フッ素—ランタン二段処理法による歯質の難溶化

IV. 永久歯象牙質への適用

根 岸 秀 幸

神奈川歯科大学化学教室

(神奈川歯科大学化学教室指導：山崎升教授)

(神奈川歯科大学口腔生化学教室指導：斎藤滋教授)

〔受付：昭和62年4月17日〕

Decreasing solubility of teeth in an acidic solution following fluoride-lanthanum treatment

IV. Application to human dentin

Hideyuki Negishi

Department of Chemistry, Kanagawa Dental College

(Director : Prof. Noboru Yamazaki*)

(Director : Prof. Shigeru Saito**)

Department of Chemistry and Oral Biochemistry**, Kanagawa Dental College*

82 Inaoka-cho, Yokosuka-shi, Kanagawa-ken 238

[Accepted for publication : April 17, 1987]

Key words : Human dentin / fluoride / lanthanum / insolubilization / secondary caries prevention

Abstract : The fluoride-lanthanum treatment (F-La treatment), that is, the acidulated phosphate-fluoride solution (APF) treatment for the human enamel followed by a lanthanum solution, has been successfully extended to human dentin for the reduction of secondary dental caries. The solubility of the F-La treated dentin decreased by about one half lower than the APF treatment when the acid solubility test was applied for one hour. The pretreatment of dentin with phosphoric acid solution which is required for enamel could be omitted. The surface of the F-La treated dentin was coated with spherical compounds, which when analyzed were found to be a mixture of calcium fluoride, amorphous lanthanum fluoride and amorphous lanthanum phosphate. These compounds were not fully removed from the surface after the acid solubility test of one hour duration. According to the results of both electron probe X-ray microanalysis and the acid etch procedure, lanthanum as well as fluorine were found about 12 μm in depth from the surface of dentin. About 7 μm of the treated layer was preserved after exposure to the acidic solution for one hour, this value is ten times greater than in the case of APF treated surfaces.

Based on these results, it is concluded that since the F-La treatment of human dentin which is able to decrease dentin solubility in acidic solutions, it might be applied to clinical trials to evaluate its inhibition of primary and secondary caries.

緒 言

Cheyne¹⁾ によりう蝕予防にフッ化物処理が用いられてから現在までに、歯質の耐酸性、結晶性および抗細菌性の向上のために種々の処理法が考

案されている²⁻⁶⁾。それらは、主に初期う蝕の予防法として、エナメル質が対照となっている。

う蝕はエナメル質だけでなく、象牙質にも発生する疾患である。歯科修復治療後、修復物の辺縁からの漏洩により、二次う蝕が象牙質に発生することが多い⁷⁾。そのような二次う蝕を予防する

方法として、エナメル質の場合と同様に、いろいろなフッ化物溶液の塗布法が研究されている⁸⁻¹⁸⁾。その他、歯科用セメント¹⁹⁻²⁵⁾やアマルガム²⁶⁻²⁸⁾などに、種々のフッ化物を配合させることが数多く試みられている。

象牙質への処理法の最初の例は、象牙質粉末をフッ化ナトリウム溶液で処理し、酸に対する溶解を減少させることであった²⁹⁾。その後、フッ化ナトリウム溶液処理は、象牙質表面の耐酸性を向上させるだけでなく、フッ素が細管内に浸透し、アパタイトやフッ化物の生成を促進し^{9,12)}、細管封鎖による酸の侵入を防御する効果も認められている。また、フッ化第1錫溶液^{8,10)}、フッ化チタン溶液¹⁷⁾などの塗布により、同様の効果が明らかにされている。しかし、フッ化チタン溶液はかなり酸性であるため (pH 1.0)、歯質を酸蝕する恐れがある。

山賀³⁰⁾によって考案されたフッ化ジアンミン銀法は、他の方法と同様にフッ素による歯質の耐酸性の向上、再石灰化の促進効果などがあり、また歯質に含まれる有機質にも作用して、歯質全体を強化する。さらに、象牙細管が狭窄あるいは封鎖されることも知られている^{11,31)}。しかし、この処理法は、歯質を変色させるため¹¹⁾、臨床での適用範囲が限定される。

また、楽木¹⁸⁾は、フッ化モリブデン酸アンモニウム塗布により、フッ化ジアンミン銀と同程度の耐酸性や細管封鎖性が得られると報告している。いずれの処理方法においても、フッ化カルシウム (CaF_2) の生成が、歯質の耐酸性の向上に寄与している。

藤原ら³²⁾は、歯質の酸抵抗性を向上させる目的で、フッ化物の中で酸に対して特に難溶性である希土類フッ化物³³⁻³⁵⁾を歯質表面に生成させる方法を考案した。すなわち、酸性フッ素リン酸溶液処理 (以後、APF 処理と略す) 後、引き続いて塩化ランタン溶液で処理 (以後、ランタン処理と略す) することにより、表面に非晶質のフッ化ランタン (LaF_3) を生成させる二段処理法 (以後、F-La 処理と略す) である。すでに、永久歯^{36,37)}および乳歯³⁸⁾のエナメル質に適用して、広く臨床で使用されている APF 単独処理よりも、耐酸性

が向上することを確認している。

本研究は、まずヒトエナメル質に対する最適の条件で、ヒト象牙質に適用し、各種処理条件と耐酸性効果の関係について調べた。また、歯質表面のフッ素、ランタン元素等の分布ならびに生成物の状態を分析し、二次う蝕予防法としての可能性を検討した。

実験材料および実験方法

1. 実験材料

1) 象牙質小片

実験歯 (第1小臼歯80歯) には、矯正治療のために適宜必要として抜去後、70 %のエタノール溶液中に保存したものを使用した。

歯根部の付着物を除去した後、エナメル質を研磨・削除して歯冠部の象牙質を露出させ、さらに歯冠部中央から長軸方向に頬側面と舌側面に2分割した (160例)。ブラッシング後、マニキュアを用いて各歯面に $3 \times 3 \text{ mm}$ (9 mm^2) の window を作成した。

