

口腔内各部位の pH の変動に与える唾液の影響

鈴木 欣孝 渡部 茂

要旨：小児の齲蝕予防法を確立することを目的に、唾液が口腔内各部位の pH の変動にどのような影響を及ぼしているかについて検討を行った。pH 測定部位は上顎第一大臼歯頰側面 (UPB)、下顎中切歯舌側面 (LALi)、上顎中切歯唇側面 (UAB) とし、pH 測定には ISFET 電極を用いた。まず、pH と唾液分泌速度の関係を調べるために、UPB における pH および反対側耳下腺唾液分泌量 (Lashley Cup 使用) を同時に測定した。

次に UPB, LALi, UAB においてクエン酸による舌尖部刺激前後の pH を各部位同時に経時的に測定した。その結果、耳下腺唾液分泌速度の上昇とともに UPB における pH は徐々に上昇した。唾液分泌速度は刺激後、約 6.6 秒で上昇を開始し、13 秒後まで最も速い分泌速度を示した。pH はややそれに遅れて上昇を開始し、2 分 33 秒後に最大値を示した。

一方、舌尖部刺激による口腔内 3 か所の pH 変化は UPB と LALi においては、暫時上昇し、最大 pH の平均値は UPB で 6.32 ± 0.38 , LALi で 7.17 ± 0.12 であった。しかし、UAB については、ほとんど変動が認められなかった。

以上のことから、口腔内各部位の pH は唾液の影響を強く受けていることが示唆された。

Key words：pH, 部位特異性, 唾液クリアランス

緒 言

唾液は口腔内環境の恒常性を担う重要な因子の一つであり、特に、唾液の持つクリアランス能が齲蝕の発症や予防に深く関わっていることは Newbrum¹⁾の報告によっても明らかである。Lecomte ら²⁾、渡部ら³⁾および Watanabe⁴⁾は寒天中のカリウムが唾液中に拡散する率により口腔内各部位における唾液クリアランス率に差があることを報告している。そして、唾液クリアランス速度は下顎前歯舌側面が最も速く、上顎前歯唇側面が最も遅いことを述べている。唾液クリアランスは主に唾液分泌速度によって左右され⁵⁾、分泌速度が増加すると唾液の pH も上昇することが Dawes ら⁶⁾によって報告されている。これらのことから口腔内各部位の pH は、唾液のクリアランス能とともに口腔内各部位における恒常性の維持に直接的な影響を与えていると考えられる。

本研究の目的は上顎第一大臼歯頰側面 (UPB)、下顎中切歯舌側面 (LALi)、上顎中切歯唇側面 (UAB) に ISFET pH 電極を設置し、唾液の影響により各部位の pH

の変動にどのような差があるのかを検討することである。

材料と方法

1. 被験者

顎口腔系に異常の認められない健全歯列を有する成人男子 4 名、女子 2 名、計 6 名 (平均年齢 27.5 歳) を対象とした。実験開始 2 時間前より飲食、口腔清掃、喫煙、運動などを避けるように指示した。唾液の分泌量には日内変動⁷⁾が認められるため、実験は毎回午後 4 時頃とした。実験中は椅子に着座させ、本を読ませる等、安静状態を維持させ、口呼吸および舌、口唇の動きを禁じた。なお、実験は予め本研究の趣旨の説明をした後、被験者の同意を得て行った。

2. 口腔内 pH 測定方法

口腔内 pH 測定電極は先端部が長径 3 mm、幅径 1 mm、厚径 0.2 mm の水素イオン感応性電界効果トランジスタ電極⁸⁾ (BAS 社製, No. 50-1314, 以下 ISFET 電極と呼称する) を使用した。各被験者より上下顎の印象採得を行い、作業模型を作製し、模型上にて上顎第一大臼歯頰側、下顎中切歯舌側、上顎中切歯唇側の鼓形空隙に光重合型レジン (松風社製, LITE FILL II) を填塞した。光重合レジンは ISFET 電極の先端がこれらの部位の歯面に接するように ISFET 電極を固定し、光重合を

