

① 実施課題番号： 2005B0933, 2005B0931

② 実施課題名：

脱灰・再石灰化における表層下脱灰歯牙エナメル質の構造解析

③ 実験責任者所属機関及び氏名：サンスター株式会社 高塚勉

共同研究者（所属）：本間徹生、池本夕佳（高輝度光科学研究センター）

④ 使用ビームライン：BL19B2, BL43IR

緒言と目的

齲蝕の発症の過程に、表層下脱灰病変と呼ばれる健全に戻ることでできる可逆的な状態が存在することが既に明らかになっている。しかしながら、この表層下脱灰病変の構造解析は最新の科学技術レベルで分析をされてはおらず、構造分析をすることで、齲蝕発生や再石灰化メカニズムが明らかになってくる可能性が存在している。今回は、表層下脱灰病変の深さ方向に対して、ミネラル量の分布測定 (TMR)、精密な X 線結晶解析 (XRD)、マイクロビーム FT-IR 測定を実施し、その深さ方向の情報を加味した分析を行うことを目的とした。

方法

牛歯エナメル質を 3×4mm の大きさに切り出し、表面研磨し、初期脱灰液 (0.1mol/mL 乳酸 / 0.2%Carbopol / 50% 飽和 HAP 溶液, pH=5) に 37°C、96 時間、浸漬し、表層下脱灰病変を作製した。次に、フッ化ナトリウムを含んだ再石灰化液 (3.0mM Ca, 1.8mM P, F 1ppm, pH=7)

に 8 日間、浸漬し、再石灰化させ、試料ブロックを得た。

XRD 測定には、試料ブロックのエナメル質表面を、シリコンカーバイド耐水研磨紙で約 15 μ m 削りだし、その粉末を回収した。その操作を 3 回繰り返し、表層から 3 層分の試料粉末を得た。得られた試料粉末を内径 0.4mm のガラスキャピラリーに充填し、BL19B2 のイメージングプレートを備え付けた大型デバイシェラーカメラにセットし、12.4keV のエネルギーの X 線を 30 分間、照射し、試料からの回折 X 線を検出した。リファレンスサンプルとして、粉末の合成ハイドロキシアパタイト (HAP)、合成フッ素化 HAP、合成フルオロアパタイトも同様に測定した。

FT-IR 測定には、試料ブロックのエナメル質の表面に垂直に、厚さ約 500~700 μ m の切片を作製した。その断面を、直径約 10 μ m の集光 IR を照射し、その反射光を MCT 検出器およびフーリエ赤外干渉計を用いて測定した。スペクトルの波数分解能は 4 cm^{-1} で、1500 回積算を行っ

た。深さ方向に 10 μm ステップでステージを動かして各点で測定を行った。各波長の吸収強度を算出し（生データ）、更に極大吸収（1040 cm^{-1} 付近）を 1 とした規格化吸収強度を算出した。TMR 測定には、FT-IR で使用した切片を更に、両面研磨機（マルトー）により厚さ約 100 μm の薄切片を作製し、ハイリゾリューションプレート（Kodak High resolution plate 1A）に圧着し、X線照射器（HB50, HITEX; 管電圧 25kV、管電流 2.5mA）にて 10 分間照射した。プレートは Kodak デベロッパー D19 にて現像後、定着処理を行った。得られたプレートをコンピュータ画像処理によりミネラル分布を得た。

結果

XRD 測定において、リファレンスサンプルであるフッ素化 HAP のフッ素化度と格子定数の結果を図 1 に示した。フッ素化度が大きくなるにつれて、a 軸格子定数が減少していることが示されたが、c 軸格子定数は変化がないことが示

された。測定サンプルである再石灰化されたサンプル表層第 1 層目の a 軸格子定数は、脱灰直後 9.46、フッ素なし再石灰化群 9.47、フッ素再石灰化群 9.46 と計算された。また、表層 2 層目以降についても、同様に特に a 軸格子定数が減少している傾向は示されなかった。