2) 象牙質粉末

前もって歯根部などについている歯肉・歯根膜を除去後、歯科用エンジンで歯を小片にし、メノ一製の粉碎機にて粉碎後、篩を用いて粒子径をそろえた粉末 (200メッシュ通過) とした。次に、浮遊法³⁹⁾によりエナメル質、象牙質、セメント質の3者を分離して、実験に用いる象牙質粉末を得た。

3) 試薬

酸性フッ素リン酸溶液 (以後、APF 溶液と略す) は、フッ化ナトリウム2.0g、85%の正リン酸1.73gを蒸留水100mlに溶解して調製した (F濃度0.9%, pH 3.6)⁴⁰⁾。

塩化ランタン溶液は、原子吸光分析用塩化ランタン溶液 (La^{3+} 濃度 10 %, BDH Chemicals Ltd.) を蒸留水で希釈して調製した。

フッ化ジアンミン銀溶液としては、東洋製薬化成製のサハライドを使用した。

その他の試薬は、和光純薬工業 (株) の特級試薬を用いた。

2. 実験方法

1) F-La 処理方法

象牙質小片の場合は、まず APF 溶液で一定時間処理し、水洗、エアブローにて乾燥後、さらに塩化ランタン溶液で適宜処理し、水洗、再びエアブローにて乾燥を行った。

象牙質粉末の場合は、上述と同様の操作後、37°C の温度で乾燥した。

2) 酸溶解試験

種々処理した象牙質小片を、0.2M の酢酸緩衝溶液 (pH 4.0, 37°C) に浸漬後、1 時間後に溶出液を分取し、その溶出液中のカルシウムおよびリンを定量分析した。この分析した値を、耐酸性の評価の基準とした。

3) 象牙質中へのフッ素およびランタンの取込み量の測定

酸を用いるエッチング法⁴¹⁾により、象牙質表面に取込まれるフッ素およびランタンの濃度を測定した。

アクリル棒に固定した各処理象牙質小片を 0.5 M の過塩素酸溶液 1 ml に 2 分間浸漬した後、水 1 ml で表面を洗浄した。その脱灰液と洗液を混合し、その溶液中のカルシウムイオン、フッ素イオン、ランタンイオン等の分析を行った。また、カルシウム分析値より、象牙質の溶出量および脱灰深さを算出した^{41,42)} (象牙質のカルシウム含有量 27.0wt%⁴³⁾、比重 2.88⁴³⁾)。

4) 化学分析

カルシウムおよびランタンの定量は、亜酸化窒素－アセチレン炎による原子吸光分析法および炎光分析法⁴⁴⁾ (島津, AA-610)、フッ素の定量はフッ素複合電極 (ORION RESEARCH INC., 96-09 型) を用いたイオン電極法⁴⁵⁾ (ORION RESEARCH INC., Ionalyzer 901 型)、リンの定量はバナドモリブデン酸による比色分析法⁴⁶⁾ (日立 220 形) により分析を行った。

5) F-La 処理生成物の同定

粉末 X 線回折は、X 線回折装置 (理学電機, 2181 型) を使用し、Table 1 に示す条件により測定し、JCPDS カードにより物質同定を行った。

熱分析は、熱分析装置 (理学電機, TG-DTA) により、粉末試料約 10mg につき、昇温速度 10°C/min の条件で行った。

6) 処理表面の観察と歯質の状態分析

Table 1 Experimental conditions of X-ray diffraction analysis

X-ray tube	Cu
Voltage (kV)	30
Current (mA)	20
Filter	Ni
Count full scale (c/s)	1000
Scanning speed (°/min)	2
Chart speed (mm/min)	20
Time constant (sec)	1
Receiving slit (mm)	0.15
Counter	Scintillation counter

Table 2 Experimental conditions of electron probe X-ray microanalysis

Accelerating V. (kV)	15
Probe current (nA)	10 or 100
H.V.S. (V)	1650
Spectroscopic Crystal	RAP or PET

各種処理した象牙質小片の表面観察は、走査型電子顕微鏡 (日本電子, JSM-35C) により行った。また、象牙質小片の表層におけるカルシウム、ランタンそしてフッ素元素の状態分析 (線分析) は、樹脂包埋した各試料の切片につき、Table 2 に示す条件で X 線マイクロアナライザー (日本電子, JXA-50A) を使用して行った。

実験結果

1. F-La 処理法と各種処理法との耐酸性の比較

ヒトのエナメル質に適用して得られた最適条件 (2M のリン酸による前処理 1 分間, APF 処理および 1 % のランタン処理各 3 分間) で³⁶⁾、F-La 処理したヒト象牙質 (歯冠部) 小片の耐酸性について、APF 単独処理およびフッ化ジアンミン銀処理 (各 3 分間) を比較した (Fig. 1)。

エナメル質の場合は、歯質と処理溶液との親和性を高めるために、2M のリン酸溶液による前処理が必要である³⁶⁾。そこで、象牙質については、リン酸溶液とともに、5 % のクエン酸溶液による前処理の必要性も合わせて調べた。

1) 酸による前処理を行った場合

クエン酸処理の場合、酸溶解試験 1 時間後、F-

Fig. 1 The amount of calcium dissolved in acetic acid buffer solution (0.2M, pH 4.0) in one hour on the treated coronal dentin
* pretreated by 10% -citric acid (1 min)
** pretreated by 2 M-phosphoric acid (1 min)

Fig. 2 The amount of phosphorus dissolved in acetic acid buffer solution (0.2 M, pH 4.0) in one hour on the treated coronal dentin
* pretreated by 10 %-citric acid (1 min)
** pretreated by 2 M-phosphoric acid (1 min)

Fig. 3 The amount of calcium dissolved in acetic acid buffer solution (0.2 M, pH 4.0) in one hour on the treated root dentin
* pretreated by 10%-citric acid (1 min)
** pretreated by 2 M-phosphoric acid (1 min)

Fig. 4 Comparison of solubility of the treated enamel³⁶⁾ and dentin
* 1 pretreated by 2 M-phosphoric acid (1 min)
* 2 solubility ratio: values corresponding to the control value of enamel or dentin equal to 100

