

演題 A13 (修復)
【3102】

**亜鉛ガラス含有ガラスアイオノマーセメントの
Streptococcus mutans に対する抗バイオフィルム効果と象牙質浸透性**

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 歯学分野
○長谷川泰輔¹、竹中彰治¹、永田量子¹、鈴木裕希¹、坂上雄樹¹、大墨竜也¹、
野杻由一郎¹

**Anti-biofilm efficacy for *Streptococcus mutans* and penetration property into dentinal tubules of
glass ionomer cement containing zinc glass**

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○HASEGAWA Taisuke, TAKENAKA Shoji, NAGATA Ryouko, SUZUKI Yuki, SAKAUE Yuuki, OSUMI Tatsuya, NOIRI Yuichiro

【目的】近年、高齢者の残存歯数の増加により咬合機能の維持が達成されつつある一方で、根面齲蝕への対応が喫緊の課題となっている。ガラスアイオノマーセメント(GIC)は、高いフッ素徐放性を有し、歯質強化と再石灰化促進効果が期待できることから咬合力のかからない歯頸部齲蝕を中心に長年応用されてきた。今回、さらなる機能強化を意図して、抗菌性と象牙質の脱灰抑制作用が報告されている亜鉛を配合し、フッ素徐放性を強化した GIC (ZIF-C10, GC 社製)を開発した。

本研究では、ZIF-C10 硬化体の *Streptococcus mutans* に対する付着抑制効果、抗バイオフィルム(BF)効果および象牙質へのフッ素イオンならびに亜鉛イオンの浸透性を検討した。

【材料および方法】「実験 1：付着抑制効果」被験試料として、ZIF-C10、FujiVII(GC 社製)およびハイドキシアパタイトディスク(HA;オリンパスバイオマテリアル社)を用いた。直径 8.0mm、厚さ 1.0mm に成形した各試料を耐水ペーパーで #4000 まで研磨したのち、各試料をフローセルチャンバー(IBI Scientific 社製)に装着した。無刺激唾液をチャンバー内に送り込み 1 時間静置したのち、対数増殖期の *S. mutans* MT8148 株の細菌懸濁液(BS)(OD₆₀₀=0.025)を 2 時間灌流し、試料に付着した細菌数をコロニーカウント法で計測した。

「実験 2：BF 形成抑制効果」実験 1 と同一の方法でチャンバーに装着したのち、BS を送り込み 30 分静置することで細菌を試料に初期付着させた。その後、0.05%スクロースを添加した 1/10 濃度 Brain Heart Infusion 培地を毎分 2ml の速度で 24 時間灌流し、BF を形成させた。形成した BF の形態は走査型電子顕微鏡(SEM;日立 2300 日立製)で観察するとともに、蛍光染色(L/D; Live/Dead BacLight Bacterial viability kit, ThermoScientific 社製)を施し、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM; FV300, オリンパス社製)にて観察を行った。取得した共焦点画像から、Metamorph ソフトウェアを用いて、BF の最大厚みならびに生菌率を算出した。

「実験 3：フッ素(F)および亜鉛(Zn)の象牙質への浸透」ヒト新鮮抜去健全前歯の象牙質面に直径 2mm、深さ 1mm の窩洞を形成し、デンティンコンディショナー(GC 社製)にて表面処理後、ZIF-C10 および FujiVIIを充填した(新潟大学歯学部倫理審査委員会承認番号: 27-R15-08-05)。GIC 表面にフジバーニッシュ(GC 社製)を塗布したのち、プラスチックマトリックスを圧接し、湿度 100%、37°C環境下に於て 1 時間硬化後、試料を滅菌蒸留水中に 7 日間浸漬した。7 日後、充填物界面を観察するために、切断後、樹脂包埋した。研磨後(#4000)、GIC および象牙質界面における F および Zn の分布を波長分散型電子線マイクロアナライザー(EPMA; EPMA1610, 島津)で解析した。

