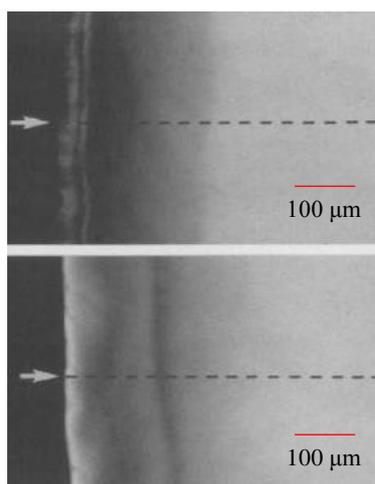


図 15 Fによる初期根面う蝕の進行停止
上：再石灰化前の TMR 画像
下：Fの使用による再石灰化後の画像

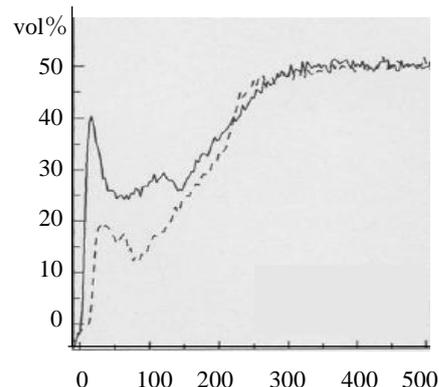


図 16 Fの使用による初期根面う蝕の進行停止（再石灰化の進展）

の後、試料を取り出し、TMR解析を行い、病変内部のミネラル密度（vol%）や脱灰程度を評価した。その結果、図 15 に示すように最初の3ヶ月のあいだに、やや不明瞭であるが表層のある初期う蝕が形成された（上図）、その後の3ヶ月のあいだのF処置によって、プラーク除去を行わなかったにもかかわらず明瞭な表層が形成された（下図）。これらのTMR画像のミネラル密度分布を図 16 に示した（最初の3ヶ月は点線、その後の3ヶ月は実線）。その後の3ヶ月では表層のミネラル密度は約2倍に上昇し、病変内部でもミネラルの沈着が顕著であった。

第14章：唾液タンパク質（リン・タンパク質）と再石灰化現象

上述したように、唾液やプラーク液はHAに関して過飽和であり、Fが存在すればFAに関して過飽和となり、これが再石灰化の原動力となる。それでは、なぜ健全な歯面にHAやFAは沈着しないのか（すなわち歯は大きくならないのか）、あるいはエナメル質に実質欠損のう窩では再石灰化が起きないのか。その理由は、唾液に存在するリン・タンパク質（図 1）がペリクルを形成して、歯面へのHAやFAの沈着を阻止しているからであると筆者は考えている。Kousvelariらは、ペリクルにPRPが存在していることを免疫化学的な分析方法を用いて確認した¹。またそのリン・タンパク質は、過飽和な唾液やプラーク液においてHAの形成を強く抑制する²⁻⁶。

Bennickらは、代表的な唾液リン・タンパク質の一種であるProline-Rich Proteins（PRPs）は、唾液に溶けている Ca^{2+} と結合すること、およびHAの結晶表面に吸着することの両方の作用があることを報告している^{7,8}。そのような唾液の二面性（過飽和であることで再石灰化

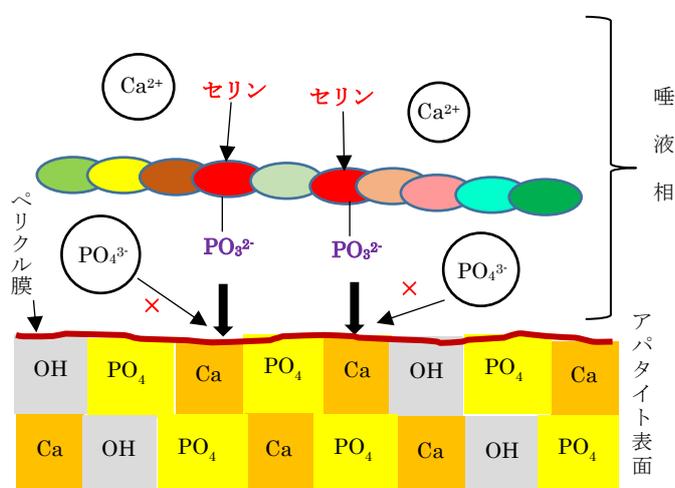


図 1 唾液リン・タンパク質の作用に関する概念図：色付けした丸く繋がったものがアパタイト表面のCaサイトに化学吸着し、これが層状に積みあがり、ペリクル膜を形成。この膜により、セリンに結合している PO_3^{2-} がアパタイト表面のCaサイトに優先的に結合し、HAの成長に必要な PO_4^{3-} の結合を妨害する（×で表示）。

が可能、リン・タンパク質による石灰化沈着の阻止) のため、歯は溶けずに存在でき、また歯表面での余計な石灰化沈着を阻止して正常な咬合機能が維持される。以下にその根拠となる基礎研究を紹介する。

まず唾液リン・タンパク質が、過飽和な石灰化液において HA 結晶の成長を抑制する作用やメカニズムについて解説する。その前に唾液リン・タンパク質の分子の特徴を述べる (図 1)。この分子は、数 10 から数 100 個の種々のアミノ酸から構成される。そのアミノ酸の一種としてその分子にセリン

($\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$) が複数含まれている。セリンは、その OH 基と正リン酸 (H_3PO_4 ; $\text{OP}(\text{OH})_3$) の OH 基とのあいだで、脱水反応を起こし、リン酸エステル結合を形成する (図 2)。このエ

ステル性のリン酸基は、生理的 pH では R-O-PO_3^{2-} のように 2 価の陰イオンとして唾液に存在している (R はセリンの一部とその他のアミノ酸の側鎖)。このリン酸基が歯質アパタイト表面の Ca サイトに静電的に強く吸着する (図 1)。ちなみにこの唾液リン・タンパク質が吸着し、その後、唾液に

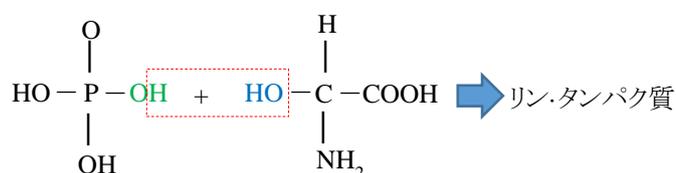


図 2 脱水反応によるエステルの形成とリン・タンパク質の形成

含まれるタンパク質や高分子が、この吸着表面に積層する。この薄膜がペリクル^{1,9-11)}と呼ばれる。

本来であれば、図 1 に示したように唾液中のリン酸イオン (PO_4^{3-}) が Ca サイトに、また Ca^{2+} がリン酸サイト (PO_4) に結合してアパタイト結晶の成長が起きる。ところがアパタイト表面の Ca サイトに吸着したリン・タンパク質は、リン酸イオンが Ca サイトに結合するのを強く抑制 (妨害) する。その結果、アパタイト結晶の成長は、このリン・タンパク質の吸着程度 (“被覆率”: 後述する) に応じて抑制される。このようなリン・タンパク質は幾つか知られており、PRPs^{2,4)}以外に Statherin^{12,13)}あるいは cystatins¹²⁾などが詳しく研究されている。このうち Statherin は過飽和の石灰化液 (リン酸イオンと Ca^{2+} から成る溶液) から、リン酸カルシウムの自発的沈殿形成を抑制する作用も認められている^{5,6,14)}。なおこれら PRPs や Statherin の分子構造、あるいは石灰化抑制で起きる化学構造の変化、さらにはこれらリン・タンパク質から成るペリクルへの口腔細菌の付着など¹⁵⁾、優れた論文や総説が多数あるので、それらを参照して欲しい¹⁴⁻²⁰⁾。

Moreno や Hay らは、唾液から PRPs と Statherin を分離し、これらを用いて HA 結晶成長の抑制作用を研究した^{2-4,21)}。その実験法は、図 3 に示したように比較的簡単な装置である。容器に人工唾液 (石灰化液) を入れ、恒温とした後、一定量の HA 粉末 (図では黒点) を投入して攪拌する。このとき、石灰化液の組成の変化 (pH, Ca/リン酸イオン濃度: これらをパラメータとする) を経時的にモニターする。

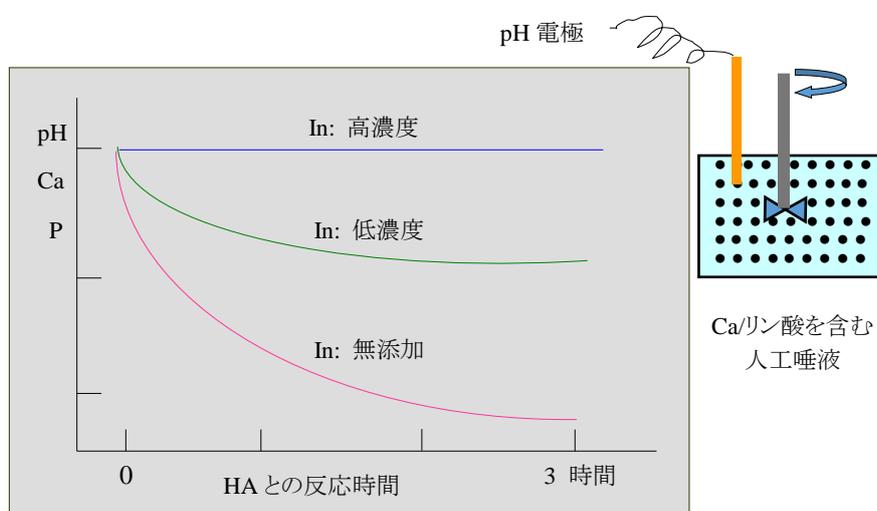


図 3 アパタイトの結晶成長に及ぼすリン・タンパク質 (In: Inhibitor) の影響

リン・タンパク質（図3では Inhibitor : In と表示）を石灰化液に添加していない場合は、パラメータに大きな変化が見られる。Inhibitor 濃度が低い場合、パラメータの変化は顕著に減少する。高濃度の場合、パラメータの変化はほとんど見られない。これは以下に示す 1) 式の化学反応が起きているからである。



前述したように、pH 中性領域の石灰化液に溶けている Ca^{2+} と HPO_4^{2-} および水分子（HOH）由来の OH から HA が形成される。このとき、 HPO_4^{2-} と H_2O から H^+ が生成され、石灰化液の pH が低下することに注目して欲しい。ちなみに、この式の反対方向の反応は、酸（ H^+ ）と塩基（HA）による中和反応、すなわち脱灰反応であることにも注目して欲しい。

図4に PRPs の一種である PRP-3 というリン・タンパク質が、HA の結晶成長に及ぼす影響を検討した結果を示した²²⁾。このときのパラメータはリン酸イオン（P）濃度である。リン・タンパク質の濃度が高くなると P 濃度の低下は顕著に抑制されることが分かる（図4a）。次にリン・タンパク質の濃度が最大するとき（299 nM）、すなわち HA の結晶成長がほぼ完全に抑制されたとき、1 ppm の F を添加すると石灰化が進行した（図4b の破線）。この現象は、以下のように説明できる。この場合の HA は、粉末の微小な結晶の凝集体であり、その全 HA 表面には溶液に溶解しているリン・タンパク質の分子数と比較して、無数の数の Ca サイトが存在している。またリン・タンパク質は高分子であり、そのため Ca サイトに吸着するには一定の”立体障害”が生じる。その結果、リン・タンパク質は全ての Ca サイトには吸着することができず、未吸着サイトが残る。一方、1 ppm F を含む石灰化液はフルオロアパタイト（FA）に関して高度の過飽和状態となり、リン・タンパク質が未吸着の Ca サイトにて FA の結晶が成長し始める（一体化する）。このとき下式 2) の反応式に従ってパラメータ（P, Ca, pH）の変化が起きる。このように、元



の結晶の表面に新しい結晶（FA）が形成・成長して一体化する。前述したように、この現象を Epitaxy と呼ぶ。他の例として、HA の表面に DCPD や OCP などのリン酸カルシウムの形成が知られている。

このように唾液リン・タンパク質は、基本的には石灰化を強く抑制する。しかしここで疑問が生じる、それではなぜ初期う蝕は再石灰化できるのか。そのメカニズムを図5のモデルで説明する。唾液やプラーク液には過飽和な状態

でミネラルイオンが溶存している。またリン・タンパク質は、唾液やプラーク液に溶存し、また初期う蝕のエナメル質表面にペリクルとして吸着している。初期う蝕の表層（数 10 μm の厚さ）には、脱灰によって形成された μm 以下の無数の小さな”管”（channel）が内部の脱灰病変につながって

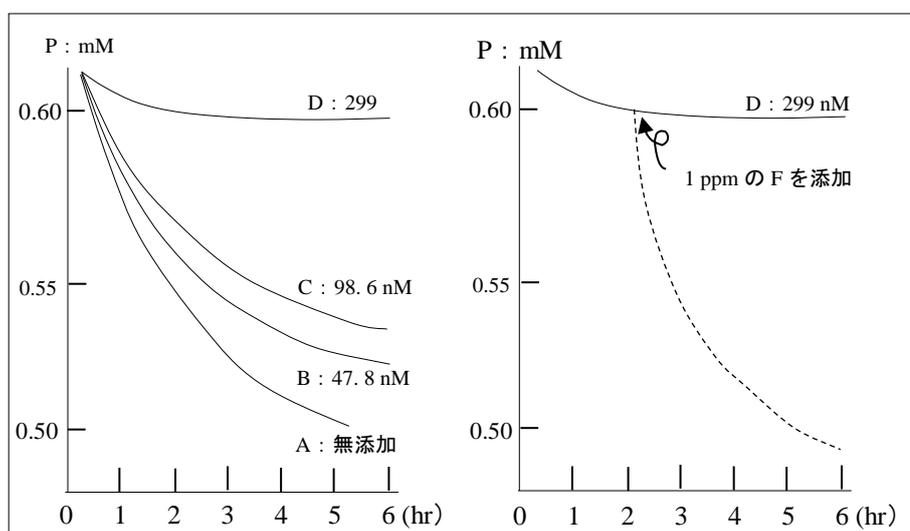


図4a HA 結晶成長に及ぼす PRP-3 の影響

図4b PRP-3 の抑制作用に及ぼす F の影響

る。この”管”の直径は、ミネラルイオンが通過するには十分大きいですが、リン・タンパク質が通過するには小さすぎる。そのためミネラルイオンだけが病変内部に浸透できる。その結果、リン・タンパク質の影響を受けることなく、病変内部では過飽和な状態が維持できる。それにより脱灰で小さくなったアパタイトは

大きく成長できる²³⁾。すなわちこのメカニズムのため、表層を有する初期う蝕のみが再石灰化可能となる。表層のない窩ではペリクルで被覆されているため、再石灰化は起きない。

それではエナメル質初期う蝕が表層を残す限り、再石灰化が期待できるのであろうか。筆者は必ずしも期待できると限らないと考えている。その理由は、以下のように推察される。すなわち前述の”管”の直径は、脱灰の進行が継続した場合、大きくなる。その結果、リン・タンパク質の分子サイズより大きくなれば病変内部に侵入して、再石灰化（結晶成長）の促進を妨害するからである。従って、エナメル質初期う蝕の再石灰化を期待するには、早期発見と適切な再石灰化措置（プラークコントロールやフッ化物の積極的利用）を行い、その経過を注意深く観察する必要がある。

病変内部のタンパク質の存在に関して、Robinsonらはエナメル質初期う蝕（サンプル）の病変内部に吸着しているタンパク質が、 Ca^{2+} の取り込み（すなわち再石灰化の進行）にどのような影響を及ぼすか検討した²⁴⁾。初期う蝕を有する抜去歯を2分割し、一方を次亜塩素酸ナトリウム（ NaOCl ）で漂白処置し（タンパク性物質の分解と除去）、もう一方を未処置（コン

トロール）とした。次いで、放射性 Ca^{2+} を含む溶液に浸漬し、取り込まれた放射性 Ca^{2+} を測定した。その結果、 NaOCl で処置すると、エナメル質表層から内層にわたって放射性 Ca^{2+} の取り込み量の増加が認められた（図6）。このことから、病変内部に存在するタンパク質は再石灰化の進行に関して抑制的に作用していることが推察される。その後、彼らはこのタンパク質がアルブミンおよびアミラーゼではないかと考え、同タンパク質の抗体を用いてその同定を試みた。その結果、健全領域と比べてミネラル密度が約10%減少した領域では、これらのタンパク質はわずかにしか認められなかったが、ミネラル密度が10~20%減少した領域では明瞭に認められた^{25,26)}。このうちアルブミンは、アパタイト結晶の成長のを抑制作用に関して、これまで述べてきたリン・タンパク質と比べて小さいながらも、一定の抑制作用を有することが知られている^{27,28)}。一方、アミラーゼにアパタイト結晶の成長を抑制する作用があるのか、筆者が調べた範囲内では不明であった。しかしアミラーゼには、本章で言及しているPRPsや

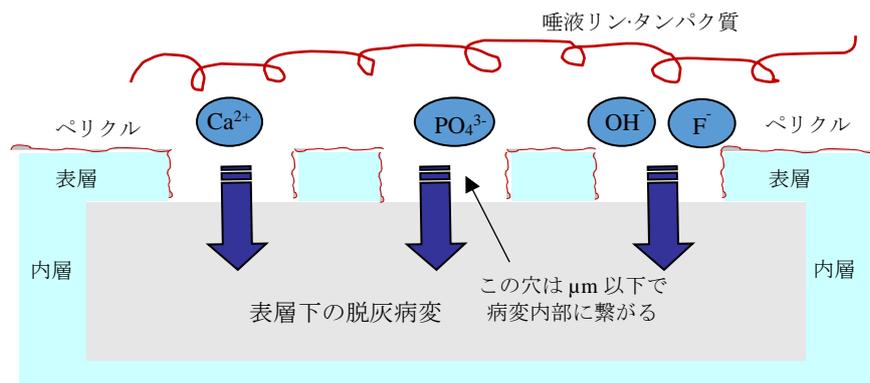


図5 再石灰化現象と唾液リン・タンパク質との関連性

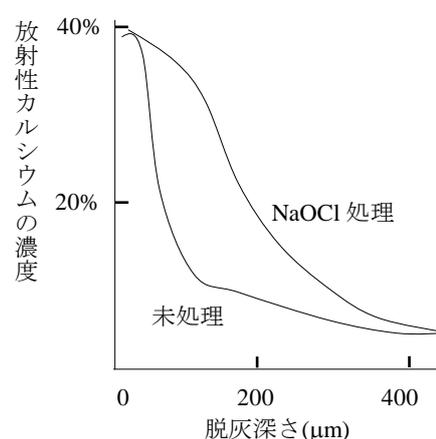


図6 Caの取り込みに及ぼすタンパク性物質の影響

Statherin などのリン・タンパク質より弱い、アパタイトに対して一定の吸着力が確認されていることから²⁹⁾、アパタイト結晶の成長を抑制すると思われる。

下記に、筆者らが検討した、リン・タンパク質が脱灰歯質の再石灰化に及ぼす影響に関する研究成果を3つ紹介する。①エナメル質初期う蝕の再石灰化に及ぼすヒト唾液由来のタンパク質とFの影響、②HAの結晶成長に及ぼすカゼインの影響、③脱灰象牙質の再石灰化に及ぼすカゼインとFの影響。ここで用いたカゼインの分子構造は唾液リン・タンパク質に類似しており、これを唾液リン・タンパク質のモデル物質とした。

①ヒト唾液リン・タンパク質がエナメル質の再石灰化に及ぼす影響²³⁾

ヒトエナメル質に人工的に初期う蝕を形成し、これら試料を4群に分け、以下の4つ異なる再石灰化液に浸漬し、再石灰化させた。①ヒト唾液のミネラルイオン濃度に近い人工唾液（1 mM CaCl₂, 3 mM KHPO₄, 100 mM NaCl, 100 mM 酢酸 Na, pH6.3）にて4週間浸漬 ②この人工唾液に1 ppm F⁻を添加して4週間浸漬 ③ヒト唾液から、リン・タンパク質（図7ではPと略記）を含む高分子のみを抽出し、これを①と同じ組成の人工唾液に添加して4週間浸漬 ④ヒト由来の高分子を含む人工唾液に1 ppm F⁻を添加して4週間浸漬。

4週間の再石灰化の期間中にQLF装置を用いて、再石灰化の進行状況をモニターした（図7）。QLF法による再石灰化率の計算法

は、文献に解説した³⁰⁾。また4週間後にTMR法にて各群の試料における初期う蝕のミネラル密度などを評価した（図8）。

その結果、QLF装置による測定から、以下のことが明らかになった。上記の再石灰化液①と②の比較から、唾液由来の高分子（リン・タンパク質を含む）は、再石灰化の進行を妨害した

（図7の左）。再石灰化液③と④の比較からFが存在している場合、唾液由来の高分子が含まれていないと、再石灰化の進行は10日前後のかなりの初期段階で停止した。しかし唾液由来の高分子が含まれていると、再石灰化の進行は4週間を通して継続した（図7の右）。

TMR画像の結果からは、再石灰化液①と②の比較から、QLF法の場合と同様、唾液由来の高分子は、再石灰化の進行を妨害した

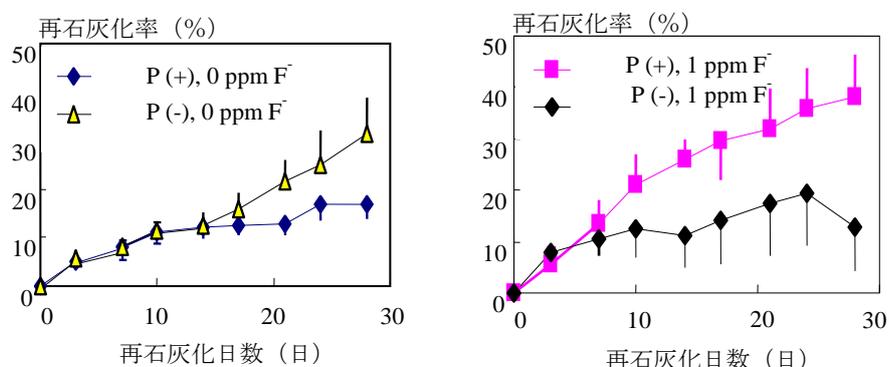


図7 唾液タンパク質 (P) および 1 ppm F⁻がエナメル質初期う蝕の再石灰化の進行に及ぼす影響 (QLF 法による評価)

