

S-PRG フィラー含有マウスガードおよび

ペーストの初期齲蝕病変の再石灰化能

よしやす けいと

吉安 慧人

本論文の要旨は，第252回朝日大学大学院歯学研究科発表会（2021年10月20日，瑞穂）において発表した．本論文の一部は，第57回日本小児歯科学会大会（2019年6月10日－11日，札幌），第59回日本小児歯科学会大会（2021年6月6日－20日，鹿児島），第40回日本小児歯科学会中部地方会記念大会（2021年10月24日，名古屋）において発表した．

緒 言

小児歯科の臨床において、初期齲蝕病変であるエナメル質の白斑に遭遇する機会は多い。朝日大学小児歯科で行った小児 1,130 名の白斑実態調査¹⁾では、歯頸部の白斑出現率が乳歯列期に比べ混合歯列期と永久歯列期で有意に高くなることが報告されている。初期齲蝕病変は可逆的な病変であり、フッ化物含有歯磨剤や洗口液の使用により再石灰化も可能とされている^{2,3,4)}。定期的なフッ化物塗布やブラッシング指導だけでは脱灰が進行し処置が必要となる例も多く、初期齲蝕病変の進行する過程に積極的に関与し、再石灰化を促し回復させることが求められている。初期齲蝕病変の再石灰化に関する基礎的研究としては、フッ化物とキシリトール配合ガム⁵⁾、Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) や Amorphous Calcium Phosphate (ACP) などの可溶性カルシウム含有歯磨剤⁶⁾、リン酸化オリゴ糖カルシウム (Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium (POs-Ca)) 配合ガム^{7,8)} などがある。また臨床研究では、フッ化物バーニッシュ⁹⁾、フッ化物含有 CPP-ACP 添加歯磨剤 (MI Paste plus[®])、フッ化物含有 Hydroxyapatite (HAP) 添加歯磨剤 (Remi Pro[®])¹⁰⁾、フッ化物含有 functionalized tricalcium phosphate (f-TCP) 添加歯磨剤 (Clinpro Tooth Creme[®])¹¹⁾、0.5 % NaF 含有チューイングスティック

¹²⁾などによる再石灰化の試みがなされている。さらに、初期齲蝕病変や形成不全歯に対して resin infiltration^{13,14)}による白斑の改善効果も報告されている。

Surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer

(S-PRG) フィラーは 6 種類のイオン (F, Na, Sr, Al, B, Si) を徐放するバイオアクティブな材料であり¹⁵⁾、シーラント、コンポジットレジン、ボンディング材、歯面コート材などの歯科材料に配合されている。中でも歯面に対する齲蝕予防剤として開発された S-PRG フィラー含有歯面コート材 (PRG バリアコート[®], 松風, 京都) については、幼若永久歯初期齲蝕病変の再石灰化に効果があることが、本分野での臨床研究¹⁶⁾により明らかになっている。それによると、初期齲蝕病変に PRG バリアコートを塗布し 1 年経過観察を行ったところ、術前と比較して術後 1 年で白斑部の面積が有意に減少していた。また、ウシ切歯を S-PRG フィラー含有 Ethylene-Vinyl Acetate (EVA) シート (試作品) で作製したマウスガードで覆い、酸抵抗性をマイクロ CT (μ CT) にて調べた実験では¹⁷⁾、S-PRG フィラー 20 wt% 含有マウスガードではマウスガード直下のみならずその周囲への脱灰抑制効果があり、シートを乳酸溶液中に浸漬し pH の変化を調べたところ、S-PRG フィラー 20 wt% 含有シートの酸緩衝能が有意に高いことが報告されている。さらに、便宜抜去されたヒト小白歯に

S-PRG フィラー含有ペースト（試作品）を歯面に塗布後脱灰液に浸漬し，エナメル質の硬度と弾性率の変化を調べた実験では¹⁸⁾，ペースト塗布後に硬度と弾性率が増加しており，このペーストがエナメル質の脱灰抑制効果（耐酸性効果）を持つことが明らかにされている．これは，ペーストに含有される S-PRG フィラーが歯周囲の pH を上昇させることにより脱灰が抑制され，再石灰化が促進されるからであると考えられている．また，ヒト抜去歯を試料として再石灰化と脱灰を繰り返す pH サイクリングを行った後に，定量的可視光誘起蛍光法（Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF)）と横断マイクロラジオグラフィー（Transverse Microradiography (TMR)）によりミネラル喪失量を定量した研究では¹⁹⁾，S-PRG フィラー含有ペースト（試作品）を作用させた方が無処理のコントロールやフィラー未含有ペースト使用に比べて有意に脱灰量が減少していた．そして，S-PRG フィラー含有 5 % ペーストには 20, 30 wt% 含有ペーストに匹敵する脱灰抑制効果があることも示されている．

S-PRG フィラー 5 wt% 含有のトリートメントペーストである PRG プロケアジェル®（松風社製）は，口腔内最終仕上げ・ホワイトニング処置後のケア，ディボンドリング後のケアなどに使用されている．しかし，S-PRG フィラー含有の PRG プロケアジェルによるエナメル質表層下脱灰病変部における石灰化度の変化や，

フィラーから徐放されたイオンの動態や病変部に及ぼす影響についての基礎的な研究はなされていない。本研究では人工的に作製したエナメル質初期齲蝕に **S-PRG** フィラー含有ペースト， **S-PRG** フィラー含有 **EVA** シートをマウスガードとして作用させ，本材料によるエナメル質初期齲蝕病変への再石灰化効果を明らかにすること，そして白斑病変を有する小児患者を対象として臨床的に本材料による白斑病変の改善効果を明らかにすることを目的とした。

材料および方法

1. 抜去歯

基礎的実験には，朝日大学医科歯科医療センター小児歯科所蔵の便宜抜去された小白歯 40 本を試料として用いた．

臨床的実験において，朝日大学医科歯科医療センター小児歯科で定期管理を行っている患者のうち，初期齲蝕病変を有する 14 名（8～16 歳の男児 4 名，女児 10 名）を対象に行った．

なお，本研究は朝日大学倫理審査委員会の承認（承認番号 29028, 30040）と対象児及びその保護者から本研究に関する同意を得ている．

2. S-PRG フィラー含有 EVA シートの観察

シートの一部を切断し，断面をオスミウムコーター（Neoc/HSM51, メイワフォーシス, 東京）にてオスミウムをコーティング後，走査型電子顕微鏡（SEM, S-4500, 日立, 東京）にて加速電圧 5 kV で観察した．

3. S-PRG フィラー含有 EVA シートおよびプロケアジェルから徐放するイオンの定量

シート 1 g あたり蒸留水 0.96 ml の割合でシートを浸漬し，プロケアジェルは 3 倍量の蒸留水に懸濁し，各々 37 °C で 8 時間あるいは 24 時間静置した．シート

の浸漬液は pore size 0.2 μm のクロマトディスク (25 A Hydrophilic Type, GL Science Inc, 東京) にて濾過した。PRG プロケアジェル懸濁液は遠沈後に上清をクロマトディスクで濾過し測定試料とした。フッ化物の定量はフッ化物電極を用いて (pH/ionmeter: Model 720 A, Orion Research, Franklin, MA, USA), 他の元素は ICP 発光分析装置 (ICPS-8000, 島津製作所, 京都) を用いて測定した。

4. μCT を用いた再石灰化の評価

実験の流れを図 1 に示す。10%ホルマリン溶液に浸漬保存していた抜去歯を, 使用前に 6 時間以上流水下で水洗した。実体顕微鏡にて抜去歯に齶蝕や着色, 亀裂がないことを確認し, 歯冠部を歯根から分割後, ロビンソンブラシで歯面研磨した。次亜塩素酸水溶液に入れて超音波洗浄機で 5 分間洗浄した。水洗乾燥後, エナメル質表面に μCT 撮影時で基準となるランドマークをラウンドバーで付与した。さらに, 頬側面中央部に直径約 2 mm のウインドウを Nail Varnish にて作製し, 唇側面を上方に向けて 2 歯をエポキシ樹脂にて固定した。

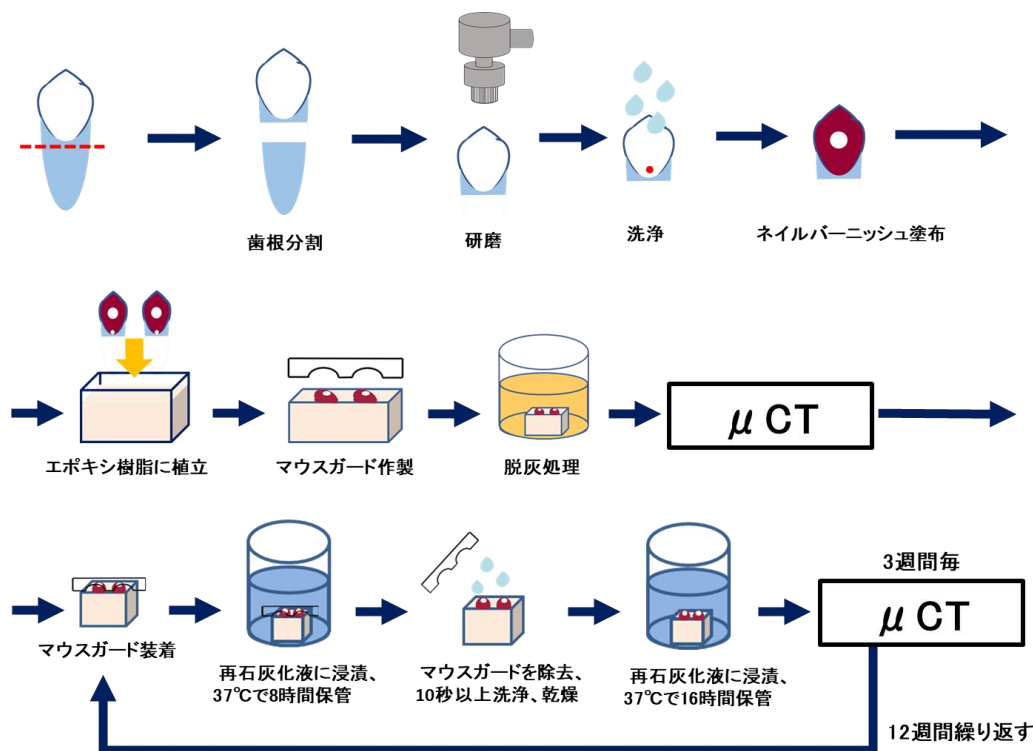


図 1 実験の流れ

エポキシ樹脂に固定した試料に適合するマウスガードは、S-PRG フィラー 20 wt% 含有 EVA シート (2 mm 厚さ, 松風提供) あるいは EVA シート (CAPTURE SHEET, 2 mm 厚さ, クリア, 松風) を軟化圧接成型器 (DUAL FORMER, 大栄, 大阪) で段階的に 90 °C まで軟化し, 吸引加圧成型法 (0.5 MPa, 10 分間) により作製した。そして, 酸ゼラチン法²⁰⁾に準じて作製した 10 %ゼラチンと 0.01 %チモールを含む 0.1 M 乳酸溶液 (pH4.5) 中にエポキシ樹脂植立後の歯を 37 °C で 5 日間浸漬し, ウインドウ部に初期齲蝕病変を作製した。

実験群の概要を図 2 に示す．ウインドウ部に S-PRG フィラー 5 wt% 含有 歯面研磨ペースト（PRG プロケア ジェル[®]，松風）と S-PRG フィラー 20 wt% 含有 EVA シートのマウスガードを併用する群（PRG MG-Paste），S-PRG フィラー 20 wt% 含有 EVA シートのマウスガードのみの群（PRG MG），EVA シートで作製したマウスガードに PRG プロケアジェルを併用する群（EVA MG-Paste），EVA シートのマウスガードのみの群（EVA MG），マウスガードもペーストも使用しない群（control）に分けた．試料は，各群 8 歯ずつとした．2 歯のうち 1 歯のウインドウ部にプロケアジェルをマイクロブラシにて塗布後，マウスガードを装着し，密閉容器に入った 37 °C の再石灰化液 10 ml に浸漬した．再石灰化液は Feagin 人工唾液を参考に²¹⁾，フッ化物を除いて作製した．再石灰化液は 100 mM CaCl₂ 15 ml，60 mM NaH₂PO₄ 15 ml，1000 mM NaCl 150 ml に 37 °C で pH7.0 になるよう 1N NaOH にて調整し，蒸留水を加え全量を 1000 ml とした．最終的にこの溶液は，Ca 1.5 mM，PO₄ 0.9 mM，NaCl 150 mM を含んでいる．再石灰化溶液は 3～5 日毎に作製したが，この間は溶液に沈殿物は生じることなく pH も安定していた．また，この溶液は Octacalcium phosphate（OCP），Tricalcium phosphate（TCP），HAP に対して過飽和であり²²⁾，口腔内の唾液に対応させると刺激唾液と安静唾液の中間の組成に相当する²³⁾．