La 処理象牙質からのカルシウム溶出量は、対照の約1/5, APF 単独処理の約1/2に減少した。リン酸処理の場合、F-La 処理のカルシウム溶出量は、対照の約1/10, APF 単独処理の約1/2に減少した。リンの溶出量は、クエン酸処理、リン酸処理の両者とも、カルシウム溶出量の場合と同様の傾向を示した (Fig. 2)。

2) 酸処理による前処理を行わない場合

エナメル質の場合と異なり、酸による前処理を

行わなくても、F-La 処理のカルシウム溶出量は、対照の約1/5, APF 単独処理およびフッ化ジアンミン銀処理の約1/2に減少した。また、歯根部の象牙質に対しても、F-La 処理は優れた酸抵抗性を与えた (Fig. 3)。このように、酸による前処理を行わなくても、各種処理により象牙質が、エナメル質³⁶⁾と同様に充分な酸抵抗性を得られることがわ

Fig. 5 Solubility of coronal dentin to reaction time of APF

—●—: treated by APF
—■—: treated by F-La

かった (Fig. 4)。そこで、酸処理による歯髄刺激性^{47, 48)}を考慮し、以後の各処理を行うときには、酸を用いる前処理を行わなかった。

なお、フッ化ジアンミン銀処理が、歯質に APF 単独処理と同程度の耐酸性を与え、かつ歯質を変色させるので、以後 F-La 処理の耐酸性効果は、APF 単独処理と比較した。

2. APF 処理およびランタン処理条件の検討

APF 処理の時間および引き続いて行うランタン処理の時間および濃度を変え、酸溶解試験 1 時間後のカルシウム溶出量より、F-La 処理のヒト象牙質に対する最適条件を検討した。

1) APF 処理時間 (Fig. 5)

APF 処理は 0.5, 1, 3 および 5 分間、ランタン処理は 1%, 3 分間の条件で行った。

APF 単独処理、F-La 処理の両者において、処理時間が長くなるとともに、カルシウム溶出量が減少した。処理時間 1 分以上では、APF 単独処理と F-La 処理の間に、危険率 5% で有意性のあることが認められた。また、F-La 処理の群内では、1 分間以上で、危険率 5% で有意差が認められなかった。それ故、F-La 処理における APF 処理は、1 ~ 3 分間で充分である。

2) ランタン処理濃度 (Fig. 6)

APF 処理時間を一定とし (3 分)、ランタン処理を濃度 (ランタンイオンとして) 0.25, 0.5, 1,

Fig. 6 Solubility of the F-La treated coronal dentin to concentration of lanthanum solution

Fig. 7 Solubility of the F-La treated coronal dentin to reaction time in 1% lanthanum solution

5%と変えて、3分間の条件で行った。

ランタン処理濃度が高くなるとともに、カルシウム溶出量が減少する傾向を示すが、0.25%以上で APF 単独処理との間に、危険率 5% で有意性のあることがわかった。各濃度間では、危険率 5% で有意差が認められなかった。

3) ランタン処理時間 (Fig. 7)

APF 処理時間を 3 分、ランタン処理濃度を 1%, 処理時間を 0.5, 1, 3, 5 分の条件で行った。

1 分以上の処理で、カルシウムの溶出量が一定の値を示した。30 秒の処理の場合においても、APF 単独処理との間に危険率 5% で有意差が認

められた。

以上のことより、APF 処理後のランタン処理は、エナメル質の場合と同様に、ランタン濃度1%, 処理時間3分以内で、象牙質に対しても十分な耐酸性を与えることがわかった。

3. 酸溶解試験前・後の象牙質表面の状態分析
走査型電子顕微鏡を用いて、APF 単独処理および F-La 処理象牙質につき、酸溶解試験前後における表面の状態変化を比較観察した (Fig. 8)。

APF 単独処理の場合、表面が微結晶の化合物で覆れ、酸溶解試験では、酸による表面の破壊が起き、対照と同様に象牙細管が明瞭に認められた。一方、F-La 処理の場合、APF 単独処理よりも球状の化合物が緻密な状態で表面を覆われていた。そして、酸溶解試験後でもそれらの化合物が多く残存し、酸による表面の溶解を防いでいることがわかった。

次に、X線マイクロアナライザーにより、象牙質表面のフッ素、ランタン元素等の分布状態を調べた (Fig. 9, 10)。

APF 単独処理の場合、フッ素元素は表面から約20 μ m の深さまで取込まれ、酸溶解試験1時間後、大半が溶出して痕跡程度の残存であった (Fig. 9)。一方、F-La 処理の場合、フッ素およびランタン元素は、共に表面から約12 μ m の深さまで取込まれていた (Fig. 10, before)。酸溶解試験1時間後、それら元素の強度は減少した。しかし、両元素の残存が表面から約7 μ m の深さまで認められた (Fig. 10, after)。

4. F-La 処理象牙質の表面生成物の同定

象牙質粉末を用いて、粉末X線回折により、表面生成物の同定を行った。

未処理の試料では、アパタイトの回折パターンを示した (Fig. 11)。APF 処理の試料では、アパタイトに相当する主な回折線が重なり合いかつ幅広い回折パターンを示した。また、新たにフッ化カルシウム (CaF_2) に相当する回折線が検出された (Fig. 11)。F-La 処理の試料では、APF の場合と同一のパターンで、さらに全体の回折線の幅が広がった (Fig. 11)。しかし、他の化合物の生成を示す回折線が検出されなかった。これは、象牙質アパタイトの表面に非晶質の化合物が

生成していると推察される。そこで、各試料を加熱処理したのち、粉末X線回折の測定を行った (Fig. 12)。

未処理、APF 処理、F-La 処理の各試料において、アパタイトを示す主な回折線の幅が狭くなった。加熱処理による結晶性の悪い部分の崩壊や有機質の熱分解などにより、象牙質の結晶が結晶性の良いアパタイトに変化したことがわかった。また、未処理の試料において、 $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ の生成が認められた。その $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ は、象牙質アパタイトに含まれている無定形のリン酸カルシウムやリン酸八カルシウム ($\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) が、加熱処理により変化したものである⁴⁹⁾。さらに、有機質の熱分解は、熱分析により350°C 付近に鋭い発熱ピークで検出され、またそれに伴う約20%の減量⁵⁰⁾として確認された (Fig. 13)。なお、各試料の熱的变化は、同一のパターンを示した。

