強電解酸性水のヒトエナメル質に対する影響

西 田 哲 也 音 琴 淳 一 伊 藤 公 一
滝 川 智 義* 小 野 瀬 英 雄* 村 井 正 大

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座
(主任：村井正大教授)

*日本大学歯学部保存学教室修復学講座
(主任：小野瀬英雄教授)

(平成 6 年 12 月 20 日 受付)

The Effect of Acid Electrolysis Water on Human Enamel Surface

Tetsuya NISHIDA, Jun-ichi OTOGOTO, Koichi ITO,
Tomoyoshi TAKIGAWA*, Hideo ONOSE* and Seidai MURAI

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry
1-8-13, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan
(Chief : Prof. Seidai MURAI)

*Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry
(Chief : Prof. Hideo ONOSE)

The purpose of this study was to evaluate the effect of acid electrolysis water (AE-Water) on human enamel surface. The enamel specimens were prepared from healthy extracted third molars. The test specimens were soaked in AE-Water and physiologic saline solution for 30 sec., 30 min., 6hrs., 18hrs., 60hrs., at 37°C, and positive control specimens were treated with enamel etching gel. They were fixed, and then the degree of decalcification on each specimen was observed by scanning electron microscope (SEM) and scanning image analyzer (SIA).

The result of this study indicated that there was

a tendency of decalcification of the enamel surfaces with an increase of time by AE-Water treatment. However, there was no decalcification of the enamel surface soaked 30 sec. in AE-Water. It took 18 hours AE-Water treatment to reach the same degree of decalcification of the enamel surface as enamel etching gel.

It is concluded that there is a little risk of decalcification on the enamel surface with AE-Water. When we use AE-Water for long time, we must explain the detail of use of it to the patients and observe the patient oral condition regularly.

Key words : Acid electrolysis water, Enamel, Decalcification, SEM observation, SIA analysis

要旨 : 本研究の目的は、強電解酸性水 (AE 水) のエナメル質に対する影響を検索することである。

ヒト第三大臼歯より切り出した健全エナメル質を、AE 水および生理食塩水中に 30 秒、30 分、6 時間、18 時間および 60 時間、37°C 振盪浸漬した。なお陽性対照としては、エッチングゲルを用いてエナメルエッチングを 30 秒間行った。それぞれの歯片の表面を走査型電子顕微鏡にて観察、走査像解析装置を用いて表面粗さを分析した。その結果、AE 水に浸漬する時間とともにエナメル質表面の脱灰が進む傾向にあったが、30 秒浸漬面では脱灰は認められなかった。AE 水中に 18 時間浸漬したエナメル質表面の脱灰の程度は、エナメルエッチング面と同等であった。以上のことから、AE 水によるエナメル質表面に対する脱灰の危険性は少ないことが判明した。

しかし、AE 水による洗口で脱灰が認められることは確実であるので、患者に AE 水を長期間使用させる場合は、十分な使用方法の説明および定期的な観察が不可欠であることが示唆された。

索引用語：強電解酸性水，エナメル質，脱灰，走査型電子顕微鏡，走査像解析装置

緒 言

歯周病は、プラークによる感染症であるという概念が定着しつつある¹⁻³⁾。したがって、歯周治療の原則はプラークコントロールを基盤としているが、プラークコントロールはスクレーピング、ルートプレーニングなどによる機械的方法のみでは困難であり、殺菌剤や抗生剤などによる化学的方法も併用する必要がある^{4,5)}。しかし、化学的プラークコントロールに使用する殺菌剤や抗生剤は化学物質であるため、生体に対する有害作用や副作用について常に考慮しなければならない。とくに長期使用にあたっては、安全で、安価で無公害であることなどの条件も必要となるが、すべての具備条件を有する薬剤は見あたらないのが現状である。

そこで著者らは、種々の真菌、細菌、ウイルスに対して殺菌効果のある強電解酸性水 (AE 水) に着目し、プラーク形成抑制効果について検討した^{6,7)}。その結果、AE 水がプラークコントロールに臨床応用できる可能性のあることが判明した⁸⁾。しかし、一般的に AE 水は pH 3.0 以下と強酸性のため、口腔内で使用する場合は、硬組織や軟組織歯質への影響が懸念される。