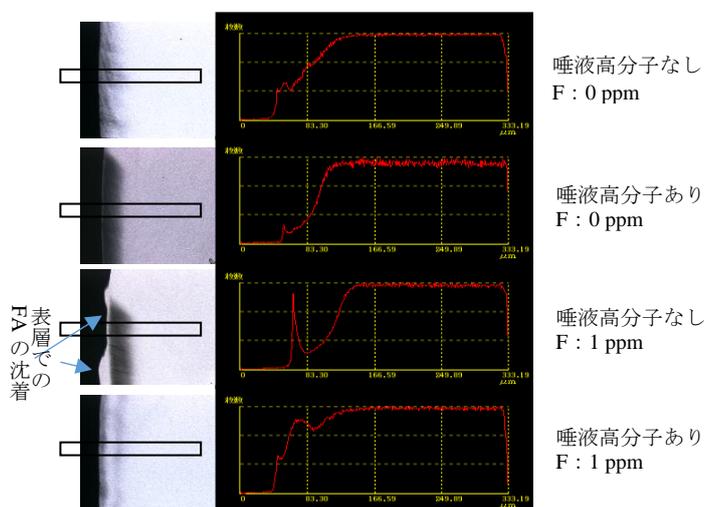


図8 再石灰化に及ぼすヒト唾液タンパク質の影響 (TMR 画像)

(図8の上から2つの比較)。再石灰化液③と④の比較からFが存在している場合、高密度の石灰化物(恐らくFA)の沈着層の形成を認めた(図8の上から3つ目)。またその下層部の初期う蝕病変がほとんど再石灰化されないまま残っていることも認められた。それに対し再石灰化液④では、そのような沈着層の形成は認められず、病変内部まで再石灰化が進行していることが確認された(図8の上から4つ目)。

それではFが十分存在しているにもかかわらず、唾液リン・タンパク質が添加されていないと、なぜ再石灰化は進行しないか。図8の上から3つ目のTMR画像とそのミネラル密度のプロファイルにて示されているように、高密度の石灰化物の沈着層が病変内部の再石灰化に先行して形成されたためと考えられる。すなわち、図5で示したように病変内部につながる微細な管(channel)がこの沈着物の層によって封鎖され、再石灰化に必要なミネラルイオンとFが病変内部に浸透できなくなったことによると推察される。

それに対し、唾液リン・タンパク質が存在し、かつFが十分存在していると、表層での高密度の石灰化物の沈着層の形成が抑制され(channelの温存)、Fによる再石灰化促進作用が十分発揮されたと推察される。この4つの群のうち、実際の口腔に近い条件は唾液リン・タンパク質を含む④群である。もしこのようなリン・タンパク質が唾液中に含まれていなかったら、たとえフッ化物を使用しても実質的な再石灰化は期待できないと考えられる。

またインビトロ研究にて、このようなリン・タンパク質を含まない人工唾液で再石灰化の研究をした報告を多く見かける。そのような場合、フッ化物は再石灰化の進行を抑制するという結論を招きかねない。さらに①群と②群の比較から、唾液リン・タンパク質そのものは再石灰化の進行を抑制する作用があることから、インビトロ研究にて再石灰化を促進したとする報告も、このようなリン・タンパク質による再石灰化の抑制作用を勘案して評価する必要がある。

このリン・タンパク質に関連してZahradnikは、エナメル質初期う蝕の再石灰化に及ぼすペリクルの影響を検討した³¹⁾。彼は、人工的に作製した初期う蝕試料を一定時間(1日~7日間)、ヒト唾液に浸漬してペリクルを形成した。その後、人工唾液に試料を10日のあいだ浸漬し、TMR法による再石灰化の進行状況とエナメル質表面への石灰化物の沈着状況を観察した。その結果、ヒト唾液に浸漬する時間が長いほど、再石灰化の進行は遅れたが、初期う蝕の内層での再石灰化は確認された。また同時にペリクル膜の形成は、エナメル質表面での石灰化物の沈着を抑制した。これらの結果は、図7と8で示した結果と一致する。再石灰化の進行が遅れた要因として彼は、唾液への浸漬時間が長いほど、ペリクル膜の形成が進み(筆者の考えでは、ペリクル膜の厚みや緻密度の増加など)、その結果、脱灰病変の内部に浸透するミネラルイオンの拡散速度がペリクル膜によって抑制されると推察した。

このように唾液リン・タンパク質あるいはペリクルは、初期う蝕の再石灰化の進行に大きな影響を及ぼすことが示されたが、そのメカニズムは歯石沈着にも関連すると推察される。唾液リン・タンパク質あるいはペリクルに関連して筆者は、以下のような素朴な疑問を抱いている。

- 1) 唾液リン・タンパク質あるいはペリクルは、歯石形成のメカニズムとどのような関係にあるのか。
 - 2) フッ化物の利用は、なぜ歯石沈着を促進しないのか。
 - 3) 欧米で市販されている「フッ化物と歯石抑制剤が配合された歯磨剤」について、フッ化物によるう蝕予防(再石灰化の進行)と歯石形成の抑制(石灰化の抑制)とが、なぜ臨床的に両立するのか。
- これらの疑問について、筆者が執筆した「歯石? もう一度見直してみよう、この不思議」を参照された

い。

②ヒト唾液リン・タンパク質と類似な分子構造を有するカゼインが石灰化に及ぼす影響³²⁾

再石灰化に関する研究を行うとき、いつもヒト唾液あるいはそこから抽出したリン・タンパク質を使用することは、下記のような非常に大きな問題を伴う。①ヒト唾液は、細菌など微生物類を多く含むため短時間で腐敗・変性し、唾液リン・タンパク質の性状が大きく変化する。②重炭酸イオン (HCO_3^-) が脱炭酸という分解を起こして OH^-

を生成し、唾液の pH がアルカリ性に变化する。③唾液の組成は個人差や個人内でも日間変動があり、一定の組成の唾液の確保は困難である。④唾液を多量に集め、リン・タンパク質を精製・抽出することも多大な時間を用する。このような理由から、再現性のある実験結果が得られにくい。そこで

それに代わる物質として筆者らは、牛乳由来のカゼインに着目した。このカゼ

インは、比較的安価で試薬として一定の品質のものが得られ、実験結果の再現性の確保として適切と考えられる。図9にカゼインの分子構造のモデルを示した。

表1に示したように、カゼインにはタイプの異なる分子 (α_{s1} , α_{s2} , β , κ) が知られているが、今回実験で用いたタイプは α_{s1} と β の混合物である。唾液に含まれる濃度は、

Statherin では 16 - 147 mg/L, PRPs では 0 - 80 mg/L である。PRPs は、全唾液タンパク質の約 28% を占める⁷⁾。筆者らは、まずカゼイン濃度と石灰化抑制作用との関連性を検討した。 Ca^{2+} とリン酸イオンを含む石灰化液 (HA に関して過飽和液, pH7.2) に、異なる濃度のカゼイン (0 - 100 ppm または 0 - 100 mg/L) を加え、これに HA 粉末を加えた。37°C の定温にて攪拌し、2 時間ごとに石灰化液を採取し、HA 粉末を濾過除去し、Ca 濃度の変化を 8 時間後までモニターした。またリン酸基をほとんど含まない脱リン・カゼイン (DC: 100 ppm) についても検討し、リン酸基の影響を調べた。その結果、カゼイン濃度が高くなるに伴い、石灰化液中の Ca 濃度の低下は抑制され

表1 カゼインと Statherin あるいは PRP の比較

タンパク質	Statherin	Proline-rich Proteins (PRPs)	カゼイン (α_{s1} , α_{s2} , β)
分子量	5.38 kDa	36.8 kDa	19-25 kDa
等電点 pH	4.2	4.7	4.1 - 4.5
アミノ酸の数	43	150	169 - 209
セリン結合性のリン酸基数	2	2	α_{s1} : 8 - 9, α_{s2} : 10-13, β : 5
セリン結合性リン酸基の部位	N-末端(2と3)	N-末端(8と22)	分子全体に分布
無刺激唾液中の濃度	16 - 147 mg / L	0 - 80 mg / L	-----

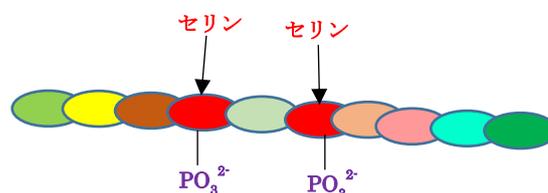


図9 カゼイン分子の概念図
アミド結合したアミノ酸のうち、セリンの水酸基(OH)が無機リン酸イオンがエステル結合した様子

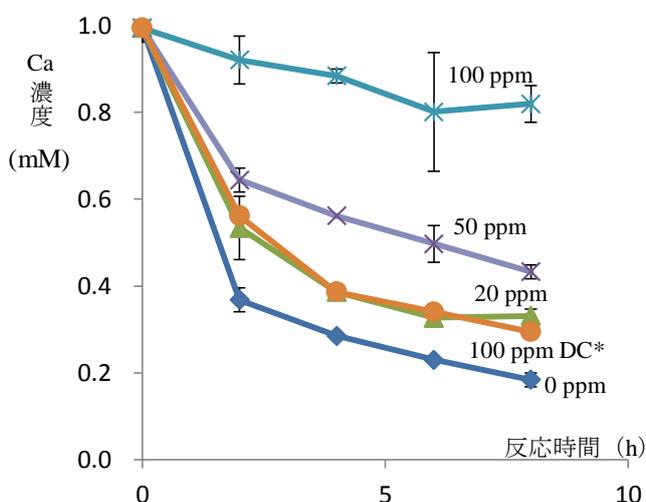


図10 アパタイト結晶の成長に及ぼすカゼインの抑制作用 (上の図の DC* は、脱リン酸したカゼインを意味する)

た (図 10)。すなわち HA の結晶成長を有意に抑制する作用が認められた。また 100 ppm の脱リン・カゼインは、20 ppm のカゼインの抑制活性と同レベルであった。

上述したように、リン・タンパク質は HA 表面の Ca サイトに吸着することが知られている¹⁹⁾。従って脱リン酸したカゼインが、HA の結晶成長の抑制活性が低下したことは、これらの報告と一致する。Hayらは、脱リン酸したリン・タンパク質では約 10 倍の吸着力の低下および約 100 倍の石灰化抑制活性の低下が起きたと報告している¹⁹⁾。若干の抑制活性が残っていたのは、カゼイン分子に存在するカルボキシル基によると推察される。Van Kemenade らも、種類の異なるカゼイン (κ , β , α_{s1}) に、石灰化物の生成を抑制する作用のあることを報告している³³⁾。

次に下記の式 1) で表される Langmuir の等温吸着モデルを用いて、HA の表面へのカゼインの吸着特性

$$\text{式 1) } C/Q = 1/NK + C/N$$

を評価した。このモデルでは、カゼイン分子が HA の表面に単分子の膜として吸着することを想定している。ここで Q は単位面積あたりの HA 表面に吸着したカゼインの量 ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)、 C は吸着反応が完了した (平衡に達した) ときのカゼイン濃度 (nmol/L)、 K は HA への吸着定数 (意味としては吸着力; $\text{ml}/\mu\text{mol}$)、 N は単位面積あたり HA 表面に吸着した最大モル数 (意味としては被覆率に相当; $\mu\text{mol}/\text{m}^2$) である。

実験は、37°C の一定温度にて以下のように行った。種々の初期濃度 (C_0 : nmol/mL) のカゼイン溶液 (体積 V mL) を調製し、この溶液に、比表面積 (SSA : m^2/g) が既知の HA (g) を一定量投入してよく攪拌し、HA 表面への吸着反応が平衡に達するまで一定時間 (約 20 時間) 待つ。その後、HA 粉末を除くため反応液を濾過し、特定波長にてカゼイン濃度 (C) を測定する。このとき、HA に吸着したカゼイン量 (Q) は下記の式 2) を用いて求まる。次いで各カゼイン濃度 (C) を x 軸として、それに対応する Q の量の商 (C/Q)

$$\text{式 2) } Q = [(C_0 - C) \times V] \div [g \times SSA]$$

の値を y 軸としたグラフを作成する (図 11)。このグラフは、上記の式 1) より直線となる。この直線において、y 軸の切片の値 ($1/NK$) とグラフの傾き ($1/N$) を測定値として読み取る。1/N から N の値が得られる。1/NK に N の値を代入して K の値が得られる。

カゼインの場合、 K は $17.2 \times 10^3 \text{ mL}/\mu\text{mol}$ 、 N は $0.029 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ であった。ちなみに Aoba らは PRPs のうち PRP1 の K の値は $14.7 \times 10^3 \sim 26.2 \times 10^3 \text{ ml}/\mu\text{mol}$ と報告している³⁴⁾。今回のカゼインの値は、この範囲とよく一致している。同様に Moreno らは、 K の値として $18.1 \times 10^3 \sim 26.7 \times 10^3 \text{ ml}/\mu\text{mol}$ と報告している³⁵⁾。

このように HA 表面への吸着特性に関して、カゼインと PRP に高い類似性が認められたことから、筆者らはインビトロの基礎研究にて、唾液由来のリン・タンパク質の代わりにカゼインが使用できるのではないかと考えている。

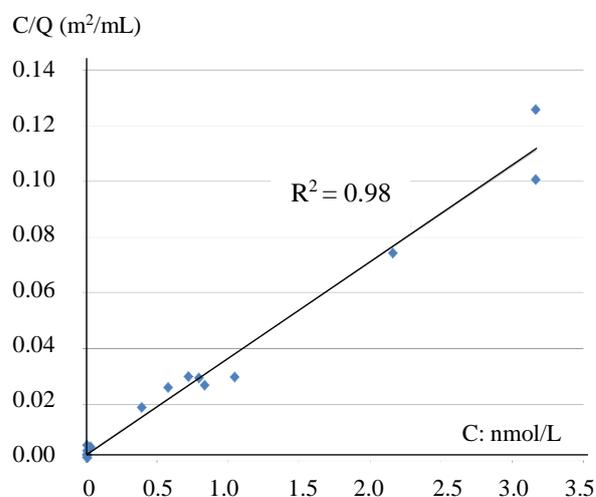


図 11 Langmuir adsorption isotherms

③ カゼインが脱灰象牙質の再石灰化に及ぼす影響³⁶⁾

さらに筆者らは、(再)石灰化沈着に及ぼすカゼインの影響を検討した。Ca²⁺とリン酸イオンおよびカゼイン (最大 100 ppm 配合) を含む人工唾液 (試験石灰化液) を調整し、比較石灰化液としてカゼインを除いた人工唾液を調製し、これに表面研磨したエナメル質および象牙質を浸漬した。1 週間の浸漬後、エナメル質および象牙質の表面を電顕 (SEM) にて観察した。その結果、比較石灰化液では、歯面が HA 結晶 (結晶の形態から判断) で完全に覆われていた。一方、試験石灰化液では結晶の沈着は全く観察されなかった (図 12)。象牙質でも同様な結果が得られた。

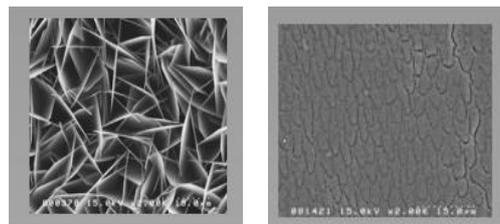


図 12 石灰化後の SEM 画像
左:カゼインなし ⇒ 石灰化物の沈着
右:カゼインあり ⇒ 沈着物は見られない
(エナメル質小柱が見られる)

最後に、筆者らは脱灰された象牙質 (初期根面う蝕のモデル) の再石灰化に及ぼすカゼインと F の影響について検討した。牛象牙質から約 240 μm 厚さの切片を作成し、象牙質表面を残し切片断面を耐水性の膜で被覆した。次いで一定の条件下で脱灰し、これを試料とした。

その後、TMR 法にて脱灰程度 (ΔZ : vol%·μm) を測定し、試料の脱灰程度の平均値が同一レベル (ΔZ は約 4800 vol%·μm) になるように 6 群に分けた。これを、異なる濃度のカゼイン (0, 10, 100 ppm) と F (0, 1 ppm) を含む 6 種類の再石灰化液に 4 週間浸漬して、再石灰化の進行を同一試料についてモニターした (Single Thin Section 法)。その結果、群によってかなり異なる再石灰化の進行程度が観察された (図 13; Cas はカゼイン)。主な結果は、以下のものであった。①大きく見て、Fが含まれていない群より、含まれている群において再石灰化の進行程度は高い傾向にあった。

この傾向は当然であろう。②それに対してカゼインの影響は、濃度依存性ではなかった。すなわち予想に反して、カゼイン濃度が 100 ppm の場合、10 ppm の場合と比べて再石灰化の進行程度が高い傾向にあった。あたかもカゼインは、その濃度が高い場合は、再石灰化を促進しているようであった。この知見は、図 10 で示した HA の結晶成長に及ぼすカゼインの作用が濃度依存的であった知見と必ずしも一致しない。現時点ではその理由は明確ではない。③一方、カゼインと F が共存している場合では、最も短期間で再石灰化が進行した群は、D 群 (カゼイン濃度: 10 ppm, F: 1 ppm) であった。

この結果に対する説明は、前述のカゼイン単独での結果と一致していない。しかしながら、カゼインは図 14 で示したように再石灰化後において、脱灰表面での過剰な石灰化物 (たぶん FA) の形成を抑制しつつ

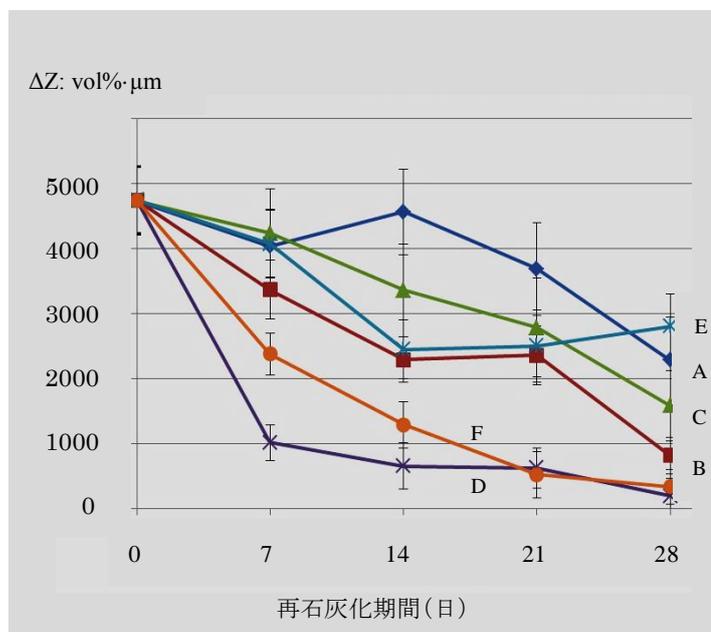
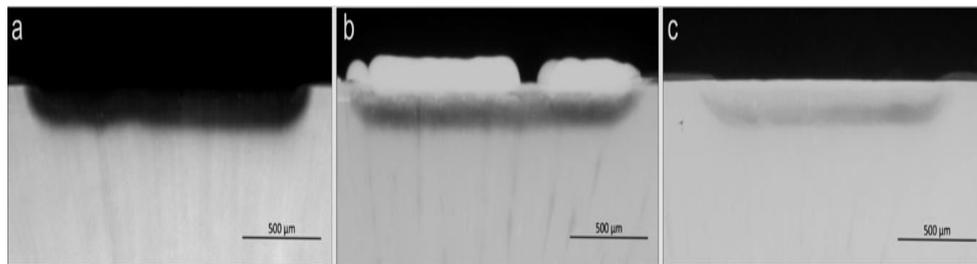


図 13 脱灰象牙質の再石灰化に及ぼすカゼイン (Cas) と F の影響

A (Cas 0 ppm, F 0 ppm) B (Case 0 ppm, F 1 ppm) C (Cas 10 ppm, F 0 ppm)
D (Cas 10 ppm, F 1 ppm) E (Cas 100ppm, F 0 ppm) F (Cas 100 ppm, F 1 ppm)

も、脱灰病変の内部での再石灰化の進行には妨害作用を及ぼさないことも明らかになった。4週間の再石灰化後の試料のTMR画像の代表例を示した(図14)。同図の左(a)は再石灰化前の画像で、う窩状の脱灰病変が認められる。ただしエナメル質う蝕でのう窩と異なり、(a)では病変内部に微量なアパタイトが残存し、これが再石灰化の基盤になっていると思われる。



再石灰化前
 4週間再石灰化 (1 ppm Fのみを含む)
 4週間再石灰化 (1 ppm Fと 100 ppm カゼインを含む)
 ↓
 FA が表面に沈着 FA の沈着なしで再石灰化が進行

図14 カゼインによる象牙質初期う蝕の再石灰化への影響(TMR画像)

中央の画像(b)では、1 ppm Fのみ(カゼインを含まない再石灰化液)の場合で、エナメル質初期う蝕の場合と同様(図8)、表層に高い密度の石灰化物が認められた。しかしエナメル質の場合と異なり、病変内部でも一定の再石灰化が認められる。その理由は、以下のように推察される。象牙質では象牙細管などが存在するため、エナメル質の場合より、高い密度の隙間構造を有している。またコラーゲン・マトリックスが一定の隙間を温存させる。そのため象牙質表面での高い密度の石灰化物の沈着にもかかわらず、ミネラルイオンが病変内部に浸透できる。左(C)では、100 ppmのカゼインと1 ppm Fを含む場合で、脱灰表面に過剰な石灰化物の形成は全く認めず、病変内部まで再石灰化の進行がほぼ完了した様子が観察された。

今回の結果から、脱灰象牙質の再石灰化の進行に及ぼすカゼインとFの影響は、エナメル質とはかなり異なることが推察された。すなわち多数の象牙細管やコラーゲン・マトリックスによる高い隙間構造および脱灰病変内に残った微結晶のアパタイトによって、エナメル質でのう窩状病変では起きない再石灰化現象が象牙質では起きると考えられる。一方、高い隙間構造のためカゼイン分子も病変内部に侵入できると考えられる。その結果、コラーゲン・マトリックスとカゼインとの相互作用、あるいはカゼインとアパタイト結晶

