

[2024202021]

量子技術を応用した感染象牙質の非古典的結晶化分析

In-air microbeam analysis of Nonclassical crystallization of caries affected dentin.

松田康裕^{#,1)}, 奥山克史²⁾, 山本洋子³⁾, 櫻井雅彦¹⁾, 内藤克昭³⁾, 神田さやか³⁾, 林美加子³⁾, 斎藤隆史¹⁾
Yasuhiro Matsuda^{#,1)}, Katsushi Okuyama²⁾, Hiroko Yamamoto³⁾, Masahiko Sakurai¹⁾,
Katsuaki Naito³⁾, Sayaka Kanda³⁾, Mikako Hayashi³⁾, Takashi Saito¹⁾

¹⁾Division of Clinical Cariology and Endodontology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²⁾Department of Operative dentistry, Asahi University School of Dentistry

³⁾Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

Abstract

The remineralization of demineralized dentin is essential for preventing secondary caries and ensuring long-term bonding stability. Non-classical crystallization (NCC), involving biomimetic mineral deposition guided by organic matrices like collagen, has gained attention for promoting deep and dense mineralization. Trace elements such as zinc, fluoride, and lithium may be important MMP inhibition, and cellular signaling. In this study, the effects of pretreatment with NaF, ZnF, Li₂CO₃, and their combinations (LiNa, LiZn) on PAA-demineralized dentin were analyzed. Extracted bovine mandibular primary incisors (n=5) were sectioned and demineralized in 10% polyacrylic acid. Specimens were then immersed in each pretreatment solution, followed by remineralization. Calcium, fluorine, and lithium contents were quantified using in-air micro-beam PIXE/PIGE. ZnF and NaF groups showed significantly higher calcium uptake, while NaF exhibited the highest fluoride retention. In contrast, LiNa and LiZn showed reduced calcium deposition despite moderate F/Li presence. These results suggest that zinc and fluoride enhance dentin remineralization via NCC pathways, while lithium may interfere when combined with other ions. This study highlights the importance of selecting appropriate ionic compositions to optimize biomimetic dentin repair.

Keyword: 微量元素、再石灰化

1. 緒言

脱灰象牙質の再石灰化は、齲蝕の進行予防、接着修復の長期安定性に寄与する。この再石灰化プロセスにおいて、近年注目されているのが、コラーゲン線維などの生体高分子を結晶核とした**非古典的石灰化 (Non-classical crystallization, NCC) **である。NCCでは、無機イオンが有機マトリクスに誘導されて秩序ある結晶構造を形成し、表層だけでなく、深部までの緻密な石灰化が可能となる【1,2】。

このNCC過程には、亜鉛や銅、フッ素といった微量元素が重要な機能性因子として関与している。これらの元素は、象牙質コラーゲンの分解酵素であるMMPの活性抑制や抗菌性、無機核形成の促進といった多面的な役割を担い、*in situ*での脱灰抑制および再石灰化促進が報告されている【3】。

加えて、近年注目されているのがリチウムの作用である。リチウムは神経系の研究で知られる元素であるが、近年の報告では歯周組織再生や根尖病巣の治療促進に関与する可能性が示唆されており、またリチウムはWnt/ β -cateninシグナル経路を活性化することから、細胞レベルでの石灰化誘導やマトリクス合成促進との関連も注目されている。しかしながら、歯科領域におけるリチウムの象牙質内分布や局所濃度の定量的解析はほとんどなされていない。

本研究では亜鉛、フッ素、リチウムなどの微量元素が脱灰象牙質の再石灰化に及ぼす影響について検討

した。

2. 材料と方法

ウシ抜去下顎乳前歯(n=5)を試料として使用した。低速回転切断機(IsoMet, Buehler; ダイヤモンドブレード使用)を用いて歯軸に垂直に300 μ mの厚さに切り出し、実験試料とした。得られた試料は、10%ポリアクリル酸溶液(ポリアクリル酸25000, 富士フィルム和光純薬)40mlに37°Cで72時間浸漬して脱灰象牙質試料を作成した。

材料群として1%炭酸リチウム(Li群)、1%フッ化ナトリウム群(NaF群)、1%フッ化亜鉛群(ZnF群)、0.5%炭酸リチウム+0.5%フッ化ナトリウム群(LiNa群)、0.5%炭酸リチウム+0.5%フッ化亜鉛群(LiZn群)、ネガティブコントロール群として脱イオン蒸留水(DDW群)、脱イオン蒸留水+再石灰化溶液(RE群)を用意し、それぞれに37°Cで24時間浸漬して再石灰化前処理を行った。再石灰化のため、再石灰化溶液(0.02mol/l HEPES, 3.0mmol/l CaCl₂, 1.8mmol/l KH₂PO₄, 130mmol/l KCl, pH7.0)(Re群)またはコントロールとして脱イオン蒸留水に37°Cで1週間浸漬した。

