

## 抗プラーク性を有する機能性高分子材料の開発

山 本 宏 治 大 橋 静 江 作 誠太郎

### Development of Anti-plaque Composite Restorative Materials

YAMAMOTO KOHJI, OHASHI SHIZUE and SAKU SEITARO

二次齲蝕発生を抑制するためには修復材料に抗菌性の付与が要求される。銀を含有するガラスアイオノマーセメントは溶出するフッ素と銀により抗齲蝕性を有することが従来から知られている。当教室の *in vitro* の実験においても、銀を含有するガラスアイオノマーセメントは口腔内細菌に対して抗菌性を発揮した。このため、銀の抗菌性をコンポジットレジンに应用する目的で、銀を含有するフィラーを2種類作製したところ、双方のフィラーともに口腔内細菌に対して顕著な抗菌性を発揮した。これらのフィラーは抗齲蝕性を有するコンポジットレジンあるいはガラスアイオノマーセメントの開発に非常に有用であることが示唆された。一方、ガラス表面にガラスアイオノマー相を有するS-PRGフィラーを含有するコンポジットレジンが近年開発され、本レジンの抗プラーク性が明らかにされた。この抗プラーク性は、本レジンのフッ素溶出に加えリチャージ能に由来する。当研究室で行ったSEM観察においても本レジンの抗プラーク性が観察され、プラーク形成に関与するペリクルではなく、レジン表面に“フィルム層”が観察された。我々は、この“フィルム層”が初期プラークのリセプターとしては働かず、細菌の付着を阻害する働きを有していると確信した。このプラーク付着に関する阻害機構はさらに検討する必要がある。

キーワード：コンポジットレジン、抗プラーク性、銀イオン、フッ素イオン、機能性高分子材料

*Most dental restoration materials require an antibacterial element that inhibits secondary caries. Silver glass ionomers have been used as potential caries-preventive restoration materials because of the antibacterial effect of the fluoride and silver they release. Because our *in vitro* experiments showed that silver glass ionomer cement had antibacterial activity against oral bacteria, we developed two types of filler containing silver. Both newly developed fillers demonstrated significantly reduced viability of oral bacteria and these results suggested that silver might be very useful in the development of antibacterial dental materials, such as composite resin and glass ionomer cement. In contrast, Beautifil<sup>®</sup> which contains S-PRG filler (a new material incorporating fluoride alumino-silicate glass, which has glass ionomers on its surface), has been demonstrated to have an anti-dental plaque effect. It is considered that this resin has anti-plaque characteristics because it releases and recharges fluoride. Our SEM investigation demonstrated that S-PRG filler appears to be a restorative material with anti-dental plaque characteristics. Although salivary proteins act as receptors for early colonizing bacteria in the pellicle normally, and the first contact between bacteria and the tooth surface is always via the pellicle, our SEM analysis showed material film on the Beautifil<sup>®</sup> resin surface. We speculated that the material film did not act as a receptor for bacterial colonization, and that salivary components mediate material film formation on the resin surface and interfere with bacterial aggregation. The mechanism of this interference requires further investigation.*

Key words : Anti-plaque, Silver ion, Fluoride ion, Composite resin

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯冠修復学分野  
〒501-0296 岐阜県瑞穂市穂積1851  
Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation  
Asahi University School of Dentistry  
Hozumi 1851, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan

## はじめに

齲蝕を初めとする歯の疾患はデンタルプラークによって引き起こされ、そのプラークは全身性の疾患にも影響を与えるとされている。従って、齲蝕の修復にはプラークに強い材料を用いるべきである。これからの齲蝕治療は、その進行をとどめる従来型の治療(充填を主とした治療)から再発を防ぐための治療に向かうことはもはや疑いの余地はない。齲蝕治療を行う際、再発を防ぐ目的で齲蝕エナメル質および齲蝕象牙質を種々のインスルメントを用いて可及的に除去を行い、接着修復法を用いることによってその再発は減少傾向にあることは事実ではあるが、修復物表面にプラークが蓄積しやすいことから今日においても修復物の周囲、その隣接歯および歯周組織に二次的な損傷を引き起こすことも現実であり、今後の齲蝕治療はその再発防止に着眼した治療法を確立する必要がある。

接着技法の急激な進歩から初期齲蝕の治療にコンポジットレジン修復が多用されている。本法は歯質接着性を有し、従来型の基本的な窩洞(ブラックの窩洞)にとらわれず、齲蝕部のみを取り除くことで修復治療が行え、健全な歯質の削除量が少ないという利点を持つ。また、コンポジットレジンにはフィラーとベースレジンから構成される高分子材料であり、そのほとんどがフィラー(無機材料)で構成されている。

我々は、高分子材料であるコンポジットレジンのフィラーに機能性を与えることで抗菌性あるいは抗プラーク性を有する材料の開発を試みている。そこで本稿では、機能性を有する高分子材料について細菌学的な立場から論述する。

## フィラーへ特異的に付着する細菌

Yamamotoら<sup>1-3)</sup>の一連の実験で、コンポジットレジンの表面に *S. oralis* を初めとする non mutans streptococci が初期付着細菌として優位に分離され、さらに初期付着細菌の *S. oralis* の付着性には菌体外膜様構造物が関与し、その付着部位はコンポジットレジンの主要構成成分であるフィラーに局限することが明らかにされている(図1)。

## 抗菌性を有するガラスイオノマーセメント

Wilson and Maclean<sup>4)</sup>は、修復後の二次カリエスの発症を考えるとコンポジットレジンよりガラスイオノマーセメントの方が有用であると報告し、Forssら<sup>5)</sup>は、ガラスイオノマーセメントより放出されるフッ素が、プラーク中の細菌の酸産性を抑制すると述べている。また、粉末に銀を加えたシルバーガラスイオ

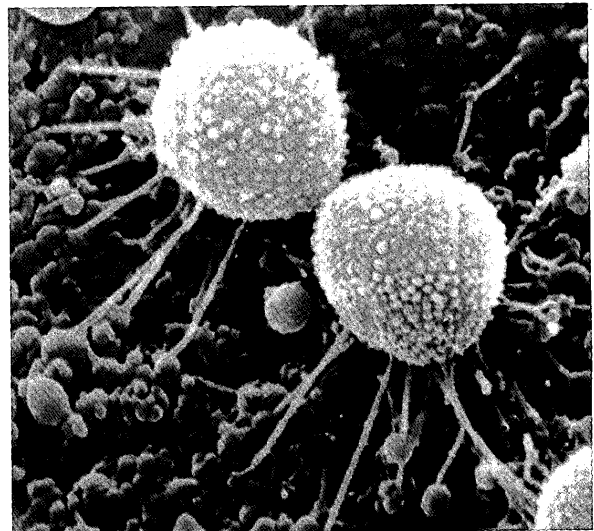


図1 コンポジットレジンのフィラーに特異的に付着する *Streptococcus mitior*

ノマーセメントについては mutans streptococci の発育を明らかに抑制するとされ、本セメントより放出される銀イオンおよびフッ素イオン、ならびにこれら2つのイオンの相互作用が細菌の増殖を抑制することを、Oppermannら<sup>6,7)</sup>は報告している。そこで、シルバーグラスアイオノマーセメントが *in vitro* で抗菌性を発揮するかを検討するため、次の実験を行った<sup>8)</sup>。供試細菌種として streptococci の基準菌株である *S. mutans* ATCC25175をTSBYにて培養し、reduced transport fluid (pH7.2, RTF)を用いて  $1 \times 10^6$  cells/ml に調整した後、各調整菌液中にセメント片を浸漬した。また菌液のみをコントロールとした。菌数の測定は、2, 6および12時間後に、RTFを用いて10倍連続希釈した後、各希釈液の0.1mlをTSBY平板培地にて培養した。培養後、100個程度のコロニーの発育が認められた平板を選んで菌数を測定した。その結果(図2)、銀を含むKetac-Silverでは、2時間後に  $5.73 \times 10^6$  cells/ml、6時間後に  $4.07 \times 10^5$  cells/mlそして12時間後には生菌数は  $6.25 \times 10^1$  cells/mlであった。これに対し、銀を含まないKetac-CEMでは、生菌数はコントロールと比較して変化は認められなかった。シルバーグラスアイオノマーセメントは乳歯の隣接面齲蝕の修復処置に多用され、修復後の二次齲蝕の発生率が他の修復材料と比較して顕著に低いことが知られている。図2に示した *in vitro* での結果はこの事実を支持するものであり、銀を含まないガラスイオノマーセメントでは同様の抗菌効果は認められないため、修復材料に銀を応用する有用性が示唆された。

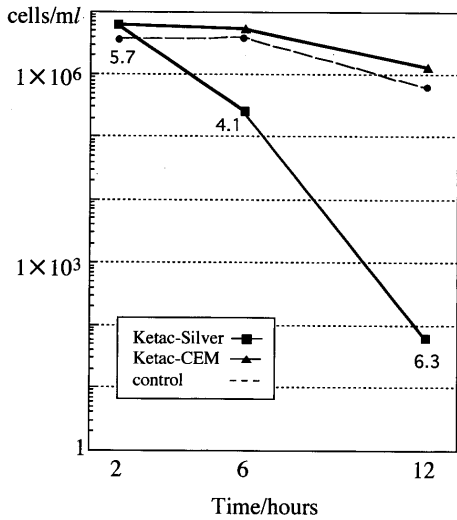


図2 Changes of CFU of *Streptococcus mutans* after immersion with Ketac-Silver (■), Ketac-CEM(▲) of glass ionomer cements and control(●)

銀イオン注入フィラー

近年、半導体へのイオン注入法を基にしたセラミック材料の表面改質に関する研究<sup>9,10)</sup>が、徐々に種々の分野の材料化学の領域へ広げられ、現在は、生体適合性材料として人工骨および抗血栓材料等が臨床に利用されている。図3にイオン注入装置の模式図を示しており、図4にはフィラー内部への銀イオン注入理論を示している。本法の歯科領域への応用を有意と考え、コンポジットレジン製のフィラーへの銀イオン注入を試みた<sup>11,12)</sup>。本法は注入エネルギーが高くなるにつれ深層へイオンが入り込み、一方、注入エネルギーが低いと注入層が浅くなる傾向にある。従って、注入エネルギーが低いと銀イオンが溶出されやすい。今回の注入

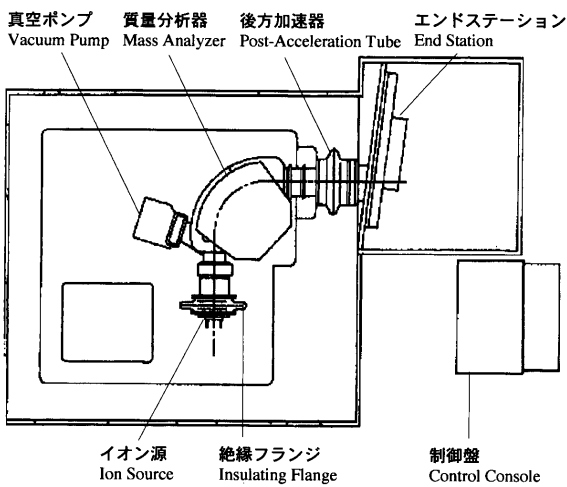
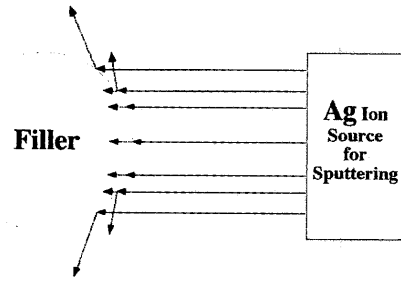
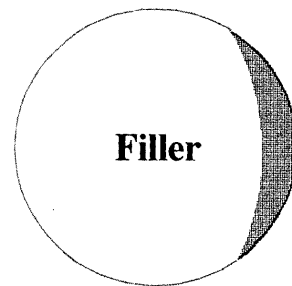