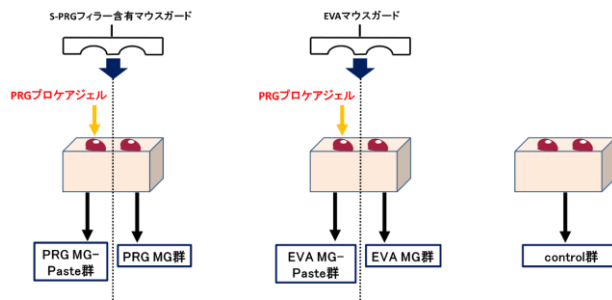


図 2 実験群の模式図

マウスガードおよびプロケアジェルの作用時間は 1 日あたり 8 時間とした。8 時間後にマウスガードを除去し蒸留水にて 10 秒以上水洗後、新しく交換した再石灰化液に 16 時間浸漬した。このサイクルを 12 週間継続して行った。脱灰後及び再石灰化液浸漬 3 週間ごとに μ CT (ScanXmate-RB090SS, Comscan, 東京) を撮影した。この際、ビーム硬化効果を低減するために 0.25 mm の Al のフィルターを設置した。そして、エックス線ビームがエナメル質表面に対して垂直になるように試料をコンピューター制御のターンテーブル上に取り付けた。エックス線源から試料までの距離は 25 mm、エックス線源から検出器までの距離は 550 mm であり、管電圧 90 kV、電流 90 μ A で倍率 8.0、積算 2 回、モード 1 \times 1、マトリックス 1216 \times 1216、プロジェクション 900 で試料を 360 回転させて撮影し、スキャンした 16 ビット TIFF フォーマットの 100 画像データを得た。まず定性的評価として、エナメル質表面の二次元の CT 値をカラーマッピング表示し、再石灰化の経過を観察した。定量的評価として、撮影した各スキャンのデー

タを画像として取得し，2D画像から3D画像を再構成した（Cone CT Express）. Voxelサイズ $12.56 \mu\text{m}/\text{pixel}$ で3D分析ソフトウェア（TRI/3D-BON, Ratoc）を用いて3D画像を再構築した. 同条件で撮影したHAファントム（ $200 \sim 800 \text{ mg}/\text{cm}^3$ ）からグレー値にもとづく検量線（ $R^2 > 0.9994$ ）を作成し，CT値をMD値に変換した. それにより，ウインドウ中央部の $300 \times 300 \times 600 \mu\text{m}^3$ のミネラル密度（MD）を定量した. 平均MD値は深さ $25 \mu\text{m}$ 毎に求め， $600 \mu\text{m}$ の深さまでのMD値のプロフィールを得た（図3，4）. ノイズ低減中央値フィルターをデータに適用し，較正曲線に従ってゼロMD値よりも低いCT値を有するピクセルを除外することによってノイズを除去した. なお同一試料の経時的な比較の際には，包埋したエポキシ樹脂の辺縁，nail varnish塗布下の無処理エナメル質の表面，ラウンドバーにより歯質に作製したランドマークなどを基準として観察部位を一致させた. 脱灰後と再石灰化液浸漬後のMD値の差から再石灰化量（ ΔZ ）を求めた. また，脱灰されていない領域のエナメル質（intact enamel），初期齲蝕病変作製後および再石灰化液浸漬12週間後のエナメル質のMD値のプロフィールから，再石灰化率（ $\%R$ ）²⁴）を算出した（図4）. Intact enamelについては，予備実験で初期齲蝕病変作製前のエナメル質のMD値とバーニッシュ塗布部のエナメル質のMD値を比較したところ差がみられなかったため，今回の実験

では病変部に近接するバーニッシュ塗布部のエナメル質を intact enamel とした。

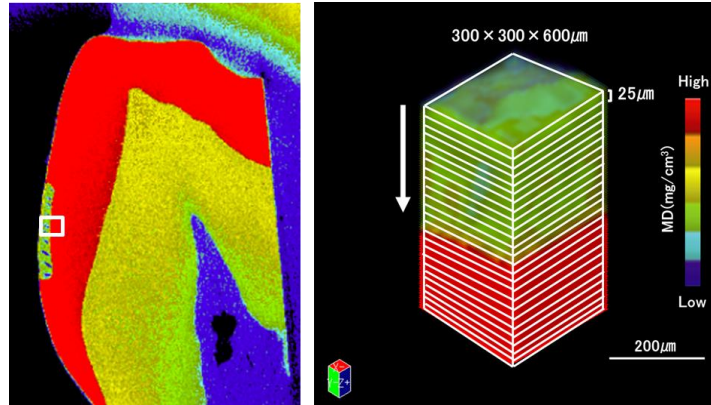


図 3 MD 値の定量範囲

病変中央部 $300 \times 300 \times 600 \mu\text{m}$ の範囲で歯表面から $25 \mu\text{m}$ 毎に MD 値の測定を行った。

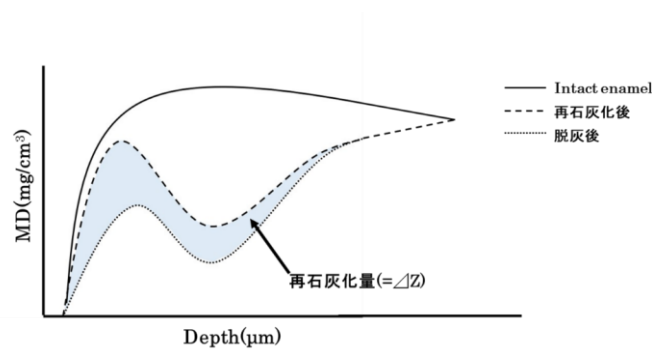


図 4 再石灰化量 (ΔZ) と再石灰化率 ($\%R$)

$$\%R = [(\Delta Z_d - \Delta Z_r) \div \Delta Z_d] \times 100$$

ΔZ_d : 脱灰後と intact enamel とのミネラル量の差

ΔZ_r : 再石灰化後の enamel と intact enamel とのミネラル量の差

再石灰化量 ΔZ : 脱灰後と再石灰化後のミネラル量の差 =

$$\Delta Z_d - \Delta Z_r$$

5. 歯表面の SEM 観察

表層下脱灰病変作製後と再石灰化 12 週間後の MG 群, MG-Paste 群, control 群の試料表面をオスミウムコーターにてオスミウムをコーティング後, 加速電圧 5 kV で SEM 観察した.

6. 歯表面の元素分析

再石灰化 12 週間後の MG 群, MG-Paste 群, control 群の試料表面の元素分析は, カーボン蒸着後の試料で EPMA (EMAX-7000, HORIBA, 東京) にて加速電圧 25 kV で行った. 統計処理には Fisher の PLSD 法を用い, p 値 0.05 未満を有意差ありとした.

7. 臨床的評価

対象は朝日大学医科歯科医療センター小児歯科において定期管理を行っている患者のうち, 上顎前歯部および小白歯部の歯頸部に初期齲蝕病変 (ICDAS code 2⁵⁾, 湿潤状態で齲蝕による不透明性 (白斑) がみられるが歯の表面は破壊されていない状態) を有する男子 4 名, 女子 10 名の合計 14 名である. 被験者の概要を表 1 に示す. PRG フィラー含有マウスガードのみを使用するグループ (PRG MG 群) 7 名, PRG フィラー含有マウスガードに PRG プロケアジェルを併用するグループ (PRG MG-Paste 群) 7 名に分けた. 被験者は, PRG プロケアジェルの併用に違和感を訴えた 2 名は

PRG MG 群としたが，その他の被検者は無作為に 2 つの群に分けた．歯垢染め出し液（メルサージュ PC ペレット，松風）にて上下顎全歯を染色し，O'Leary の plaque control record (PCR) を算出した後，患者本人にブラッシング指導を行った．被験者の平均年齢は，PRG MG-Paste 群で 11.6 ± 2.4 歳，PRG MG 群で 11.0 ± 2.2 歳であった．表 1 に示すように，開始時の PCR 値は PRG MG-Paste 群で 31.8 ± 15.7 %，PRG MG 群では 46.6 ± 11.0 % で両群間に有意差はみられなかった．

表 1 被験者の概要

| 性別 | 年齢 | Hellmanの歯齢 | 歯磨きの回数 | 歯磨きの時間 | フッ素塗布回数 | O'LearyのPCR (術前) | 対象歯 | |
|----|----|------------|--------|--------|---------|------------------|-------|-------------------------|
| A | 男 | 13 | ⅢC | 3回/日 | 2～3分 | 3～4回/年 | 36.5% | 14,13,12,11,21,23,24 |
| B | 女 | 16 | ⅣA | 1回/日 | 5分 | 4回/年 | 11.6% | 13,12,11,21,22,23 |
| C | 男 | 9 | ⅢB | 2回/日 | 1～2分 | 3～4回/年 | 33.0% | 12,11,21,22 |
| D | 女 | 11 | ⅢC | 2回/日 | 3～5分 | 4回/年 | 36.5% | 13,12,11,21,22,23,24 |
| E | 女 | 12 | ⅢC | 3回/日 | 3分 | 4回/年 | 37.5% | 14,13,12,11,21,22,23,24 |
| F | 女 | 9 | ⅢB | 3回/日 | 2～3分 | 4回/年 | 11.5% | 12,11,21,22 |
| G | 女 | 11 | ⅢB | 3回/日 | 1分 | 3～4回/年 | 56.0% | 14,13,23,24 |
| H | 女 | 10 | ⅢB | 2回/日 | 1分 | 4回/年 | 48.2% | 12,11,21,22 |
| I | 男 | 14 | ⅣA | 2～3回/日 | 1～2分 | 4回/年 | 53.7% | 13,12,11,21,22,23 |
| J | 女 | 12 | ⅢC | 3回/日 | 3分 | 3～4回/年 | 47.0% | 13,12,11,21,22,23 |
| K | 女 | 8 | ⅢB | 2回/日 | 3分 | 4回/年 | 33.9% | 11,21 |
| L | 女 | 9 | ⅢB | 2回/日 | 3～5分 | 6回/年 | 63.5% | 14,12,11,21,22,24 |
| M | 男 | 13 | ⅣA | 2回/日 | 2分 | 4回/年 | 48.2% | 11,21,22 |
| N | 女 | 11 | ⅢB | 2回/日 | 2分 | 4回/年 | 31.7% | 13,12,11,21,22,23 |

A～G: PRG MG-Paste 群

H～N: PRG MG 群

アルジネートで上顎を印象採得し，顎模型を作製した後，厚さ 2 mm の S-PRG フィラー 20 wt% 含有マウスガード用 EVA シート（2 mm 厚さ，松風提供）を軟化圧接成型機で段階的に 90 °C まで軟化し，吸引加圧成型法（0.5 MPa，10 分間）によりマウスガードを作製した（図 5(a)）．PRG MG-Paste 群では，マウスガード内面の初期齲蝕病変に接する部分に S-PRG フィラー 5 wt% 含有ペースト（PRG プロケアジェル，松風）を塗布したものを（図 5(b)），PRG MG 群ではマウスガードにペーストを塗布しないで，ブラッシング後就寝時に装着するよう被験者に指示した．被験者にマウスガード装着時間を記録してもらい，1～2 か月毎の来院時に病変部の口腔内写真を撮影し術前と比較した．白斑部の観察には，image J（NIH）を用いて画像を RGB 分離し，Blue 画像を得た．写真の色調とサイズの補正のために，Cas Match™（ベアーディック，東京）と Photoshop®（Photoshop CS 5.1，Adobe）を使用した．術前と 5～6 か月後の対象歯を，著しく改善（A）・改善（B）・不変（C）の 3 段階に目視で判定し，グループ間の比較を行った．

また，白斑部の面積の変化を数値化するために，術前術後の口腔写真より白斑部の面積を算出した．すなわち，サイズとカラー補正後に RGB 分離後の Blue 画像に対して，イメージソフトウェア（image J 1.48²⁶）と Photoshop CS 5.1，Adobe）を用いて，画素数（1ピクセル=0.035 mm）から白斑部の面積を以下の式から求めた．

$$\text{白斑の面積 (mm}^2\text{)} = \text{画素数} \times (0.035)^2$$

統計処理には Fisher の PLSD 法， χ^2 検定を用い p 値 0.05 未満を有意差ありとした．被験者間の検定にも Fisher の PLSD 法を用い， p 値 0.05 未満を有意差ありとした．

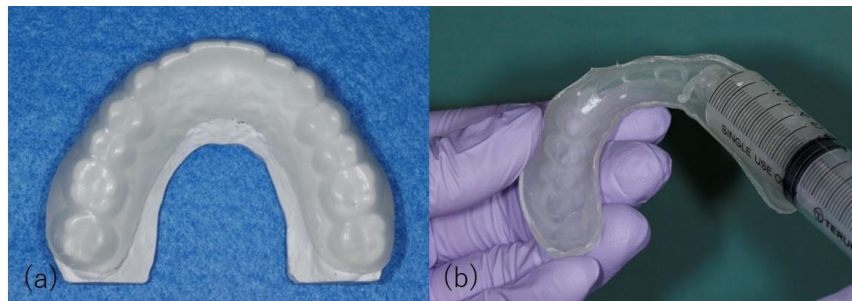


図 5 S-PRG フィラー含有 EVA シートで作製したマウスガードと PRG プロケアジェルの使用法

(a) 模型上で頬側は歯頸部から 3 mm 歯肉を覆うようにマウスガードを作製した．

(b) PRG MG-Paste 群では，シリンジに入れた PRG プロケアジェルのマウスガード内面の白斑に接する部注入して装着するよう説明した．

結 果

1 . S-PRG フィラー含有 EVA シートの SEM 観察像

SEM 観察において，S-PRG フィラー含有 EVA シートの切断面に小孔や陥没部が認められ，その中にフィラーが観察された（図 6）．

2 . S-PRG フィラー含有 EVA シートおよびプロケアジェルのイオン徐放量

表 2 に S-PRG フィラー含有 EVA シートおよび PRG プロケアジェルから徐放されるイオンの定量結果を示す．S-PRG フィラー含有マウスガードにて作製した EVA シートでは，8 時間後に比べ 24 時間後の方がイオン溶出量は多く，B と Sr 次いで F が多く検出された．PRG プロケアジェルでは，8 時間後と 24 時間後のイオン溶出量に大きな差はみられず，Na 次いで Sr，B，Al の順に多く検出された．

