

# メディカルバイオロジーレポート

Vol.1

～低濃度フッ化物と口腔内細菌～



はじめに	2
<b>1 歯科におけるフッ化物の背景</b>	<b>4</b>
1.1 歯科におけるフッ化物活用の概略	4
1.2 フッ化物のリスクとその考え方	6
1.2.1 フッ化物の例, それら性質や使用される化合物について	6
1.2.2 歯科での使用における有害性について	9
1.2.3 フッ化物使用における腐食のリスクについて	9
<b>2 フッ化物のう蝕に対する作用機序について</b>	<b>11</b>
2.1 う蝕が起こるメカニズムについて	11
2.2 フッ化物がう蝕を抑制するメカニズムについて	12
<b>3 フッ化物が配合される材料概論</b>	<b>14</b>
3.1 フッ化物が配合される材料の分類	14
3.2 予防歯科に関わる材料	15
3.2.1 口腔ケア材料	16
3.2.2 フッ素徐放性歯科材料 (歯面コーティング材)	17
3.3 フッ素徐放性歯科材料 (修復系材料)	18
3.4 フッ素徐放性に関する問題提起	22
<b>4 フッ素徐放性レジンがStreptococcus mutansに与える影響についての検証</b>	<b>24</b>
4.1 試験サンプルと培養条件	24
4.2 増殖能評価	24
4.2.1 増殖試験	24
4.2.2 ATPase活性	26
4.3 付着能およびバイオフィーム形成能評価	27
4.3.1 付着試験	27
4.3.2 バイオフィーム形成試験	29
4.3.3 GTF活性および蛋白発現	31
4.4 乳酸産生能評価	33
4.4.1 乳酸生成試験	33
4.4.2 Enolase活性および蛋白発現	35
4.5 フッ素リチャージ性	37
<b>5 まとめ</b>	<b>39</b>

# はじめに

う蝕予防を目的として「フッ素入り」や「フッ素配合」の歯磨剤などが歯科医療従事者だけではなく、一般の消費者まで広く利用されている。

ここで用いられる「フッ素」とは、一般的に触れる機会が無い反応性に富んだ分子状フッ素 ( $F_2$ ) ではなく、慣習的に「フッ化物」を指す場合が多い。詳細な定義に関してはほかに譲るが、ここでは、分子状の「フッ素」と、フッ化ナトリウムのようにフッ素と化学結合している無機物「フッ化物」として区別する。

フッ化物は、非常にありふれた化合物で、土壌、河川、海水さらには、生物にも存在する。

人体においては、フッ化物は骨や歯などの硬組織を形成する上で必要なミネラルであり、成人が1日に必要な量は $3\text{ gm}^{1)}$ とされている。ちなみに、この量は、魚、肉や野菜などの食物から摂取できる (図1)<sup>2)</sup>。



図1 食物に含まれるフッ化物 (mg/kg)

戦後、国内ではフッ化物の歯科応用として、フッ化物洗口や水道水のフッ化物添加などが、口腔衛生または公衆衛生の観点から検討されてきたが、現在では、う蝕予防を目的として歯磨剤などの生活用品や、コンポジットレジンなどの歯科材料において応用が進んでいる。

フッ化物の歯科応用にあたり、根拠に基づいて報告されているフッ化物の主な機能性として、う蝕原性細菌への抗菌性<sup>3)</sup>、フルオロアパタイトの形成による耐酸性の獲得<sup>4)</sup>や歯質を修復する再石灰化<sup>5)</sup>が挙げられる。

このような研究成果により、フッ化物は歯科医院で使用される塗布剤や洗口剤、一般で使用される歯磨剤に配合され、臨床的な効果も確認され、予防歯科あるいは公衆衛生の観点から、その応用が推奨されている。さらに、歯科材料に対するフッ化物の活用は、コンポジットレジン、ボンディング材やシーラントなどへも展開されており、これら歯科材料に配合されたフッ化物が歯科におい

て、どのような役割を果たすのか注目されている。

このようにさまざまな歯科材料においてフッ化物の応用が進んでいるが、口腔内において微量のフッ化物を徐々に放出するフッ素徐放性に関しては、いまだ十分な臨床研究がそろっていない。高濃度のフッ化物が配合された洗口剤や歯磨剤に対し、フッ素徐放性のコンポジットレジンが同等のう蝕予防効果を有するのか、明確な答えが得られていないのが現状であり、臨床現場においても見解は分かれている。

本レポートでは、フッ化物を配合した歯科材料の概要を紹介し、ヤマキンで検証したフッ化物の口腔内細菌への影響をまとめた。さらに、フッ素徐放性の可能性を掘り上げる上で実験室レベルでの低濃度フッ化物の口腔内細菌への影響を検証した結果を紹介する。

フッ素徐放性は果たしてう蝕に対して効果があるのかどうか、効果があるとすればどのような効果があるか考察した。

本レポートを通じて、フッ素徐放性に興味をもっていただき、フッ化物の有効な利用に少しでもお役に立てれば幸いである。

常務執行役員 兼 技術・情報マーケティング本部 本部長 博士（薬学） 坂本 猛  
開発部 上席主幹研究員 博士（農学） 松浦理太郎  
生体科学安全研究室 主任研究員 博士（医学） 林 未季

監修 ヤマキン博士会

## ヤマキン博士会とは？

ヤマキンのさまざまな専門分野のエキスパート集団であり、各々の知識や経験、技術を融合することで、イノベーションを継続的に発生させる原動力となっている。

## 参考文献

- 1) 安部美智野, 山崎むつ子, 福原慶子, 舟木幸江: フッ化物歯面塗布実施マニュアル, 鳥根県健康推進課, 鳥根県歯科衛生士会.
- 2) 飯塚喜一監修: スタンダード口腔衛生 第2版, 学建書院 2001年2月.
- 3) 栗根佐穂里, 川口由香, 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, 小児歯科雑誌, 35(3): 472-477, 1997.
- 4) 伊平弥生, 八十島華子, 川原由季, 大森郁郎: フルオロシラントとクリアシールFの臨床成績, 小児歯科学雑誌 Vol.39, No.4: 877-883, 2001.
- 5) 亀山敦史, 塚本良, 春山親弘, 中沢祐一, 平井義人, 古賀寛, 友利隆俊, 石原博人, 松久保隆, 高江洲義矩: 各種修復材料からのフッ化物イオン溶出および歯質への取り込みについて: in vitro における検討, 歯科学報, 99(5): 383-392, 1999.

# 歯科におけるフッ化物の背景

## 1.1 歯科におけるフッ化物活用の概略

フッ化物の活用あるいは研究の歴史は、各歯科医師会から発行されているマニュアルや専門書籍で詳細に解説されているため<sup>1,2)</sup>、本レポートでは概略の紹介にとどめる。

フッ化物が歯質に影響を与えることが確認されたのは1901年であり、軍医Eagerがイタリアのナポリの火山付近に住む住民に、エナメル質が白く濁って見える斑状歯が多くみられることを報告している<sup>1)</sup>。天然のフッ化物は火山活動により産出する蛍石、氷晶石や燐灰石などの鉱石に由来し、この地域の水を利用した住民は比較的多くフッ化物を摂取したものと想定されるが、この時点の報告では原因不明であった。

斑状歯は、米国のコロラドスプリングスでも1908年にMcKayとBlackによって見いだされている。同じ水源を利用している住民の歯質に乳濁や色素沈着がみられること（いわゆる歯のフッ素症（dental fluorosis）あるいはコロラド褐色歯）が発見され、その後、McKayは飲料水中にその原因があるという仮説の下、追跡調査をおこない、水源を変えると斑状歯がなくなることを突き止めている<sup>3)</sup>。

フッ化物のう蝕予防効果は、1915年にRodríguezの調査結果によって、斑状歯を有するインディアンにう蝕がほとんどみられないことが報告され、続いて、1916年にMcKayとBlackもコロラドでの斑状歯を有する人にう蝕が少ないことを報告した<sup>4)</sup>。

このように20世紀初頭に、飲料水によって斑状歯が発生することや、斑状歯という現象とう蝕が少ないという現象との間に関連性があることがわかったが、斑状歯が飲料水に含まれる過剰量のフッ化物が原因であることが明らかになったのは、1916～1940年におこなわれた研究の成果である。1931年、Churchillらが原因となる飲料水を化学分析することにより、斑状歯とフッ化物との関連性を見いだした。NIH：米国国立衛生研究所の歯科衛生部門（米国国立歯学研究所）の初代着任者となったDeanは、1936年に飲料水中の過剰量のフッ化物が斑状歯の原因であることを明らかにし<sup>1)</sup>、1940年に飲料水中のフッ化物濃度が1 ppm程度であれば、斑状歯を生じず、う蝕を抑制させることを発見した<sup>5)</sup>。

第2次世界大戦中の1942年にBivyらによるフッ化物の歯面塗布に関する研究や、同年のDeanらの疫学調査から有効なフッ化物濃度が確認され<sup>5,6)</sup>、1945年には米国とカナダの4都市で、フッ化物濃度を調整した水道水を提供する、すなわちフッ化フッ化物が開始された。さらに、1947年にWeiszらによりフッ化物洗口が実施される等、実に1940年代は歯科におけるフッ化物応用の基礎が固まった時期といえる<sup>1)</sup>。

その後、フッ化物の有効性に関する報告が集まった。1960年代に至るとArnordらが1945年にフッ化フッ化物の事業を開始した都市のひとつであるグランドラピッズの事業成績を報告している<sup>7)</sup>。これによれば、供給している地域住民においてう蝕の罹患が50～60%も減少し、しかも斑状歯などの異常もみられず、フッ化物に由来と考えられるそのほかの健康異常がなかったことを

報告した。

このようなフッ化物の効果はやがて世界中で認知され、世界保健機関（WHO）や世界歯科連盟（FDI）によって、科学的な研究報告に基づいてフッ化物の応用が勧告されるに至った。1969年の第22回WHO総会ではフロリデーショなどのフッ化物応用が勧告され、1978年と1986年にも改めて勧告されている<sup>1,8)</sup>。

一方で、日本国内では1952年に美濃口らにより、京都の山科地区で13年にわたってフロリデーションが実施された。実施成果については、疫学的調査によって、乳歯のう蝕予防には効果がなかったが、永久歯において有意にう蝕発生を抑制することを報告している<sup>9)</sup>。

その後、三重県朝日町、および沖縄本島においてもフロリデーションが実施されたが、現在はおこなわれていない。

WHOの勧告後、1971年に日本歯科医師会が「フッ化物に対する基本的見解」を発表し、フッ化物応用の有効性を確認している。さらに、日本国内で各専門学会が見解を発表している。代表的な例として、日本歯科医学会の「フッ化物応用についての総合的見解」（1999年）、日本口腔衛生学会の「水道水フッ化物添加法の推進表明」（1972年）、「むし歯予防プログラムのためのフッ化物応用に対する見解」（1982年）、「今後のわが国における望ましいフッ化物応用への学術支援」（2002年）などがある。厚生労働省からは「水道水フロリデーションについて」（2000年）、「フッ化物洗口ガイドライン」（2003年）などを公表している。

なお、各通知の詳細やあらまは日本歯科医師会ウェブサイトに掲載されている「フッ化物」のセクションが詳しいので参照されたい<sup>10)</sup>。

このように1970年以降はフッ化物の効果について、世界的に勧告されている段階に移行している。

フッ化物を材料から放出させる技術は、1982年にBatelsらによって、ポリマーにフッ化アルキルピリジニウム塩の側鎖を導入することで、ポリマーからフッ化物イオンを放出できる分子を合成し、そのう蝕に対する検討を報告している<sup>11)</sup>。

また、門磨らはメタクリル酸メチルと加水分解によりフッ化水素を生じるメタクリル酸フルオリドを共重合させて、ポリマーからフッ化物を徐放できる機能を付与することに成功した<sup>12)</sup>。

無機固体からフッ化物を徐放させる技術として、1971年にWilsonらが、ガラスアイオノマーセメントにフルオロアルミノシリケートガラスをフィラーとして応用する技術を報告した<sup>13)</sup>。フッ化物イオンは、このフィラーを含む粉材とポリ（メタ）アクリル酸水溶液を主成分とする液材との酸-塩基反応によって遊離する。

さらに発展した技術としては1993年にあらかじめ酸と塩基成分を配合して調整しPRG-fillerが開発された<sup>14)</sup>。この技術は現在ではS-PRG-fillerとして、コンポジットレジンなどに応用されている<sup>15)</sup>。

このほかにも、歯科以外の分野で活用されているフッ素徐放性を有するフィラーが、国内外の各メーカーの各種歯科材料に応用されている。フッ化物が応用されている各歯科材料に関しては後述する。

## 1.2 フッ化物のリスクとその考え方

### 1.2.1 フッ化物の例、それら性質や使用される化合物について

フッ化物配合歯磨剤を慣用的に「フッ素」入り歯磨きと呼称するが、緒言で触れたように実際にはフッ素分子 ( $F_2$ ) とフッ化物とはまったくの別物である。また、フッ化物も、後述する歯科技工所で洗浄用に使われるフッ酸 (フッ化水素酸, HF) も猛毒である。このような歯科材料に用いられるフッ化物に対する誤認から間違った情報が流布されるケース、極端な場合は誤用による死亡事故に至るケースもあった。

