

新規シーラント用セメントの
化学的および生物学的特性について

平成27年度

北海道医療大学大学院歯学研究科

近藤 有紀

要旨

【緒言】小児歯科臨床において、フィッシャーシーラントは高頻度に行われる処置の一つである。現在、シーラント材はガラスアイオノマーセメント系（GIC系）とレジン系が用いられている。GIC系シーラント材はレジン系と比較し、機械的強度と操作性に劣っているものの、歯質接着性、歯質耐酸性および抗齶蝕性を有している。そこで本研究は、既存のGIC系シーラント材の特長をさらに増強させた新規シーラント用セメントを作製し、化学的および生物学的特性についての検証を行った。

【材料】材料としては、既存のGIC系シーラント材の粉末であるフルオロアルミノシリケートガラスのカルシウム、フッ素、リンの配合量を調整し、新規シーラント用セメントを4種作製した。

【方法】機械的性質として圧縮強さを測定した。また、各種イオン徐放量の測定を行った。抗菌作用は *Streptococcus mutans* を用いて生菌数の測定を行い、バイオフィーム形成抑制は共焦点レーザー顕微鏡に基づき評価した。また、細胞増殖活性は、ヒト歯肉上皮細胞について細胞増殖測定試薬を用いて測定した。

【結果】新規材料は既存のGIC系シーラント材と比較し1, 7日では圧縮強さに有意差を認めなかった。また、既存のGIC系シーラント材およびビューティシーラント（BS）と比較し、フッ化物イオンの徐放量が有意に高い値であり、さらには優れたバイオフィーム形成抑制能を有していた。新規材料は既存のGIC系およびレジン系と比べ細胞増殖活性において有意差はなかった。5.4, 8.9, および10.7 mol%のカルシウムを配合した新規材料は、既存のGIC系およびレジン系と比較しカルシウムイオン、リン酸イオンの徐放量が有意に大きい値となった。新規材料を含めたGIC系シーラント材およびBSはフッ素のリチャージ能を有することが明らかとなった。なお、テースメイト（TM）はフッ化物イオン徐放量が最も多かったが、フッ素のリチャージ能はなかった。

【結論】新規シーラント用セメントにおいて、市販製品と同等の機械的強度、抗菌作用およびバイオフィーム形成抑制能をもち、酸性下でのカルシウムイオン徐放量が多い5.4 mol%, 8.9 mol%, 10.7 mol%カルシウム配合の新規シーラント用セメントが優れた材料であることが示唆された。

目次

I. 緒言	1
II. 材料および方法	3
1. 材料	3
2. X線光電子分光分析	3
3. 圧縮強さの測定	3
4. イオン徐放量の測定	4
1) カルシウムイオン徐放量の測定	4
2) リン酸イオン徐放量の測定	5
3) フッ化物イオン徐放量の測定	5
5. チャージング前後のフッ化物イオン徐放量の測定	5
6. 抗菌作用の測定	6
7. 実験的バイオフィルム形成抑制能の測定	6
8. 細胞増殖活性の測定	6
9. 統計処理	7
III. 結果	8
1. X線光電子分光分析	8
2. 圧縮強さの測定	8
3. イオン徐放量の測定	8
1) カルシウムイオン徐放量の測定	8
2) リン酸イオン徐放量の測定	9
3) フッ化物イオン徐放量の測定	9
4. チャージング前後のフッ化物イオン徐放量の測定	10
5. 抗菌作用の測定	10
6. 実験的バイオフィルム形成抑制能の測定	10
7. 細胞増殖活性の測定	11
IV. 考察	12
1. 機械的性質	12
2. 化学的性質	13
3. 抗菌作用および実験的バイオフィルム形成抑制能の判定	16
4. 細胞増殖活性の測定	17
V. 結論	19
文献	20
表・付図	

I 緒言

小児歯科臨床において、フィッシャーシーラント（小窩裂溝填塞法）は齲蝕予防に効果的であり、高頻度に行われる処置の一つである（Hyatt, 1922; Bodecker, 1929; 1964; Buonocore, 1955; Cueto & Buonocore, 1967）。小窩裂溝は、その複雑な形態から自浄作用やブラッシングによる清掃が及びにくいいため齲蝕に罹患しやすく、裂溝を有する臼歯が萌出してくると、ただちに裂溝内に細菌が侵入することが明らかにされている（宮野ら, 1947; Löe et al., 1973; 祖父江ら, 1974; 岩倉ら, 1979; 下岡, 1996）。幼若永久歯の裂溝部エナメル質は石灰化が未成熟であり、中原ら（1998）は、小窩裂溝部での齲蝕の発生頻度は上下顎歯列全ての歯種において8割を超えると報告しており、フィッシャーシーラントは予防処置に不可欠な方法となっている（Carvalho et al., 1989）。小窩裂溝齲蝕の予防方法として、フィッシャーシーラントの他にフッ化物応用法が用いられるが、小窩裂溝部にはフッ化物が作用しにくいいため、フィッシャーシーラントが最も効果的である（Thylstrup & Fejerskov, 1986; Li et al., 1993; Levy, 2012）。近年、小児保護者の口腔への関心度が向上しているため、フィッシャーシーラントは今後も多用されていく処置であることが予測される（高橋ら, 2010）。

現在、シーラント材として、グラスアイオノマーセメント（GIC）系とレジン系が用いられている。歯科臨床の場合においては、機械的強度や操作性の良さからレジン系が多用されているが（Mejare & Mjor, 1990; Forss et al., 1994; Pereira et al., 1999; Poulsen et al., 2001; Subramaniam, 2008）、防湿の状態により予後が左右されることや、強酸による歯面処理を必要とし、これにより不必要に歯面を脱灰させてしまうなどの問題点が指摘されている（小方&荻部, 2009; 島津, 2013）。近年、レジン系において、バイオアクティブ機能をもつレジン系のシーラント材が開発され、広く臨床に用いられるようになってきた（中塚ら, 2007）。ビューティシーラント®（株式会社松風, 京都）は表面改質型酸反応性機能ガラス（S-PRG）フィラーと呼ばれる技術により、フッ化物イオンのみならず、ホウ酸イオン、ストロンチウムイオン、ケイ酸イオンなど様々なイオンを徐放することで、フッ化物イオンのリチャージ能、抗菌作用および緩衝作用などを兼ね備え、これまでになかったバイオアクティブ機能をもつレ

ジンとして使用されている (Fujimoto et al., 2010; Shimazu et al., 2011; Kaga et al., 2013). しかし, 椎谷ら (2004) はフッ素徐放性低粘度コンポジットレジンでは象牙質の脱灰を抑制させる作用は有しているものの, 溶出されるフッ素濃度は従来の GIC には及ばず, より高いフッ素徐放性をもつ材料の開発が重要であると述べている. 一方で GIC 系は歯質接着性や高い生体親和性を持ち, フッ化物イオン徐放による抗菌作用ならびに抗齲蝕作用などのバイオアクティブ機能を兼ね備えており (Wilson et al., 1983; Geiger & Weiner, 1993; Dionysopoulos et al., 1994; Tam et al., 1997), これは, GIC が有するユニークな機能的特長となっている. しかしながら現在は, その操作性がレジン系のシーラント材には及ばず, 使用する機会が減少してきている. 一方, レジン系シーラント材は防湿の必要性から半萌出の幼弱永久歯には応用できないため, GIC 系シーラント材は今後も必要不可欠の材料である. 従来の GIC 系シーラント材は, 上述のように抗菌作用や抗齲蝕作用を持ち, 齲蝕予防効果はあるものの, 初期齲蝕に対する再石灰化効果の報告はない. GIC はフッ化物イオンの他にカルシウムイオンやリン酸イオンを徐放することで, 歯質強化や再石灰化効果を期待できるため, シーラント材だけでなく根面齲蝕の修復や予防などに広く応用可能であり, 今後 GIC がもつバイオアクティブ機能の更なる改良が期待される (Wilson et al., 1988; Zaluzniak et al., 2013).

そこで本研究では, GIC 系の特長をさらに強化すべく, より優れた歯質強化および抗菌作用を期待し, カルシウムイオンおよびリン酸イオンの徐放, さらには, より多くのフッ化物イオンを徐放する新規シーラント用試作セメントを作製し, その化学的および生物学的特性についての検証することを目的とした.

II 材料と方法

1. 材料

新規試作材料として、市販 GIC 系シーラント材のフジVII® (フジVII, ジーシー, 東京) の粉末であるフルオロアルミノシリケートガラスを, リンおよびフッ素の配合量が多くなるように調整し, さらにカルシウムおよびストロンチウムの配合量を変化させた 4 種類の試作セメントを作製した. カルシウムが 0 mol%, ストロンチウムが 10.6 mol% のものを 0YG, カルシウムが 5.4 mol%, ストロンチウムが 5.3 mol% のものを 5.4YG, カルシウムが 8.9 mol%, ストロンチウムが 1.6 mol% のものを 8.9YG, そしてカルシウムが 10.7 mol%, ストロンチウムが 0 mol% のものを 10.7YG とした. また, コントロールとして, GIC 系には市販の従来型 GIC 系シーラント材であるフジVIIとフジIII® (フジIII, ジーシー, 東京) を, レジン系にはティースメイト F-1 2.0® (TM, クラレノリタケデンタル, 東京) と, ビューティシーラント® (BS, 松風, 京都) を使用した. なお, フジVII, フジIIIにはカルシウムが配合されておらず, 代わりにストロンチウムが配合されている. それぞれのストロンチウムの実測値は, 後述する XPS 分析結果よりフジVIIが 12.9 mol%, フジIIIが 10.9 mol% と推定される (表 2). また, 配合量を多くなるように設定をしたリンとフッ素は, フジVII, フジIIIと比較し新規材料は, リンが約 1.7 倍, フッ素が約 1.1 倍増量していると XPS 分析から推定される. コントロールに用いたフジVIIとフジIIIは, フジIIIがシーラントのみに使用するセメントであるのに対し, フジVIIはシーラント材だけでなく, 充填材, 裏層材, 知覚過敏抑制剤などと用途に違いがある. 用いた市販製品の成分, Lot 番号, 標準粉液比を示す (表 1).

2. X 線光電子分光分析 (X-ray Photoelectron Spectroscopy: XPS)

材料は X 線光電子分光分析装置 (ESCA-850, 島津, 京都) を用いて定性分析ならびに定量分析を行った. 測定は, 励起 X 線源として AlK α (1,253.6 eV) を用いて, 加速電圧 7 kV, 真空度 1.0×10^{-6} Pa の条件下でナローキャンにて行った.