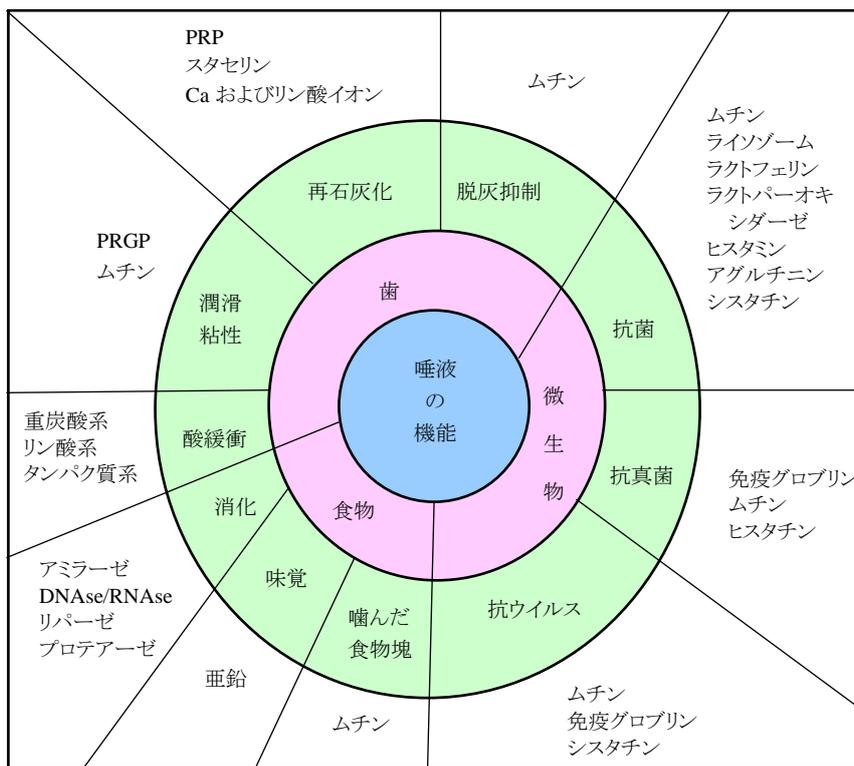


図15 唾液機能に関与する成分

との相互作用など、Fとアパタイト結晶のと直接的な相互作用以外に、多様な相互作用が複雑に関与していることが思われる。

本章を締めるにあたって、多くの研究者が抱いていると思われる唾液の不思議さに関して、筆者も一言感想を述べたい。上述したように、唾液にはHA（歯質ミネラル成分）に関し、過剰のミネラルイオンが溶けている（過飽和）。逆に考えると、過飽和でないとすると、歯質ミネラル成分は時間とともに、溶けて無くなってしまふ。過飽和状態は、歯の溶解を抑制している。一方で、過飽和な状態は、HAが歯の表面に石灰化沈着することを許している、すなわち歯は経時的に大きくなってしまふ。しかしながら、これまでそのような奇妙な現象は報告されていない。それは、本章で解説したように、唾液リン・タンパク質が、過剰な石灰化沈着を抑制する作用を有しているからである。唾液にはこのような巧妙なメカニズムが備わっている。これは、進化の過程で獲得されたものであろうか、驚くべき神秘である。唾液には、再石灰化に関わる要因以外に、多くの機能やそれに関与する成分が含まれている。Van Nieuw Amerongenらは、唾液の機能に関する総説の中で、唾液の機能とその成分を図15に示すように分類した³⁷⁾。「歯」に関しては、再石灰化の項目以外に、脱灰抑制に関与する成分として「ムチン」、潤滑・粘性（歯の磨耗の抑制と口腔粘膜の保護）に関与する成分としても「ムチン」、さらにはプラークで産生された酸や飲食物由来の酸をすみやかに中和する成分として「重炭酸系など」が知られている。これらの機能の他に、多くは微生物の抑制（抗菌、抗真菌、抗ウイルス）に関する成分が知られている。

驚くべきことに、これらの成分は多種多様であり、どうしてこれ程多くの成分が唾液に存在するのか。目的があつてのことか、それとも単なる偶発的なことなのか。合理的な説明は見当たらないが、非常に興味深いことである。

第15章：隠れう蝕（hidden caries）の形成メカニズムと多様な病理所見

隠れう蝕については第6章で言及したが、その形成メカニズムや多様な病変の実態（病理所見）などについては、詳細には解説しなかった。一方、本章と同様な内容は、別に報告している（PART 1: Hidden Cariesを知る）¹⁾。その報告では紙面の制約で隠れう蝕の多様性を示すTMR画像とそれに対応する実態画像の掲載には制限があつた。そこで本章では、これらの画像を幾つか追加した。また隠れう蝕の形成メカニズムについて再度解説し、う蝕（脱灰現象）への理解を深める契機となればと思う。

1) 咬合面での非う窩性の初期う蝕の観察：

筆者らが収集した抜去歯の中から、咬合面にて象牙質にまで至る明瞭なう窩や欠損は認められないが、明らかに脱灰を認める試料（非う窩性の初期う蝕）を選び出し、これらを次亜塩素酸ナトリウムにて漂白した。図1には、漂白する前と後の実態画像を示した（未公開資料）。その結果、着色部位は漂白されて白くなり、漂白前にて疑われた脱灰領域は、見た目より大きく広がっていることが観察された。これは、脱灰によりエナメル質に隙間が多く形成され、その隙間に飲食物など由来の着色物質が沈着したことを示唆している。白く見える理由は、隙間（空気あるいは水）とエ

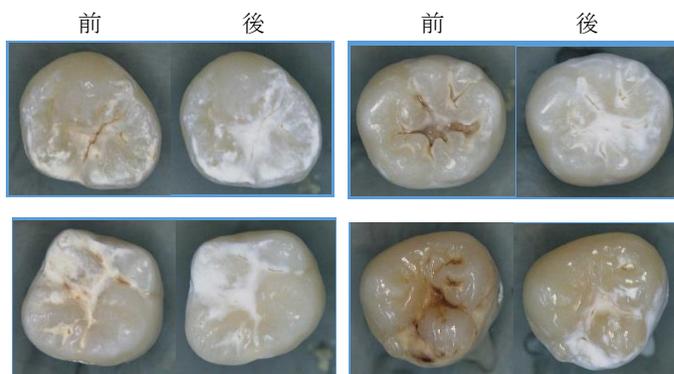


図1 咬合面の非う窩性の初期う蝕の観察：漂白の前後で、脱灰の程度は見た目より広がっていることが分る

ナトリウムなど由来の着色物質が沈着したことを示唆している。白く見える理由は、隙間（空気あるいは水）とエ

ナメル質結晶とのあいだで光の屈折率が異なり、結晶表面で光が乱反射したことによる。ただしこの試料について、エックス線撮影や TMR 画像を取得していないので、脱灰侵襲がどの程度深く達していたかは不明である。

このような非う窩性の初期う蝕に遭遇した場合、いろいろな対応が考えられる。第 1 は、再石灰化すると予想し、非侵襲的処置（フッ化物の塗布やプラーク・コントロール）と注意深いモニタリングに注力する。ただし、これまで述べてきたように必ず再石灰化による改善が起きるとは限らないことに留意して欲しい。第 2 は、たとえレントゲン撮影にて明瞭な病変は見られないが、患者によるプラーク・コントロールが十分期待できなく、非侵襲的処置では侵襲が進行してしまうと予想された場合、CR などで充填する。第 3 は、視認はできないが小さなう窩の形成も考えられ、シーラント処置する。このような非う窩性の初期う蝕の場合、active（活動性）か arrest（停止性；恐らく再石灰化を伴う）、脱灰の広がりや程度、あるいは患者の協力度や好みにより、対応は異なると思われる。非う窩性の初期う蝕をフッ化物などで、active から arrest に改善する効果について systematic review やガイドラインが報告されている^{2,3)}。是非、一読して欲しい。

2) 隠れう蝕の多様性を示す TMR 画像とそれに対応する実態画像：

同様に筆者らが収集した抜去歯の中から、典型的な隠れう蝕（この場合は、象牙質まで侵襲が及んでいるもの）と思われる歯を選び出し、その 1 つの歯から複数の切片（約 120 μm の試料）を作製し、TMR 画像と実態画像を得た。ここでは、その中から幾つかの画像を紹介する（非公開資料）。左が TMR 画像で、右にはそれと対応する実態画像を示した。実態画像では、光の透過性の高いエリアは暗く、低いエリアでは明るく見える。なお実態画像にて、象牙質に広く暗いエリアが見られるが、これは「透明象牙質」と思われる。切片を水に浸して観察したため、水の屈折率と水を含む透明象牙質の屈折率が同等となり、乱反射が起きなくなると暗く見える。TMR 画像では、この暗いエリアでもミネラル密度は全く健全であることに注目して欲しい。

これらの試料に共通することがいくつかある。第 1 は、実態画像で見られる侵襲・変性の程度（ミネラルの損失とコラーゲンの変性）と TMR 画像で観察されるミネラルの損失とのあいだで、大きな不一致が認められることである。すなわち実態画像で見られる侵襲・変性の方が、TMR 画像で見られる侵襲の程度と比べて大きく見える。これをどのように考えたら良いのであろうか。特に注目する点は、ミネラル密度の損失が見られるエリアの周辺に広がった着色エリアである。なぜこのような着色が起きるのか。歯冠象牙質う蝕や根面う蝕で見られる褐色は、主にメイラード反応（Maillard reaction）によるものである^{4,5)}。一般的にこの反応は、砂糖やグルコースなどのような還元糖とアミノ化合物（アミノ酸、ペプチドおよびタンパク質）を加熱したときなどに起きる。特に反応が進行した生成物を AGEs（Advanced Glycation End Products）と呼ぶこともある。象牙質う蝕では、コラーゲンというタンパク質と外来性の砂糖（あるいはその代謝物）などが、長期間にわたって少しずつ体温下で反応することで着色を呈すると考えられる^{4,5)}。この着色（メイラード反応）は、コラーゲンが象牙質ミネラルで覆われているので、非脱灰の健全象牙質コラーゲンでは起きないが、一旦脱灰が起きてコラーゲンが露出してはじめて起きることから、この着色のエリアでは脱灰が起きたことを示唆している。しかしこの褐色エリアの TMR 画像にて、ミネラル密度が健全状態に近いことが見て取れる。この場合、ここで再石灰化が起きたことが考えられる。それとも僅かの脱灰によってコラーゲンが露出しメイラード反応が起きたが、再石灰化は起きていないとも考えられる。ちなみに初期根面う蝕では、濃い褐色エリアではう蝕は停止性で、薄い褐色は進行性と考えられ

ている⁵⁾。

このメイラード反応を受けたコラーゲンは、酵素によるコラーゲン分解に対して抵抗を示すことが知られている⁶⁾。これは、コラーゲン分子と糖またはその代謝物のあいだで架橋構造 (cross-link) が形成されたからである⁶⁾。上述したように濃い褐色エリアでは、う蝕は停止性であるとされている。これはメイラード反応が進んだことでコラーゲンの分解が起きにくくなっているかも知れない。

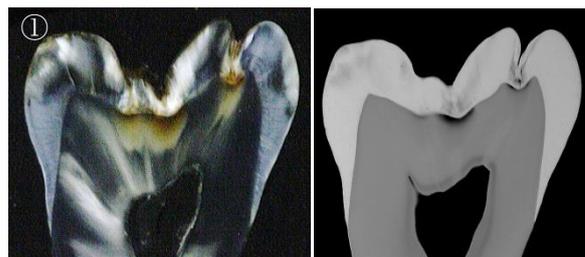
第2は、実態画像においてエナメル質で見られる白いエリアが、TMR 画像では健全に近いミネラル密度を示す場合である。これは、実態画像において白黒のコントラストの程度とミネラル損失の程度とは、必ずしも相関しないことを示している。この不一致は、実態画像のみならず偏向顕微鏡で得た画像でも筆者は経験している。従ってミネラル密度に言及する場合は、必ず TMR で確認することが必要である。

第3は、一見、第2と類似しているように思われるが、全く無関係の現象である。すなわち実態画像においてエナメル質で、強い白色のエリアがしばしば認められる。しかしながら TMR 画像では全くミネラル密度の減少を認めない。これは、いわゆる非脱灰性の白斑であり、脱灰とは無関係である。このような非脱灰性の白斑は、かなりの頻度で認められる (第10章を参照)。

第4は、象牙質の TMR 画像にてミネラル密度は全く正常に見られるが、実態画像では象牙細管の走向に沿って白く見える場合がある (透明象牙質とは逆の見え方)。これは、ミネラル密度に関係しない、何らかの後天的変化 (光の屈折率や乱反射に関係した現象) が象牙細管に起きたことによるか、象牙質の発生の段階で起きた先天的な現象によるものかも知れない。

以下に8個の試料の画像を示す。試料①から③については具体的な特徴を解説するが、それ以外の試料 (④から⑨) についても類似な特徴に注目して観察して欲しい。

資料①: TMR 画像では、エナメル質にある大小2つの裂溝部に中程度の脱灰が認められる。またその直下の EDJ にも脱灰が認められる。しかしこれら2つの裂溝はいずれも進行した侵襲には見えない。それに対応して、実態画像ではエナメル質に明瞭な白いエリアと EDJ 下の濃い褐色、またそのより下部に淡い褐色を呈したエリアが広がっている。侵襲程度は、TMR 画像と比べて、明らかに実態画像にて進行している印象を受ける。また右端のエナメル質に凸レンズ状の白いエリアが認められる。しかし、TMR 画像では脱灰の形跡は全く認められない。この白いエリアは非脱灰性の白斑かも知れない。



資料②: TMR 画像では、中央のエナメル質の裂溝部に強い脱灰が認められる。その裂溝部の直下の EDJ にも強い脱灰が認められる。またエナメル質の表層付近に弱い脱灰を認めるが、これらはいずれも進行した侵襲には見えない。それらに対応した実態画像でもエナメル質に脱灰を示唆する白いエリアと EDJ 直下の象牙質



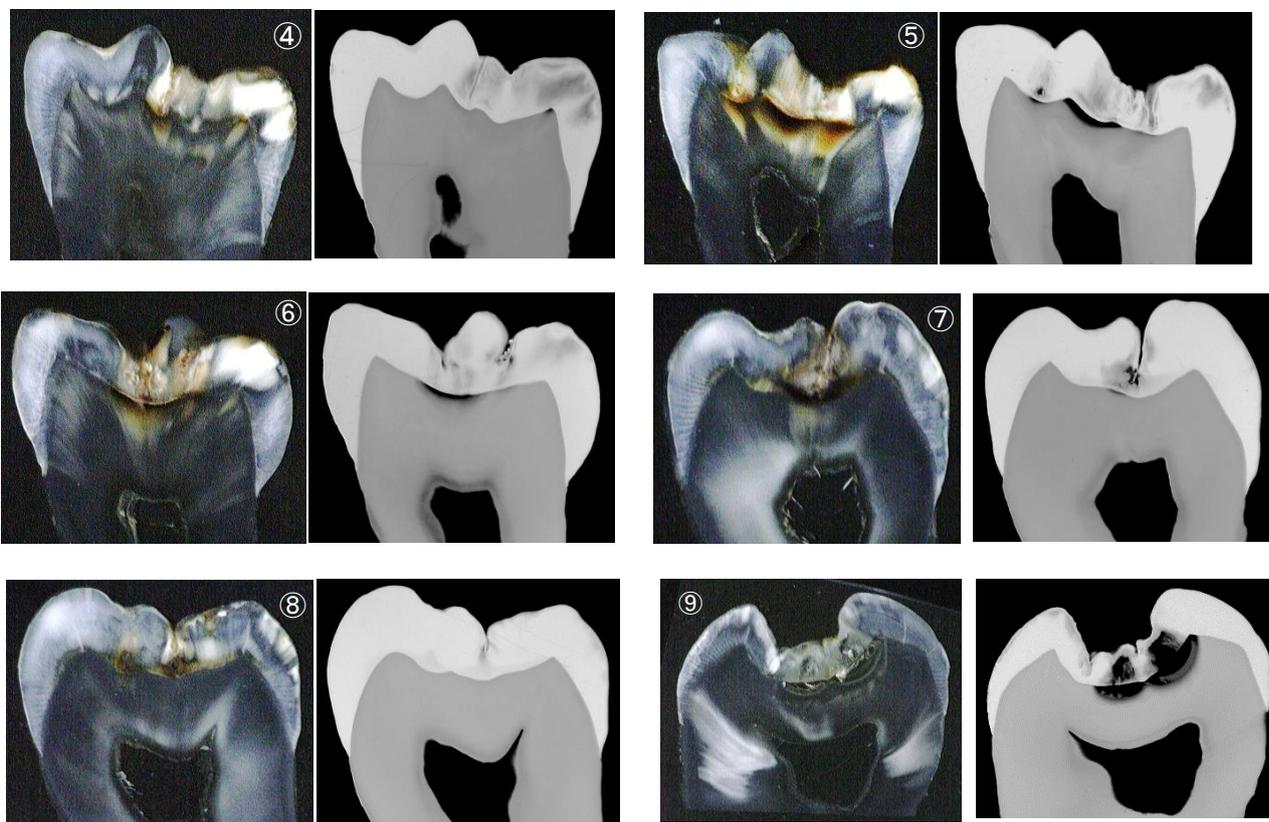
でも黒っぽい影が見られる。一方、TMR 画像にて非常に奇異に見えるが、左側の象牙質に大きな空洞のような侵襲が認められる。しかしその上部のエナメル質には全く脱灰は認められない。それらに対応して実態画像でもエナメル質に脱灰を示唆する白いエリアは見られないが、EDJ 下に暗いエリア (空洞?) と

淡い白色のエリアとが認められる。侵襲程度は、TMR 画像より明らかに実態画像にて進行しているように見られる。また左右のエナメル質に白いエリアが広く認められるが、TMR 画像では脱灰の形跡は全く認められない。この白いエリアも非脱灰性の白斑かも知れない。

資料③：TMR 画像では、裂溝部に軽度の脱灰が認められる。この脱灰の直下には、EDJ に沿ってエナメル質に帯状に非常に微か脱灰が認められる。また右側のエナメル質には隣接面と思われるエリアに軽度の脱灰を認める。実態画像では、裂溝部の脱灰に対応して白いエリアが認められる。また EDJ 付近には、TMR 画像と対応して侵襲によると思われる僅かな変色（特にエナメル質側）が認められる。また右側のエナメル質には明瞭な白色（脱灰）が認められる。左上に白いエリアが認められるが、TMR 画像では脱灰の兆候は全く認められない（非脱灰性の白斑）。



以下に、資料④から⑨の TMR 画像と実態画像を示した。咬合面う蝕（隠れう蝕）の病理の複雑さが垣間見られる。



3)発症と進行メカニズム（筆者の仮説）：

なぜ隠れう蝕のような病変が形成されるのか、不思議な現象である。その発症メカニズムについての研究は非常に少なく、定説はないようである。筆者は、Lynch らの研究を踏まえて 2 つのステップに分けてその発症メカニズムを推察した⁷⁾。図 2 を参考にしながら、筆者が考えるメカニズム（仮説）を解説したい。

第 1 ステップ： その発症の初期に起こる脱灰現象で、エナメル質での表層下脱灰病変の発症メカニズム

と同じ脱灰現象である（この段階では脱灰侵襲は象牙質まで達していない）。

第2 ステップ： 上記で解説した表層下脱灰現象が象牙質に向かってさらに進行する過程である。エナメル質には溶けにくい結晶と溶けやすい結晶とが混在し⁸⁾、pH が低下すると溶けやすい結晶が優先して消失して、結晶と結晶の間に隙間ができる。pH が回復すると元のエナメル質結晶と比べて溶けにくい結晶（より純粋な HA に近い結晶）がその隙間の一部に沈着する（再石灰化）。またフッ化物が存在すると、さらに溶けにくい結晶（FA）がその隙間に沈着し、同様に隙間の一部を埋める。この現象（脱灰と再石灰化の繰り返し）がエナメル象牙境（EDJ）まで進行する。

第3 ステップ： その結果、エナメル質の表層から EDJ まで実質欠損を伴わない、隙間を多く含む厚い脱灰層ができあがる。この脱灰層は、もはやプラークで産生された酸では溶けない（あるいは溶けにくい）エナメル質結晶に変質されている。そのため、この隙間は酸が通過する通路として機能する。従ってプラークで産生された酸は、この変質エナメル質を溶かすことなく、この通路を通過して象牙質に達する。一方、歯髄からは Ca^{2+} などのミネラルイオンの供給があり、脱灰を抑制するように作用するはずである⁹⁾。しかし象牙質への酸の拡散が優位となって、非常に溶け易い象牙質は容易に脱灰される。

第4 ステップ： その結果、脱灰されたミネラルイオンは外（口腔）に向かって（濃度勾配に従って）拡散し、その一部は拡散の途中で上記のエナメル質全体に及ぶ脱灰層の再石灰化に使用される。これは、あたかも象牙質が犠牲となってエナメル質の脱灰を食い止め、かつ強化しているようにも解釈できる⁷⁾。こうしてエナメル質に実質欠損を伴うことなく、象牙質が優先的に侵襲を受けて、隠れう蝕が成立する。平滑面より咬合面にてこのような深い侵襲が多く認められる要因は、深い裂溝のため長時間にわたってプ

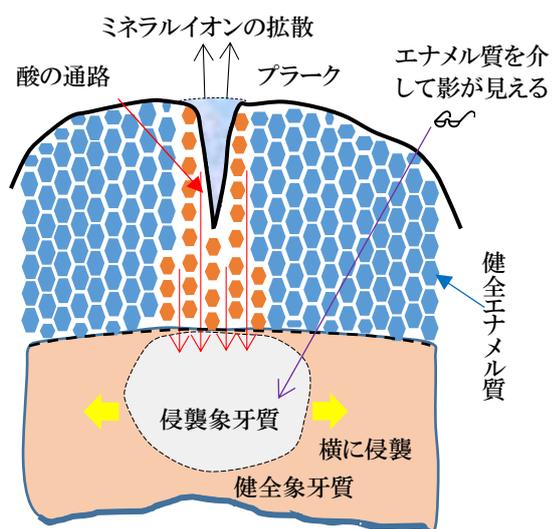


図2 隠れう蝕の進行モデル(メカニズム)