前者ではSocial Networking Site (SNS) 等で、歯磨き粉にフッ素が入っているので人体に有害であると説明した例がある。実際に入っているのは、フッ化ナトリウムであり、化学的にまったく異なるものを間違った認識で情報発信されている。

死亡事故に関しては1982年、歯科医院において、う蝕予防のためのフッ化ナトリウムを塗布された女児が死亡する事件が起こった。実際には歯科治療用の「フッ化ナトリウム」のつもりで歯科技工用かつ毒物の「フッ化水素酸」を誤って使用したことが原因であって、「フッ素」に関する誤認である<sup>16)</sup>。

ここでは、改めて「フッ素」およびその化合物である「フッ化物」の性質について紹介する。

#### ・フッ素分子 ( $F_2$ )

フッ素は通常単体で存在せず、2原子分子 ( $F_2$ ) で存在する。常温常圧で淡黄色のハロゲン臭の気体である。非常に強い酸化作用があり、ほとんどの元素と反応する。したがって、人体には大変猛毒である。なお、フッ素の単離と発見には、この反応性により、実験中の爆発事故や中毒症などで困難を極めた。

#### ・フッ化水素 (HF)

フッ化水素は無色の気体あるいは液体で、液体 (水溶液) はフッ化水素酸あるいはフッ酸と呼称される。医薬用外毒物に指定されている。濃度の薄いフッ化水素の水溶液は弱酸性を呈する。非常に反応性に富み、さまざまな物質を侵す。

工業的には、この性質を利用して半導体の洗浄に使われるが、高純度のフッ化水素が要求される。純度99.999%以上 (5Nine) のフッ化水素が液晶パネルの製造などで使用されている。また、詳細はほかに譲るがフッ素樹脂や冷媒のフロン類の原料となる<sup>17,18)</sup>。

歯科においてもフッ化水素の腐食性を利用して、歯科技工の現場では、陶材の溶解や、歯科用合金のエッチングなどで使用される。国内では人体に直接使用されることはないが、海外では陶材の接着操作 (エッチング) にフッ化水素酸含有の製品が使用されている場合もある。

#### ・フッ化ナトリウム (NaF)

無色の固体である。水には3.53 g/100 mL (0℃) 程度溶解し、水溶液は弱アルカリ性を呈する。フッ化物イオンはケイ素やカルシウムとの反応性が高いので、ケイ素化合物の処理や有機合成ではケイ素置換基の処理などに使用される<sup>19)</sup>。

歯科では、う蝕予防の局所応用法として歯面塗布法や洗口法に希薄溶液が使用される。洗口法において、毎日法 (週5回法) ではフッ化物イオン濃度が0.05%の水溶液を、週1回法では0.2%の水溶液を用いて洗口する<sup>20)</sup>。



フッ化ナトリウムはGHS（化学品の分類および表示に関する世界調和システム）により、危険物輸送に関する国連勧告で毒物（急性毒性（経口）が区分3、眼刺激性が区分1）に分類されており、日本でも有害性の情報収集を実施したところ、急性経口毒性が認められた。しかしその後、事業者が提出した6%製剤の毒性データによって、6%以下を含有するものは劇性を持たないことが判明した<sup>21)</sup>。そのため歯磨剤にも配合されているが、配合量には規定がある。

なお、フッ化物のアルカリ金属塩は、ほかにフッ化リチウム、フッ化カリウムなどがある。フッ化カリウムも使用用途が広いがフッ化ナトリウムの方が安価である。

### ・フッ化カルシウム (CaF<sub>2</sub>)

常温で無色の固体であり、工業的なフッ化物の原料となる。天然には、螢石に多く含まれおり、古くから製鉄の分野で利用されていた化合物である。さらに、現在では高性能な光学材料へも利用が広がっている。

水への溶解度は、フッ化物のアルカリ金属塩よりもはるかに低く（0.0015 g/100 mL）である。難溶性の塩であるので、歯質の保護などには直接的には機能しない。また、製剤にも用いにくい化合物である<sup>19)</sup>。

一方で、フッ化カルシウムは歯面処理や歯磨剤などのフッ化物が歯質のハイドロキシアパタイトと反応した時に生成する。なお、この反応は実際にはやや複雑であり、フッ化物濃度によって変わる。高濃度（5~10%）であれば、前述のようにフッ化カルシウムの沈殿が生じた後、フルオロアパタイトに変換されるが、低濃度の場合（1 ppm程度）は直接フルオロアパタイトになると考察されている<sup>22)</sup>。

### ・リン酸酸性フッ化ナトリウム (NaF・H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) とモノフルオロリン酸ナトリウム (Na<sub>2</sub>FPO<sub>3</sub>)

両者ともう蝕予防歯面塗布剤のフッ化物源として用いられる。前者はリン酸とフッ化ナトリウムの水溶液でAPF溶液とも呼ばれる混合物であり、後者はリン原子がリン酸のひとつの酸素原子と置換した構造を持つ化合物である。

リン酸酸性フッ化ナトリウムは、エナメル質へのフッ化物の取り込み量が効率的であるため洗口剤などに使用され、う蝕リスクの高い小児に対しても効果が報告されている<sup>19)</sup>。このような製剤は、製品にもよるが弱酸性域3.0<pH<6.0に調整される。したがって、舌に触れるとリン酸由来の弱い酸味がある。

モノフルオロリン酸ナトリウムも、う蝕予防のフッ化物源として有効であり、歯質の再石灰化、抗菌作用や抗酸化作用を有し、広く歯磨剤に使用されている<sup>23)</sup>。ただし、この化合物は化粧品に配合することが禁じられている<sup>24)</sup>。

### ・フッ化ジアンミン銀 (Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>F)

フッ化ジアンミン銀（以下、SDF）は分子式Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Fのアンミン錯体である。

この化合物は1965年に山賀らにより創薬された。抵抗力が弱い小児の多数の歯が一気に重度のう蝕になるランパントカリエスに対して、う蝕進行を食い止めるための薬剤として用いられ、国外でも一次予防で安価な薬剤として使用されている<sup>25)</sup>。

SDFは、フッ化物のハイドロキシアパタイトへの効果に加え、銀イオンによるタンパク質に対する作用により、う蝕原性細菌に対して抗菌効果がある<sup>26)</sup>。近年では、高齢者で患者が増加している根面う蝕の制御（SDF法）なども紹介されている<sup>27)</sup>。

SDFの製剤の多くはpHが10~11程度の弱アルカリ性の範囲であるが、pH13の製剤もある。したがって、口当たりは大変苦い。また、う蝕で病変した部分を黒変させる特徴があり、審美的な課題がある。

#### ・フッ化スズ (SnF<sub>2</sub>)

フッ化スズはスズが4価と2価の塩があるが、歯科で使用されるのは後者のフッ化第一スズ (SnF<sub>2</sub>) (以下、フッ化スズ) である。フッ化ナトリウムよりもかなり水に溶けやすい (35 g/100 mL (20℃), 78.5 g/100 mL (106℃))。ただし、加水分解を受けやすくスズは水酸化物となり、フッ化物を含む水溶液ではフッ化物錯体SnF<sub>3</sub>、Sn<sub>2</sub>F<sub>5</sub>やSnF<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>など化学種が知られている<sup>19)</sup>。

フッ化スズはルイス酸性であり比較的バクテリア由来の酸に対して耐性がある。歯磨剤に使用されるが、不適切なブラッシングによりフッ化スズ由来の汚れが生じる点が指摘されている<sup>28)</sup>。なお、この汚れは色素沈着ではなく、一時的に発生するものである。フッ化スズをモノフルオロリン酸ナトリウムに置き換えて、汚れの課題を改良したメーカーもある。

#### ・フルオロアルミノシリケート

フッ化物ガラスも歯科においてフッ化物源として利用される。フルオロアルミノシリケートガラスは、組成比で二酸化ケイ素が35~40%と20~30%の酸化アルミニウムに、製造時の融剤として、15~20%のフッ化カルシウムのようなフッ化物を添加してできたガラスを粉砕して、無機質フィラーとして利用される<sup>29)</sup>。

歯科では充填材に配合され、セメント系ではグラスアイオノマーセメントに、レジン系ではコンポジットレジンに利用されている。

これらの材料は、低濃度のフッ化物が長期間持続的にフィラーから放出され続ける。グラスアイオノマーとコンポジットレジンでは、徐放量が大きく異なり、前者の方が多く、後者は極めて少ない。このようなフッ素徐放性材料のう蝕への効果は、グラスアイオノマーでは実験的にも臨床的にも報告されているが、コンポジットレジンの場合では臨床的効果が十分に証明されていない。この問題については後述する。

#### ・その他

これまでのフッ化物は無機フッ化物であるが、有機系化合物にもフッ素と結合した「有機フッ素化合物」が多く知られている。構造的には炭素原子とフッ素原子が結合していることでさまざまな有益な物性を発現する。すなわち、このような樹脂は、耐熱性、耐薬品性、非粘着性など、ほかの高分子よりも優れた性質を有する。産業機材、家電、シール、パッキン、コーティング剤など多岐の用途がある<sup>17)</sup>。代表的なものにフッ素樹脂があり、調理器具などのコーティングが身近な例である。

ただし、このような樹脂(有機フッ素化合物)は炭素-フッ素結合が非常に強固であるから、無機フッ化物のような、溶解や化学変化によるフッ素樹脂からフッ化物イオンの溶出はない。

### 1.2.2 歯科での使用における有害性について

フッ化物は、過剰に体内に取り込むと急性中毒を示し、高濃度の長期間の服用では慢性中毒を示す。日本では急性中毒を呈する閾値が2 mg F/kg (含有するフッ化物イオン(原子)として換算される濃度)に設定されている。この根拠は、Baldwinが身をもって、さまざまな濃度のフッ化ナトリウム水溶液を摂取し、急性中毒の症状が現れた濃度を検証した結果に基づいている<sup>30)</sup>。なお、250mgのフッ化ナトリウムの摂取によって急性中毒の症状を呈したと報告されている。これはフッ化物イオンとして113mg (250mg×19(F<sup>-</sup>)/42(NaF))に相当し、実験者の体重(56.5kg)からkgあたりフッ化物イオンとして2mgとなる。なお、中毒症状はフッ化物特有のものではなく一般的にみられるものである。致死量は約45mg F/kgであり、体重60kgの成人であれば、約6gのフッ化ナトリウムに相当する<sup>4)</sup>。

慢性中毒では前述した歯や骨のフッ素症がある。歯のフッ素症に関してはMcKayやDeanらによる斑状歯の疫学調査により、飲料水中に0.4ppmの濃度から認められ、審美的に問題となる中程度以上は2.0ppm前後で認められた。1.0ppm程度のフッ化物濃度の場合では発生割合が比較的lowく、う蝕の発生も少ないと報告されている<sup>4)</sup>。

また、運動障害の症状を呈する骨フッ素症(骨硬化症)の発症には、20ppmのフッ化物を含む飲料水を10年以上毎日摂取する必要があると見積もられている<sup>1)</sup>。

これらの報告に基づいて、1945年に米国で開始された水道水フッロリデーションはフッ化物濃度が1.0ppmに設定された。

一方で、日本の水質基準では、飲用水中のフッ化物濃度は0.8ppm以下と定められている。この濃度でのフッ素歯の懸念はない。

以上のように、フッ化物の安全性や危険性は国連機関、行政、専門的な委員会や学会によって、50年以上も評価され続けており、う蝕予防のためのフッ化物応用は、最新の知見に基づいて安全性を保障され、使用に関する適用量が定められている<sup>1,2)</sup>。したがって、上述したような急性中毒や慢性中毒は、適正な使用の範囲において起こらない。

### 1.2.3 フッ化物使用における腐食のリスクについて

フッ化物の使用に関しては、直接的毒性のほかに腐食によって、歯科修復物への影響が心配される。これは、前述のとおり、フッ化物は潜在的に高い反応性を有するためである。

例えば、純チタンやチタン合金に対する腐食の研究がある。チタンは耐腐食性や生体適合性が高く、インプラントや、義歯床、矯正に応用されている材料である。臨床の観点で、このようなチタン系材料が歯磨剤や洗口剤などに含まれるフッ化物に対して、どれだけ影響があるのか興味深い。

チタンの優れた耐腐食性は表面に形成される強固な不動態に由来する。フッ化水素はこの不動態を酸性条件下で破壊することが知られている<sup>27)</sup>。したがって、不動態の破壊と、破壊面に露出したチタンが酸化されて新たに不動態が再形成される過程とのバランスが破壊に偏ると腐食が起こりうる。

フッ化物と純チタンあるいはチタン合金との反応はさまざまな検討がおこなわれた結果、腐食は低pH(酸性)領域、高フッ化物濃度や水溶液中の低い溶存酸素濃度によって起こりやすいことが報告された<sup>31-33)</sup>。実際に臨床現場で用いられているフッ化物製剤でこの腐食性を検討しても同様の傾向が観察されている<sup>34)</sup>。例えば、酸性で低溶存酸素濃度の条件下であれば、低フッ化物濃度でもチタン系材料を腐食するが、pH値がより高い中性条件では低濃度フッ化物による腐食が抑えられる。一方で、酸性化した高濃度フッ化物製剤であるリン酸酸性フッ化ナトリウム(9000ppm)か