3. 圧縮強さの測定

圧縮強さは 0YG, 5.4YG, 8.9YG, 10.7YG と、コントロールのフジⅦ, フジⅢ, TM および BS に対し、日本工業規格 JIS T6607 に従って測定した。

試料は、直径 6 mm×高さ 12 mm の真鍮製円柱型モールドに練和物を填入し、スライドガラスを介して加圧器で固定し、圧接加圧により余剰な練和物を除いて作製した。なお、試作材料の練和にはフジⅦの液を使用し、粉液比は 1.3/1.0 とした。試料は、練和開始より 2 分 30 秒経過後、加圧器で固定したまま温度 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 95～100%の恒温器中に移動し、練和開始時より 60 分間経過させた。その後試料をモールドから取り出し、 37°C の蒸留水中に 1 日、1 週間、5 週間浸漬させ、材料試験機 (AG-IS20kN, 島津) を用い、ロードセル容量 20kN, クロスヘッドスピード 1.0 mm/min とし、試料の長軸方向に圧縮荷重を加えて試験を行った。なお、試験片が破断 (検出の感度 50% / FS / 秒, レベル 5% / FS) するまでの最大荷重を記録し、圧縮強さを算出した (n=6)。なお、GIC 系の圧縮強さとレジン系の圧縮強さは、1 日のみを比較した。

4. イオン徐放量の測定

試料は、直径 20 mm×高さ 2 mm の円形シリコン包埋板 (堂阪イーエム, 京都) に練和セメントを填入し、スライドガラスを介して加圧器で固定して圧接加圧を行い、ディスクを作製した。試料は、練和開始より 2 分 30 秒で、加圧器で固定したまま温度 $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 95～100%の恒温期中に移動した。60 分経過後、試料を包埋板から取り出し、24 時間室温にて保管した試料を、15 ml の超純水に浸漬した。なお、実験に用いる超純水は、1 mol/l の水酸化ナトリウム溶液 (関東化学, 東京) を用いて超純水 (和光純薬, 大阪) を pH5.9 に調製した。同様に、乳酸 (和光純薬), クエン酸 (和光純薬) を 1 mol/l の水酸化ナトリウム溶液 (関東化学) を用いて、乳酸が 50mM, pH5.0, クエン酸が 50mM, pH5.0 となるように調製し、超純水と同様に試料を浸漬させた。浸漬は、震盪せず室温にて 1 週間行った。この溶出液を用い各種イオンの徐放量の測定を行った。

1) カルシウムイオン徐放量の測定

作製した超純水、乳酸、クエン酸による溶出液を0.45 μm の硝酸セルロースおよび酢酸セルロースの混合エステルからなるメンブレンフィルター (Merck Millipore, Billerica, MA, USA) にて濾過した後、溶出液を3 ml, 0.1% mol/l塩酸, 0.25%酸化ランタン3 mlへ溶解させ、溶出液中のカルシウムイオンの徐放量を原子吸光分析装置 (AAAnalyst 5100, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA) を用いて測定した (n=6).

2) リン酸イオン徐放量の測定

作製した超純水、乳酸、クエン酸による溶出液を 0.45 μm のメンブレンフィルターにて濾過した後、ホスファ C-テストワコー無機リンキット (和光純薬, 大阪) を用いてリン酸イオン徐放量の測定を行った.なお、測定には吸光分光プレートリーダー (Spectramax 340 PC, MoLecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) を使用し、発色試薬での呈色による 750 nm の吸光度を測定した (n=6).

3) フッ化物イオン徐放量の測定

作製した乳酸水溶液による溶出液をカルシウムイオン徐放量の測定と同様に濾過した後、その溶出液 10 ml に対し全イオン強度調製剤として TISABIII (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を 1 ml 加えて攪拌した後、フッ化物イオンの徐放量をイオンメーター (フッ化物イオン用 TiN-510, 東興化学, 東京) を用いて測定した (n=6).

5. チャージング前後のフッ化物イオン徐放量の測定

試料はイオン徐放量の測定と同様の方法で直径 20 mm×高さ 2 mm のディスクを作製した. 練和開始より 2 分 30 秒経過後、加圧器で固定したまま温度 $37\pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 95~100%の恒温期中に移動し、練和開始時より計測して 60 分間経過させた. その後試料を包埋板から取り出し、練和開始時より 24 時間まで室温にて保管した. 作製した試料を乳酸 (pH5.0) 水溶液 10 ml へ浸漬し、同一試料について浸漬開始より 1, 3, 6, 12, 24 時間および 168 時間経過後に、フッ化物イオン徐放量の測定を行った. なお、測定を行う毎に、新たな乳酸水溶液へ交換した. 168 時間経過後に試料を取り出し、超純水で洗浄後、15 分間蒸留水中に静置し、表面の水分を拭き取り 9000 ppmF のリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液 (APF) 5 ml に 5 分間浸漬した. その後超

純水で洗浄し、15 分間蒸留水中に静置した後、新たな乳酸水溶液中へ試料を浸漬し、チャージング前の測定と同様の方法でフッ化物イオン徐放量を測定した (n=6)。

6. 抗菌作用の測定

Streptococcus mutans JCM 5705 株 (*S. mutans*, 理研, つくば) は, TY 培地 (30 g/l, Tryptic soy broth-5 g/l Yeast extract, いずれも BD Diagnostic Systems, Holzheim, Germany) にて培養した。濃度調整した *S. mutans* を TY 培地に播種後、イオン徐放量測定用と同様の方法で作製したディスク状試料を TY 培地に直接浸漬させ、37°C の嫌気条件で 24 時間培養した。試料を浸漬した菌体培養液上清を, TY 平板培地に播種し 24 時間培養後, 形成コロニー数を数えて生菌数 (単位: Colony Forming Unit, CFU) を求めた (n=6)。なお, コントロール群とともに, それぞれの試料の抗菌作用はフッ化物イオンを徐放しないガラス (フッ素を含まないホウケイ酸ガラスを直径 20 mm×高さ 2 mm の円板状に加工した) と比較した。

7. 実験的バイオフィルム形成抑制能の判定

S. mutans を用い, 実験的バイオフィルム形成抑制能について検討した。*S. mutans* を濃度調整した後, 菌液を 0.5% スクロース添加培地の 60 mm ガラスディッシュ (Corning, Corning, NY, USA) に播種した。その後, イオン徐放量測定用と同様の方法で作製した試料を静置したセルストレーナー (Corning) を浸漬し, 37°C の嫌気条件で培養した。24 時間培養後, セルストレーナーと試料を取り出しバイオフィルムを Calcein-AM (Promo Kine, Heidelberg, Germany) にて染色した後, 共焦点レーザー顕微鏡 (TE2000-E, NIKON, 東京) にて観察した。画像処理ソフト Image J (Image J, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) を用い, バイオフィルムの顕微鏡画像の二値化による領域抽出を行い, コロニー面積の定量化を行った (n=6)。なお, コントロール群とともに, それぞれの試料のバイオフィルム形成抑制能について, フッ化物イオンを徐放しないガラスのバイオフィルム形成抑制能と比較した。

8. 細胞増殖活性の測定

細胞活性の評価には、細胞増殖測定試薬WST-1 (Roche Applied Science, Penzberg, Germany) を用いた。ヒト歯肉上皮細胞 (HGEP, CELLnTEC Advanced Cell Systems, Bern, Switzerland) を、CnT-Prime, Epithelial Medium (CELLnTEC Advanced Cell Systems) にて37°C, 5% CO₂の条件下で培養した。継代培養には、Trypsin-EDTA (0.05% Trypsin, 0.53 mM EDTA, GIBCO, Thermo Fisher Science) を用い、継代数3~4代継代後実験に使用した。HGEPを平底96ウェルプレート (Asashi glass, 東京) に4.0×10⁴ cells/wellの細胞数で播種し、24時間培養した。その後、PBSにて3回洗浄し、試料のセメントディスク1枚を細胞培養液2 mlに24時間浸漬し得られた溶液を100 µl添加し培養した。24時間後、WST-1を加え、37°Cで1時間培養した。培養後、マイクロプレートリーダー (model 680, BIO-RAD, Hercules, CA, USA) により、WST-1での呈色による450 nmの吸光度を測定した。

9. 統計処理

結果の比較には、一元配置分散分析法を用い、Tukey's test により危険率を 5%未満として統計学的有意差を検討した。

Ⅲ 結果

1. X線光電子分光分析

表 2 に材料を X 線光電子分光分析装置にて分析した結果を示す。5.4YG, 8.9YG, 10.7YG はフジⅦ, フジⅢと比較し新規にカルシウムが配合されており, リンおよびフッ素の配合量が増加していることを確認することができた。

それぞれのストロンチウムの実測値は, フジⅦが 12.9 mol%, フジⅢが 10.9 mol% と推定された。また, 配合量を多くなるように設定をしたリンとフッ素は, フジⅦ, フジⅢと比較し新規材料は, リンが約 1.7 倍, フッ素が約 1.1 倍増量していると推定された。

2. 圧縮強さの測定

図 1 にセメント硬化体の水中浸漬後の圧縮強さを示す。GIC 系では, 浸漬 1 日, 1 週間で新規材料とフジⅦ, フジⅢ間で有意差は認めなかった ($p > 0.05$)。5 週間では 8.9YG (93.48 ± 11.99 MPa) がフジⅦ (65.39 ± 5.97 MPa) に比べ有意に高かったが, その他の材料間での有意差はなかった ($p > 0.05$)。水中浸漬 1 日でのレジン系の圧縮強さは, TM は 93.62 ± 29.49 MPa, BS は 125.62 ± 3.01 MPa であり, BS は GIC 系と比べ有意に高い値であった。

3. イオン徐放量の測定

1) カルシウムイオン徐放量の測定

図 2 にカルシウムイオン徐放量の結果を示す。超純水に 1 週間浸漬した試料では, 10.7YG が 1.42 ± 0.77 ppm のカルシウムイオンを放出しており, 5.4YG, 8.9YG と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$)。乳酸水溶液に浸漬した試料では, 5.4YG が 0.37 ± 0.12 ppm, 8.9YG は 1.76 ± 0.30 ppm のカルシウムイオンを放出しており, 8.9YG は 5.4YG よりも有意に高い値であった。さらに 10.7YG では 2.39 ± 0.16 ppm のカルシウムイオンが放出されており, 5.4YG および 8.9YG と比較し有意に高かった ($p < 0.05$)。クエン酸水溶液に浸漬した試料は, 5.4YG が 51.70 ± 0.77 ppm, 8.9YG

が 81.66 ± 3.64 ppm で、8.9YG は 5.4YG よりも有意に高く、10.7YG は 132.94 ± 3.05 ppm のカルシウムイオンを放出し、5.4YG および 8.9YG と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$)。なお、全ての溶液において 0YG, フジⅦ, フジⅢ, TM, BS ではカルシウムイオンの徐放を認めなかった。