明海大学歯学部小児歯科学講座
埼玉県坂戸市けやき台 1-1
(指導：渡部 茂教授)
(2001 年 10 月 1 日受付)
(2001 年 10 月 17 日受理)

行った。口腔内には、ISFET 電極のついたレジンで鼓形空隙にセメントにより合着させた (図 1)。

ISFET 電極は ISFETmV/pH METER (BAS 社製, No. 50-1400) に接続し、それを Mac Lab/4 s (AD instrument 社製) からパーソナルコンピュータにてソフト上でデータ収録を行った。比較電極は、銀-塩化銀皮膚電極を用いた。予備実験の結果、波形の安定が比較的良好であった前額部を設置部位として電極内側に電極ペースト (新電元工業社製, Elefix) を貼付しガーゼとサージカルテープにて固定した。

図 2 に口腔内 pH 測定システムダイアグラムを示す。電極のキャリブレーションは装置装着後、pH の安定を確認し、各被験者の口腔内温度に加温した防腐剤無添加 pH 標準液 (電気化学計器株式会社製, pH: 4.01, 6.86) を用い、pH 6.86, 4.01, 6.86 の順で行った。電気的測定誤差を極力排除するため口腔内にてロールワッテ簡易防湿下で行った。

各被験者の実験開始にあたり、20 分間の安静状態を確認した。その後、10 秒間、5% クエン酸を浸漬した濾紙ディスク (アドバンテック東洋社製, NO. 1, $\phi 5$ に穿孔) にて舌尖部に刺激を加え、以下の実験を施行した。

実験 1. UPB における pH および耳下腺唾液分泌速度を同時に測定した。なお、耳下腺唾液分泌速度については各被験者の耳下腺開口部に Lashley Cup⁹⁾ を適合させ、チ

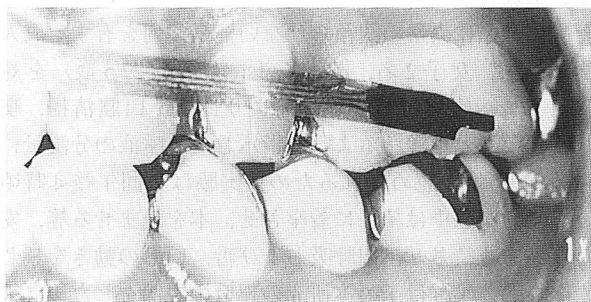


図 1 ISFET 電極の装着 (UPB)

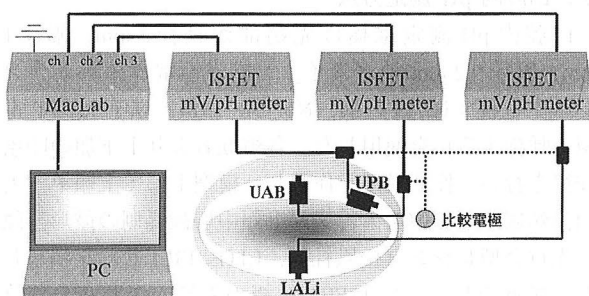


図 2 口腔内 pH 測定システムダイアグラム

ューブから流出する唾液の重量を風防電子天秤 (A & D 社製, HR-60) で連続的に計測し、Mac Lab/4 s (AD instrument 社製) にて pH と同時に記録した。

実験 2. 唾液クリアランス率の異なる^{2~4)} UPB, LALi, UAB における pH を各部位同時に測定した。

クエン酸溶液は温度差による刺激および pH の変化を考慮し、恒温槽で各被験者の口腔内温度に設定した。被験者の疲労、集中力、実験の煩雑さを考慮し、測定記録時間は実験 1 については安静時 1 分間、刺激後 5 分間、実験 2 については安静時 5 分間、刺激後 15 分間とした。実験終了後は再度標準液を用いて、再現性を確認した。