らは顕著なチタンイオンの溶出が認められ、低フッ化物濃度であっても弱酸性を示す洗口液（450 ppm）や、中性であっても高フッ素濃度であるフッ化ナトリウム溶液（9000 ppm）からも溶出量は少ないもののチタンイオンの溶出が認められた。日本口腔衛生学会では、歯科医院で使用するリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液あるいはゲルの塗布は避け、中性フッ化ナトリウム溶液を塗布するように推奨している。さらに、生活用品として市販されている歯磨剤などフッ化物製剤はほとんどが中性であることから、フッ化物の利用は積極的に実施するべきと見解を発信している<sup>35)</sup>。

## 参考文献

- 1) (最新版) フッ化物洗口マニュアル, 千葉県, 千葉県歯科医師会, 千葉県学校歯科保健委員会, 2007年7月.
- 2) 一般財団法人 日本口腔衛生学会 フッ化物応用委員会編: フッ化物応用の科学 第2版, 一般財団法人 口腔保健協会, 2018年3月.
- 3) 山本宏治, 山内六男, 松本敦, 若林学, 堀田正人, 滝永一, 他: 口腔細菌に対する合着用セメントの抗菌性. 日保歯誌, 30, 1551-1555, 1987.
- 4) G.V.Black and F.S.McKey: Mottled Teeth au eu demic developement imperfectiv of the enamel of the teeth. Dent Cos: 58, 129, 1916.
- 5) Dean H. T. The investigation of physiological effects by the epidemiological method. Tn: Moulton F, R, editor. Fluorine and dental health, Washigton DC: AAAS Publication: 19, 23-31, 1942.
- 6) 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, 814-827, 1981.
- 7) Francis A. Arnord, Jr., Grand Rapids Fluoridation Study-Results Pertaining to the Eleventh Year of Fluoridation AMERICAN JOURNAL OF PUBLIC HEALTH FLUORIDATION: 47 539-545, 1957.
- 8) 眞木吉信: 新しい地域保健へアプローチ第1回, 歯科学報: 98, 1-5, 1998.
- 9) 佐藤尚毅, 村上淳子, 香西淑子, 董瑞香, 甲斐真貴子, 林原久盛, 他: 歯冠修復材の抗菌性について. 日保歯誌: 25, 442-452, 1982.
- 10) フッ化物 - 歯とお口のことなら何でもわかる テーマパーク8020 (jda.or.jp)
- 11) Bartels T, Van Pelt A. W. J, De jong H. P, Arends J, Surface Characteristics of Hydroxyapatite and Enamel after Adsorption of Fluoride-Containing Macromolecules, Caries Res: 16, 51-56, 1982.
- 12) 増原英一, 小島克則, 門磨義則: メタクリル酸フッ化物-メタクリル酸メチルコポリマーフィルムからのフッ素イオン放出: 高分子論文集: 40(3), 151-156, 1983.
- 13) Wilson A. D, Kent B. E: The Glass-Ionomer Cement, a New Translucent Dental. J. Appl. Chem. Biotechnol: 21, 313, 1971.
- 14) McCabe J F: A laboratory evaluation of the water and fluoride equilibrium characteristics of Reactmer. In: Giomer International Meeting/Japan Proceedings (Onose H, Mjor IA, ed.), Shofu Inc., Kyoto: 35-42, 2003.
- 15) 田本見生, 作誠太郎, 山本宏治: 改良型 SPRG フィラー配合低粘度コンポジットレジン の抗ブラーク性と窩壁適合性に関する研究, 日歯保存誌: 49, 659-668, 2006.
- 16) 「フッ化水素酸のラベル確かめず」『毎日新聞』, 1982年4月24日, 21面.
- 17) 長倉三郎ほか(編) 「フッ素樹脂」『岩波理化学辞典』第5版 CD-ROM版, 岩波書店, 1998年.
- 18) フロン類及びフロン類の種類 の定義: フロン類の使用の合理化及び管理の適正化に関する法律: 経済産業省製造産業局化学物質管理課オープン層保護等推進室 環境省地球環境局地球温暖化対策課フロン対策室: 令和3年4月.
- 19) 『化学大辞典』共立出版, 1993年.
- 20) (最新版) フッ化物洗口マニュアル, 千葉県, 千葉県歯科医師会, 千葉県学校歯科保健委員会, 2007年7月.
- 21) 令和元年度第2回毒物劇物部会について: 毒物及び劇物取締法に基づく毒物の指定等について, 第(9)項: 厚生労働省, 2020年2月.
- 22) 早川太郎, 須田立雄, 木崎治博, 畑隆一郎, 高橋信博, 宇田川信之: 口腔生化学 (第4版), 医歯薬出版: 108, 2005.
- 23) 日本歯磨工業会 HP (<https://www.hamigaki.gr.jp>).
- 24) 厚生省告示第331号: 化粧品基準第4条の別表第1: 厚生労働省, 平成12年9月.
- 25) 山賀禮一, 横溝一郎: フッ化ジアンミン銀とその応用, 医歯薬出版, 東京, 1978.
- 26) 五十嵐清治: フッ化ジアンミン銀 [Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>F]: 小児歯科学雑誌: 16(1), 1-18, 1978.
- 27) 福島正義: SDF法による高齢者根面う蝕のマネージメント: 老年歯科学, 33(4), 400-404, 2019.
- 28) 日本口腔衛生学会フッ化物応用委員会編: う蝕予防の実際 フッ化物局所応用実施マニュアル: 社会保険研究所, 20-37, 2017.
- 29) 千田彰, 中垣治夫, 眞木吉信 編著: フッ化物徐放性修復材料ガイドブック: 永末書店, 東京: 4, 2005.
- 30) Baldwin HB: The toxic action of sodium fluoride. J.Am.Chem.Soc., 21: 517-521, 1899.
- 31) Nakagawa M, Matsuya S, Shiraiishi T, Ohta M: Effect of fluoride concentration and pH on corrosion behavior of titanium for dental use., 20: 306-314, 2001.
- 32) Nakagawa M, Matsuya S, Udoh K: Corrosion behavior of pure titanium and titanium alloys in fluoride-containing solutions. Dent. Mater. J., 21: 83-92, 2002.
- 33) Nakagawa M, Matsuya S, Udoh K: Effects of fluoride and dissolved oxygen concentration on the corrosion behavior of pure titanium and titanium alloys. Dent. Mater. J., 21: 83-92, 2002.
- 34) 小田豊: バイオマテリアルチタンは腐食・変色しないか?. 日本歯科医師会雑誌, 55(12), 1167-1176, 2003.
- 35) フッ化物配合歯磨剤の利用はチタン製歯科材料使用者にも推奨すべきである: 一般社団法人日本口腔衛生学会, 同フッ化物応用委員会: 平成27年5月.

# 2

## フッ化物のう蝕に対する作用機序について

### 2.1 う蝕が起こるメカニズムについて

う蝕が起こる原因として①う蝕原性細菌の種類（*Streptococcus mutans*や*Streptococcus sobrinus*）や量，②生活習慣（歯磨きや食生活），③歯の性質（エナメル質や象牙質の状況）が挙げられる。う蝕が起こるメカニズムは，まず，う蝕原性細菌が歯面に付着し，増殖する。付着の初期段階では歯磨きで細菌を取り除くことができるが，時間が経過しバイオフィームと呼ばれる菌の集合体になると除去が難しくなる。次に，う蝕原性細菌は飲食物に存在する糖を取り込み，有機酸へと代謝することにより歯質周辺のpHを低下させる。これらによって歯質中のミネラルが溶出する脱灰が引き起こされる。そのため，糖分や酸性の食事をとりすぎると脱灰のリスクが高くなる。一方でカルシウムイオンやリン酸イオンが存在すると再び歯質に沈着する再石灰化もおこなわれる。脱灰と再石灰化は日々繰り返されているが，このバランスが崩れることにより，脱灰が重度になった状態をう蝕という（図2-1）。

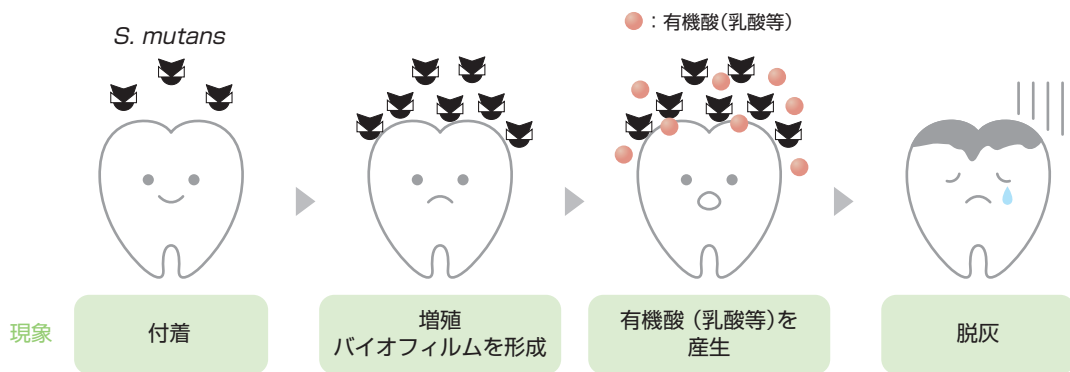


図2-1 う蝕のメカニズム

## 2.2 フッ化物がう蝕を抑制するメカニズムについて

フッ化物は図2-2に示したように、再石灰化や歯質の強化と、う蝕原性細菌に対する抗菌性など、う蝕予防につながる種々の機能性を有する。歯質はカルシウム、リン酸、水酸基からなるハイドロキシアパタイトで構成されている。pHが低下するとハイドロキシアパタイトからカルシウムが溶け出し、脱灰が引き起こされる。この溶け出したカルシウムが再びエナメル質に取り込まれて、再結晶化することを再石灰化と呼ぶ。フッ化物この石灰化を促進することで歯質の修復に関与すると考えられている。さらに、フッ化物はハイドロキシアパタイトと結合し、耐酸性の高い安定したフルオロアパタイトを形成することにより歯質の強化を促すことが知られている。

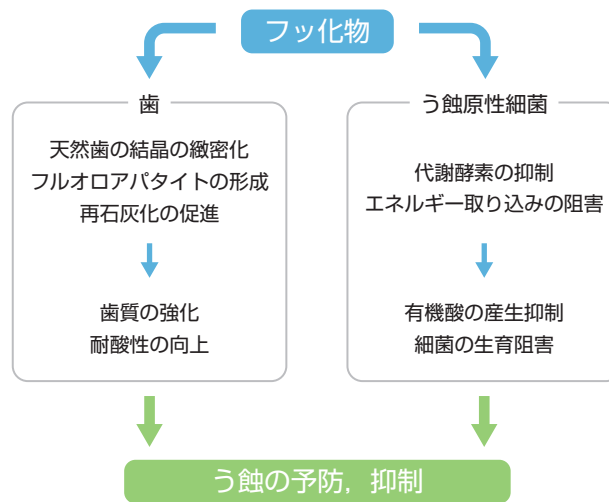


図2-2 フッ化物の役割

う蝕原性細菌に対する抗菌性については、図2-3に示すように細菌の酵素の働きを阻害することでエネルギーの取り込みや、歯質の脱灰を引き起こす酸の産生などのさまざまな働きを阻害・抑制することが知られている<sup>1)</sup>。

細菌の周囲のpHが低下した場合、 $H^+ + F^- \rightleftharpoons HF$ の平衡化が右に傾くことでHFが増加し、細菌内へ取り込まれる。菌体内のpHは中性に近いので、HFは解離して $F^-$ に戻り、この $F^-$ が解糖系の酵素であるEnolaseに作用することで、2-ホスホグリセリン酸をホスホエノールピルビン酸へと変換する触媒反応を阻害し、結果的にその後の乳酸生成が阻害される。すなわち、脱灰を引き起こす酸産生の抑制が、う蝕予防につながりうる。

通常う蝕原性細菌は体内で産生された $H^+$ をATPaseの働きにより菌体外に放出することで、耐酸性の性質を有し、酸性条件下でも生育できる。 $F^-$ はこのATPaseの作用を阻害することで $H^+$ の放出を抑制し、菌自体の耐酸性を阻害し増殖に影響を与える。このように、フッ化物はう蝕を予防、抑制する効果が知られているため、さまざまな製品に広く使用されている。

