

〔原著〕

インプラント用として開発したフィチン酸含有試作セメントが 口腔内細菌と歯周組織由来細胞へ与える影響の検討

笹本 洋平^{1),2)}, 宮川 博史³⁾, 植原 治⁴⁾, 廣瀬 由紀人²⁾, 遠藤 一彦⁵⁾, 越智 守生²⁾

- 1) 医療法人社団みやた会笹本歯科
- 2) 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野
- 3) 北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野
- 4) 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野
- 5) 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系生体材料工学分野

Antibacterial and cytotoxic effects of experimental dental cement containing phytic acid for dental implants

Yohei SASAMOTO^{1),2)}, Hiroshi MIYAKAWA³⁾, Osamu UEHARA⁴⁾, Yukito HIROSE²⁾, Kazuhiko ENDO⁵⁾,
Morio OCHI²⁾

- 1) Sasamoto Dental Clinic, Miyataikai, Medical Corporation
- 2) Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
- 3) Department of Microbiology, Division of Oral Biology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
- 4) Division of Disease Control and Molecular Epidemiology, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
- 5) Division of Biomaterials and Bioengineering, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Key words : Phytic acid, Dental cement, Dental implant, Antibacterial effect, Cytotoxic effect

Abstract

Cement- or screw-retained restorations are commonly used in dental implants. The cement-retained restoration has high satisfaction based on patient aesthetics ; however, the residual cement may cause peri-implantitis. Here, we report the ability of cement with phytic acid to inhibit peri-implantitis. The goal of this study was to compare the antibacterial and cytotoxic effects of experimental dental cement containing phytic acid with those of glass ionomer cement (GIC).

Experimental cement was composed of powdered GIC and a 50% phytic acid solution, and heat-treated. Control cement was composed of GIC (Fuji I). *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* were used due to their involvement in periodontal disease and peri-implantitis. Primary human gingival epithelial cells (HGEP) and human periodontal ligament cells (HPDL) were used as human periodontal tissue cells. To examine the antibacterial properties of the hardened cement pastes, the experimental cement and Fuji I were immersed in bacterial solution. The

solution was incubated anaerobically for 48 hours, and then the quantity of viable cells was measured. The same tests were conducted using the eluates of the hardened pastes. To examine cytotoxicity, the experimental cement and Fuji I were seeded for 1, 6, 12, 24, or 48 hours in a dedicated medium. Absorbance was measured using WST1 and was used to calculate cell viability.

The hardened experimental cement paste showed increased antibacterial effects against *P. gingivalis* and *F. nucleatum* compared to Fuji I . The experimental cement showed higher cytotoxicity than Fuji I against HGEP and HPDL from human periodontal tissue after approximately 6 hours. There were significant differences between the two groups after 48 hours.

The experimental cement showed higher antibacterial effects than Fuji I against *P. gingivalis* and *F. nucleatum*. The powder in the experimental cement was the same heat-treated fluoroaluminosilicate glass as in Fuji I ; only the liquid component was different. The liquid in the experi-

mental cement was a 50% phytic acid solution ; the liquid in Fuji I was an aqueous solution of polycarboxylic and tartaric acids. The different antibacterial effects of the two cements are believed to be due to the different liquid components. Some of the antimicrobial properties of the prototype cement are believed to be based on the strong chelating ac-

tivity of phytic acid. The high cytotoxic effect of the experimental cement is likely due to fluoride ion and phytic acid.

The experimental cement containing phytic acid exhibited higher antibacterial effects against *P. gingivalis* and *F. nucleatum* than Fuji I . There were no cytotoxic effects against HGEP and HPDL after 1 hour.

緒 言

近年の歯科補綴臨床において、欠損部に対する治療法の一つとして歯科用インプラントを用いる方法がある。インプラントは、隣在歯への影響を最小限に留め審美的にも非常に優れている治療法だが、さまざまな合併症などの問題も依然生じており、そのうちインプラント周囲組織への不具合が多く報告されている（恒吉ら、2011）。また、インプラント体と上部構造の固定様式の違いによりインプラント周囲炎の発現に差を生じるといった報告もある（大音ら、2002）。

インプラントの固定様式であるスクリュー固定式およびセメント固定式の双方にメリット・デメリットは存在するが、現在のインプラント治療において、術式や技工操作が比較的容易なセメント固定式が利用されることが多い（辰巳ら、2012）。しかし、セメント固定式の大きな問題としてセメントの残留による歯垢の形成や（石田、1984）、インプラント周囲炎への関与（畠山ら、1999 ; Wilson, 2009 ; Korsch et al., 2014a）が報告されている。また、インプラントは天然歯と異なり歯根膜が存在せず、神経や血管が存在しないため免疫力が低く、天然歯と比較して周囲炎を発症しやすいと考えられ、実際にビーグル犬を用いた研究結果からインプラントは抵抗力が弱いと推察される（Lindhe et al., 1992 ; 穂坂ら、1996）。そのため、インプラント周囲炎を抑制するセメントを臨床応用することが可能であれば、セメント固定式のデメリットを払拭することができると思われる。現在広く臨床応用されているガラスアイオノマーセメントは、粉末成分のフルオロアルミノシリケートガラスからのフッ化物イオン（F⁻）の徐放が広く知られているが液成分に抗菌性は期待できない。したがって液成分にも抗菌性を有するものを使用することでさらに高い抗菌性が得られる可能性が高い。そこで歯垢形成を抑制するとの報告があるフィチン酸（Nordbö & Rölla, 1972 ; Cole & Bowen, 1975）に着目した。館山ら（2013）は口腔インプラント上部構造の固定を目的として、フィチン酸を含有する試作セメントをすでに開発しており、臨床応用可能な物性を示したことを報告したが、細菌や細胞に及ぼ

す影響については明らかとなっていない。

本研究では、インプラント上部構造のセメント固定式での使用を想定し、開発したフィチン酸含有試作セメントの口腔内細菌への抗菌性と、歯周組織由来細胞に及ぼす影響について、最も汎用されているセメントの一つであるガラスアイオノマーセメントとの比較・検討を行った。