図3 イオン注入装置の模式図

条件は半導体領域ではほとんど用いることがない20 keVという低い注入エネルギーであった。得られた銀イオン注入フィラーは、oral streptococciに対して抗菌性を発揮した(図5)。生菌数は作用6時間後に臨床



Possible machinery of implantation



Possible distribution of Ag ion

図4 フィラー内部への銀イオン注入理論

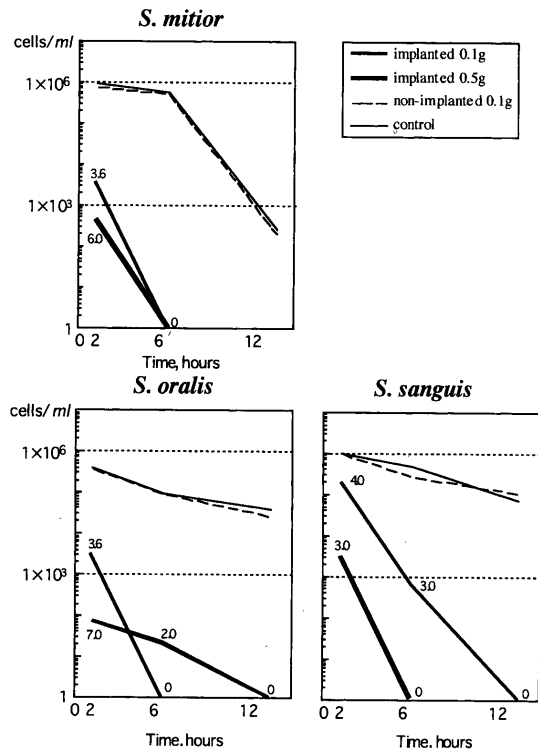


図5 銀イオン注入フィラーの臨床分離株に対する抗菌性

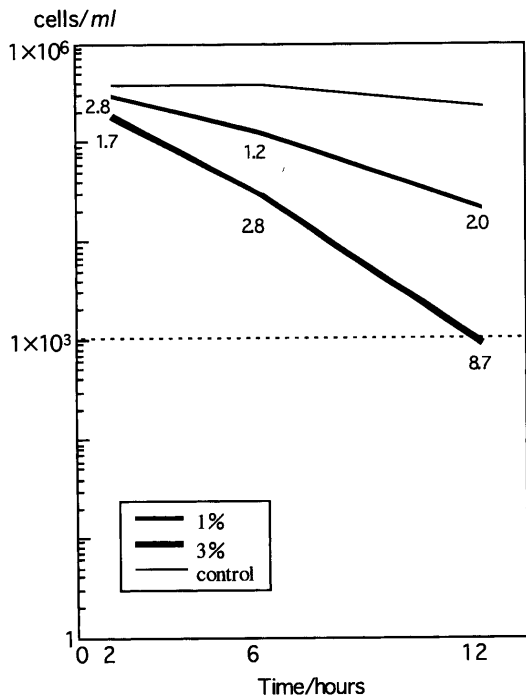


図6 銀イオン注入フィラーを含有する試作コンポジットレジンのStreptococcus mutansに対する抗菌性

分離株3種(*S. mitior*, *S. oralis*, *S. sanguis*)とも  $1 \times 10^3$  cells/ml以下に減少し、基準菌株(*S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*)についても作用12時間後には3菌種とも生存菌数は  $1 \times 10^3$  cells/ml以下であった。また、銀イオンの溶出量とその抗菌性には相関性を認め、さらに溶出量は0.03696ppmと極微量であった。

しかしながら、コンポジットレジンにはBis-GMAなどを主体とするベースレジンとシリカ、ガラスなどのフィラーから構成されるため、銀を注入したフィラーを

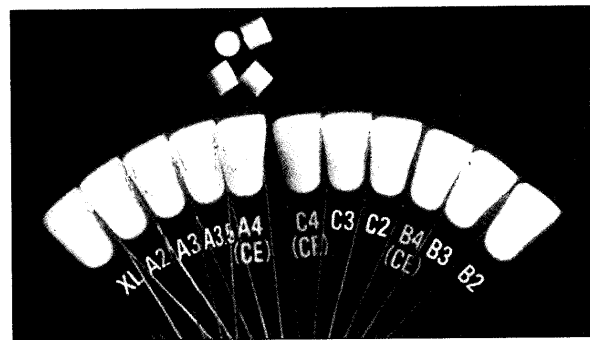


図7 銀イオン注入フィラーを含有する試作コンポジットレジン

含有するコンポジットレジンが実際に抗菌性を発揮するかどうか重要である。図6に示したのが、今回作製した試作コンポジットレジン抗菌性試験の結果である。レジン体からの銀イオンの溶出が示唆され、本フィラーを含有する試作コンポジットレジン*in vivo*での抗菌性が期待される。さらに、得られた試作コンポジットレジンの色調はシェードガイドのA3からA4に近く、銀の影響は認められなかった(図7)。

銀または銀化合物が細菌に抗菌性を示すことは古くから知られており<sup>13,14</sup>、これに関する研究は多く、また種々の分野でその抗菌効果は利用されているが、銀の菌体への影響を検討する目的で、銀標準液( $AgNO_3$ )を*S. mutans*に作用させ、これをTEMにて観察したところ、菌体膜に銀のコロイド状のものが存在し、菌体内部にそのようなものは認められなかった(図8)。また、STEMの結果から菌体外膜および菌体膜に銀が検出され、菌体内部からは銀は検出されなかった。これは、Bergerら<sup>15</sup>の報告と同様であり、銀が菌体膜の合成に何らかの影響を及ぼしていることを確認した。

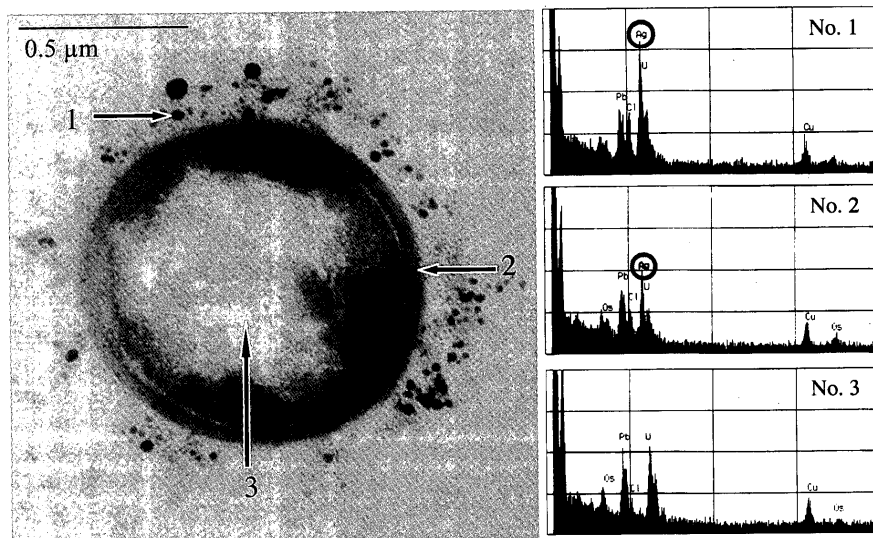


図8 銀を作用させたStreptococcus mutansのTEM像(左)とSTEMによる銀の検出(右)

銀を含有するシリカガラス

前項では、銀イオンを特殊な装置を用いてフィラーに注入する方法について述べたが、本法は非常に高コストであるという問題があり、この点を解決するために用いたゾルーゲル法を以下に述べる。ゾルーゲル法は金属の有機または無機化合物を溶液とし、溶液中で化合物の加水分解・重縮合反応を進ませてゾルをゲルとして固化し、ゲルの加熱によって酸化物固体を作製する方法である<sup>16)</sup>。本法は溶液を出発点とし、ゲル化にあたって希望する形状に成形、次に加熱することによりゲルをガラスまたはセラミックスに変えることが出来る。我々は、このゾルーゲル法の歯科領域への応用を有意と考え、ゾルーゲル法により、 $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-Ag}_2\text{O}$ 系ガラス(Agシリカガラス)を作製した<sup>17,18)</sup>。Agシリカガラス各0.0005g, 0.005gおよび0.01gについての*Streptococcus mutans*に対する抗菌性試験の結果を図9に示した。Agシリカガラス0.0005gでは、作用2時間後に $1.2 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ 、そして作用12時間後では $3.5 \times 10^2 \text{ cells/ml}$ であった。Agシリカガラス0.005gでは、作用2時間後に $3.7 \times 10^2 \text{ cells/ml}$ 、そして作用12時間後では生存する菌は認められなかった。Agシリカガラス0.001gでは、作用2時間後以降から生存する菌は認められなかった。さらに本ガラスを含有する試作コンジットレジンにおいても抗菌性を発揮することを確認した。しかしながら、本法における問題は図10左に示したように作製したフィラーに着色が認められることであった。これは銀の含有量の上昇あるいは空気中の酸素との反応に伴い着色度が増加するという銀特有の問題であった。当時共同研究を行っていた京都大学工学部小久保教授がこの問題を解決するために行ったのがアルミニウムを微量に加える事であった。図10右に示したように本ガラスを含有するコンジットレジンには十分に臨床応用が可能である事が示唆され、またその他の修復材料にも応用可能であると考えられた。

Agシリカガラスを含有する  
ガラスアイオノマーセメント

図11には4 wt%のAgシリカガラスを含有する試作ガラスアイオノマーセメントの、oral streptococciおよび*A. viscosus*に対する抗菌性を示した<sup>19)</sup>。供試セメントについては、Agシリカガラスの含有量の増加に伴い生菌数が減少する傾向にあり、50wt%のセメントで*S. mutans*の12時間後の生菌数は $9 \times 10^2 \text{ CFU/ml}$ 、*S. oralis*ではほとんど細菌の発育は認められず、*A. viscosus*では $1.4 \times 10^3 \text{ CFU/ml}$ であった。試作ガラスア

