

Changes of autofluorescence in human dentine caused by caries

○学 中本 和伸 (大阪大)

安井 武史 (大阪大)

正 橋本 守 (大阪大)

正 荒木 勉 (大阪大)

Kazunobu NAKAMOTO, Mamoru HASHIMOTO, Takeshi YASUI, and Tsutomu ARAKI

Graduate School of Engineering Science, Osaka University, Machikaneyama, Toyonaka, Osaka, 560-8531

1. はじめに

エナメル質に紫外線を照射すると、青色の自己蛍光を発する。これまでエナメル質において、齲蝕による蛍光特性の変化や自己蛍光の齲蝕診断応用に対する研究がいくつかなされてきた^{(1), (2)}。しかし、象牙質に関する研究はほとんどなされていない。

そこで我々は、象牙質に紫外線を照射するとエナメル質よりも強い蛍光が発することに着目し、象牙質における齲蝕と蛍光特性（蛍光スペクトルと蛍光減衰波形）の関連について調査した。その結果、健全部と齲蝕部において蛍光特性の差異が見られ、自己蛍光特性が歯牙の齲蝕診断に利用できるとの確証を得たので報告する。

2. 実験装置と試料

蛍光顕微鏡を使用して蛍光測定を行った。その装置の概略をFig.2に示す。蛍光スペクトルの測定は、励起光源として水銀ランプを使用し、定常光励起を行った。また、ナノ秒時間分解蛍光減衰波形の測定については、励起用パルス光源として空気放電管（くり返し周波数：20 kHz、パルス幅：1.0 ns）を使用した。

試料として、齲蝕があるヒト歯牙（大臼歯 24, 27, 28 才）の切片を用意し、茶色に変色した部分を齲蝕部、自然色の部分を健全部と考えて蛍光測定を行った（Fig.1）。



Fig.1 Molar tooth

- ① : Carious part, ② : Boundary part
③ : Sound part

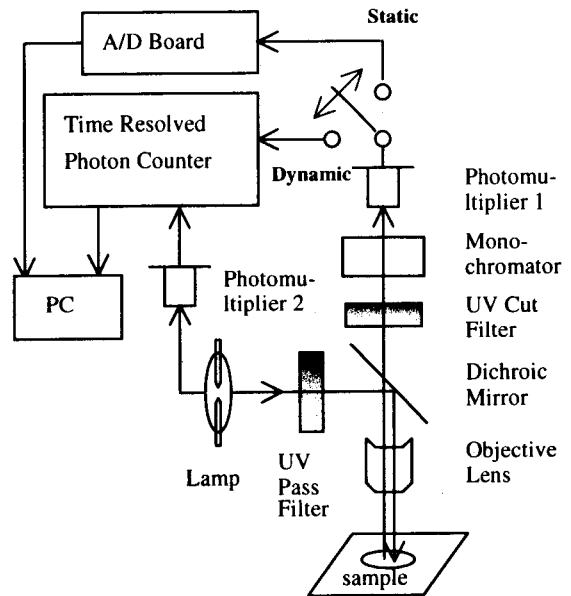


Fig.2 The time resolved fluorescence microscope photometer

3. 実験結果

歯切片の蛍光スペクトルと蛍光減衰波形を測定した。24 才の試料についてのそれぞれの結果を Fig.3, Fig.4 に示す。Fig.1 で茶色の部分（齲蝕部分）を①、白色部分（健全部）を③、①と③の境界を②とした。Fig.3 からわかるように、どの部位の蛍光スペクトルも 420nm 付近にピークをもつ同じような波形であるが、蛍光強度は、齲蝕部分が健全部に比べて小さくなった。また Fig.4 の蛍光減衰波形が示すように、齲蝕部分の蛍光減衰時間が健全部に比べて短くなった。

次に、蛍光減衰波形が多成分の指数関数の和

$$I(t) = \sum A_j \exp(-t/\tau_j)$$

(A_j : 比例定数, τ_j : 蛍光寿命, t : 時間,
 $j = 1, 2, 3, \dots$)

で近似できると考え、最少二乗法により 2 成分の指数関数の和で近似し、 A_j, τ_j を求めた。また、蛍光強度 I を各成分の蛍光強度の和 ($i_j = A_j \cdot \tau_j, I = \sum i_j$) で求め、それぞれの成分の強度全体に対する比を求めた。その結果を Table 1 に示す。24 才と 27 才の試料では、齲蝕部分の蛍光の短寿命 τ_1 が健全部の τ_1 よりも短くなった。28 才の

試料については、蛍光減衰波形も差異はなく、はっきりとした齲蝕による蛍光減衰時間の短縮も見られなかった。この試料については齲蝕部分が薄い茶色で、かつ茶色の部分が少なかったため、軽い齲蝕であり蛍光特性の違いも分かりにくくなったと考えた。