第1 ステップ： エナメル質にて表層下脱灰病変の形成。**第2 ステップ**： この病変が象牙質に向かってさらに進行する過程。pH が低下すると、アパタイト結晶が溶けて、エナメル質に隙間ができる。pH が回復すると、元のエナメル質結晶（●）より溶けにくい結晶がその隙間の一部に沈着する（再石灰化）。**第3 ステップ**： その結果、この隙間のできた脱灰層は、もはやプラークで産生された酸では溶けないエナメル質結晶（○）に変質される。そのためこの隙間は、酸が通過する通路（↓）として機能する。従ってプラークで産生された酸は、この変質エナメル質を溶かすことなくこの通路を通過して、象牙質に達する。**第4 ステップ**： 象牙質はエナメル質と比べて遥かに溶けやすいので、象牙質は容易に脱灰され、隠れう蝕に至る。

ラーク pH が低く持続するからであろう。

本章では、ヒト歯にて隠れう蝕が観察されることを述べた。筆者らは、以前、フッ化物のう蝕予防効果をハムスターにて評価したとき、ハムスターの歯でも「隠れう蝕と思われる」TMR 画像と実態画像を得た（図3：未公開資料）。ハムスターの歯はヒトの歯の構造と比較的類似しており、臼歯咬合面はエナメル質ですべて覆われている。筆者らは、高濃度の砂糖（Diet 2000）を含むエサを1週間ほど与え、軽度のう蝕を惹起させた。その後、患歯を取り出し、樹脂で包埋して切片を作製し、TMR 画像と実態画像を得た。

その結果、TMR 画像ではエナメル質に欠損（う窩）や脱灰の兆候は観察されなかったが、その直下の象牙質に強く脱灰されたエリアとその下部に弱く脱灰されたエリアが認められた（図3の右にて赤線で示す）。この切片を染色剤（ムレキサイド：カルシウムに対して強く結合する傾向）にて染色した後、透過型の実態顕微鏡で観察したところ、TMR 画像で脱灰が認められるエリアに対応して、黒い帯状のエリアが観察された（図3の左にて赤線で示す）。またそのエリアの下部にわずかに染色された褐色が見られた。



図3 ハムスターの歯で認められた隠れう蝕
右：TMR 画像 左：実態画像

ハムスターの歯のエナメル質の厚さはヒトと比べると非常に薄い（この例では、恐らく 0.1～0.2 mm）。またそのエナメル質の密度もヒトと比べて低いと予想される。これらのことを勘案すると、酸によるエナメル質を溶解する速度と比べて、象牙質に至る酸の拡散速度が十分に速く、そのため象牙質が優先的に脱灰されて「隠れう蝕と思われる」病変の形成に至ったのではないかと想像される。あるいはこの病変は隠れう蝕ではなく、ヒトエナメル質で見られる表層下脱灰と考えるべきかも知れない。つまりこの場合のエナメル質層は、ヒトエナメル質での表層下脱灰表層の病変における”表層”とも考えられる。このような脱灰現象には、エナメル質を介した酸の拡散速度と歯質（エナメル質または象牙質）の溶解速度および溶解したミネラルイオンの外部への拡散と再沈着という 4 つのプロセスが、微妙なバランスを取って関与していると推察される。それにしても、脱灰現象は不思議なものである。

上記の解説で分かるように、フッ化物が隠れう蝕の原因の 1 つになっていると疑われる。そこで Weerheijm らは、オランダにて水道水がフッ素化された地域（1.1 ppm）とそうでない地域で、15 歳の住民を対象に hidden caries が観察される割合を調査した¹⁰⁾。その結果、水道水がフッ素化された地域でエナメル質に初期う蝕が認められた住民の 16.9%に、またフッ素化されていない地域では 24.6%に隠れう蝕が認められた。この調査からは、フッ化物が隠れう蝕の発症の要因の 1 つとは言えないとの結論であった。同様な調査結果がブラジルでも報告されている¹¹⁾。しかしこれらの結果は、フッ化物が隠れう蝕も含めてう蝕の進行を抑制したに過ぎないとも解釈される（筆者の考え）。従ってフッ化物の利用が隠れう蝕を引き起こしやすいかどうかは、実験室実験にて詳細な検討が必要であろう。

最後に、隠れう蝕の再石灰化の可能性について私見を述べてみたい。基本的に再石灰化が期待できる条件として、脱灰によって小さくなったアパタイト核が十分残っていること（明瞭な隠れう蝕ではこのような結晶核がほとんど消失）、そしてアパタイト核が大きくなる（再石灰化する）ため唾液からのミネラルイオンの供給が十分であること（すなわち脱灰より再石灰化が優位な環境であること）が必要である。このことを前提に推察すると、隠れう蝕の場合、再石灰化の進行に対して、悪条件が多数考えられる。①病変の深層部にも細菌類^{12,13)}や酸のもとになる発酵性糖類の侵入が考えられ、従来のようなプラークコントロール（特にブラッシングによるバイオフィルムの除去）はできない。また石灰化を強く抑制する唾液タンパク質¹⁴⁾の侵入も予想される。そのようなことから、再石灰化より脱灰が優位となる。②病変が深いため、唾液の恩恵（酸中和作用や再石灰化作用）があまり期待できない。③あまりにアパタイト結晶が多く失われているため、たとえフッ化物で再石灰化が起こったとしても、病変の改善を期待するには長期間を要し、介入手段として現実的ではない。この間に、むしろ進行のリスクを伴う恐れがある。従って隠

れう蝕の再石灰化には、これらの困難を克服する新しいアプローチの研究開発が必要となる。筆者は、歯の漂白に用いる過酸化水素剤や次亜塩素酸ナトリウムで前処置することで、隠れう蝕の内部に存在する細菌や唾液タンパク質などの夾雑物を分解・除去して再石灰化しやすい環境に戻し、その上でミネラルイオンとフッ化物を高濃度で供給することに1つの可能性を考えている。

4) 隠れう蝕の形成を人工的に試みた実験：

筆者らは、隠れう蝕の形成現象やメカニズムについて、少しでも理解を深めたいと考え、インビトロでの脱灰実験を行った。牛エナメル質をかなり深く研磨して本来のエナメル質の厚さより薄い試料を作製した（約 500 μm ）。この試料を、異なった濃度のミネラルイオンと F および pH に調製した幾つかの脱灰液に数週間ほど浸漬し、その後、TMR 画像を得た。試した脱灰液の多くで、「隠れう蝕のような」画像は得られなかったが、ミネラルイオン濃度が比較的高く、F が含まれている場合に「隠れう蝕のような」画像が得られた。図 4（未公開資料）の左側には、表層下脱灰の病変の下の象牙質に EDJ に沿って脱灰が認められる（赤線の枠）。

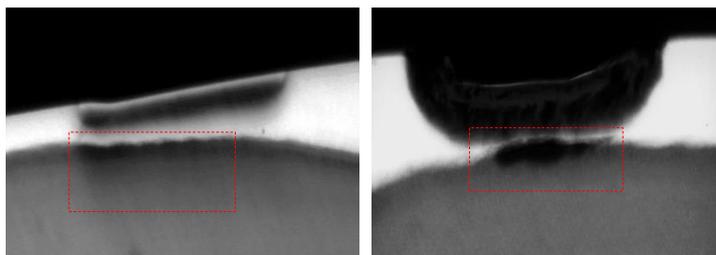


図 4 人工的に作成した隠れう蝕

エナメル質の厚さが、より薄い赤枠の左側において象牙質の脱灰がより明瞭に認められる。図 4 の右側には、う窩となってしまった試料でも、窩底部に薄いエナメル質の層を残し、象牙質に明瞭な脱灰が認められる。これはう窩を呈していることから、隠れう蝕ではないが、エナメル質を介して象牙質が脱灰される現象（上記のハムスターでの実験結果）としては、両者の試料で共通している。

これらの結果から、エナメル質層（全層または一部）を残して象牙質へ侵襲が展開する現象は、酸の拡散に伴うエナメル質の脱灰と二次的な石灰化沈着（FA や DCPD の沈着）が密接に絡んでいることが推察される。上述したように、隠れう蝕が再石灰化するかどうか、これらの試料を用いて検討することで何らかの知見が得られるのではないかと期待される。

次いで筆者らは、図 5 に示したように象牙質にまで脱灰が進行した「小窩裂溝をモデルとした試料」を作製して、隠れう蝕の進行の様子を観察しようと試みた（未公開資料）。歯質にあらかじめ象牙質に至る約 200 μm 幅のスリットを施し、2 つの異なる脱灰液（表層下脱灰が形成されることをあらかじめ確認した組成）にて脱灰した（1 つは F 無添加、もう 1 つは 0.5 ppm 添加）。脱灰後、その切片（約 120 μm ）を作製して TMR 画像を得た。その結果、F を含まない場合、エナメル質表層にて不明瞭な表層下脱灰が見られた。しかしスリットの入り口付近では脱灰が認められるが、EDJ 付近のエナメル質では、あまり脱灰が進行していないように見える。一方で象牙質では、左右に明らかに脱灰された様子が認められる。このような複雑な様子を呈した理由を以下に推察した。この場合、前述したようにエナメル質では表層下脱灰が形成されることになる。一方、スリットの内部では、エナメル質と比べて象牙質に関しては高い不飽和度のため、象牙質が優先的に溶解される。

その結果、ここに進入した脱灰液ではミネラルイオン濃度と pH が上昇して不飽和度が緩和されるため、スリットに沿ったエナメル質では脱灰が抑制される。ではなぜ、表層下脱灰を呈さなかったか。恐らく pH が 5.0 以上となり、DCPD の形成が不十分であったと思われる（第 11 章の DCPD 説を参照）。こうして溶

解したミネラルイオンは、濃度勾配に従って外部の脱灰液に拡散する。

このような状態が長く続くことで、象牙質が優先的に脱灰され侵襲が深部と横方向にも進むと予想される。上述したように、あたかも象牙質が犠牲になってエナメル質の脱灰が進行しないようにも見える。

それに対し F が含まれる脱灰液の場合（図の右）、表層部のエナメル質は、エナメル質に関しては不飽和であるが、FA に関して過飽和の脱灰液に接しているため、エナメル質の溶解と FA の沈着が起きる。その結果、明瞭な表層下脱灰が認められる¹⁵⁾。同様にスリットに沿ったエナメル質でも表層下脱灰が形成される。一方、スリットの内部に侵入した脱灰液は、象牙質を溶解する。その結果、ミネラルイオン濃度と pH が上昇して不飽和度が緩和される。それと同時に、FA に関して元々過飽和であった液性が更に高い過飽和となり、溶解性の高い象牙質でも、微弱ながらも表層（再石灰化層）が形成される。同時に、溶解したミネラルイオンは濃度勾配に従って、外部の脱灰液に拡散する。F が含まれていない場合と同様、このような状態が続くことで象牙質のみが優先的に脱灰され、侵襲が深部と横方向にも進むと予想される。

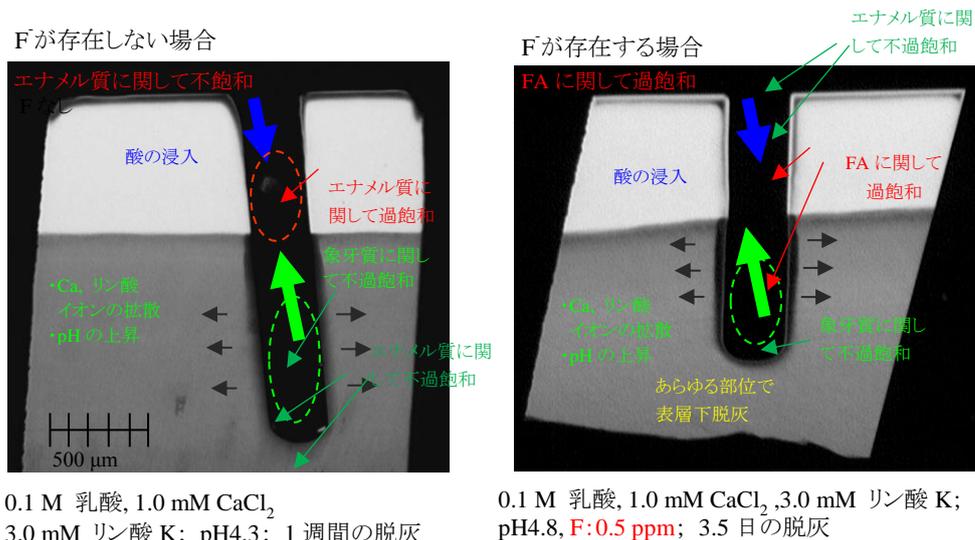


図5 象牙質に至る隠れう蝕が形成されるモデル実験（小窩裂溝を想定）
（仮説：象牙質が犠牲になって、エナメル質の脱灰の進行が抑制される）

第16章：象牙質における過石灰化現象（インビトロでの結果）

筆者らは、脱灰象牙質を APF などの高濃度フッ化物などで塗布した後（以降、F 塗布）、これを一定期間、再石灰化液（人工唾液）に浸漬すると、脱灰の底部に本来よりも高いミネラル密度の層（過石灰化層）が形成されることを見出した^{1,2)}。しかしこの過石灰化現象（hyper-mineralization）は、健全象牙質を次亜塩素酸ナトリウム（NaClO）で前処置し、フッ化物の関与がなくとも、同様に再石灰化液に浸漬することでも形成されることを見出された¹⁾。本章では、このような不思議な現象について筆者らが行った2つの研究例を紹介する。なおエナメル質において、このような過石灰化現象は、筆者の知る限り、報告されていない。

1) 脱灰象牙質を F 塗布した後の過石灰化現象

牛の歯根部の象牙質試料を1週間脱灰し、これを4群（①baseline 群；脱灰のみ ②2%NaF 塗布 ③APF 塗布剤（2%NaF 含有） ④塗布剤なし）に分け、①群を除いて、30分間の F 塗布を行い、水洗と洗浄後、これら試料を再石灰化液に浸漬した。2および4週間後、これら4群の試料の切片を作製して TMR 法にて脱灰病変の画像を取得し、また病変におけるミネラル密度を解析した。その結果を図1に示した。作製した病変は、約 500 μm の深さのう窩状であった（図1の再石灰化前の baseline 群）。2週間の再石灰化後、APF 群と NaF 群では、う窩病変の底部に沿って白い層が認められた。一方、F 塗布しない群では、そのよ

うな層は認められなかった。

このことから、この過石灰化層には FA が形成・沈着したと考えられる。さらに4週間後、この白い層は、より明瞭に確認された。なお TMR 画像では、周りの輝度（白黒度）より明るいことは、そこでのミネラル密度が高いことを意味する。図 1 では APF の場合より NaF の場合の方が、より鮮明に過石灰化層が認められた。

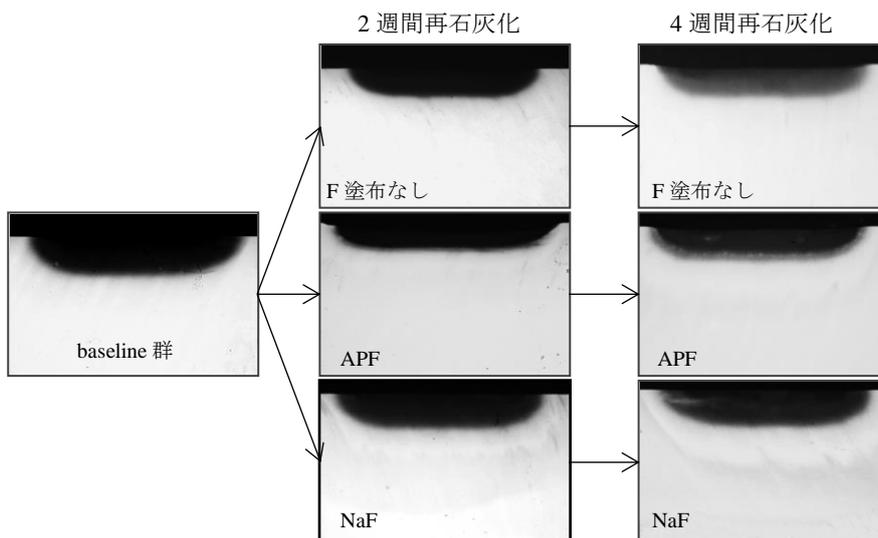


図 1 再石灰化後の TMR 画像

ミネラル密度の解析結果の 1 例を図 2 に示した。TMR 画像

の過石灰化層に対応して、破線（本来の健全ミネラル密度：約 48 vol%）より上に、ミネラル密度の高い領域が確認された。このように過石灰化層が認められた試料数は、再石灰化期間が長くなると多くなる傾向にあった。表 1 には、各群 10 試料のうち過石灰化層を示した試料数（表中のマーク「 θ 」）および過石灰化層でのパラメータ（最大ミネラル密度

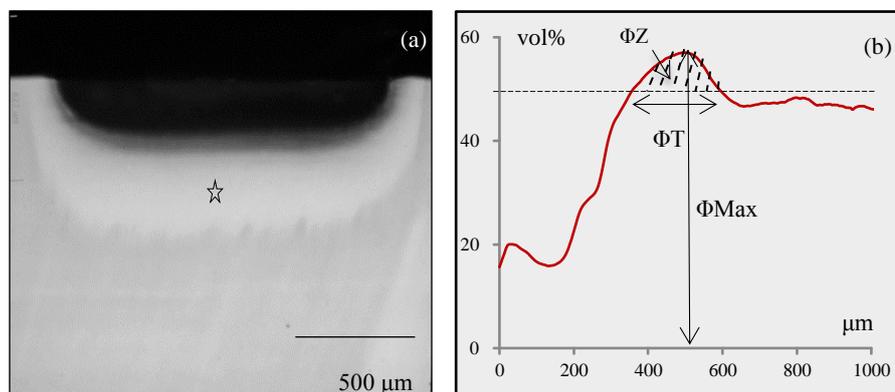


図 2 過石灰化層を有する試料(a)の TMR 画像とそのミネラル密度の分布 (b) ; (a) 星印☆で示した層が過石灰化層 (b) 破線は本来の健全ミネラル密度(48 vol%) ; 破線とミネラル密度を表す赤色曲線で囲まれた領域が過石灰化領域 (ΦZ) ; 過石灰化領域での最大ミネラル密度: ΦMax , 過石灰化層の厚さ: ΦT

最大ミネラル密度 ΦMax : vol%, 過石灰化層の領域面積 ΦZ : vol% $\cdot\mu m$, 過石灰化層の厚さ ΦT : μm) を示した。これらの値も、再石灰化期間

表 1 過石灰化層でのパラメータ（最大密度、領域面積、厚さ）の平均値と SD およびその範囲

Group	ΦMax : vol%		ΦZ : vol% $\cdot\mu m$		ΦT : μm	
	2-week	4-week	2-week	4-week	2-week	4-week
APF	51 \pm 1 3/10 ^{θ} (50 - 52)	55 \pm 3 9/10 ^{θ} (52 - 59)	369 \pm 134 3/10 ^{θ} (225 - 491)	1620 \pm 759 9/10 ^{θ} (706 - 3068)	183 \pm 40 3/10 ^{θ} (113 - 193)	231 \pm 30 9/10 ^{θ} (179 - 274)
NaF	53 \pm 5 2/10 ^{θ} (49 - 59)	57 \pm 3 8/10 ^{θ} (53 - 61)	745 \pm 871 2/10 ^{θ} (73 - 1926)	1115 \pm 502 8/10 ^{θ} (404 - 1944)	196 \pm 111 2/10 ^{θ} (64 - 316)	275 \pm 52 8/10 ^{θ} (205 - 344)

が長くなると増大する傾向にあった。特に最大ミネラル密度に関しては、NaF 群で平均 57 vol%, 個別試料では最大 61 vol%であった。象牙質の健全ミネラル密度は 48%であるので、平均で 9 vol%の増加であった。

健全象牙質は、体積比率で約 50 vol% のミネラル分（無機分）、約 30 vol% のコラーゲン（有機質分）、そして約 20 vol% の水分から構成されている。はたしてこの過石灰化現象は、象牙質のどこで起きたのであろうか。2つの可能性が考えられる。上記の水分が占める空隙部分あるいは象牙細管の壁面か管内である。筆者らは過石灰化層を電顕にて注意深く観察したが、象牙細管の壁面および管内では、新たに沈着したと思われる石灰化物は観察されなかった。従って過石灰化現象で増加したミネラル密度は、元々の象牙質のアパタイト結晶性が、水分の占める空隙において大きくなった体積量である推察された。しかしこの増大を SEM にて確認することはできなかった。

F 塗布することで、脱灰底部の健全部位で過石灰化層が形成されたことは、インビトロとはいえ、筆者の知る限り、はじめてのことである。今回は1回の塗布であったが、臨床的には年に数回塗布することから、臨床的にも形成される可能性があると思われる。*in-situ* 実験にて確認する必要がある。

しばしば進行性（active）の初期根面う蝕に F 塗布を施すと、停止性（arrested）に改善される（恐らく再石灰化反応を伴う硬さの回復）ことが知られている³⁻⁷。筆者は、この過石灰化層の形成が停止性をもたらす要因ではないかと考えている。フッ化物の中でも、特にフッ化ジアミン銀（Silver Diammine Fluoride: SDF; 商品名 サホライド）は、停止性効果が高い^{3,4}。その理由は、SDF に含まれている F 濃度が他の F 塗布剤（9,048 ppm）と比べて、格段に高い（44,880 ppm）ことによると思われる。SDF に含まれる銀（Ag⁺）には抗菌・抗酵素作用があり、この作用が細菌による酸産生を抑制し、脱灰歯質を再石灰化しやすくすると思われる。今回の検討の発展として、過石灰化層の形成に及ぼす SDF の影響、あるいはそれ以外の F 塗布剤の塗布回数の影響や再石灰化期間あるいは、その後の耐酸性への影響などを検討する必要がある。

さて象牙質における過石灰化現象については、インビトロ研究にて過去、幾つかの研究報告が見られる⁸⁻¹²。また実際の根面う蝕の病理所見として、過石灰化現象を認めたとする報告も見られる^{13,14}。これらの報告では、過石灰化層は病変（脱灰部位）の表面あるいは表層で形成されたとの知見であり、今回のように病変の下部の健全部にて確認されたとする知見は、筆者らが知る限り、始めてである。

Iijima らは、インビトロにて形成させた脱灰象牙質を 10 ppm F を含む人工唾液に 8 日間浸漬して再石灰化させ、脱灰表面に過石灰化層の形成を確認した（図 3）⁹。