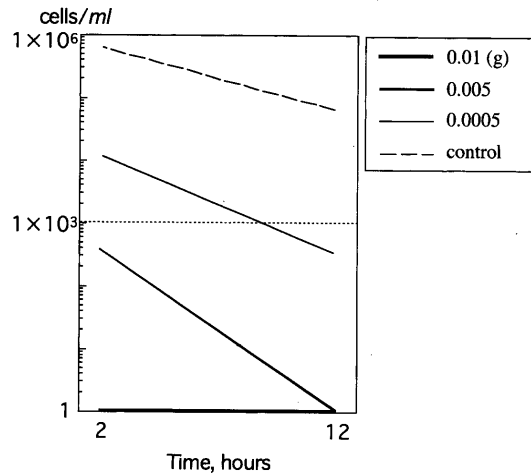


図9 Agシリカガラスの*Streptococcus mutans*に対する抗菌性

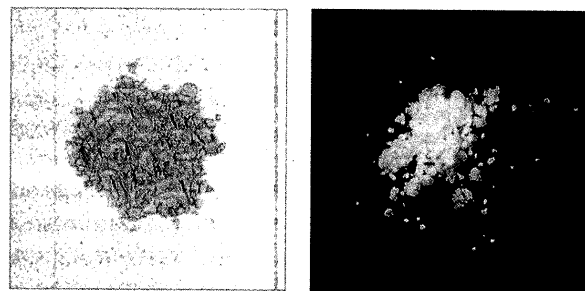


図10 ゾルーゲル法により作製したAgシリカガラス  
左：アルミニウムを含まない  
右：アルミニウムを含む

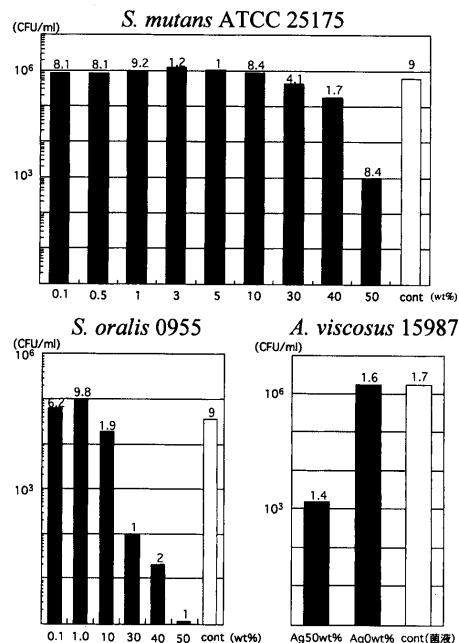


図11 Agシリカガラス含有ガラスアイオノマーセメントに12時間浸漬した各菌種の生菌数

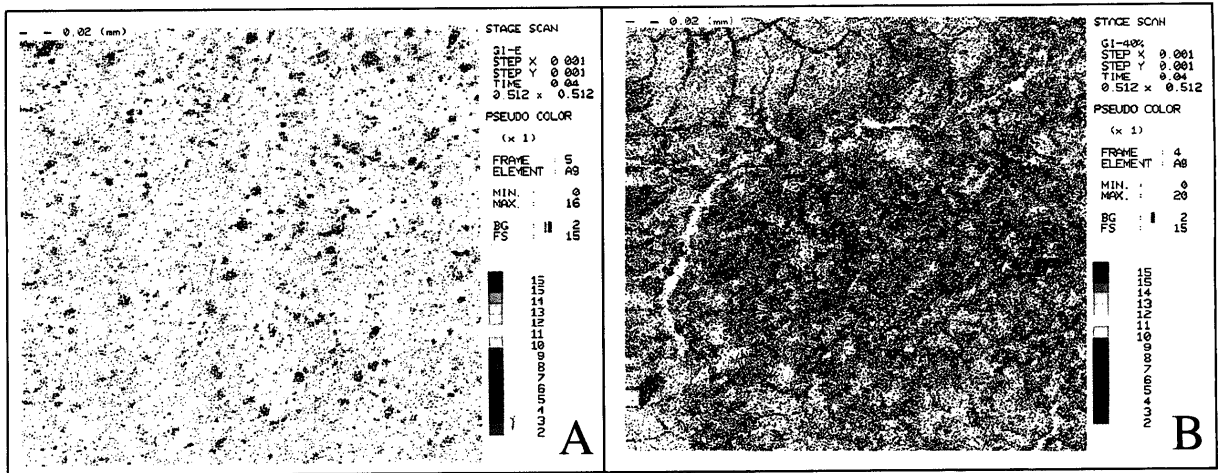


図12 Agシリカガラス含有グラスアイオノマーセメントのEPMA像  
A : 5 wt%含有 B : 40wt%含有

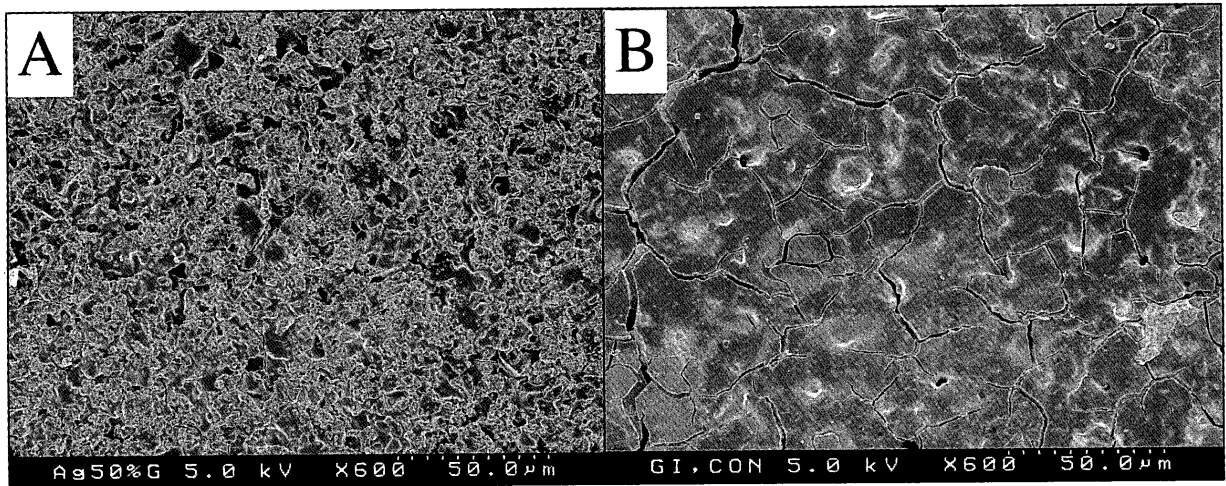


図13 Agシリカガラス50wt%含有グラスアイオノマーセメントのSEM像  
A : Agシリカガラス50wt%含有グラスアイオノマーセメント  
B : コントロール

イオノマーセメントからの銀イオンの溶出量は極微量であり、その値は抗菌性試験に使用したセメント片3タブレットは0.0092ppmであった。また、供試したセメントの表面をEPMAで観察した結果(図12)、Agシリカガラスの含有量に依存して、その表面に多くの銀の存在が確認され、50wt%のセメントのSEM像では、セメント表面に多量のAgシリカガラスが観察された(図13)。供試したAgシリカガラスを含むグラスアイオノマーセメントの細菌付着性に関して、無機物質に強固に付着する*S. oralis*の試作セメントへの細菌付着率(付着率:0.13~0.18%)は対照のKetac-Silverグラスアイオノマーセメント(付着率:0.35%)よりやや低い値を示した(表1)。付着部にセメントから溶出する銀イオンが関与しているかについては、今回の実験方法では明らかにすることができないことから、分析能の

表1 Agシリカガラス含有グラスアイオノマーセメントへの*S. oralis* 0955の細菌付着性試験

Agシリカガラス含有量(wt%)	付着率(%)
0.1	0.18
1	0.14
10	0.16
30	0.15
40	0.13
50	0.18
Ketac-Silver	0.35

高い電子顕微鏡などを用いて新たな実験方法を見出す必要がある。

供試セメントの物性については、圧縮強さではAgシリカガラスを含有しないグラスアイオノマーセメン

トの10分の1以下であり、また、象牙質への引張接着強さは測定が不可能であった。これは、粉末に多量のAgシリカガラスを混入させたため、本来セメントの持つ物性を低下させたものと考えられ、さらに、セメントの表面の銀の酸化により、経時的な色調の変化が認められた。今回、供試したAgシリカガラスはゾルーゲル法を用いて作製したガラスであり、この方法を応用してガラスアイオノマーセメントの粉末であるアルミノシリケートガラスを対象に銀を含むアルミノシリケートガラスを作製することが可能であると考えことから、抗菌性および物性面においても安定した銀含有ガラスアイオノマーセメントの開発に今後、着手して行く予定であり、この種の材料が、根面部の齲蝕治療の確立に重要な役割を果たすものとする。

### フッ素溶出性コンポジットレジン

ガラスアイオノマーセメントのフッ素溶出は古くから注目されてきたが<sup>19,20)</sup>、近年、ガラスアイオノマーセメントの本体であるフッ素溶出性のアルミノシリケートガラス含有コンポジットレジン(S-PRGレジン)が開発された<sup>21)</sup>。含有されるS-PRGフィラーは予め酸反応性フッ素含有ガラスとポリアクリル酸を水存在下で十分に反応させ、表面のみガラスアイオノマー相が形成されたフィラーである。本レジンにはガラスアイオノマーセメントと同様にフッ素リリース能およびフッ素アップテイク能を有することが明らかにされているため、S-PRGレジンに抗プラーク性は注目される。当教室で行った実験では、各市販コンポジットレジンCLEARFIL(クラレ, CL, 図14)、LITE-FILL II(松風, LI, 図15)、PALFIQUE(トクヤマソウダ, PL, 図16)では、いずれのコンポジットレジンにおいても成熟した24時間プラークの形成を認めたが、S-PRGレジン(図17)の表面に関してはプラークの形成はほとんど確認されなかった<sup>22)</sup>。さらに、ESEM観察の結果、S-PRGレジン表面には3種類のフィラーが認められたことから(図18)S-PRGフィラー、超微粒子アルミナフィラー、およびMFガラスフィラーのそれぞれを含む単一フィラー配合のレジンを試作し、それぞれの試作レジンとベースレジンのみの表面へのプラーク形成の状態を比較検討した(図19)。その結果、S-PRGフィラーのみ含むレジンではS-PRGレジンと同様にプラークの形成はほとんど認められなかった。残りの試作レジンに関してはベースレジンを含めそれぞれのレジンの表面に成熟した24時間プラークの形成が観察された。これらの成績からS-PRGフィラーのフッ素溶出機能が抗プラーク性に関与したものと示唆された。

口腔内で修復されたコンポジットレジンに常に唾液

中細菌の影響を受ける。このことから、試作レジンへの細菌付着性も併せて検討したところ、抗プラーク性を認めたS-PRGフィラー単一レジンと他の試作レジン(ベースレジン、超微粒子アルミナフィラーおよびMFガラスフィラー)との間でその付着性に差は認められず、SEM所見でも細菌付着像に顕著な違いを認めなかった(図20, 21)。供試材料に関しては無処理の状態では付着性を検討したものであるが、上述のように口腔内ではコンポジットレジン表面は常に唾液の影響を受ける。今回得られた結果で細菌付着性と抗プラーク性との直接的な関係において相関性を認められなかったことから、S-PRGレジンに抗プラーク性には唾液中タンパク等の構成成分が強く関与している可能性が示唆される。

### S-PRGレジン表面に形成されるフィルム層が抗プラーク性に果たす役割

口腔内では供試材料は常に唾液の影響を受けることから、S-PRG配合のレジン表面においては唾液成分の影響を受け、そこに形成されるペリクル様のものが抗プラーク性に関与しているのではないかと推測される。ここでは、S-PRGを主体フィラーとするレジンを試作し、口腔内でその表面における12時間プラークの形成性について述べる<sup>23,24)</sup>。方法は下記のとおりであった。供試材料にはS-PRGフィラー配合量の異なる3種類の試作レジン片(各4片、2×2×0.5mm)を用いた。S-PRGフィラーの充填量は10, 40および70wt%であり(A:10wt%, B:40wt%, C:70wt%)、ベースレジンにはBis-GMAとTEGDMAモノマーを使用し、その割合は60:40であった。また、対象としてS-PRGフィラー79.9%配合のビューティフィルコンポジットレジン(SHOFU, BFレジンと略す)を用いた。当研究室男性歯科医師5名の口腔内(上顎第1大臼歯頬側面)に材料を装着し、8, 12および24時間経過後に歯表面からそれらを取り出し、4℃条件下で2%グルタルアルデヒドにて2時間前固定した後、1%四酸化オスミウムで2時間後固定を行い、次いで脱水、乾燥および蒸着を行った。その後、試料表面およびその断面をSEMにて観察した。なお、試料片を口腔内に装着している間においては12時間ブラッシングを停止した。人工唾液<sup>25)</sup>は健康成人男性3名から採取後、唾液中に含まれているタンパク分解酵素などの酵素活性を失活させるために、60℃で30分間加熱処理を行った後、遠心分離にて沈査を取り除き、0.45μmのミリポアフィルターで濾過を行った。次いで、アジ化ナトリウムを0.004%になるように加え、使用時まで4℃で保存した。供試材料の浸漬は24時間と72時間行い、通法に従