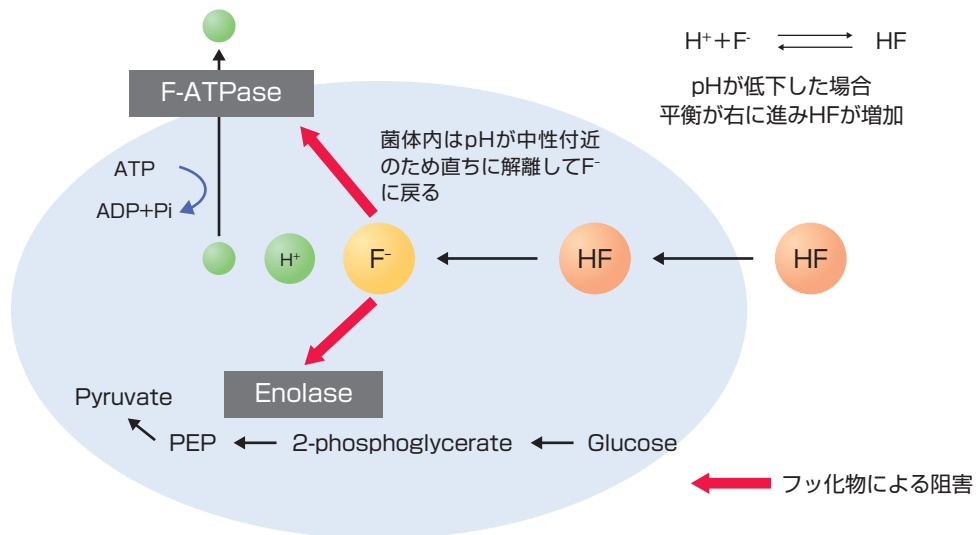
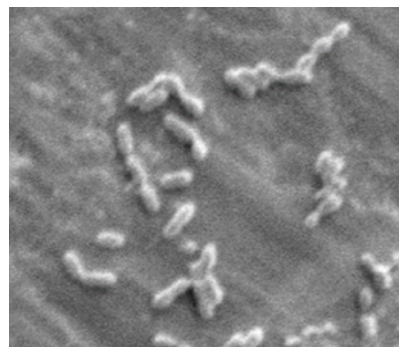


図2-3 フッ化物のう蝕原性細菌への作用



*Streptococcus mutans*

図2-4 う蝕原性細菌

参考文献

- 1) Ying Liao, Bernd W. Brandt, Jiyao Li, Wim Crielaard, Cor Van Loveren, and Dong Mei Deng: Fluoride resistance in *Streptococcus mutans*: a mini review. *Dent. JOURNAL OF ORAL MICROBIOLOGY*, 9(1), 1344509. 2017

# 3

## フッ化物が配合される材料概論

### 3.1 フッ化物が配合される材料の分類

フッ化物の効果やリスクは、前章で述べたように、実験レベルから臨床あるいは疫学に至るまでさまざまな観点から検証され、多くの歯科材料に応用されている。表3-1にフッ化物を活用する歯科材料についてまとめた。

用途（使用場所）は、う蝕予防用と修復材料用とに大別される。フッ化物イオンの放出の仕方では、口腔ケア用品とフッ素徐放性歯科材料に分けられ、後者はさらに歯面コーティング材と修復系材料に分類される。フッ化物の放出量は各材料で大きく異なり、極めて微量な材料から、数万ppmに至るまで多岐にわたる。

本節では、各材料の概要を述べ、それらが、どのような効果を期待されているか解説する。

表3-1 フッ化物配合の歯科材料

使用場所	分類	種類	フッ化物濃度 (ppm)
う蝕予防のため、歯質表面に処置する。	口腔ケア用品	歯磨剤	500-1,500
		洗口剤	226-900
		歯面清掃剤	900-1,000
		歯面塗布剤	9,000-19,400
	フッ素徐放性歯科材料 (歯面コーティング材)	パーニッシュ	22,600
		フッ化ジアミン銀	45,000
		フィッシャーシーラント	-
欠損部修復のため歯質内部に充填、接着する。	フッ素徐放性 歯科修復材料 (修復材, 合着材, 接着材)	グラスアイオノマーセメント	-
		レジン強化型 グラスアイオノマーセメント	-
		ボンディング材	-
		コンポマー (アイオノマー添加型 コンポジットレジン)	-
		レジンセメント	-
		コンポジットレジン	-



## 3.2 予防歯科に関わる材料

予防歯科とは、う蝕や歯周病を未然に防ぐために、口腔内からこれらの疾病の要因を排除するためにおこなう予防措置を指す。具体的には、自己メンテナンスの指導や歯科医院での定期的なメンテナンスにより、プラーク（菌垢）を作り出す口腔内細菌を減らし、プラークを歯質から排除することにより、う蝕や歯周病を予防する<sup>1)</sup>。

う蝕や歯周病の原因菌は全身疾患にも深く関わっている（図3-1）。例えば、歯周病菌は糖尿病、動脈硬化、低体重児出産、誤嚥性肺炎<sup>2)</sup>、カンジダ菌は誤嚥性肺炎<sup>3)</sup>への関与が、う蝕原性細菌は感染性心内膜炎<sup>4)</sup>、動脈硬化<sup>5)</sup>、脳出血<sup>6)</sup>および潰瘍性大腸炎<sup>7)</sup>への関与が報告されている。さらに、これら細菌は口腔内から体内に取り込まれ腸内細菌叢（菌の集合体）にも影響を与え、病気のリスクを高めることが知られている。つまり、口腔内の細菌を管理することは健康を維持する上で極めて重要である<sup>8)</sup>。そのため、近年、平均寿命の延伸に伴い、健康上の問題で日常生活が制限されることなく生活できる期間である「健康寿命」を延伸する上で予防歯科に焦点が当てられている（図3-1）。



図3-1 口腔内細菌と全身疾患の関わり

超高齢化の進む日本において、「健康寿命」を延ばすためにさまざまな取り組みがなされている。高年齢化とともに歯の喪失リスクが高まるが、歯を失うことは生活の質（QOL）の低下につながる。厚生労働省や日本歯科医師会では80歳になっても20本以上自分の歯を保とうという運動（8020運動）を推進している<sup>9)</sup>。予防歯科は、8020運動の推進に大きく貢献し、今後もより重要性が高まる分野である。フッ化物は、多くの臨床的あるいは疫学的研究により、効果と安全性に関する実績が蓄積され、各種材料への応用が容易なことから、多岐にわたる歯科材料に展開され、口腔ケアにおいて欠かせない存在となっている。

### 3.2.1 口腔ケア材料

#### ・歯磨剤

フッ化物が配合されている歯磨剤は医薬部外品に分類される。

国際規格 (ISO 11609) によれば、配合されるフッ化物濃度の上限は1,500 ppmと設定されている。一方、日本では、従来フッ化物の配合量は1,000 ppmが上限値であり、海外製品と比べると上限値は低く定められていた<sup>10)</sup>。しかし、2017年3月に厚生労働省より薬生薬審発 0317 第1号「フッ化物を配合する薬用歯磨き類の使用上の注意について」が発せられ、1,000 ppmを超えるフッ化物の配合が日本でも認められた<sup>11)</sup>。現在では1,450 ppmの歯磨剤が医薬部外品として発売されている。

フッ化物としては、フッ化ナトリウム、フッ化スズやモノフルオロリン酸ナトリウムが単独使用あるいは併用される。

日本のフッ化物配合歯磨剤の全歯磨剤に対する占有率は、1980年代前半までは15%以下であったが、2010年代以降は90%までに上昇している<sup>12)</sup>。この背景には国内の疫学調査や臨床的研究が進み、これらの成果を元に専門機関を通じて、フッ化物配合歯磨剤の普及が進んだことにある。

疫学的調査の例としては、フッ化物配合歯磨剤の普及と、う蝕罹患の減少との高い相関性や、小児のう蝕や成人（高齢者）の根面う蝕に対する予防効果について報告されたものがある<sup>12, 13)</sup>。

また臨床的研究では、長期的な使用が再石灰化の促進、初期う蝕の修復、フルオロアパタイトの形成による耐酸性菌の獲得に貢献しうることが示された<sup>14)</sup>。

#### ・洗口剤

生活用品として販売される洗口剤にフッ化物を配合している製品は少なく、主に歯科医院で販売されているこれら洗口剤には、フッ化物としてフッ化ナトリウムが用いられ、毎日使用するタイプと週に一度使用するタイプとに大別される。フッ化物濃度は、後者の方が高濃度（0.1%～0.2% NaF）であり、前者は0.05% NaFである。

フッ化物洗口は、主に幼稚園や小学校などで実施されている。国内で販売されている歯磨剤や洗口液は、全量を誤飲したとしても安全である。また、洗口後体内に取り込まれるフッ化物量は約0.2 mgと見積もられており、これは緑茶2杯分に相当する量である。

#### ・歯面清掃剤

歯面清掃剤とは、PMTC (Professional Mechanical Tooth Cleaning: 歯科医院で徹底しておこなわれる歯石や歯垢除去などの歯面清掃) において使用される材料である。専用の機材と研磨剤を使用して歯面を磨く。このとき使用する研磨剤を歯面清掃剤といい、フッ化物が配合されている。

日常の歯磨きだけで歯垢を完全に除去することは難しく、歯間、歯の細かい溝や歯周ポケットなど歯ブラシが行き届かない箇所から徐々にバイオフィームや歯石が形成される。このような歯石は、歯磨きでは除去が不可能になり、機械的に取り除く必要が生じる。

PMTCは、Per Axelsson (D. D. S., Odont. Dr) によって提唱された定期的な歯のメンテナンス方法であり、30年にわたる臨床研究の結果、成人の歯を97.7%守ることができることが実証されている。さらにフッ化物を添加した歯面清掃剤の併用によって、う蝕や歯周病による歯の喪失の予防にも有効であることが報告されている<sup>15-17)</sup>。

このような歯面清掃は、専用機材で歯質のバイオフィームや歯石を機械的に取り除いたのち、新鮮な歯面をフッ化物によって同時に処理することができるので、効果的な予防となる。

#### ・歯面塗布剤

フッ化物の歯面塗布は、エナメル質表面に直接フッ化物を塗布することによって、う蝕に対する抵抗性を付与する方法で歯面清掃と併用されることが多い。歯科医院や保健所において、歯科医師や歯科衛生士が専門的に実施する予防法である。

歯磨剤や洗口剤よりも高濃度のフッ化物を使用するため、年数回の処置でう蝕予防効果が期待できる<sup>18,19)</sup>。

フッ化物の歯面塗布は、小児期の萌出直後の歯に対して実施するのが最も効果的である。これは、萌出直後の歯質表面は反応性が高く、フッ化物との反応で、歯の表層へのフッ化物が効率的に取り込まれるためである。

また、萌出して2~3年はう蝕に罹患しやすいため、予防的にフッ化物を歯面塗布することが重要であり、繰り返し塗布することで、より高い効果が期待できる。

したがって、乳前歯が萌出し始める1歳から永久歯第2大臼歯の萌出が終わる13歳までの間、6カ月ごとに萌出した全ての歯に対するフッ化物塗布が効果的である。

### 3.2.2 フッ素徐放性歯科材料（歯面コーティング材）

歯面コーティング材は、歯面汚染や細菌付着の防止を目的として、歯質にコーティングするために用いられる低粘度レジン系材料を指す。このような材料にフッ化物を配合すると歯質の再石灰化による強化も期待できる。フッ化物がコーティング材から放出されるため、前述した洗口剤のような一時的作用ではなく、比較的長期的に作用する。

歯面コーティング材には、フッ化物バーニッシュ、フィッシャーシーラントやレジンコート材があり、初期う蝕の進行抑制、二次う蝕の抑制、知覚過敏抑制や根管治療の目的で使用されている。

#### ・バーニッシュ

一般的に対象を保護する目的で使用される透明な上塗り材のことをバーニッシュというが、ニスという別名の方が馴染みがあるかもしれない。歯面バーニッシュ材とは歯面保護用の上塗り材である。

国内ではフッ化物配合の歯科材料として、歯磨剤（～1,500 ppm）や歯面塗布剤（9,000 ppm）が用いられるが、欧州ではより高濃度のフッ化物が配合された材料としてフッ化物配合バーニッシュが用いられるようになった。この材料は、欧米諸国を中心に1960年代後半から使用され始め1980年代に広く普及した材料である<sup>20)</sup>。高濃度の5%フッ化ナトリウム（22,600 ppm F）と天然樹脂を有機溶媒に溶解させた材料であり、塗布すると有機溶剤が蒸発し、樹脂成分が塗膜を形成する。フッ化物はこの塗膜に存在し、継続的に放出されるため、歯面は長期的なフッ化物の供給を受ける。フッ化物は歯質との反応から生じたフッ化カルシウムを経て、徐々にフルオロアパタイトとして取り込まれるため歯質強化に効果的である。

さらに、露出した象牙細管の狭窄や閉塞によって知覚過敏の抑制も可能であるため、国内では象牙質知覚過敏症の治療剤として市販されている。ただし、バーニッシュによる塗膜はブラッシングによって、1カ月ほどで剥離すると考えられている。剥離したバーニッシュは、体内に取り込まれることなく排出される<sup>21)</sup>。

#### ・フッ化ジアンミン銀

進行したう蝕が多数の歯に一度に生じる、乳歯ランパントカリエスの進行を抑制するために使用

される<sup>22)</sup>。フッ化ジアンミン銀製剤は、フッ化物の効果だけではなく、銀イオンの抗菌効果により強力にう蝕の進行を防ぐ。一度塗布すると長期間効果が持続するため、頻繁に歯科医院で塗布する必要はない。フッ化ジアンミン銀製剤を使用すると、う蝕あるいは、その疑いのある領域は黒変する。この性質は、う蝕検知の観点から有用である一方、審美性の観点から課題と認識されている。

近年はフッ化ジアンミン銀製剤の使用が減少傾向にあるが、前節で触れた高齢者において増加傾向にある根面う蝕への積極利用や、口腔ケアが困難な要介護者への使用など見直しを提案されている<sup>23)</sup>。

#### ・フィッシャーシーラント

セルフケアとしてどんなに注意深く歯を磨いたとしても、臼歯部の深い溝（小窩裂溝部）から歯垢を完全に除去することは困難である。フィッシャーシーラントは、予防的な観点から密閉材（接着性を有する樹脂）で歯垢が残存しやすい小窩裂溝部をあらかじめ埋め平滑化する目的で使用される（図3-2）。