F-La 処理試料の場合、アパタイトに相当する回折線以外に、新しい回折線の出現がみられた。すなわち、オキシフッ化ランタン (LaOF) とリン酸ランタン (LaPO_4) に相当する回折線であった (Fig. 12)。それらの化合物は、APF 溶液と塩化ランタン溶液の混合により、生成したフッ化ランタンと非晶質リン酸ランタンを加熱することにより確認した (Fig. 14)。

以上のことから、F-La 処理した象牙質の表面は、フッ化カルシウム、非晶質フッ化ランタンそして非晶質リン酸ランタンで覆われていると考えられる。

5. 象牙質表面へのフッ素およびランタンの取込み量 (Table 3)

0.5M の過塩素酸溶液を用いて、2の実験で得られた条件で、F-La 処理した象牙質表面を脱灰し、その脱灰液中のカルシウム、フッ素およびランタンの取込み量を測定した。

表面から約40~50 μ m の深さまでに、F-La 処理群のフッ素濃度は、対照の約150倍の値を示し、また APF 処理群とほとんど同じ値であった。F-La 処理群と APF 処理群との間には、危険率5%で有意差が認められなかった。

酸溶解試験1時間後におけるフッ素の存在量

Fig. 8 SEM photographs of the treated coronal dentin surface before and after the acid solubility test for one hour

は、APF 処理群で処理直後の約1/50, F-La 処理群で処理直後の約1/4に減少した。酸溶解試験後における F-La 処理群のフッ素の残存量は、APF 処

理群との間に、危険率5%で有意差が認められた。

F-La 処理表面のランタン濃度は、酸溶解試験1時間後においても、処理直後の約1/2程度の減

Fig. 9 SEM images and line profiles of the APF treated coronal dentin before and after the acid solubility test for one hour by EPMA
 —→: analytical start point

Fig. 10 SEM images and line profiles of the F-La treated coronal dentin before and after the acid solubility test for one hour by EPMA
 —→: analytical start point

少であった。

考 察

フッ化物の局所応用法は、特にエナメル質の初期う蝕発生を予防する目的で、種々の塗布法や洗口法などとして研究され、かつ臨床で使用されている^{8-18,51)}。実際、う蝕有病率は年々減少傾向を示している。しかし、象牙質に対する二次う蝕予防と進行抑制に関しては、それらの効果を十分に

期待できる材料や方法が確立されていないようである。

F-La 処理法は、永久歯^{36,37)}および乳歯³⁸⁾のエナメル質に対して、優れた耐う蝕性を与えることが確かめられている。そこで、F-La 処理により、象牙質に対しても同様の効果を与えることが可能であるならば、本処理法が二次う蝕の予防のために適用できると考えられる。

1. F-La 処理法と各種処理法との耐酸性の比

Fig. 11 The X-ray diffraction patterns of the treated dentin powder
 a. dentin powder (control)
 b. the APF treated dentin powder
 c. the F-La treated dentin powder
 ○ : bands based on CaF_2

Fig. 12 The X-ray diffraction patterns of the treated dentin powder after heating at 900°C
 a. dentin powder (control)
 b. the APF treated dentin powder
 c. the F-La treated dentin powder
 ▽, ●, ○ and ∇ : bands based on LaOF , LaPO_4 , CaF_2 and $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, respectively

Fig. 13 TG-DTA curves of the F-La treated dentin powder

Fig. 14 The X-ray diffraction patterns of the reaction product of APF and LaCl_3 solution
 a. at room temp.
 b. after heating at 900°C
 ↓, ▽ and ● : bands based on LaF_3 , LaOF and LaPO_4 , respectively

較と前処理効果の検討

ヒトのエナメル質に適用して得られた最適条件³⁶⁾により、F-La 処理したヒト象牙質（歯冠部）は、APF 単独処理およびフッ化ジアンミン銀処理よりも優れた耐酸性を示した（Fig. 1）。

エナメル質の場合のように、酸による前処理を行わなくても、各種処理により象牙質が、エナメル質³⁶⁾と同様に十分な酸抵抗性を得られることがわかった（Fig. 4）。また、各種処理において、前もって表面を酸処理した場合の方が、歯質がさらに優れた耐酸性を示した。すなわち、酸エッチングにより、歯の切削時に形成された smeared layer⁵²⁾

Table 3 Uptake and residue of lanthanum and fluoride (F⁻) for the treated coronal dentin

Sample Name	Depth [μ m]	Lanthanum [ppm]	Fluoride [ppm]
Control [n=3]	45.5(8.7)	—	47(26)
APF [n=5]	44.7(7.6)	—	7954(955)
APF* [n=5]	65.4(30.7)	—	136(157)
F-La [n=8]	38.4(19.6)	10430(669)	7168(2574)
F-La* [n=9]	67.8(29.7)	5662(1250)	1878(1012)

[] : sample number

() : SD

* : after acid solubility test for one hour

** : significant differences ($p<0.05$)

NS : non-significant differences ($p<0.05$)

が除去されて象牙細管などが露出し^{47,48,53)}、歯質と処理溶液の親和性が高まる。そのために、エナメル質の場合と同様に、充分な耐酸性が得られると考えられる。

実際、象牙質に対する酸エッチングは、歯の切削により最表層に形成される smeared layer を除去して、修復物の保持力を向上させるために行われる⁵⁴⁾。酸エッチングによる smeared layer の消失は、拡大された細管からの細菌の浸入や薬物の透過性を増大させることにより、歯髄刺激性を増加させる^{47,48)}と言われている。また、水沼ら⁵⁵⁾は、象牙質コラーゲンがリン酸やクエン酸などの酸により変性すると報告している。

一方、Gwinnett⁵⁶⁾、Brännström ら⁵⁷⁾は、その smeared layer 中に細菌が存在すると、歯髄に炎症を起す要因になると報告している。このように、象牙質表面における smeared layer の有無には、いろいろな観点から研究されているが、現在でも明らかではない。