結 果

実験 1 の結果を図 3 に示す。

pH および耳下腺唾液分泌量は被験者の平均の変化を経時的に示している。唾液分泌速度は刺激後、約 6.6 秒後に上昇を開始し、13 秒後まで最も速い分泌速度を示した。以後、徐々に減少し、2 分 50 秒後に安静時の唾液分泌速度に戻った。一方、pH は刺激後約 10 秒後に

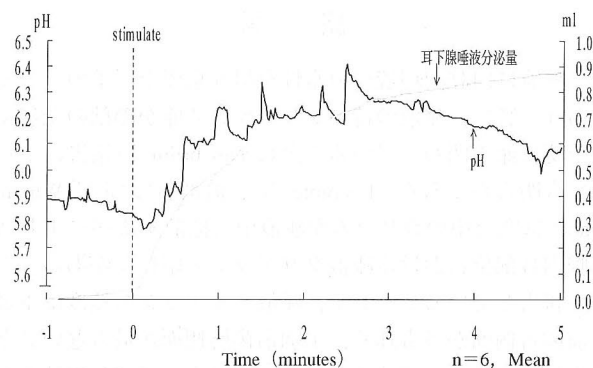


図 3 UPB における pH および耳下腺唾液分泌量の変化

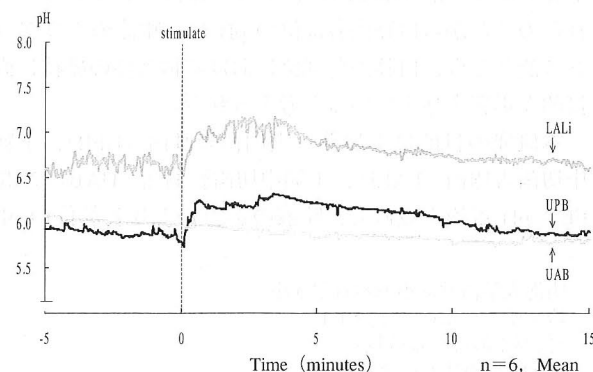


図 4 UPB, LALi, UAB における pH の変化

上昇を開始し、2分33秒後に最大値 6.41 ± 0.43 を示した。

実験2の結果を図4に示す。

安静時の平均 pH 値は UPB で 5.89 ± 0.26 , LALi で 6.64 ± 0.29 , UAB で 6.02 ± 0.29 であった。刺激後、UPB と LALi において暫時 pH 値は上昇し、各被験者の最大 pH 値の平均は UPB で 6.32 ± 0.38 , LALi で 7.17 ± 0.12 であった。しかし、UAB については、ほとんど変動が認められなかった。

刺激後の部位間の有意性について Fisher's PLSD の多重比較検定により分析した結果、危険率 0.1% で UAB-LALi 間に、危険率 0.5% で UPB-LALi 間にそれぞれ有意差が認められた。

考 察

1. pH 測定システムダイアグラムについて

唾液の pH を測定する方法は過去に様々な報告がされている。最も簡便な方法は pH 試験紙を用いる方法であるが、唾液 pH は大気中への暴露によりアルカリ側へ変化すること¹¹⁾が知られている。そのため、唾液の pH を測定する際、大気を遮断する方法が一般的に用いられる⁶⁻¹¹⁾。しかし、本実験では Igarashi ら¹²⁾の方法を参考に pH 電極を口腔内の各部位に留置して測定する方法を考えた。この方法は他方法に比べ CO₂ の拡散、測定時の刺激による唾液分泌などによる pH への影響が少なく、経時的な変化をリアルタイムに測定できる利点がある。