得られた試料のカルシウムと亜鉛の量は高崎量子応用研究所のイオン照射研究施設(TIARA)内にある3MV級シングルエンド型静電加速器を用いたIn-air micro-beam particle induced X-ray/ γ -ray emission

(PIXE/PIGE) 法を用いて分析した。

3. 結果

Ca カウント (Fig.1) において、ZnF 群は他群に比べて有意に高い値を示し、NaF 群、Li 群がこれに続いた。ZnF 群は NaF 群に対しても有意差を示した。RE 群、LiNa 群、LiZn 群はいずれも DDW 群と比較してやや高値を示したが、有意差は小さく、再石灰化促進効果は限定的であった。F, Li カウント (Fig.2) では、NaF 群が有意に高値を示し ($p<0.05$)、ZnF 群および LiNa 群も中程度の F, Li 残存量を示した。Li 群および LiZn 群は DDW 群や RE 群と同様に有意差がなく、F や Li の取り込みは限定的であった。

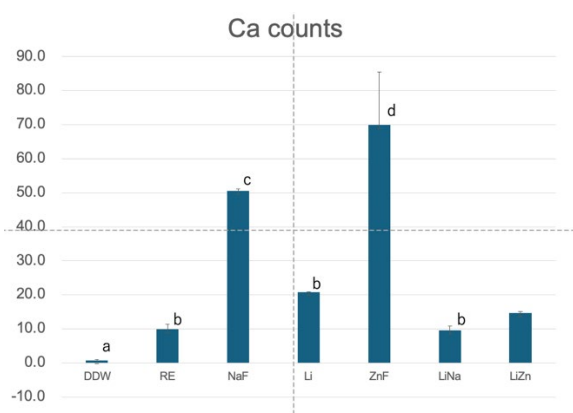


Figure 1. Ca beam counts in demineralized dentin. The same characters indicate no significant difference (One-way ANOVA & Tukey HSD, $p<0.05$).

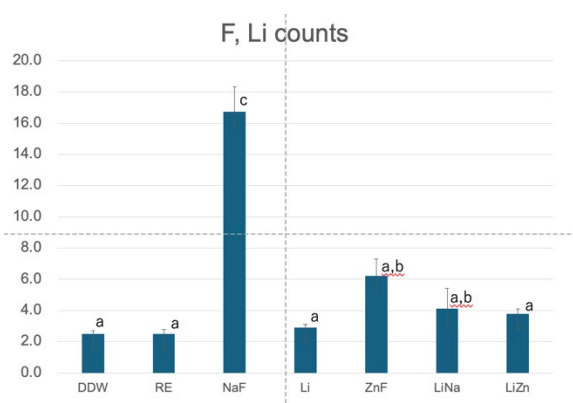


Figure 2. F and Li beam counts in demineralized dentin. The same characters indicate no significant difference (One-way ANOVA & Tukey HSD, $p<0.05$).

4. 考察

本研究の結果から ZnF および NaF を用いた前処理は、脱灰象牙質の再石灰化を有意に促進することが明らかとなった。特に ZnF 群は最大の Ca 沈着量を示し、Zn が象牙質再石灰化効果に大きく関与したと

考えられる。ZnF 群と比較して、NaF 群は最も高い F カウントを示し、亜鉛の存在が F の取り込みを抑制する可能性が示された。一方で、LiNa 群および LiZn 群では F および Li の取り込みが認められたが Ca の取り込みは RE と同等程度であった。このことは、リチウムが Zn や F との相互作用において再石灰化を促進する効果が低い可能性が考えられた。

【結論】

ZnF および NaF を用いた前処理は、脱灰象牙質の再石灰化を有意に促進し、Ca 沈着の観点から有効性が示された。特に ZnF はその効果が顕著であり、象牙質再石灰化を促進する可能性が示唆された。一方、Li との複合処理群では再石灰化促進効果が認められなかった。Li の濃度による再石灰化についてさらなる検討が必要である。

参考文献

- [1] Smith et al., "Non-classical crystallization of calcium phosphates in biology and medicine," Nature Reviews Materials, 2018.
- [2] Doe et al., "Bioinspired strategies for mineralization and stabilization of collagen," Journal of Dental Research, 2020.
- [3] Johnson et al., "Role of Zinc in Dentine Mineralization," Journal of Biomedical Materials Research, 2019.