

## 要旨

目的:新規歯面塗布材(Tooth Mousse)のう蝕予防効果を *in vitro*試験で調べることを目的とした。  
 実験方法:CPP-ACP配合の新規歯面塗布材であるTooth Mousse (TM, GC Corp.), CPP-ACP未配合のブラセポペースト (PP), PPにフッ素(900ppm F)を配合したペースト(FP)を用いて試験を行った。鏡面研磨した牛歯エナメル質を試験片とした。試験片を各ペーストの10倍希釈液に10分間浸漬した後、脱灰溶液 (pH=4.75, Ca: 0.75mM, P: 0.45mM)に10分間浸漬した。この操作を1日2回、4日間行った。以上の処理以外の時間帯は、イオン交換水(IEW)浸漬、湿度100%状態で静置、人工唾液(AS)浸漬のいずれかの処理を行った。エナメル質試験片の脱灰の程度はヌーブ硬度(KHN)を指標とし、試験前後の硬度の減少値(ΔKHN)から脱灰抑制効果を判断した。また、TMの緩衝効果についても調べた。TM, またはPPの10倍希釈液とスクロース溶液を *Streptococcus mutans* 懸濁液(pH=4.5)に添加し、pHをモニタリングした。

結果:IEWに浸漬したグループのΔKHNはTM, FP, PPでそれぞれ、22.8, 51.6, 59.6であった。湿度100%に静置したグループのΔKHNはTM, FP, PPでそれぞれ9.3, 24.2, 30.6であった。FPとPPに比べて、TM で処理した試験片のΔKHNは有意に小さく(p<0.05)、脱灰が抑制されていることが示された。ASに浸漬したグループのΔKHNはTM, FP, PPでそれぞれ、17.0, 30.4, 63.8であった。ペースト希釈液添加から1.5時間後のpHは、TM, PPでそれぞれ6.0, 4.0であった。

結論:以上の結果からTMは非常に強い脱灰抑制効果、ならびに緩衝作用を有することが示された。

## はじめに

歯質の主要構成成分であるハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム塩に対して、唾液中のカルシウム、リン酸塩は過飽和に存在していることが知られている。それゆえ、通常(口腔内pHが中性付近、プラーク等がない)の口腔内環境では、歯質の脱灰は起こらず、初期う蝕病変の再石灰化が促されると考えられている。また、唾液による緩衝作用は、糖摂取による口腔内pHの低下を防ぐ役割を担っている。

近年、カゼインホスホペプチド-アモルファスカルシウムホスフェート(CPP-ACP)が新規抗う蝕成分として開発された\*1。CPPはACPを過飽和状態で安定化することができる。CPP-ACPは初期う蝕脱灰病変の再石灰化を促すことが *in vitro*, *in situ*試験で明らかとなっている。E. C. ReynoldsらはCPP-ACP配合チューイングガムによる初期う蝕病変の再石灰化を *in situ*試験で示している\*2。

本研究では、CPP-ACP配合の新規歯面塗布材であるTooth Mousseの抗う蝕効果を調べるため、本材の脱灰抑制効果と緩衝作用を調べた。

## 実験方法

本試験に使用したペーストを表1に、人工唾液の組成を表2に示す。

ペースト名	組成
TM	Tooth Mousse (CPP-ACP配合歯面塗布材)
PP	CPP-ACP未配合のペースト
FP	フッ素(900ppm F)をPPに配合したペースト

組成	wt. %
NaCl	0.08
KCl	0.12
MgCl <sub>2</sub>	0.01
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.03
CaCl <sub>2</sub>	0.01
CMC-Na	0.1
IEW	99.6

CO<sub>2</sub>ガスによりpH7.0に調整した。

### 1. Tooth Mousseに含まれる生体が利用可能(可溶状態)なカルシウム、リン酸塩の定量

- TMをイオン交換水を用いて10倍希釈した。
- TMを遠心分離(10,000g)に供し、上清を回収した。
- 上清のCa, P濃度をそれぞれOCPC法, モリブデンブルー法で調べた。