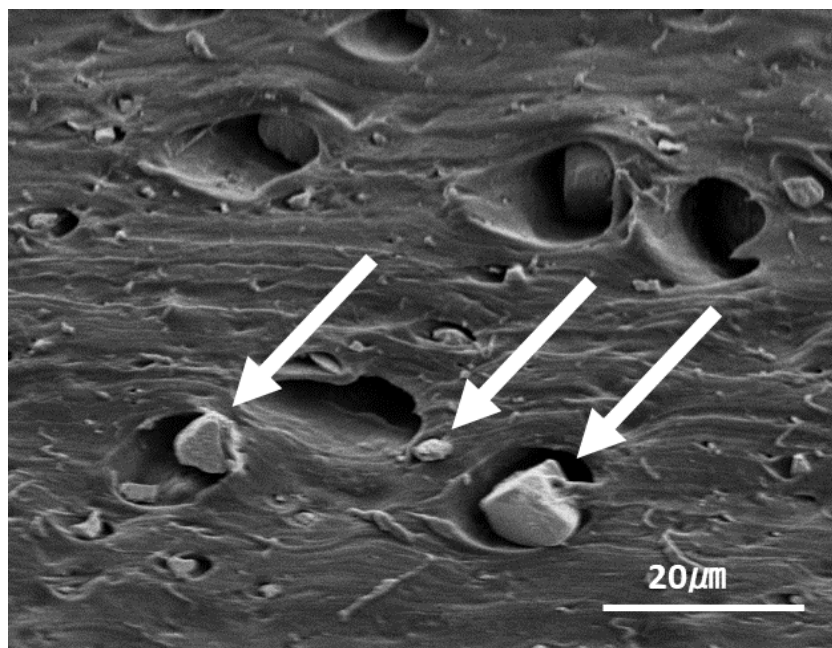


図 6 S-PRG フィラー含有 EVA シートの断面の SEM 像
 大きさ約 1～8 μm のフィラー（矢印）が観察された。

表 2 S-PRG フィラー含有 EVA シートおよび PRG プロ
 ケアジェルからのイオン徐放量（ppm）

| | 浸漬時間 | B | Al | Si | Sr | Na | F |
|---------|------|------------|-----------|----------|------------|-------------|-----------|
| シート | 8h | 3.2±0.2 | 0.1±0.1 | 1.0±0.3 | 3.2±0.4 | 1.0±0.1 | 1.1±0.1 |
| | 24h | 15.9±0.1 | 1.8±0.4 | 2.8±0.2 | 15.8±1.0 | 2.4±0.1 | 4.9±0.3 |
| プロケアジェル | 8h | 371.9±17.6 | 287.7±8.5 | 11.3±0.4 | 669.7±21.0 | 1156.6±38.3 | 236.0±3.7 |
| | 24h | 372.6±5.3 | 302.5±5.0 | 13.3±0.2 | 694.6±15.0 | 1185.8±21.0 | 213.0±8.1 |

(n=4)

3. 再石灰化の μ CT による評価

図 7 に各実験群の表層下脱灰病変の μ CT 像と MD 値のプロフィールを示す。再石灰化前の各グループの病変の深さは、PRG MG 群 $375.0 \pm 40.1 \mu\text{m}$ 、PRG MG-Paste 群 $375.0 \pm 37.8 \mu\text{m}$ 、control 群 $387.5 \pm 35.4 \mu\text{m}$ 、EVA MG 群 $403.6 \pm 17.3 \mu\text{m}$ 、EVA MG-Paste 群 $406.3 \pm 22.2 \mu\text{m}$ であり、各群間に有意差はみられなかった。なお全体の平均は $389.1 \pm 33.3 \mu\text{m}$ であった。図 7(a), (b), (c) の μ CT 像の色調および MD 値のプロフィール (d), (e), (f) の変化から、3 群とも経時的に表層部でのミネラル量の上昇が認められ、特に PRG MG 群と PRG MG-Paste 群で著しかった。control 群において、 μ CT 像より 6 週間後、12 週間後と経時的に表層部エナメル質の再石灰化の進行を認めた。また、プロフィール (d) から病変部の MD 値は経時的にわずかに上昇していた。PRG MG 群では、 μ CT 画像 (b) から control 群に比べ表層部の再石灰化がより進行しており、プロフィール (e) からミネラル密度値は表層部のみならず病変内部でも 6 週間後、12 週間後と経時的に上昇していた。PRG MG-Paste 群では、PRG MG 群に比べ 6 週間後、12 週間後ともに、intact enamel の MD 値プロフィールにさらに近づいていた (f)。図 7(d), (e), (f) の MD 値のプロフィールから、control 群に比べて PRG MG 群と PRG MG-Paste 群での MD 値の上昇が表層部のみならず病変の内部でも認められた。それゆえ、歯表面から $100 \mu\text{m}$ 、 $200 \mu\text{m}$ 、

300 μm の 3 か所における MD 値を脱灰前と再石灰化 3, 6, 9, 12 週間後で比較を行った。

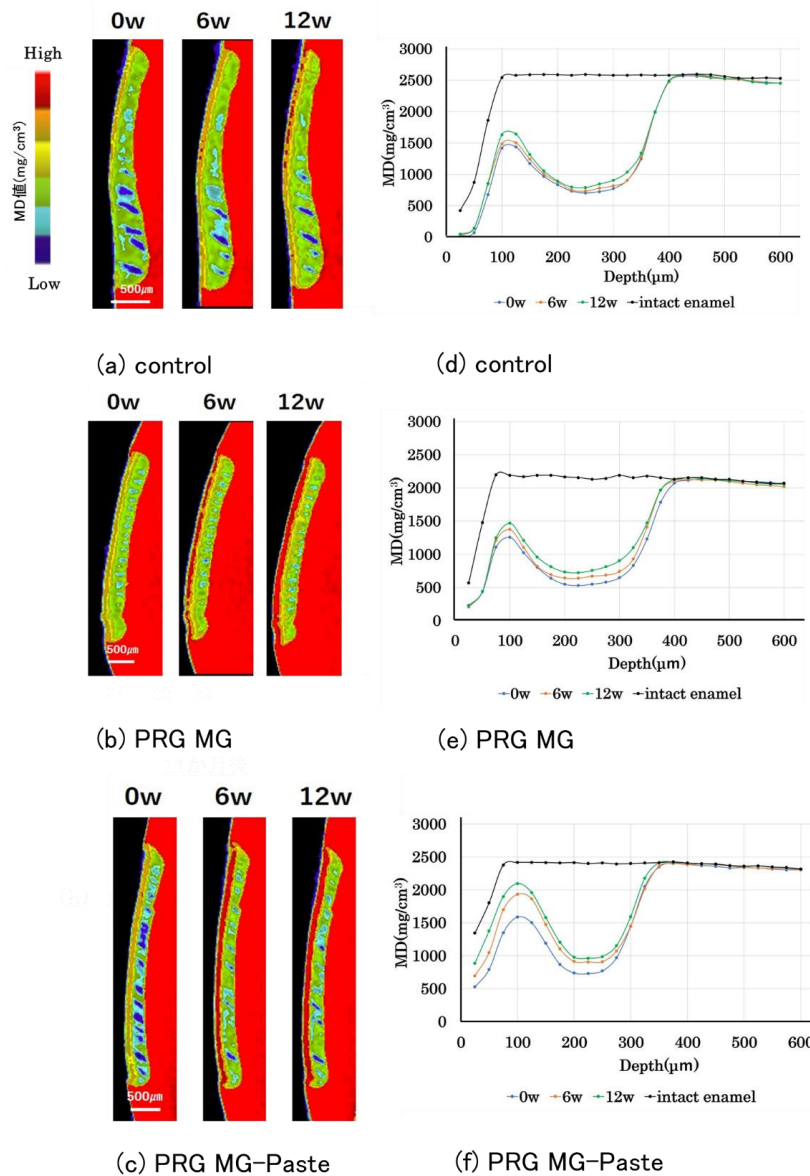


図 7 再石灰化 0, 6, 12 週間後の μCT 像と MD 値のプロファイル

(a)control, (b)PRG MG, (c)PRG MG-Paste の μCT 像を示す。

(d)control, (e)PRG MG, (f)PRG MG-Paste の平均 MD 値のプロファイルを示す。

図 8～10 に再石灰化 3, 6, 9, 12 週間後の 100 μm , 200 μm , 300 μm における MD 値を示す. 図 8 に示した歯表面から 100 μm での 3 週間後の再石灰化量は, control 群と PRG MG-Paste 群間に有意差がみられたが, 200, 300 μm においては各群間に有意差はみられなかった. また 6 週間後と 9 週間後では, control 群と PRG MG-Paste 群間, PRG MG 群と PRG MG-Paste 群間で有意差を認めた. 一方, 200, 300 μm においては 9 週間後まで各群間に有意差はみられなかった. 12 週間後では, 100, 200 μm において再石灰化量の平均値は PRG MG-Paste 群 > PRG MG 群 > control 群の順であり, 各群間で有意差を認めた. また 300 μm では 12 週間後の control 群と PRG MG-Paste 群間のみに有意差がみられた.

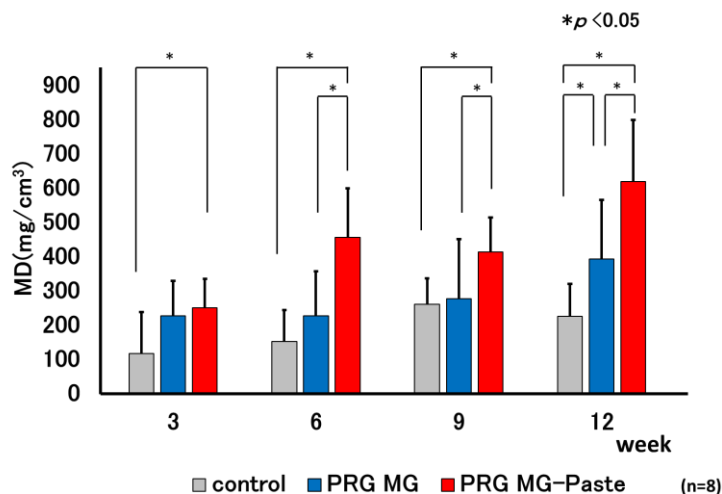


図 8 歯表面から 100 μm における MD 値 (mean \pm SD) 3, 6, 9, 12 週間後の再石灰化した MD (mg/cm³) を示す.

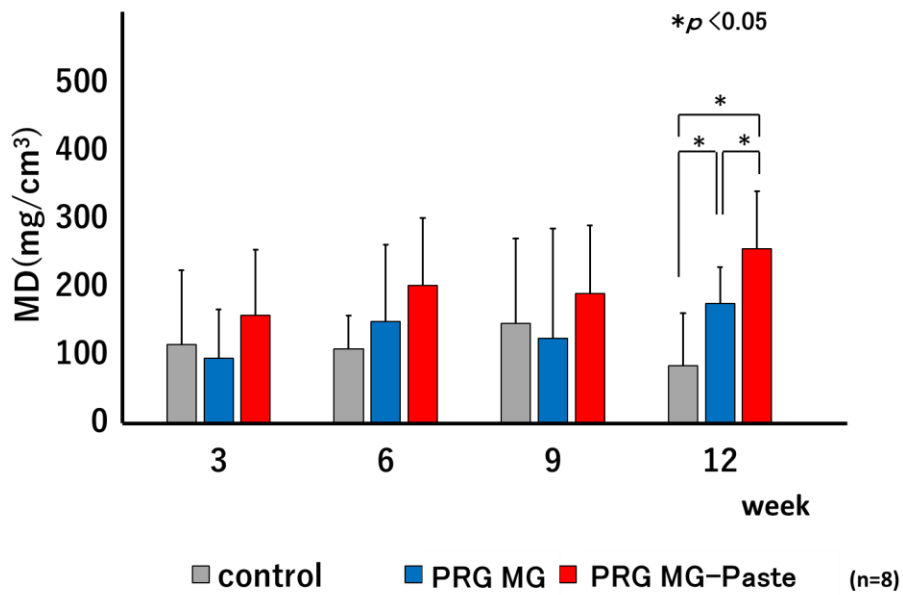


図 9 歯表面から 200 μm における MD 値 (mean \pm SD) 3, 6, 9, 12 週間後の再石灰化した MD (mg/cm^3) を示す。

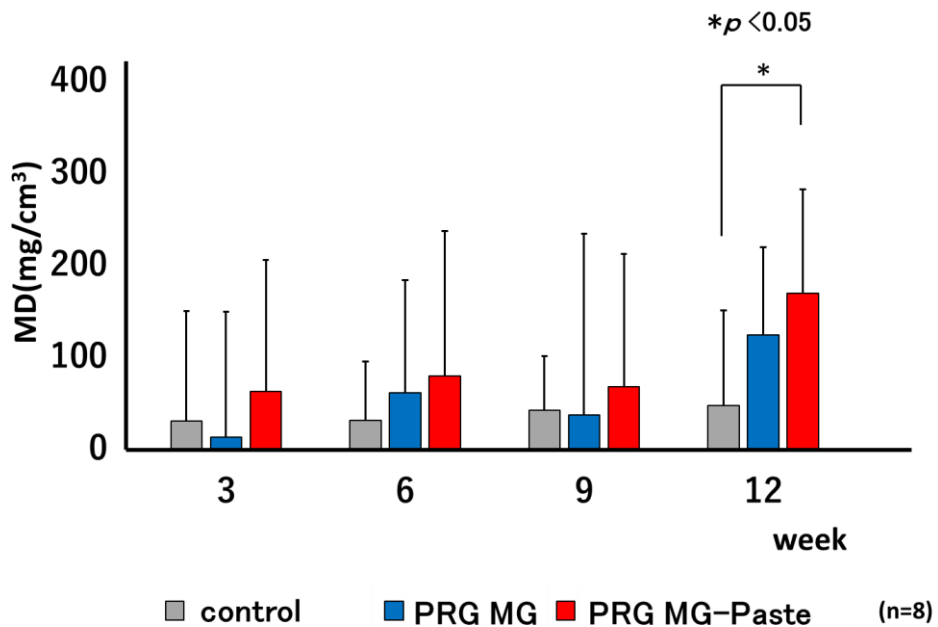


図 10 歯表面から 300 μm における MD 値 (mean \pm SD) 3, 6, 9, 12 週間後の再石灰化した MD (mg/cm^3) を示す。