そこで、今回、歯質に対する AE 水の影響を検索することを目的とし、とくにヒトエナメル質表面への脱灰について検討したので報告する。

材料および方法

1. 材 料

1) 試 験 液

試験液は Oxilyzer® (OXM-01, 三浦電子, 秋田) で製造した AE 水 (O), pH 2.6 ± 0.1 , 酸化還元電位 1100 mV 以上および Sedent Pyrenizer® (SD 1000, セキムラ, 東京) で製造した AE 水 (P), pH 2.9 ± 0.1 , 酸化還元電位 1100 mV 以上を用い、その対照として生理食塩水 (日本薬局方生理食塩液, 大塚製薬, 東京), pH 6.4, およびエッチングゲル (インパーバボンドエッチングゲル, 松風, 京都), pH 0.3 を用いた。

2) 試験片の作製

歯片は、ヒト健全第三大臼歯の歯冠部エナメル質か

らダイヤモンドポイントで $6 \times 5 \times 1$ mm の大きさに切り出し、エナメル質表面を耐水研磨紙の 400 番から順次 3000 番まで処理、Vibraclean (2000, MDT, U.S.A.) にて 15 分間超音波洗浄を行った。歯片は約 $2 \times 5 \times 1$ mm 大きさに 3 分割し、その半面をネイルエナメル (W-05, MARY QUANT, 東京) でマスキングし試験片とした。

2. 方 法

1) 浸漬方法

3 分割した歯片のうち 1 試験片をエッチングゲルにて 30 秒間エナメルエッチングを行い、残りの 2 試験片は AE 水および生理食塩水中に各々 1 片ずつ 30 秒, 30 分, 6 時間, 18 時間および 60 時間, 振盪培養器 (Personal shaker, 太陽化学工業, 東京) を用い、37°C 毎分 120 回転で振盪浸漬した。

試験は、各浸漬時間につき 3 試験片を用い、AE 水で浸漬した各々の面を試験群、生理食塩水で浸漬した面を生理食塩水群、エナメルエッチングした面をエッチング群とし、マスキングした面を未処理群とした。

2) 走査型電子顕微鏡 (以下 SEM と略す) および走査像解析装置 (以下 SIA と略す) 用試料の作製

それぞれの試験片のマスキングを除光液 (Enamel solvent, レブロン, 静岡) で除去した後、試験片の側面を 0.5 mm 削除、耐水研磨紙の 400 番から順次 3000 番まで処理し 15 分間超音波洗浄を行った。その後、1% グルタルアルデヒド中に 2 時間浸漬固定を行い、アルコール列で脱水、臨界点乾燥 (HCP-2, 日立工機, 東京), 試料表面に金でイオンスパッターコーティング (JFC-1100, 日本電子データム, 東京) を行い、SEM (JSM T 100, 日本電子データム, 東京) を用いて試験片の観察を 350 倍で行った。

また、SIA (JSM-5400, 日本電子データム, 東京) を用いて表面の粗さ R_{max} を算出した。 R_{max} は各試料エナメル質表面を 3 等分しその中央部を計測した。

3) 統計学的処理

R_{max} 値の各群間の検定には、Paired t -検定を用いた。

図 1-1 試験群 30 秒の試験片断面を 45 度
上方から観察 一：50 μm ($\times 350$)

図 1-4 試験群 18 時間の試験片断面を 45 度
上方から観察 一：50 μm ($\times 350$)

図 1-2 試験群 30 分の試験片断面を 45 度
上方から観察 一：50 μm ($\times 350$)

図 1-5 試験群 60 時間の試験片断面を 45 度
上方から観察 一：50 μm ($\times 350$)

図 1-3 試験群 6 時間の試験片断面を 45 度
上方から観察 一：50 μm ($\times 350$)

結 果

1. SEM による観察 (図 1-1~5, 2-1~5, 3-1, 2)

図 1-1~5 にそれぞれの試験片の断面を 45 度上方から観察した SEM 像を示す。試験群の 30 秒浸漬面でのマスキングした境界部は不明瞭で、エッチング群 (図 3-1)、試験群の 6 時間浸漬面, 18 時間浸漬面, 同じく 60 時間浸漬面の境界部は明瞭であった。図 2-1~5 に同部位の断面像を示す。エッチング群 (図 3-2) では、脱灰の境界部で段差が約 7~10 μm 程度確認できたが、試験群の 30 秒, 30 分, 6 時間浸漬面では段差は確認できず、試験群の 18 時間浸漬面ではほぼエッチング群と同等の段差が確認された。また、AE 水 (O) と AE 水 (P) の両試験液間に顕著な差異は見られなかった。