フッ化物源として、フッ素徐放性のポリマー、フルオロアルミノシリケートなどが用いられる。長期的なフッ化物イオンの徐放によって、フィッシャーシーラントの利用による歯質への効果が報告されている<sup>24)</sup>。

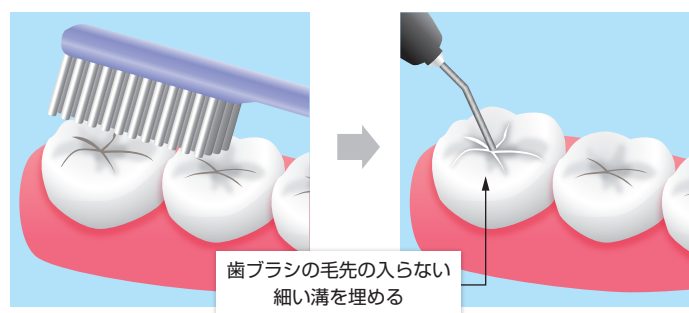


図3-2 フィッシャーシーラント

### 3.3 フッ素性歯科材料（修復系材料）

う蝕を除去するために、削られた歯質の窩洞部（空洞）は、コンポジットレジン、セメントおよびボンディング材などの歯科用修復材料で治療される。これらの材料は歯質と直接接触するため、材料に配合されたフッ化物による歯質の再石灰化の促進や、二次う蝕の予防が期待できる。フッ化物の供給源としては、主にフルオロアルミノシリケートガラスが用いられる。フッ化物イオン徐放量と、材料の強度および耐久性はトレード・オフの関係にあり、臨床では症例ごとに最適なフッ化物イオン徐放量および材料強度を判断して、使用する材料を選定する必要がある。フルオロアルミノシリケートガラス以外のフッ化物供給源としては、フッ化ナトリウムやフッ素徐放性ポリマー<sup>25)</sup>、フッ化イッテルビウムなどが用いられる<sup>26)</sup>。

#### ・グラスアイオノマーセメント

表3-2に示すとおり、フッ素徐放性を有する歯科修復材料の中で、親水性材料であるグラスアイオノマーセメントは、最もフッ化物イオンを徐放する材料である。

グラスアイオノマーセメントを用いて修復した歯の周辺において二次う蝕発生が少ないこと<sup>26, 27)</sup>や、成人および高齢者の根面う蝕の修復に対する有効性が報告されている。

合着系材料の側面を有し、歯質や金属に対してボンディング材を使用せずとも接着性を有する。グラスアイオノマーセメントの接着強さは、コンポジットレジンとボンディング材のシステムと比較すると小さいものの、水溶液との混和で硬化するシステムであるため、防湿が不完全であっても予後が良く、訪問診療時など防湿が困難な症例に適している。現在でも修復物の装着に積極的に使用する術者もいる。

このように、さまざまな機能を持つグラスアイオノマーセメントは、歯科治療において、充填、合着、支台築造、シーラント、知覚過敏抑制など、非常に幅広く使用されている。

グラスアイオノマーセメントは、フルオロアルミノシリケートガラスとポリアクリル酸などのカルボン酸の水溶液を練和すると酸（カルボン酸）と塩基（ガラスの金属イオン）との間で起こる酸-塩基反応で硬化する。硬化の際に多孔質の反応相が形成され、この反応相を介してセメント内部のフッ化物が表層に拡散し溶出するため、長期にわたってフッ化物イオンが徐放される（図3-3）。

このフッ化物イオンは、フルオロアルミノシリケートガラスの骨格構造ではなく、格子間に存在するため、ガラスや反応相の中に拡散するものと考えられる。この性質によって、フッ化物配合歯磨剤の利用などで口腔内に高濃度のフッ化物イオンが存在する場合に、ガラスおよび反応相中にフッ化物を蓄積するリチャージ機能も有する<sup>28)</sup>。

歯質に対するフッ化物イオンの徐放は材料の充填直後から始まり、エナメル表層では1日で2,000 ppm以上になるという報告もある<sup>29, 30)</sup>。歯質に取り込まれるフッ化物イオンの量は、エナメル質の表層からの深さによって変わるが、時間とともに徐々に深部まで浸透する。

表3-2 フルオロアルミノシリケートガラス含有の歯科修復材料

種類	フッ化物	フッ化物徐放量	強度、耐久性	組成	
				カルボン酸水溶液	モノマー, 触媒
グラスアイオノマーセメント	フルオロアルミノシリケートガラス	大	小	ポリアクリル酸, 水	-
レジン強化型グラスアイオノマーセメント		↑	↑	ポリアクリル酸, 水	親水モノマー(HEMA), 光 or/and 化学重合触媒
ボンディング材				カルボン酸モノマー, リン酸モノマー	親水モノマー(HEMA), 疎水モノマー(UDMA等), 光 or/and 化学重合触媒
				水	
コンポマー				カルボン酸モノマー	親水モノマー(HEMA), 疎水モノマー(UDMA等), 光 or/and 化学重合触媒
				水	
レジンセメント	リン酸モノマーを含むものもある	疎水モノマー(UDMA等), 光 or/and 化学重合触媒			
コンポジットレジン	小	大		疎水モノマー(UDMA等), 光重合触媒	

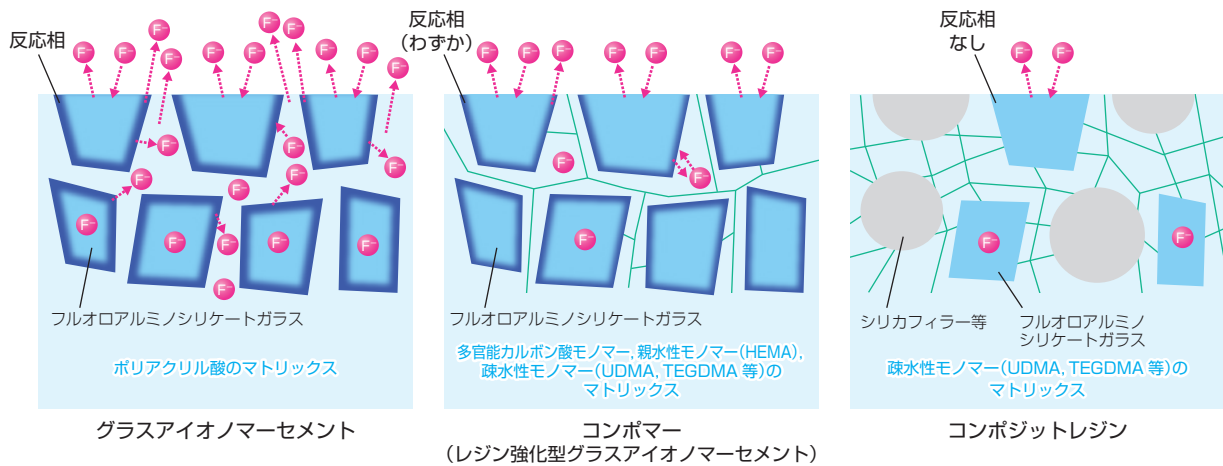


図3-3 フッ素徐放機構イメージ

### ・レジン強化型ガラスアイオノマーセメント

ガラスアイオノマーセメントは、先述のように広い用途で使用されているが、硬化中に水分が混入すると、硬化が阻害される性質（感水性）がある。さらに、硬化後に白濁を生じるため審美性の観点でも課題があった。また、硬化物の強度もコンポジットレジンなどと比較すると低いことから、これら課題の克服が望まれた。

レジン強化型ガラスアイオノマーセメントは、ガラスアイオノマーセメントの組成に、親水性モノマー（HEMA：Hydroxyethyl methacrylate）および重合開始剤（光重合触媒 or/and 化学重合触媒）が添加されている。この改良によりガラスアイオノマーセメントよりも硬化速度が速くなり、強度や接着強さも大きく向上した。物性比較において象牙質の接着強さがガラスアイオノマーセメントの2倍程度になるという報告もある<sup>31)</sup>。

このようなレジン強化型ガラスアイオノマーセメントは、ガラスアイオノマーセメントと同様に幅広い用途で使用される。ただし、レジン強化型ガラスアイオノマーセメントの審美性は、コンポジットレジンにやや劣るといわれている。

### ・ボンディング材

ボンディング材は、歯質に塗布し、コンポジットレジンに接着させるために使用する。ボンディング材の層は非常に薄いので、フッ素徐放性を有するコンポジットレジンを用いると、徐放されたフッ化物イオンがボンディング材を透過して歯質に作用すると考えられる。

ボンディング材には、歯質との接着性を有するリン酸モノマー、カルボン酸モノマー、メタクリル酸系モノマー、光重合触媒、水、HEMA等が配合されており、フッ化物として、フルオロアルミノシリケートガラスやフッ素徐放モノマーが添加されている<sup>28, 32)</sup>。

### ・コンポマー（アイオノマー添加型コンポジットレジン）

レジン強化型ガラスアイオノマーセメントは、ガラスアイオノマーセメントと同様に長期間の溶解性に課題があった。コンポマーとは、この溶解性の課題を改良した材料である。

組成として、モノマー、フルオロアルミノシリケートガラス、ポリカルボン酸と光重合開始剤などが採用されており、コンポジットレジンに類似した組成を有する。

コンポマー（compomer）とは、コンポジット（composite）とガラスアイオノマー（glass-

ionomer)との造語である。ここでコンポジットは、フルオロアルミノシリケートガラスとポリカルボン酸の組み合わせを採用していることに由来する。文字通りコンポジットとガラスアイオノマーの中間的材料である。フッ素徐放性に関しては、フッ素徐放性コンポジットレジンに比べて、徐放量が多い傾向があり、一方で、溶解性を改善するとともに接着にはボンディング材を必要とする。

### ・レジンセメント

レジンセメントとは、歯冠修復物や矯正用アタッチメントを歯質に接着するために用いる接着材である。1980年代に歯質と金属に接着性を示すリン酸エステル系の接着性モノマーを使用した材料が登場し、光重合と化学重合の両方の重合システムを持つデュアルキュア型が開発され、次にフッ化物の溶出による強度の低下を抑えるために表面処理を施されたフッ化ナトリウムや、ガラスアイオノマー成分のフルオロアルミノシリケートガラスを配合することで、一定の耐久性を維持しつつ、フッ素徐放性が付与された接着性レジンセメントが開発された。現行の接着性レジンセメントは、無機質フィラーを含有しないMMA系と、無機質フィラーを含有するコンポジットレジン系の2種類に大別され、コンポジットレジン系はさらにプライマー（もしくはボンディング材）併用型と、リン酸エステル系モノマーなどの接着性モノマーを含むプライマー不要のセルフアドヒーシブ型に分類される。

レジンセメントにフッ化物を含有させる目的としては、接着面を介したフッ化物の取り込みによる歯質の耐酸性の向上<sup>33)</sup>、二次う蝕や脱離の原因となる辺縁漏洩の防止が挙げられる。

### ・コンポジットレジン

コンポジットレジンとは、ジメタクリレート等のモノマーに、シリカ等の無機質フィラーを充填して強度を高めた複合レジンであり、操作性と強度ともに優れるため、前歯部だけでなく臼歯部のう蝕部の充填や支台築造などさまざまな用途に使用されている。フッ素徐放型のコンポジットレジンには、ガラスアイオノマーのフィラー成分であるフルオロアルミノシリケートガラスや、フッ素徐放性ポリマーおよびフッ化ナトリウムを配合することで、フッ素徐放性が付与されている。表3-2に示すとおり、コンポジットレジンのフッ素徐放量は、ほかのフッ素徐放性材料と比べて少ないものの、長期にわたる徐放が確認されており、二次う蝕の予防効果が期待される<sup>34-36)</sup>。

コンポジットレジンの機械的強さや接着強さは、ガラスアイオノマーよりも高く、耐摩耗性や圧縮強さが要求される過酷な環境においても使用することができる。また、色調のラインアップも豊富なため色調再現性に優れている。

### ・CAD/CAM冠用レジンブロック

CAD/CAM冠用ハイブリッドレジンブロック（レジンブロック）は2014年の小白歯への保険適用から急速に普及が進んだ材料である。フッ化物の応用は、「KZR-CAD HR ブロック2（YAMAKIN株式会社）」が初めてである<sup>37)</sup>。

この技術はコンポジットレジンへの応用から派生している。フッ素徐放性を有するフィラーのコンポジットレジンへの配合は、材料の強度とフッ素徐放性の両立が課題であった。ヤマキンでは当時、この課題を解決したコンポジットレジンの開発が進んでおり、(2016年にアイゴスとして上市)、その技術をCAD/CAM冠用レジンブロックに応用することに成功した。したがって、CAD/CAM冠用レジンブロックのフッ素徐放性は、コンポジットレジンと同等のフッ素徐放性やリ

チャージ性能を有している。実験的にはう蝕菌に対する増殖抑制などが認められるが、臨床的観点での有効性は未知である<sup>38)</sup>。

CAD/CAM冠用レジンプロックのフッ素徐放性の有効性は以下の観点で検証が必要である。

- ① 臨床使用でのレジンプロックのプラーク付着抑制
- ② 長期使用による2次う蝕抑制
- ③ 疫学的に金属冠・セラミックス冠に対して、レジンプロックは隣接歯にう蝕リスクが高いといわれているが、CAD/CAM冠用レジンプロックのフッ素徐放性によって、課題が解決できるか。