12週間後の病変部の再石灰化率を図11に示す。再石灰化率はPRG MG-Paste群が一番高く、次いでPRG MG群、control群の順で各群間に有意差を認めた。

PRG MG単体で再石灰化効果がみられ、PRG MGとPRGプロケアジェルの組み合わせでさらにその効果が上がることがわかった。PRG MG群とPRG MG-Paste群との間で有意差がみられたことから、PRGプロケアジェル単体の再石灰化効果を調べるために、S-PRGファイラーを含有しないEVAシートで作製したマウスガードを用いて同様の再石灰化実験を行い、12週間後のMD値のプロフィールから再石灰化率を算出した。

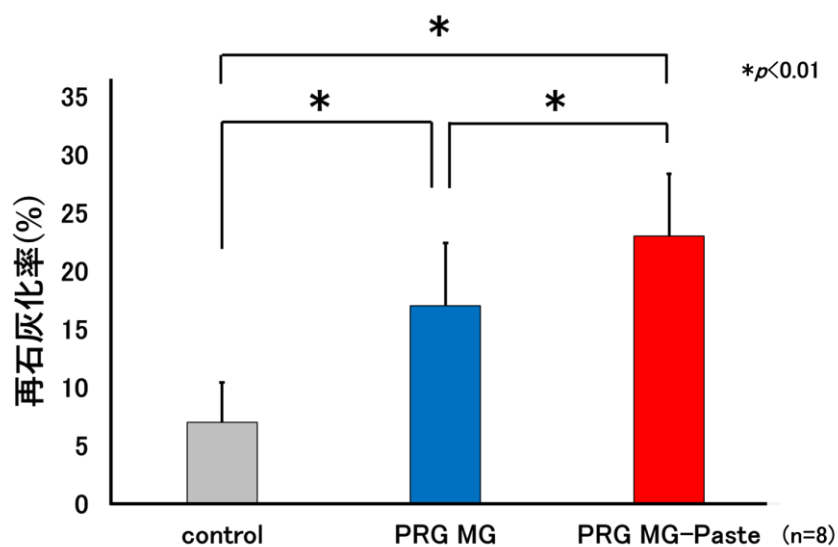


図11 12週間後の再石灰化率 (mean±SD)

図 12 に各群の再石灰化率を示す．EVA シートのみの使用では，再石灰化の効果は認められなかった．

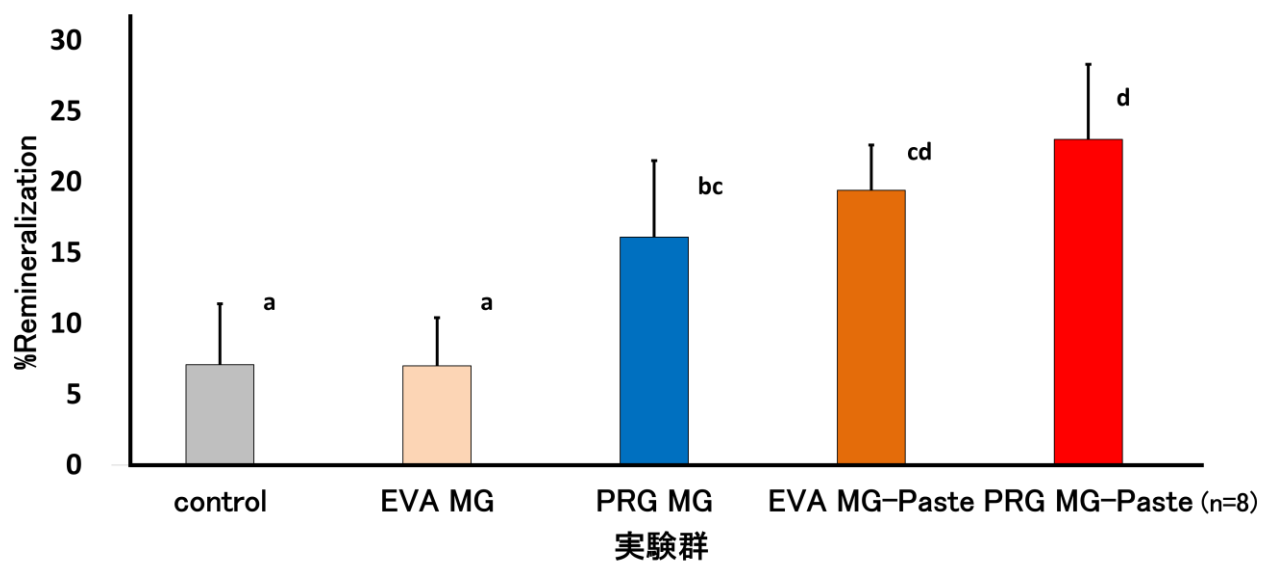


図 12 各群の再石灰化率 (mean ± SD)

異なるアルファベットは有意差ありを示す．

4 . 歯表面の SEM 観察像

歯表面の SEM 像を図 13～16 に示す。図 13 に示すように、脱灰後の歯面は大小様々な凹凸や小孔がみられた。再石灰化 12 週間後の control 群では小孔も一部みられるが、細い針状の結晶で覆われていた(図 14)。また PRG MG-Paste 群では、粒状の微小な結晶が歯面全体を覆っていた(図 15)。PRG MG 群では、control 群でみられたよりも小さい針状結晶と、PRG MG-Paste 群でみられたよりも小さな粒状結晶が認められた(図 16)。また結果には示していないが、EVA MG-Paste 群においても PRG MG-Paste 群と同様に微小な結晶が歯面全体を覆っている像がみられた。

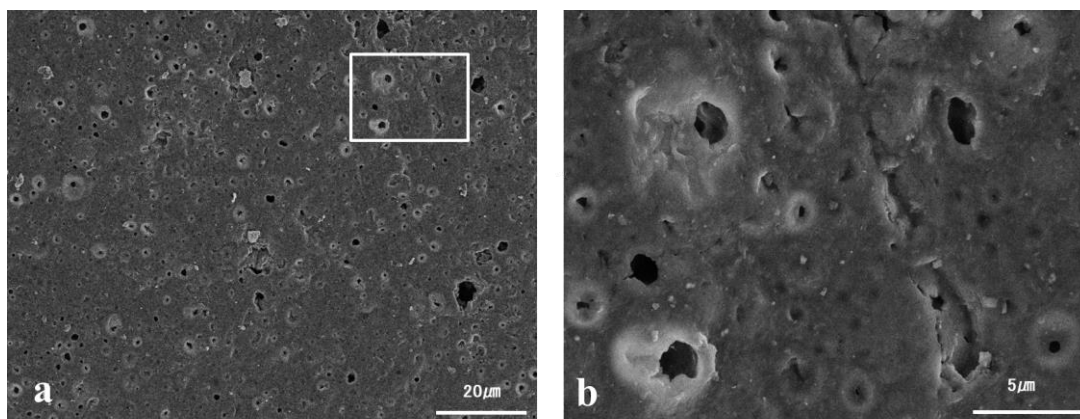


図 13 脱灰後の歯表面の SEM 像

a : 歯面に大小様々な凹凸を認めた。

b : a の拡大像。1 μm 以下の小孔も多数みられた。

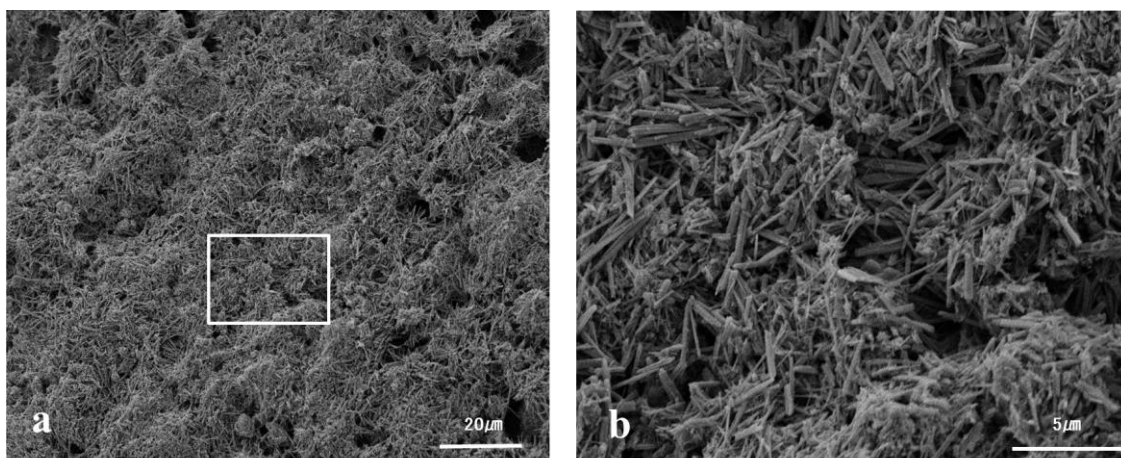


図 14 control 群の歯表面の SEM 像

a : 歯表面が沈着物で覆われていた。

b : a の白枠内部の拡大像。

長さ 0.5 ~ 3 μm の針状結晶が認められた。

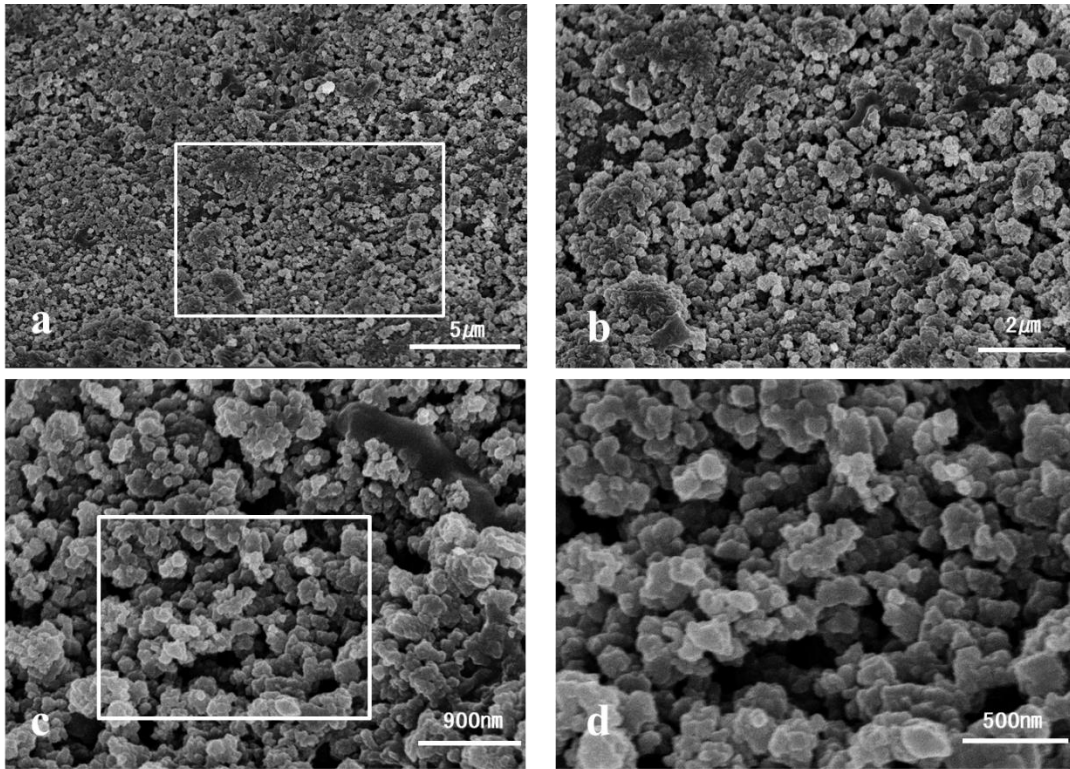


図 15 PRG MG-Paste 群の歯表面の SEM 像

- a : 歯面全体に微小な沈着物を認めた .
- b : a の白枠内部の拡大像 .
- c : b の強拡大像 .
- d : c の白枠内部の拡大像 . 大きさ 10 ~ 200 nm の粒状沈着物を認めた .