材料および方法

1. 使用セメントと硬化体の作製

フィチン酸含有試作セメント（試作セメント）の粉末には、市販の合着用ガラスアイオノマーセメント（ハイボンド グラスアイオノマーCX, 松風, 京都）の粉末であるフルオロアルミノシリケートガラスに熱処理（600℃, 2時間）を施したものを使用した。液には50%フィチン酸水溶液（和光純薬, 大阪）を用いた。対照群に、市販の合着用ガラスアイオノマーセメント（Fuji I, ジーシー, 東京）を使用した。試作セメントの粉液比は、館山ら（2013）の報告に従い、最も高い物性が得られた2.2g/1.0mlとした。Fuji Iの粉液比はメーカー指示の2.25g/1.0mlとした。

試作セメントあるいはFuji Iの練和泥は、粉と液の練和後3分以内に内径10mm、高さ2mmのゴム型に填入し、37℃、相対湿度100%の恒温器内で1時間硬化させた。その後、各セメント硬化体を型から取り出して2mlの蒸留水に浸漬し、37℃、相対湿度100%の恒温器内でさらに24時間硬化させて実験に使用した。

2. 使用した細菌と細胞

共試菌株は、慢性歯周炎やインプラント周囲炎への関与が知られている *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (*P. gingivalis*, American Type Culture Collection, USA) と *Fusobacterium nucleatum* JCM 8532 (*F. nucleatum*, 理化学研究所, 埼玉) の2菌種を使用した。これらの細菌は北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野より分与された。これらの細菌は、5 µg/mlヘミン（和光純薬）、1 µg/mlメナジオン（和光純薬）、0.5% yeast extract (BD, USA)、30 µg/ml tryptic soy broth (BD) を添加

したTYHM液体培地を使用して、37°Cで嫌氣的（窒素80%，水素10%，二酸化炭素10%）に培養した（Wright et al., 1997）。その後、菌数が 1.0×10^8 CFU/mlになるようTYHM液体培地を用いて調整し、抗菌性の実験を行った。

歯周組織由来細胞として、ヒト歯肉上皮前駆細胞（HGEP, CELLNTEC, Switzerland）とヒト正常歯根膜細胞（HPDL, LONZA, Switzerland）を使用した。HGEPは、専用培地であるCnT-Prime, Epithelial Culture Medium（PCTM, CELLNTEC）を用い、HPDLは10%牛胎児血清（GIBCO, Germany）および1%ペニシリンーストレプトマイシン（GIBCO）含有Dulbecco's Modified Eagle Medium（DMEM, SIGMA, USA）を用いて、37°C、5%CO₂の条件下で培養した。3～4代継代後、 4.0×10^5 cells/mlの細胞数に調整して細胞傷害性の実験を行った。

3. セメント硬化体による抗菌効果の検討

TYHM液体培地1.8mlに 1.0×10^9 CFU/mlの*P. gingivalis*および*F. nucleatum*をそれぞれ200μlずつ播種し、 1.0×10^8 CFU/mlになるよう調整した2種類の菌液2ml中に、試作セメントおよびFuji Iの硬化体をそれぞれ浸漬し、各菌液試料を試作セメント群およびFuji I群とした。対照群は、セメント硬化体を浸漬しない菌液2mlとした。これらを37°Cで48時間嫌氣的に培養した。セメント硬化体をボルテックスミキサーを用いて2500rpmで1分間振動させ、セメントに付着した菌を剥離し、培地中に生存する菌と剥離した菌をリン酸緩衝生理食塩水（PBS, SIGMA）を用いて10倍階段希釈を行い、Brain Heart Infusion（BHI, BD）血液寒天培地に播種した。7日間37°Cで嫌氣的に培養を行って、コロニー数を計測し、これを生菌数（CFU/ml）とした。

4. セメント硬化体を浸漬した液による抗菌効果の検討

試作セメントおよびFuji Iの硬化体を37°CのTYHM液体培地2mlにそれぞれ浸漬し、48時間後にセメント硬化体を取り除いた。このセメント硬化体からの溶出成分を含むTYHM液体培地2mlを用いて*P. gingivalis*および*F. Nucleatum*を 1.0×10^8 CFU/mlに調整し、各菌液試料を試作セメント群およびFuji I群とした。対照群は、TYHM液体培地を用いて調整した菌液2mlとした。37°Cで48時間嫌氣的に培養を行った後、培地中の菌をPBSを用いて10倍階段希釈を行い、BHI血液寒天培地に播種した。7日間37°Cで嫌氣的に培養を行って、コロニー数を計測し、これを生菌数（CFU/ml）とした。

5. 細胞傷害性の検討

試作セメントおよびFuji Iの硬化体をPCTMおよびDMEM 2mlにそれぞれ37°Cで48時間浸漬し、その後セメント硬化体を取り除いた。それぞれを試作セメント群およびFuji I群とし、対照群は、セメント硬化体を浸漬していないPCTMおよびDMEM 2mlとした。セメント硬化体からの溶出成分を含むPCTMと対照群のPCTMに、HGEPをPCTMを用いて 4.0×10^4 cells/wellに調整し、96穴型マイクロプレート（IWAKI, 東京）に100μlずつそれぞれ播種し、1, 6, 12, 24, 48時間培養した。また、試作セメントおよびFuji I硬化体からの溶出成分を含むDMEMと対照群のDMEMに、HPDLをHGEPと同様の条件で播種・培養した。培養後、細胞増殖試薬WST-1（タカラバイオ, 滋賀）を加えマイクロプレートリーダー（Infinite F200, Tecan, Switzerland）を用いて吸光度（OD₄₅₀）を測定した。対照群を基準とし、細胞生存率を算出した。また、位相差顕微鏡を用いて、1, 6, 12, 24, 48時間でのHGEPおよびHPDLの形態を観察した。

6. 統計分析

統計ソフトIBM SPSS Statistics 22（IBM, USA）を用いて統計分析を行った。Bonferroni法またはDunnnett（T3）の方法を用いて、5%の危険率をもって有意差ありとした。

結 果

1. セメント硬化体による抗菌効果の検討

図1にセメント硬化体を浸漬した菌液における生菌数を評価した結果を示す。試作セメント群の*P. gingivalis*の生菌数は平均 9.3×10^3 CFU/mlであり、対照群およびFuji I群と比較して、有意に減少していた。また試作セメント群の*F. nucleatum*の生菌数は平均 1.5×10^3 CFU/mlであり、*P. gingivalis*と同様に対照群およびFuji I群と比較して有意に減少していた。