このような課題は歯科のフッ化物応用の観点でもフッ素徐放性材料のう蝕への有効性を議論する上でも大変興味ある研究課題である。

### 3.4 フッ素徐放性に関する問題提起

修復物として用いられる材料のうち、レジン材料は金属やセラミックスと比較するとプラークが付着しやすい性質がある<sup>39)</sup>。これは、レジンがほかの材料と比べて、使用経過により表面に傷がつきやすく、その凹凸に細菌が付着するためである。一方で、各社さまざまな特性をもつレジン修復物が発売されており、そのひとつにフッ素徐放性レジン（グラスアイオノマーセメント、コンポジットレジンやレジンプロック）がある。しかし、これらの材料から徐放されるフッ素はほかの歯磨剤などの歯科材料と比べると低濃度である。フッ素は1章でも述べたように抗菌性や歯質強化という特性を有する一方、高濃度のフッ素を継続的に摂取すると、歯のフッ素症（斑状歯）などの為害性を呈することも知られている。そのため、健康には影響を及ぼさず、修復物から徐放されるような低濃度のフッ素で上述の有用な特性を享受することができれば、健康寿命を延ばす観点から、予防歯科において有効なものとなりえる。そこで、次章ではレジン系の歯科材料から徐放される低濃度のフッ素が*S. mutans*に与えるさまざまな影響について紹介する。



## 参考文献

- 1) Powers JM, Wataha JC: Dental Materials: Properties and Manipulation: 29-38, Elsevier, USA, 2013.
- 2) 村山洋二, 西村英紀, 岩本義博, 高柴正悟: 歯周病と全身疾患-歯周病の病態から-, 日本歯周病学会誌, 45(4), 325-348, 2003.
- 3) 弘田克彦, 大野由香, 中石裕子, 野村加代, 坂本まゆみ, 和食沙紀, 濱田美晴, 内田智子: 口腔ケアに役立つCandida albicansの最新知見, 高知学園短期大学紀要, 48, 73-80, 2018.
- 4) Jung C. J., et al.: Streptococcus mutans autolysin AtlA is a fibronectin-binding protein and contributes to bacterial survival in the bloodstream and virulence for infective endocarditis. Mol Microbiol, 2009.
- 5) Kesavalu L, et al.: Increased atherogenesis during Streptococcus mutans infection in ApoE-null mice. J Dent Res, 2012.
- 6) Satoshi Hosoki et al.: Oral Carriage of Streptococcus mutans Harboring the *cnm* Gene Relates to an Increased Incidence of Cerebral Microbleed. Stroke, 2020.
- 7) Ayuchi Kojima, et al.: Infection of specific strains of Streptococcus mutans, oral bacteria, confers a risk of ulcerative colitis. Scientific Reports, 2012
- 8) 新田博, 茂木美保, 小林宏明 編著: デンタルハイジーン別冊 プロケアの本, 6-8: 医歯薬出版, 東京, 2017.
- 9) 全国歯科衛生士教育協議会監修: 最新 歯科衛生士教本 歯科材料, 2-3: 医歯薬出版, 東京, 2017.
- 10) ISO 11609 : 2010 Preview : Dentistry – Dentifrices – Requirements, test methods and marking. <https://www.iso.org/standard/38010.html>
- 11) 薬生薬審発0317第1号/薬生安発0317第1号: フッ化物を配合する薬用歯みがき類の使用上の注意について: 厚生労働省, 平成29年3月.
- 12) 福島克明, 川崎弘二, 神原正樹: フッ化物配合歯磨剤の全歯磨剤に対する占有率. 歯科医学, 77(2) : 66-75, 2014.
- 13) フッ化物応用研究会編: う蝕予防のためのフッ化物配合歯磨剤応用マニュアル. 社会保険研究所, 東京, 2006.
- 14) 可見徳子: フッ化物によるアパタイト結晶の格子不整修復に関する研修. 阪大歯学誌, 15 : 42-56, 1970.
- 15) Axelssen, P. et al.: Effect of oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Result after 6 years. J. Clin. Periodontol, 8, 1981.
- 16) 福田順一他: 乳幼児のう蝕予防における定期歯科健康管理の有用性. 神奈川歯学, 28, 1994.
- 17) Hujuel, P. P.: The effects of simple interventions on tooth mortality: findings in one trial and implications for future studies. J. Dent. Res., 76, 1997.
- 18) 可見端夫: これ一冊で分かる フッ化物の臨床応用. クインテッセンス, 1996.
- 19) フッ化物応用研究会 編: う蝕予防のためのフッ化物歯面塗布実施マニュアル: 社会保険研究所, 東京, 2007.
- 20) 松田康裕: フッ化物バーニッシュからのフッ素の供給とう蝕予防効果の検証. 北医療大歯誌, 34(2) : 66-66, 2015.
- 21) 山賀禮一, 横溝一郎編: フッ化ジアンミン銀とその応用, 医歯薬出版株式会社, 東京, 1978.
- 22) 福島正義: SDF法による高齢者根面う蝕のマネージメント: 老年歯科医学, 33(4), 400-404, 2019.
- 23) Morphiris TK, Toumba KJ, Lygidakis NA.: Fluoride pit and fissure sealants. A review. Int. J. Paediat. Dent., 10: 90-98, 2000.
- 24) 小島克則, 門磨義則, 増原英一: 歯科用フッ素徐放ポリマーの研究 (第3報) メタクリル酸フッ化物とメタクリル酸メチル共重合体の歯科材料としての性質. 歯材器, 1 : 131-137, 1982.
- 25) Arends J, Ruben J: Fluoride release from a composite resin. Quintessence Int., 19: 513-514, 1988.
- 26) Henschel, C. J.: Observations Concerning vivo Disintegration of Silicate Cement Restorations. J. Dent. Res., 28: 528, 1949.
- 27) Phillips, R. W.: Materials for the Practicing Dentist, The CV Mosby company St. J. Ouis, 60, 1969.
- 28) 千田彰, 中垣晴男, 眞木吉信編: 福島正義: フッ素徐放性修復材料ガイドブック. 永末書店, 2005.
- 29) 亀山敦史, 塚本良, 春山親弘, 中沢祐一, 平井義人, 古賀寛, 友利隆俊, 石原博人, 松久保隆, 高江洲義矩: 各種修復材料からのフッ化物イオン溶出および歯質への取り込みについて: in vitro における検討. 歯科学報, 99(5) : 383-392, 1999.
- 30) 小松久憲: 光硬化型ガラスアイオノマーセメントの含有フッ素による抗齲蝕性. 歯界展望, 86(6) : 1296-1299, 1995.
- 31) Phillips, R. W.: Materials for the Practicing Dentist, The CV Mosby company St. J. Ouis, 60, 1969.
- 32) 堀田正人, 関根一郎: フッ素徐放性ボンディング材 (インパーバフルオロボンド) について-フッ素徐放量と牛歯象牙質窩壁へのフッ素の取り込み-. 白歯保存誌, 40 : 1332-1337, 1997.
- 33) 小松久憲: 光硬化型ガラスアイオノマーセメントの含有フッ素による抗齲蝕性. 歯界展望, 86(6) : 1296-1299, 1995.
- 34) 丸島徹: コンポジットレジン修復におけるフッ素徐放性レジン応用の可能性について-病理組織学的研究および象牙質窩壁接合性-. 歯保存誌, 316-354, 1989.
- 35) 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プラーク性. 歯保存誌, 45(3) : 459-468, 2002.
- 36) 松本勝利: プラークを寄せ付けないCR充填材. アポロニア21, 2014.
- 37) YAMAKIN株式会社, 「KZR-CAD HR 2」パンフレット
- 38) 山添正稔, 加藤喬大, 安樂照男: 「KZR-CAD HR ブロック2」の特徴と性能評価: 日本歯科産業学会誌: 29(1), 19-27, 2015.
- 39) 尾池和樹, 藤井和夫, 日下部修介, 堀田正人: フッ素ポリマーとナノシリカフィラー含有床用硬質レジン人工歯材料の着色性と微生物付着性. 日本歯科理工学会誌, 37(4), 255-264, 2018.

# フッ素徐放性レジンがStreptococcus mutansに与える影響についての検証

## 4.1 試験サンプルと培養条件

歯科材料から徐放される低濃度のフッ化物が*S. mutans*に与える影響について検証した。本章ではその内容を紹介する。

市販のフッ素徐放性レジン（フッ素徐放量：3 ppm）および比較用の対照試料として非フッ素徐放性レジンを使用し、[図4-1](#)に示した手順でレジン抽出液を調製し、各試験に供した。さらに、各濃度のフッ化物標品（NaF）を用いてフッ素自体が*S. mutans*に与える影響を評価した。試験に用いた*S. mutans*は、BHI培地（Brain-heart infusion broth）を用いて、37℃で培養した。*S. mutans*の作用として増殖能、付着能、バイオフィーム形成能および乳酸産生能に対する影響を検証した。

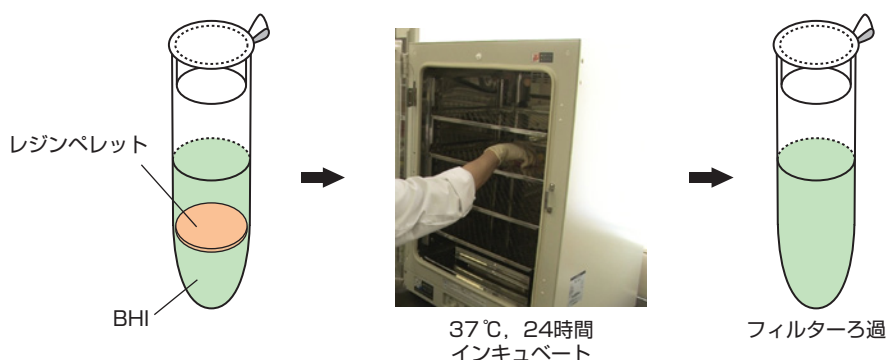


図4-1 レジン抽出液の調製手順

## 4.2 増殖能評価

### 4.2.1 増殖試験

歯科材料製品が*S. mutans*の増殖能に及ぼす影響を評価するために、各レジン抽出液で*S. mutans*を培養し、培養開始から1, 2, 4, 8, 24時間後に590 nmにおける吸光度を測定した（[図4-2](#)）。通常のBHI培地で培養した*S. mutans*の測定結果をコントロールとした。本試験では、細菌数が多いほど培養液の濁度が高くなるため、増殖が抑制されると吸光度が低くなる。

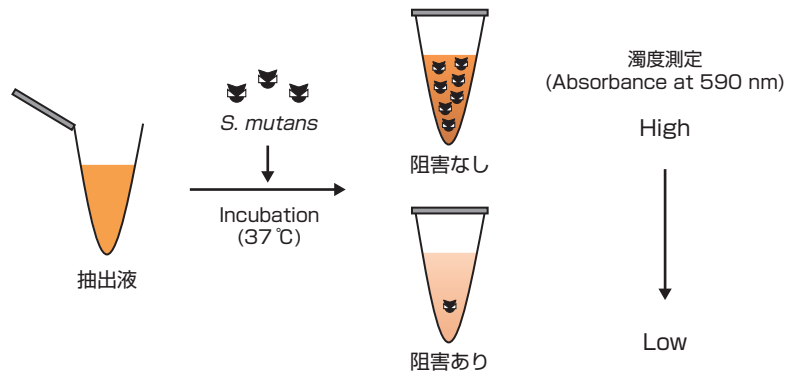


図4-2 増殖試験手順

図4-3に示すように、フッ素徐放性あるいは非フッ素徐放性レジンともにコントロールと同様の吸光度変化を示し、徐放フッ化物による吸光度の低下、すなわち*S. mutans*の増殖抑制は認められなかった。次にフッ化物標品 (NaF) を用いて同様に評価したところ、50 ppm以上の濃度で増殖抑制が認められた。この結果より、フッ化物自体は*S. mutans*の増殖を抑制するが、フッ素徐放性レジンから徐放される低濃度のフッ化物 (3 ppm) では増殖抑制を示さないことが明らかとなった。

