

論文題目

インプラント周囲炎の予防を目的とした
上部構造固定用セメントの開発に関する研究

ーフィチン酸含有試作セメントの抗菌性と細胞傷害性についてー

平成 27 年度

北海道医療大学大学院歯学研究科

笹本 洋平

【緒言】

近年、歯科領域ではインプラント補綴治療が多く行われており、その上部構造の固定にはセメント固定式とスクリュー固定式が広く使用されている。そのうち、セメント固定式は審美性が高く患者の満足度も高いが、セメントの残留によりインプラント周囲炎を惹起するといった問題を有する（畠山ら, 1999; Wilson, 2009; Korsch et al., 2014）。そこで、セメントの残留によるインプラント周囲炎を抑制するため、フィチン酸を含有するセメントに着目した。フィチン酸には歯垢形成を抑制する可能性があり（Nordbö & Rölla, 1972; Cole & Bowen, 1975）、また館山ら（2012）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いる。このセメントは、粉末にフルオロアルミノシリケートガラスを使用しており、フッ素徐放性を有することが予想され、臨床で広く使用されているガラスアイオノマーセメント（GIC）と同等、圧縮強度に関してはより優れた物性を有している。そこで本研究では、インプラント周囲炎の予防を目的として、フィチン酸含有試作セメント（試作セメント）の口腔内細菌と歯周組織由来細胞への細胞傷害性について GIC と比較・検討を行った。

【材料と方法】

試作セメントの粉末には市販の GIC の粉末に熱処理を施したものを使用し、液には 50% フィチン酸水溶液を用いた。粉液比は、物性が最も高くなるとの報告がある 2.2 g/1.0 ml で練和を行った。対照群に市販の GIC（Fuji I）を使用した。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* (*P. g*) と *Fusobacterium nucleatum* (*F. n*) の 2 菌種を抗菌性の実験に、また、ヒト歯周組織細胞として、ヒト歯肉上皮前駆細胞（HGEP）とヒト正常歯根膜細胞（HPDL）を細胞傷害性の実験に使用した。

セメント硬化体の抗菌性を検討するため、試作セメントあるいは Fuji I の硬化体を菌液に浸漬し、48 時間嫌氣的に培養し、その後生菌数を測定した。また、それぞれセメント硬化体の溶出液を用いて同様に実験を行い、生菌数を測定した。

セメント硬化体の細胞傷害性を検討するため、試作セメントあるいは Fuji I の硬化体の溶出液を用いて細胞を専用培地にそれぞれ播種し、1, 6, 12, 24, 48 時間培養した。その後細胞増殖試薬（WST-1）を用いて吸光度を測定し、細胞生存率を算出した。

抗菌性の機構解明を目的とし、試作セメントあるいは Fuji I の硬化体を 48 時間蒸留水中に浸漬し、溶出した元素を誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-AESC）とイオン電極にて定量した。

溶出した成分のうち、抗菌性への関与の可能性が疑われるフッ化物イオン (F^-)、アルミニウムイオン (Al^{3+}) およびフィチン酸の *P.g* および *F.n* に対する抗菌性を調べ、さらに、溶出濃度での F^- およびフィチン酸を *P.g* および *F.n* に複合添加することによる抗菌性も評価した。

【結果】

試作セメントの硬化体は、歯周病原性細菌である *P.g* および *F.n* とともに抗菌性を示し、Fuji I よりも高い抗菌性を示した。また歯周組織由来細胞である HGEP および HPDL に対して、試作セメントは、6 時間で Fuji I よりも低い細胞生存率を示したが、経時的に減少し 48 時間で 2 種のセメント群間に有意な差は認められなかった。

試作セメント硬化体の溶出液は、Fuji I 硬化体の溶出液と比較して F^- と Na^+ の量が少なくなっていた。

試作セメントの硬化体から、 F^- が 6.5 ppm, Al^{3+} が 1.3 ppm, フィチン酸が 6.2 ppm 検出された。試作セメントからの溶出量である上記の濃度で、各イオンは *P.g* および *F.n* に対して抗菌性を示さなかったが、 F^- とフィチン酸を複合添加することで高い抗菌性を示した。

【考察】

試作セメント群は、*P.g* および *F.n* 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、2 種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。また、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。

試作セメントが細胞傷害性を示したことは、抗菌性と同様、 F^- に加えてフィチン酸によるものと考えられる。しかし、48 時間後に 2 つのセメント群間に有意差を認めないことから、臨床実用にあたって特に大きな問題とはならないと考えられる。

試作セメント群から溶出した F^- と Na^+ の量が Fuji I 群よりも少なくなっている理由は、熱処理によって結晶化したガラス粉末の溶解性が低下したためと考えられる。

溶出したイオンの抗菌性を評価したところ、溶出濃度でのフィチン酸単独で抗菌性は示さないが、試作セメント硬化体は抗菌性を示した。Kim & Rhee (2015) はフィチン酸と塩化ナトリウムの相乗的殺菌効果を報告しており、今回の実験結果は F^- とフィチン酸の複合効果による可能性が考えられ、 F^- とフィチン酸を複合添加した実験からもその可能性を示している。したがって、試作セメントの抗菌性はフィチン酸単独ではなく F^- との複合効果による可能性が

高いと考えられる。

【結論】

試作セメントは1時間ではHGEPおよびHPDLに対する細胞傷害性を認めず、*P. g*および*E. n*に対しグラスアイオノマーセメントよりも高い抗菌性を示すことが明らかとなった。また、試作セメントが有する抗菌性は、液成分のフィチン酸と粉末に含まれるF⁻の複合効果により発現している可能性が高いことがわかった。

これらの結果から、フィチン酸含有試作セメントは、良好な操作性、優れた物性ならびに高い化学的安定性を有し、かつインプラント周囲炎を予防する機能を発現するインプラント上部構造固定用セメントとして、臨床応用が可能な有望なセメントであることが示唆された。

【文献】

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.

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. 東北大歯誌 18 : 166-174, 1999.

Kim NH & Rhee MS. Phytic Acid and Sodium Chloride Show Marked Synergistic Bactericidal Effects Against Non-adapted and Acid-adapted *Escherichia coli* O157:H7. Appl Environ Microbiol 4: 03307-03315, 2015.

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, 2014.

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.

舘山元一, 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.