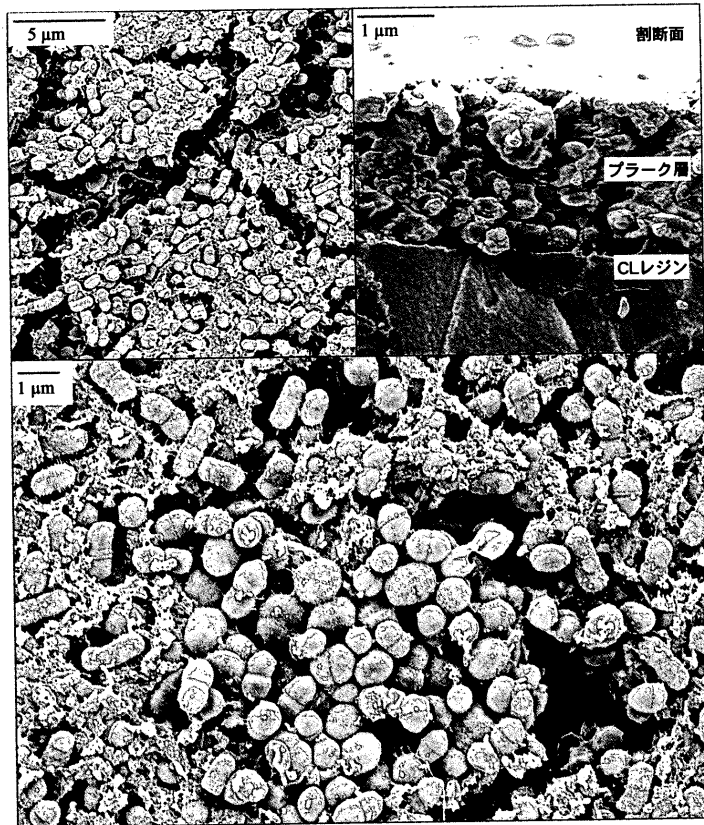


図14 クリアフィル表面に形成された24時間ブラークのSEM像

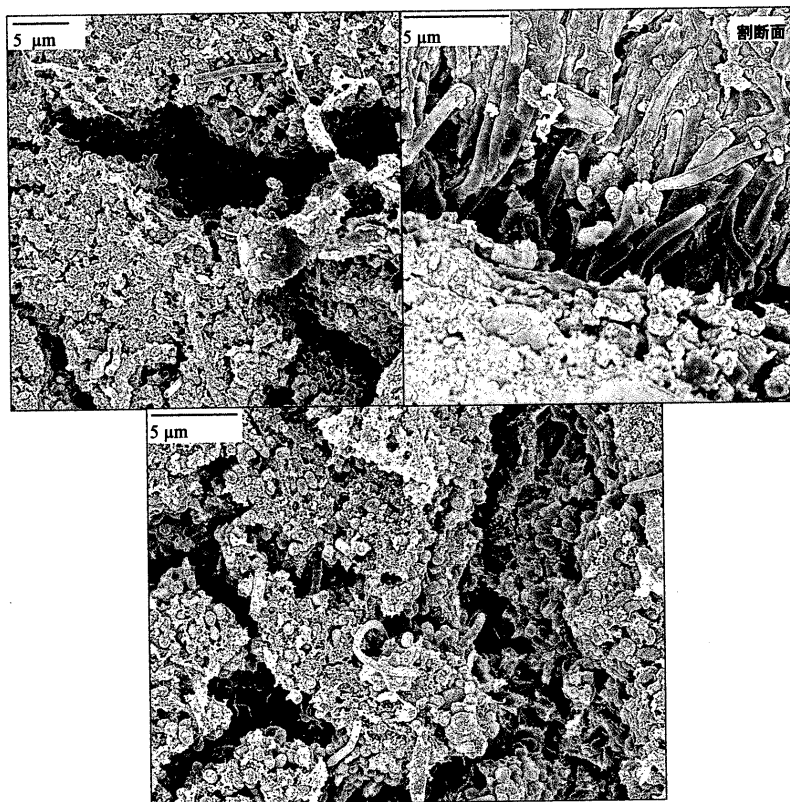


図15 ライトフィル表面に形成された24時間ブラークのSEM像



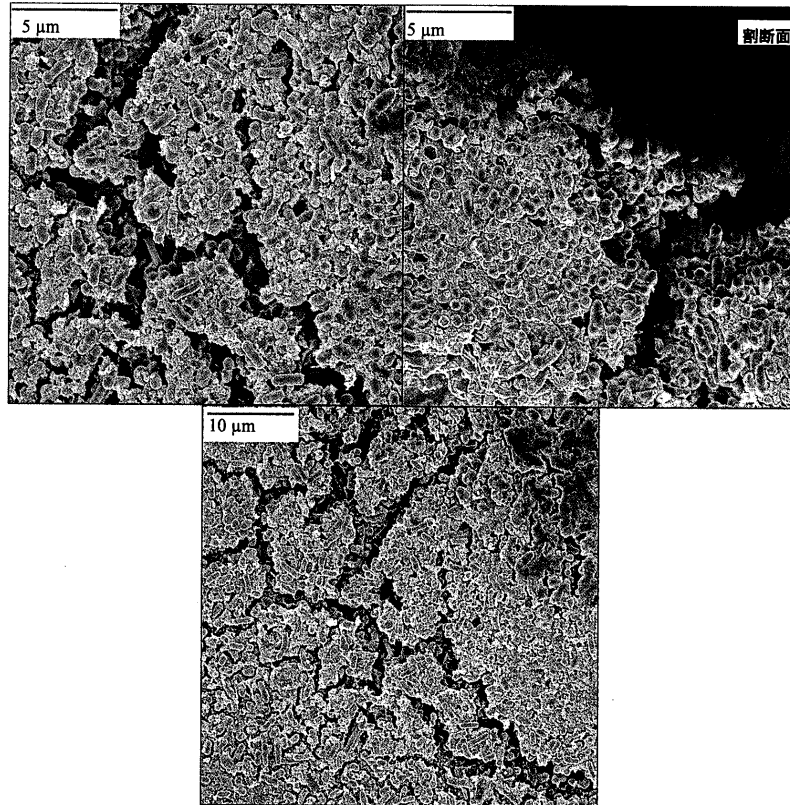


図16 パルフィーク表面に形成された24時間ブラークのSEM像

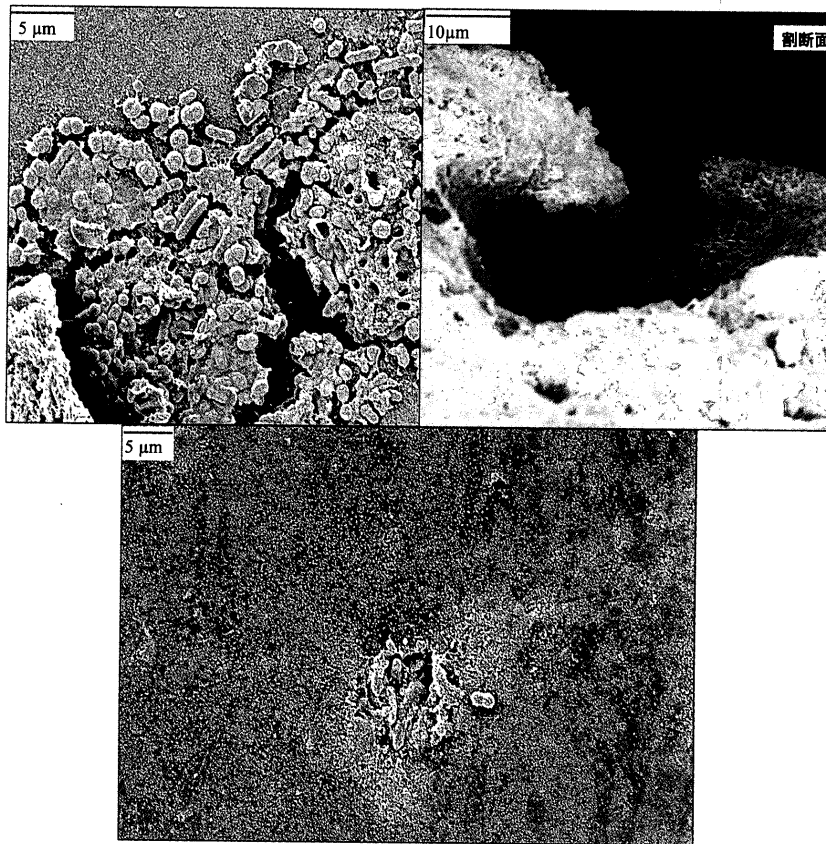


図17 ビューティフィル表面に形成された24時間ブラークのSEM像

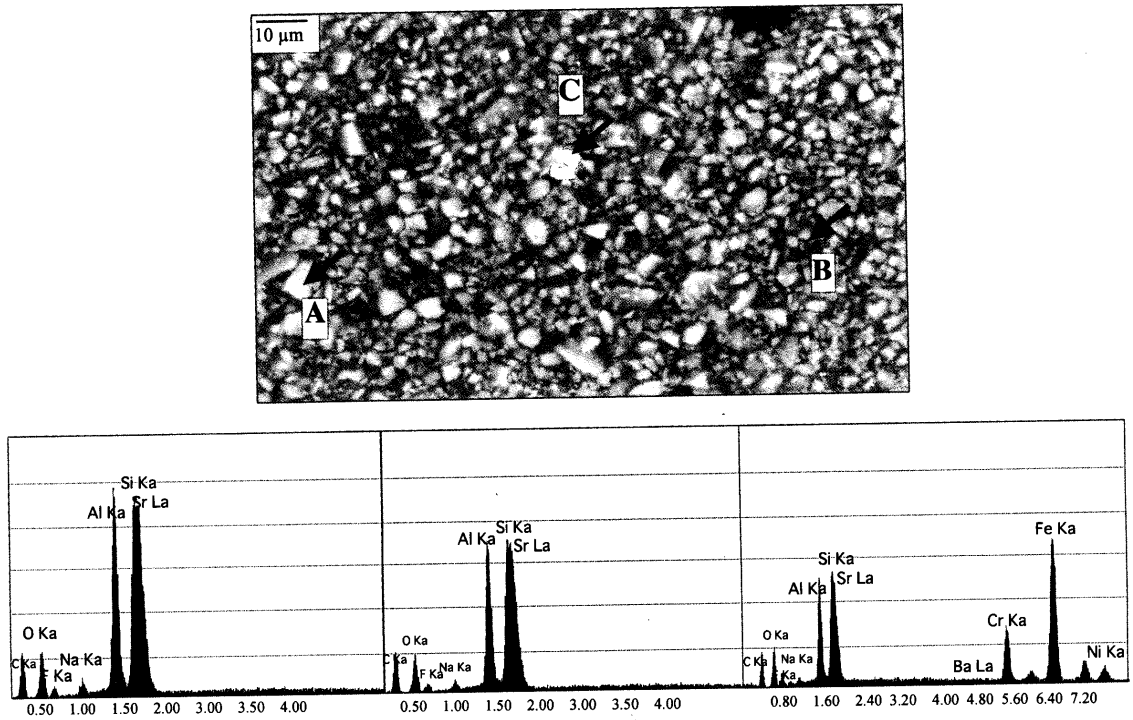


図18 S-PRGレジンの表面のESEM像

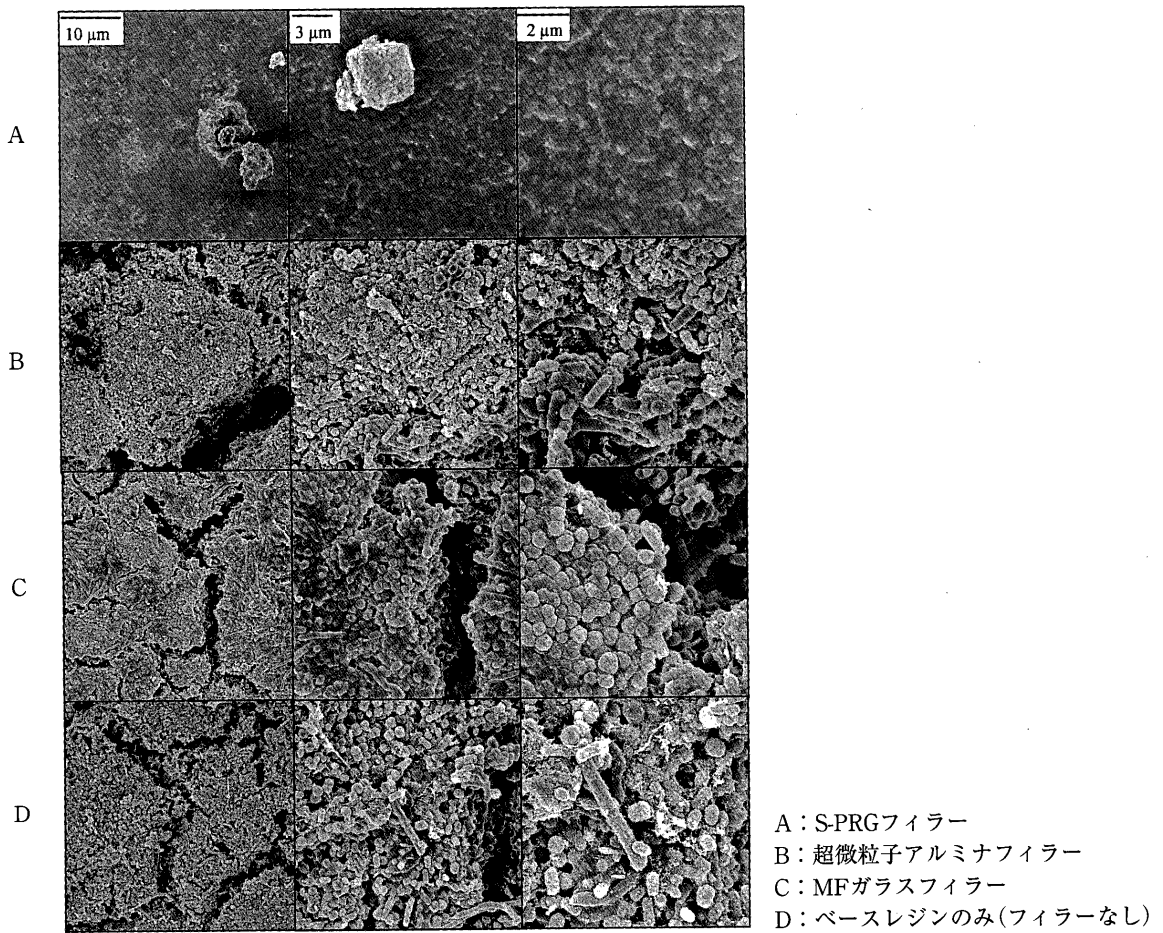


図19 試作レジンの表面に形成された24時間プラークのSEM像

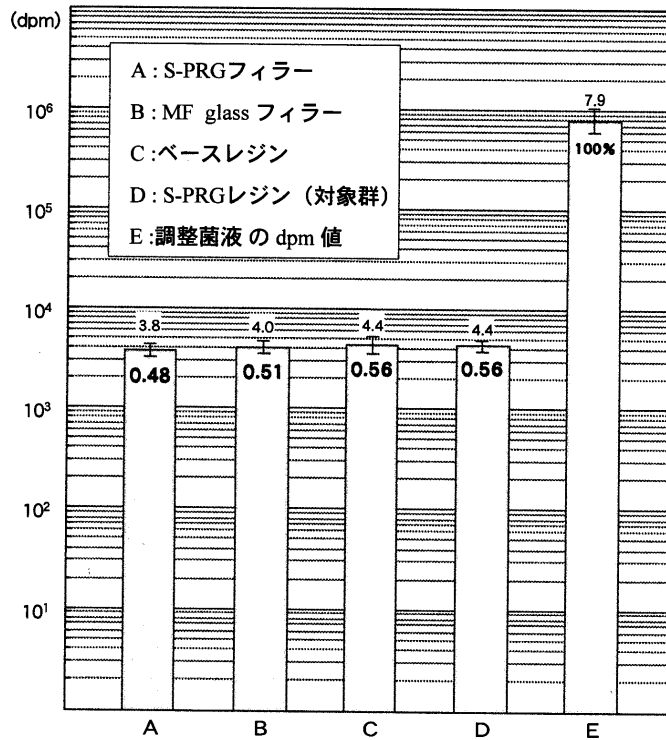


図20 各種試作レジン表面への*S. oralis*の付着性

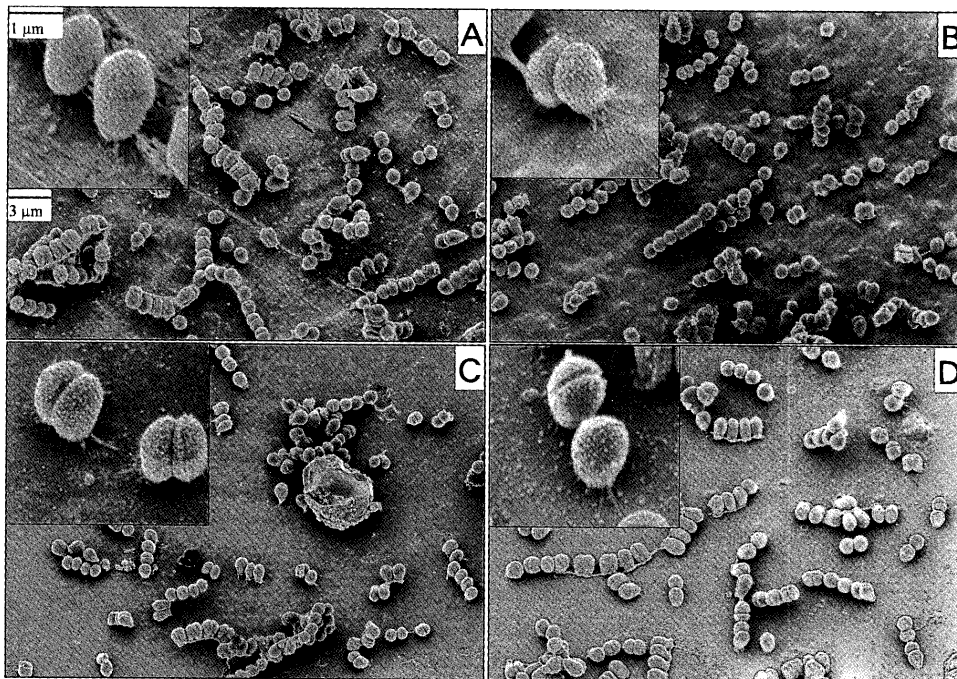


図21 付着細菌SEM像