一般的に、pH の測定はガラス電極が使用される¹³⁾が、微小化は困難であり、応答膜の表面積が減少すると応答が遅くなり、雑音が大きくなる¹⁴⁾などの問題点がある。今回使用した ISFET 電極は前述のような問題も無く、pH 1~13 の測定範囲で、応答性が 56~57 mV/pH であり、Nernst の式で得られる値 (59 mV/pH) に近い感度を示し、95% 応答時間で 0.1 秒以下など優れている点を有している¹⁵⁾。

pH の校正方法としては体液を電解質溶液と仮定して電気回路を構成した場合、液間電位差が生じる¹⁶⁾ことや比較電極の種類が異なるため、通法どおり口腔外にて校正を行った後、口腔内で測定すると実際の pH 値に差が生じることが予備実験の結果から考えられた。そのため、本実験では各被験者の口腔内温度に設定した標準液により、口腔内で簡易防湿下において校正を行った。なお、口腔内に直接応用するため、防腐剤無添加の pH 標準液を使用した。また、口腔内 pH 測定を目的とした比較電極の設置方法は、指示電極にできるだけ近接させる

方法¹⁷⁾、塩橋を用いる方法¹⁸⁾、比較電極を投入した KCl 水溶液中に被験者の指を浸漬する方法¹⁹⁾、皮膚電極を設置する方法²⁰⁾などがある。

指示電極にできるだけ近接させる方法は微小領域における混濁効果の影響により測定値が安定せず、また、塩橋を用いる方法、比較電極を投入した KCl 水溶液中に被験者の指を浸漬する方法も、予備実験の結果、安定した測定値を得るのが困難であった。一方、銀-塩化銀系皮膚電極を使用する方法は、身体の動きなどで電解質が動いて電極電位が変化することによる雑音の発生が比較的少なく²¹⁾、予備実験の結果、比較的安定した測定値が得られた。そして、設置部位は前腕内側と前額部を比較し、比較的波形が良好であった後者とした。

2. 測定部位について

過去の唾液クリアランスに関する報告を参考に選択した。Lecomte ら²⁾、渡部ら³⁾および Watanabe⁴⁾は寒天中のカリウムが唾液中に拡散する率により口腔内各部位における唾液クリアランス率を求め、唾液クリアランス速度は下顎前歯舌側面が最も速く、上顎前歯唇側面が最も遅いことを報告している。鈴木ら²²⁾は上顎臼歯部頬側面において第二臼歯、第一大臼歯、第二大臼歯のうち、安静時、刺激時ともに上顎第一大臼歯が最も耳下腺唾液の影響を受けることを報告している。これらの報告から、大唾液腺唾液の影響を受けやすいと考えられる上顎第一大臼歯頬側面と下顎中切歯舌側面、そして、唾液の影響を受けにくい上顎中切歯唇側面を測定部位とした。

3. pH 測定結果について

1) 耳下腺唾液分泌速度と pH の関係について

Dawes ら⁶⁾は唾液分泌速度が増加すると唾液の pH も上昇することを報告している。本実験結果に示すように、耳下腺唾液の分泌速度が最高になった時点ではまだ pH が最高になっておらず、遅れて最大値を示した。耳下腺唾液分泌速度が安静状態となってもなお、UPB における pH は安静時よりも高い値を示していた。これは、口腔内に分泌された唾液が、歯面上に到達するまでの時間差によるものと考えられた。唾液分泌速度と pH の変化を口腔内で同時に測定した報告はほとんどみられず、本研究結果は唾液緩衝能の口腔内での影響を実際にとらえているものと考えられる。

2) pH の部位特異性について

唾液クリアランス率は、下顎よりも上顎が、舌側より頬側のクリアランスが劣っていることが報告されている²⁻⁴⁾。また、唾液はフィルム状となり、口腔内各部位をそれぞれ異なる速度で移動しており、この移動速度が速い部位ほどクリアランス能が高い部位であると述べて

いる。本実験結果は刺激後、LALi が最も pH 値が高く、次に UPB, UAB であった。これは先に述べた唾液クリアランス能の高い順と同様な結果となった。

Schmit-Nielsen²³⁾は耳下腺および顎舌下腺唾液の安静時の pH 値は前者が平均 5.45~6.06, 後者が平均 6.02~7.14 と報告しており、今回の結果で得られた UPB および LALi の pH は、それぞれの範囲内であり、これらの部位では唾液の影響を強く受けていると考えられた。UAB については刺激前後においてほとんど変化がみられず、唾液の影響による pH 値の上昇効果が得られない部位であることが考えられた。