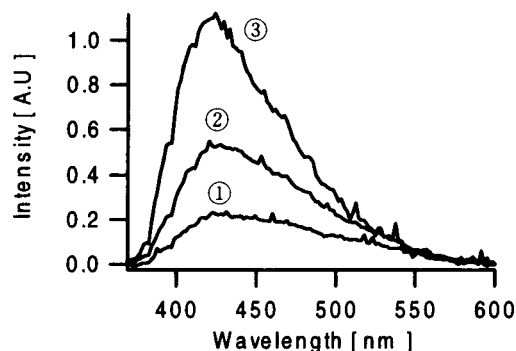


Fig.3 Fluorescence spectra of human dentin

①～③ shown in the figure correspond to those in Fig.1

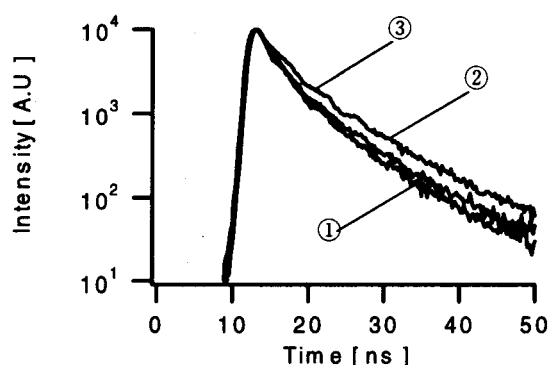


Fig.4 Fluorescence decay curve of human dentin

Table 1 Parameters of fluorescence decay curve

Sample	Porion	τ_1	τ_2	I_1 / I_{total}	I_2 / I_{total}
24 years male	①	1.9	6.2	0.37	0.63
	②	2.1	6.7	0.35	0.65
	③	3.0	8.3	0.38	0.62
27 years male	①	2.4	7.6	0.37	0.63
	②	2.4	6.7	0.36	0.64
	③	3.1	8.8	0.38	0.62
28 years female	①	2.4	8.2	0.30	0.70
	②	3.1	9.4	0.36	0.64
	③	2.9	9.3	0.34	0.66

4. 考察

蛍光スペクトルを測定したところ、すべての試料において象牙質の齲蝕により茶色く変色している部分は、健全部（白色部）に比べて蛍光強度が小さくなった。また、蛍光減衰波形については、齲蝕により蛍光減衰時間が短くな

るという結果が得られた。

齲蝕による蛍光特性の変化の一因について、タンパク質と糖の反応（Maillard 反応）であるとの報告がある⁽³⁾。Maillard 反応で生成される化合物は茶褐色を帯びた物質である。我々もここで観測した齲蝕には Maillard 反応が現れていると考えた。この反応では、最終的に AGE（Advanced Glycation End-products）と呼ばれる蛍光性（励起ピーク波長 370nm/蛍光ピーク波長 440nm）の化合物が生成される。齲蝕が進行すると糖との反応も進んでいるので、AGE が蛍光寿命の短い成分を持つ物質であると仮定すると、AGE が蓄積した結果、蛍光減衰時間が短縮したと考えられる。

タンパク質が糖と反応することによって蛍光性の物質が蓄積するならば、蛍光強度が増大するはずであるが、齲蝕部分は健全部よりも蛍光強度が小さかった。これは、茶色の部分は青色である蛍光を吸収するので（内部フィルター効果）、結果として白色部分よりも蛍光強度が小さくなったと考えられる。また、齲蝕により歯がもろくなり削り取られた結果、象牙質の密度が小さくなったために、全体としての蛍光強度が減少したと考えられる。

5. まとめ

齲蝕部分の蛍光スペクトルの形は健全部と変わらない。蛍光強度は光源強度や測定条件によって変化するため、相対的なものであり、齲蝕の進行の度合いなどを判断することは難しいだろう。

蛍光減衰波形については、齲蝕によって蛍光の減衰時間が短くなる。これは、何か健全部とは異なる蛍光物質が生成されているということを示している。これらのことから、蛍光減衰波形の測定が、齲蝕診断に利用できる可能性がある。

今後この研究を進める上で、励起用パルス光源としてパルスレーザの使用が必須である。今回使用した空気放電管は周りの環境に影響を受けやすく、不安定で長時間の測定が難しいという問題がある。また、空気放電管のくり返し周波数が約 20kHz と小さいので、測定自体に時間がかかる。高くり返しの極短パルスレーザを光源に使うと、測定時間の短縮化や測定の安定性が見込まれる。

参考文献

- (1)Benedict, H.C: Science 67:442(1928)
- (2)花房信博 他: 歯科基礎医学会雑誌 32:575-583(1990)
- (3)G.A.Kleter et al.: J Dent Res 77(3):488-495(1998)

謝辞：徳島大学歯学部口腔第一解剖学教室より歯試料の提供を受けた。また、本研究に対し、文部省科研費・基盤(B)(2)11480257 の補助を受けた。これらのことに対し謝意を表します。