2. セメント硬化体を浸漬した液による抗菌効果の検討

図2にセメント硬化体から溶出した成分を含む液における生菌数を評価した結果を示す。試作セメント群の*P. gingivalis*の生菌数は平均18CFU/mlであり、対照群およびFuji I群と比較して有意に減少していた。また試作セメント群の*F. nucleatum*の生菌数は平均8CFU/mlであり、*P. gingivalis*と同様に対照群およびFuji I群と比較して有意に減少していた。

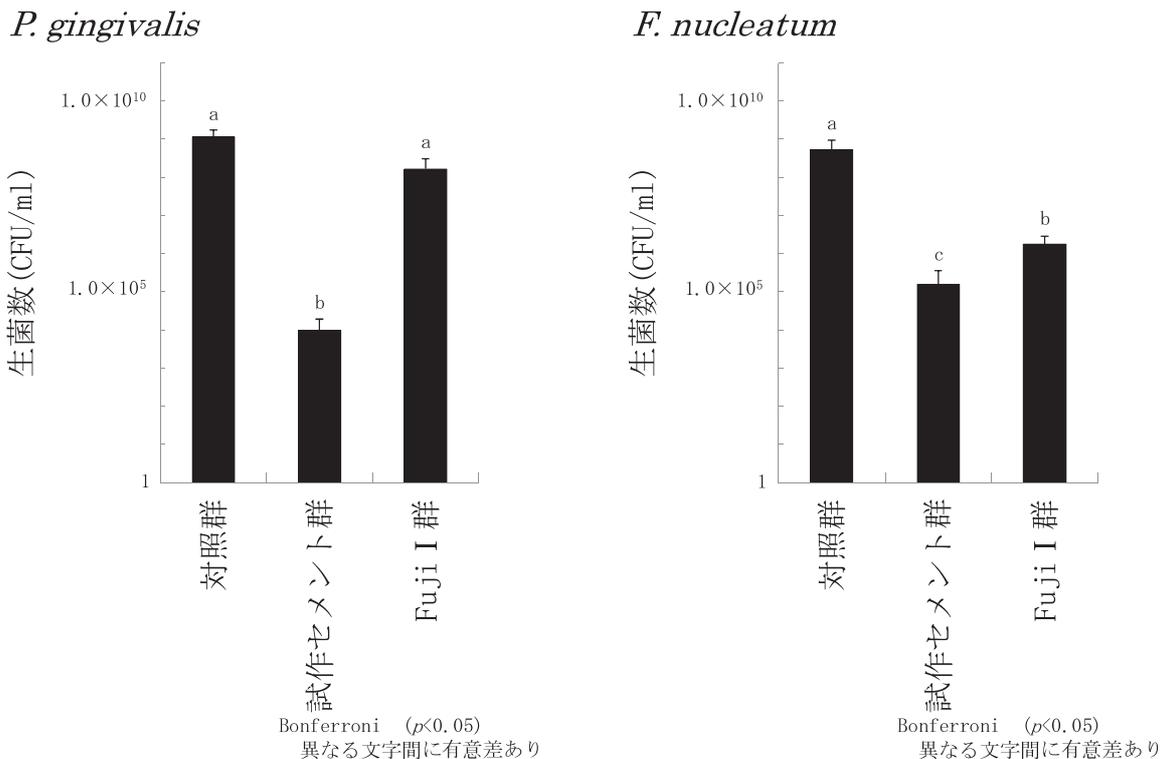


図1 セメント硬化体による抗菌効果
試作セメント群の生菌数は、2菌種ともに有意に減少した。(n = 9)

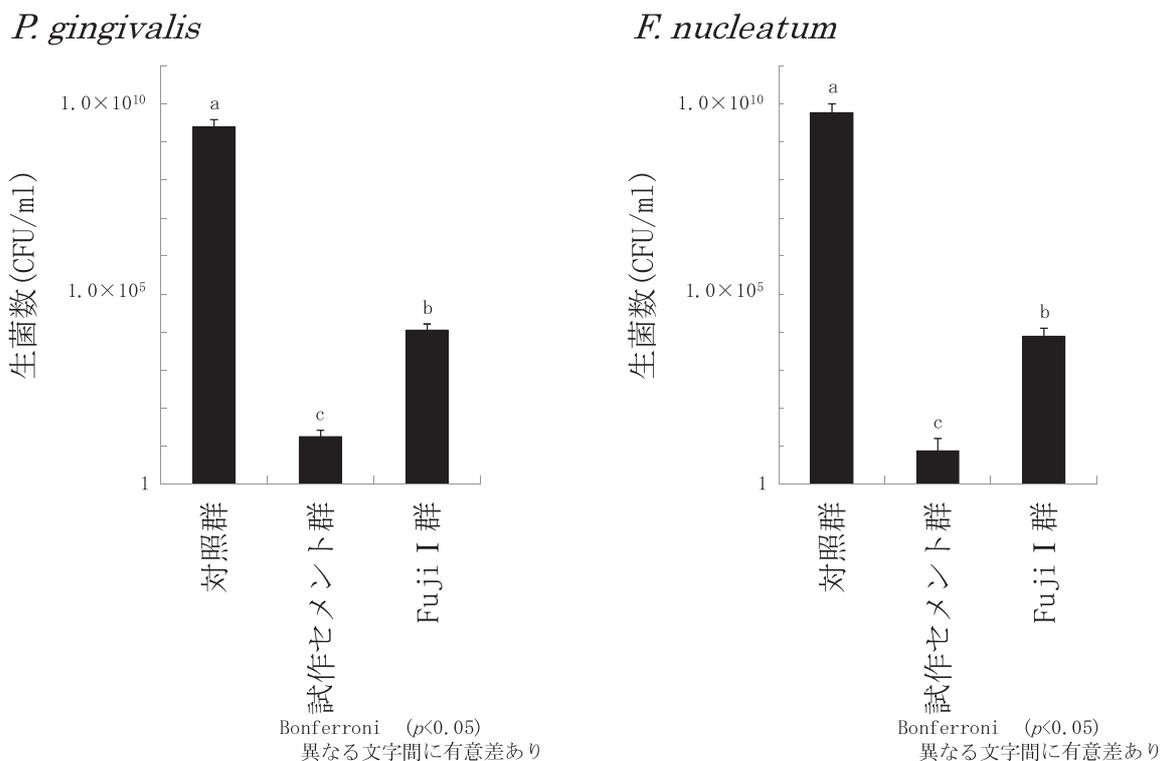


図2 セメント硬化体を浸漬した液による抗菌効果
試作セメント群の生菌数は、2菌種ともに有意に減少した。(n = 4)