刺激により唾液の分泌量が上昇すると、唾液の pH もそれに伴い上昇し、口腔内に酸性物質が入っても口腔内環境の恒常性が維持される。また、口腔内に分泌された唾液はフィルム状になって移動し、その間、歯面や歯垢に含まれる酸などの物質は唾液中に拡散し、やがてその唾液が嚥下されることで全体的な唾液クリアランスが行われている²⁴⁾。そして、この唾液フィルムの移動速度は口腔内各部位において異なるため²⁵⁾、口腔内各部位における pH の違いは、この唾液フィルムの移動速度や厚さに関係していると思われる。

結 論

唾液の口腔内各部位の pH に及ぼす影響を調べるために UPB, LALi, UAB における pH 値を経時的、かつ各部位同時に測定し、以下の結論を得た。

クエン酸による舌尖部刺激後、耳下腺唾液分泌速度の上昇とともに UPB における pH は徐々に上昇した。唾液分泌速度は刺激後、約 6.6 秒で上昇を開始し、13 秒後まで最も速い分泌速度を示した。pH はややそれに遅れて上昇を開始し、2 分 33 秒後に最大値を示した。一方、舌尖部刺激による口腔内 3 か所の pH 変化は UPB と LALi において暫時上昇し、最大 pH の平均値は UPB で 6.32 ± 0.38 , LALi で 7.17 ± 0.12 であった。しかし、UAB についてはほとんど変動が認められなかった。以上のことから、口腔内各部位の pH は唾液の影響を強く受けていることが示唆された。

稿を終えるにあたり、pH 測定法に関して御懇篤なる御指導を賜りました宮城県桃生郡鳴瀬町歯科診療所 五十嵐公英博士に深甚なる感謝の意を表します。

文 献

- 1) Newbrun, E.: Cariology, Williamse & Wilkins, Baltimore, 1978, pp. 22-35.

- 2) Lecomte, P. and Dawes, C.: The influence of salivary flow rate on diffusion of potassium chloride from artificial plaque at different sites in the mouth, *J. Dent. Res.*, 66: 1614-1618, 1987.
- 3) 渡部 茂, 前山善彦, 斉藤恵美, 五十嵐清治: 小児の唾液クリアランス能に関する研究 1. 人工プラークからの塩化カリウムの拡散について, *小児歯誌*, 25: 775-781, 1988.
- 4) Watanabe, S.: Salivary clearance from different regions of the mouth in children, *Caries Res.*, 26: 423-427, 1992.
- 5) Prinmose, R. E., Weatherell, J. A. and Strong, M.: Distribution and retention of salivary flow rate from a sodium fluoride tablet following various intra-oral dissolution methods, *J. Dent. Res.*, 65: 1001-1005, 1986.
- 6) Dawes, C. and Jenkins, G. N.: The effects of different stimuli on the composition of saliva in man, *J. Physiol.*, 170: 86-100, 1964.
- 7) Dawes, C.: Rhythms in salivary flow rate and composition, *Int. J. Chronobiol.*, 2: 253, 1974.
- 8) Esashi, M. and Matsuo, T.: Integrated micro multi ion sensor using field effect of semiconductor, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 25: 184-192, 1978.
- 9) Shannon, I. L.: A formula for human parotid fluid collected without exogenous stimulation, *J. Dent. Res.*, 46: 309, 1967.
- 10) Starr, H. E.: Studies of human mixed saliva II, *Biol. Chem.*, 54: 55-64, 1922.
- 11) Shannon, I. L.: Effect of rate of gland function on pH, viscosity, total solids, calcium and magnesium in unstimulated parotid fluid, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 130: 874-878, 1969.
- 12) Igarashi, K., Kamiyama, K. and Yamada, T.: Measurement of pH in human dental plaque in vivo with an ion-sensitive transistor electrode, *Archs. Oral Biol.*, 26: 203-207, 1981.
- 13) 日本工業規格 Z 8802, pH 測定法
- 14) 野村 聡: 見直そう pH 測定 (6) pH アラカルト, 蛋白質 核酸 酵素, 43: 1295-1302, 1998.
- 15) 山越憲一, 戸川達男: 生体用センサと計測装置, コロナ社, 東京, 2000, pp. 186.
- 16) 山越憲一, 戸川達男: 生体用センサと計測装置, コロナ社, 東京, 2000, pp. 168-170.
- 17) 畑 弘子: 迅速 pH テレメトリ法による歯垢の酸産生率の測定と歯垢における乳糖の代謝誘導, *小児歯誌*, 33: 763-773, 1995.
- 18) Lagerlöf, F. and Dawes, C.: The effect of swallowing frequency on oral sugar clearance and pH changes by streptococcus mitior in vivo after sucrose ingestion, *J. Dent. Res.*, 64: 1229-1232, 1985.
- 19) Scheie, A. A., Fejerskov, O., Lingström, P., Birkhed, D. and Manji, F.: Use of palladium touch microelectrodes under field conditions for in vivo assessment of dental plaque pH in children, *Caries Res.*, 24: 44-52, 1992.
- 20) Millward, A., Shaw, L., Harrington, E. and Smith, A. J.: Continuous monitoring of salivary flow rate and pH at the surface of dentition following consumption of acidic beverages, *Caries Res.*, 31: 44-49, 1997.
- 21) 山越憲一, 戸川達男: 生体用センサと計測装置, コロナ社, pp. 171-172, 2000.
- 22) 鈴木 昭: 耳下腺唾液の口腔内クリアランスに及ぼす影響—特に上顎臼歯部頬側面における唾液の流れについ