ってSEM観察用試料を作製し、レジン表面を観察した。なお、EDS分析にはエネルギー分散型X線分析装置EMAX-7000(HORIBA. Super Xerophy)を使用した。

各種S-PRGレジンを経口内に装着した結果、抗プラーク性が確認され、断面SEM像ではレジン界面にフィルム様構造物の存在が観察された(図22～

24)。24時間装着したレジン表面に局所的ではあるが、プラークの形成を認め、プラーク直下にはフィルム様構造物は観察されなかった。この結果は、抗プラーク性にS-PRGレジン表面に形成されるフィルム様構造物が強く関与していることが示唆される。

コンジットレジンをはじめとする修復材料の表面は

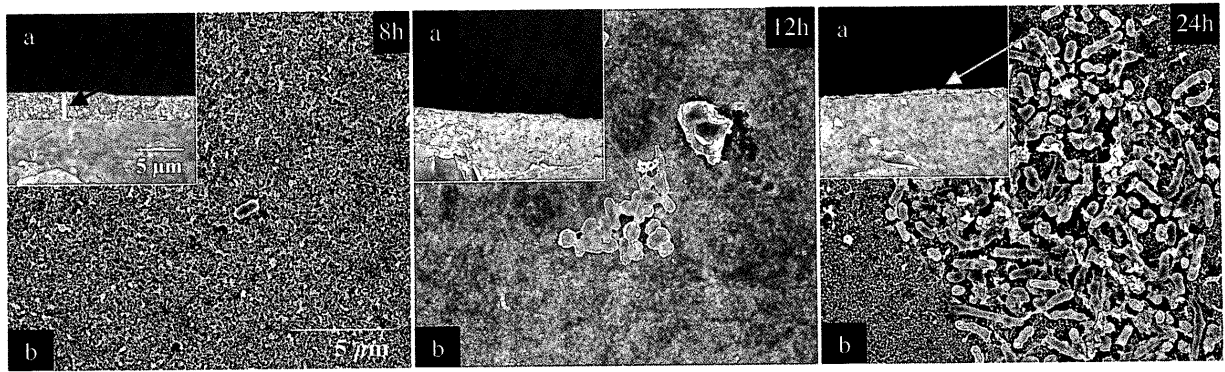


図22 Aレジン(S-PRG 10.0wt%)に表面に経時的に形成されたプラークのSEM像  
a: 断面SEM像, b: 表面SEM像, 赤矢印: フィルム層, 水色矢印: 球菌および桿菌

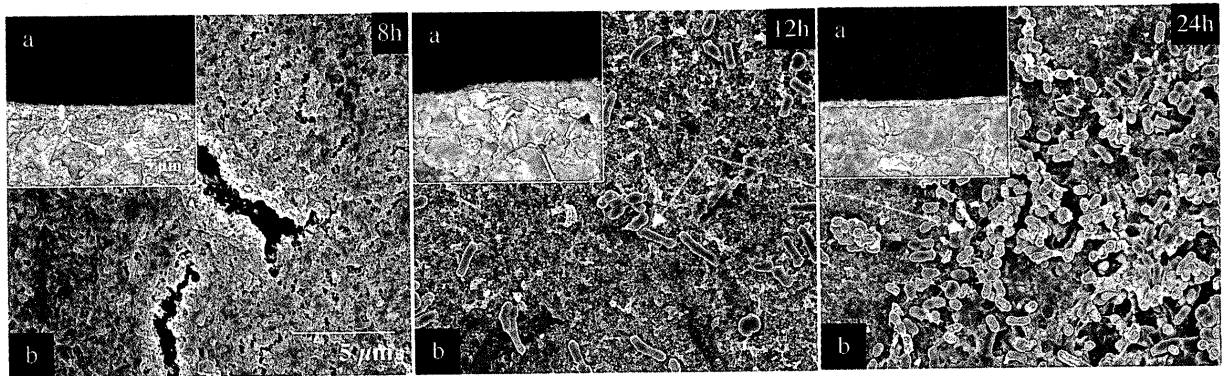


図23 Bレジン(S-PRG 40.0wt%)に表面に経時的に形成されたプラークのSEM像  
a: 断面SEM像, b: 表面SEM像, 赤矢印: フィルム層, 水色矢印: 初期プラーク