図 2-1 試験群 30 秒の試験片断面を観察
— : 50 μm ($\times 350$)

図 2-4 試験群 18 時間の試験片断面を観察
— : 50 μm ($\times 350$)

図 2-2 試験群 30 分の試験片断面を観察
— : 50 μm ($\times 350$)

図 2-5 試験群 60 時間の試験片断面を観察
— : 50 μm ($\times 350$)

図 2-3 試験群 6 時間の試験片断面を観察
— : 50 μm ($\times 350$)

2. SIA による分析 (図 4-1, 2)

図 4-1 に AE 水 (O), 図 4-2 に AE 水 (P) の未処理群, 生理食塩水群, エッチング群, 試験群の平均 Rmax のグラフを示す。エッチング群は未処理群,

生理食塩水群に比べ有意に表面が粗くなっているのが確認され, また, 試験群は 30 秒浸漬面で未処理群, 生理食塩水群と同程度であったが, AE 水中に浸漬する時間が長くなるにつれ, 表面の粗さは粗くなって行く傾向が見られた。しかし, 試験群の 60 時間浸漬後であってもエッチング群と比較すると平均 Rmax の値は低くなっているのが確認された。また, AE 水 (O) と AE 水 (P) の両試験液間に顕著な差異は見られなかった。

考 察

AE 水の殺菌メカニズムの詳細はまだ明らかにされていないが, その効果は残留塩素, 低い pH などとされており, 口腔外で種々の真菌, 細菌, ウイルスに殺菌効果が報告されている^{6,7,9)}。

著者らは, AE 水のプラーク形成抑制効果を臨床応用の可能性について報告した⁸⁾。しかし, AE 水を実

図 3-1 エナメルエッチング面の断面を45度上方から観察 —: 50 μm ($\times 350$)

図 3-2 エナメルエッチング面の断面を観察 —: 50 μm ($\times 350$)

図 4-1 AE 水 (O) を試験液とした場合の平均 Rmax

際に口腔内に使用するとなると、その強酸性による硬組織への為害性、とくにエナメル質の脱灰が懸念される。

そこで、AE 水を洗口剤として用いた場合を想定し、振盪回数を毎分 120 回、浸漬温度を 37°C、時間を 30 秒、30 分、6 時間、18 時間および 60 時間と設

図 4-2 AE 水 (P) を試験液とした場合の平均 Rmax

定, AE 水によるヒトエナメル質表面の脱灰について検討した。この時間の設定は, 1 回 30 秒, 1 日 2 回を洗口の基準とした時, 各々を単純計算すると, 1 回, 1 カ月, 1 年, 3 年, 10 年洗口した時間と等しくなる。

今回の実験結果より, 試験群の浸漬時間が増すと共にエナメル質表面の粗さは増加して行ったが, エッチング群よりは少なかった。また, エナメル質断面による SEM 像で, AE 水中に 30 秒, 30 分および 6 時間浸漬した歯片では, 境界部に段差が認められず, 18 時間浸漬した歯片で段差は認められたが, その程度はエッチング群と同程度であった。これらは AE 水の pH が, AE 水 (O) で 2.6 ± 0.1 , AE 水 (P) で 2.9 ± 0.1 と, エッチングゲルの pH 0.3 に比べ高かったため, 脱灰が緩徐に進行したためと考えている。

したがって, AE 水を用いて 30 秒間洗口しても, エナメルエッチング面より脱灰の程度は, はるかに少ないといえ時間として 18 時間, 今回設定した洗口基準であれば, 3 年間持続的に洗口しなければエナメル

質の脱灰は, エッチングによるものと同等にならないことになる。よって, AE 水を洗口剤として用いてもヒトエナメル質表面に対する脱灰の危険性は少ないと結論づいた。