2) リン酸イオン徐放量の測定

図 3 にリン酸イオン徐放量の結果を示す。試料を各溶液に浸漬した後のリン酸イオンの徐放量については、新規材料の 0YG および 5.4YG では、超純水、乳酸水溶液ではリン酸イオンの徐放を認めなかった。超純水では、10.7YG では 0.56 ± 0.24 ppm のリン酸イオンを放出しており、0YG, 5.4YG, 8.9YG, フジⅦ, フジⅢ, TM, BS と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$)。また、乳酸水溶液において、10.7YG では 0.65 ± 0.19 ppm, 8.9YG では 0.35 ± 0.36 ppm のリン酸イオンを放出しており、8.9YG, 10.7YG, BS が 0YG, 5.4YG, フジⅦ, フジⅢ, TM と比較し有意に高い値となった ($p < 0.05$)。クエン酸水溶液において、0YG では 7.66 ± 0.41 ppm, 5.4YG では 7.81 ± 0.38 ppm, 8.9YG では 10.01 ± 1.28 ppm, そして 10.7YG は 11.81 ± 0.67 ppm のリン酸イオンを放出しており、コントロール群と比較し有意に大きい値となった ($p < 0.05$)。なお、TM は超純水、乳酸、クエン酸水溶液全てにおいてリン酸イオンの徐放を認めなかった。また、BS は超純水では 0.35 ± 0.07 ppm, 乳酸水溶液では 0.46 ± 0.15 ppm, クエン酸水溶液では 0.42 ± 0.12 ppm のリン酸イオンを放出しており、各水溶液間での徐放量に有意差はなかった。

3) フッ化物イオン徐放量の測定

図 4 にフッ化物イオン徐放量の測定結果を示す。試料を超純水に浸漬した後のフッ化物イオンの徐放量は、0YG では 32.07 ± 0.75 ppm, 5.4YG では 29.99 ± 5.23 ppm, 8.9YG では 33.93 ± 2.48 ppm, 10.7YG では 32.68 ± 3.82 ppm, フジⅦでは 18.45 ± 1.29 ppm, フジⅢでは 17.71 ± 1.04 ppm, BS では 12.77 ± 0.40 ppm のフッ化物イオンを放出していた。レジンの TM では 88.03 ± 7.20 ppm のフッ化物イオンを放出しており、0YG, 5.4YG, 8.9YG, 10.7YG, フジⅦ, フジⅢ, BS それぞれと比較し有意に高い値であった ($p < 0.05$)。GIC 系では、新規材料がフジⅦおよびフジⅢと比べて有意に高い値となった ($p < 0.05$)。なお、新規材料間ではフッ化物イオン徐放量

に有意差はみられなかった ($p < 0.05$).

4. チャージング前後のフッ化物イオン徐放量の測定

試料作製直後(チャージング前)のフッ化物イオン徐放量の経時変化を示す(表3). また, 試料を高濃度フッ化物溶液 APF 中でチャージングした後のフッ化物イオン徐放量の経時変化を示す(表4). チャージング前のフッ化物イオン徐放量が最も多いのは TM であったが, チャージング後で TM はフッ化物イオンを徐放していなかった.

チャージング前において 1, 3, 6, 12, 24 および 168 時間ごとに浸漬液を交換し各溶出イオンの濃度を測定したフッ化物イオン徐放量の結果を“1 時間あたり徐放量”に換算した放出速度のグラフを示す(図5). 同様に, チャージング後に測定したフッ化物イオン徐放量の結果を“1 時間あたり徐放量”に換算した徐放速度のグラフを示す(図6). チャージング前のフッ化物イオン徐放速度は, 乳酸水溶液へ浸漬開始 1 時間で最も高い値となり, その後経時的に徐放速度は減少していた. 最も多くフッ化物イオンを徐放していたのは TM で, 最も少ないのは BS であった. GIC 系の徐放速度に大きな違いはなかった.

APF 中でのチャージング後のフッ化物イオンの徐放速度は, TM を除く OYG, 5.4YG, 8.9YG, 10.7YG, フジⅦ, フジⅢおよび BS で乳酸水溶液に浸漬開始 1 時間が最も高い値となり, その値は APF 中でのチャージング前の徐放速度と比べ高い値となった. TM では APF にチャージング後はフッ化物イオンの徐放を認めなかった.

5. 抗菌作用の測定

24 時間後の生菌数は, フッ化物イオンを徐放しないガラス (2.3×10^9 CFU/ml) に比較して, 新規材料およびフジⅦ, フジⅢ, TM, BS は有意に低い値を示した ($p < 0.05$). 生菌数が最も有意に低い値となったのは TM であった ($p < 0.05$) また, フジⅦおよびフジⅢと比較すると新規材料は全て生菌数が低かった(図7).

6. 実験的バイオフィーム形成抑制能の判定

図8に実験的バイオフィームに Calsein-AM を作用させ生菌を染色し, 共焦点レー

ザー顕微鏡で観察した画像を示す。フッ化物イオンを徐放しないガラス（図8 コントロール）と比較し、新規材料では全てバイオフィルムの形成が阻害されていた。また、バイオフィルムの画像解析を行った結果、バイオフィルムの面積は、新規材料ではフッ化物イオンを徐放しないガラス、フジⅦおよびフジⅢと比較して有意に小さい値となった（図9）（ $p < 0.05$ ）。

7. 細胞増殖活性の測定

図10に細胞増殖活性の測定結果を示す。WST-1を用いた細胞増殖活性では、コントロールが吸光度 1.15 ± 0.20 であるのに対し、0YGは 1.44 ± 0.32 、5.4YGは 1.14 ± 0.20 、8.9YGは 1.01 ± 0.17 、10.7YGが 1.00 ± 0.08 、フジⅦは 1.22 ± 0.13 、フジⅢは 1.24 ± 0.17 、TMは 0.85 ± 0.13 、BSは 1.24 ± 0.17 であり、細胞増殖活性における有意差は認めなかった（ $p > 0.05$ ）。

IV 考察

1. 機械的性質

本実験は、市販の GIC 系シーラント材よりも優れた歯質強化および抗菌作用を期待し、カルシウムイオンやリン酸イオンおよびフッ化物イオンの徐放量を従来の GIC 系シーラント材よりも向上させた新規シーラント用セメントを作製することが目的である。従来型の GIC 系シーラント材はレジン系よりも優れたフッ素徐放性をもち、防湿に左右されにくく半萌出の幼弱永久歯に用いることができるなどの特長を有するため、GIC を用いた数多くの研究が行われている。これまでに、曲げ強さの向上を期待し GIC に銀を添加した場合、圧縮強さなどの低下がみられ (Irie & Nakai, 1988 ; 湯谷 & 山本, 2002), 生物学的性質の改善を期待し GIC へ抗菌剤や Bioactive glass を添加しても、同様に圧縮強さが減少したという報告がある (Yli-Urpo et al., 2005; Türkün et al., 2008; Yesilyurt et al., 2009; Prabhakar et al., 2013). このように、補強材や抗菌剤など GIC の本来の成分以外の物質を添加する場合、ある特性の向上と同時に他の特性の低下が生じることがあり、特に圧縮強さの低下が高頻度に認められていることが報告されている (木村ら, 2009).

圧縮強さの測定結果では、GIC 系では水中浸漬 1 日、1 週間において新規材料とフジⅦ、フジⅢの間に有意差を認めず、5 週間では 8.9YG がフジⅦと比較し有意に大きい値となったため、中性の水中では新規材料の機械的強度に影響はないことが明らかとなった。しかし、本実験において、新規材料は酸性下でのイオンの徐放量がフジⅦ、フジⅢと比較し多かったため、酸性下での圧縮強さは新規材料がフジⅦ、フジⅢよりも低下することが推測される。これまでに化学硬化型 GIC の有機酸溶液中における溶解性についての報告がある (Crisp et al., 1974; Fukazawa et al., 1987). 和田 (1995) は酸性環境下にセメント硬化体を曝露すると、マトリックスのポリアクリル酸塩が崩壊し、乳酸水溶液では蒸留水中よりもさらに速い速度で劣化が進行し、機械的性質にもその影響が現われるとしている。しかしながら本実験では、シーラント材としての臨床応用を目的としており、実際の臨床においては、定期検診毎に脱離などを確認し再填塞が可能のため、たとえ機械的強度が低下しても既存のシーラント材よりも多く

イオンを徐放する材料を用いることで、抗齶蝕作用および歯質強化などの臨床効果が期待できる点では有利であると考えられる。また、口腔内では乳酸による侵襲での各種イオン徐放は考えられるが、塩酸による侵襲はほとんどないと考えられるため、今回の実験で得られた塩酸による試料からの各種イオン溶解のような現象は起きにくいと推測される。酸性環境下での機械的強度の影響については今後さらなる検討が必要である。

2. 化学的性質

GICは、そのガラス粉末と液であるポリアクリル酸水溶液が混ざると、酸による侵襲でガラスの表層が溶け、中からアルミニウムイオンなどの多価陽イオンが放出される (Wilson & Groffman, 1992)。この遊離したイオンが高分子酸分子鎖のカルボキシ基同士を架橋しゲル化することにより硬化する (Crisp et al., 1974)。本実験で測定されたカルシウムイオンは、硬化物である高分子酸架橋体のカルボキシ基から再びイオン化したもの以外に、マトリックス中の遊離イオンが検出されたと考えられる。カルシウムイオンおよびリン酸イオンの徐放量は、徐放を検出できた材料において、pH6.9の超純水よりも乳酸水溶液およびクエン酸水溶液で多い結果となった。GICは酸性環境下においてイオンを徐放しやすく (Forss, 1993)、酸性環境下でカルシウムイオンやリン酸イオンの徐放量が多くなる特徴を有することは、実際の歯科臨床を想定した場合、歯質の再石灰化に必要となるイオンを効率よく供給できうる材料であると考えられる。カルシウムは中性ではポリアクリル酸と反応して塩を形成する正反応の速度が再溶解の逆反応の速度よりも大きく、不溶性のカルシウム塩を生じる方向に平衡が偏っているため、セメントが硬化した後は溶出しにくいイオンであるが (Matsuya et al., 1984; Crisp et al., 1976)、酸性下でカルシウムイオンが溶出する現象は、セメントマトリックスの溶解によるとされている (Matsuya et al., 1984; Forss, 1993)。本実験の新規材料 5.4YG, 8.9YG および 10.7YG には、粉末にカルシウムを多く配合したことでガラスから徐放されるカルシウムの量が増加した。これによりマトリックス中のカルボキシ基に結合したカルシウムの量が増加したため、酸による侵襲を受けた場合、その結果として、カルシウムイオンの徐放量が増加したと推測される。なお、

先述したように市販の GIC はカルシウムの代わりに造影性の向上を目的としてストロンチウムを含有しているのが特徴であり、フジ VII はカルシウムを含有していない (Willson & MacLean, 1988). ストロンチウムはカルシウムと同族のアルカリ土類金属で hidroキシアパタイト中のカルシウムの位置へ置換しやすい (Newman & Newman, 1960). また、ストロンチウムはカルシウムと近似したイオン半径を有することより ($\text{Sr}^{2+}=1.13 \text{ \AA}$, $\text{Ca}^{2+}=0.99 \text{ \AA}$), GIC の構造を殆ど変化させることなくカルシウムと置換することが出来るとされている (木村, 2009). さらに、GIC へのストロンチウム配合により、歯質のアパタイト結晶性は低下するが耐酸性を増加させると報告されている (高良, 1970). 本実験で作製した新規材料の 10.7YG はカルシウムのみが配合され、5.4YG および 8.9YG はカルシウムとストロンチウムの混合であり、0YG ではストロンチウムのみ配合されている. 結晶性と耐酸性のバランスを考慮すると、それぞれ単独で配合するよりも混合配合の方が歯質強化および耐酸性において優れる材料であると考えられる.