また、象牙質を構成するアパタイト結晶は、エナメル質に比べると、結晶サイズが小さく^{43,58)}、また酸に対して溶解しやすい⁵⁹⁾。つまり、象牙質がエナメル質よりも化学反応性に富んでいると考えられる。

すなわち、先に述べたように、酸による前処理を行わなくても、F-La 処理した象牙質は充分な耐酸性を保持できる。酸による歯髄刺激性を考慮して、象牙質については酸による前処理は好ましくと考えられる。

フッ化ジアンミン銀処理は、象牙質に対して APF 単独処理と同程度の耐酸性を与えるが、歯質を黒褐色にすることが知られている¹¹⁾。それ故、審美性の観点から臨床面で必然的に使用範囲が限られると考えられる。しかし、APF 単独処理ならびに F-La 処理は、歯質を変色させることがないし、F-La 処理により、象牙質は APF 単独処理の約2倍以上の耐酸性を与えられる。

そこで、以後の F-La 処理の象牙質に与える耐酸性効果については、APF 単独処理に対してのみ比較検討した。

2. APF 処理およびランタン処理条件の検討

桑木ら¹⁸⁾は、フッ化モリブデン酸アンモニウム溶液と歯質との接触時間の延長により、歯質へのフッ素取込みが増加すると報告している。本研究の APF 処理でも、処理時間が長くなるとともに、酢酸緩衝溶液へのカルシウムの溶出量が減少することがわかった (Fig. 5)。つまり、処理時間の経過とともに、APF 溶液が表面からさらに象牙細管内に浸透し、歯質と反応してより多くのフッ化カルシウムを生成する。

先に述べたように、F-La 処理法では、APF 処理で歯質に生成されたフッ化カルシウムにランタンイオンを反応させて、さらに難溶性の非晶質フッ化ランタンを生成させる方法である³⁶⁾。すなわち、最初の APF 処理で多量のフッ化カルシウムが生成されれば、次のランタン処理で非晶質フッ化ランタンの生成量が増加して、歯質の耐酸性が一層増大することになるわけである。しかも、

フッ化カルシウムとランタンイオンとの反応はかなり速い (Fig. 6, 7)。それ故、臨床に応用した場合、処理時間はできるだけ短い方が好まれるから、1～3分で充分であろう。

ランタン処理において、濃度や時間にほとんど影響を受けずに、歯質が一定の耐酸性を示す理由としては、(1) APF 処理後の歯質とランタンイオンの交換反応が速く、(2) その反応生成物は難溶性で、(3) 表面を緻密に覆うからであると考えられる。

3. F-La 処理した象牙質表面の状態分析と生成物の同定

APF 処理した象牙質表面は、微結晶の化合物で覆われている (Fig. 8, APF before)。同様に処理された象牙質粉末のX線回折より、その化合物はフッ化カルシウムであることが確認された (Fig. 11)。他の処理法においても、フッ化カルシウムが象牙質表面や細管内に生成し、耐酸性を向上させる、あるいは細管を封鎖させることがよく知られている^{8,9,11,12,18)}。また、フッ化カルシウムと歯質との反応から、結晶性の良いフッ素アパタイトが生成される⁶⁰⁾。

しかし、Fig. 8 (APF after) に示したように、表面に生成したフッ化カルシウムは、酸溶解試験中に溶出し、さらに脱灰されて象牙細管が露出してくる。また、酸溶解試験後、約20 μm の深さまで取込まれていたフッ素がほとんど消失していた (Fig. 9)。このように、フッ化カルシウムは歯面からかなり溶出しやすいので⁶¹⁻⁶³⁾、フッ素処理だけで長期間にわたり歯質の酸抵抗性を保持させることは難しい。

これに対し、F-La 処理の場合、表面から約12 μm の深さまで、主にフッ化カルシウムや非晶質フッ化ランタンから構成される球状の化合物で均一に覆われる (Fig. 8, 10, 12)。酸溶解試験後においても、表面状態は余り変化しないで、それらの物質は約7 μm の深さまで残存する (Fig. 8, 10)。すなわち、難溶性の非晶質フッ化ランタンの生成が、歯面の耐酸性の向上に貢献していることがわかる。

なお、エナメル質に対する F-La 処理の場合と異なり、非晶質リン酸ランタンも生成することが

認められた。象牙質は、エナメル質よりも反応性が高いため^{10,16)}、歯質を構成するアパタイトのリン酸イオンとランタンイオンが反応して、リン酸ランタンが生成されたと考えられる⁶⁴⁾。また、アパタイト中のカルシウムイオンとの置換反応により、ランタンイオンが歯質に取込まれる^{65,66)}とも言われているが、現在その点に関しては明らかでない。

4. 象牙質へのフッ素およびランタンの取込み量

過塩素酸を用いて処理表面を脱灰し⁴¹⁾、その脱灰液中のフッ素濃度を測定した結果、APF 処理と F-La 処理ともにフッ素が表面から約40～50 μm の深さまで取込まれていた (Table 3)。この分析法の場合、カルシウム溶出量の値から取込み深さを計算しているため、その値には、表面に生成したフッ化カルシウムの溶解によるカルシウム量が加算されている。それ故、実際のフッ素が取込まれた層の厚さは、Table 3 に示した値よりも幾分小さいと考えられる。

一方、X線マイクロアナライザーによる分析結果 (Fig. 9) から、フッ素は APF 単独処理で約20 μm 、F-La 処理で約12 μm の深さまで存在が認められた。しかし、この分析法では、軽元素について分析感度が悪い⁶⁷⁾ことを考慮すると、フッ素は両処理法とも表面から約20 μm 前後の深さまで取込まれると考えることが妥当であろう。また、ランタン処理後もフッ素の取込み量が変らないことは (約7,000 ppm)、APF 処理で取込まれたフッ素がすべてランタンと速やかに反応して、フッ化ランタン層として保持されるためであると考えられる。

酸溶解試験1時間後、フッ素の存在量は、APF 単独処理で約1/50、F-La 処理で約1/4に減少した。X線マイクロアナライザーの結果からも、APF 単独処理の場合、フッ素が歯質表面からほとんど溶出されている (Fig. 9)。先に述べたように、歯質表面は、フッ化カルシウムの被覆だけでは、酸による脱灰から保護されにくい。