### 2. エナメル質脱灰の抑制効果

- 牛歯エナメル質をレジン包埋し試験面を鏡面研磨した(n=10)。
- エナメル試験面のヌーブ硬度(KHN)を測定した(KHN<sub>before</sub>)。
- 試験片をペーストの10倍希釈液に10分間浸漬した後、脱灰液(pH=4.75, Ca: 0.75mM, P: 0.45mM)に10分間浸漬した。この操作を1日2回、4日間行った(37°C)。
- 以上の操作以外の時間帯は、イオン交換水(IEW)浸漬、湿度100%にて静置、人工唾液(AS)浸漬を行った(37°C)。
- 試験後、再び試験面のヌーブ硬度を測定した(KHN<sub>after</sub>)。

ヌーブ硬度減少値(ΔKHN)から脱灰の程度を判断した。

$$\Delta KHN = KHN_{\text{before}} - KHN_{\text{after}}$$

### 3. 緩衝作用

- TM, PP, FPの10倍希釈液を作製した。
- pHを測定しながら1N HClを10μLずつ添加していった。

### 4. S. mutansの産生する酸の中和と緩衝作用

- S. mutans JCM 5705株の懸濁液(2x10<sup>8</sup> cfu/mL)を調製した。
- 30 μLの10 mM リン酸緩衝液(pH7.0)と30 μLの1 M スクロース溶液を懸濁液に添加した。
- pHを測定しながら混合液を37°Cに静置した。
- スクロース添加から30分後、30μLのTM, またはPPの10倍希釈液を混合液に添加し、pH測定を継続した。