新規材料は 4 種とも全てリンの配合を同量としているが、カルシウム配合量依存的にリン酸イオン徐放量の増加を認めた. これは、電気的中性の原理より、陰イオンであるリン酸イオンと、陽イオンであるカルシウムイオンが溶解するときにガラスから一緒に溶解していることが推測される. また、pH5.0 の乳酸とクエン酸に対する溶出量を比較すると、クエン酸水溶液において、より多くのカルシウムイオン、リン酸イオンの放出を認めた. Zalizniak ら (2013) は、クエン酸は金属イオンであるカルシウムやアルミニウムなどと選択的にキレート錯体を作ることによりセメントが崩壊すると報告している. 今回の実験でもクエン酸がカルシウムやアルミニウムとキレート錯体を作ることにより多量のセメントが機能イオンの放出を超えた溶解となっていることが考えられる. さらに、新規材料のフッ素配合量を増加させたことにより、マトリックス中に存在しているフッ化物イオンの量が増加し、徐放量がフジ VII, フジ III よりも増加したことが示唆される.

シーラントは健全歯質ならびにエナメル質の表層下脱灰病変に適応する処置である. エナメル質表面は常に脱灰と再石灰化が繰り返されており、表層下脱灰病変では脱灰により遊離したカルシウムイオンとリン酸イオン、または唾液中に含まれるカルシウ

ムイオンとリン酸イオンが表層の高石灰化層を形成し、エナメル質表面を保持している (小方, 2010). 歯の再石灰化は、唾液や脱灰歯質より溶出したカルシウムイオンやリン酸イオンにより誘導され (Paul & Darwin, 1966), フッ化物イオンが近接した歯質に取り込まれフルオロアパタイトを形成することにより耐酸性の向上, および歯質強化が期待できる (飯島, 2002). 新規材料は既存の GIC であるフジVIIおよびフジIII, レジン系の BS と比較した場合, 有意に高いフッ化物イオンの徐放を認め, より優れた抗齲蝕性, 耐酸性, 歯質強化につながると期待できる. また, TM のフッ化物イオン徐放量は, 他の材料と比較し有意に高かった. TM はフッ素徐放性ポリマーと呼ばれるメタクリル酸メチルとメタクリル酸フルオリドの重合体から加水分解によって徐々にフッ化物イオンが不可逆的に放出されるという, フッ素徐放機構の違いがある (中島ら, 2001).

GIC はマトリックス中にフッ化物イオンが多く存在し, 硬化直後に多量に溶出して, その後徐々に減少するが, 高濃度フッ化物溶液中で再びフッ素イオンを取り込むリチャージ効果があることが明らかとなっている (Gao et al., 2000; Xu & Burgess, 2003; Freedman & Diefenderfer, 2003). 本実験において GIC 系の材料は, 作製した試料を乳酸水溶液へ浸漬開始 1 時間で最も多くのフッ化物イオンの徐放を認め, その後の徐々に徐放量が減少していた. 最初に徐放されたフッ化物イオンは, セメント表層に存在していたもので時間とともに平衡状態となり, セメント内部に存在していたフッ素が表層へ拡散して緩慢な徐放へ移行していくことが報告されており (Wilson et al., 1985; Eronat et al., 1999), 本実験も同様の結果であると考えられる (図 5). すなわち, チャージング前では初期段階の多量放出後, 一定の緩やかな傾斜をもったグラフとなっていた. これに対してチャージング後は初期段階の多量放出後, ほとんど徐放を認めないグラフとなっている. このことから, チャージング前は初期の速い放出と後期の遅い持続的な放出からなる 2 相性であり, チャージング後は初期の速い放出の 1 相性となることが示唆された. さらに, APF に浸漬後のフッ化物イオン徐放量は, 試料作製直後よりも有意に高かった. これまでにも, マトリックスの劣化の影響と, チャージングにより新たに取り込まれたフッ化物イオンが溶出された結果, 試料作製初期段階よりもフッ素溶出量が増加し, みかけのフッ化物イオン溶出量が増加したと

の報告がある(倉持, 2003). APFによるフッ化物イオンのチャージングの他に, 酸性であるAPFによりガラスの溶解が進むこともフッ化物イオンの徐放量が高くなる一つの要因と考えられる(倉持, 2003). また, TMはチャージング前のフッ化物イオン徐放量が最も多いが, チャージング後はフッ化物イオンを徐放していなかったことより, 初期段階に多量のフッ化物イオンを徐放した後は, チャージングをしても硬化体へフッ素の取り込みをしないことが明らかとなった(図5, 6). このように, GIC系の材料学的な特徴が, 新規材料およびフジVII, フジIIIではフッ化物イオンのリチャージ能を示し, リチャージ能がないレジン系のTMとの違いを際立たせる結果となった.

BSは様々なイオンを徐放するバイオアクティブ材料であることが知られているが, そのイオンはS-PRGフィラーのガラスアイオノマー相から徐放されていることが明らかとなっている(中塚ら, 2007). 本研究で使用したBSのガラスアイオノマー相は量的に, レジンも含めた材料の一部にすぎないため, 新規材料と比較してフッ化物イオン徐放量が少なかったと考えられる. また, BSはカルシウムイオンを徐放しておらず, ストロンチウムイオンを徐放することが明らかとなっているため, BSのガラスアイオノマー相はカルシウム非配合であることが推測される.

今回測定したイオン徐放量は, カルシウムは原子吸光分析法, リンは吸光分光法, フッ素はフッ化物イオン電極法と, それぞれ異なった方法で分析をしているため, 精度に差が出ていると推測される. 今後, 高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法などを用いて同一条件下での比較を検討する必要があると考える.

3. 抗菌作用および実験的バイオフィーム形成抑制能の判定

生菌数を測定し, 材料の抗菌作用およびバイオフィーム形成抑制能について検討を行った結果, 新規材料およびコントロール群はフッ化物イオンを徐放しないガラスと比較し *S. mutans* の増殖を抑制し, さらにはバイオフィーム形成を阻害していることが明らかとなった.

各種イオン徐放量の測定結果から, 本研究で検討した全ての材料がフッ化物イオンを徐放しており, さらにフッ化物イオン徐放量の最も多いTMの生菌数が最も少ない

ことより、その抗菌作用およびバイオフィーム形成抑制能にフッ化物イオンが影響していることが強く示唆される。これまでも試料から溶出されるフッ化物イオンが *S. mutans* の発育を抑制しているとの報告があり (Loyola-Rodriguez & Garcia-Godboy F, 1996), フッ化物が *S. mutans* の生育を抑制することや、糖質代謝の過程で働くエノラーゼ (phosphopyruvatehydratase) を阻害することが明らかとなっている (飯塚, 1975; Hamilton, 1977; 田代, 1992)。このフッ素の酸産生抑制効果は、解糖中間体の 2-ホスホグリセリン酸をホスホエノールピルビン酸 (PEP) に変える反応を触媒する酵素エノラーゼをフッ素が阻害することで、ホスホエノールピルビン酸の供給速度が低下し、これを必要とするホストランスフェノラーゼ系 (PEP-PTS) が働きにくくなるためとされている (Hamilton, 1978; 畑, 1987)。また、Ono ら (2007) もフッ化物イオンを含んだコンポジットレジンにおいて、バイオフィームの形成が抑制されるとしている。今回の実験においてもフッ化物イオンによるこれらの働きにより *S. mutans* の増殖を抑制し、バイオフィームの形成を阻害したと考えられる。

GIC 系などのバイオアクティブ機能をもつ材料の抗菌効果について、倉持ら (2014) は多種の元素が価数の高いイオンで存在し、特に負に帯電しているバイオフィーム表面に陽イオンが結合し、その正電荷に引かれて陰イオンが集まりやすいことを指摘している。Domon-Tawaraya ら (2011) は二価の金属イオンの存在により効率的にフッ素が菌体に結合し、糖代謝時には菌体から徐放されたフッ化物イオンにより酸産生が抑制されると報告している。このように、新規材料も種々のイオンを徐放することによりフッ化物イオンが効率的に菌体へ作用し、抗菌作用やバイオフィーム形成を阻害していることが示唆される。

4. 細胞増殖活性の測定

GIC から溶出するイオンとしてケイ酸イオン、ストロンチウムイオン、アルミニウムイオンなど様々なイオンが報告されている (Kaga et al., 2011)。新規材料は、カルシウムイオン、リン酸イオン、フッ化物イオンの他に、ケイ酸イオン、アルミニウムイオン、そして OYG, 5.4YG, 8.9 YG ではストロンチウムイオンを徐放することが確認され、これらのイオンが様々な形で生体に作用することが期待される。その一方

で、新規材料を開発する際、このようなイオンが生体に与える、細胞毒性が重視されるようになってきている（黒木ら、2001）。本実験では、細胞増殖活性を測定する方法として、WST-1 を用いた。WST-1 法は、細胞内の乳酸脱水素酵素などの関与する脱水素反応の活性を比色定量することを利用し、細胞増殖能の程度を知る方法である（高松、1998）。本実験の結果では、すべての材料で細胞毒性なしのコントロールとの有意差がなかったため、新規材料を含めたすべての材料で、細胞毒性がないことが示唆される。

V 結論

1. 新規材料は既存の GIC 系シーラント材であるフジ VII, フジ III (いずれもカルシウムフリー) と比較し圧縮強さに有意差を認めなかったことにより, カルシウム配合による機械的強度の影響はないと考えられた.
2. 新規材料であるカルシウム 5.4 mol%配合の 5.4YG, カルシウム 8.9 mol%配合の 8.9YG, カルシウム 10.7 mol%配合の 10.7YG は既存のフジVII, フジIII, レジン系シーラント材である TM および BS と比較しカルシウムイオン, リン酸イオンの徐放量が有意に高いことにより, 優れた歯質強化, 再石灰化効果をもつことが期待される.
3. 新規材料はフジVII, フジIII, および BS と比較しフッ化物イオンの徐放量が増加していることより, より優れた抗齲蝕性をもち, 細胞増殖活性において有意差を認めなかったことより, 細胞毒性はないことが示唆された.
4. 新規材料は, フッ化物イオンのリチャージ能をもつことが明らかとなった.

以上のことから, 本実験により, 既存の GIC 系シーラント材の特長をさらに増強させた新規シーラント用セメントを作製することができた. その中では, 市販製品と同等の機械的強度, 優れた抗菌作用およびバイオフィルム形成抑制能をもち, 酸性下でのカルシウムイオン徐放量が多い, 5.4YG, 8.9YG, 10.7YG が優れた材料であると考えられた.