また、ランタンは、酸溶解試験で減少傾向を示したが、フッ素元素と共に残っており、非晶質フッ化ランタンの酸に対する安定性が再確認された。

なお、Fig. 3 に示すように、F-La 処理は、歯

根部の象牙質に対しても、優れた酸抵抗性を与えることから、根面う蝕の予防効果も有していると考えられる。

以上のことから、F-La 処理法は、永久歯のエナメル質だけでなく象牙質（歯冠部ならびに歯根部）に対しても、ほぼ同一の条件で歯面を難溶性のフッ化ランタン層で被覆し、優れた耐酸性を与える優れた歯面処理法ということが出来る。それ故、幅広い臨床への応用が期待される。

結 論

ヒト永久歯の象牙質を用いて、F-La 処理の処理条件と耐酸性効果を検討した。また、表面生成物を同定し、さらにフッ素、ランタン元素等の取込み量およびそれらの分布状態を調べた。その結果、次のようなことがわかった。

(1) 象牙質は F-La 処理により、APF 単独処理より約2倍の耐酸性が与えられる。

(2) エナメル質の場合と異なり、表面の洗浄を目的とする酸エッチングを必ずしも必要としない。そして、APF 処理3分間、引き続いてランタン溶液で3分間処理することにより、十分な耐酸性が与えられる。

(3) F-La 処理により、フッ化カルシウム、非晶質フッ化ランタンそして非晶質リン酸ランタンから構成される球状化合物が象牙質表面に生成

し、酸溶解試験1時間後においても溶出されずに残存する。

(4) F-La 処理により、フッ素は歯質の表面から約12 μ m の深さまで浸透し、酸溶解試験1時間後においても、約7 μ m の層に APF 単独処理の場合より約10倍の量が残存している。また、ランタンはフッ素と共に同じ深さまで存在している。

以上のことから、F-La 処理は、エナメル質だけでなく象牙質に対しても、十分な耐酸性を与え、初期う蝕ならびに二次う蝕の予防への適用が期待される。

本論文の内容の一部は、昭和60年9月第27回歯科基礎医学会総会において発表した。

謝辞：本稿を終えるにあたり、終始御懇切なる御指導と御校閲を賜った本学化学教室山崎 升教授、口腔生化学教室斎藤 滋教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究に対し、種々の御教示と御校閲を頂戴した本学小児歯科学教室増垣旺夫教授、保存修復学教室岩本次男教授ならびに口腔衛生学教室飯塚喜一教授に深謝致します。

本研究に対し、多大な御教示と御協力を戴いた本学化学教室藤原 努講師に感謝の意を表します。

さらに、本研究で使用した抜去ヒト永久歯を提供して戴きました本学矯正学教室各位に深謝致します。

最後に、御援助と御協力を戴いた本学化学教室の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

抄録：エナメル質のフッ素およびランタンの二段処理（F-La 処理）により、耐酸性を著しく増加させることを明らかにしてきた。本研究では特にヒト象牙質を用いて、F-La 処理法による二次う蝕予防への応用の可能性を調べた。実験には、70%アルコール保存ヒト象牙質を用い、酸溶解試験を行い、処理条件と耐酸性効果の関係を検討した。また、歯質表層あるいは表面におけるフッ素、ランタン等の分布、生成物の同定などの状態分析を行った。その結果以下のことがわかった。

(1) 酸溶解試験1時間後、F-La 処理象牙質からのカルシウム総溶出量は、酸性フッ素リン酸溶液処理（APF 処理）単独やフッ化ジアンミン銀処理に比べ約1/2に減少した。

(2) 象牙質には酸による前処理の必要性がなく、APF 処理およびランタン処理を各3分間行うことにより、十分な耐酸性が得られた。

(3) 走査電子顕微鏡による観察から、象牙質表面は、フッ化カルシウム、非晶質フッ化ランタンそして非晶質リン酸ランタンから構成される球状化合物で均一に覆われ、また、酸溶解試験1時間後においても、それら化合物が充分に残存することを確認した。

(4) X線マイクロアナライザーにより、F-La 処理象牙質の表層におけるランタンおよびフッ素は、表面から約12 μ m の深さまで存在し、酸溶解試験1時間後においても、表面から約7 μ m の深さまでの残存が認められた。

(5) 過塩素酸エッチング法を用いて、象牙質へのフッ素取込み量を測定した結果、F-La 処理の場合は、

APF 単独処理と同じ量取込まれるが、酸溶解試験 1 時間後においても約 10 倍以上残っていた。また、同様の方法により、ランタンは、酸溶解試験後でもフッ素よりも多く残っていることがわかった。