3. 細胞傷害性の検討

図3にセメント硬化体を浸漬した培養液を用いてHGEPを培養して得られた細胞生存率の時間変化を示

す。試作セメント群の細胞生存率は、時間の経過とともに低下した。細胞生存率の値は、培養1時間で90%、6時間で48%、12時間で11%、24時間以降では1%以下に

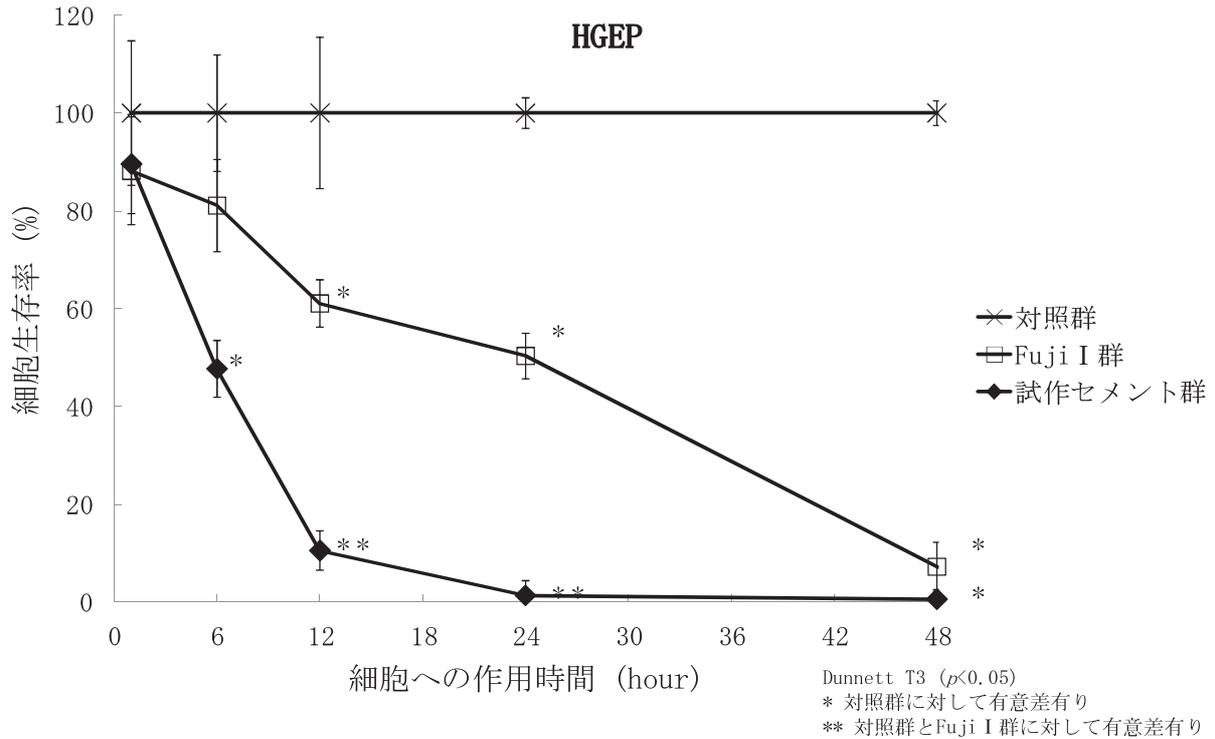


図3 セメント硬化体のHGEPにおける細胞傷害性
 試作セメント群は培養1時間で細胞生存率は高いが、時間の経過とともに細胞生存率は低下した。(n = 4)