文献

- Bodecker CF. The eradication of enamel fissures. *Dent Items Int* 51:859-866,1929.
- Bodecker CF. Enamel fissure eradication. *New York State Dent J* 30:149-154,1964.
- Boksman L, Gratton DR, McCutcheon E & Plotzke OB. Clinical evaluation of a glass ionomer cement as a fissure sealant. *Quintessence Int* 18: 707-709, 1987.
- Buonocore CF. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surface. *J Dent Res* 34: 849-853, 1955.
- Carvalho JC, Ekstrand KR & Thylstrup A. Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. *J Dent* 68, 773-779,1989.
- Crisp S, Pringuer MA & Wardleworth D. Reactions in glassionomer cements II. An infrared spectroscopic study. *J Dent Res* 53, 1414-1419, 1974.
- Crisp S, Lewis BG & Wilson AD. Glass ionomer cements: chemistry of erosion. *J Dent Res* 55: 1032-1041, 1976.
- Cueto EI & Buonocore MG. Sealing of pits and fissures with an adhesive resin: its use in caries prevention. *JADA* 75: 121-128, 1967.
- Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia E & Papagodiannis Y. Secondary caries formation in vitro around fluoride-releasing restorations. *Oper Dent* 19: 183-188, 1994.
- Domon-Tawaraya H, Nakajo K, Washio J, Ashizawa, T, Ichino T, Sugawara H, Fukumoto S & Takahashi N. Divalent cations enhance fluoride binding to *Streptococcus mutans* and *Streptococcus Sanguinis* cells and subsequently inhibit bacterial acid production. *Caries Res* 47: 141-149, 2013.
- Eronat N, Kocatas N & N Alpoz AR. A comparative study of fluoride uptake from dentin bonding agents and glass-ionomer cements in permanent and primary tooth enamel. *Zuintessence Int* 30: 496-500, 1999.

- Forss H. Release of fluoride and other elements from light-cured glass ionomers in neutral and acidic conditions. *J Dent Res* 72: 1257-1262, 1993.
- Forss H, Saarni UM & Seppa L. Comparison of glass ionomer and resin-based fissure sealants. A 2-year clinical trial. *Community Dent Oral Epidemiol* 22: 21-24, 1994.
- Freedman R & Diefenderfer KE. Effects of daily fluoride exposures on fluoride release by glass ionomer-based restoratives. *Oper Dent* 28: 178-185, 2003.
- Fujimoto Y, Iwasa M, Murayama R, Miyazaki M, Nagafuji A & Nakatsuka T. Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effects. *Dent Mater J* 29: 392-397, 2010.
- Fukazawa M, Matsuya S & Yamane M. Mechanism for erosion of glass-ionomer cements in an acidic buffer solution. *J Dent Res* 66: 1770-1774, 1987.
- Gao W, Smales RJ & Gale MS. Fluoride release/uptake from newur glass-ionomer cements used with the ART approach. *Am J Dent* 13: 201-204, 2000.
- Geiger SB & Weiner S. Fluoridated carbonatoapatite in the intermediate layer between glass ionomer and dentin. *Dent Mater* 9: 33-36, 1993.
- 畑 真二. 高度嫌気条件下における *Streptococcus mutans* と *Streptococcus sanguis* の酸産生に対するフッ素の抑制効果状況とその生化学的機構. *東北大歯誌* 6: 81-89, 1987.
- Hamilton IR. Effects of fluoride on enzymatic regulation of bacterial carbohydrate metabolism. *Caries Res* 11: 262-291, 1977.
- Hamilton IR, Phipps PJ & Ellwood DC. Effect of growth rate and glucose concentration on the biochemical properties of *Streptococcus mutans* grown at various pH values in a chemostat. *Infect Immun* 19: 434-442, 1978.
- Hyatt TP. Prophylactic odontology-the cutting into the tooth for the prevention of disease. *Dent Cosmos* 66: 234-241, 1922.
- 飯島洋一: フッ化物応用と歯質・再石灰化の科学, 医師と歯科衛生士のためのフッ化物臨床応用のサイエンス, 永末書店, 13-28, 2002.

飯塚喜一, 近藤 武, 矢崎 武訳. フッ素と齲蝕予防—現代の概念と評価—. 学研書
院 : 76-91, 1975.

Irie M & Nakai H. Mechanical properties of silver-added glass ionomers and their
bond strength to human tooth. *Dent Mater J* 7: 87-93, 1988.

岩倉政城, 島田義弘, 高木興氏. 第一大臼歯咬合面の齲蝕発病—特に萌出状況との関
連から—. *口腔衛生会誌* 29:163,1979.

Kaga M, Masuta J, Hoshino M, Genchou M, Minamikawa H, Hashimoto M,
Yawaka Y. Mechanical properties and ions release of S-PRG filler-containing pit
and fissure sealant. *Nano Biomedicine* 3, 191-199, 2011.

Kaga M, Kakuda S, Ida Y, Toshima H, Hashimoto M, Endo K & Sano H.
Inhibition of enamel demineralization by buffering effect of S-PRG
filler-containing dental sealant. *Eur J Oral Sci* 122: 78-83, 2013.

木村愛美. 新規アパタイトグラスアイオノマーセメントの開発—従来型グラスアイオノ
マーセメントに及ぼすハイドロキシアパタイトの粉体特性の影響について. *四国歯
誌* 22: 27-46, 2009.

倉持健一. フッ素によるリチャージング後のフッ素徐放性修復材料の特性. *歯科材料・
器械* 22: 485-495, 2003.

倉持江里香, 富山 潔, 熊田秀文, 椎谷 亨, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 渡邊清子, 浜
田信城, 寺中敏夫, 向井義晴. S-PRG 溶出液のポリマイクロバイアルバイオフィル
ムに対する抗菌効果. *日歯保存誌* 57: 414-420, 2014.

黒木賀代子, 大住伴子, 東 泉, 古賀裕紀子, 勝田高史. 歯科用ユージノール製剤に
よるアレルギー性接触皮膚炎発症の可能性. *九州歯会誌* 55:386-391, 2001.

子田晃一, 川崎傳男, 鞍立暁則, 細田裕康. グラスアイオノマーセメントの白濁に関
する研究. *日歯保存誌* 23: 584-590, 1980.

Levy SM. Pit-and- fissure sealants are more effective than fluoride varnish in
caries prevention on occlusa surfaces. *J Evid Based Dent Pract* 12: 74-76, 2012.

Li SH, Kingman A, Forthofer R & Swango P. Comparision of tooth surface-specific
dental caries attack patterns in US schoolchildren from two national surveys. *J*

- Dent Res 72: 1398-1405, 1993.
- Löe H, Karring T & Theilade E. An in vivo method for the study of the microbiology of occlusal fissures. Caries Res 7: 120-129, 1973.
- Loyola-Rodriguez JP & Garcia-Godboy F. Antibacterial activity of fluoride release sealants on mutans streptococci. J Clin Pediatr Dent 20: 109-111, 1996.
- Matsuya S, Matsuya Y, Yamamoto Y & Yamane M. Erosion process of glass ionomer cement in organic acids. Dent Mater J 3: 210-219, 1984.
- Mejare I & Mjor IA. Glass ionomer and resin-based fissure sealants: a clinical study. Scand J Dent Res 98:345-350, 1990.
- 宮野 稔, 川越武久, 大沢三武郎. 萌出途上および萌出後まもない第一大臼歯の齲蝕について. 口腔衛生会誌 24: 235-239, 1947.
- 守吉佑介, 笹本 忠, 植松敬三, 伊熊泰郎, 門間英毅, 池上隆康, 丸山俊夫. セラミックスの焼結. 内田老鶴圃, 1995.
- Mount GJ. Glass ionomers: a review of their current status. Oper Dent 24: 115-124, 1999.
- 中島由美子, 伊平弥生, 八丈島華子, 大森郁朗. フッ素徐放性シーラント (Teethmate-F[®]) の臨床成績. 小児歯学誌 39: 103-109, 2001.
- 中原由絵, 田中久義, 青葉孝昭. 日本人の永久歯にみられたう蝕病変の臨床診断と病理所見に基づく確定診断. 歯学 86: 261-282, 1998.
- 中塚 稔, 出口 幹, 根來 紀. PRG (Pre-Reacted Glass-ionomer) 技術の誕生とそれを応用した製品展開. 日本歯科産業会誌 21: 62, 2007.
- Newman WF & Newman MW. The chemical dynamics of bone mineral. 医歯薬出版: 86, 1960.
- 小方清和, 荻部洋行: 小児齲蝕の予防と進行抑制, 新小児歯科学, クインテッセンス: 183, 1996.
- 小方清和. 初期齲蝕の病理組織学的検討 脱灰・再石灰化反応の観察と計測. 小児歯学誌 48: 481-488, 2010.
- Ono M, Nikaido T, Ikeda M, Imai S, Hanada N & Tagami J. Surface properties of

- resin composite materials relative to biofilm formation. *Dent Mater J* 26: 613-622, 2007.
- Paul DF & Darwin WE. X ray diffraction study of the reaction of acidulated fluoride with powdered enamel. *J Dent Res* 45: 1144-1148, 1966.
- Pereira AC, Basting RT, Pinelli C, Meneghim MC & Werner CW. Retention and caries prevention of Vitremer and Ketac-Bond used as occlusal sealants. *Am J Dent* 12: 62-64, 1999.
- Poulsen S, Beiruti N & Sadat N. A comparison of retention and the effect on caries of fissure sealing with a glass-ionomer and a resin-based sealant. *Community Dent Oral Epidemiol* 29: 298-301, 2001.
- Prabhakar AR, Prahlad D & Kumar SR. Antibacterial activity, fluoride release, and physical properties of an antibiotic-modified glass ionomer cement. *Pediatr Dent* 35: 411-415, 2013.
- Raadal M, Utkilen A B & Nilsen OL. Fissure sealing with a light-cured glass ionomer cement (Vitrebond) compared with a resin sealant. *Int J Paediatr Dent* 6: 235-239, 1996.
- 椎谷 亨, 向井義晴, 富山 潔, 上條和子, 藤野富久江, 寺中敏夫. フッ化物徐放性フロアブルレジンに近接した象牙質の脱灰様相. *日歯保存誌* 40: 185-196, 2004.
- Shimazu K, Ogata K & Karibe H. Evaluation of the ion-releasing and recharging abilities of a resin-based fissure sealant containing S-PRG filler. *Dent Mater J* 30: 923-3, 2011.
- 島津貴咲. S-PRG フィラー含有シーラントの齲蝕予防効果の検討. *小児歯学誌* 51: 347-352, 2013.
- 下岡正八: 乳歯・幼若永久歯の特徴. *新小児歯科学*, クインテッセンス: 105-110, 1996.
- Subramaniam P, Konde S & Mandanna DK. Retention of a resin-based sealant and a glass ionomer used as a fissure sealant: a comparative clinical study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 26: 114-120, 2008.