文 献

- 1) Cheyne, V. D.: Human dental caries and topically applied fluorine, A preliminary report. J. Am. Dent. Assoc **29**: 804-807, 1942.
- 2) Brudevold, F., Savory, A., Gardner, D. E., Spinelli, M. and Speirs, R.: A study of acidulated fluoride solutions-I *In vitro* effects on enamel. Arch. Oral Biol. **8**: 167-177, 1963.
- 3) Joyston-Bechal, S. and Kidd, E. A. M.: Effect on fluoride uptake by enamel and on the progress of artificially produced caries-like lesions of applying successively two different fluoride solutions. Caries Res. **16**: 34-41, 1982.
- 4) Call, J. J., Silverstone, L. M., Clarkson, B. H., Wefel, J. S. and Wei, S. H. Y.: Fluoride uptake and *in vitro* caries-like lesion formation in enamel after two-step topical fluoride applications. Caries Res. **16**: 162-169, 1982.
- 5) Clarkson, B. H., Wefel, J. S. and Miller, I.: The effect of polyvalent metal ion mordanting on caries-like lesion progression in enamel. J. Dent. Res. **63**(1): 13-18, 1984.
- 6) Dijkman, A. G., Nelson, D. G. A., Jongebloed, W. L., Weerkamp, A. H. and Arends, J.: *In vivo* plaque formation on enamel surfaces treated with topical fluoride agents. Caries Res. **19**: 547-557, 1985.
- 7) 込宮 恒: 二次齲蝕の病態に関する基礎的研究. 日歯保誌 **29**: 1-14, 1986.
- 8) 土谷裕彦: 窩洞の“Partial Restoration”に関する基礎的研究. 日歯保誌 **8**(1): 78-97, 1965.
- 9) Selvig, K. A.: Effect of fluoride on the acid solubility of human dentine. Arch. Oral Biol. **13**: 1297-1310, 1968.
- 10) Shannon, I. L.: Antisolubility effects of acidulated phosphofluoride and stannous fluoride in the treatment of crown and root surfaces. Aust. Dent. J. **16**: 240-242, 1971.
- 11) 清水明彦: フッ化ジアンミン銀による二次う蝕の抑制. 日歯保誌 **17**(2): 183-201, 1974.
- 12) Ehrlich, J., Hochman, N., Gedalia, I. and Tal, M.: Residual fluoride concentrations and scanning electron microscopic examination of root surfaces of human teeth after topical application of fluoride *in vivo*. J. Dent. Res. **54**(4): 897-900, 1975.
- 13) 谷崎幸司: タンニン・フッ化物合剤による二次う蝕の抑制に関する基礎的研究. 日歯保誌 **21**(2): 279-296, 1978.
- 14) 桂 一平: 象牙質の化学的保護に関する実験的研究—とくに overdenture との関連から—, 補綴誌 **24**: 225-245, 1980.
- 15) 中庭寿朗: フッ化物と塩化白金酸塩による象牙質強化に関する基礎的研究. 日歯保誌 **23**(3): 523-535, 1980.
- 16) 奥寺 充: 有機系フッ化物の歯質への反応性について. 神奈川歯学 **18**(4): 375-393, 1984.
- 17) Tveit, A. B., Tötdal, B., Klinge, B., Nilvéus, R. and Selvig, K. A.: Fluoride uptake by dentin surfaces following topical application of TiF₄, NaF and fluoride varnishes *in vivo*. Caries Res. **19**: 240-247, 1985.
- 18) 楽木正実: フッ化モリブデン酸アンモニウムの象牙質に及ぼす影響. 小児歯誌 **24**(4): 114-137, 1986.
- 19) Swartz, M. L. and Phillips, R. W.: Effect of certain restorative materials on solubility of dentin. J. Dent. Res. **37**: 811-815, 1958.
- 20) Gursin, A. V.: A study of the effect of stannous fluoride incorporated in dental cement. Northwest. Univ. Bull. **64**: 8-18, 1964.
- 21) 山賀礼一, 中沢省三, 山中 彬, 上新和彦, 森脇 豊, 堤 叡: 二次う蝕の予防を目的とするふっ化りん酸セメントの研究 (第 1 報). ふっ化りん酸セメントの試作. 歯理工誌 **5**: 163-167, 1964.
- 22) Plant, C. G.: The effect of polycarboxylate containing stannous fluoride on the pulp, Brit. D. J., **135**: 317-321, 1973.
- 23) 谷 嘉明, 村村恭秀, 野村好雄, 村尾貞良, 寺田 論: フッ化物混入カルボキシレートセメントに関する研究. (第 1 報) フッ素イオンの溶出について. 歯材器誌 **32**(4): 220-224, 1976.
- 24) 月星光博: タンニン・フッ化物合剤配合カルボキシレートセメントに関する研究. 歯材器誌, **37**(3): 260-286, 1980.
- 25) Retief, D. H., Bradley, E. L., Denton, J. C. and Switzer, P.: Enamel and cementum fluoride uptake from a glass ionomer cement. Caries Res. **18**: 250-257, 1984.
- 26) Innes, D. B. K. and Youdelis, W. V.: Calcium fluoride in amalgam for caries prevention. J. Dent. Res. **45**: 94-97, 1966.
- 27) 美濃口玄, 谷 嘉明, 玉井昭三: 弗化錫混入アマルガムに関する研究. 歯材器誌 **16**: 99-114, 1967.
- 28) 井上 清, 谷崎幸司, 寺岡加代, 川越昌彦: 二

