

## 論文の内容の要旨

氏名：高 橋 史 典

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：自己集合性ペプチド P<sub>11</sub>-4 のエナメル質への応用効果に関する超音波透過法および光干渉型断層画像法による検討

酸蝕歯とは、細菌が関与することなく、酸性飲食物あるいは胃液などによって硬組織の脱灰を生じる疾患である。この酸蝕歯を予防するために再石灰化療法などが推奨されており、フッ化物含有歯磨剤などが使用されている。フッ化物の応用以外でも、細胞培養において播種細胞の足場として用いられているペプチド P<sub>11</sub>-4 に着目した製品も臨床応用されている。しかし、その開発から間もないこともあり、ペプチド P<sub>11</sub>-4 がエナメル質に及ぼす効果についての詳細に関する報告は少ないのが現状である。

そこで著者は、ペプチド P<sub>11</sub>-4 がエナメル質の脱灰抑制ならびに再石灰化に及ぼす影響について、超音波透過法とともに光干渉断層画像法（Optical Coherence Tomography, OCT）を用いることによって検討した。さらに、走査電子顕微鏡（SEM）を用いて観察することによって考察資料とした。

測定には、ウシエナメル質を 4×4×1 mm のブロック体に調整し、耐水性 SiC ペーパー #2,000 まで研磨したものをを用いた。ペプチド P<sub>11</sub>-4 としては、これを含有する Curodont Repair (CD, Credentis) をを用いた。

試片の保管条件としては、CD 未塗布の測定用試片を、実験期間を通じて 37°C 人工唾液中に保管した群を nCD 群、CD 未塗布の測定用試片を 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液 (pH 4.75) に 10 分間浸漬した後、37°C 人工唾液中に保管した群を nCD-De 群とした。また、CD を塗布した測定用試片を、実験期間を通じて 37°C 人工唾液中に保管した群を CD 群とし、CD を塗布した測定用試片を 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後、37°C 人工唾液中に保管した群を CD-De 群とした。

超音波測定装置は、パルサーレシーバ (Model 5900, パナメトリクス)、縦波用トランスデューサ (V112, パナメトリクス) およびオシロスコープ (Wave Runner LT584, レクロイ) から構成されるシステムを用いた。

OCT による測定には、マイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築された、time-domain 型 OCT 装置 (OCT, モリタ東京製作所) をを用いた。さらに、A-scan mode の信号強度分布を解析することによって最大ピーク強度値 (dB) を検出し、その座標を割り出した。次いで、この座標を中心として 86.5% の信号強度が含まれる範囲を算出し、その波形幅をもって 1/e<sup>2</sup> 幅 (μm) とした。なお、超音波の測定時期および信号強度分布測定としては、実験開始前および開始 7, 14, 21 および 28 日後とした。

SEM 観察には、測定用試片と同様の実験環境に保管した試片を、tert-ブタノール濃度上昇系列に順次浸漬した後、臨界点乾燥 (Model ID-3, エリオニクス) を行った。次いで、イオンコーター (Quick Coater Type SC-201, サンヨー電子) で金蒸着を施した後、SEM (ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

同一実験条件内において得られた縦波音速、最大ピーク強度値および 1/e<sup>2</sup> 幅の経時的変化については、分散分析を行った後 Dunnett test を用いて、各実験条件間での縦波音速および最大ピーク強度値および 1/e<sup>2</sup> 幅の比較は、重複測定分散分析を行うとともに Tukey-Kramer post-hoc test によって、それぞれ有意水準 5% の条件で統計学的検定を行った。

縦波音速については、nCD 群ではリン酸エッチングによって音速が有意に低下したが、それ以降の音速変化は認められなかった。nCD-De 群では、7 日以降で音速が有意に上昇し nCD 群および 0 day と比較して有意に低い値を示し、そのまま推移した。一方、CD 群および CD-De 群では、7 日以降で nCD 群および nCD-De 群と比較して有意に高い値を示した。

OCT 観察の結果から、nCD 群では実験期間を通じて最大ピーク強度値および  $1/e^2$  幅の変化は認められず、nCD-De 群の最大ピーク強度値は 7 日以降で nCD 群と比較して有意に高い値を示し、 $1/e^2$  幅は 21 日以降で nCD 群と比較して有意に低い値を示した。CD 群および CD-De 群では、最大ピーク強度値は実験期間を通じて変化は認められず、 $1/e^2$  幅は実験期間の経過に伴って有意に増加する傾向を示した。

SEM 観察から、nCD-De 群ではリン酸エッチングを行った試片と比較し、露出したエナメル小柱の脱灰が進行し、さらに粗造な面を呈した。一方、CD 群および CD-De 群の 28 日後の SEM 像では、露出したエナメル小柱を覆うように析出物が認められ、とくに CD-De 群では、より緻密な表面性状を呈した。

以上のように、本実験の結果から自己集合性ペプチド P<sub>11</sub>-4 は、エナメル質の脱灰抑制および再石灰化促進効果を有することが明らかとなり、酸蝕歯の予防に応用可能であることが示唆された。