- 祖父江鎮雄, 鈴木俊行, 森脇 豊. 幼若永久歯の小窩裂溝部アパタイトの結晶性について. 小児歯学誌 12: 135-139, 1974.
- 高橋昌嗣, 岩井泰伸, 岩永有二, 小野あや, 荒川勇斗, 河野芳広, 島田啓示, 萩原和典, 荒井清司, 松根健介, 前田隆秀. 本学小児歯科外来における初診患児の実態調査. 日大口腔科学 35: 135-141, 2010.
- 高松範雄. 加齢および Alzheimer 病によるリンパ球幼若能の変化. 日本老年医雑誌 35: 535-542, 1998.
- 高良政勝. 練和液に Ca^{++} または Sr^{++} を配合したリン酸セメントに関する研究. 大阪大歯学誌 15: 11-25, 1970.
- Tam LE, Chan GP L & Yim D. In vivo caries inhibition effects by conventional and resin-modified glass-ionomer restorations. Oper Dent 22: 4-14, 1997.
- 田代悦章. *S. mutans* のフッ化物とり込みとフッ化物適応性に関する研究. 歯科学報 92: 165-180, 1992.
- Thylstrup A & Fejerskov O. Textbook of cariology. Munksgard Copenhagen, 183, 1986.
- Türkün LS, Türkün M, Ertuğrul F, Ateş M & Brugger S. Long-term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine-containing glass ionomer cement. J Esthet Restor Dent 20:29-44, 2008.
- 和田浩利. 各種小窩裂溝封鎖材に関する基礎的研究. 福岡歯大誌 22: 229-246, 1995.
- Wilson AD, Prosser HJ & Powis DM. Mechanism of adhesion of polyelectrolyte cements to hydroxyapatite. J Dent Res 74: 590-592, 1983.
- Wilson AD, Groffman DM & Kuhn AT. The release of fluoride and other chemical species from a glass-ionomer cement. Biomaterials 6: 431-433, 1985.
- Wilson AD & McLean J W. Glass-ionomer cement. Quintessence ,1988.
- Xu X & Burgess JO. Compressive strength, fluoride release and recharge of Fluoride-releasing materials. Biomaterials 24: 2451-2641, 2003.
- Yesilyurt C, Er K, Tasdemir T, Buruk K, Celik D. Antibacterial activity and physical properties of glass-ionomer cements containing antibiotics. Oper Dent

34:18-23, 2009.

Yli-Urpo H, Lassila LV, Närhi T & Vallittu PK. Compressive strength and surface characterization of glass ionomer cements modified by particles of bioactive glass. *Dent Mater* 21: 201-209, 2005.

湯谷洋未, 山本宏治. Ag シリカガラス含有グラスアイオノマーセメントの抗菌性. *日歯保存誌* 45: 441-449, 2002.

Zalizniak I, Palamara JE, Wong RH, Cochrane NJ, Burrow MF & Reynolds EC. Ion release and physical properties of CPP-ACP modified GIC in acid solutions. *J Dent* 41: 449-454, 2013.

表・付図

表1 コントロールに用いた市販製品の主成分, 粉液比, ロット番号

材料(略号)	製造元	主成分	ロット番号	粉液比
フジⅦ® (フジⅦ)	ジーシー	粉:フルオロアルミノシリケートガラス 液:ポリアクリル酸, 蒸留水, 多塩基カルボン酸	1502031	1.8/1.0
フジⅢ® (フジⅢ)	ジーシー	粉:フルオロアルミノシリケートガラス 液:ポリアクリル酸, 蒸留水, 多塩基カルボン酸	1506011	1.2/1.0
ティースメイト F-1 2.0® (TM)	クラレノリタケ デンタル	モノマー(TEGDMA, HEMA, MDP, その他) MMA-MF共重合体, 光重合触媒, 着色剤, その他	0023BA	
ビューティ シーラント® (BS)	松風	ガラス粉末, UDMA, TEGDMA, 微粒子ケイ酸, その他	41553	

表2 XPSによるセメント硬化物の元素分析

単位: atom%

	0YG	5.4YG	8.9YG	10.7YG	フジⅦ	フジⅢ
F	24.93	24.82	24.06	25.51	21.00	21.12
Ca	0.00	3.98	6.96	7.39	0.00	0.00
Sr	5.81	3.48	2.27	0.00	7.16	6.13
Al	30.51	27.60	27.36	27.81	30.90	29.77
Si	23.81	21.61	23.35	22.85	34.91	33.68
P	6.27	9.41	7.09	8.07	4.57	4.02
Na	7.94	7.92	7.91	7.26	1.47	4.10
K	0.73	1.18	1.00	1.11	0.00	1.19

表3 チャージング前のフッ化物イオン徐放量(乳酸浸漬)

単位: ppm

経過時間(h)	0YG	5.4YG	8.9YG	10.7YG	フジⅦ	フジⅢ	TM	BS
1	4.03 (1.29)	4.46 (0.74)	3.90 (1.29)	4.31 (1.09)	3.68 (1.44)	2.74 (0.51)	9.68 (0.14)	0.50 (0.11)
3	4.93 (0.91)	4.45 (1.62)	3.99 (0.95)	4.59 (0.67)	4.22 (0.56)	3.93 (0.87)	10.85 (0.39)	1.72 (0.07)
6	6.11 (1.97)	5.39 (1.81)	5.33 (2.35)	7.42 (2.41)	4.28 (0.28)	5.18 (1.45)	8.39 (0.11)	2.94 (0.05)
12	7.10 (1.00)	8.37 (2.03)	7.67 (1.31)	8.65 (1.67)	8.83 (0.73)	10.19 (0.66)	12.22 (0.43)	6.54 (1.13)
24	9.05 (1.70)	9.36 (1.81)	7.97 (2.22)	8.30 (2.20)	8.95 (1.64)	9.25 (0.87)	10.43 (0.28)	6.65 (0.84)
168	24.7 (2.02)	27.2 (2.87)	27.5 (3.36)	27.7 (2.45)	26.9 (0.74)	26.8 (7.41)	77.7 (4.15)	31.0 (2.12)

()はSD値を示す

表4 チャージング後のフッ化物イオン徐放量(乳酸浸漬)

単位: ppm

経過時間(h)	0YG	5.4YG	8.9YG	10.7YG	フジⅦ	フジⅢ	TM	BS
1	37.61 (1.71)	35.71 (2.17)	38.20 (1.61)	36.49 (3.31)	34.78 (4.77)	40.11 (2.22)	0.24 (0.09)	37.63 (5.06)
3	30.54 (1.64)	27.73 (2.25)	35.08 (1.78)	27.02 (2.99)	26.89 (3.72)	27.61 (2.88)	0.14 (0.01)	30.30 (2.81)
6	30.17 (1.97)	27.32 (2.47)	29.71 (1.42)	27.37 (2.37)	24.99 (1.99)	21.04 (1.92)	0.20 (0.01)	23.83 (2.26)
12	20.09 (2.06)	21.32 (1.42)	19.66 (0.85)	21.64 (2.93)	18.43 (2.81)	20.52 (0.56)	0.33 (0.08)	17.45 (1.83)
24	2.92 (2.63)	2.86 (2.20)	3.15 (1.52)	2.98 (1.94)	3.31 (1.75)	1.98 (2.82)	0.63 (0.09)	2.98 (2.76)
168	5.21 (0.47)	5.64 (0.83)	5.39 (0.82)	5.81 (0.96)	1.55 (0.34)	0.75 (0.27)	0.04 (0.21)	1.13 (0.30)

()はSD値を示す

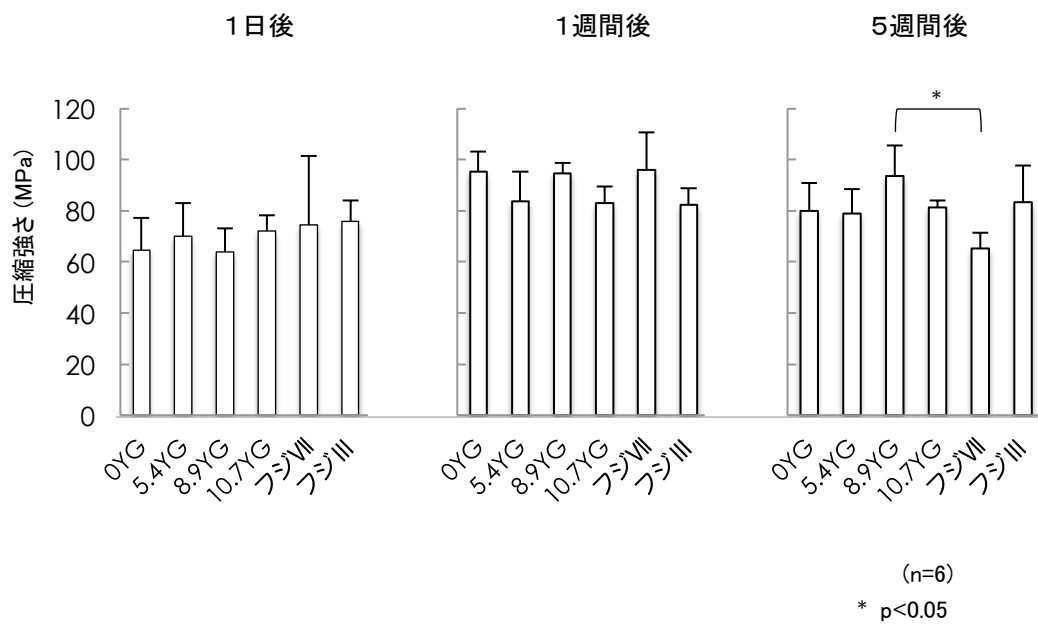
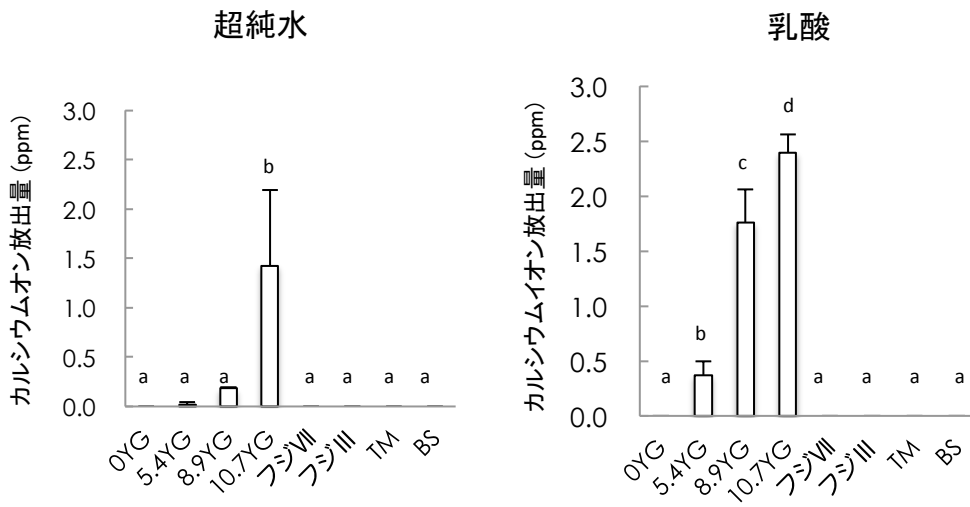
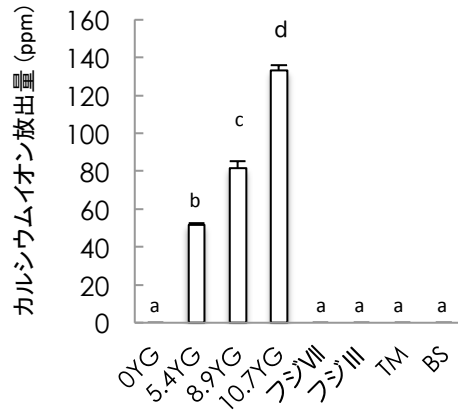