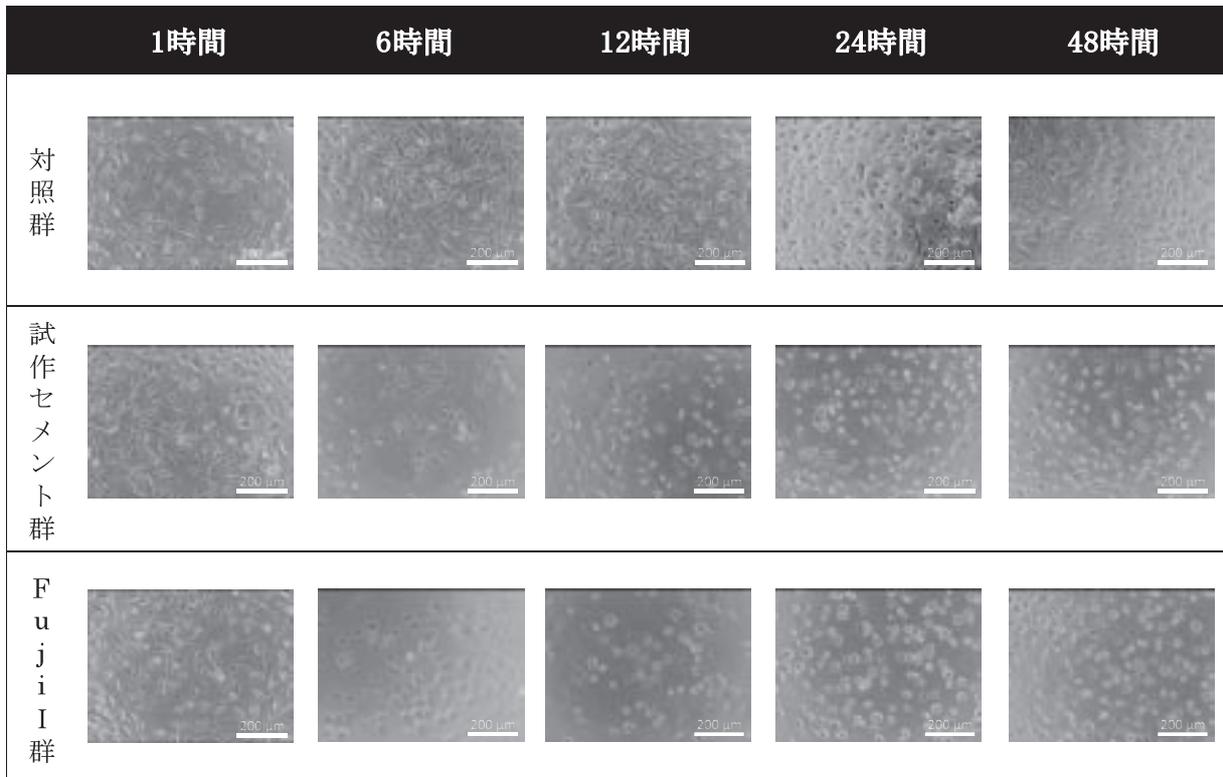


図4 セメント硬化体からの溶出成分によるHGEPの形態変化
 培養時間が1時間では試作セメント群の溶出液での結果に形態的特徴の変化は認めないが、12時間で類円形を呈する細胞が多くみられた。(n = 4)

なることがわかった。Fuji I 群の細胞生存率は、試作セメント群と同様に時間の経過とともに低下したが、試作セメント群と比較すると、その低下は緩やかであった。

しかし、培養48時間後の細胞生存率は、試作セメント群とFuji I 群で有意な差は認められなかった。

図4に位相差顕微鏡で観察したHGEPの形態を示す。

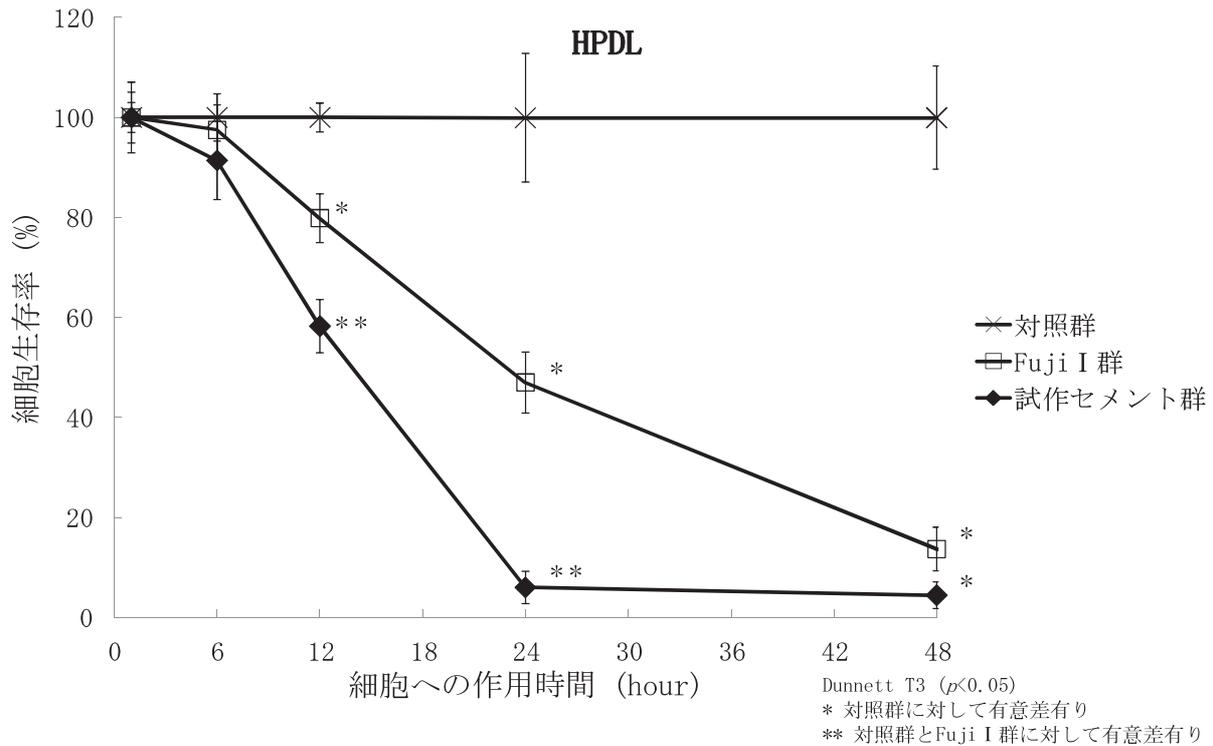


図5 セメント硬化体のHPDLにおける細胞傷害性
 試作セメント群は培養1時間で細胞生存率は高いが、時間の経過とともに細胞生存率は低下した。(n = 4)

培養1時間では、試作セメント群およびFuji I群における細胞の形態に、対照群と比較して顕著な違いは認められなかった。しかし、試作セメント群およびFuji I群において培養時間の経過とともに、細胞生存率の低下に伴い、対照群と異なる類円形を呈する細胞が多くみられるようになった。また、その傾向は試作セメント群においてより顕著であった。

図5にセメント硬化体を浸漬した培養液を用いてHPDLを培養して得られた細胞生存率の時間変化を示す。試作セメント群の細胞生存率は、時間の経過とともに低下した。細胞生存率の値は、培養1時間で100%、6時間で91%、12時間で58%、24時間以降では6%以下になることがわかった。Fuji I群の細胞生存率は、試作セメント群と同様に時間の経過とともに低下したが、試作セメント群と比較すると、その低下は緩やかであった。しかし、培養48時間後の細胞生存率は、試作セメント群とFuji I群で有意な差は認められなかった。

図6に位相差顕微鏡で観察したHPDLの形態を示す。HGEPと同様に培養1時間では、試作セメント群およびFuji I群における細胞の形態に、対照群と比較して顕著な違いは認められなかった。しかし、培養12時間以降では、試作セメント群およびFuji I群において細胞生存率の低下に伴い、対照群と異なる形態の萎縮を呈する細胞が多くみられるようになった。