## 結果

### 1. Tooth Mousseに含まれる生体が利用可能(可溶状態)なカルシウム、リン酸塩の定量

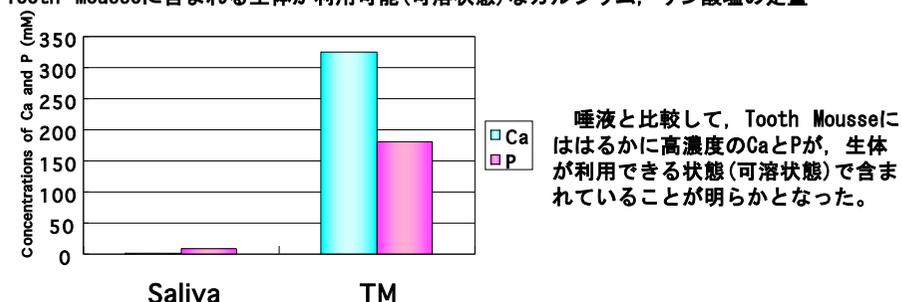


図1 唾液, Tooth Mousseに含まれるCa, P濃度の比較

唾液と比較して、Tooth Mousseにははるかに高濃度のCaとPが、生体が利用できる状態(可溶状態)で含まれていることが明らかとなった。

## 2. エナメル質脱灰の抑制効果

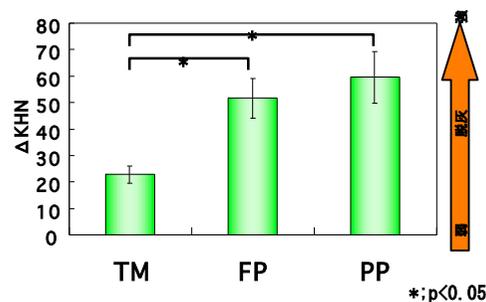


図2 IEWに浸漬したグループのΔKHN

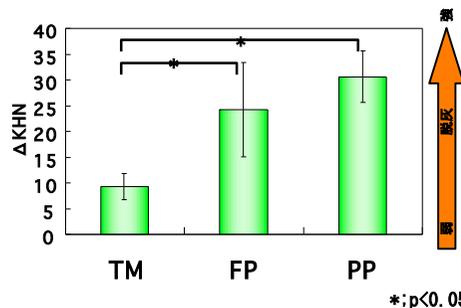


図3 湿度100%に静置したグループのΔKHN

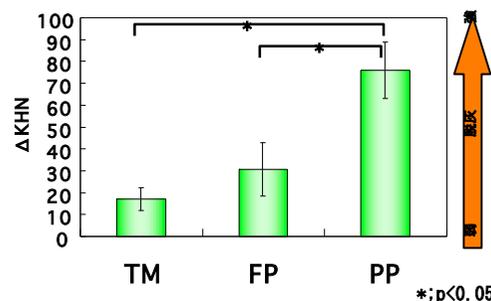


図4 ASIに浸漬したグループのΔKHN

IEWに浸漬したグループと湿度100%に静置したグループでは、FP、PPに比べ、TMは有意に脱灰の程度が小さかった。

ASIに浸漬したグループでは、PPに比べTM、FPの脱灰の程度が小さかった。

## 3. 緩衝作用

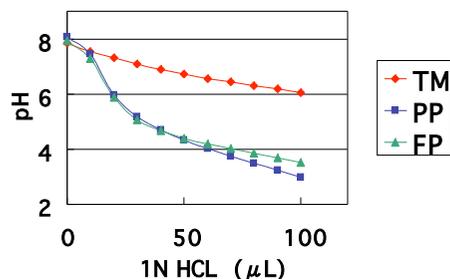


図5 緩衝作用の比較

CPP-ACP配合のTMはPP、FPに比べて高い緩衝作用を示した。

## 4. S. mutansの産生する酸の中和と緩衝作用

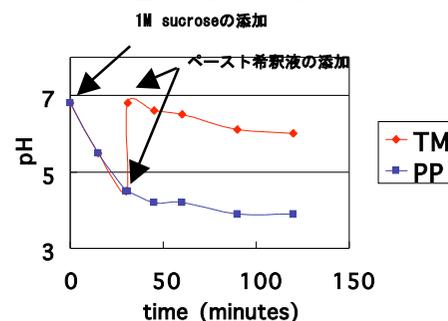


図6 S. mutansの産生する酸の中和と緩衝作用

TMはS. mutansがスクロース代謝によって産生した酸をすみやかに中和し、その後のpH低下も抑制することが明らかとなった。

## 考察

唾液と比較して、Tooth Mousseには可溶状態のCa、Pがはるかに豊富に含まれていることが明らかとなった(図1参照)。したがって、本材の使用によって口腔内にミネラルを供給することが可能であり、唾液流量の少ない患者さんへの適用も考えられる。

CPP-ACPを含まないプラセボ(PP)に比べて、Tooth Mousseは非常に高い脱灰抑制効果を示した。また、IEW浸漬、湿度100%静置のグループにおいては、Tooth Mousseの脱灰抑制効果はフッ素900ppmを含むペースト(FP)よりも優れていた(図2、3参照)。Tooth Mousseの脱灰抑制効果は当然CPP-ACPに起因するものであり、CaとPがACPとして過飽和に存在することで脱灰を抑制していると考えられる。

事実、以下に示すpH5.0に統一した3種類の溶液のいずれかにエナメル質を浸漬した場合、CPP-ACP溶液に浸漬した試験片はほとんど脱灰されなかった(data not shown)。

- 0.1M 乳酸緩衝液 (pH5.0)
- 0.1M 乳酸緩衝液 + 100ppm F (pH5.0)
- 0.1% CPP-ACP水溶液 (pH5.0)

フッ素については、再石灰化促進効果と再石灰化歯質の耐酸性を向上させる効果が良く知られている。本試験においても、AS浸漬したグループでこれらの結果が観察された(図4参照)。AS浸漬グループにおいては、Tooth Mousseとフッ素900ppmペースト(FP)の脱灰抑制効果は同等であった。CPP-ACPとフッ素の併用がう蝕予防に効果的であることはすでに確認されており<sup>\*)</sup>、フッ素配合歯磨剤でブラッシングした後にTooth Mousseを歯面に塗布するといった使用方法がう蝕予防に効果的であろうといえる。

Tooth Mousseは中和・緩衝作用についても優れた効果を示した(図5、6参照)。Tooth Mousseの中和・緩衝作用はCPP-ACP中のリン酸塩に起因するものと考えられる。口腔内pHの低下する食事の後や唾液分泌量が減少し緩衝作用が期待できない就寝の前にTooth Mousseを適用することでう蝕を効果的に予防できると考えられる。

## 結論

CPP-ACP配合の新規歯面塗布材であるTooth Mousseのう蝕予防効果を調べるため、脱灰抑制効果と中和・緩衝能に関するを行った。

1. 本試験系において、Tooth Mousseは高い脱灰抑制効果を示した。
2. Tooth Mousseは優れた中和・緩衝作用を示した。

以上の結果から、Tooth Mousseはう蝕予防に非常に効果的な画期的材料であると考えられる。

## 参考文献

1. E. C. Reynolds, et al., J. Clin. Dent., 10, 86-88, 1999
2. E. C. Reynolds, et al., J. Dent. Res., 80, 2066-2070, 1999