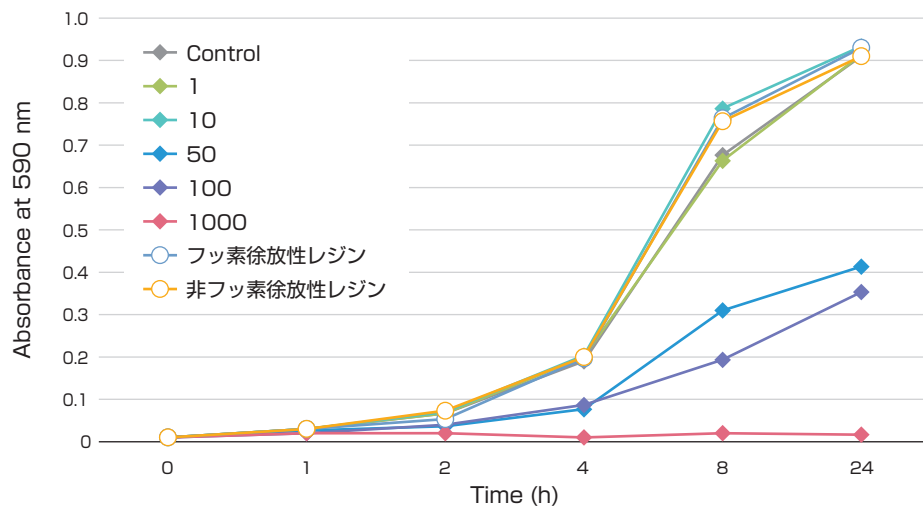


図4-3 増殖試験結果

01

### *S. mutans*の増殖に対する影響

こちらから動画でご確認いただけます



## 4.2.2 ATPase活性

*S. mutans*はATPaseの働きにより、pHの低下した環境下でも生育することができる耐酸性を有する細菌である<sup>1)</sup>。そのため、*S. mutans*の増殖に関わる因子のひとつとしてATPase活性へのフッ化物の影響を検証した。ATPase活性は、ATPase Activity Assay Kit (Colorimetric) (BioVision Inc.)を用いて測定した。測定原理は図4-4に示した。ATPaseの加水分解よりATPからPhosphateが生じる。このPhosphateはMalachite Green Reagentと反応することにより緑色の複合体が形成される。この複合体の650 nmにおける吸光度を測定することでATPase活性を評価する。ATPase活性 = 緑色の発色であるため、ATPaseを阻害すると、吸光度が低くなる。

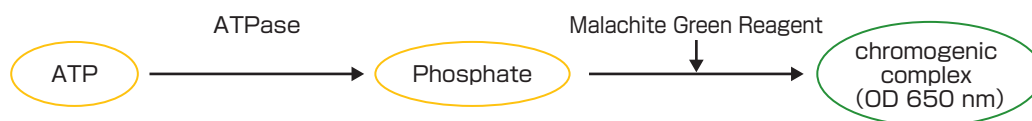


図4-4 ATPase活性測定原理

各レジン抽出液もしくはフッ化物標品を添加したBHIで37℃、24時間培養した*S. mutans*を遠心分離し、回収した沈殿物を細菌抽出物とした。試験手順は図4-5に示したように、細菌抽出物に各濃度のフッ化物標品もしくは各レジン抽出液およびATPase基質を添加し、25℃で30分間インキュベートをおこなった。その後発色試薬を添加し、25℃で30分間インキュベート後の吸光度を測定した。また、通常のBHI培地で培養した*S. mutans*の抽出物の結果をコントロールとした。

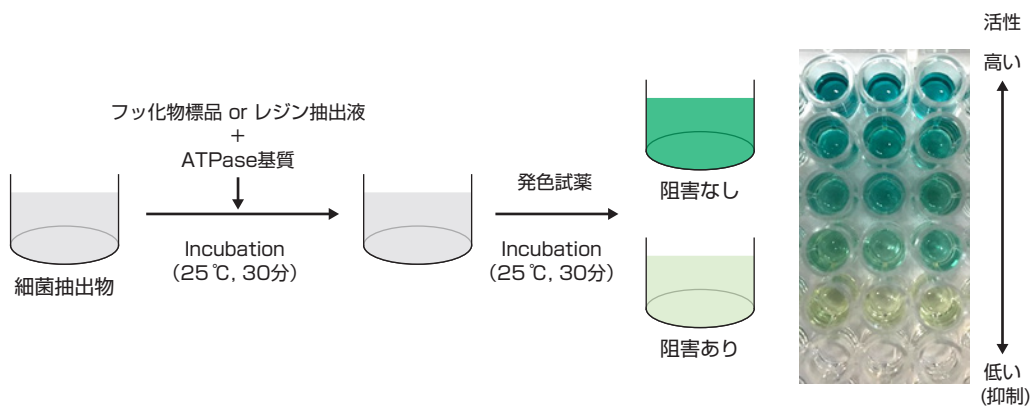


図4-5 ATPase活性測定手順

図4-6に示したように、フッ化物未添加のコントロールと比較していずれのレジンにおいても、コントロールに対する吸光度の低下は認められなかった。そこでフッ化物標品を用いてフッ化物自体の影響を評価したところ、いずれの濃度でも有意差はなく今回評価したフッ化物の濃度域ではATPaseの阻害は認められなかった。

以上の結果により、今回用いたフッ素徐放性レジンはATPase活性を阻害しなかったことから、増殖にも影響を及ぼさなかったことが示唆された。

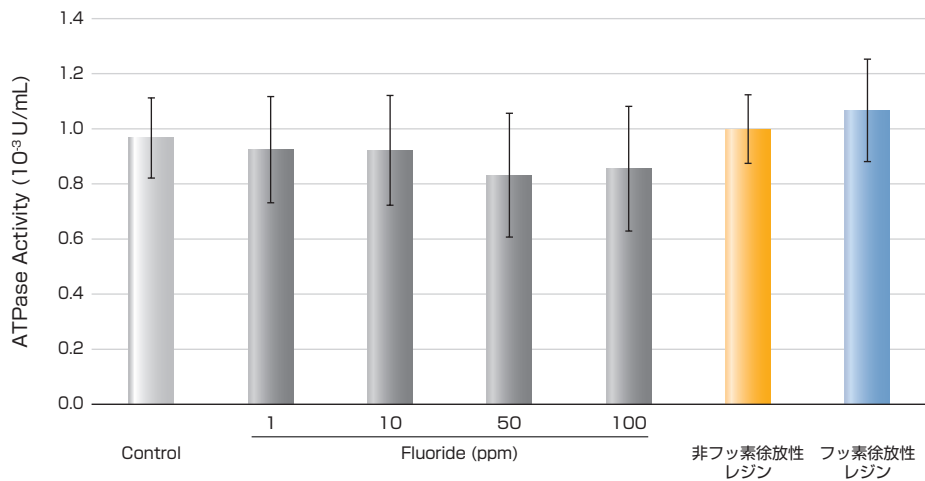


図4-6 ATPase活性測定結果

02

### *S. mutans*のATPase活性に対する影響

こちらから動画でご確認いただけます



## 4.3 付着能およびバイオフィーム形成能評価

### 4.3.1 付着試験

う蝕が起こる第1段階は、歯面への*S. mutans*の付着とその後のバイオフィームの形成である。さらに、*S. mutans*が生成する菌体外多糖類（グルカンなど）にほかの口腔内細菌が付着することで、さまざまな口腔内疾病が引き起こされる。つまり、*S. mutans*の歯面への付着およびバイオフィーム形成を抑制することは、う蝕だけではなく、ほかの口腔内疾病の予防にもつながる。そこで、フッ素徐放性レジンが*S. mutans*の付着およびバイオフィーム形成に及ぼす影響を検証した。

付着試験の試験原理を図4-7に示す。レジンペレットに付着した*S. mutans*のエネルギー代謝活動によりNAD(P)Hが生成される。そこに水溶性テトラゾリウムであるWST-8を添加すると電子メディエーターを介して、NAD(P)Hにより還元され水溶性のWSTホルマザン（オレンジ色）が生成される。つまり、レジンペレットに付着している*S. mutans*の数が多いとオレンジ色に色濃く発色し（吸光度が高い）、逆に細菌の数が少ないと発色が淡く（吸光度が低い）なる。

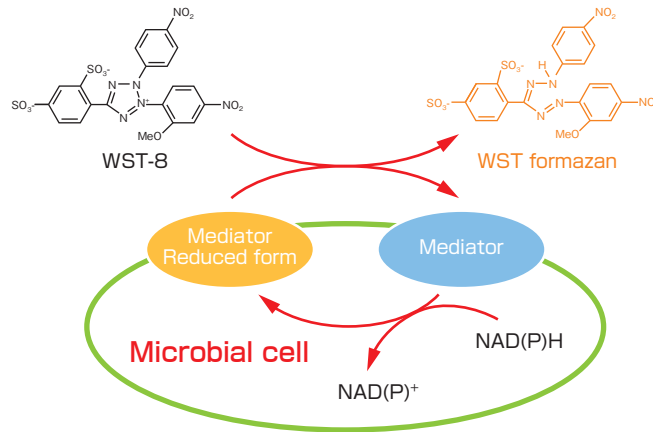


図4-7 付着試験測定原理

この原理に基づき、図4-8に示した方法で付着試験を実施した。各レジンで作製したペレットを24穴培養プレートの上ウエルに設置した。*S. mutans*はスクロースからグルカンを産生し、レジンへ付着するため、*S. mutans*菌液とスクロースを添加し、37℃で24時間培養した。各レジンをPBS(-)で洗浄することにより未付着の細菌を除いた。各レジンをクリーンなウエルに移し、Microbial Viability Assay Kit-WST (株式会社 同仁化学研究所)の試験薬を添加後37℃で2時間呈色させ、反応液の450nmにおける吸光度を測定した。また、非フッ素徐放性レジン上で培養した結果をコントロールとした。

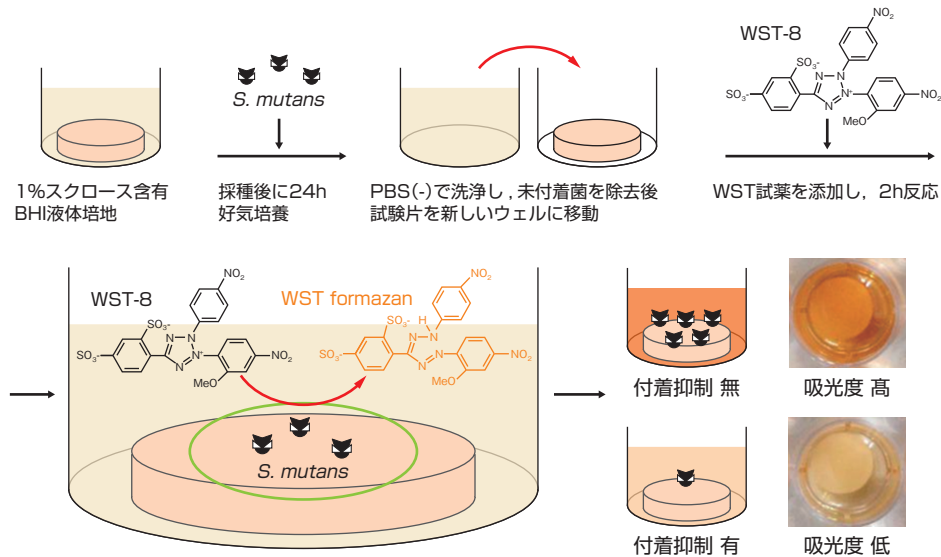


図4-8 付着試験測定手順

図4-9に示すように、フッ素徐放性レジンでは、コントロール（非フッ素徐放性レジン：フッ化物濃度0ppm）と比較して有意に吸光度が低下した。次に、非フッ素徐放性レジン上でフッ化物の濃度が0.5, 1, 5, 10, 50ppmとなるようフッ化物標品を添加して*S. mutans*の付着試験をおこなったところ、フッ化物は低濃度域から濃度依存的な吸光度の低下を示した。

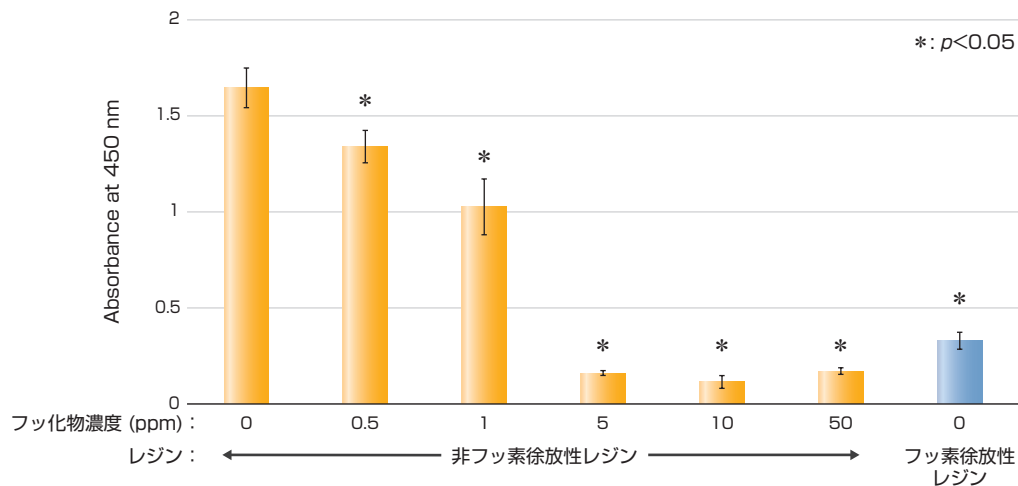


図4-9 付着試験結果

03

### *S. mutans*の付着能に対する影響

こちらから動画でご確認いただけます



#### 4.3.2 バイオフィーム形成試験

次に、レジンに付着した*S. mutans*のバイオフィーム形成に及ぼすフッ化物の影響について検証をおこなった。付着試験と同じ条件で各レジン上で*S. mutans*を培養し、レジンに付着した*S. mutans*が形成したバイオフィーム量をCrystal violet (CV)で染色し、33%酢酸溶液で抽出した。CV抽出液の吸光度を測定することで形成されたバイオフィームの定量をおこなった(図4-10)。また、非フッ素徐放性レジン上で*S. mutans*を培養した結果をコントロールとした。