この過石灰化層での最大ミネラル密度は、約 77 vol% であった。またその過石灰化層が、F として 30,000 ppm の高濃度の石灰化物で構成されていることも見出した。この値は、純粋なフルオロアパタイトに含まれる F 濃度（38,000 ppm）に匹敵することから、彼らはこの過石灰化層は FA で構成されていると推察した。その後、この過石灰化層の耐酸性を調べる目的で、この試料を 3 週間に渡って pH5 の脱灰液にて脱灰した。その結果、脱灰後においても表層の F 濃度や最大ミネラル密度に大きな変動はなく、脱灰病変の全体においてもミネラルの溶解や脱灰深さの変化はなかった（図 3）。このような高い耐酸性は、形成された FA によること、さらには仮に FA が溶けたとしても、高い濃度の F が FA から供給されて FA が再沈着することによると考えられる。ただし臨床的には F 歯磨剤や洗口剤では、10 ppm もの高い F 濃度を 8 日

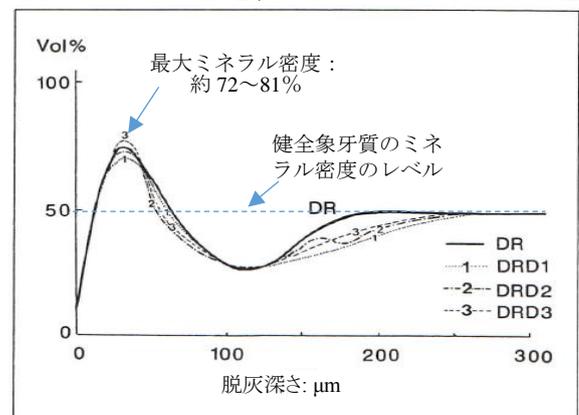


図 3 10 ppm F の存在下で再石灰化された脱灰病変の表面あるいは表層に形成された過石灰化層のミネラル密度分布。注) DR: もとの過石灰化病変の密度の分布, DRD1 から DRD3: 1 週間, 2 週間および 3 週間脱灰後のミネラル密度分布

間もの長期間にわたって維持することは困難であるが、Fバーニッシュを用いれば高濃度のFを維持でき、このような過石灰化現象が起きるかも知れない。

筆者らは、彼らとは異なり、1.0 ppm という比較的低濃度のFを含む再石灰化液に脱灰象牙質を2週間浸漬したところ、もともとの象牙質表面と同じレベルに過石灰化層の形成を確認した(図4:未発表)。このときの最大ミネラル密度は、約53%であった。しかしこの図で見られるように、顕著な過石灰化現象にもかかわらず、表層の下部の病変内部では目立ったミネラル沈着(再石灰化)は見られなかった。Iijimaらと筆者の検討から、過石灰化現象が象牙質の表面で起きるか、それとも図4のような病変の表層で起きるかは、どうも再石灰化液に含まれるF濃度に依存すると思われる。

それでは、図2で見られるような過石灰化現象が起きるメカニズムについて筆者らの仮説を解説したい。今回の実験条件には、①脱灰、②それに続くF塗布、そして③再石灰化処置の3つが含まれる。このうち①脱灰は、過石灰化現象には必須と思われた。そこで非脱灰試料にF塗布とそれに続く再石灰化処置を行った結果、象牙質内層には過石灰化層は全く形成されず、象牙質表面に石灰化層の沈着・形成を認めた(図5)。最大ミネラル密度は約60 vol%で、その幅は約20 μmであった。

次いで筆者らは、象牙質に含まれる石灰化に関与する2つの成分に着目した。第1は、象牙質に含まれるマグネシウム(Mg)である¹⁵⁾。どのような役割を演じているか、筆者は詳細には理解していないが、Mgは象牙質の形成段階から含まれ、酵素活性に関与しているかも知れない。Tefftらは象牙質には約1%のMgが含まれていると報告した¹⁵⁾。一方インビトロの検討にて、Mg²⁺はHAの結晶表面に強く吸着して、結晶成長を抑制する作用が知られている¹⁶⁻¹⁹⁾。

筆者らは、脱灰によってう窩底部の健全層のアパタイトの結晶表面からMgの一部が溶解されて取り除かれ、本来の象牙質アパタイトの結晶サイズの成長(増大)が許されたのではないかと推察した。そこで、EDS(Energy Dispersive x-ray Spectroscopy: エネルギー分散型X線分光器)を用いて、過石灰化層およびその下層部(過石灰化の影響を受けていない深部の健全層)のMg濃度を計測した。その結果、健全層と比べて過石灰化層ではMg濃度が低かった。

それでは、このう窩底部の健全層において脱灰による何らかの影響があるのであろうか。筆者らは、もう1度、TMR画像と切片の光学画像を注意深く観察した。その結果、TMR画像においてう窩の底部に非常にわずかであるが、ミネラル密度の低い領域(図6aの☆)、また光学画像においても対応する領

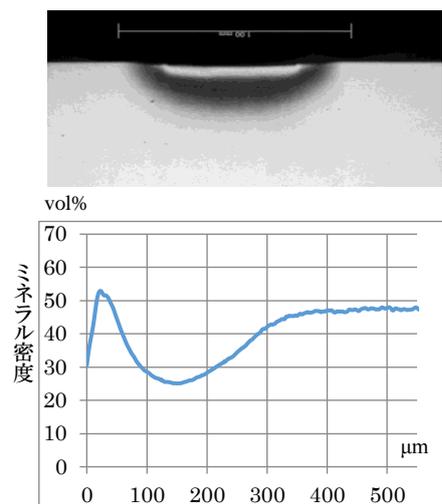


図4 表層での過石灰化層の形成

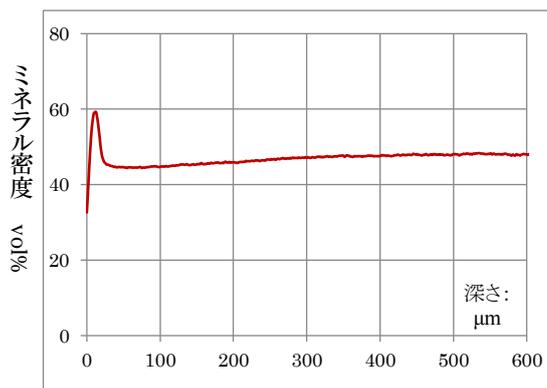
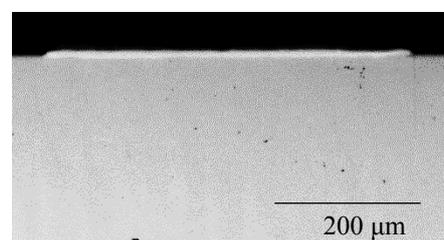


図5 象牙質表面に沈着したミネラル層(上)とそのTMR解析による密度の分布(下)

域にやや明るい領域が認められた(図 6b の x)。通常、この領域は脱灰の影響を受けていないとして考察の対象とされていない。しかし今回、この領域で過石灰化層が形成されたことから、この領域で何らかの化学的变化が起きたと推察される。上述したように、この領域では少なくとも Mg 濃度の低下が認められた。

第2の成分は、リン酸基を有するタンパク質(dentin-phospho-protein: DPP)である²⁰⁾。DPPは、これまで述べてきた唾液リン・タンパク質(StatherinやPRPs)あるいはカゼインの分子構造で見られるエステル・リン酸基を有する分子である。筆者は、DPPについてもその役割については、詳細には理解していない。しかしリン・タンパク質であることから、アパタイト結晶の表面に吸着して、その成長を抑制することが予想される。一方で、DPPのリン酸基にCa²⁺が結合し、これがアパタイトの擬似的な核となって、HA結晶が形成される契機となることも指摘されている。すなわちDPPは、象牙質の形成期における石灰化の制御に関与していると考えられている²¹⁻²⁶⁾。

Klontらは、象牙質を酸脱灰し、これを中性の液体に浸漬するとDPPが溶出されると報告している²⁷⁾。今回の筆者らの検討では、酸脱灰の後、pH中性の人工唾液に浸漬したことから、DPPが溶け出した可能性がある。その結果、脱灰病変の底部の健全領域で過石灰化現象が起きたと考えられる。残念ながら、筆者らは当時、DPPを非破壊で定量的に検出する試験法を持ち合わせていなかったため、この仮説の検証はできなかった。今後の研究で確認する必要がある。

仮にMgおよびDPPの除去が過石灰化現象を引き起こす要因と仮定した場合、はたしてこれらの2成分は、象牙質ミネラルとどのようなかたちで関連し合っているのか。この疑問が解明されない限り、これら成分の除去が過石灰化現象にとって必須とは断定できない。従って、これら以外の成分の可能性も排除できない。

2) 健全象牙質をNaClOで前処理した後の過石灰化現象

本章の冒頭で述べたように、非脱灰(健全)象牙質においても、下記に示す一定の条件下で過石灰化現象が認められた。まず健全象牙質を、上述のDPPを分解除去する目的で6% NaClOの溶液に1時間浸漬した。次いでNaClOを完全に除くため、約1時間水道水に浸漬し攪拌した。最後に蒸留水にて十分洗浄した。NaClO処理した象牙質試料を2つのグループに分け、一方はF塗布し、もう一方はF塗布を行わず、人工唾液に4週間浸漬した。その後、象牙質試料から切片を作製してTMR画像を得た。その結果、意外にもF塗布群では、象牙質内層での過石灰化現象は認められず、図5で示したような、象牙質表面に高いミネラル密度の層の形成を認めた。それに対し非F塗布群では、図7に示したように、象牙質内層で過石灰化現象を認めた。その最大ミネラル密度は約60 vol%で、その層の厚さは約60 μmであった。

なぜこのような予想と逆の結果であったか。以下のように推察された。F塗布群では、象牙質表面にてFA様の結晶が多量に形成・沈着され、象牙細管や内層に至る空隙が完全に封鎖されて、過石灰化に必要なミネラルイオンやFの浸透が抑制されたと考えられる。筆者らは、脱灰象牙質ではないが、エナメル質の

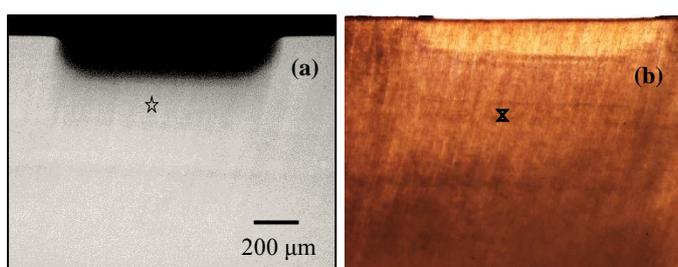


図 6 脱灰直後(再石灰化前)のTMR画像(a)とその光学顕微鏡画像(b)。a: う窩の底部の下部に弱く脱灰された領域を認める(☆)。b: 光学画像でもう窩底部の下部に、少し明るい領域が広がっている(x)。

表層下脱灰病変の再石灰化実験にて同様な現象を観察した(第14章 図8参照)²⁸⁾。

一方非F塗布群では, そのような象牙質表面でのFA様の結晶の沈着が起きず, 象牙細管や内層に至る空隙が封鎖されることがなかったこと, またNaClO処理により, 石灰化を抑制するDPPが除去され, 象牙質アパタイトの結晶成長が許されたのではないかと考えられる。

Sakaeらは, NaClO処理により, 象牙質からMgをはじめ炭酸(HCO₃, CO₃)や有機物が除去されると報告している²⁹⁾。従って今回は, NaClO処理によりMgとDPPの両方が除去された可能性がある。

今回, F塗布群にて象牙質内層で過石灰化層が形成されず, 象牙質表面に高いミネラル密度の層が形成された。この知見について, 筆者らは以下のような追加の検討を行った(未公表)。NaClO処理した象牙質を, 同様にF塗布し, これを100ppmのカゼインを含む人工唾液^{30,31)}に4週間浸漬し, TMR解析のため切片を

作製した。その結果, TMR画像にて, 図5のような表面での石灰化沈着層の形成は認められず, 図7で示したような象牙質内層において明瞭な過石灰化層の形成が認められた。この結果は, 第14章で述べたカゼインによる石灰化および再石灰化の制御メカニズムと同じメカニズムによると考えられる^{30,31)}。

NaClOは, 根管治療の洗浄剤として使用されている。これにより, 細菌やコラーゲンなどのタンパク質などが分解除去される。NaClOは強い酸化剤であるとともに強いアルカリ性でもあるので, この処理によって象牙質に含まれる無機質(アパタイト, Mgや炭酸などの不純物)や有機質(コラーゲン, DPPなどの非コラーゲン性タンパク質)がどのような影響を受けるか, その全容を知ることは難しい。

NaClOのタンパク質分解作用に関連して, Inabaらはインビトロにて脱灰象牙質をNaClO処理することで, 再石灰化が進行しやすくなった報告した¹¹⁾。彼らは, 脱灰象牙質を異なる濃度のNaClO(0.4, 2.0, 10%)で2分間処置し, その後, 再石灰化液(Fとして10ppmを含む場合と含まない場合)に8日間浸漬した。その結果の一部を図8(NaClOが10%の場合)に紹介する。この図8に描かれているミネラル・プロファイルについて, Aは脱灰直後(脱灰のみ), Bは脱灰後のNaClO処理のみ, CはBの試料をFなしで再石灰化した後, そしてDはBの試料を10ppmF存在下で再石灰化したものである。Bにおいてミネラル密度が高くなっているのは, 脱灰により露出したコラーゲンが分解除去され, 脱灰病変の全体が収縮して, 見かけミネラル密度が高くなったことによる。Cと

Dを比較すると, Cでは若干ながら過石灰化現象が起きている様子が見られる。また, 病変内部まで再石灰化が進行した様子も見て取れる。それに対しDでは, 病変の表層または表面で顕著な過石灰化層が形成されたが,

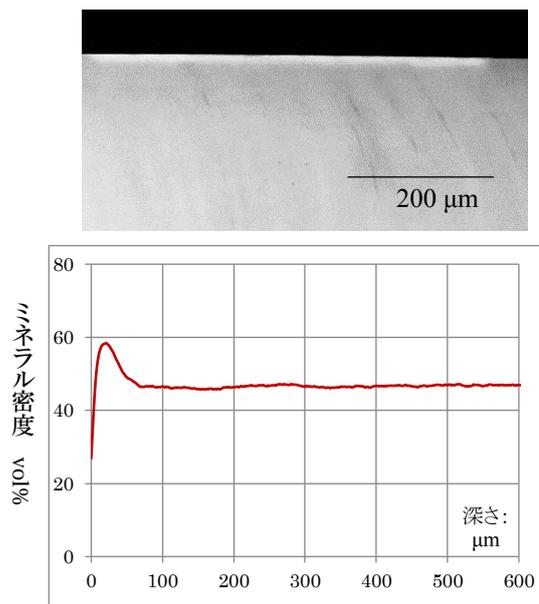


図7 象牙質表面に沈着したミネラル層(上)とそのTMR解析による密度の分布(下)

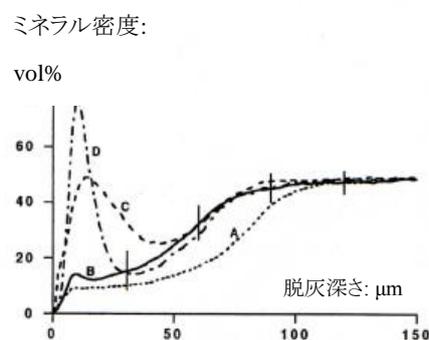


図8 脱灰象牙質をNaClOで処理した場合の, その後の再石灰化に及ぼす影響. A: 脱灰のみ. B: NaClO処理のみ C: Fなしでの再石灰化後 D: 10ppmF存在下での再石灰化後

病変の内部までは再石灰化が進行していない。なおDのミネラル・プロファイルの基準点[depthの0 μmの位地]は、元々の試料表面ではないことに留意が必要である。これは、これまで述べてきたように、過石灰化層によって病変の内部に拡散するミネラルイオンの拡散が制限されたことによると考えられる。

以上のようなことから、象牙質にはエナメル質では認められない過石灰化現象という不思議な現象が確認された。その現象に関与する要因として、石灰化に関与するMgやDPPが推察された。根面う蝕の予防や再石灰化の促進手段として、健全象牙質にNaClOを臨床的に使用することは、歯肉への影響が懸念されるため困難を伴う。筆者は、APFの使用することで過石灰化現象が起きないか、その可能性を感じる。インビトロでは、APFはこれまで脱灰抑制に着目して評価されてきた。APFは酸性のため、塗布を繰り返すことにより、あるいは長期間の滞留が可能な酸性のFバーニッシュの塗布により、上述のMgの溶解が起きると予想される。それにより、表層で過石灰化層が形成されないであろうか。今後は、この過石灰化現象を臨床的に応用できなかに、読者の研究に期待したい。

文献

第1章：歯質アパタイトとそのモデル物質であるヒドロキシアパタイトの化学的特性

- 1) IADR 1992 (Boston) Abstract #824. Dentin and enamel demineralization in vitro under equivalent driving force. Margolis HC, Moreno EC, Maguire C.
- 2) Prog Biomater. 2016; 5: 9-70. Calcium orthophosphates (CaPO₄): occurrence and properties. Dorozhkin SV.
- 3) Adv Dent Res. 1994; 8: 125-33. In situ models, physico-chemical aspects. ten Cate JM.

第2章：歯質アパタイト (HA) の酸溶解のメカニズム

- 1) Odontology. 2013; 101: 2-8. The Stephan Curve revisited. Bowen WH.
- 2) IADR 1992 (Boston) Abstract #824. Dentin and enamel demineralization in vitro under equivalent driving force. Margolis HC, Moreno EC, Maguire C.
- 3) Arch Oral Biol. 2009; 54: 810-6. Evaluation of the remineralizing capacities of modified saliva substitutes in vitro. Tschoppe P, Kielbassa AM, Meyer-Lueckel H.
- 4) Calcif Tissue Int. 1985; 37: 91-4. Octacalcium phosphate formation in vitro: implications for bone formation. Cheng PT.
- 5) Calcif Tissue Int. 1987; 40: 339-43. Formation of octacalcium phosphate and subsequent transformation to hydroxyapatite at low supersaturation: a model for cartilage calcification. Cheng PT.

第3章：HAにおける飽和度の意味すること

- 1) Arch Oral Biol. 1985; 30: 37-42. Effect of time, degree of saturation, pH and acid concentration of buffer solutions on the rate of in-vitro demineralization of human enamel. Theuns HM, van Dijk JW, Driessens FC, Groeneveld A.

- 2) J Dent Res. 1985; 64: 786-92. Importance of high pKA acids in cariogenic potential of plaque. Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ.
- 3) J Dent Res. 1991; 70: 1332-7. Scanning and contact microradiographic study of the effect of degree of saturation on the rate of enamel demineralization. Gao XJ, Elliott JC, Anderson P.
- 4) J Dent Res. 1999; 78: 1326-35. Kinetics of enamel demineralization in vitro. Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL Jr, Moreno EC.
- 5) Eur J Oral Sci. 2000; 108: 207-13. Enamel demineralization under driving forces found in dental plaque fluid. Zhang YP, Kent RL Jr, Margolis HC.
- 6) 日本歯科保存学雑誌, 2014, 57; 111-120. 総説 エナメル質臨界 pH についての理論的考察 -なぜ, pH5.3 付近なのか- 中嶋省志, SADR Alireza, 田上順次.
- 7) Arch Oral Biol. 1973; 18: 1385-92. Saturation of human saliva with calcium phosphates. Gron P.

第 4 章 : HA に関する飽和度の定義と例

- 1) Monogr Oral Sci. 2001, 18: 94-111, Solubility of calcium phosphates, Chow LC. Octacalcium Phosphate, Chow LC, Eanes ED (eds) Basel. Karger.
- 2) Octacalcium Phosphate. Monogr Oral Sci Basel. Karger 2001. 18, 94-111. Solubility of Calcium Phosphate (LC. Chow).
- 3) J Dent Res 1975; 54: 728-736. Thermodynamic solubility product of human tooth enamel: powdered sample. Patel PR, Brown WE.
- 4) IADR 1992 (Boston) Abstract #824. Dentin and enamel demineralization in vitro under equivalent driving force. Margolis HC, Moreno EC, Maguire C.
- 5) Stability constant of metal ion complexes. Suppl. 1, Special Publ., No 25 (Chemical Society, London 1971), ed Sillen LG and Martell AE. Metcalfe and Cooper Ltd (London).
- 6) Calcif Tissue Int. 1979; 24: 28: 7-16. Effect of human salivary proteins on the precipitation kinetics of calcium phosphate. Moreno EC, Varughese K, Hay DI.
- 7) Calcif Tissue Int. 1982; 34 Suppl 2: S33-40. Effect of fluoride on crystal growth of calcium apatites in the presence of a salivary inhibitor. Margolis HC, Varughese K, Moreno EC.
- 8) Biochem J. 1983; 1: 213: 11-20. Interaction of calcium ions and salivary acidic proline-rich proteins with hydroxyapatite. A possible aspect of inhibition of hydroxyapatite formation. Bennick A, Kells D, Madapallimattam G.
- 9) J Dent Res. 1984; 63: 857-63. Relationship between concentration of human salivary Statherin and inhibition of calcium phosphate precipitation in stimulated human parotid saliva. Hay DI, Smith DJ, Schluckebier SK, Moreno EC.
- 10) J Clin Dent. 1997; 8 (2 Spec No): 62-6. The comparative clinical efficacy of pyrophosphate/triclosan, copolymer/triclosan and zinc citrate/triclosan dentifrices for the reduction of supragingival calculus formation. Fairbrother KJ, Kowolik MJ, Curzon ME, Müller I, McKeown S, Hill CM, Hannigan C, Bartizek RD, White DJ.
- 11) J Clin Dent. 1998; 9: 101-4. Clinical comparison of two tartar control dentifrices: a twelve-week study. Sowinski J, Petrone DM, Battista G, Petrone ME, DeVizio W, Volpe AR.