図1 各セメント硬化体の圧縮強さ(超純水浸漬)



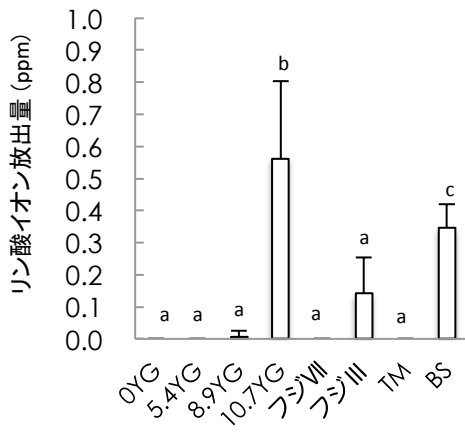
クエン酸



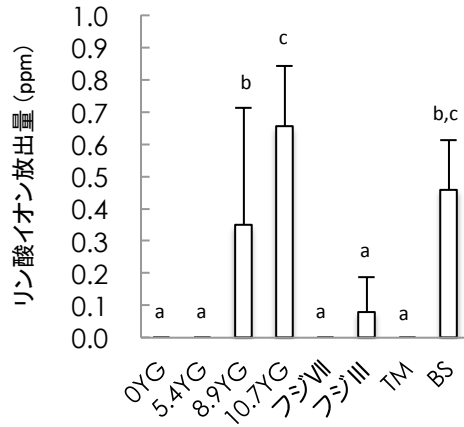
(n=6)
 p<0.05
 異なるアルファベット間で有意差あり

図2 カルシウムイオン徐放量(1週間)

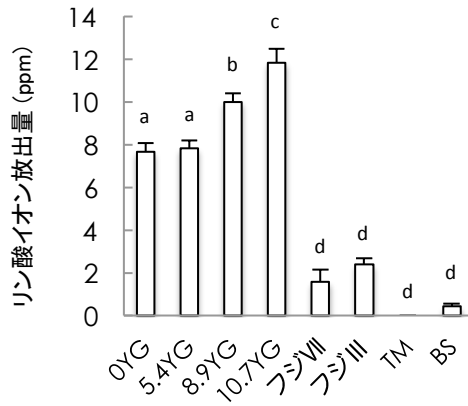
超純水



乳酸



クエン酸



(n=6)

p<0.05

異なるアルファベット間で有意差あり

図3 リン酸イオン徐放量(1週間)

超純水

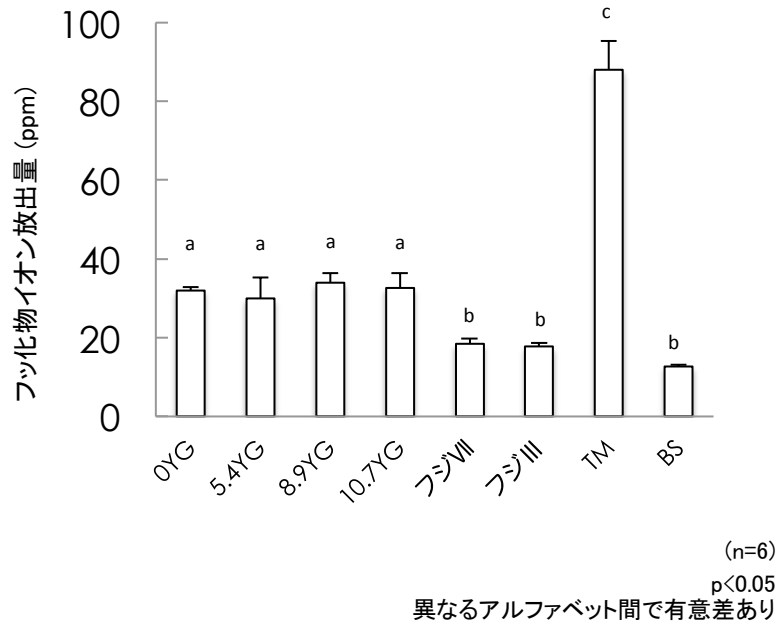


図4 フッ化物イオン徐放量(1週間)