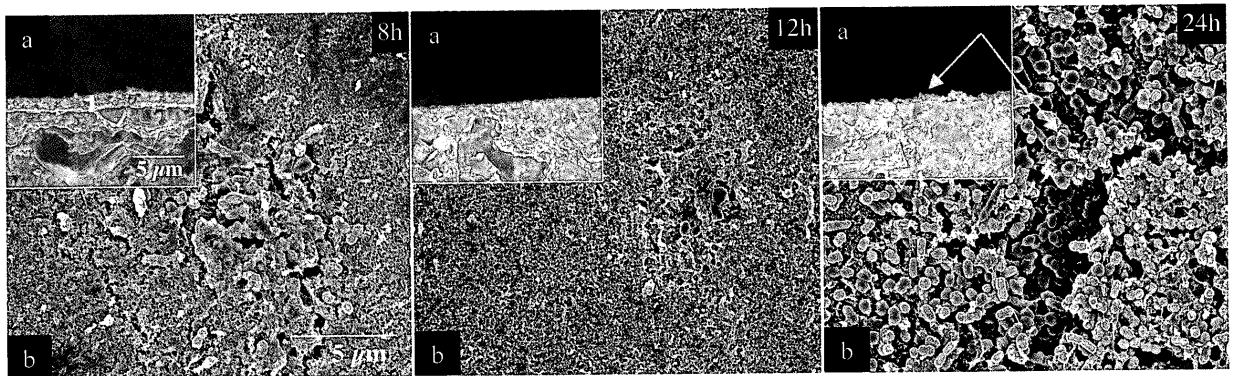


図24 Cレジン(S-PRG 70.0wt%)に表面に経時的に形成されたプラークのSEM像  
a: 断面SEM像, b: 表面SEM像, 赤矢印: フィルム層, 水色矢印: プラーク

口腔内で常に唾液の影響を受ける。唾液中には、有機質としてムチンなどのタンパク質、アミラーゼ、リゾチームなどを含み、無機質としてはナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、リンなどが含まれる<sup>26)</sup>。歯面および修復材料表面にすみやかに形成されるペリクルのタンパク組成は数多く、廣井ら<sup>27)</sup>はハイドロキシアパタイト、レジンおよびアマルガム上に形成されたペリクルのタンパク組成は、唾液の組成と類似していたと報告している。我々の実験では、人工唾液に浸漬したレジン群にはフィルム様構造物は認められなかつ

たが(図25)、ヒト保存唾液に72時間浸漬したレジン群では、口腔内での成績と同様にその表面の全体にフィルム様構造物が形成され、厚さは2-5 $\mu\text{m}$ であった(図26, 27)。

また、形成されたフィルム様構造物をEDS分析した結果、対象である無処理のS-PRGレジン表面については図29に示したようにアルミニウム、シリカおよびストロンチウムが優位に検出され、S-PRG本体での分析結果(図28)と類似していた。さらに、口腔内に8時間装着したS-PRGレジン表面に形成されたフィルム様

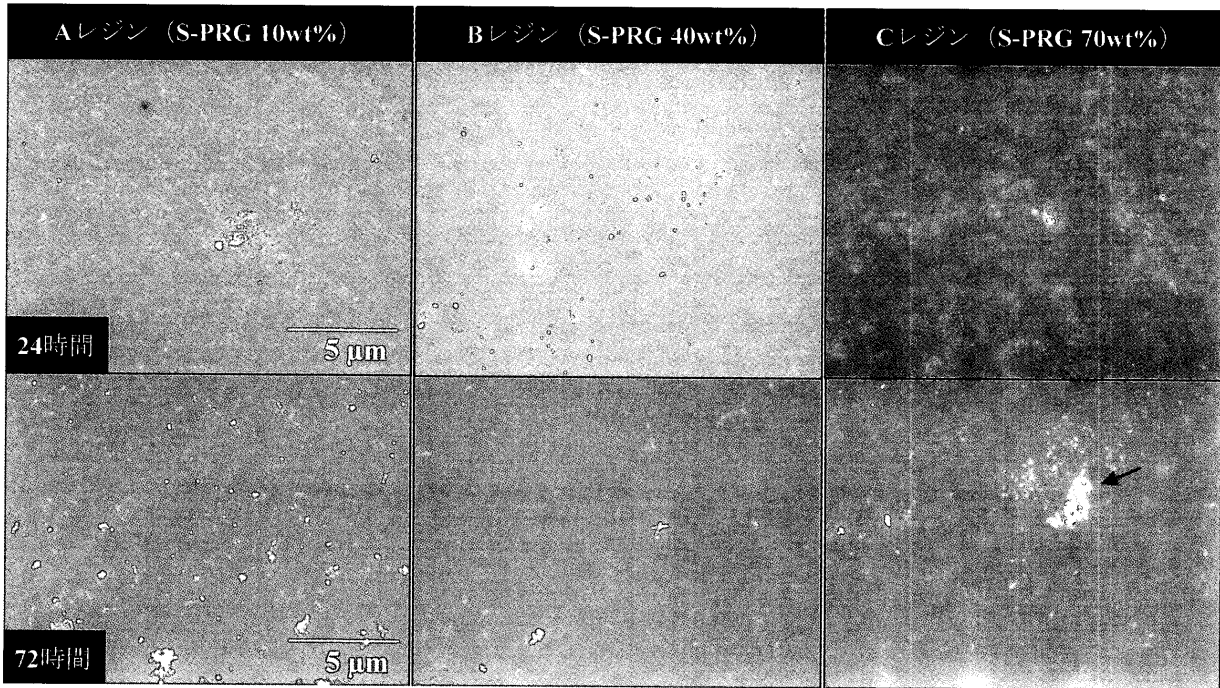


図25 人工唾液中に浸漬した各種S-PRGレジン表面のSEM像  
矢印：フィルム様構造物

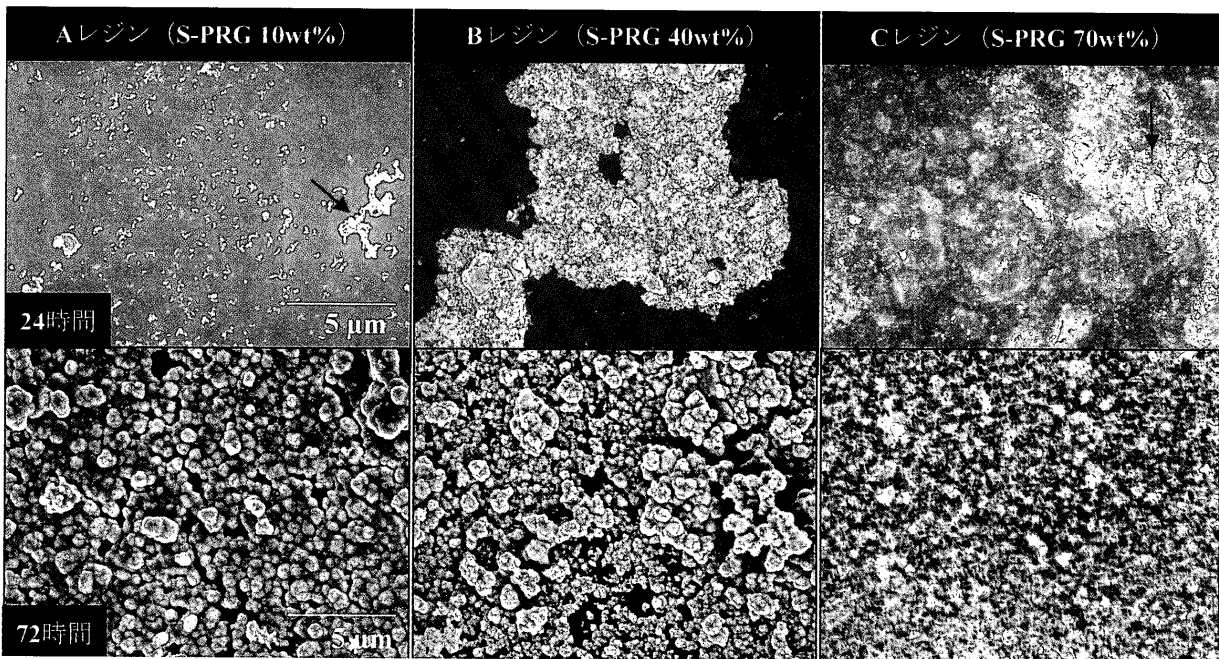


図26 ヒト保存唾液中に浸漬した各種S-PRGレジン表面のSEM像  
矢印：フィルム様構造物

構造物に関しても、アルミニウム、シリカおよびストロンチウムが検出され(図29, 30), 72時間ヒト保存唾液中に浸漬したS-PRGレジン表面に形成されたフィルム様構造物と同様の成績が得られ(図31), 上述のいずれの条件においてもS-PRGフィラーの含有量が増すにつれ、ストロンチウムの検出が優位であった。よって、S-PRGレジン表面に形成されたフィルム様構造物

は、S-PRG材から溶出される無機系イオンに富んだものであり、また、図32の分析結果で得られたリン酸、カルシウム、イオウなどは唾液由来のものと推測され、フィルム様構造物の形成に唾液中の有機・無機成分が関与しているものと考えられる。いずれにせよ、S-PRGレジン表面のフィルム様構造物はS-PRG材から溶出された無機イオン(ストロンチウム、アルミニウムイ