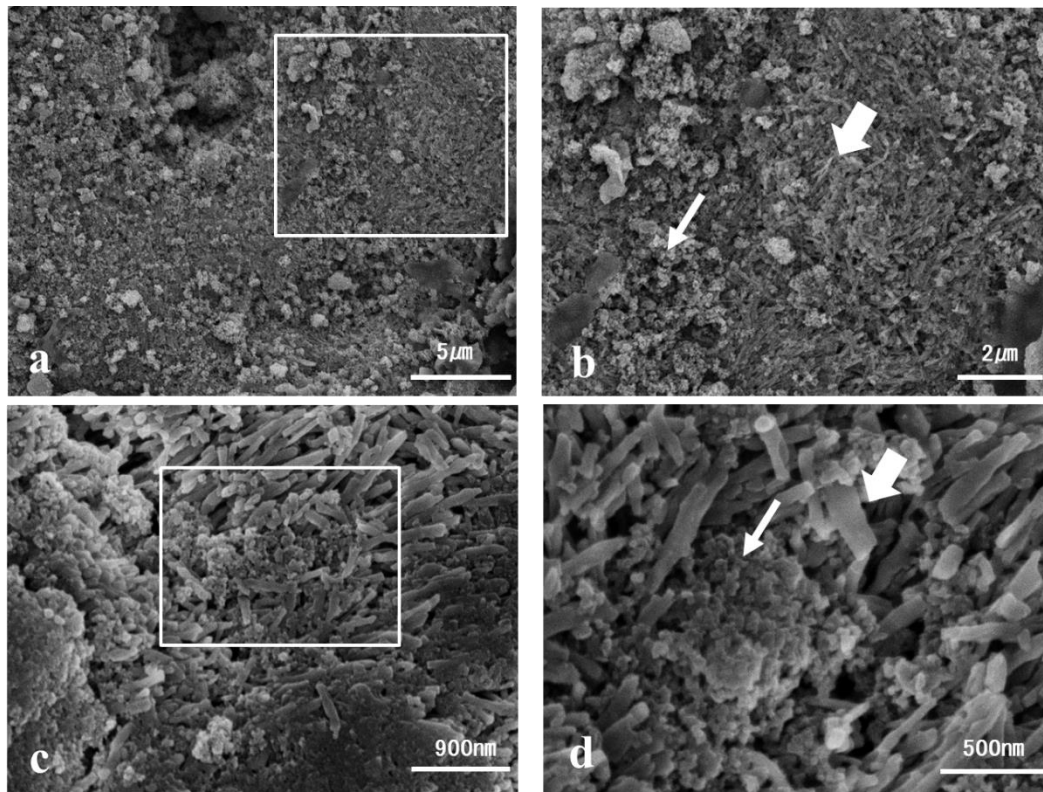


図 16 PRG MG 群の歯表面の SEM 像

a : 歯表面に堆積物を認めた .

b : a の白枠内部の拡大像 .

c : b の強拡大像 .

d : c の白枠内部の拡大像 .

針状の結晶（長さ $0.3 \sim 0.5 \mu\text{m}$ ，太矢印）と，PRG MG-Paste 群でみられた粒状の結晶（細矢印）が混在していた .

5. 歯表面の元素分析

歯表面の EPMA 解析の結果を図 17 に示す。脱灰後の試料では、Ca、O、P、Cl が検出された (a)。再石灰化 12 週間後の歯表面の EPMA 解析では、control 群で Ca、O、P、Cl が検出された。PRG MG 群と PRG MG-Paste 群では、Ca、O、Na、Al、Si、P、Cl が検出された。Sr が微量検出されたものもあった。また元素のマッピング画像では、Ca、P は均一に分布していたが Al、Si は O と共に分布していた。

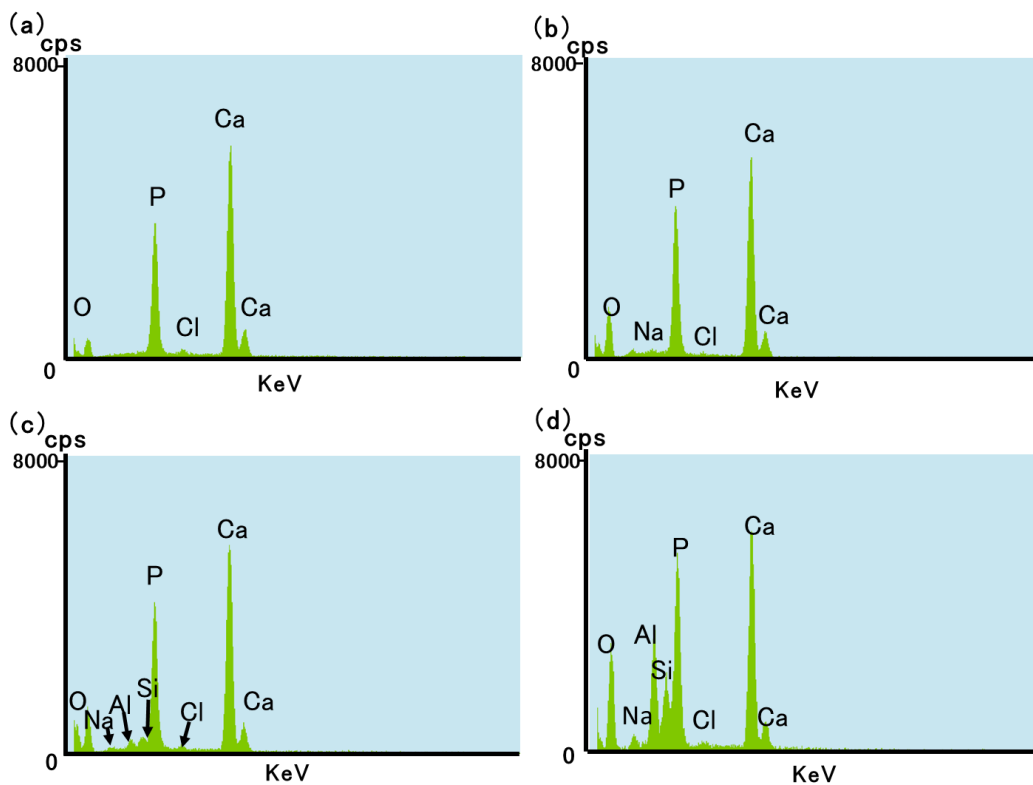


図 17 歯表面の EPMA 解析

(a)脱灰後，(b)control 群，(c)PRG MG 群，(d)PRG MG-Paste 群

6. 被験者情報

表3にマウスガードの装着状況を示す。4～5か月まではほとんどの被験者が毎日就寝時に約9時間装着していた。しかし、6か月を過ぎる頃から週2～3回程度になる患児が多く、装着回数は減少傾向にあった。乳歯と永久歯の交換による不適合、取り扱いの不備による不適合、穿孔などにより3例においてマウスガードを再製した。使用感については、装着開始初期にペーストやマウスガードに不快感や痛みを訴える者が数名いた。

表3 マウスガードの装着状況

| 年齢 | 装着時間 | 装着頻度 | 使用感 | 特記事項 | |
|----|------|--------|---|--------------------------------------|---------------------------|
| A | 13 | 7.5～8h | 4か月目まで:6～7回/週 4か月目以降:1～2回/週 | 5か月目に21に痛みあり マウスガード再製(穿孔):食いしばりあり | |
| B | 16 | 6～7h | 3か月目まで:4回/週 3か月目以降:1～2回/週 | 問題なし 27CR ダツリ (OB) マウスガード再製 4M | |
| C | 9 | 9h | 10か月目まで毎日 10か月目以降:3～4回/週 | 問題なし なし | |
| D | 11 | 9h | 6か月目まで毎日 6か月目以降:1回/週 | マウスガード不適合 (17,27萌出開始) | なし |
| E | 12 | 7～8h | 2か月目まで毎日 3か月目まで:4回/週 5か月目まで毎日 6～10か月目まで:5回/週 10か月目以降:毎日 | 1か月目に奥歯に違和感あり | なし |
| F | 9 | 8.5h | 6か月目まで毎日 6か月目以降:ほぼ毎日 | 5か月目に外すとき24に痛みあり | なし |
| G | 11 | 8h | 6か月目まで毎日 6か月目以降:4回/週 | 問題なし | なし |
| H | 10 | 8h | 2か月目まで:毎日 4か月目まで:1回/週 12か月目まで:2～3回/週 | 問題なし | なし |
| I | 14 | 8h | ほぼ毎日 | 夜間途中で外れる | マウスガード再製(2か月目に熱湯でMG変形のため) |
| J | 12 | 8h | 4か月目まで:毎日 | 問題なし | なし |
| K | 8 | 9h | 5か月目まで:毎日 10か月目まで:3～4回/週 | 問題なし | なし |
| L | 9 | 8h | 10か月間:毎日 | 問題なし | なし |
| M | 13 | 7～8h | 3か月目まで:5回/週 6か月目以降:4回/週 | 問題なし | なし |
| N | 11 | 8h | ほぼ毎日 | 2か月目から装着時に痛みあり | 2か月目にマウスガード調整(痛みあり) |

A～G: PRG MG-Paste 群

H～N: PRG MG 群

7. 白斑判定歯数

評価の判定例を図 18 に，6 か月後の白斑の判定歯数を表 4 に示す。PRG MG-Paste 群の合計歯数は 41 歯で，内訳は A 評価 21，B 評価 13，C 評価 7 であった。MG 群の合計歯数は 33 歯で，内訳は A 評価 4，B 評価 17，C 評価 12 であった。 χ^2 検定により両群間に有意差を認めた。残差分析より，A 判定の歯数は PRG MG-Paste 群の方が PRG MG 群に比べ有意に多かった。B，C 判定では両群間の歯数に有意差は認められなかった。なお 6～18 か月後まで経過観察を行ったが，全症例において観察部位に修復処置が必要となる歯はなかった。

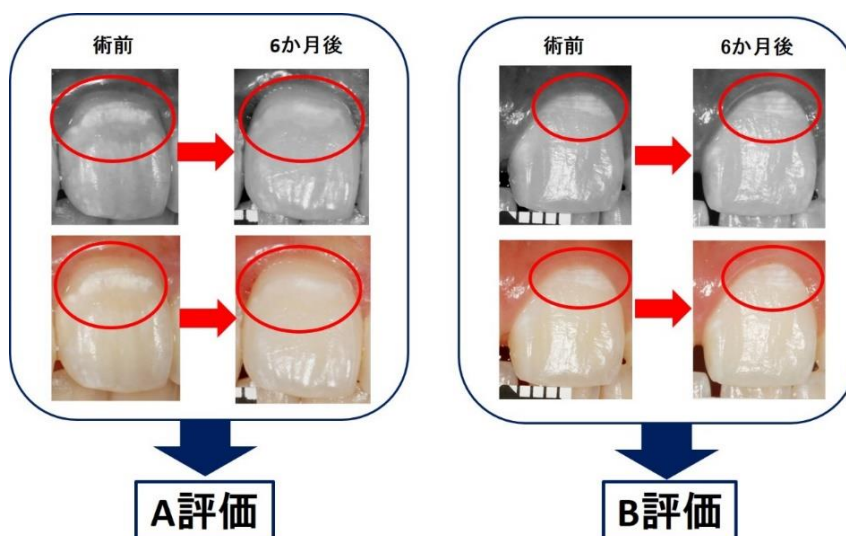


図 18 白斑の判定例

口腔内写真の目視により，著しく改善したものを A 評価，改善が認められたものを B 評価，変化なしを C 評価とした．白斑部を赤円で囲み示す．

表 4 白斑判定歯数

| 実測値(歯) | A評価 | B評価 | C評価 | 計 |
|-------------|-----|-----|-----|----|
| PRGMG-Paste | 21 | 13 | 7 | 41 |
| PRGMG | 4 | 17 | 12 | 33 |
| 計 | 25 | 30 | 19 | 74 |

8. 白斑面積の比較

PRG MG-Paste 群と PRG MG 群で、6 か月後と術前との白斑面積の差はそれぞれ $1.66 \pm 1.84 \text{ mm}^2$, $0.81 \pm 1.27 \text{ mm}^2$ であり、Fisher PLSD により両群間に有意差を認めた (図 19)。写真上で判定可能である白斑の濃さの変化は数値に反映されていないが、目視による評価からも PRG MG-Paste 群の方がより効果がありという結果が得られた。また、6 か月後と術前との白斑面積の差と歯種との関係を検定したところ、両者に有意差はみられなかった。また、歯の歯種により白斑面積に有意差がなかった (図 20)。一方、白斑面積の差と被験者との関係を検定したところ、被験者間で有意差がみられ、同一群内でも被験者間で有意差がみられた (図 21)。

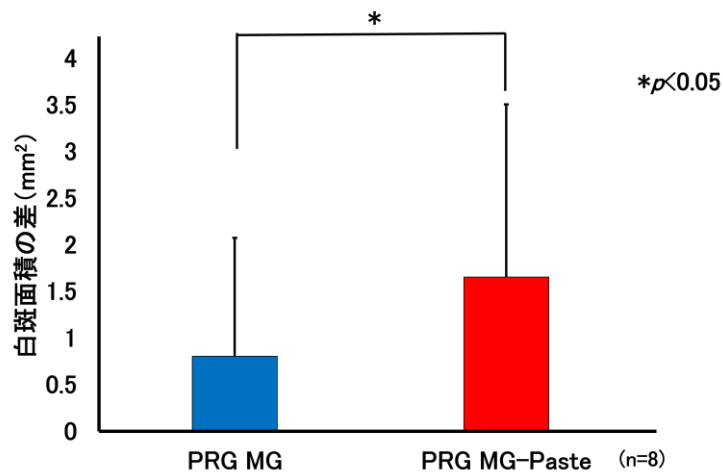


図 19 術前術後の白斑面積の差 (mean ± SD)