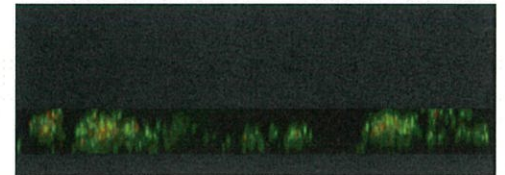
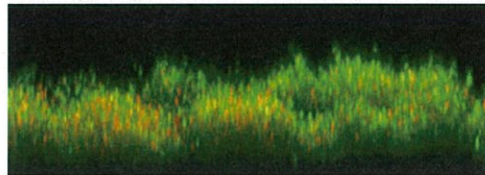
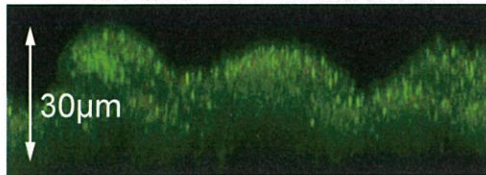
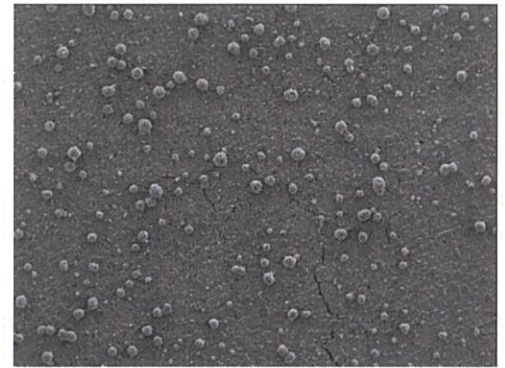
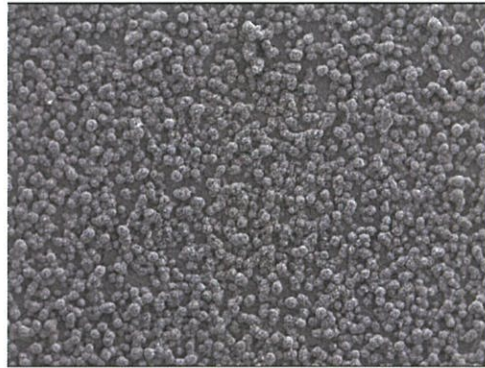
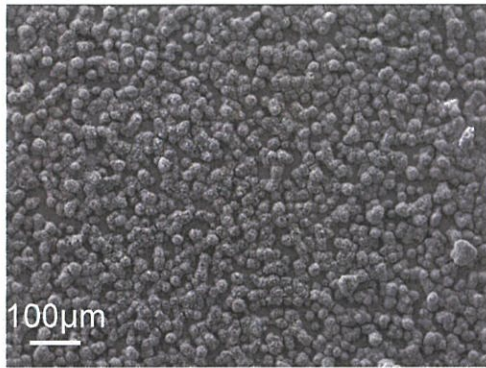
【結果】BS 2 時間灌流後の付着細菌数(logCFU)はそれぞれ、7.2±0.4 (HA)、4.9±0.4 (ZIF-C10)および 6.7±0.4 (FujiVII)であり、ZIF-C10 への付着細菌数は有意に少なかった(p< 0.05, Kruskal-Wallis H test, Dunnett's post-hoc test)。SEM および CLSM による観察の結果、いずれのディスク上にも BF は形成されたが、ZIF-C10 上に形成された BF 量は少なく、BF の最大厚み(μm±SD)はそれぞれ 31.5±2.0 (HA)、8.7±1.1 (ZIF-C10)および 28.5±1.7 (FujiVII)であった(p< 0.05)。L/D から算出した BF 中の生菌数の割合(%±SD)はそれぞれ 95.3±4.2 (HA)、89.8±6.2 (ZIF-C10)および 96.1±1.6 (FujiVII)であり、ZIF-C10 には微弱ではあるが付着細菌に対する殺菌効果が認められた(p< 0.05)。EPMA より算出した ZIF-C10 および FujiVII充填部の象牙質へのフッ素イオンの浸透距離(μm±SD)は、それぞれ 120.1±24.1 (ZIF-C10)および 44.1±15.4(FujiVII)であり、FujiVIIと比較しておよそ 3 倍の浸透深度であった(p< 0.05)。亜鉛イオンの浸透距離は、72.2±8.0 であった。

【考察および結論】今回用いた新規 GIC は従来の GIC と比較して *S. mutans* の付着を有意に抑制するとともに、BF の形成を抑制した。また、Zn との相乗効果であるか否かは現状では不明であるが、象牙質へのフッ素の浸透深度も高く、Zn の抗菌性と象牙質の脱灰抑制作用も期待できることから、新しい根面齲蝕修復用材料としての有用性が示された。

ハイドロキシアパタイト

従来型 GIC

亜鉛ガラス[※]含有 GIC

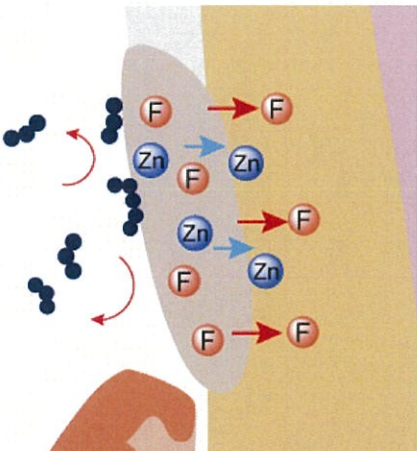


フローセル培養系を用いて、各種試料上に形成された *Streptococcus mutans* バイオフィーム (24 時間後) を SEM (上段) および CLSM (下段) を用いて観察した。亜鉛ガラス含有ガラスアイオノマーセメント (GIC) 上に形成されたバイオフィーム量は明らかに少なく (上段)、バイオフィームの厚みも有意に薄かった ($p < 0.05$) (下段: バイオフィームの XZ 断層像を示している)。

象牙質への平均浸透距離 (µm)

	フッ素イオン	亜鉛イオン
従来型 GIC	44.1	0
亜鉛ガラス含有 GIC	120.1	72.2

ヒト新鮮抜去歯の象牙質面 (直径 2mm, 深さ 1mm) に GIC を充填して 7 日間経過後に象牙質へのフッ素および亜鉛イオンの浸透距離を波長分散型電子線マイクロアナライザーで解析したところ、亜鉛イオンは 70µm 以上浸透し、フッ素イオンは、従来型 GIC の約 3 倍の深さまで浸透していた。



結論

亜鉛ガラス含有ガラスアイオノマーセメントは、*S. mutans* のバイオフィーム形成を抑制するとともに、亜鉛イオンとフッ素イオンによる脱灰抑制作用の強化も期待できる。