考 察

1. セメントの残留によるインプラント周囲炎と抗菌性を有するセメント開発の臨床的有用性

歯科領域でのインプラント周囲炎の原因として、インプラントのスレッドの深さが嫌気性菌の増殖に関与していることが判明しており (Tamura et al., 2013), 今回使用した *P. gingivalis* や *F. nucleatum* も多く検出されている。それらの菌は、上部構造をセメント固定した際の歯肉縁下に残留したセメントや、スクリュー固定した際のスクリューの緩みによってより増殖速度が増大し、インプラント周囲炎発症のリスクを高くする (Djordje et al., 2013; Korsch et al., 2014b; 2015)。また、インプラント周囲炎のリスクはセメントの種類の変更 (Burbano et al., 2015; Cresti et al., 2015; Frisch et al., 2015)、残留セメントの除去 (Canullo et al., 2015) および上部構造の形態やマージン位置の調整 (Vindasiute et al., 2015) などによって減少するとの報告もある。さらに、インプラント周囲には歯根膜が存在しないため天然歯と比較して免疫力が弱く、インプラント周囲炎リスクは天然歯の周囲炎よりも高いと考えられている (Lindhe et al., 1992; 穂坂ら, 1996)。そのため、インプラント用セメントには天然歯の補綴装置合着用セメントよりも高い抗菌性を有することが望ましい。現在の臨床で使用されている従来型ガラスイオノマーセメントは、優れた抗菌性を有

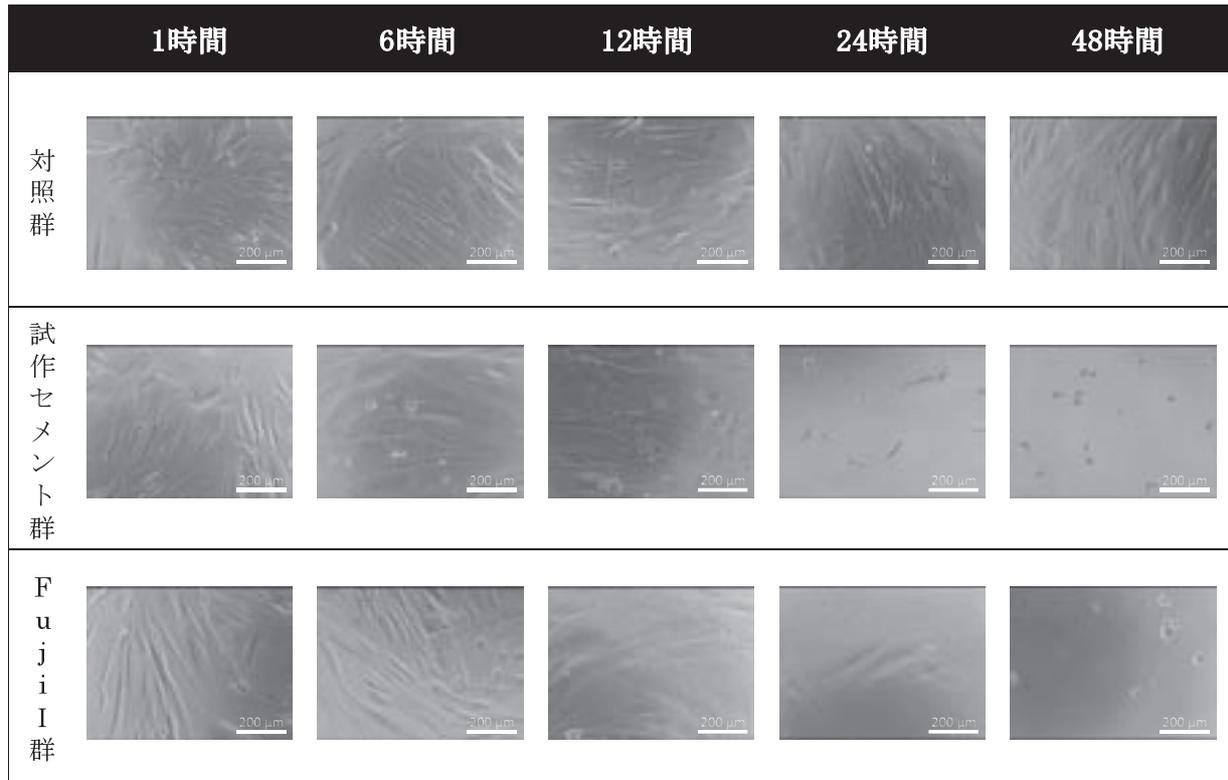


図6 セメント硬化体からの溶出成分によるHPDLの形態変化
培養時間が1時間では試作セメント群の溶出液での結果に形態的特徴の変化は認めないが、12時間で萎縮した細胞が多くみられた。(n = 4)

するセメントの一つであり、歯科領域で充填、合着および裏層などの用途に使用されており、歯科用インプラントの上部構造をセメントで固定する際にも使用されている (Castillo-Oyague et al., 2013)。また、従来型ガラスアイオノマーセメントの抗菌性は、粉末に用いられているフルオロアルミノシリケートガラスから徐放されるフッ化物イオン (F^-) によって発現することが明らかとなっている (山内ら, 1991)。

本研究では、粉末であるフルオロアルミノシリケートガラスから徐放される F^- に加えて、液にも抗菌性を有する成分を用いることで F^- との複合効果によって強い抗菌効果を発現するインプラント上部構造固定用セメントを開発することを目的としている。具体的には、従来型ガラスアイオノマーセメントの液であるポリカルボン酸水溶液の代わりにフィチン酸の水溶液を用いることを試みた。フィチン酸は歯垢の形成抑制や (Nordbö & Rölla, 1972; Cole & Bowen, 1975)、グラム陰性菌である大腸菌に対して相乗的殺菌効果を有するとの報告もあり (Kim & Rhee, 2015)、グラム陰性菌である *P. gingivalis* および *F. nucleatum* に対して抗菌性を示す可能性もある。すでに館山ら (2013) は、フルオロアルミノシリケートガラスとフィチン酸の反応性を調整し、従来型ガラスアイオノマーセメントと同等の操作性と物性を有す

るセメントの開発に成功している。この試作セメントの標準粉液比での圧縮強さは195MPaであり、従来型ガラスアイオノマーセメントの平均的な値よりも大きかった。また、従来型ガラスアイオノマーセメントの欠点の一つは高い崩壊性を有することであるが、試作セメントの崩壊率は0.3%と低く、高い化学的安定性を有するセメントであることが明らかとなっている。さらに、液にフィチン酸を含んでいることから、 F^- との複合効果によって従来型ガラスアイオノマーセメントよりも高い抗菌性を発現する可能性があり、良好な物性に加え抗菌性も有する臨床应用到有意義なセメントであることを示すことができると考えられる。