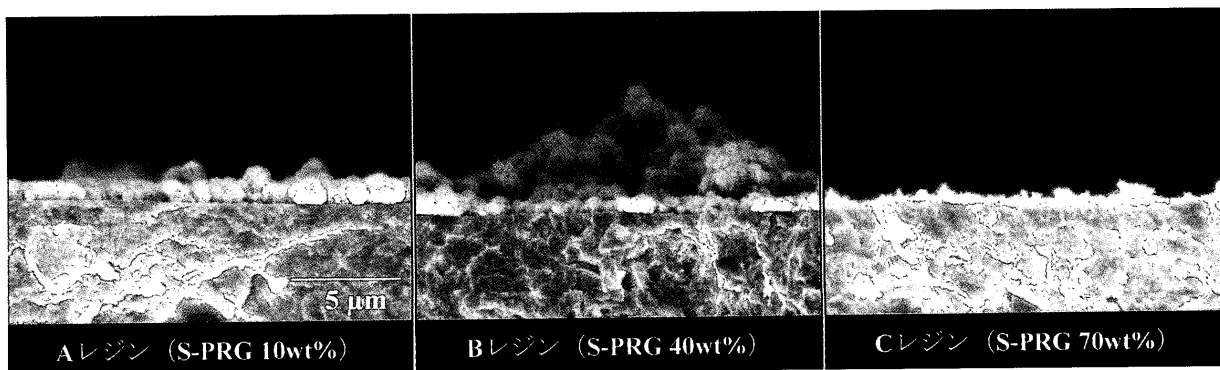


図27 ヒト保存唾液中に浸漬した各種S-PRGレジンの断面のSEM像  
矢印：フィルム様構造物

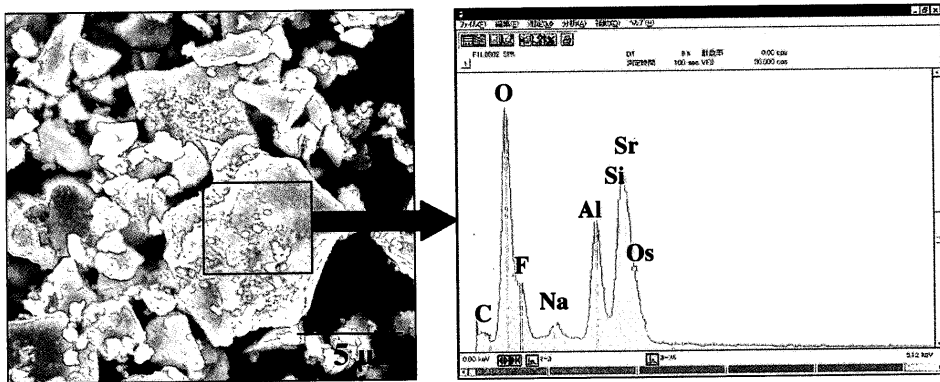


図28 S-PRGフィラー本体のEDS分析

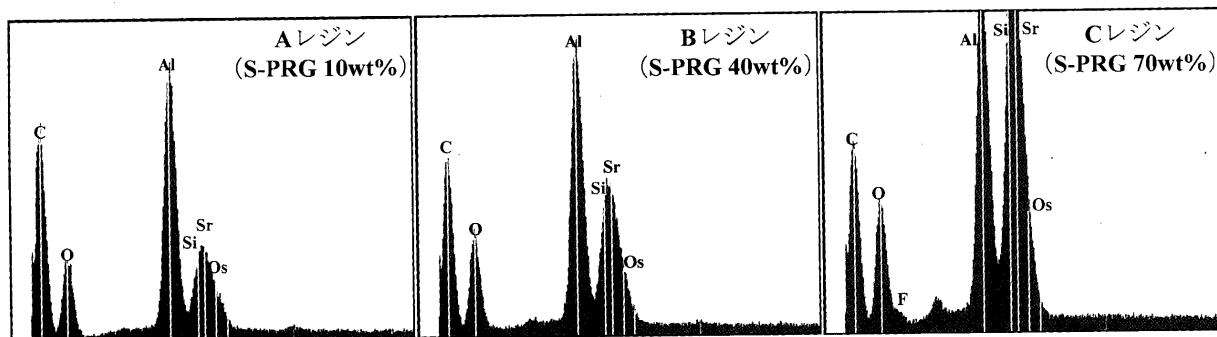


図29 無処理の各種S-PRGレジンの表面のEDS分析

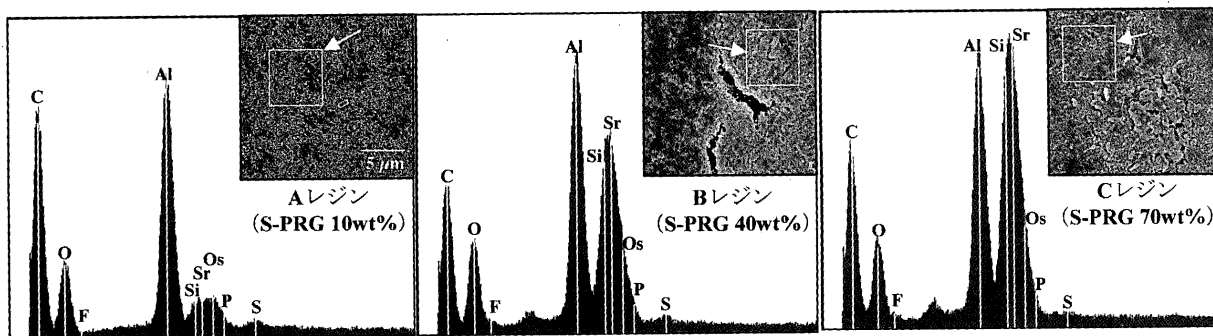


図30 口腔内に8時間装置した各種S-PRGレジンの表面のEDS分析

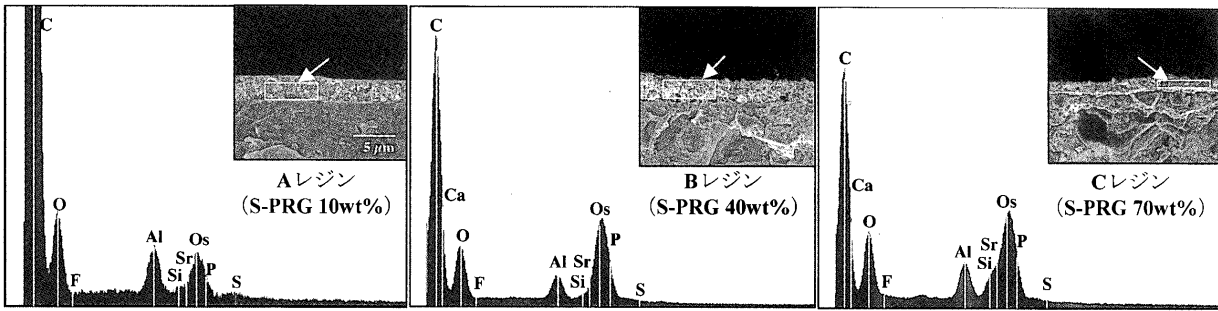


図31 口腔内に8時間装置した各種S-PRGレジン断面にて観察されたフィルム様構造物のEDS分析

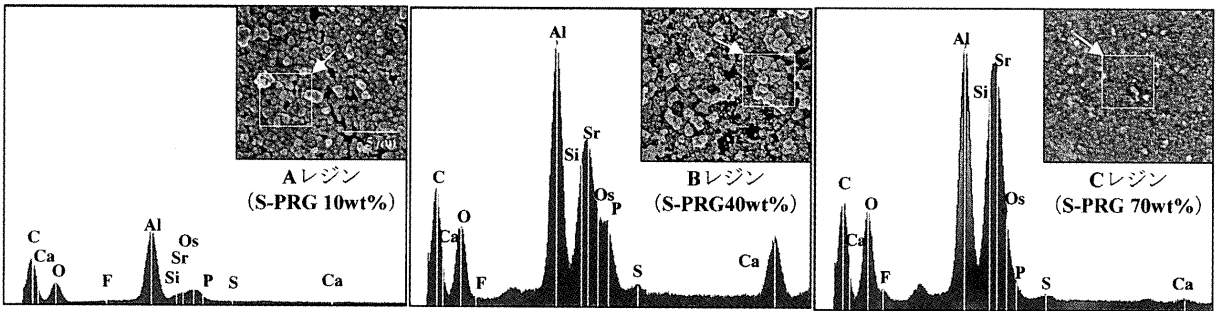


図32 72時間ヒト保存唾液浸漬後の各種S-PRGレジン表面のEDS分析

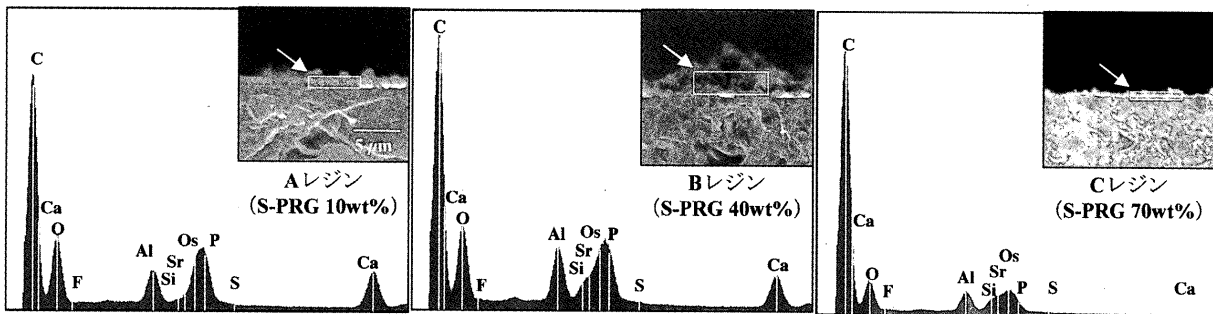


図33 72時間ヒト保存唾液浸漬後の各種S-PRGレジン断面にて観察されたフィルム様構造物のEDS分析

オンなど)の提供によって得られたものであり、S-PRG材に含まれているナトリウムイオンおよびフッ素イオンがそれらの溶出に強く関係しているものと示唆される。

デンタルプラークは細菌性バイオフィームである。近年多くの研究者によって固体表面に形成されるバイオフィームに関する研究がなされ<sup>28-30)</sup>、自然環境中では浮遊細菌よりも何らかに付着している細菌が多く、それらの付着細菌は基質表面で主に多糖類からなる細胞外ポリマーに包まれたマイクロコロニーを形成し、それらの複雑な相互作用によりバイオフィームが形成されている。バイオフィームの形成に先立ち、固体表面に無機物・有機物の吸着が起り、conditioning filmが形成されると言われており、Bryersら<sup>31)</sup>は15分以内に多くの有機質が固体表面に吸着しconditioning filmが形成され、それによって固体界面の特性が変化し、このことが細菌の付着性に影響を与えると報告してい

る。本検索でヒト保存唾液処理したS-PRGレジン表面にはほぼ均一なフィルム様構造物が形成された事実から、ヒト保存唾液に72時間浸漬したS-PRGレジンを対象に*S. oralis*の付着性(*in vitro*)を検討したところ、ヒト保存唾液処理したレジンへの細菌付着性はフィラー含有量に関係なく、無処理のレジンと比較して有意に低く(図34)、図35~37のSEM所見からレジン表面に形成されたフィルム様構造物が細菌の付着抑制に関与していることが示唆される。Rittmann<sup>32)</sup>は、バイオフィームの脱離作用についてバイオフィーム近傍の液体の流れや付着面の凹凸、バイオフィームの厚さなどが影響を及ぼし、基質面とそれに形成されるconditioning filmとの付着強さが関与すると指摘している<sup>44)</sup>。図38のSEM像で示したように、ヒト保存唾液処理したS-PRGレジン表面への*S. oralis*の付着SEM像から、形成されたフィルム様構造物表面に細菌の付着は認められず、その形成を認めないレジン表面に対して細菌は付着す

る傾向にあった。この事実からフィルム様構造物、すなわちS-PRG材由来の溶出成分が細菌の付着を阻害している可能性が再確認され、細菌の付着性にストロ

ンチウム、アルミニウムなどの無機イオンがどのような影響を与えるかを検討することが、抗プラーク性材料の開発の一助と成り得ると考える。

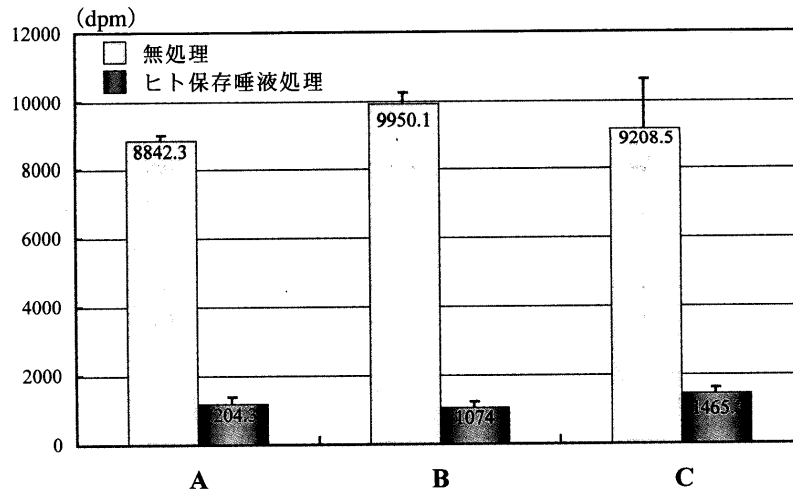


図34 ヒト保存唾液に72時間浸漬した各S-PRGレジンへの*S. oralis*の付着性  
 付着実験には各試料3個ずつ供試し試料1個に対し3回計測を行い、その  
 平均値と標準偏差を示した。