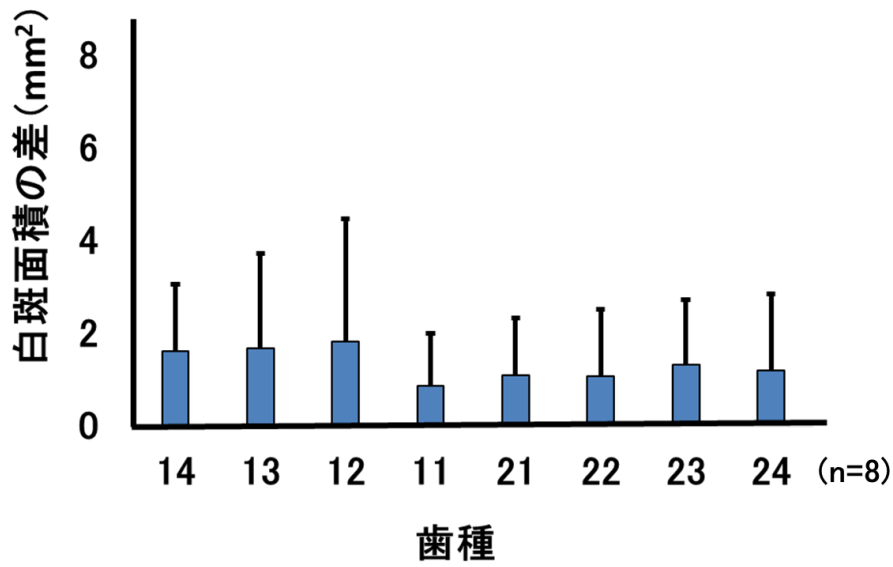


図 20 白斑面積の差と歯種 (mean ± SD)

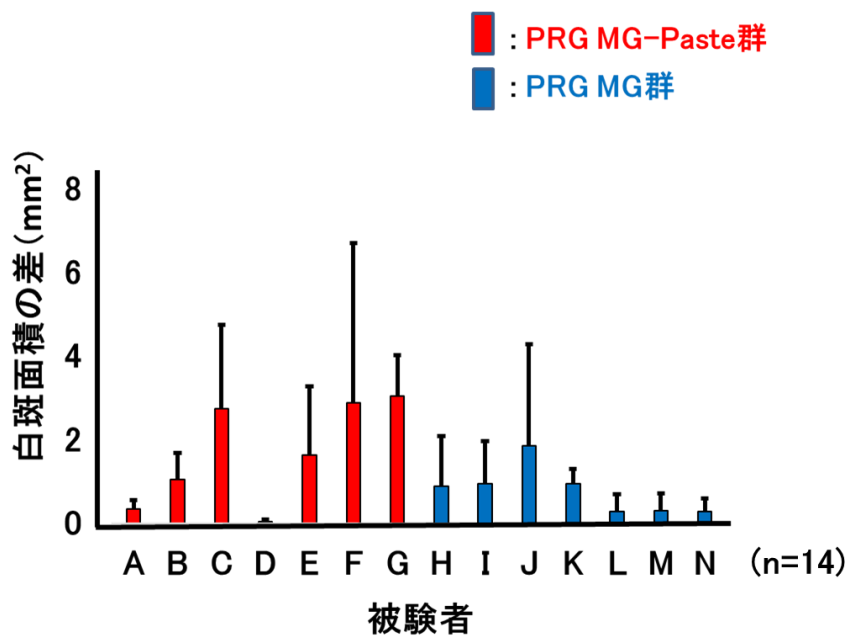


図 21 白斑面積の差と被験者 (mean ± SD)

被験者 C と N, L, M との間, 被験者 N と G 間, 被験者 F と L, M, I との間, 被験者 D と J の間, 被験者 G と L, M, I との間に有意差がみられた. 同一グループ内でも被験者間でも有意差がみられ, PRG MG-Paste 群では被験者 D と A, C, E, F, G との間に, 被験者 A と C, F, G との間に, 被験者 B と G, H 間に有意差が認められた.

9. 長期観察症例

PRG MG-Paste 群の長期観察例を図 22~24 に示す. 6~18 か月後まで経過観察を行った結果, すべての症例において観察部位に修復処置が必要となる歯はなかった. PRG MG-Paste 群において, エナメル質形成不全部の白斑に改善傾向にみられたものが 2 例あった.

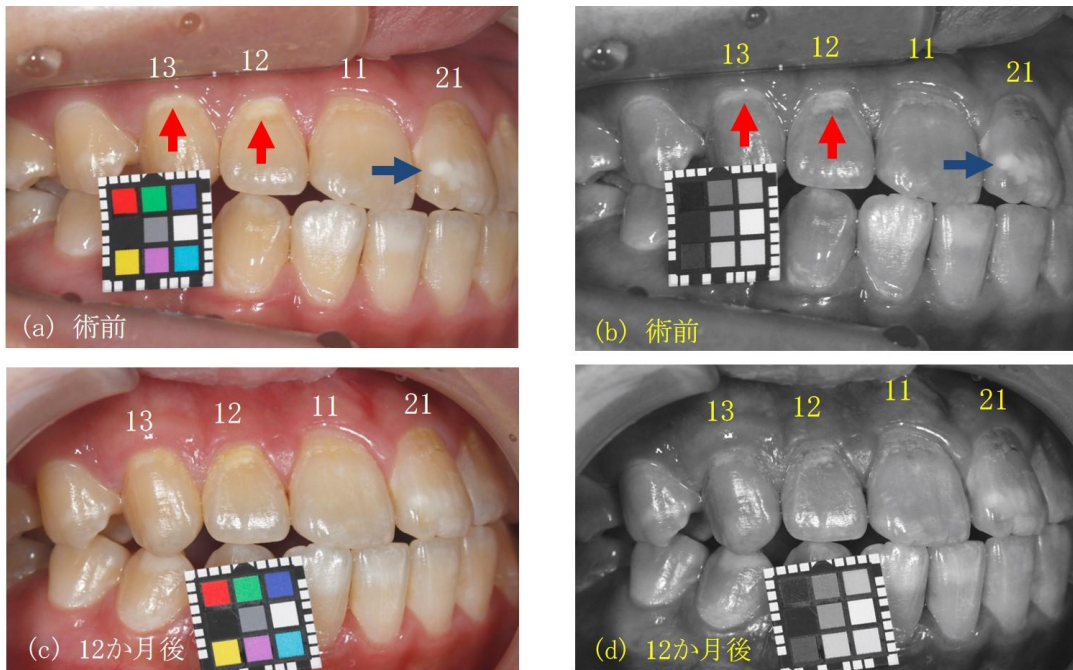


図 22 PRG MG-Paste 群（症例 B）の 12 か月後の口腔内写真

本症例のマウスガード装着状況は 4 カ月までは週 4 回，その後は週 1 回であった．(b)，(d)はそれぞれ(a)，(c)のブルー画像を示す．術前(a)，(b)と比較して 12 か月後(c)，(d)では，12，13 歯頸部の白斑（赤矢印）が改善されている．21 の歯冠中央部から切端にかけてみられる石灰化不全部（青矢印）の白斑にも改善効果がみられた．

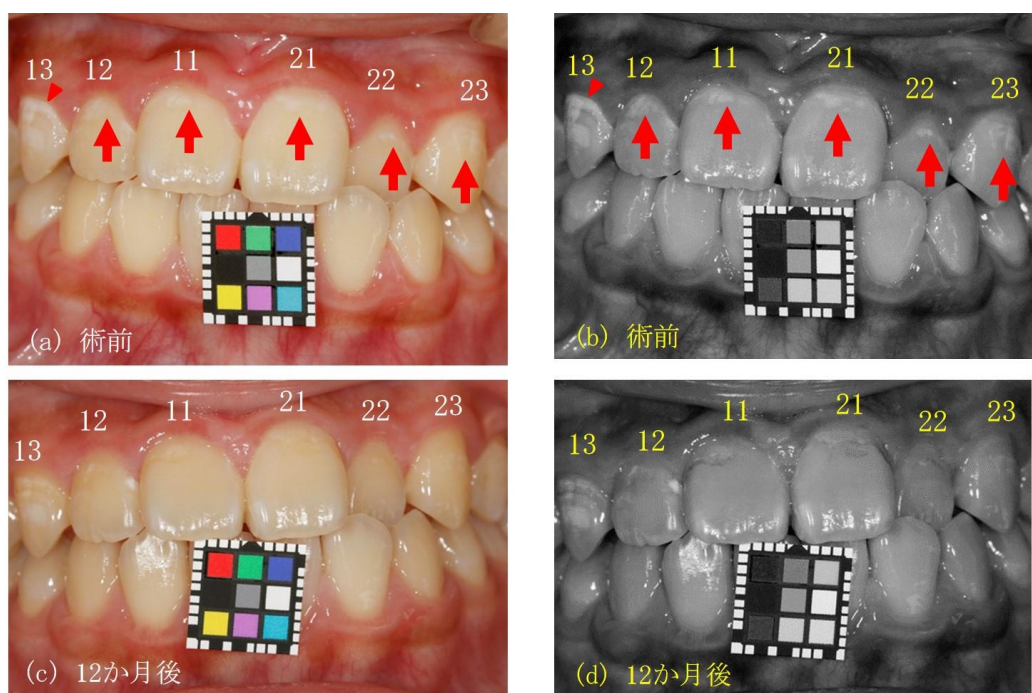


図 23 PRG MG-Paste 群（症例 E）の 12 か月後の口腔内写真

本症例のマウスガード装着状況は 5 か月までは毎日，その後は週 5 回であった．術前 (a), (b) と比較して 12 か月後 (c), (d) では，11, 21 歯頸部の白斑（赤矢印）はかなり縮小し 12, 22, 23 歯頸部ではほぼ消失していた．13 歯頸部の白濁（赤矢頭）も改善されていた．

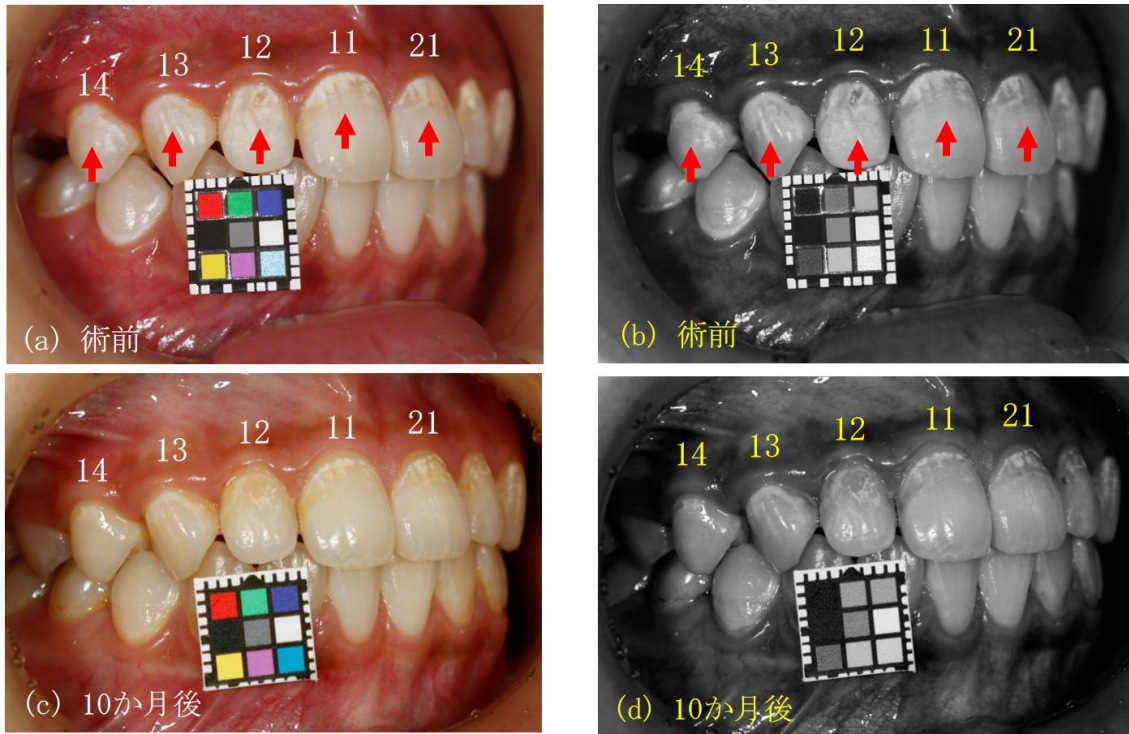


図 24 PRG MG-Paste 群（症例 G）の 10 か月後の口腔内写真

本症例のマウスガード装着状況は 6 か月目まで毎日それ以降は週 4 回であった。術前の写真 (a), (b) から 14, 13, 12, 11, 21 の歯頸部に広範囲にわたる白濁を認めた (赤矢印)。術前 (a), (b) と比較して術後 (c), (d) では、全ての対象歯において著しい改善が認められた。

考 察

in vitro で歯のミネラル含有量を直接的に調べる方法としては、試料の切片を作製してコンタクトマイクロラジグラム⁵⁾や TMR^{6,7,8,19)}を撮影する方法が一般的である。しかし、今回は経時的な病変部のミネラル量の変化を調べるために、試料に対して侵襲性のない μ CTを用いた。その結果、表層下脱灰病変の深さについては各群間で有意差はみられず、平均 389.1 ± 33.3 μm であった。表層下脱灰病変の再石灰化に関する *in vitro*での研究では、病変深さ $100 \mu\text{m}$ で行っているものが多い、しかし実際の病変はエナメル小柱に沿った $100 \mu\text{m}$ より深い像が認められており²⁷⁾、再石灰化過程での変化も観察しやすいため、今回はこの病変深さを選択した。また、5歳児小児を対象に唾液のクリアランス能を調べた研究では²⁸⁾、1日のうちで最も長い時間を占める安静時に、口腔内に停滞する唾液量は嚥下直前で 0.50 ± 0.15 ml、嚥下直後では 0.37 ± 0.11 mlであったという。そして、臨床研究において使用したマウスガードの重量は1個あたり $4 \sim 4.5$ gであり、生体内に近似した条件となるように歯面に接する唾液の量を考慮し、シートから徐放されるイオン定量時には、シートを浸漬する蒸留水は可及的に少ない値とした。