そこで本研究では、インプラント周囲炎の予防に有効な高い抗菌性を有するインプラント上部構造固定用セメントを開発するために、フィチン酸含有試作セメントの口腔内細菌に対する抗菌性と歯周組織由来細胞に及ぼす影響を調べた。

2. セメント硬化体の細菌および細胞に対する影響

試作セメント群は、*P. gingivalis* および *F. nucleatum* に対してFuji I群よりも高い抗菌性を示した。試作セメントの粉末はFuji Iの粉末の主成分と同じフルオロアルミノシリケートガラスに熱処理を施したものであり、大き

く異なっている点は液成分である。試作セメントの液は50%フィチン酸水溶液であり、Fuji Iの液はポリカルボン酸と酒石酸の水溶液である。この液成分の違いが、二つのセメント群間の抗菌性に差を生じた原因と考えられる。フィチン酸はEDTA以上のキレート作用を有しており（木村，1967），EDTAがグラム陰性菌の外膜に作用して抗菌性を示すといった報告から推測されるように（Stevens et al., 1991；松岡ら，2004），試作セメントの抗菌性の一部はフィチン酸の強いキレート作用により発現されたものと考えられる。試作セメント群が*F. nucleatum*よりも*P. gingivalis*に対して高い抗菌性を示した理由に関して定かではないため、今後検討が必要と思われる。

Fuji I群も抗菌性を示したが、これは川崎ら（1985）や栗根ら（1997）が報告しているように、ガラスアイオノマーセメントの特徴であるF⁻の徐放によるものと考えられる。

この仮説を立証するために、セメント硬化体と菌液を同時に添加した実験と、セメント硬化体を浸漬した液を用いた実験を行った結果、浸漬した液を用いた実験の方がより強い抗菌効果を示した。したがって、セメント硬化体が直接抗菌性に関わっているのではなく、溶出したF⁻が抗菌性に参与している可能性が高いことが判明した。

次に、細胞傷害性に関する実験を行った。インプラント体周囲には歯肉上皮細胞などが存在するが歯根膜細胞は存在しない。しかし、インプラント埋入時に口腔内に天然歯が残存している場合もあり、残存歯数は22.3本との報告もある（難波ら，2012）。そこで周囲に残存する天然歯への影響も調べる必要があると考え、HGEPのほかにHPDLも使用した。二つのセメントの細胞傷害性を調べたところ、試作セメント群およびFuji I群ともに細胞生存率は経時的に低下した。Kanjevacら（2012）は放出されるF⁻の量が多いほど細胞傷害性を示すと報告していることから、本実験でみられたFuji I群の細胞傷害性は徐放されたF⁻によるものと考えられる。試作セメント群はFuji I群よりも高い細胞傷害性を示した。これは、徐放されたF⁻の抗菌作用とフィチン酸のキレート作用によるものと思われる。経時的にみても試作セメント群はFuji I群よりも早く細胞生存率が低下しており、より高い傷害性を持つことを示している。今後、唾液の緩衝作用の影響などを加味して、より口腔内に近い環境下で細胞傷害性について検討を加える必要があると考えられる。

結 論

本研究では、口腔インプラント上部構造の固定用として開発を試みたガラスアイオノマーセメントの改良型であるフィチン酸含有試作セメントの、口腔内細菌でありインプラント周囲炎から検出される*P. gingivalis*および*F. nucleatum*に対する抗菌性を評価するとともに、歯周組織由来細胞HGEP、HPDLに対する傷害性を評価した。

1. フィチン酸含有試作セメントは、インプラント周囲炎から検出される*P. gingivalis*および*F. nucleatum*に対して、従来型ガラスアイオノマーセメントであるFuji Iよりも優れた抗菌性を示した。
2. フィチン酸含有試作セメント硬化体からの溶出成分は、歯周組織由来細胞であるHGEPおよびHPDLに対して1時間で細胞傷害性を示さなかったが、経時的にみて従来型ガラスアイオノマーセメントであるFuji Iよりも高い傷害性を示した。

以上の結果から、フィチン酸含有試作セメントはHGEPおよびHPDLに対して従来型ガラスアイオノマーセメントであるFuji Iよりも高い細胞傷害性を示すが、良好な物性に加え*P. gingivalis*および*F. nucleatum*に対して高い抗菌性も有するセメントであることが明らかとなった。

文 献

- 栗根佐穂里，川口由佳，鈴木淳司，岡田 貢，香西克之，長坂信夫. フッ化物配合小窩裂溝充填塞材の抗菌作用について. 小児歯誌 35 : 472-477, 1997.
- Burbano M, Wilson TG Jr, Valderrama P, Blansett J, Wadhvani CP, Choudhary PK, Rodriguez LC & Rodrigues DC. Characterization of Cement Particles Found in Peri-implantitis-Affected Human Biopsy Specimens. Int J Oral Maxillofac Implants 30 : 1168-1173, 2015.
- Canullo L, Cocchetto R, Marinotti F, Oltra DP, Diago MP & Loi I. Clinical evaluation of an improved cementation technique for implant-supported restorations : a randomized controlled trial. Clin Oral Implants Res 0 : 1-8, 2015.
- Castillo-Oyagüe R, Lynch CD, Turrión AS, López-Lozano JF, Torres-Lagares D & Suárez-García MJ. Misfit and microleakage of implant-supported crown copings obtained by laser sintering and casting techniques, luted with glass-ionomer, resin cements and acrylic/urethane-based agents. J Dent 41 : 90-96, 2013.