- 12) J Clin Dent. 1998; 9: 26-9. Safety and efficacy of a novel tartar control dentifrice containing 3.3% pyrophosphate: a controlled six-month clinical trial. Segreto VA, Stevens DP, Schulte MC, Fortna RH, Gerlach RW.
- 13) J Clin Dent. 2000; 11: 68-71. A calculus clinical study comparing the efficacy of two commercially available dentifrices. Sowinski J, Battista G, Petrone DM, Petrone ME, DeVizio W, Volpe AR, Proskin HM.
- 14) J Clin Dent. 2000; 11: 72-5. A clinical comparison of two calculus-inhibiting dentifrices. Conforti N, Berta R, Petrone ME, DeVizio W, Volpe AR, Proskin HM.
- 15) J Dent Res. 1988; 67: 1468-75. Composition of pooled resting plaque fluid from caries-free and caries-susceptible individuals. Margolis HC, Duckworth JH, Moreno EC.
- 16) Community Dent Oral Epidemiol 2005; 33: 349-56. Evidence for putting the calculus: caries inverse relationship to work. Duckworth RM, Huntington E.

第5章：HAに関する飽和度の計算法

- 1) J Dent Res. 1988; 67: 1181-9. Composition of human plaque fluid. Moreno EC, Margolis HC. Erratum in J Dent Res 1988; 67: inside back cov.
- 2) 口腔衛生学会雑誌. 1991; 41: 596-606. ヒトエナメル質脱灰におよぼす乳酸緩衝液の飽和度および溶存フッ素濃度の影響について：Single thin section 法による研究. 中嶋省志, Moreno EC.
- 3) Wikipedia; Debye-Hückel theory
- 4) Wikipedia; ion strength

第6章：脱灰液中のミネラルイオン濃度が脱灰に及ぼす影響

- 1) J Dent Res. 1999; 78: 1326-35. Kinetics of enamel demineralization in vitro. Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL Jr, Moreno EC.
- 2) ザ・クインテセンス 2013. 32. Hidden Caries を考える。う蝕窩洞発症以前に介入することは可能なのか？ PART 1: Hidden Caries を知る。中嶋省志.
- 3) Dent Update. 1997. 24: 182-184. Occlusal 'hidden caries'. Weerheijm KL.
- 4) Int Dent J. 1997. 47: 259-265. Hidden caries: what is it? Does it exist? Does it matter? Ricketts D, Kidd E, Weerheijm K, de Soet H.
- 5) Caries Res. 2006. 40: 38-42. The effect of adjacent dentine blocks on the demineralisation and remineralisation of enamel in vitro. Lynch RJ, Ten Cate JM.
- 6) Caries Res. 1997. 31: 30-34. The effect of fluoridation on the occurrence of hidden caries in clinically sound occlusal surfaces. Weerheijm KL, Kidd EA, Groen HJ.
- 7) Int J Paediatr Dent. 2013; 23: 72-6. Effect of the widespread use of fluorides on the occurrence of hidden caries in children. Hashizume LN, Mathias TC, Cibils DM, Maltz M.
- 8) ASDC J Dent Child. 1990. 57: 428-432. Occlusal hidden caries: a bacteriological profile. Weerheijm KL, de Soet JJ, de Graaff J, van Amerongen WE.
- 9) Caries Res. 2007; 41: 26-33. Diet intake and caries prevalence in four-year-old children living in a low-prevalence country. Ohlund I, Holgerson PL, Backman B, Lind T, Hernell O, Johansson I.

- 10) Am J Dent. 1990; 3: 217-23. Effects of processed cheese on human plaque pH and demineralization and remineralization. Jensen ME, Wefel JS.
- 11) Oral Health Prev Dent. 2018; 16: 169-174. Effect of Paneer and Cheese Consumption on Salivary Acidogenicity and Calcium Concentration: A Comparative Study. Somaraj V, Shenoy RP, Panchmal GS, Jodalli PS, Sonde L, Nagaraj K.
- 12) Aust Dent J. 1991; 36: 120-5. The effect of cheese on dental caries: a review of the literature. Herod EL.
- 13) Nutr Rev. 2002; 60: 97-103. Cheese consumption and the development and progression of dental caries. Kashket S, DePaola DP.
- 14) J Dent Res. 2006; 85: 359-63. Enamel demineralization in primary and permanent teeth. Wang LJ, Tang R, Bonstein T, Bush P, Nancollas GH.
- 15) 日本歯科保存学雑誌. 2014; 57: 111-120. エナメル質臨界 pH についての理論的考察. -なぜ, pH5.3 付近なのか-. 中嶋省志, SADR Alireza, 田上順次.
- 16) Arch Oral Biol. 1987; 32: 319-22. The mineral solubility of human tooth roots. Hoppenbrouwers PM, Driessens FC, Borggreven JM.
- 17) J Dent Res. 1988; 67: 1181-9. Composition of human plaque fluid. Moreno EC, Margolis HC. Erratum in J Dent Res 1988; 67: inside back cov.
- 18) 日本口腔衛生学会 2007 年学術大会抄録(#23, p426). ヒト象牙質粉末を用いた酸溶解性の検討; 象牙質の脱灰臨界 pH の推定の基礎的研究. 福田康, 松山和正, 中嶋省志, 氏家高志.

第 7 章 : 脱灰液中のフッ化物イオン濃度が脱灰に及ぼす影響

- 1) Scand J Dent Res. 1991; 99: 372-7. Effect of fluoride mouthrinsing on caries lesion development in shark enamel: an in situ caries model study. Ogaard B, Rölla G, Dijkman T, Ruben J, Arends J.
- 2) Scand J Dent Res. 1988; 96: 209-11. Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. Ogaard B, Rölla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J.
- 3) J Dent Res. 1986; 65: 23-9. Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization in vitro. Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ.
- 4) Caries Res. 1991; 25: 123-9. Oral fluoride retention after use of fluoride dentifrices. Duckworth RM, Morgan SN.
- 5) J Dent Res. 1992; 71 Spec No: 841-5. Fluoride availability in human saliva after dentifrice use: correlation with anticaries effects in rats. Afflitto J, Schmid R, Esposito A, Toddywala R, Gaffar A.
- 6) Acta Odontol Scand. 1997; 55: 84-7. Salivary fluoride concentration in adults after different fluoride procedures. Seppä L, Salmenkivi S, Hausen H.
- 7) Caries Res. 1991; 25: 287-91. Effect of mouthrinsing after toothbrushing with a fluoride dentifrice on human salivary fluoride levels. Duckworth RM, Knoop DT, Stephen KW.
- 8) 口腔衛生学会雑誌. 1991; 41: 596-606. ヒトエナメル質脱灰におよぼす乳酸緩衝液の飽和度および溶存フッ素濃度の影響について : Single thin section 法による研究. 中嶋省志, Moreno EC.
- 9) Nature. 1974; 246: 64-65. Fluoridated hydroxyapatite solubility and caries formation. Moreno EC, Kresak M, Zahradinic R.

- 10) Archives of Oral Biology, 2007; 52: 861-868. Solubility of calcium fluoride and fluorapatite by solid titration. Pan HB, Darvell BW.
- 11) Caries Res. 2000; 34: 388-94. In situ acid resistance of in vivo formed white spot lesions. Iijima Y, Takagi O.
- 12) Caries Res. 2004; 38: 551-6. Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. Iijima Y, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC.
- 13) Aust Dent J. 2011; 56: 394-400. Remineralization and acid resistance of enamel lesions after chewing gum containing fluoride extracted from green tea. Suyama E, Tamura T, Ozawa T, Suzuki A, Iijima Y, Saito T.

第8章：プラークに取り込まれたフッ化物の効果と動態

- 1) J Dent Res. 1992; 71: 1768-75. Fluoride concentrations in plaque, whole saliva, and ductal saliva after application of home-use topical fluorides [published erratum appears in J Dent Res 1993; 72: 87]. Zero DT, Raubertas RF, Fu J, Pedersen AM, Hayes AL, Featherstone JD.
- 2) J Dent Res. 1988; 67: 1181-89. Composition of human plaque fluid. Moreno EC, Margolis HC. Erratum in J Dent Res 1988; 67: inside back cov.
- 3) Crit Rev Oral Biol Med. 1994; 5: 1-25. Composition and cariogenic potential of dental plaque fluid. Margolis HC, Moreno EC.
- 4) J Dent Res. 1990; 69 No: 645-52; discussion 682-3. Fluoride in dental plaque and its effects. Tatevossian A.
- 5) Arch Oral Biol. 2002; 47: 779-90. Calcium phosphate deposition in human dental plaque microcosm biofilms induced by a ureolytic pH-rise procedure. Wong L, Sissons CH, Pearce EI, Cutress TW.
- 6) Caries Res. 2009; 43: 278-85. Mechanism of fluoride dentifrice effect on enamel demineralization. Tenuta LM, Zamataro CB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA.
- 7) J Dent Res. 1992; 71:448-52. In vivo fluoride concentrations measured for two hours after a NaF or a novel two-solution rinse. Vogel GL, Mao Y, Carey CM, Chow LC, Takagi S.
- 8) J Dent Res. 2015; 94: 602-7. Biofilm layers affect the treatment outcomes of NaF and Nano-hydroxyapatite. Zhang M, He LB, Exterkate RA, Cheng L, Li JY, Ten Cate JM, Crielaard W, Deng DM.
- 9) J Dent Res. 1995; 74: 1689-94. Lipoteichoic acid inhibits remineralization of artificial subsurface lesions and surface-softened enamel. Damen JJ, Exterkate RA, ten Cate JM.
- 10) Scand J Dent Res. 1977; 85: 387-91. Adsorption of Streptococcus mutans lipoteichoic acid to hydroxyapatite. Ciardi JE, Röllä G, Bowen WH, Reilly JA.
- 11) Arch Oral Biol. 1994; 39: 753-7. Adsorption of [3H]-lipoteichoic acid to hydroxyapatite and its effect on crystal growth. Damen JJ, de Soet JJ, ten Cate JM.
- 12) Arch Oral Biol. 1994; 39: 141-6. Inhibition of hydroxyapatite crystal growth by lipoteichoic acid. Damen JJ, ten Cate JM.
- 13) Caries Res. 2012; 46: 460-6. Effect of fluoridated milk on enamel and root dentin demineralization evaluated by a biofilm caries model. Giacaman RA, Muñoz MJ, Ccahuana-Vasquez RA, Muñoz-Sandoval C, Cury JA.
- 14) Caries Res. 1976; 10: 72-80. Effect of pH on the fluoride ion activity of plaque. Birkeland JM, Charlton G.

- 15) *Arch Oral Biol.* 1980; 25: 517-22. Ionized and bound fluoride in resting and fermenting dental plaque and individual human caries experience. Agus HM, Un PS, Cooper MH, Schamschula RG.
- 16) *Arch Oral Biol.* 1999; 44: 253-8. Release of mineral ions in dental plaque following acid production. Tanaka M, Margolis HC.
- 17) *J Dent Res.* 1992; 71: 1553-7. Distribution of fluoride in saliva and plaque fluid after a 0.048 mol/L NaF rinse. Vogel GL, Carey CM, Ekstrand J.
- 18) *Infect Immun.* 1977; 18: 680-7. Fluoride uptake by *Streptococcus mutans* 6715. Whitford GM, Schuster GS, Pashley DH, Venkateswarlu P.
- 19) *Scand J Dent Res.* 1984; 92: 190-7. Fluoride retention in sound and demineralized enamel in vivo after treatment with a fluoride varnish (Duraphat). Ogaard B, Rølla G, Helgeland K.
- 20) *J Dent.* 2015; 43: 219-24. Dentifrice pH but not consistency may affect fluoride uptake in plaque. Cardoso CA, Levy FM, Peres-Buzalaf C, Buzalaf MA.
- 21) *J Dent Res.* 1980; 59: 1187-91. Uptake of fluoride by cells of *Streptococcus mutans* in dense suspensions. Eisenberg AD, Marquis RE.
- 22) *Arch Oral Biol.* 1976; 21: 459-64. Fluoride accumulation by a strain of human oral *Streptococcus sanguis*. Kashket S, Rodriguez VM.
- 23) *Pediatric Dental Journal* 2012; 22: 140-144. Effect of pH on fluoride penetration into natural human plaque. Takeshi Tokura, Colin Robinson, Philip Watson, Hani Abudiak, Takashi Nakano, Kimihiko Higashi, Tomokazu Naganawa, Kazuo Kato, Osamu Fukuta, Haruo Nakagaki.
- 24) *J Dent Res.* 2005; 84: 451-5. Penetration of fluoride into natural plaque biofilms. Watson PS, Pontefract HA, Devine DA, Shore RC, Nattress BR, Kirkham J, Robinson C.
- 25) *Caries Res.* 2002; 36: 256-65. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM.
- 26) *Caries Res.* 2010; 44: 108-15. No calcium-fluoride-like deposits detected in plaque shortly after a sodium fluoride mouthrinse. Vogel GL, Tenuta LM, Schumacher GE, Chow LC.
- 27) *Caries Research* 1996; 30: 458-464. The role of cation bridging in microbial fluoride binding. Rose RK, Shellis RP, Lee AR.
- 28) *Caries Res.* 1992; 26: 56-8. Fluoride uptake and clearance from the buccal mucosa following mouthrinsing (short communication). Jacobson AP, Stephen KW, Strang R.
- 29) *Pediatr Dent.* 1991; 13: 103-5. Salivary fluoride concentrations in children with various systemic fluoride exposures. Wilson AC, Bawden JW.
- 30) *Community Dent Oral Epidemiol.* 1976; 4: 210-4. Associations between the total fluoride content of dental plaque and individual caries experience in Australian children. Agus HM, Schamschula RG, Barmes DE, Bunzel M.
- 31) *J Dent Assoc S Afr.* 1994; 49: 5-10. The relationship between plaque index scores, fluoride content of plaque, plaque pH, dental caries experience and fluoride concentration in drinking water in a group of primary school children. Hartshorne JE, Grobler SR, Louw AJ, Carstens IL, Laubscher JA.

- 32) *J Dent Res.* 1990; 69: 436-41. Prevention of population shifts in oral microbial communities in vitro by low fluoride concentrations. Bradshaw DJ, McKee AS, Marsh PD.
- 33) *Oral Microbiol Immunol.* 1991; 6: 288-91. Acidogenesis in relation to fluoride resistance of *Streptococcus mutans*. Van Loveren C, Van de Plassche-Simons YM, De Soet JJ, De Graaff J, Ten Cate JM.
- 34) *J Dent Res.* 1990; 69 (Spec Iss), 660-667. Biological effects of fluoride on oral bacteria. Hamilton IR.
- 35) *Caries Res.* 1977; 11 Suppl 1:262-91. Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. Hamilton IR.
- 36) *Arch Oral Biol.* 1981; 26: 615-23. Uptake of fluoride and its inhibitory effects in oral microorganisms in culture. Edgar WM, Cockburn MA, Jenkins GN.
- 37) *Oral Microbiol Immunol.* 1997; 12: 91-7. Inhibition of purified enolases from oral bacteria by fluoride. Guha-Chowdhury N, Clark AG, Sissons CH.
- 38) *J Dent Res.* 2011; 90: 1463-8. Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm in vivo. Takahashi N, Washio J.
- 39) *Caries Res.* 2001; 35 Suppl 1: 65-70. Antimicrobial activity of fluoride and its in vivo importance: identification of research questions. Van Loveren C.
- 40) *J Dent Res.* 1990; 69 Spec No: 676-81; discussion 682-3. The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. Van Loveren C.
- 41) *Caries Res.* 2002; 36: 53-7. Acidogenicity of buccal plaque after a single rinse with amine fluoride - stannous fluoride mouthrinse solution. Damen JJ, Buijs MJ, ten Cate JM.
- 42) *Acta Odontol Scand.* 1978; 36: 211-8. The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity in situ (Stephan curve). Svatun B, Attramadal A.
- 43) *J Clin Dent.* 1995; 6 Spec No: 80-3. Antimicrobial effects of a stabilized stannous fluoride dentifrice in reducing plaque acid production--a single-brushing PGRM study. Liang N, White DJ, Cox E, Busemeyer BA.
- 44) *Scand J Dent Res.* 1980; 88: 389-96. Thiol groups and reduced acidogenicity of dental plaque in the presence of metal ions in vivo. Oppermann RV, Rølla G, Johansen JR, Assev S.
- 45) *Scand J Dent Res.* 1980; 88: 476-80. Effect of fluoride and non-fluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. Oppermann RV, Johansen JR.
- 46) *Arch Oral Biol.* 2002; 47: 117-29. Inhibitory effect of ZnCl₂ on glycolysis in human oral microbes. He G, Pearce EI, Sissons CH.
- 47) *Caries Res.* 1988; 22: 371-4. Effect of a combination of copper and hexetidine on the acidogenicity and copper accumulation in dental plaque in vivo. Grytten J, Aamdal Scheie A, Afseth J.
- 48) *J Oral Rehabil.* 1997; 24: 350-7. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against *Candida albicans* growth and/or acid production. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo MB, Murata H, Nakanoda S.

第9章：脱灰液に含まれる有機酸の濃度や種類の影響

- 1) *Crit Rev Oral Biol Med.* 1994; 5: 1-25. Composition and cariogenic potential of dental plaque fluid. Margolis HC, Moreno EC.

- 2) *J Dent Res.* 1985; 64: 786-92. Importance of high pKA acids in cariogenic potential of plaque. Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ.
- 3) *J Dent Res.* 1999; 78: 1326-35. Kinetics of enamel demineralization in vitro. Margolis HC, Zhang YP, Lee CY, Kent RL Jr, Moreno EC.
- 4) Stability constant of metal ion complexes. Suppl. 1, Special Publ., No 25 (Chemical Society, London 1971), ed Sillen LG and Martell AE. Metcalfe and Cooper Ltd (London).
- 5) *Calcif Tissue Int.* 1992; 50: 137-43. Kinetics of hydroxyapatite dissolution in acetic, lactic, and phosphoric acid solutions. Margolis HC, Moreno EC.
- 6) *J Dent Res.* 1977; 56: 524-30. Quantitative study of enamel dissolution under conditions of controlled hydrodynamics. White W, Nancollas GH.
- 7) *Adv Dent Res.* 1997; 11: 566-75. The relationship between surface free-energy and kinetics in the mineralization and demineralization of dental hard tissue. Wu W, Nancollas GH.
- 8) *J Dent Res.* 1987; 66: 1425-30. Effect of acid type on kinetics and mechanism of dental enamel demineralization. Patel MV, Fox JL, Higuchi WI.

第 10 章 : 初期う蝕 (表層下脱灰) の特徴

- 1) *Br Dent J.* 1990; 169: 126-9. The prevalence of clinically undetected occlusal dentine caries in Scottish adolescents. Creanor SL, Russell JI, Strang DM, Stephen KW, Burchell CK.
- 2) *Br Dent J.* 1993 22; 174: 364-70. Visual and radiographic diagnosis of occlusal caries in first permanent molars and in second primary molars. Ketley CE, Holt RD.
- 3) *J Dent Res.* 1932; 12: 619-627. Incipient dental caries. Applebaum E.
- 4) *Dent Cosmos.* 1935; 77: 931-941. Tissue changes in caries. Applebaum E.
- 5) *Oper Dent.* 1999; 24: 312-5. Digital radiology and image analysis for approximal caries diagnosis. Forner L, Llana MC, Almerich JM, García-Godoy F.
- 6) *Adv Dent Res.* 1993; 7: 70-9. Advances in methods for diagnosing coronal caries--a review. Angmar-Månsson B, ten Bosch JJ.
- 7) *Quintessence Int.* 2018; 49: 293-299. In-vivo performance of impedance spectroscopy, laser fluorescence, and bitewing radiographs for occlusal caries detection. Mortensen D, Hessing-Olsen I, Ekstrand KR, Twetman S.
- 8) *Eur J Oral Sci.* 2016; 124: 188-94. Validation of DIAGNOdent laser fluorescence and the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) in diagnosis of occlusal caries in permanent teeth: an in vivo study. Castilho LS, Cotta FV, Bueno AC, Moreira AN, Ferreira EF, Magalhães CS.
- 9) *J Adv Prosthodont.* 2017; 9: 432-438. Detection of proximal caries using quantitative light-induced fluorescence-digital and laser fluorescence: a comparative study. Yoon HI, Yoo MJ, Park EJ.
- 10) *Am J Dent.* 2014; 27: 291-5. Remineralization of early caries by chewing sugar-free gum: a clinical study using quantitative light-induced fluorescence. Dong Y, Yin W, Hu D, Zhang X, Xu L, Dodds WJ, Tian M.
- 11) *Caries Res.* 2015; 49: 434-41. Effect of CPP-ACP Paste on Enamel Carious Lesion of Primary Upper Anterior Teeth Assessed by Quantitative Light-Induced Fluorescence: A One-Year Clinical Trial. Sitthisetapong T, Doi T, Nishida Y, Kambara M, Phantumvanit P.

- 12) *J Dent*. 2017; 62: 31-35. OCT assessment of non-cavitated occlusal carious lesions by variation of incidence angle of probe light and refractive index matching. Park KJ, Haak R, Ziebolz D, Krause F, Schneider H.
- 13) *J Biomed Opt*. 2003; 8: 642-7. Correlation of quantitative light-induced fluorescence and optical coherence tomography applied for detection and quantification of early dental caries. Amaechi BT, Podoleanu A, Higham SM, Jackson DA.
- 14) *J Biomed Opt*. 2011; 16: 071408. Estimation of lesion progress in artificial root caries by swept source optical coherence tomography in comparison to transverse microradiography. Natsume Y, Nakashima S, Sadr A, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y.
- 15) *Pediatr Dent*. 2015; 37: E14-22. In Vivo and In Vitro performance of Conventional Methods, DIAGNOdent, and an Electronic Caries Monitor for Occlusal Caries Detection in Primary Teeth. Kucukyilmaz E, Sener Y, Botsali MS.
- 16) *J Dent Res*. 2004; 83 Spec No C: C76-9. Electrical measurements for use in caries clinical trials. Longbottom C, Huysmans MC.
- 17) *J Dent Res*. 1997; 76: 875-82. Quantitative diagnosis of small approximal caries lesions utilizing wavelength-dependent fiber-optic transillumination. Vaarkamp J, Ten Bosch JJ, Verdonchot EH, Tranaeus S.
- 18) *Caries Res*. 2000; 34: 2-7. Prevalence of dental caries in Latvian 11- to 15-year-Old children and the enhanced diagnostic yield of temporary tooth separation, FOTI and electronic caries measurement. Deery C, Care R, Chesters R, Huntington E, Stelmachonoka S, Gudkina Y.
- 19) *J Am Dent Assoc*. 2005; 136: 1682-7. Digital imaging fiber-optic trans-illumination, F-speed radiographic film and depth of approximal lesions. Young DA, Featherstone JD.
- 20) *J Am Dent Assoc*. 2018; 149: 299-307.e1. Influence of 2 caries-detecting devices on clinical decision making and lesion depth for suspicious occlusal lesions: A randomized trial from The National Dental Practice-Based Research Network. Makhija SK, Bader JD, Shugars DA, Litaker MS, Nagarkar S, Gordan VV, Rindal DB, Pihlstrom DJ, Mungia R, Meyerowitz C, Gilbert GH; National Dental Practice-Based Research Network (PBRN) Collaborative Group.
- 21) *J Evid Based Med*. 2016; 9: 213-224. Laser fluorescence of caries detection in permanent teeth in vitro: a systematic review and meta-analysis. Rosa MI, Schambeck VS, Dondossola ER, Alexandre MC, Tuon L, Grande AJ, Hugo F.
- 22) *J Evid Based Dent Pract*. 2006; 6: 91-100. The evidence supporting alternative management strategies for early occlusal caries and suspected occlusal dentinal caries. Bader JD, Shugars DA.
- 23) *J Dent*. 2006; 34: 727-39. Caries detection and diagnosis: novel technologies. Pretty IA.
- 24) *J Dent Res*. 2004; 83 Spec No C: C84-8. Optical methods--quantitative light fluorescence. Stookey GK.
- 25) www.icdas.org/. (2019年3月アクセス)
- 26) healthcare.gr.jp/resource/journal/2009/aj11_3.pdf
- 27) Zandoná AF Zero DT. Diagnostic tools for early caries detection. **J Am Dent Assoc**, Vol 137, No 12, 1675-1684. 2006.