- 次う蝕に関する実験的研究. IX. フッ化第1錫混入アマルガムによる二次う蝕の抑制. 日歯保誌 19(2) : 310-315, 1976.
- 29) Volker, J. F.: Effect of fluorine on solubility of enamel and dentin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42 : 725-727, 1939.
- 30) 山賀禮一, 吉田定宏: フッ化ジアンミン銀応用の手引き, 2-17, 医歯薬出版(株), 東京, 1970.
- 31) 内田昭次: フッ化ジアンミン銀塗布後唾液中に露出させた象牙質の微細構造の変化. 阪大歯誌 21(1) : 100-124, 1976.
- 32) 藤原 努, 根岸秀幸, 山崎 升, 宮城 敦, 檜垣旺夫, 斎藤 滋: フッ素-ランタン二段処理法による歯質の難溶化. 歯基礎誌 26 : 454-460, 1984.
- 33) Sykes, K. W. edit.: Stability constants of metal-complexes. Part II. Inorganic ligands, ligands, The chemical society, Burlington house, W. L., pp. 89, London, 1958.
- 34) Lingane, J. J.: Further study of the lanthanum fluoride membrane electrode for potentiometric determination and titration of fluoride. Anal. Chem. 40(6) : 935-939, 1968.
- 35) Topp, N. E. 著, 塩川二郎, 足立吟也訳: 希土類元素の化学, 59-71, 化学同人, 東京, 1980.
- 36) 根岸秀幸, 藤原 努, 山崎 升, 宮城 敦, 檜垣旺夫, 斎藤 滋: フッ素-ランタン二段処理法による歯質の難溶化. II. 永久歯への適用. 歯基礎誌 26 : 461-467, 1984.
- 37) 根岸秀幸, 藤原 努, 山崎 升, 宮城 敦, 檜垣旺夫, 斎藤 滋: フッ素-ランタン二段処理法による歯質の難溶化. III. 処理生成物の難溶性と耐摩耗性. 歯基礎誌, 29 : 541-548, 1987.
- 38) 宮城 敦: フッ素-ランタン二段処理法による乳歯エナメル質の難溶化に関する研究. 小児歯誌 25(1) : 1-11, 1987.
- 39) Manly, R. S. and Hodge, H. C.: Density and refractive index studies of dental hard tissues. I. Methods for separation and determination of purity. J. Dent. Res. 18 : 133-141, 1939.
- 40) 大森郁郎, 岡田昭五郎, 榊原悠紀田郎, 細見忠雄, 日本歯科衛生士会: フッ化物局所応用の手引き, pp. 156, 医歯薬出版(株), 東京, 1975.
- 41) 飯島洋一, 高江洲義矩: エナメル質表層におけるフッ素濃度分布 (I)一歯面別および層別分析について. 口腔衛生会誌 26 : 45-49, 1976.
- 42) Aasenden, R. and Moreno, E. C.: Evaluation of biopsy data in human enamel fluoride studies. Arch. Oral Biol., 16 : 1413-1426, 1971.
- 43) 須賀昭一, 田熊庄三郎, 佐々木哲編: 歯の研究法, pp. 779-783, 医歯薬出版(株), 東京, 1973.
- 44) Hingle, D. N., Kirkbright, G. F. and West, T. S.: The atomic-emission spectroscopy of the rare earth elements in a separated nitrous oxide-acetylene flame. Analyst 94 : 864-870, 1969.
- 45) Moody, G. J. and Thomas, J. D. R. 著, 宗森 信, 日色和夫訳: イオン選択性電極, pp. 74-103, 共立出版, 東京, 1977.
- 46) 中村輝雄監修: 詳解肥料分析法, pp 77-85, 養賢堂, 東京, 1962.
- 47) Vojinovic, O., Nyborg, H. and Brännström, M.: Acid treatment of cavities under resin fillings. Bacterial growth in dentinal tubules and pulpal reactions. J. Dent. Res. 52(6) : 1189-1193, 1973.
- 48) Brännström, M. and Johnson, G.: Effects of various conditioners and cleaning agents on prepared dentin surfaces. A scanning electron microscopic investigation. J. Prosthet. Dent. 31(4) : 422-430, 1974.
- 49) 青葉孝昭, 石田 武, 八木俊雄, 長谷川清, 森脇 豊: 加熱処理による生体硬組織から β -Tricalcium phosphate の生成について. 歯基礎誌 17 : 103-109, 1975.
- 50) Aoki, H., Ban, T., Akao, M., Kato, K. and Iwai, S.: Thermal analysis of calcified tissues. Rep. Inst. Med. Dent. eng. 11 : 27-31, 1977.
- 51) Wei, S. H. Y. 著, 栗山純雄: フッ化物と齲蝕予防. 歯界展望 58(6) : 1079-1091, 1981.
- 52) 酒井きよ美, 鈴木清和, 大森隆夫, 瀬戸イネス, 三沢和夫, 山崎宗与: 形成象牙質表面の微細切削片の形態学的観察. 日歯保誌 24(3) : 893-903, 1981.
- 53) 水津修司, 辻 満, 大道博文, 佐伯謙吾, 久保至誠, 林 弘之, 松元 仁: 歯質への接着強化法の研究. 第1報: リン酸エッチングを行った象牙質の最表層の変化について. 日歯保誌 27(2) : 390-396, 1984.
- 54) 千葉幹男, 長谷川篤司, 伊藤和雄, 和久本貞雄: 歯面処理法がレジンの接着性に与える影響について. 第2報 エナメルおよび象牙質処理法についての検討. 日歯保誌 29(1) : 219-227, 1986.
- 55) 水沼 徹: レジンの象牙質に対する接着と象牙質コラーゲンの構造変化—塩化第二鉄がコラーゲンに与える影響—. 歯材器誌 5(1) : 54-64, 1986.
- 56) Gwinnett, A. J. and Jendresen, M. D.: Micromorphologic features of cervical erosion after acid conditioning and its relation with composite resin. J. Dent. Res. 57 : 543-549, 1978.
- 57) Brännström, M. and Nyborg, H.: Cavity treatment with a microbicidal fluoride solution. Growth of bacteria and effect on the pulp. J. Prosthet. Dent. 30 : 303-310, 1973.
- 58) 森脇 豊, 可児徳子, 堤 定美, 山賀礼一:

- フーリエ解析法による象牙質、骨の結晶性の評価. 歯理工誌 11 : 50-57, 1970.
- 59) Apostolopoulos, A. X. and Buonocore, M. G.: Comparative dissolution rates of enamel, dentin and bone. I. Effect of the organic matter. J. Dent. Res. 45 : 1093-1100, 1966.
- 60) 米林光三：象牙質 Apatite に生成された CaF_2 の反応に関するX線結晶学的研究. 阪大歯誌 12 : 79-93, 1967.
- 61) Richardson, B.: Fixation of topically applied fluoride in enamel. J. Dent. Res. [Suppl] 46 : 87-91, 1967.
- 62) Aasenden, R., Brudevold, F. and Richardson, B.: Clearance of fluoride from the mouth after topical treatment or the use of a fluoride mouthrinse. Arch. Oral Biol. 13 : 625-636, 1968.
- 63) Braud, C. A. and Bang, S.: Electron probe and X-ray diffraction microanalyses of human enamel treated *in vitro* by fluoride solution. Caries Res. 4 : 1-13, 1970.
- 64) 小林やす子, 尾関正美, 八木利治, 細井辰起, 武井 盈：ハイドロオキシアパタイトとランタン反応物のX線回折. 口衛生会誌, 29 : 354-360, 1980.
- 65) 白石雅照：フッ化物処理ハイドロキシアパタイトにおけるフッ素の保持に関する研究. とくに希土類元素の応用および反応性について. 歯科医学 49(4) : 475-508, 1986.
- 66) 中室嘉康：合成ハイドロキシアパタイトにおけるフッ素の保持に対する希土類元素の影響について. 歯科医学 49(4) : 509-530, 1986.
- 67) 黒崎和夫：表面・局所分析の実際, pp. 15-39, (株) 講談社, 東京, 1984.