- Cole MF & Bowen WH. Effect of sodium phytate on the chemical and microbial composition of dental plaque in the monkey (*Macaca fascicularis*). *J Dent Res* 54 : 449-457, 1975.
- Cresti S, Itri A, Rebaudi A, Diaspro A & Salerno M. Microstructure of titanium-cement-lithium disilicate interface in CAD-CAM dental implant crowns : a three-dimensional profilometric analysis. *Clin Implant Dent Relat Res* 17 : e 97-e106, 2015.
- Djordje A, Denis B, Nenadovic M, Petar M, Marija D & Zlatko R. An in vitro atomic force microscopic study of commercially available dental luting materials. *Microsc Res Tech* 76 : 924-930, 2013.
- Frisch E, Ratka-Krüger P, Weigl P & Woelber J. Minimizing Excess Cement in Implant-Supported Fixed Restorations Using an Extraoral Replica Technique : A Prospective 1-Year Study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 30 : 1355-1361, 2015.
- 畠山憲子, 笠原 紳, 安藤正明, 木村幸平. 接着性レジンセメントの諸性質 (第一報) 機械的強度について. *東北歯誌* 18 : 166-174, 1999.
- 穂坂康朗, 関口一実, 齋藤 淳, 木暮隆司, 中川種昭, 山田 了. プラークのイヌインプラント周囲組織に及ぼす影響について—臨床・細菌学的検索—. *日歯周誌* 38 : 339-345, 1996.
- 石田五十雄. 金属冠辺縁の形状と歯石に関する分析電顕的研究. *昭和歯会誌* 4 : 9-27, 1984.
- Kanjevac T, Milovanovic M, Volarevic V, Lukic ML, Arsenijevic N, Markovic D, Zdravkovic N, Tesic Z & Lukic A. Cytotoxic effects of glass ionomer cements on human dental pulp stem cells correlate with fluoride release. *Med Chem* 8 : 40-45, 2012.
- 川崎傳男, 飯田正人. 化学的プラークコントロールに関する研究 第2報 フッ化ナトリウムおよびグルーロヘキシジンの嫌気性菌に対する発育抑制効果ならびに併用効果について. *日歯周病会誌* 27 : 824-830, 1985.
- Kim NH & Rhee MS. Phytic Acid and Sodium Chloride Show Marked Synergistic Bactericidal Effects Against Non-adapted and Acid-adapted *Escherichia coli* O157 : H 7. *Appl Environ Microbiol* 4 : 03307-03315, 2015.
- 木村午朗. フィチン酸について. *有機化学協会誌* 25 : 167-179, 1967.
- Korsch M, Obst U & Walther W. Cement-associated peri-implantitis : a retrospective clinical observational study of fixed implant-supported restorations using a methacrylate cement. *Clin Oral Implants Res* 25 : 797-802, 2014a.
- Korsch M, Walther W, Marten SM & Obst U. Microbial analysis of biofilms on cement surfaces : An investigation in cement-associated peri-implantitis. *J Appl Biomater Funct Mater* 12 : 70-80, 2014b.
- Korsch M, Robra BP & Walther W. Predictors of excess cement and tissue response to fixed implant-supported dentures after cementation. *Clin Implant Dent Relat Res* 1 : e45-e53, 2015.
- Lindhe J, Berglundh T, Ericsson I, Liljenberg B, Marinello C. Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog. *Clin Oral Implants Res* 3 : 9-16, 1992.
- 松岡隆史, 中西 睦, 相場勇志, 古賀泰裕. *Lactobacillus salivarius* TI2711による *Porphyromonas gingivalis* 殺菌の作用機序の解明. *日歯周病会誌* 46 : 118-126, 2004.
- 難波智美, 林丈一朗, 石井麻紀子, 戸梶仁聡, 寺西麻里奈, 遠藤 学, 小川洋一, 児島 暁, 大塚秀春, 申基喆. 歯周炎患者に対するインプラント治療の治療成績に関する後ろ向き研究—骨造成の有無と術式が予後に及ぼす影響について—. *日歯周病会誌* 54 : 18-30, 2012.
- Nordbö H & Rölla G. Desorption of salivary proteins from hydroxyapatite by phytic acid and glycerophosphate and the plaque-inhibiting effect of the two compounds in vivo. *J Dent Res* 51 : 800-811, 1972.
- 大音孝一, 元村洋一, 毛内伸威, 松田 哲, 荒木久生. インプラント上部構造が周囲組織に及ぼす影響—インプラント周囲炎と上部構造の固定方法との関係—. *日口腔インプラント会誌* 15 : 17-23, 2002.
- Stevens KA, Sheldon BW, Klapes NA & Klaenhammer TR. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-negative bacteria. *Appl Environ Microbiol* 57 : 3613-3615, 1991.
- Tamura N, Ochi M, Miyakawa H & Nakazawa F. Analysis of bacterial flora associated with peri-implantitis using obligate anaerobic culture technique and 16S rDNA gene sequence. *Int J Oral Maxillofac Implants* 28 : 1521-1529, 2013.
- 館山元一, 柳 智哉, 廣瀬由紀人, 遠藤一彦, 越智守生. フィチン酸含有合着・仮着用セメントの開発. *日歯産会誌* 27 : 9-21, 2013.
- 辰巳順一, 申 基喆, 児玉利朗, 日下部善胤, 太田幹

夫, 佐藤秀一, 石原裕一, 久保田健彦, 佐瀬聡良, 長谷川嘉昭, 喇瀬哲之, 小方頼昌, 伊藤公一, 吉江弘正. 日本歯周病学会会員のインプラント治療に関するアンケート調査報告. 日歯周病会誌 54 : 265 - 276, 2012.

恒吉隆奥, 佐々木匡理, 松下恭之, 杉 友貴, 関, 勝宏. インプラント治療による問題症例の臨床的検討. 日口腔インプラント会誌 24 : 396-404, 2011.

Vindasiute E, Puisys A, Maslova N, Linkeviciene L, Peculiene V & Linkevicius T. Clinical Factors Influencing Removal of the Cement Excess in Implant-Supported Restorations. Clin Implant Dent Relat Res 17 : 771-778, 2015.

Wilson TG Jr. The positive relationship between excess cement and peri-implant disease : a prospective clinical endoscopic study. J Periodontol 80 : 1388-1392, 2009.

Wright TL, Ellen RP, Lacroix JM, Sinnadurai S & Mittelman MW. Effects of metronidazole on *Porphyromonas gingivalis* biofilms. J Periodont Res 32 : 473-477, 1997.

山内六男, 山本宏治, 甲斐敬幸. 接着性レジンセメントの口腔内細菌に対する抗菌性について. 接着歯学 9 : 266 - 270, 1991.



笹本 洋平

医療法人社団みやた会 笹本歯科 院長

平成16年3月 北海道札幌南高等学校 卒業

平成23年3月 北海道医療大学歯学部 卒業

平成28年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程 修了

平成28年4月 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野 任期制助手

平成28年6月 医療法人社団みやた会 笹本歯科 院長