初期齲蝕病変は可逆的な病変であり再石灰化の際には表層部分の硬度が増加する^{2,3)}。本実験でも、すべ

てのグループの歯表面から 100 μm で、ミネラル密度は 200, 300 μm のミネラル密度に比べ大きくなっていった。12 週間後では歯表面から 100, 200 μm において、control 群と比較して PRG MG 群の MD 値は有意に大きく、S-PRG フィラー含有マウスガードには再石灰化促進効果があり、病変表層部が破壊されるリスクを減少させることが期待できる。さらに、S-PRG フィラー含有マウスガードと PRG プロケアジェルを併用することで再石灰化量が増大し、12 週間後では病変深部 (300 μm) においても効果が認められた。これらのことから、深い表層下脱灰病変ではマウスガードに PRG プロケアジェルを併用する方が有効であると考えられる。

S-PRG フィラー含有マウスガード、PRG プロケアジェル単体の再石灰化に及ぼす影響について検討するために、S-PRG フィラー非含有の EVA シートでマウスガードを作製し、PRG プロケアジェルを併用した群 (EVA MG-Paste)、マウスガードのみの群 (EVA MG) についても再石灰化実験を行い、S-PRG フィラー含有マウスガードとの結果を比較した (図 12)。control 群と EVA MG 群の間に有意差はみられず、8 時間のマウスガード装着がエナメル質の再石灰化に影響を与えないことがわかった。また、EVA MG 群と EVA MG-Paste 群の間で有意差が認められたことから、PRG プロケアジェル単体においても再石灰化を促進する効果があることがわかる。そして EVA MG 群と PRG MG 群間で有

意差がみられたことから，S-PRG フィラーには再石灰化効果があることは明らかである．さらに，PRG MG 群と PRG MG-Paste 群間に有意差が認められたことから，プロケアジェルと S-PRG フィラー含有 MG の併用は再石灰化促進の相乗効果があると考えられる．

リン酸化オリゴ糖カルシウム (POs-Ca) 配合ガム，あるいは非配合ガムを咀嚼後に分泌された唾液中で牛切歯の初期齲蝕病変 (病変深さ 100 μm) を再石灰化させ TMR とエックス線解析を行った実験⁷⁾では，再石灰化率は POs-Ca 非配合ガムでは 10.6 ± 1.8 % であつたのに対し POs-Ca 配合ガムでは 16.6 ± 2.1 % と有意に高くなつていた．ガムから溶出したカルシウムイオンによりエナメル質が再石灰化し，再石灰化部の結晶も HAP であつたことが報告されている．また，表層下脱灰病変を抜去歯に作製し口腔内装置に装着し，1日3回20分間ガム咀嚼を2週間継続して行い，TMR 解析とエックス線解析を行った実験では⁸⁾，再石灰化率は POs-Ca ガム 21.9 ± 10.6 %，POs-Ca に F を添加したガムでは 26.3 ± 9.4 % と再石灰化率はさらに大きくなつていた．さらに，フッ化物含有歯磨剤とフッ化物含有歯磨剤に CPP-ACP，ACP などを添加した歯磨剤の再石灰化効果を比較した研究では，1100 ppmF + CPP-ACP ペースト，1450 ppm + ACP ペースト希釈液の含嗽によつて口腔内で抜去歯の初期齲蝕病変 (100 μm) を再石灰化させたところ⁶⁾，再石灰化率はそれぞれ 31.3 ± 1.25 %，

23.09±1.16 %であった。この数値は同濃度のフッ化物含有ペーストによる再石灰化率よりも有意に高い値を示しており、フッ化物と可溶性カルシウムの共存が再石灰化に効果的であることが示されている。本研究で使用した S-PRG フィラー含有 EVA シートと PRG プロケアジェルにはフッ化物徐放性はあるが、カルシウムは徐放されない。再石灰化率は、control 群 7.1±4.3 % に対して PRG MG 群では 16.15±5.4 %、PRG MG-Paste 群では 23.0±5.3 % であったが、本実験の病変深さが他の実験の 3 倍以上であったことを考慮すると、本実験で得られた再石灰率はこれまでの報告と比較して低い値ではないと考える。

抜去歯に作製した表層下脱灰病変の再石灰化を、NaF (950 ppmF) に 10 %キシリトールを添加した水溶液中で pH サイクリング処理を行った実験では、エナメル質表面に厚さ 50 μm 以上の付着生成物がみられ、これはエックス線解析の結果 HAP と同定されている⁵⁾。本実験での 12 週間後の SEM 観察より、control 群、PRG MG 群、PRG MG-Paste 群において歯表面に結晶の析出が認められた。リン酸カルシウムに対する過飽和度が本実験と同等の溶液を用いて、脱灰した HAP の再石灰化過程を透過型電子顕微鏡で観察した研究²⁹⁾では、0.2 ppm 程度のフッ化物が存在すると、比較的短時間で OCP に対し不飽和となり、OCP の生成が抑制され HAP もしくは Fluoroapatite (FAP) が析出するという。

再石灰化液の組成，再石灰化時の温度（37℃）などから考察すると，SEM観察でcontrol群，PRG MG群でみられた針状結晶は，HAPの前駆物質であるOCPあるいはTCPであり，PRG MG群，PRG MG-Paste群，EVA MG-Paste群でみられた歯表面の微小な結晶は，FAPあるいはHAPであると推察される．FAPとHAPはOCPやTCPに比べ結晶として安定しており，口腔内で再石灰化に必要なCa，Pの供給源となることが期待され再石灰化促進に有利と考えられる．データには示していないが歯縦断面のSEM観察では，歯表面を覆う結晶の厚さは2 μmと狭小であったため微小焦点エックス線回析は行えなかった．結晶の同定には透過型電子顕微鏡による電子線解析が必要と考えられる．

脱灰後の歯表面の元素分析ではCa，P，Cl，Oがcontrol群ではCa，O，Na，P，Clと微量のAlが検出された．一方，PRG MG群およびPRG MG-Paste群にみられた結晶の元素分析からは，Ca，O，Na，P，Clの他にSi，Alが検出された．Siはアパタイトの核形成に参与し³⁰⁾，象牙質の石灰化を促進する効果があり³¹⁾，Alはエナメル質の酸抵抗性を向上させる作用があること³²⁾が報告されている．これらのことから，SiやAlを徐放するS-PRGフィラーを含有させた材料を使用することは，口腔内において再石灰化に有利な環境が整うと考えられる．

臨床的実験では，PRG MG群にもPRG MG-Paste群に

においても観察部位の白斑の悪化や観察部位以外の新たな白斑形成は認められなかった。表層下脱灰病変の成り立ちについては、フッ化物イオンを添加した7種類の脱灰溶液にヒトの抜去歯を72時間浸漬した

Margolisらの研究³³⁾がある。フッ化物イオン濃度が0.01 ppm以下では脱灰量がFAPの沈着量よりも大きくなり齲窩が形成されるが、0.02~0.5 ppmではFAPの沈着量が多くなり表層下脱灰病変になるという。また、フッ化物イオン濃度が0.1 ppm以上になると齲窩の形成が抑制され、1 ppmを超えると表層下脱灰病変の形成も抑制されるという。表1に示すように、シートから溶出するフッ化物イオン濃度は8時間後で1.1 ppmであった。蒸留水(pH 5.9)あるいは乳酸溶液(pH 3.8)にS-PRGフィラーを浸漬し溶液中のフッ化物イオン濃度を定量した実験では、いずれの溶液を使用した場合も同等量のフッ化物イオンが徐放されている¹⁵⁾。このことから、口腔内が酸性の状態に傾いてもS-PRGフィラー含有マウスガードから中性領域と同等量のフッ化物イオンが徐放され、マウスガード装着により歯の脱灰を抑制するような口腔内環境になっていたと予測される。

S-PRGフィラー配合レジンの試験片を口腔内の第一大臼歯に固定し表面をSEM観察した研究³⁴⁾では、試験片へのプラークの付着が抑制され、S-PRGフィラーが抗プラーク効果を持つことが示されている。また、

S-PRG フィラーを含有するレジンと未含有のレジンを用いて *S.mutans* への抗菌活性を調べた研究³⁵⁾では、S-PRG フィラー含有レジンにはプラークの形成と細菌の付着を抑制することが明らかにされている。さらに、S-PRG フィラーより溶出するイオンのうち F⁻は Sr²⁺、Al³⁺と共存することでフッ化物単独よりもエナメル質の耐酸性を向上させることも示されている³⁶⁾。一方、ウシエナメル質を S-PRG フィラー抽出液で処理後に乳酸溶液に浸漬し超音波伝導速度により耐酸性を比較した研究では³⁷⁾、抽出液に浸漬したグループの超音波伝導速度の方が高く、S-PRG フィラー抽出液に脱灰抑制効果があることが示されている。また、S-PRG フィラー含有 EVA シート (0, 5, 10, 20 wt%) の pH 緩衝能を調べた研究では、10, 20% フィラー含有 EVA において有意に高い酸緩衝能が認められている¹⁷⁾。さらに 2 種類の S-PRG フィラー含有レジンシーラントの硬化体を pH 4.0 の乳酸溶液に浸漬し、溶液の pH の変化とエナメル質表面の形態観察を行った研究では³⁸⁾、シーラント材から溶出したイオンにより乳酸水溶液が緩衝されエナメル質の脱灰も抑制されていた。今回の研究では 20% S-PRG フィラー含有 EVA シートをマウスガードシートとして使用したが、6~18 か月に及ぶ臨床研究において、観察歯の白斑の悪化や観察歯以外に新たな齲蝕の発生はみられなかった。20% S-PRG フィラー含有 EVA シートから 6 種のイオン

が徐放されることが ICP 発光分析により確認されており，シートから徐放されたイオンが齲蝕予防や齲蝕の進行抑制に効果的に働いたと考えられる．

初期齲蝕病変の白斑は上顎前歯部と小臼歯頬側面に好発する．これは，この部位へ唾液の到達度が悪く自浄作用が及びにくく，pH が低い環境にあることが原因であることが，寒天にカリウムを含ませたホルダーを口腔内に一定時間放置後にカリウム濃度の半減する時間を比較した研究³⁹⁾で説明されている．そのため，脱灰と再石灰化とのバランスを保ちにくい場所である上顎の前歯と小臼歯部には，再石灰化を促進するような積極的なケアが必要であると考えられる．

臨床的実験において，術前・術後の面積の差と歯種による差はみられなかった．このことから，多数歯同時に同程度の効果をあげることが本法では可能である．また，ダイレクトボンディングによる矯正治療後にブラケット周囲に初期齲蝕病変が多発した症例について，0.5 % NaF 含有チューイングスティック¹³⁾による再石灰化なども検討されているが，本実験で用いた材料はこのような症例にも有効であると考えられる．

初期齲蝕病変あるいは形成不全による歯の白濁は審美的にも問題がある．表層下脱灰病変は病変体部の多孔性が増すことにより白濁した外観を示す⁴⁰⁾．審美的な問題を早期に解決する方法として，永久歯を塩酸処理後にエタノールで脱水し，低粘稠レジンを浸潤さ

せる方法があり^{13,14)}，形成不全やフッ化物症の歯の色調改善に効果があると報告されている。しかし，治療過程において塩酸エッチングや99%エタノールによる脱水の行程が含まれ，このような侵襲性の高い方法は幼若永久歯への為害性が懸念される。Soaresによれば⁴¹⁾，レジン浸潤法においてHClの使用により，歯髄細胞の代謝活性(アルカリフォスファターゼ活性，細胞の生存度)に影響が及ぶことが報告されている。一方S-PRGフィラーの細胞毒性については，HeLa細胞を用いた実験で細胞培養液中にS-PRGフィラーから溶出した6種類のイオンが存在しても10%の希釈液ではコントロールと同程度の細胞生存度を示し，毒性は極めて低いことが示されている⁴²⁾。このようにS-PRGフィラーは侵襲性が低く生体親和性があり，幼若永久歯へも安心して使用できると考える。本分野で以前行ったS-PRGフィラー含有PRGバリアコートを用いた臨床研究では¹⁶⁾，本材料に白斑部の改善効果があることを報告している。PRGバリアコートを塗布した実験では，コート材塗布後の数日間に濃い色の食物や飲料を摂取するとコート材が黄色く変色し，審美的に問題が生じる例もあった。しかし，本実験のマウスガードやペーストでは，そのような不具合は生じなかった。

臨床的に白斑の改善効果を評価する方法としては，面積を測定する方法^{9,16)}，病変の蛍光強度を測定する方法¹¹⁾，ミネラル含有量を蛍光画像で測定する方法⁹⁾

などがある。白斑病変を有する乳前歯に 950ppm のフッ化物と f-TCP を含む Clinpro Tooth Creme® (3M) を 1 週間ごとに塗布し、6 週間後に外観の変化とダイアグデントの数値の変化から再石灰化効果を判定した研究では、蛍光強度測定値の改善はみられたが白斑の大きさに変化はなかったと報告されている¹¹⁾。白斑の改善効果を評価する際、白斑の面積だけでは白斑の濃さの変化(病変内部の変化)が反映されないため、本研究では色調とサイズを補正した画像の目視による判定と、面積測定値による判定の両方を行った。今回の白斑面積の測定結果から、PRG MG-Paste 群に有意に白斑面積の減少が認められた。また口腔内写真による目視による判定からも、PRG MG-Paste 群に有意な変化が認められた。基礎的実験において、PRG MG-Paste 群の病変 300 μm での MD 値の改善が他群に比べて有意に高かったことから、口腔内においても病変の深い部分でも再石灰化することが期待できる。白斑の濃さや大きさの縮小は病変部での再石灰化が進行した結果であり、長期観察例(図 21~23)で見られるような審美的な改善につながったと考える。