- て一, 小児歯誌, 39 : 190-197, 2001.
- 23) Schmidt-Nielsen B. : The pH in parotid and mandibular saliva, Acta. Physiol. Scand., 11 : 104, 1964.
- 24) Dawes, C. : Analysis of factors influencing diffusion from dental plaque into a moving film of saliva and the implications for caries, J. Dent. Res., 68 : 1483-1488, 1989.
- 25) Dawes, C., Watanabe, S., Lecomte, P. and Dibdin, G. H. : Estimation of the velocity of the salivary film at some different locations in the mouth, J. Dent. Res., 68 : 1479-1482, 1989.

Effect of Saliva on pH in Different Regions of the Mouth

Yoshitaka Suzuki and Shigeru Watanabe

*Department of Pediatric Dentistry, Meikai University School of Dentistry
(Director : Prof. Shigeru Watanabe)*

The aim of this study was to develop a method of continuous intra-oral pH monitoring of the tooth surfaces at different regions and to evaluate the influence of saliva on the pH at different regions of the mouth. Ion-sensitive field-effect transistor (ISFET) pH electrodes were used to record the pH changes. The electrodes were fixed using adhesive resin on the buccal surface of an upper first molar (UPB), the lingual surface of a lower incisor (LALi) and on the labial surface of an upper incisor (UAB). After the flow rates and pH were monitored in 'resting condition', the tip of tongue was stimulated by the filter paper disc soaked in 5% citric acid. Parotid saliva was collected from a single salivary gland with Lushley cannulae and the pH of the UPB at the other site was monitored simultaneously. To determine the influence of saliva on the pH at different regions of the mouth, the pH was monitored continuously at the UPB, LALi and UAB before and after the stimulation. The flow rates were increased after 6.6 seconds of the stimulation, and still showed maximum pH at 13 seconds. The maximum pH at the UPB region was recorded after 153 seconds later than the maximum flow rates. The mean highest pH of the UPB and LALi regions were 6.32 ± 0.38 and 7.17 ± 0.12 , respectively, while the pH at the UAB region did not show any change after the stimulation. In conclusion our results suggest that the pH at different regions in the mouth was strongly effected by the saliva.

Key words : pH, Site-specificity, Salivary clearance