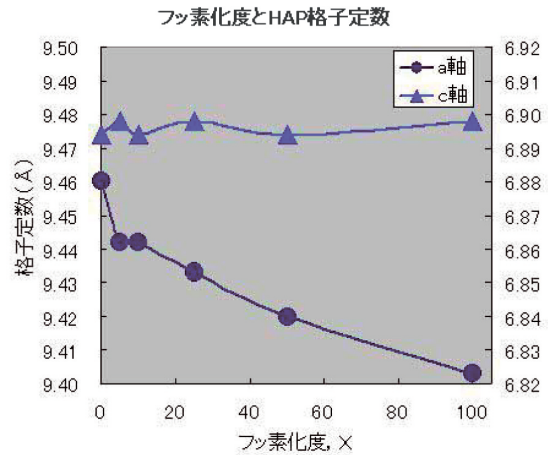


図 1 フッ素化度と HAP 格子定数

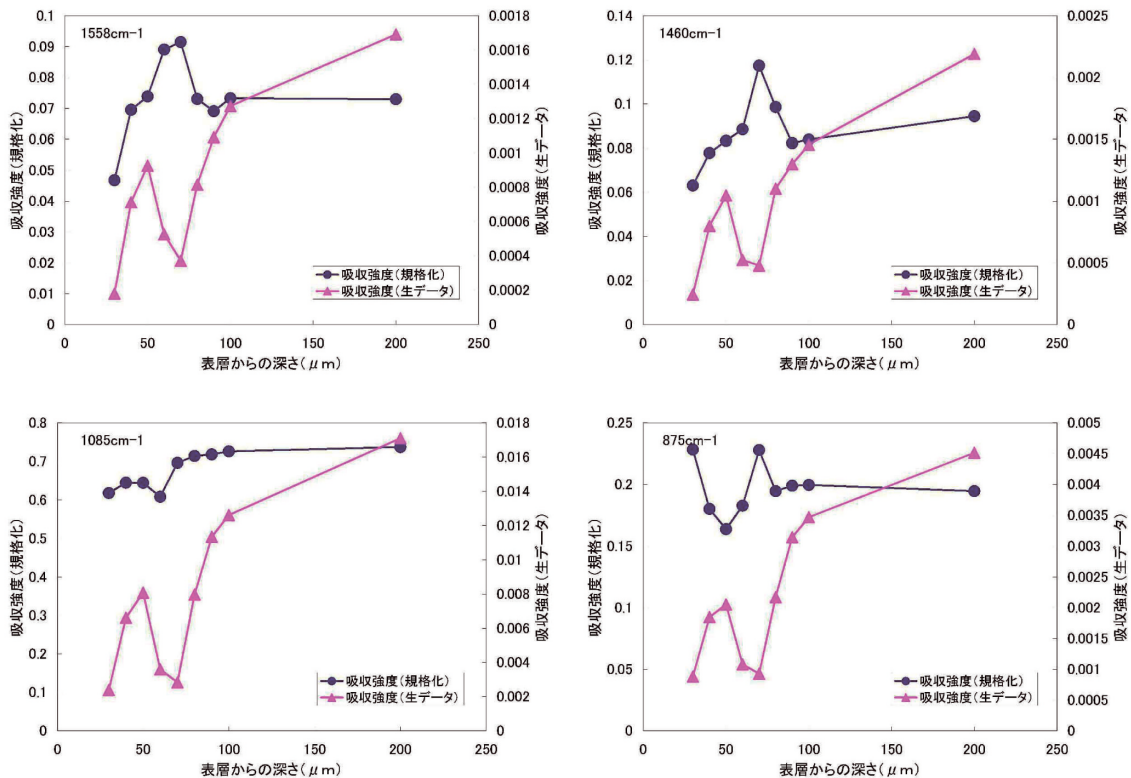


図 2 FT-IR 吸収強度

FT-IR 測定において、再石灰化サンプルの吸収強度を測定した結果、表層からの深さ約 50 μm 付近で一旦極大を示し、その後吸収強度が減少し、再び深さ 100 μm 付近でプラトーになる IR の吸収強度パターンを示していた (図 2 赤)。同一薄切片の TMR 測定の結果、表層下脱灰病変のミネラル量のプロファイル (図 3) は IR 吸収強度パターンとよく相関していた。また、各波長の特異的吸収官能基は、1558、1460 cm^{-1} 付近は CO_3 吸収、1085 cm^{-1} 付近は PO_4 吸収、875 cm^{-1} 付近は HPO_4 吸収であることから、ミネラル量の少ないところ (深さ 70 μm 付近) では、 CO_3 や HPO_4 の相対濃度が高いということが示唆された (図 2 青)。これに対し、 PO_4 に関しては、深さ方向の依存性があまり認められず、 PO_4 の濃度はあまり変化がなかった。

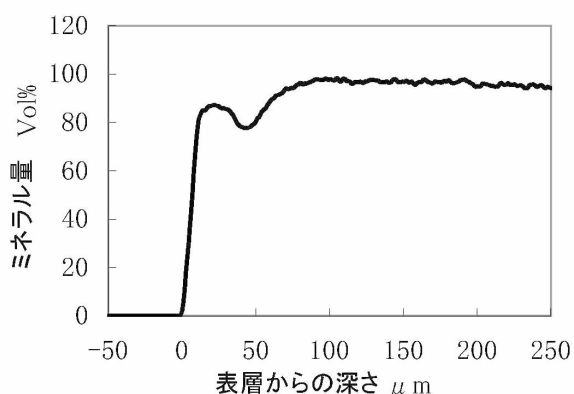


図3 ミネラル分布

考察

XRD 実験においては、フッ化ナトリウム存在下で再石灰化したエナメル質において、一部置換したフッ素化 HAP の a 軸格子定数を示さなかった。このことは、エナメル質がフッ素化アパタイトにまったく変化していないことを示しているのではなく、今回の再石灰化条件では a 軸格子定数に変化を示すほどフッ素が多く取り込まれなかったと理解するのが良いと思われる。表層下脱灰の深さ方向への検索に関しても、a 軸格子定数に変化を示すような結晶状態

のものはなかったと考えられる。

FT-IR 実験においては、ミネラル量の少ないところでは、 CO_3 や HPO_4 の相対濃度が高いということが示唆された。しかしながら、表層からの吸収強度パターンが図 2 のパターンを示すことなく、表層から 50 μm 以上付近までほとんど検出できる量の反射光を得ることができず、その後、吸収がゆっくり単純増加するというパターンの再石灰化サンプルも存在した。ビームがサンプルに当たっているにもかかわらず、反射光がほとんど得られないのは、サンプル調製の際、エナメル質表面に対して精密に垂直に切断されていない可能性が考えられる。光学的にサンプル表層を確認できても、エッジ効果により反射面が検出器正面に向いていない場合、極度に反射光が減少し、得られなかったのかもしれない。このような、不適切なサンプルが存在したため、今回、有効なサンプル数を確保することができず、再現性には乏しいことは否めない。しかしながら、数少ない有効なサンプルでは、 CO_3 や HPO_4 の相対濃度に関して、データが得られた。表層下脱灰病変の病巣中心では、それら相対濃度が高いことが、どのような意味を持っているのか、構造的にどうなっているのか、再現性はどの程度であるのかなど、今後、更に検討していかなければならない。