6 か月後の目視による判定結果と白斑面積による判定結果から、PRG MG 群よりも PRG MG-Paste 群の方が白斑の改善により効果的であることが明らかになった。しかし、治療期間が 6 か月以上になると装着時間が短くなる傾向がみられたことから、治療効果を上げるた

めには S-PRG フィラー含有マウスガードと PRG プロケアジェルとの併用が推奨される。また，歯種と白斑面積の減少量との間に有意差はみられなかったが，被験者と白斑面積との間には，有意差がみられた。PRG MG-Paste 群において，被験者 A，D が同一群内の他の被験者に比べて白斑面積の減少量が有意に低かった。被験者 A に関しては MG の装着時間が少なかったこと，被験者 D に関しては来院時に対象歯にプラークが付着していることが頻繁に認められ，日々の口腔清掃が不十分であったことが原因の一つと考えられる。白斑の大きさや深部への広がりによっては改善に 1 年以上の長期間を要する例もあったため，装着期間中は口腔衛生指導のみならず白斑の変化を口腔内写真で被験者や保護者に示すことにより，再石灰化治療へのモチベーションを保つ必要性を感じた。

結 論

S-PRG フィラー含有マウスガードおよび PRG プロケアジェルの初期齲蝕病変再石灰化に及ぼす効果について、抜去歯を用いた基礎的実験と被験者による臨床研究により調べた。その結果は以下のとおりであった。

1. S-PRG フィラー含有 EVA シート及び PRG プロケアジェルの溶出が認められた。
2. μ CT によるミネラル定量より、S-PRG フィラー含有マウスガードに初期齲蝕病変の再石灰化を促進する効果があることが明らかになった。
3. 再石灰化量は、PRG MG 群、PRG MG-Paste 群ともに歯表面から 100, 200 μ m で顕著であり、病変表層部の破壊のリスクを減少させることが期待できる。
4. 基礎的実験から、S-PRG フィラー含有マウスガードに PRG プロケアジェルの併用した方がマウスガード単独よりも再石灰化率が有意に大きくなった。このことから、マウスガードに PRG プロケアジェルの併用した方が、初期齲蝕病変の再石灰化治療の効果が上がると考えられる。

5. EPMA 解析の結果から、PRG MG-Paste 群においてアパタイトの核形成に関与するといわれる Si、耐酸性に関与するといわれる Al が多量に検出された。このことから、本材料の使用により再石灰化に有利な口腔環境を整えられると期待できる。

6. 臨床的実験 6 か月後の口腔内写真の判定と白斑面積の減少量の結果から、マウスガード単独よりもマウスガードに PRG プロケアジェルを併用した方が白斑の改善により効果的であり、早期に白斑の改善効果を上げるためにはマウスガードと PRG プロケアジェルの併用が推奨される。

7. 臨床的実験で装着期間が 6 か月を経過するとマウスガード装着日数が減少する者が大多数となった。また同じ実験群内でも白斑面積の減少量に個人差がみられた。このことから、長期的に再石灰化治療を継続できるように口腔衛生指導に加えて患者および保護者のモチベーション維持への働きかけが必要であると考えられる。

これらのことから、S-PRG フィラー含有マウスガードおよび PRG プロケアジェルは、多数歯に及ぶ幼若永久歯初期病変の再石灰化に効果的な方法であることが示唆された。

引用文献

- 1) 若松紀子, 岡野 哲, 近藤裕子, 倉橋実里,
小倉英稔, 村林知香, 近藤亜子, 長谷川 信乃,
飯沼光生. 本学附属病院小児歯科における歯の白
斑の実態調査. 小児歯誌. 2015;53:504-511.
- 2) Featherstone JBD, Cutress TW, Rodgers BE and
Dennison PJ. Reminerali-zation of artificial
caries-like lesions in vivo by a self-administered
mouthrinse or paste. *Caries Res.* 1982;16:235-242.
- 3) Ten Cate JM, Jongebloed WL and Arends J.
Remineralization of artificial enamel lesion in vitro
IV . Influence of fluoride and dephosphonates on
short-and long-term remineralization. *Caries Res.*
1981;15:60-69.
- 4) Songsiripradubboon S, Hamada H, Trairatovorakul C
and Tagami J. Sodium fluoride mouthrinse twice
daily increased incipient caries lesion
remineralization in an in situ model. *J Dent Res.*
2014;42:271-278.
- 5) 桜井有子, 丹下貴司, 広瀬弥奈, 五十嵐 清治.
エナメル質初期齲蝕の再石灰化に及ぼすフッ化物
およびキシリトールの効果. 小児歯誌. 2001;39:
1036-1047.
- 6) Shen P, Walker GD, Yuan Y and Reynolds DP.

Importance of bioavailable calcium in fluoride dentifrices for enamel remineralization. *J Dent.* 2018;78:59-64.

- 7) 滝井 寛, 田中智子, 浅井一久, 藤井裕子, 石塚紗和子, 釜阪 寛, 米谷 俊. リン酸オリゴ糖カルシウム配合ガム摂取による初期齲蝕の再石灰化および再結晶化促進効果. *Jpn Pharmacol Ther* (薬理と治療) . 2009;37:849-856.
- 8) Kitasako Y, Tanaka M, Sadr A, Hamada H, Ikeda M and Tagami J. Effects of a chewing gum containing phosphoryl oligosaccharides of calcium (POs-Ca) and fluoride on remineralization and crystallization of enamel subsurface lesions in situ. *J Dent.* 2011;39:771-779.
- 9) Radha S, Kayalvizhi G, Adimoulame S, Prathima GS, Muthusamy K, Ezhumalai G and Jagadesaan N. Comparative evaluation of the remineralizing efficacy of fluoride varnish and its combination varnishes on white spot lesions in children with ECC:A randomized clinical trial. *Int.J Clin Pediatr Dent.* 2020;13:311-317.
- 10) Ebrahimi M, Mehrabkhani M, Ahrai F, Parisay I and Jahantigh M. The effects of three remineralizing agents on regression of white spot lesions in children: A two-week, single-blind, randomized

- clinical trial. *J Clin Exp Dent*. 2017;9:641-648.
- 11) AlFeel J, Laflouf M, AlKurdi S and Alkhouli M. Evaluation the effect of Clinpro Tooth Creme on remineralization of pre-cariouss white spot lesions in anterior primary teeth: randomized controlled clinical trial. *Pediatr Dent J*. 2021;31:152-158
- 12) Baeshen HA, Lingstrom P and Birkhed D. Effect of fluoridated chewing sticks (Miswaks) on white spot lesions in postorthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2011;140:291-297.
- 13) Torres CRG, Borges AB, Tottes LMS, Gomes IS and Oliveira RS. Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on the color masking of white spot lesions. *J Dent*. 2011;39:202-207.
- 14) Mihriban DGG and Zuhail K. A comparsion of the effectiveness of resin infiltration and microabrasion treatments applied to developmental defects in color masking. *Dent Mater J*. 2019;38:295-302.
- 15) Fujimoto Y, Iwasa M, Murayama R, Miyazaki M, Nagafuji A and Nakatsuka T. Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. *Dent Mater J*. 2010;29:392-397.
- 16) Wakamatsu N, Ogita M, Okano T, Murabayashi C, Kondo T and Iinuma M. Effect of tooth surface

- coating material containing-PRG filler on white spot lesions of young permanent teeth. *Pediatric Dent J.* 2018;28:40-45.
- 17) 白井友恵, 荒井良明, 永井康介, 高木律男. S-PRG フィラー含有マウスガード材料のう蝕抑制効果. *スポーツ歯学.* 2015;19:8-13.
- 18) Iijima M, Kawaguchi K, Kawamura N, Ito S, Saito T and Mizoguchi I. The effect of single application of pastes containing ion-releasing particles on enamel demineralization. *Dent Mater J.* 2017;36:461-468.
- 19) Amaechi BT, Kasundra H, Joshi D, Abdollahi A, Azees PAA and Okoye LO. Effectiveness of S-PRG filler-containing toothpaste in inhibiting demineralization of human tooth surface. *Open Dent J.* 2018;12:811-819.
- 20) Silverstone LM. The primary translucent zone of enamel caries and of artificial caries-like lesions. *Brit Dent J.* 1966;120:461-471.
- 21) Feagin F, Koulourides T and Pigman W. Study of the effect of calcium, phosphate, fluoride and hydrogen ion concentrations on the remineralization of partially demineralized human and bovine enamel surfaces. *Archs Oral Biol.* 1971;16:535-548.
- 22) 土井 豊, Eanes ED, 下川仁弥太, 奥田令以, 秦 ま

ゆみ， 亀水秀男， 若松宣一， 後藤隆泰， 森脇 豊，
清水紀子， 吉田定宏， 西川博之， Termine JD. 歯質
アパタイトの結晶成長および非晶質リン酸カルシ
ウムの沈着に及ぼすエナメルタンパク， 象牙質リ
ンタンパク， 骨コラーゲンの効果． 日本結晶成長
学会雑誌． 1985;12:82-90.

- 23) Hay DI, Schluckebier Sk and Moreno EC.
Equilibrium dialysis and ultrafiltration studies of
calcium and phosphate binding by human salivary
proteins. Implications for salivary supersaturation
with respect to calcium phosphate salts. *Caicif
Tissue Int.* 1982;34:531-538.
- 24) Walker GD, Cai F, Shen P, Bailey DL, Yuan Y,
Cochrane NJ, Reynolds C and Reynolds EC.
Consumption of milk with added casein
phosphopetide-amorphous calcium phosphate
remineralizes enamel subsurface lesions in situ.
Aust dent J. 2009;54:245-249.
- 25) Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A,
Hasson H and Pitts NB. The international caries
detection and assessment system (ICDAS):an
integrated system for measuring dental caries.
Community Dent Oral Epidemiol. 2007;35:170-178.
- 26) Rasband WS. Image J. Bethesda, Maryland,
USA:U.S. National Institutes of Health;1997-2012.

<http://rsb.info.nih.gov/ij/>.

- 27) Deery C and Toumba KJ; Welburg R, Duggal MS and Hosey MT, ed. *Paediatric Dentistry*. 4th ed. Oxford: OXFORD University Press; 2012:85-104.
- 28) 渡部 茂, 河野英司, 斉藤恵美, 上田正彦, 西平守昭, 五十嵐 清治. 小児の唾液クリアランス能に関する研究. 3. 安静時口腔内に停滞する唾液量について. *小児歯誌*. 1990;28:391-396.
- 29) 奥田令以. 脱灰アパタイトの再石灰化過程. *小児歯誌*. 1987;25:353-366.
- 30) Li P, Ohtsuki T, Kokubo T, Nakamishi K, Soga N, Nakamura T and Yamamuro T. Effects of ions in aqueous media on hydroxyapatite induction by silica gel and its relevance to bioactivity of bioactive glasses and glassceramics. *J Appl Biomater*. 1993;4:221-229.
- 31) Forsback AP, Areve S and Salonen JI. Mineralization of dentine induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2004;62:14-20.
- 32) Kleber CJ and Putt MS. Aluminum uptake and inhibition of enamel dissolution by sequential treatment with aluminum solutions. *Caries Res*. 1994;28:401-405.
- 33) Margolis HC, Moreno EC and Murphy BJ. Effects of low levels of fluoride in solution on enamel

- demineralization in vitro. *J Dent Res*.
1986;61:23-29.
- 34) 本多忠之, 作 誠太郎, 山本宏治. S-PRG フィラー
配合レジン界面に形成されるフィルム様構造物.
日歯保存誌. 2004;47:391-402.
- 35) Saku S, Kotake H, Scougall-Vilchis RJ, Ohashi S,
Hotta M, Horiuchi S, Hamada K, Asaoka K Tanaka E
and Yamamoto K. Antibacterial activity of
composite resin with glass-ionomer filler particles.
Dent Mater J. 2010;29:193-198.
- 36) Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E and Diamanti I.
An in vitro study of the effect of aluminum and the
combined effect of Strontium, Aluminum, and
Fluoride elements on early enamel carious lesions.
Biol Trace Elem Res. 2012;147:418-427.
- 37) Asano K, Kawamoto R, Iino M, Fruichi T, Nojiri K,
Takamizawa T and Miyazaki M. Effect of
pre-reacted glass-ionomer filler extraction solution
on demineralization of bovine enamel. *Oper Dent*.
2014;39:159-165.
- 38) Kaga M, Kakuda S, Ida Y, Toshima H, Hashimoto M,
Endo K and Sano H. Inhibition of enamel
demineralization by buffering effect of S-PRG filler
-containing dental sealant. *Eur J Oral Sci*.
2014;122:78-83.

- 39) Watanabe S. Salivary clearance from different regions of the mouth in children. *Caries Res.* 1992;26:423-427.
- 40) Paris S and Mayer-Lueckel H. Masking of the labial enamel white spot lesions by infiltration - a clinical report. *Quintessence Int.* 2009;40:713-718.
- 41) Soares IPM, Anovazzi G, Anselmi C, Leite ML, Scheffel DLS, Soares DG, de Souza Costa CA and Hebling J. Response of pulp cells to resin infiltration of enamel white spot-like lesion. *Dental Mater.* 2021;37:e329-e340.
- 42) 伊藤 範明, 森川 貴史, 小竹 宏明, 堀田 正人. S-PRG フィラーの HeLa 細胞に対する細胞毒性. 日歯保存誌. 2011;54:26-32.