また, エナメル質の再石灰化ということからも, 脱灰に対する危険性は少なくなると考えられる。臨床的観察では Buonocore¹¹⁾ は酸処理により白濁した歯面が口腔内において 2~3 日で消失し, ほぼ元の状態に近づくことを報告している。また, Arana¹²⁾ は, 酸処理された歯面が肉眼的に周辺部との差が顕著でなくなることが 48 時間から数日後であったとしている。さらに, SEM による観察では Albert ら¹³⁾ による報告で 96 時間後に, Retief¹⁴⁾ は 2 週間後に, Lee ら¹⁵⁾ は 3 週間後に脱灰歯面がほぼ消失することを報告している。これらのうち Retief¹⁴⁾ は 50% リン酸で 60 秒間処理したとき $50 \mu\text{m}$ のタグが得られたとしている。今回, エッチング面と試験群 18 時間浸漬群で約 7~10 μm 程度の段差が認められたが Retief¹⁴⁾ の報告

に準じれば、この実質欠損は可逆的範囲内と推測できる。

さらに、実際の洗口に際して、AE 水の使用前の温度、口腔内での pH の上昇などにより、今回の結果よりは、エナメル質表面の脱灰は少なくなると予想される。

しかしながら、AE 水をプラーク抑制剤として、毎日使用することを考えると、エナメル質表面の脱灰がどのように進行するか不明であるので、今後の研究課題となるであろう。

結 論

AE 水の歯質に対する影響を、ヒトエナメル質を用い *in vitro* で検討したところ以下の結論を得た。

AE 水によるエナメル質表面の脱灰の危険性は少ないが、脱灰は少なからず認められるので、AE 水を長期間使用させる場合は、患者に対する十分な使用方法の説明および定期的な観察が不可欠であることが示唆された。

謝 辞

本実験を行うに当たり快く強電解酸性水を試料提供して下さいました、特殊分析研究所、株式会社セキムラに深く感謝いたします。

文 献

- 1) Slots, J.: The subgingival microflora in periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 6 : 351-382, 1979.
- 2) Loesche, W.J.: The bacterial etiology of dental decay and periodontal disease. The specific plaque hypothesis. Clin. Dent., 2 : 1-13, 1982.
- 3) Genco, R.J., Zambon, J.J. and Cristersson, L.A.: The origin of periodontal infections. Adv. Dent. Res., 2 : 245-259, 1988.
- 4) Genco, R.J. and Cristersson, L.A.: Anti-infective therapy for gingivitis and periodontitis. In: Genco, R.J., Goldman, H.M., Cohen, D.W. eds: Contemporary Periodontics, St. Louis: The CV Mosby Co, 1990, 427-441.
- 5) Newman, H.N.: Update on plaque and periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 7 : 251-258, 1980.
- 6) 清水義信, 古沢利武: 電解による酸化電位水の殺ウイルス, 殺細菌および殺真菌の作用. 歯科ジャーナル, 37(6) : 1055-1060, 1993.
- 7) 岩沢篤郎, 中村良子, 岡田 淳, 水野徳次: アクア酸化水の抗ウイルス効果. 臨床と微生物, 20(2) : 231-236, 1993.
- 8) 西田哲也, 江田昌弘, 嶋田浩一, 山田 潔, 伊藤公一, 村井正大: アクア酸化水のプラーク形成抑制効果. 日歯周誌, 35(4) : 692-697, 1993.
- 9) 酒井敏博, 芝 燐彦, 万代倫嗣, 中根文誉, 飯沼裕之, 迎 和彦, 三浦頌剛, 池田増夫, 芝紀代子, 水野徳次: OXILYZER® による電解水の歯科領域への応用—第 1 報 使用条件について—. 補綴誌, 37(5) : 920-927, 1993.
- 10) 安部 敏, 宮 豊, 奥田礼一: 酸化電位水の HB ウイルスに対する不活化作用. 日歯周誌, 37(5) : 1616-1623, 1994.
- 11) Buonocore, M.G.: A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces, J.Dent. Res., 34 : 849-853, 1955.
- 12) Arana, E.M.: Clinical observations of enamel after acid-etch procedure, J. Am. Dent. Assoc., 89 : 1102-1110, 1974.
- 13) Albert, M. and Grenoble, D.E.: An *in vivo* study of enamel remineralization after acid etching, J.S. Calif. Dent. Ass., 39 : 747-751, 1971.
- 14) Retief, D.H.: Effect of conditioning the enamel surface with phosphoric acid, J. Dent. Res., 52 : 333-341, 1973.
- 15) Lee, H.L., Orlowski, J.A. and Kobasigawa, A.I.: A protective coating for combating decalcification in orthodontic practice, J. Clin. Orthodont., 7 : 249-256, 1973.

連絡先:

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

〒101 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13