- 28) Diniz, MB, Lima LM, Santos-Pinto L, Eckert GJ, Ferreira Zandoná AG, and de Cassia Loiola Cordeiro R. Influence of the ICDAS E-Learning Program for Occlusal Caries Detection on Dental Students. **J Dent Educ.** 2010 74: 862-868.
- 29) <https://www.nichigakushi.or.jp/news/pdf/110412.pdf>. 学校歯科保健ってな~に? - 日本学校歯科医会
- 30) ザ・クインテセンス 2013. 32. Hidden Caries を考える. う蝕窩洞発症以前に介入することは可能なのか? PART1: Hidden Caries を知る. 中嶋省志.
- 31) Dent Update. 1997. 24: 182-184. Occlusal 'hidden caries'. Weerheijm KL.
- 32) Int Dent J. 1997. 47: 259-265. Hidden caries: what is it? Does it exist? Does it matter? Ricketts D, Kidd E, Weerheijm K, de Soet H.
- 33) Caries Res. 2006. 40: 38-42. The effect of adjacent dentine blocks on the demineralisation and remineralisation of enamel in vitro. Lynch RJ, Ten Cate JM.
- 34) Caries Res. 1997. 31: 30-34. The effect of fluoridation on the occurrence of hidden caries in clinically sound occlusal surfaces. Weerheijm KL, Kidd EA, Groen HJ.
- 35) Int J Paediatr Dent. 2013; 23: 72-6. Effect of the widespread use of fluorides on the occurrence of hidden caries in children. Hashizume LN, Mathias TC, Cibils DM, Maltz M.
- 36) ASDC J Dent Child. 1990. 57: 428-432. Occlusal hidden caries: a bacteriological profile. Weerheijm KL, de Soet JJ, de Graaff J, van Amerongen WE.
- 37) 口腔衛生学会 2002 年総会抄録. 演題番号 10146. QLF 初期う蝕検出システムによるエナメル質の非脱灰性白色部の計測. 松山和正, 村田省三, 斎藤浩一, 長沼健, 金子憲司, 中嶋省志.
- 38) Monogr Oral Sci. 2000; 17: 144-62. Application of quantitative light-induced fluorescence for assessing early caries lesions. van der Veen MH, de Josselin de Jong E.
- 39) Caries Res. 2001; 35: 21-6. Comparison of QLF and DIAGNOdent for quantification of smooth surface caries. Shi XQ, Tranaeus S, Angmar-Månsson B.
- 40) 口腔衛生学会雑誌. 2003; 53: 383-384. QLF 法によるフッ素歯磨剤の初期う蝕改善効果に関する臨床研究(第一報) 初期う蝕の改善効果. 中嶋省志, 斎藤浩一, 藤川晴彦, 氏家高志, 上村参生, 中矢健二, 薬師寺健太郎, 伊津元博, 田中秀直, 神原正樹.
- 41) Eur J Orthod. 2007; 29: 294-8. Caries lesions after orthodontic treatment followed by quantitative light-induced fluorescence: a 2-year follow-up. Mattousch TJ, van der Veen MH, Zentner A.
- 42) Photodiagnosis Photodyn Ther. 2018; 23:176-180. Early caries detection methods according to the depth of the lesion: An in vitro comparison. Kim HE, Kim BI.
- 43) Connect Tissue Res. 1998; 38: 61-72; discussion 73-9. Determination of mineral concentration in dental enamel from X-ray attenuation measurements. Elliott JC, Wong FS, Anderson P, Davis GR, Dowker SE.

第 11 章：表層下脱灰の形成メカニズム

- 1) Arch Oral Biol. 1966; 11: 397-421. Kinetics of enamel dissolution during formation of incipient caries-like lesions. Gray JA.
- 2) J Dent Res. 1992; 71: 1473-81. Subsurface demineralization in dental enamel and other permeable solids during acid dissolution. Anderson P, Elliott JC.

- 3) Arch Oral Biol. 1967; 12: 85-97. Variations of enamel density in sections of human teeth. Weidmann SM, Weatherell JA, Hamm SM.
- 4) Arch Oral Biol. 2011; 56: 997-1004. Mineral densities and elemental content in different layers of healthy human enamel with varying teeth age. He B, Huang S, Zhang C, Jing J, Hao Y, Xiao L, Zhou X.
- 5) Arch Oral Biol. 2004; 49: 937-44. X-ray microtomographic study of mineral concentration distribution in deciduous enamel. Wong FS, Anderson P, Fan H, Davis GR.
- 6) Arch Oral Biol. 1975; 20:317-25. Structural features of human dental enamel as revealed by isothermal water vapour sorption. Zahradnik RT, Moreno EC.
- 7) Caries Res. 1981; 15: 70-7. Distribution of magnesium in mature human enamel. Robinson C, Weatherell JA, Hallsworth AS.
- 8) Pediatric Dental Journal. 2012. 22: 103-109. Distribution of fluoride and magnesium concentrations in deciduous tooth enamel of children with cerebral palsy and Down syndrome. Yoshitaka Kusabe, Takashi Nakano, Takuma Okamoto, Shinji Tsuboi, Susumu Matsumoto, Haruo Nakagaki, Osamu Fukuta.
- 9) J Dent Res. 1976; 55: 664-70. Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ.
- 10) Acta Odontol Scand. 2017; 75: 376-378. Fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate reduce enamel demineralization in vitro. Manarelli MM, Delbem ACB, Báez-Quintero LC, de Moraes FRN, Cunha RF, Pessan JP.
- 11) Caries Res. 2013; 47: 532-8. In vitro evaluation of the effect of mouth rinse with trimetaphosphate on enamel demineralization. Favretto CO, Danelon M, Castilho FC, Vieira AE, Delbem AC.
- 12) J Biol Buccale. 1984; 12: 339-48. Influence of EHDP and F on Ca and P loss from enamel during the intra-oral cariogenicity test. Wöltgens JH, Qua C, de Blicke-Hogervorst JM.
- 13) J Biol Buccale. 1986; 14: 231-4. Hardness changes and mineral loss in enamel during the intra oral cariogenicity test in the presence of 0.125% EHDP with or without 0.1% F-. Van Croonenburg EJ, Wöltgens JH, Qua CJ, de Blicke-Hogervorst JM.
- 14) J Dent Res. 1991; 70: 123-6. The effect of EHDP concentration on enamel demineralization in vitro. Christoffersen J, Christoffersen MR, Ruben J, Arends J.
- 15) Caries Res. 1992; 26: 409-17. Effects of fluoride and methanhydroxydiphosphate on enamel and on dentine demineralization. Arends J, Christoffersen J, Buskes JA, Ruben J.
- 16) Arch Oral Biol. 1978; 23: 397-404. Surface layer phenomena in in-vitro early caries-like lesions of human tooth enamel. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW.
- 17) Arch Oral Biol. 1979; 24: 101-12. A mechanism for dental caries based on chemical processes and diffusion phenomena during in-vitro caries simulation on human tooth enamel. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW.
- 18) 口腔衛生学会雑誌. 1991; 41: 596-606. ヒトエナメル質脱灰におよぼす乳酸緩衝液の飽和度および溶存フッ素濃度の影響について : Single thin section 法による研究. 中嶋省志, Moreno EC.
- 19) Caries Res 1986; 20: 510-517. Lesion Formation in Abraded Human Enamel. Influence of the Gradient in Solubility and the Degree of Saturation of Buffer Solutions on the Lesion Characteristics. Theuns HM, Driessens FCM, van Dijk JWE.

- 20) Japanese Journal of Oral Biolo. (齒科基礎医学会雜誌) 1979; 21: 279-284. Solid-solution interfacial phenomena at the synthetic hydroxyapatite pellet surface. 2. Effects of ion permselective membranes on the acid dissolution of pellets. Okazaki M, Takahashi J, Doi Y, Moriwaki Y, Aoba T.
- 21) Caries Res 1985; 19: 403-406. Scanning X-Ray Microradiographic Study of the Formation of Caries-Like Lesions in Synthetic Apatite Aggregates. Anderson P, Elliott JC.
- 22) Caries Res. 1992; 26: 290-2. Effect of hard cheese exposure, with and without fluoride prerinse, on the rehardening of softened human enamel. Gedalia I, Davidov I, Lewinstein I, Shapira L.
- 23) Arch Oral Biol. 1987; 32: 75-80. Protein and mineral changes in bovine enamel during in-vitro demineralization. van der Linden AH, Booij M, ten Bosch JJ, Arends J.
- 24) Caries Res. 1985; 19: 22-35. Kinetic and thermodynamic aspects of enamel demineralization. Margolis HC, Moreno EC.
- 25) Arch Oral Biol. 1967; 12: 1505-21. Some aspects of the ultrastructure of early human enamel caries seen with the electron microscope. Johnson NW.
- 26) J Oral Pathol. 1981; 10: 32-9. The intact surface layer in natural enamel caries and acid-dissolved hydroxyapatite pellets. An X-ray diffraction study. Aoba T, Moriwaki Y, Doi Y, Ozkazaki M, Takahashi J, Yagi T.
- 27) J Dent Res. 1974; 53: 226-35. Chemistry of enamel subsurface demineralization in vitro. Moreno EC, Zahradnik RT.
- 28) Arch Oral Biol. 1978; 23: 397-404. Surface layer phenomena in in-vitro early caries-like lesions of human tooth enamel. Featherstone JD, Duncan JF, Cutress TW.
- 29) J Dent Res. 1992; 71: 25-31. The effect of sucrose on plaque pH in the primary and permanent dentition of caries-inactive and -active Kenyan children. Fejerskov O, Scheie AA, Manji F.
- 30) Caries Res. 1987; 21: 310-25. Ultramicro analysis of the fluid in human enamel during in vitro caries attack by hydrochloric acid. Vogel GL, Carey CM, Chow LC, Gregory TM, Brown WE.
- 31) J Dent Res. 1991; 70: 1479-85. Permselectivity of sound and carious human dental enamel as measured by membrane potential. Carey CM, Vogel GL, Chow LC.
- 32) J Dent Res. 1988; 67: 1172-80. Micro-analysis of mineral saturation within enamel during lactic acid demineralization. Vogel GL, Carey CM, Chow LC, Gregory TM, Brown WE.
- 33) J Dent Res. 1984; 63: 868-73. A physicochemical bench-scale caries model. Chow LC, Brown WE.
- 34) J Dent Res. 1986; 65: 1115-20. Effects of neutral salts in a bench-scale caries model. Brown WE, Chow LC.
- 35) J coll interface sci. 1987; 118: 262-269. Subsurface dissolution and precipitation during leaching of porous ionic solids. Leaist DG.
- 36) Caries Res. 1997; 31: 125-31. Relative ability of laser fluorescence techniques to quantitate early mineral loss in vitro. Ando M, Hall AF, Eckert GJ, Schemehorn BR, Analoui M, Stookey GK.
- 37) Clin Oral Investig. 2015; 19: 1947-54. Fluoride dose-response of human and bovine enamel artificial caries lesions under pH-cycling conditions. Lippert F, Juthani K.
- 38) J Dent Res. 1985; 64 Spec No: 607-12. The dentin-predentin complex and its permeability: anatomical overview. Thomas HF.

- 39) Arch Oral Biol. 1976; 21: 355-62. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. Garberoglio R, Brännström M.
- 40) Caries Res. 2013; 47: 162-70. Different protocols to produce artificial dentine carious lesions in vitro and in situ: hardness and mineral content correlation. Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Yu H, Buzalaf MA, Magalhães AC.
- 41) J Dent Res. 1997; 76: 1845-53. Arrest of root surface caries in situ. Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O.
- 42) J Dent. 2005; 33: 269-73. Development of an in situ root caries model B. In situ investigations. Smith PW, Preston KP, Higham SM.
- 43) Caries Res. 2000; 34: 395-403. Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. Kawasaki K, Ruben J, Tsuda H, Huysmans MC, Takagi O.
- 44) Dent Mater J. 2016; 35: 769-775. Effects of zinc fluoride on inhibiting dentin demineralization and collagen degradation in vitro: A comparison of various topical fluoride agents. Thanatvarakorn O, Islam MS, Nakashima S, Sadr A, Nikaido T, Tagami J.

第 12 章 : 局所塗布剤の作用メカニズムとフッ化カルシウム様物質

- 1) Community Dent Oral Epidemiol. 1999; 27: 62-71. A re-examination of the pre-eruptive and post-eruptive mechanism of the anti-caries effects of fluoride: is there any anti-caries benefit from swallowing fluoride? Limeback H.
- 2) J Public Health Dent. 2004; 64: 101-5. Caries prevalence in a rural Chilean community after cessation of a powdered milk fluoridation program. Mariño RJ, Villa AE, Weitz A, Guerrero S.
- 3) Caries Res. 2004; 38: 258-62. Systemic versus topical fluoride. Hellwig E, Lennon AM.
- 4) Acta Odontol Scand. 1980; 38: 219-22. The effects of stannous and stannic ions on the formation and acidogenicity of dental plaque in vivo. Ellingsen JE, Svaton B, Rölla G.
- 5) Arch Oral Biol. 1987; 32: 807-10. Effects of NaF and SnF₂ on growth, acid and glucan production of several oral streptococci. Zameck RL, Tinanoff N.
- 6) J Clin Dent. 1995; 6 Spec No: 84-8. Effect of a stabilized stannous fluoride dentifrice on plaque acid (toxin) production. White DJ, Cox ER, Gwynn AV.
- 7) Arch Oral Biol. 1977; 22: 405-7. The decomposition of monofluorophosphate by enzymes in whole human saliva. Pearce EI, Jenkins GN.
- 8) J Dent Res. 1982; 61: 953-6. In vitro hydrolysis of monofluorophosphate by dental plaque microorganisms. Jackson LR.
- 9) Caries Res. 1987; 21: 97-103. Sodium monofluorophosphate degradation by oral streptococci, plaque and saliva. Saotome T, Gerencser VF, Lim JK.
- 10) Caries Res. 2010; 44: 55-9. Kinetics of monofluorophosphate hydrolysis in a bacterial test plaque in situ. Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Moi GP, Silva WJ, Cury JA.
- 11) Am J Dent. 1993; Spec No: S13-42. A critical review of the 10 pivotal caries clinical studies used in a recent meta-analysis comparing the anticaries efficacy of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices. Volpe AR, Petrone ME, Davies RM.

- 12) Am J Dent. 1993; 6 Spec No: S7-12. The relative anticaries effectiveness of sodium monofluorophosphate and sodium fluoride as contained in currently available dentifrice formulations. DePaola PF, Soparkar PM, Triol C, Volpe AR, Garcia L, Duffy J, Vaughan B.
- 13) J Clin Dent. 1995; 6: 135-8. Intra-oral comparison and evaluation of the ability of fluoride dentifrices to promote the remineralization of caries-like lesions in dentin and enamel. Sullivan RJ, Fletcher R, Bachiman R, Penugonda B, LeGeros RZ.
- 14) Scand J Dent Res. 1992; 100: 154-8. 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. Cruz R, Ogaard B, Rølla G.
- 15) Scand J Dent Res. 1991; 99: 96-99. Deposition of alkali-soluble fluoride on enamel surface with or without pellicle. Cruz R, Rolla G.
- 16) J Dent Res. 1990; 69 Spec No: 587-94; discussion 634-6. Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. White DJ, Nancollas GH.
- 17) Am J Dent. 2002; 15: 169-72. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. Delbem AC, Cury JA.
- 18) JADA. 2006; 137: 1151-1159. Professionally applied topical fluoride Evidence-based clinical recommendations. American Dental Association Council on Scientific Affairs.
- 19) Arch Oral Biol. 1975; 20: 333-9. Determination of the calcium fluoride formed from in vitro exposure of human enamel to fluoride solutions. Caslavská V, Moreno EC, Brudevold F.
J Dent Res. 1988; 67: 447-9. Effects of inorganic orthophosphate and pyrophosphate on dissolution of calcium fluoride in water. Lagerlöf F, Saxegaard E, Barkvoll P, Rølla G.
- 20) Uptake and retention of fluoride in sound dental enamel in vivo after a single application of 2% neutral sodium fluoride. Grobler SR, Ogaard B, Rolla G. 1981; 17-25. In: Tooth surface Interactions and Preventive Dentistry. Eds: Rolla, G, Sonji T, Embery G. London Information Retrieval Inc.
- 21) Acta Odontol Scand. 1988; 46, 355-359. Dissolution of calcium fluoride in human saliva.
- 22) Studies on the solubility of calcium fluoride in human saliva. Rolla G, Ogaard B. 1986; 45-50. In: Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Ed: Leach SA. Oxford: IRL Press Limited.
- 23) J Periodontol. 2011; 82: 445-51. Study of orthophosphate, pyrophosphate, and pyrophosphatase in saliva with reference to calculus formation and inhibition. Pradeep AR, Agarwal E, P AR, Rao MS, Faizuddin M.
- 24) J Dent Res. 1988; 67: 447-9. Effects of inorganic orthophosphate and pyrophosphate on dissolution of calcium fluoride in water. Lagerlöf F, Saxegaard E, Barkvoll P, Rølla G.
- 25) Acta Odontol Scand. 1988; 46: 347-53. 'Calcium fluoride-like' material formed in partially demineralized human enamel in vivo owing to the action of fluoridated toothpastes. Arends J, Reintsema H, Dijkman TG.

第 13 章 : フッ化物による初期う蝕の再石灰化促進メカニズム

- 1) Crit Rev Oral Biol Med 1994; 5: 1-25. Margolis HC, Moreno EC. Composition and cariogenic potential of dental plaque fluid.

- 2) Caries Res. 1990; 24: 263-6. Remineralization of human enamel in situ after 3 months: the effect of not brushing versus the effect of an F dentifrice and an F-free dentifrice. Dijkman A, Huizinga E, Ruben J, Arends J.
- 3) 口腔衛生学会誌. 1992; 42: 512-513. in vitro における脱灰エナメル質の再石灰化に及ぼす低濃度フッ素の効果. 市川恵子, 中嶋省志.
- 4) J Dent Res. 1987; 66: 1644-6. The effect of baseline lesion mineral loss on in situ remineralization. Strang R, Damato FA, Creanor SL, Stephen KW.
- 5) Int J Dent. 2017; 2017:4321925. Effect of Enamel Caries Lesion Baseline Severity on Fluoride Dose-Response. Lippert F
- 6) 日本歯科保存学会 2003 学術大会抄録; 演題 A-14 (p27). 初期う蝕再石灰化に及ぼすプラークの影響 -QLF 法および TMR 法によるインビトロ評価- 西永英司, 福田康
- 7) Caries Res. 1995; 29: 2-7. A new method for in vivo quantification of changes in initial enamel caries with laser fluorescence. de Josselin de Jong E, Sundström F, Westerling H, Tranaeus S, ten Bosch JJ, Angmar-Månsson B.
- 8) 口腔衛生学会雑誌. 2000; 50: 728-729. QLF 法(蛍光分析)による脱灰エナメル質の密度測定条件の最適化. 長沼健, 松山和正, 中嶋省志 金子憲司.
- 9) 口腔衛生学会雑誌. 2003; 53: 383-384. QLF 法によるフッ素歯磨剤の初期う蝕改善効果に関する臨床研究(第一報) 初期う蝕の改善効果. 中嶋省志, 斎藤浩一, 藤川晴彦, 氏家高志, 上村参生, 中矢健二, 薬師寺健太郎, 伊津元博, 田中秀直, 神原正樹.
- 10) デンタルハイジーン 2004; 24: 255-259. 初期齲蝕の定量・モニタリングシステム(QLF 法). 中嶋省志
- 11) Arch Oral Biol. 1994; 39: 141-6. Inhibition of hydroxyapatite crystal growth by lipoteichoic acid. Damen JJ, ten Cate JM.
- 12) J Dent Res. 1995; 74: 1689-94. Lipoteichoic acid inhibits remineralization of artificial subsurface lesions and surface-softened enamel. Damen JJ, Exterkate RA, ten Cate JM.
- 13) Scand J Dent Res. 1977; 85: 387-91. Adsorption of Streptococcus mutans lipoteichoic acid to hydroxyapatite. Ciardi JE, Rölla G, Bowen WH, Reilly JA.
- 14) Arch Oral Biol. 1994; 39: 753-7. Adsorption of [3H]-lipoteichoic acid to hydroxyapatite and its effect on crystal growth. Damen JJ, de Soet JJ, ten Cate JM.
- 15) 日本口腔衛生学会 1992 年学術大会抄録. 42: 510-511. in vitro における脱灰象牙質の再石灰化に及ぼす脱灰巢の深さおよび低濃度フッ素の影響. 福田一朗, 中嶋省志.
- 16) Am J Dent. 2009; 22: 49-54. Association between staining by caries detector dye and the corresponding mineral density in dentin caries. Sunago M, Nakashima S, Tagami J.
- 17) Clinical decision making for caries management in root surface. A report for the NHI consensus development conference on diagnosis and management of dental caries through life. 2001. Leake JK.
- 18) www.kokuhoken.or.jp/jsdh/file/news/130829/abstract.pdf 他多数
- 19) Caries Res. 2001; 35: 41-6. Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. Baysan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Petersson L, Borsboom P.
- 20) J Clin Dent. 2013; 24 Spec no A: A23-31. A clinical investigation of the efficacy of a dentifrice containing 1.5% arginine and 1450 ppm fluoride, as sodium monofluorophosphate in a calcium base, on primary root caries. Hu DY, Yin W, Li X, Feng Y, Zhang YP, Cummins D, Mateo LR, Ellwood RP.