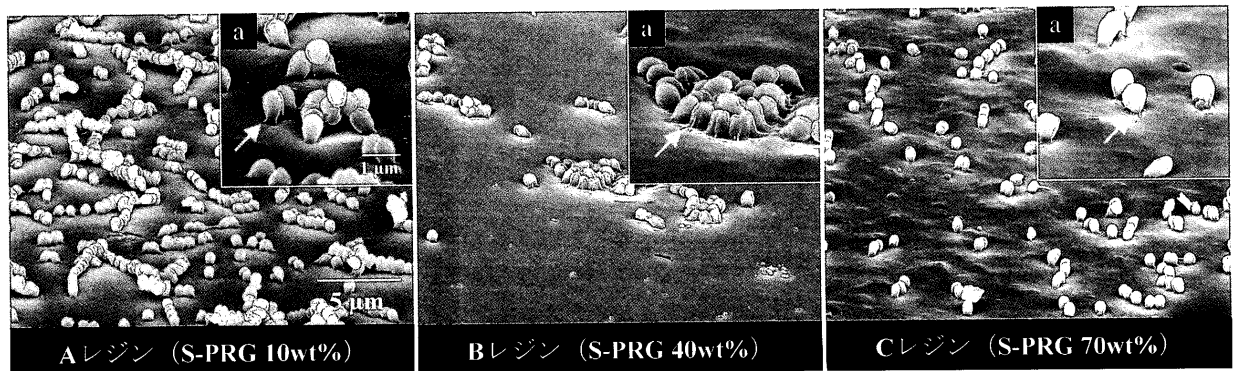


図35 無処理のレジンへの*S. oralis*の付着SEM像(×5,000)  
 レジン表面にレンサ球菌が観察され、強拡大像(a)で菌体外膜様構造物(矢印)のレジン表面への付着像を認める。

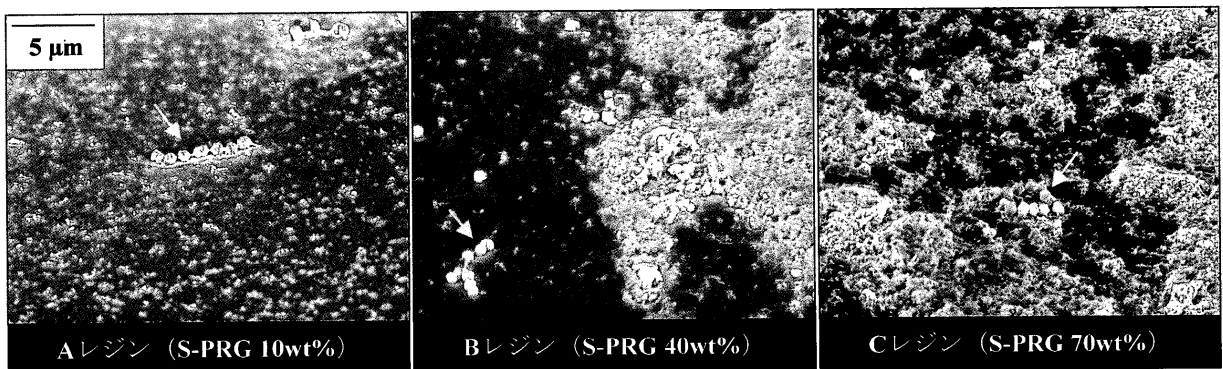


図36 72時間ヒト保存唾液浸漬群への*S. oralis*付着SEM像(×5,000)  
 矢印：付着細菌  
 コロニー形成は認められず、BおよびCレジンの表面にフィルム層を認める



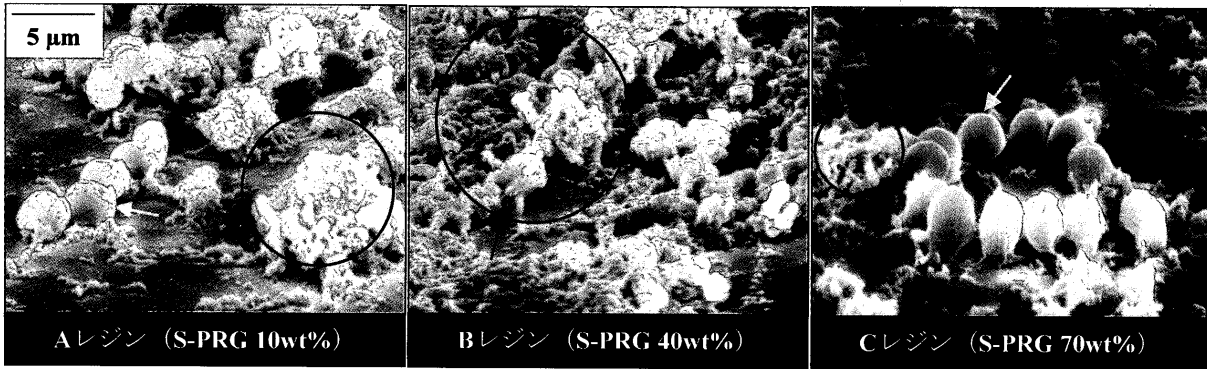


図37 72時間ヒト保存唾液浸漬したS-PRGレジンへの*S. oralis*付着像(×20,000)  
 赤色矢印:レジン表面に形成されたフィルム様構造物  
 水色矢印はレジン表面に付着した*S. oralis*  
 フィルム層部に付着細菌は認められない。

文 献

- 1) Yamamoto, K., Noda, H., Kimura, K. : Adherence of oral streptococci to composite resin restorative materials. *J. Dent.*, **17** : 225~229, 1989.
- 2) 山本宏治, 木村健一: 口腔細菌の保存修復物への付着性に関する研究. 岐歯学誌, 20周年特集号 : 135~147, 1990.
- 3) Yamamoto K, Ohashi S, Taki E, Hirata K : Relationship between composite resin surface roughness and bacterial adhesion. *Dent. Mater.*, **15** : 201~204, 1996.
- 4) Wilson, A. D., McLean, J. W. : Glass-Ionomer Cement. Chicago, Quintessence Publishing, 1988.
- 5) Forss, H., Jokinen, J., Spets-Happonen, S., Seppa, L., Luoma, H. : Fluoride and mutans streptococci in plaque grown on glass ionomer and composite. *Caries Res.*, **25** : 454~458, 1991.
- 6) Oppermann, RV., Johansen, JR. : Effect of fluoride and non-fluoride salts of copper, silver and tin on the acidogenicity of dental plaque in vivo. *Scand. J. Dent. Res.*, **88** : 476~480, 1980.
- 7) Svanberg, M., Krasse B., Ornerfeldt H. O. : Mutans streptococci in interproximal plaque from amalgam and glass ionomer restorations. *Caries Res.*, **24** : 133~136, 1990.
- 8) 大橋静江, 本間文将, 湯谷洋末, 作 誠太郎, 安賀稔, 後藤光三, 駒形和男, 東 博元, 田中 正, 中川豪晴, 若林 学, 松本 敦, 新垣 誠, 山本宏治: シルバーガラスアイオノマーセメントの抗菌性. 日歯保存誌, **42** : 6~9, 1999.
- 9) Tanaka, R., Sakurai, K., Koh, S. K., Takaoka, G. H., Usui, H., Yamada, I., Akamatu S., Kokubo T. : Surface modification of bioactive glass-ceramic (A-W) by ion implantation. *Proc. 14th. Symp. on ISLAT*, **91** : 401~404, 1991.
- 10) Suzuki, Y. and Kusakabe, M. : Wettability control of polystyrene by ion implantation. *Elsevier Science B.*, **91** : 584~587, 1994.
- 11) Yamamoto K., Ohashi S., Aono M., Kokubo T., Yamada I., Yamauchi J. : Antibacterial activity of silver ions implanted in SiO<sub>2</sub> filler on oral streptococci. *Dent. Mater.*, **12**(4) : 227~229, 1996.
- 12) 大橋しず恵, 山本宏治, 嶋崎エリサ明美, 青野正男, 小久保正, 山田 公, 山内淳一: 銀イオンを注入したSiO<sub>2</sub>フィラーの抗菌性. 日歯保存誌, **38** : 189~194, 1995.
- 13) Modak, S. M., Fox, C. L. J. : Binding of silver sulfadiazine to the cellular components of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochem. Pharmac.*, **22** : 2391~2404, 1973.
- 14) Kul'skii, L. A. : 銀イオン水, 日ソ通信社, キーエフ, ナウコワドムカ, 1987.
- 15) Berger, T. J., Spadaro, J. A., Chapin S. E., Becker R. O. : Electrically generated silver ions; quantitative effects on bacterial and mammalian cells. *Agents Chemother.*, **9** : 357~358, 1976.
- 16) 作花済夫: ゼル-ゲル法の化学; アグネ承風社, 1987.
- 17) Ohashi S and Yamamoto K : Development of anticariogenic composite resin dental materials-Antibacterial activity of Ag-Silica glass as filler particles-; *Cariology Today in Japan* 1, 20~24, 2000.
- 18) 大橋静江, 山本宏治: 銀を含有するシリカガラスの抗菌性. 歯材器, **16** : 241~248, 1997.
- 19) 湯谷洋末, 山本宏治: Ag シリカガラス含有ガラスアイオノマーセメントの抗菌性. 日歯保誌, **45** : 441~449, 2002.
- 20) Thornton J. B., Retief D. H., Bradley E. L. : Fluoride release from and tensile bond strength of Ketac-Fil and Ketac-Silver to enamel and dentin. *Dent. Mater.*, **2**(6) : 241~245, 1986.
- 21) 小松久憲: グラスアイオノマーセメントの含有フッ素によるエナメル質耐酸性について. 日歯保存誌, **24**(3) : 814~827, 1981.
- 22) 中塚稔之, 根来紀行, 青木真一郎, 安田泰之: Pre-

- reacted glass ionomer (PRG) 技術のコンポジットレジンへの導入; 日歯保存誌, 43(春期特別号), P-64, 2000.
- 23) 西尾政文, 山本宏治: フッ化アルミノシリケートガラス配合コンポジットレジンの抗ブラーク性. 日歯保存誌, 45(3): 459~468.
- 24) 本多忠之, 作 誠太郎, 山本宏治: S-PRGフィラー配合レジン界面に形成されるフィルム様構造物. 日歯保存誌, 47(3): 391~402, 2004.
- 25) Pigman Ward, Cueto H. and Baugh D. : Conditions affecting the rehardening of softened enamel. *J. Dent. Res.*, 43(Supplement to No.6) : 1187~1145, 1964.
- 26) 中村嘉男, 森本俊文: 基礎歯科生理学, 3版, 医歯薬出版(東京), 374~378, 1998.
- 27) 廣井隆親, 高尾正己, 是枝雄二, 並木勇次, 福島和雄: 修復材上ペリクルのタンパク質組成とstreptococci 吸着能. 日歯保存誌, 34(3): 821~827, 1991.
- 28) Hisao Morisaki, Yasuhiro Kasahara, Shunji Tanigawa and Tsutomu Hattori : The changes in the surface characteristics of *Pseudomonas syringae* induced by a plasmid. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 38 : 165~177, 1992.
- 29) Caldwell D. E., Korber D. R. and Lawrence J. R. : Confocal laser microscopy and computer image analysis. *Adv. Microb. Ecol.*, 12 : 1~67, 1992.
- 30) Costerton J. W., Lewandowski Z., DeBeer D., Caldwell D., Korber D., James G. : Biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.*, 176(8) : 2137~2142, 1994.
- 31) Bryers J. D. : Biologically active surfaces : processes governing the formation and persistence of biofilms. *Biotechnology Progress*, 3 : 57, 1987.
- 32) Rittmann B. E. : Detachment from biofilms. *Structure and Function of Biofilms*, 49~58, 1989.
-