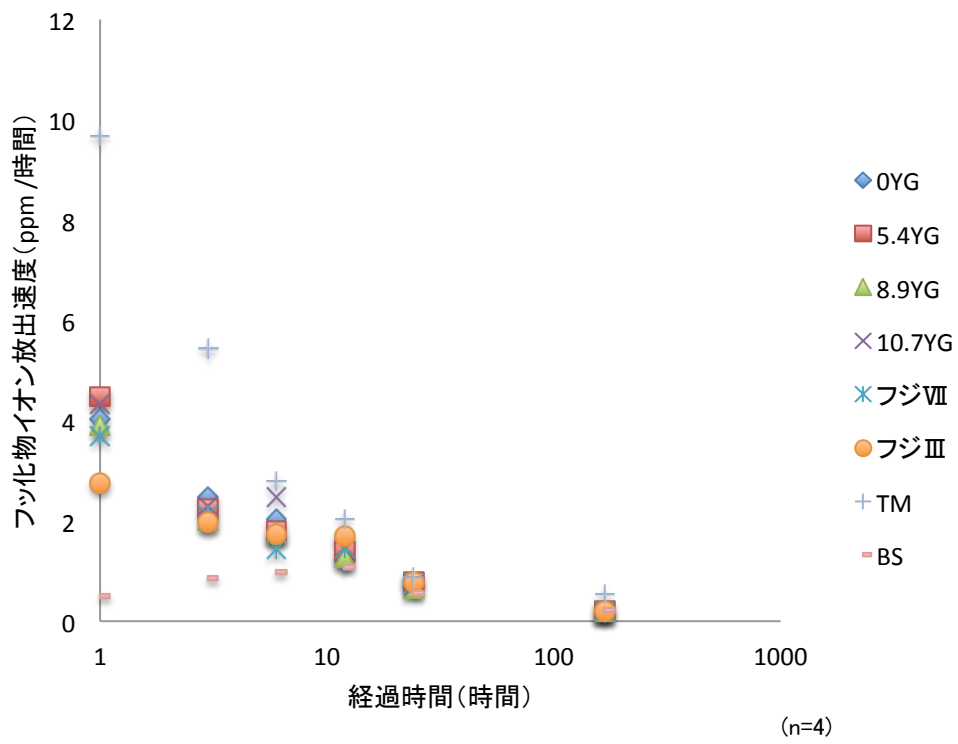


図5 チャージング前の1時間あたりのフッ化物イオン徐放量

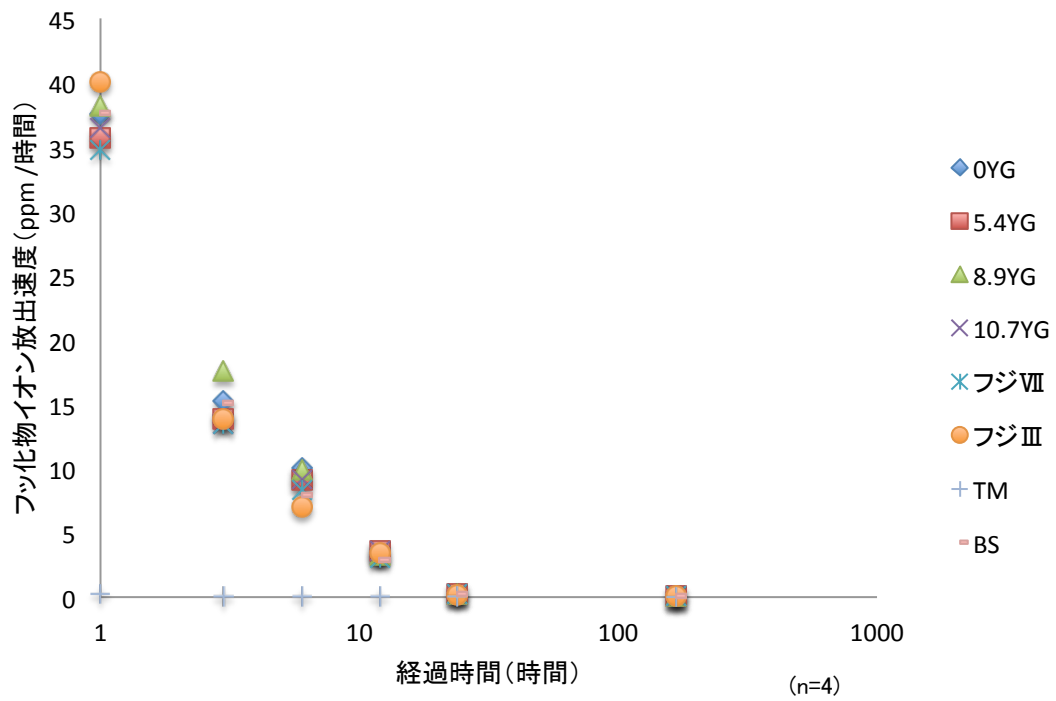


図6 チャージング後の1時間あたりのフッ化物イオン徐放量

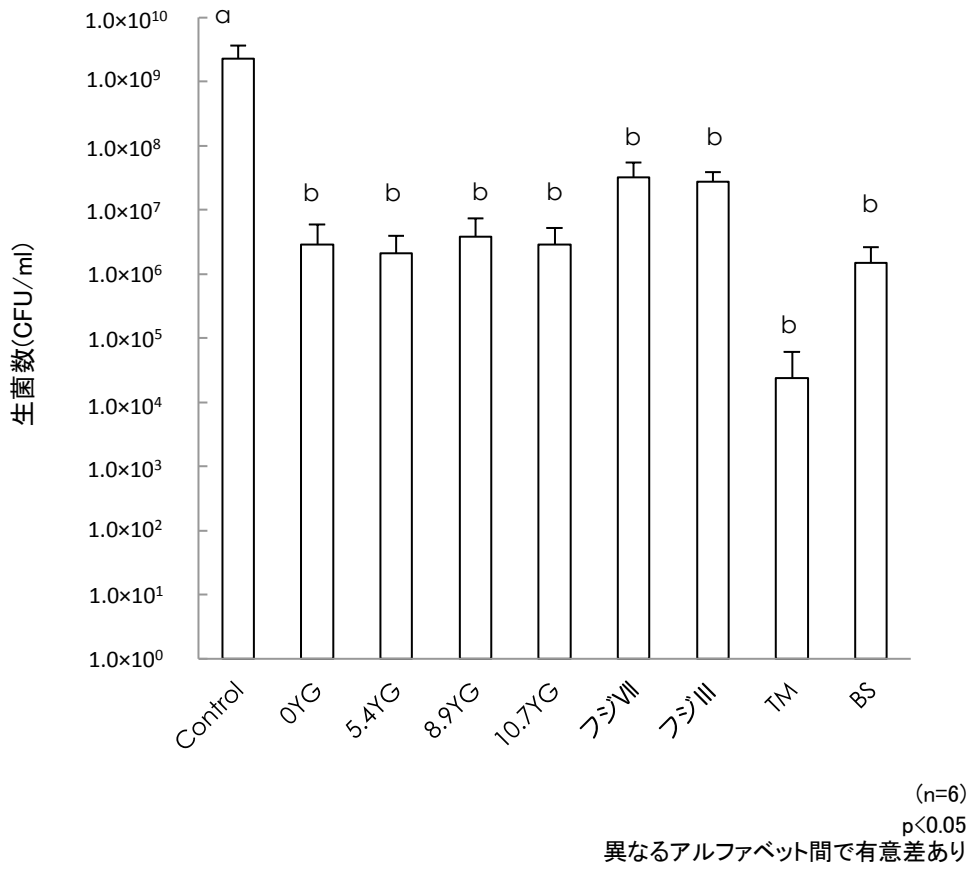


図7 セメント溶出液の抗菌作用

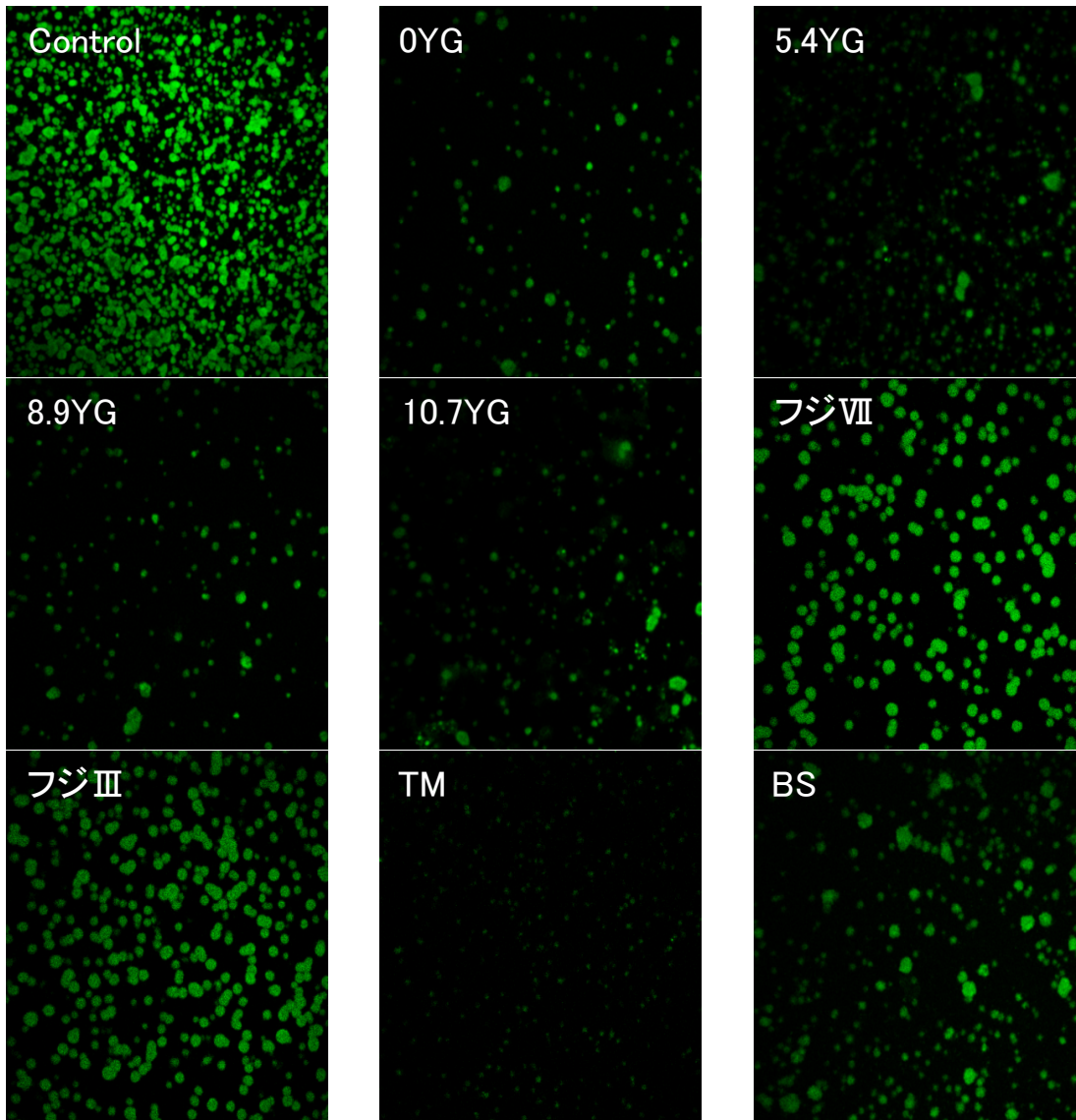


図8 共焦点レーザー顕微鏡による実験的バイオフィルム形成の観察

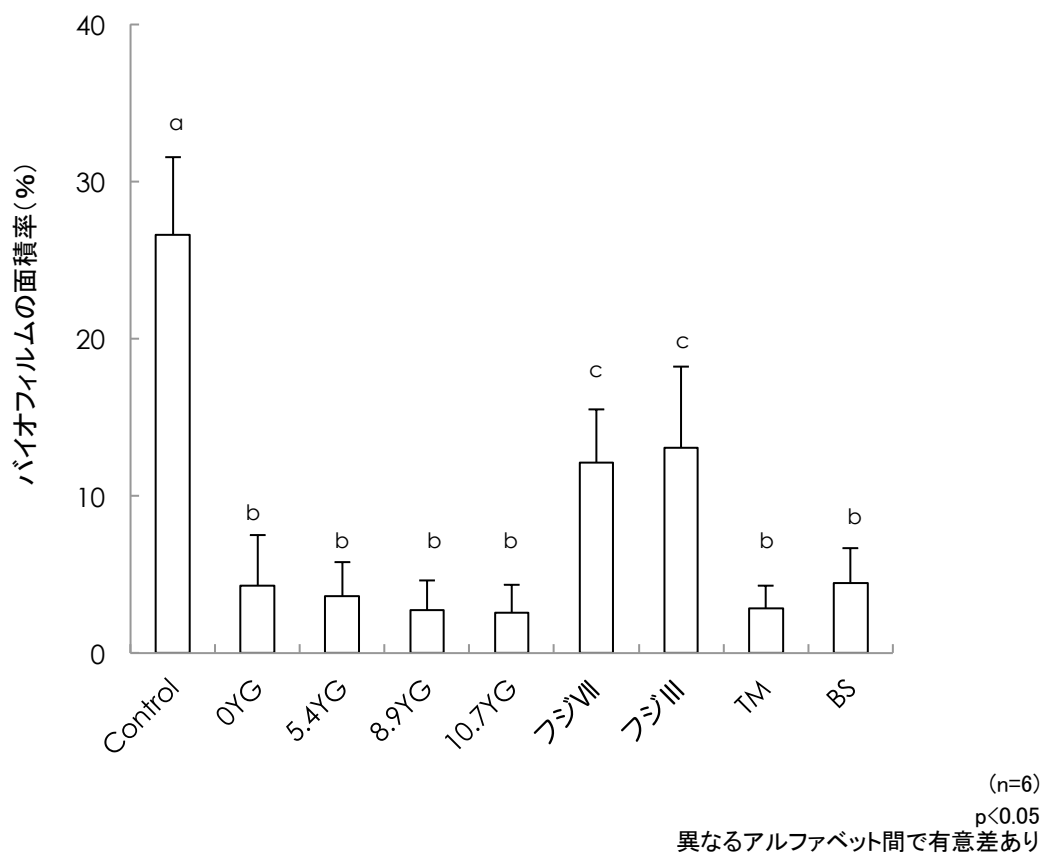


図9 画像解析から算出したバイオフィルム面積

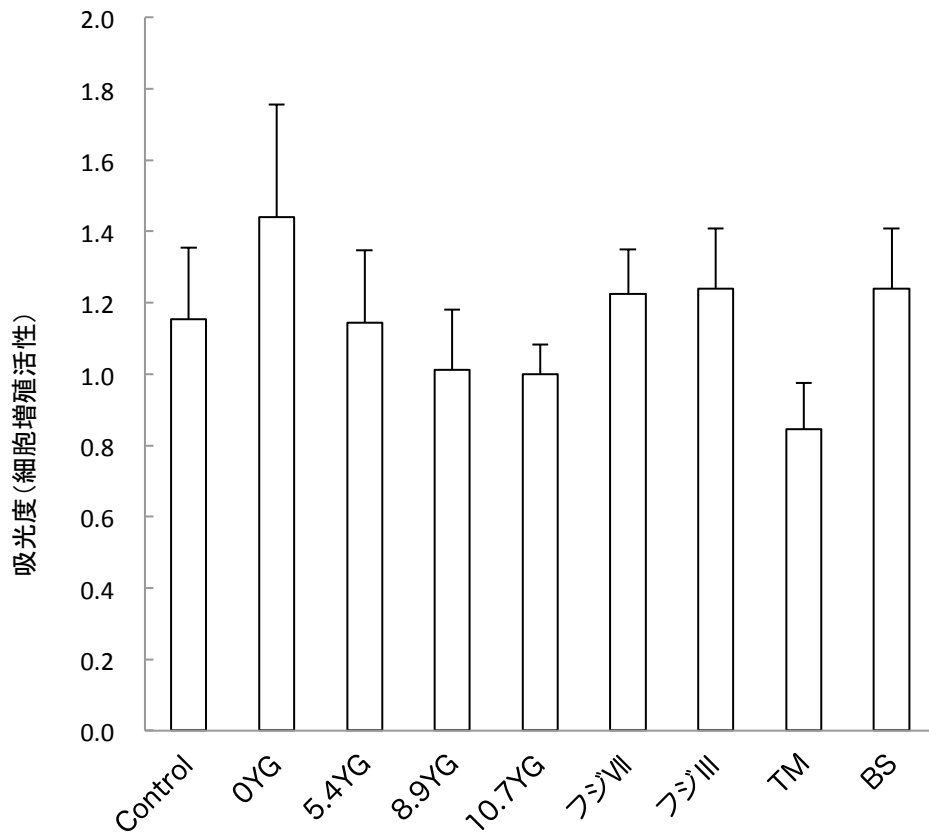


図10 細胞増殖活性