- 21) *J Clin Dent.* 2013; 24: 79-87. Fluoride toothpaste containing 1.5% arginine and insoluble calcium as a new standard of care in caries prevention. ten Cate JM, Cummins D.
- 22) *Dent Mater J.* 2013; 32: 241-7. Cariotester, a new device for assessment of dentin lesion remineralization in vitro. Utaka S, Nakashima S, Sadr A, Ikeda M, Nikaido T, Shimizu A, Tagami J.
- 23) *Arch Oral Biol.* 2015; 60: 574-81. Formation and characterization of hypermineralized zone beneath dentine lesion body induced by topical fluoride in-vitro. Khunkar SJ, Utaka S, Hariri I, Sadr A, Ikeda M, Nakashima S, Nikaido T, Tagami J.
- 24) *Arch Oral Biol.* 2016; 68: 35-42. In vitro dentine remineralization with a potential salivary phosphoprotein homologue. Romero MJ, Nakashima S, Nikaido T, Sadr A, Tagami J.
- 25) *J Dent Res.* 1998; 77: 1622-9. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T.
- 26) *Arch Oral Biol.* 1983; 28: 185-7. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix. Dayan D, Binderman I, Mechanic GL.
- 27) *J Dent Res.* 2015; 94: 241-51. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, Pashley DH, Breschi L.
- 28) *Caries Res.* 2015; 49: 193-208. Matrix metalloproteinases and other matrix proteinases in relation to cariology: the era of 'dentin degradomics'. Tjäderhane L, Buzalaf MA, Carrilho M, Chaussain C.
- 29) *Caries Res.* 2015; 49: 1-8. Caries correlates strongly to salivary levels of matrix metalloproteinase-8. Hedenbjörk-Lager A, Bjørndal L, Gustafsson A, Sorsa T, Tjäderhane L, Åkerman S, Ericson D.
- 30) *Caries Res.* 1991; 25: 46-50. Susceptibility of the collagenous matrix from bovine incisor roots to proteolysis after in vitro lesion formation. Klont B, ten Cate JM.
- 31) *Arch Oral Biol.* 1991; 36: 299-304. Degradation of bovine incisor root collagen in an in vitro caries model. Klont B, Damen JJ, ten Cate JM.
- 32) *J Dent Res.* 1992; 71: 1498-502. Solubilization of dentin matrix collagen in situ. Van Strijp AJ, Klont B, Ten Cate JM.
- 33) *Caries Res.* 2015; 49 Suppl 1: 30-7. Role of host-derived proteinases in dentine caries and erosion. Buzalaf MA, Charone S, Tjäderhane L.
- 34) *J Dent Res.* 1994; 73: 1523-9. The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. Kleter GA, Damen JJ, Everts V, Niehof J, Ten Cate JM.
- 35) *Am J Dent.* 2009; 22: 115-21. The in vitro effect of a collagenolytic enzyme inhibitor on lesion development in root dentin. Fukuda Y, Nakashima S, Ujiiie T.
- 36) *Scand J Dent Res.* 1993; 101: 72-7. Inhibition of bovine dentin demineralization by a glutardialdehyde pretreatment: an in vitro caries study. Boonstra W, de Vries J, ten Bosch J, Ogaard B, Arends J.
- 37) *Caries Res.* 2018; 52: 297-302. The Effect of Chemically Modified Tetracycline-3 on the Progression of Dental Caries in Rats. Xu J, Miao C, Tian Z, Li J, Zhang C, Yang D.
- 38) *J Dent Res.* 2001; 80: 1545-9. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. Sulkala M, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Teronen O, Salo T, Tjäderhane L.

- 39) Caries Res. 1991; 25:39-45. Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. Klont B, ten Cate JM.
- 40) J Dent Res. 1997; 76: 1845-53. Arrest of root surface caries in situ. Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O.

第 14 章 : 唾液タンパク質 (リン・タンパク質) と再石灰化現象

- 1) J Dent Res. 1980; 59: 1430-8. Immunochemical identification and determination of proline-rich proteins in salivary secretions, enamel pellicle, and glandular tissue specimens. Kousvelari EE, Baratz RS, Burke B, Oppenheim FG.
- 2) Calcif Tissue Int. 1979; 24: 28: 7-16. Effect of human salivary proteins on the precipitation kinetics of calcium phosphate. Moreno EC, Varughese K, Hay DI.
- 3) Calcif Tissue Int. 1982; 34 Suppl 2: S33-40. Effect of fluoride on crystal growth of calcium apatites in the presence of a salivary inhibitor. Margolis HC, Varughese K, Moreno EC.
- 4) Biochem J. 1983; 1: 213: 11-20. Interaction of calcium ions and salivary acidic proline-rich proteins with hydroxyapatite. A possible aspect of inhibition of hydroxyapatite formation. Bennick A, Kells D, Madapallimattam G.
- 5) J Dent Res. 1984; 63: 857-63. Relationship between concentration of human salivary Statherin and inhibition of calcium phosphate precipitation in stimulated human parotid saliva. Hay DI, Smith DJ, Schluckebier SK, Moreno EC.
- 6) Int J Pept Protein Res. 1987; 30: 257-62. Chemical synthesis of phosphoseryl-phosphoserine, a partial analogue of human salivary Statherin, a protein inhibitor of calcium phosphate precipitation in human saliva. Schlesinger DH, Buku A, Wyssbrod HR, Hay DI.
- 7) Caries Res. 1978; 12: 159-69. Quantitative study of the interaction of salivary acidic proline-rich proteins with hydroxyapatite. Bennick A, Cannon M.
- 8) J Biol Chem. 1981; 256: 4741-6. The location and nature of calcium-binding sites in salivary acidic proline-rich phosphoproteins. Bennick A, McLaughlin AC, Grey AA, Madapallimattam G.
- 9) J Dent Res. 1969; 48: 806-10. Some observations on human saliva proteins and their role in the formation of the acquired enamel pellicle. Hay DI.
- 10) Caries Res. 1973; 7: 30-8. Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis. Sönju T, Röllä G.
- 11) Adv Dent Res. 2000; 14: 22-8. Saliva and dental pellicle--a review. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG.
- 12) Arch Oral Biol. 1991; 36: 631-6. The effects of human salivary cystatins and Statherin on hydroxyapatite crystallization. Johnsson M, Richardson CF, Bergey EJ, Levine MJ, Nancollas GH.
- 13) J Dent Res. 2015; 94: 1106-12. Hydroxyapatite Growth Inhibition Effect of Pellicle Statherin Peptides. Xiao Y, Karttunen M, Jalkanen J, Mussi MC, Liao Y, Grohe B, Lagugné-Labarthe F, Siqueira WL.
- 14) Crit Rev Oral Biol Med. 1993; 4: 251-9. Structural features of salivary function. Lamkin MS, Oppenheim FG.
- 15) J Dent Res. 1989; 68: 1303-7. Adsorbed salivary acidic proline-rich proteins contribute to the adhesion of *Streptococcus mutans* JBP to apatitic surfaces. Gibbons RJ, Hay DI.

- 16) *J Biol Chem.* 1992; 267: 5968-76. Salivary Statherin. Dependence on sequence, charge, hydrogen bonding potency, and helical conformation for adsorption to hydroxyapatite and inhibition of mineralization. Raj PA, Johnsson M, Levine MJ, Nancollas GH.
- 17) *Arch Oral Biol.* 1991; 36: 529-34. Multiple forms of Statherin in human salivary secretions. Jensen JL, Lamkin MS, Troxler RF, Oppenheim FG.
- 18) *Int J Pept Protein Res.* 1989; 34: 374-80. Complete primary structure of Statherin, a potent inhibitor of calcium phosphate precipitation, from the saliva of the monkey, *Macaca arctoides*. Schlesinger DH, Hay DI, Levine MJ.
- 19) *Structure.* 2010; 8; 18: 1678-87. Toward a structure determination method for biomineral-associated protein using combined solid- state NMR and computational structure prediction. Masica DL, Ash JT, Ndao M, Drobny GP, Gray JJ.
- 20) *Crit Rev Oral Biol M.* 1993; 4: 371-378. Hydroxyapatite binding domains in salivary proteins. Johnsson M, Levine M, Nancollas G.
- 21) *Calcif Tissue Int.* 1987; 40: 126-32. Inhibition of calcium phosphate precipitation by human salivary acidic proline-rich proteins: structure-activity relationships. Hay DI, Carlson ER, Schluckebier SK, Moreno EC, Schlesinger DH.
- 22) *Recent advances in the study of dental calculus*, ed JM. ten Cate, IRL Press at Oxford University Press, Eynsham, Oxford, England, 1989. Physical chemistry of calculus formation. Moreno EC, Aoba T, Gaffer A. p129-142.
- 23) *Caries Res.* 2008; 42: 37-45. Influence of salivary macromolecules and fluoride on enamel lesion remineralization in vitro. Fujikawa H, Matsuyama K, Uchiyama A, Nakashima S, Ujiie T.
- 24) *Caries Res.* 1990; 24: 226-30. Effect of surface zone deproteinisation on the access of mineral ions into subsurface carious lesions of human enamel. Robinson C, Hallsworth AS, Shore RC, Kirkham J.
- 25) *Caries Res.* 1998; 32: 193-9. Identification of human serum albumin in human caries lesions of enamel: the role of putative inhibitors of remineralisation. Robinson C, Shore RC, Bonass WA, Brookes SJ, Boteva E, Kirkham J.
- 26) *Caries Res.* 2000; 34: 188-93. Distribution of exogenous proteins in caries lesions in relation to the pattern of demineralisation. Shore RC, Kirkham J, Brookes SJ, Wood SR, Robinson C.
- 27) *J Inorg Biochem.* 1994; 55: 21-30. Seeded growth of hydroxyapatite in the presence of dissolved albumin. Gilman H, Hukins DW.
- 28) *J Inorg Biochem.* 1994; 55: 31-9. Seeded growth of hydroxyapatite in the presence of dissolved albumin at constant composition. Gilman H, Hukins DW.
- 29) *J Dent Res.* 1996; 75: 803-8. Temporal and compositional characteristics of salivary protein adsorption to hydroxyapatite. Lamkin MS, Arancillo AA, Oppenheim FG.
- 30) *デンタルハイジーン* 2004; 24: 255-259. 初期齲蝕の定量・モニタリングシステム(QLF法). 中嶋省志
- 31) *J Dent Res.* 1979; 58: 2066-73. Modification by salivary pellicles of in vitro enamel remineralization. Zahradnik RT.
- 32) *Arch Oral Biol.* 2016; 68: 35-42. In vitro dentine remineralization with a potential salivary phosphoprotein homologue. Romero MJ, Nakashima S, Nikaido T, Sadr A, Tagami J.
- 33) *J Colloid Interf Sci.* 1989; 129: 1-14. The Influence of casein on the kinetics of hydroxyapatite precipitation. Van

Kemenade MJJM and de Bruyn PL.

- 34) *Calcif Tissue Int.* 1984; 36: 651-8. Inhibition of apatite crystal growth by the amino-terminal segment of human salivary acidic proline-rich proteins. Aoba T, Moreno EC, Hay DI.
- 35) *J Biol Chem.* 1982; 257: 2981-9. Adsorption thermodynamics of acidic proline-rich human salivary proteins onto calcium apatites. Moreno EC, Kresak M, Hay DI.
- 36) *Eur J Oral Sci.* 2015; 123: 288-96. Inhibition of hydroxyapatite growth by casein, a potential salivary phosphoprotein homologue. Romero MJ, Nakashima S, Nikaido T, Ichinose S, Sadr A, Tagami J.
- 37) *Caries Res.* 2004; 38: 247-53. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? Van Nieuw Amerongen A, Bolscher JG, Veerman EC.

第 15 章 : 隠れう蝕 (hidden caries) の形成メカニズムと多様な病理所見

- 1) ザ・クインテセンス 2013. 32. Hidden Caries を考える. う蝕窩洞発症以前に介入することは可能なのか? PART 1: Hidden Caries を知る. 中嶋省志.
- 2) *J Am Dent Assoc.* 2018; 149: 837-849. Evidence-based clinical practice guideline on nonrestorative treatments for carious lesions: A report from the American Dental Association. Slayton RL, Urquhart O, Araujo MWB, Fontana M, Guzmán-Armstrong S, Nascimento MM, Nový BB, Tinanoff N, Weyant RJ, Wolff MS, Young DA, Zero DT, Tampi MP, Pilcher L, Banfield L, Carrasco-Labra A.
- 3) *J Dent Res.* 2019; 98: 14-26. Nonrestorative Treatments for Caries: Systematic Review and Network Meta-analysis. Urquhart O, Tampi MP, Pilcher L, Slayton RL, Araujo MWB, Fontana M, Guzmán-Armstrong S, Nascimento MM, Nový BB, Tinanoff N, Weyant RJ, Wolff MS, Young DA, Zero DT, Brignardello-Petersen R, Banfield L, Parikh A, Joshi G, Carrasco-Labra A.
- 4) *Eur J Oral Sci.* 1997; 105: 278-84. The Maillard reaction in demineralized dentin in vitro. Kleter GA, Damen JJ, Buijs MJ, Ten Cate JM.
- 5) *J Dent Res.* 1998; 77: 488-95. Modification of amino acid residues in carious dentin matrix. Kleter GA, Damen JJ, Buijs MJ, Ten Cate JM.
- 6) *Arch oral Biol.* 1964; 1: 309-332. Modification of the properties and composition of the dentin matrix caused by dental caries. WG Armstrong
- 7) *Caries Res.* 2006. 40: 38-42. The effect of adjacent dentine blocks on the demineralisation and remineralisation of enamel in vitro. Lynch RJ, Ten Cate JM.
- 8) *J Dent Res.* 1975. 54: 728-736. Thermodynamic solubility product of human tooth enamel: powdered sample. Patel PR, Brown WE.
- 9) *Caries Res.* 1994. 28:14-20. Effects of a supersaturated pulpal fluid on the formation of caries-like lesions on the roots of human teeth. Shellis RP.
- 10) *Caries Res.* 1997. 31: 30-34. The effect of fluoridation on the occurrence of hidden caries in clinically sound occlusal surfaces. Weerheijm KL, Kidd EA, Groen HJ.
- 11) *Int J Paediatr Dent.* 2013; 23: 72-6. Effect of the widespread use of fluorides on the occurrence of hidden caries in children. Hashizume LN, Mathias TC, Cibils DM, Maltz M.

- 12) ASDC J Dent Child. 1990. 57: 428-432. Occlusal hidden caries: a bacteriological profile. Weerheijm KL, de Soet JJ, de Graaff J, van Amerongen WE.
- 13) Caries Res. 1995. 29: 46-49. A comparison of the microbial flora in carious dentine of clinically detectable and undetectable occlusal lesions. de Soet JJ, Weerheijm KL, van Amerongen WE, de Graaff J.
- 14) Caries Res. 2008. 42: 37-45. Influence of salivary macromolecules and fluoride on enamel lesion remineralization in vitro. Fujikawa H, Matsuyama K, Uchiyama A, Nakashima S, Ujiie T.
- 15) DE. 2005. 155: 15-18. エナメル質の再石灰化とフッ化物. 中嶋省志.

第 16 章 : 象牙質における過石灰化現象 (インビトロでの結果)

- 1) Arch Oral Biol. 2015; 60: 574-81. Formation and characterization of hypermineralized zone beneath dentine lesion body induced by topical fluoride in-vitro. Khunkar SJ, Utaka S, Hariri I, Sadr A, Ikeda M, Nakashima S, Nikaido T, Tagami J.
- 2) Dent Mater J 2013; 32: 241-7. Cariotester, a new device for assessment of dentin lesion remineralization in vitro. Utaka S, Nakashima S, Sadr A, Ikeda M, Nikaido T, Shimizu A, et al.
- 3) J Am Dent Assoc. 2018; 149: 837-849. Evidence-based clinical practice guideline on nonrestorative treatments for carious lesions: A report from the American Dental Association. Slayton RL, Urquhart O, Araujo MWB, Fontana M, Guzmán-Armstrong S, Nascimento MM, Nový BB, Tinanoff N, Weyant RJ, Wolff MS, Young DA, Zero DT, Tampi MP, Pilcher L, Banfield L, Carrasco-Labra A.
- 4) J Dent Res. 2019; 98: 14-26. Nonrestorative Treatments for Caries: Systematic Review and Network Meta-analysis. Urquhart O, Tampi MP, Pilcher L, Slayton RL, Araujo MWB, Fontana M, Guzmán-Armstrong S, Nascimento MM, Nový BB, Tinanoff N, Weyant RJ, Wolff MS, Young DA, Zero DT, Brignardello-Petersen R, Banfield L, Parikh A, Joshi G, Carrasco-Labra A.
- 5) Oral Health Prev Dent 2009; 7: 147-54. Evaluation of different fluoride treatments of initial root carious lesions in vivo. Fure S, Lingström P.
- 6) Am J Dent. 1994; 7: 261-5. Root caries histopathology and chemistry. Wefel JS.
- 7) J Dent Res 1997; 76: 1845-53. Arrest of root surface caries in situ. Nyvad B, ten Cate JM, Fejerskov O.
- 8) Kawasaki K, Ruben J, Tsuda H, Huysmans MC, Takagi O. Relationship between mineral distributions in dentine lesions and subsequent remineralization in vitro. Caries Res 2000; 34: 395-403.
- 9) Iijima Y, Ruben JL, Zuidgeest TG, Arends J. Fluoride and mineral content in hyper-remineralized coronal bovine dentine in vitro after an acid challenge. Caries Res 1993; 27: 106-10.
- 10) Arends J, Ruben JL, Inaba D. Major topics in quantitative microradiography of enamel and dentin: R parameter, mineral distribution visualization, and hyper-remineralization. Adv Dent Res 1997; 11: 403-14.
- 11) Caries Res. 1996; 30: 218-24. Effect of sodium hypochlorite treatment on remineralization of human root dentine in vitro. Inaba D, Ruben J, Takagi O, Arends J.
- 12) J Dent Res. 1995; 74: 1266-71. Hypermineralization of dentinal lesions adjacent to glass-ionomer cement restorations. ten Cate JM, van Duinen RN.
- 13) Caries Res 1992; 26: 153-64. Human root caries: histopathology of arrested lesions. Schüpbach P, Lutz F, Guggenheim B.

- 14) Arch Oral Biol 2007; 52: 591-7. Micromorphological and micronanalytical characterization of stagnating and progressing root caries lesions. Arnold WH, Bietau V, Renner PO, Gaengler P.
- 15) J Dent Res 1941; 20: 45-8. Magnesium determinations on all the dentin from sound and carious teeth. Tefft H, Ethel L, C. Hodge F and H.
- 16) Caries Res 2003; 37: 445-9. In vitro study of remineralization of dentin: effects of ions on mineral induction by decalcified dentin matrix. Saito T, Toyooka H, Ito S, Crenshaw MA.
- 17) Arch Oral Biol 1975; 20: 803-8. Growth of calcium phosphates on hydroxyapatite crystals: the effect of magnesium. Tomazic B, Tomson M, Nancollas GH.
- 18) Calcif Tissue Int 1992; 51: 143-50. Competitive adsorption of magnesium and calcium ions onto synthetic and biological apatites. Aoba T, Moreno EC, Shimoda S.
- 19) J Dent Res 1981; 60: 1719-23. The effect of magnesium on apatite formation in seeded supersaturated solutions at pH 7.4. Eanes ED, Rattner SL.
- 20) Connect Tissue Res 1986; 14: 279-92. Identification of dentin phosphoprotein localization by histochemical stainings. Takagi Y, Fujisawa R, Sasaki S.
- 21) Arch Oral Biol 1988;33: 685-91. Induction and inhibition of hydroxyapatite formation by rat dentine phosphoprotein in vitro. Lussi A, Crenshaw MA, Linde A.
- 22) Connect Tissue Res 1989;21: 197-202. Mineral induction by polyanionic dentin and bone proteins at physiological ionic conditions. Linde A, Lussi A.
- 23) Calcif Tissue Int 1989; 44: 286-295. Mineral induction by immobilized polyanionic proteins. Linde A, Lussi A, Crenshaw MA.
- 24) Caries Res 1993; 27: 241-8. Mineral induction in vivo by dentine proteins. Lussi A, Linde A.
- 25) Int J Dev Biol. 1995; 39: 169-79. The nature and functional significance of dentin extracellular matrix proteins. Butler WT, Ritchie H.
- 26) Biochemistry. 1976 10; 15: 3445-9. Dental phosphoprotein-induced formation of hydroxylapatite during in vitro synthesis of amorphous calcium phosphate. Nawrot CF, Campbell DJ, Schroeder JK, Van Valkenburg M.
- 27) J Dent Res 1990; 69: 896-900. Release of organic matrix components from bovine incisor roots during in vitro lesion formation. Klont B, ten Cate JM.
- 28) Caries Res. 2008; 42: 37-45. Influence of salivary macromolecules and fluoride on enamel lesion remineralization in vitro. Fujikawa H, Matsuyama K, Uchiyama A, Nakashima S, Ujiie T.
- 29) J Dent Res 1988; 67: 1229-34. Changes in bovine dentin mineral with sodium hypochlorite treatment. Sakae T, Mishima H, Kozawa Y.
- 30) Eur J Oral Sci. 2015; 123: 288-96. Inhibition of hydroxyapatite growth by casein, a potential salivary phosphoprotein homologue. Romero MJ, Nakashima S, Nikaido T, Ichinose S, Sadr A, Tagami J.
- 31) Arch Oral Biol. 2016; 68: 35-42. In vitro dentine remineralization with a potential salivary phosphoprotein homologue. Romero MJ, Nakashima S, Nikaido T, Sadr A, Tagami J.