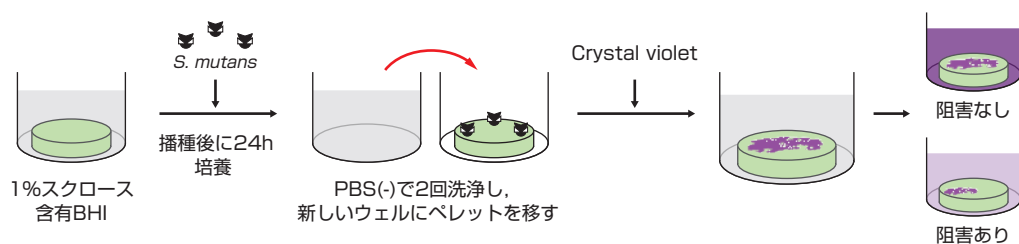


図4-10 バイオフィーム形成試験手順

その結果、フッ素徐放性レジンでは、非フッ素徐放性レジン(フッ化物濃度0 ppm)と比較して吸光度が大きく低下しており、バイオフィームの形成を強く抑制したことが明らかとなった(図4-11)。非フッ素徐放性レジンにフッ化物を1あるいは5 ppmとなるよう添加して本試験を実施したところ、いずれの濃度のフッ化物においてもバイオフィーム形成の抑制が認められた。

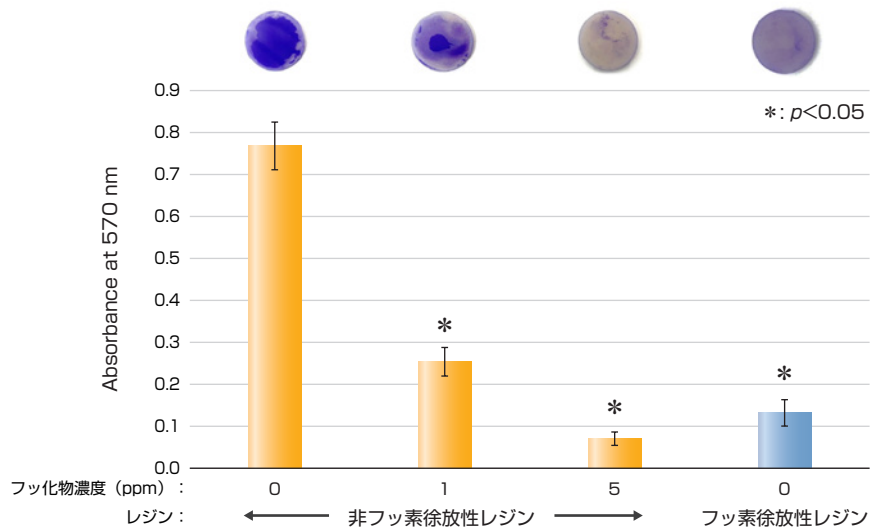


図4-11 バイオフィーム形成試験結果

04

**S. mutansのバイオフィーム形成能に対する影響**

こちらから動画でご確認いただけます



S. mutansを培養後の各レジン表面を観察した。レジンに付着した菌を2% (v/v) グルタルアルデヒドで固定し、VHX-6000 (Keyence, Selangor, Malaysia) デジタルマイクロスコープで表面観察をおこなった。

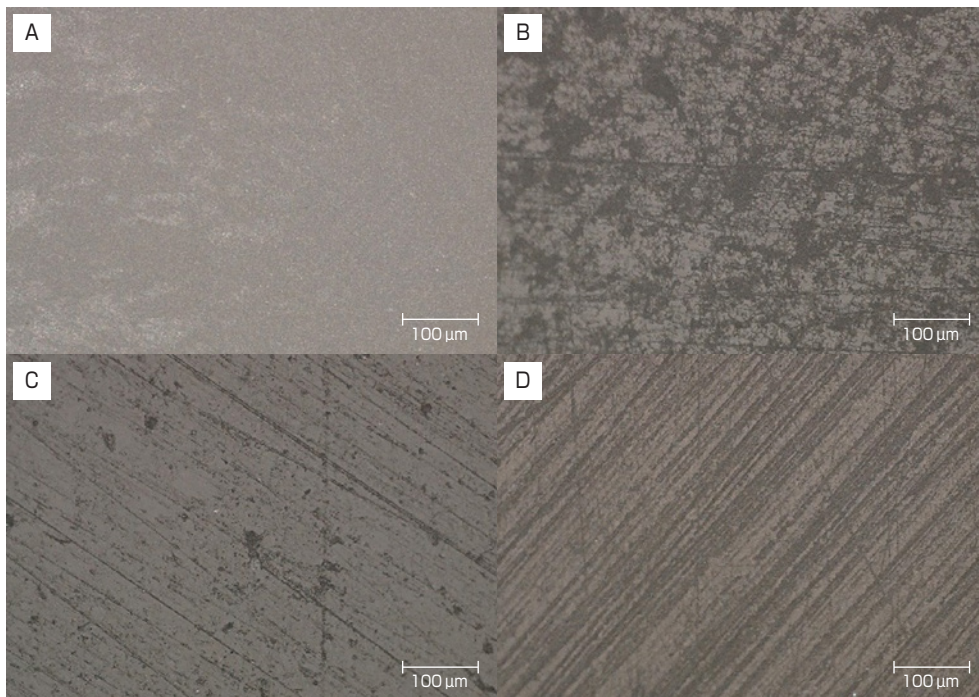


図4-12 各レジン表面のマイクロスコープ画像

A: 非フッ素徐放性レジン, B: 非フッ素徐放性レジン+1 ppmF, C: 非フッ素徐放性レジン+5 ppmF, D: フッ素徐放性レジン



図4-12に示すように、非フッ素徐放性レジン(A)上では、レジンペレット全体が*S. mutans*に被覆されておりレジン表面が観察できなかった。1 ppmのフッ化物存在下の非フッ素徐放性レジン(B)ではAと比較すると*S. mutans*量が減少した。5 ppmのフッ化物存在下の非フッ素徐放性レジン(C)ではほとんど*S. mutans*の付着が確認できなかった。フッ素徐放性レジン(D)上では*S. mutans*の付着はほとんど認められず、Cと同程度の結果であった。このように、顕微鏡による観察でも、低濃度のフッ化物によるレジンへの*S. mutans*の付着の抑制が認められた。

以上、付着試験およびバイオフィーム形成試験の結果から、フッ素徐放性レジンには*S. mutans*の付着能およびバイオフィーム形成能を抑制し、その作用は低濃度のフッ化物によることが示唆された。フッ化物の*S. mutans*の付着抑制については多くの報告があるが、現在のところ、高濃度でのみ(500 ppm)付着を阻害することが報告されている<sup>24)</sup>。本検証では、従来の方法よりも検出感度が高いと考えられる細菌の代謝活性を分析対象としたことで、フッ素徐放性レジンの徐放した低濃度フッ化物による付着抑制を検知しえたものと考えられる。

### 4.3.3 GTF活性および蛋白発現

*S. mutans*が歯面に付着するメカニズムのひとつとして、*S. mutans*由来のグルコシルトランスフェラーゼ(GTF)などの細胞外酵素の働きが挙げられる。GTFは、スクロースからグルカンなどの菌体外多糖を生成し、細菌の付着やバイオフィームの形成に寄与する<sup>6)</sup>。そこで、フッ素徐放性レジンにおいて認められた細菌付着抑制およびバイオフィーム形成抑制の作用機序を検証するため、GTFの活性および蛋白発現に対する影響を評価した。GTF活性は、GTFにより生成された不溶性グルカン量を濁度で測定することで評価した。つまり、GTF活性が高いほど不溶性グルカン量が多くなり濁度は高くなる。試験手順は図4-13に示すように、各レジン抽出液で培養した*S. mutans*上清を硫酸分画にて調製した粗GTFとスクロースを混合し、37℃で18時間インキュベート後の濁度を測定した。蛋白発現はウエスタンブロッティングにより評価した。試験手順は、粗GTFをSDS-PAGEにて分離し、抗体(anti-gtfC antibody)にてGTFのバンドを検出した。発現量は総タンパク質にて補正することにより定量した。また、フッ化物標品を添加していないものをコントロールとした。

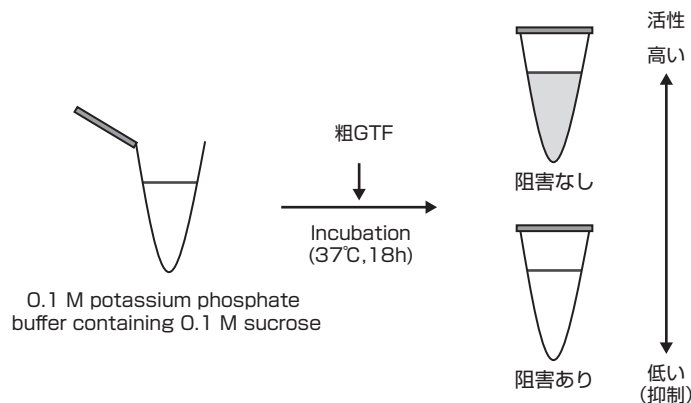


図4-13 GTF活性測定手順

図4-14に示すように、いずれのレジンにおいてもコントロールと比較して濁度の差はみられずGTF活性阻害は認められなかった。また、フッ素自体のGTF活性への影響を検証したところ、本試験で用いた100 ppmまでのフッ化物は活性阻害を示さなかった。過去の研究でもフッ化物がGTF活

性を阻害しないことが報告されており，今回の結果と一致していた<sup>7)</sup>。

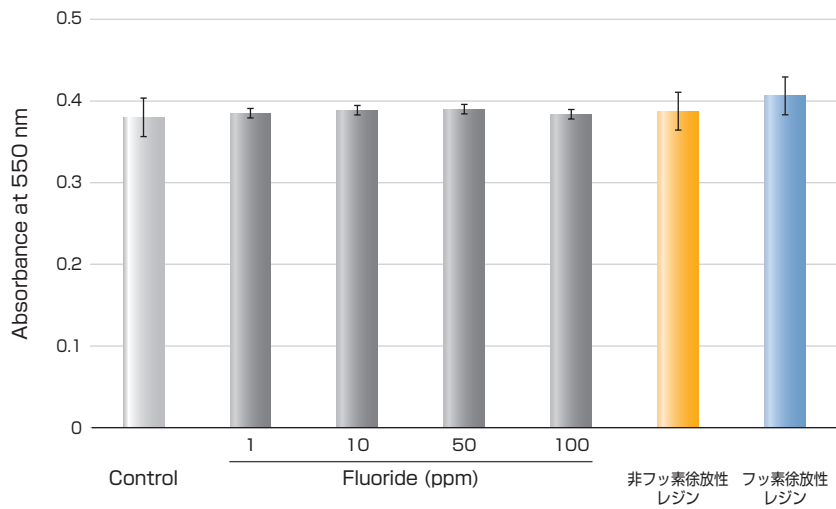


図4-14 GTF活性測定結果

図4-15にウエスタンブロッティングにより検出されたGTFのバンドおよび発現量を算出した結果を示す。フッ化物濃度でGTFの発現量にバラツキはあるもののレジン同士を比較すると，フッ素徐放性レジンでは非フッ素徐放性レジンよりも発現量を低下させることが明らかとなった。

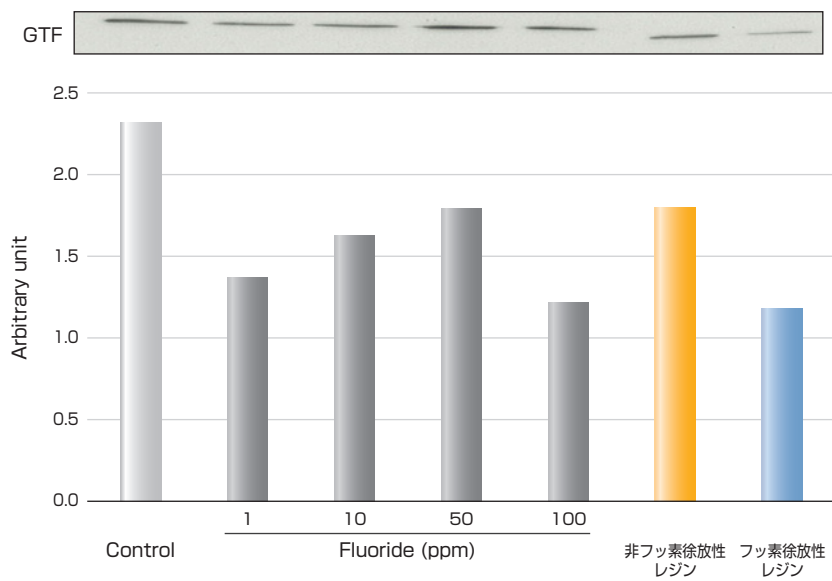


図4-15 GTF発現測定結果

05

### *S.mutans*のGTF活性に対する影響

こちらから動画でご確認いただけます



フッ化物のGTFへの影響を検証した結果、レジンから徐放される低濃度のフッ化物は、GTF活性は阻害しないもののGTFの発現を減少させることにより、*S. mutans*の付着を抑制することが示唆された。*S. mutans*の付着に関わる因子としてGTFだけではなく、菌体表層のタンパク質抗原なども関与することから、低濃度フッ化物のこれら因子に対する影響を検証することが必要である。

## 4.4 乳酸産生能評価

### 4.4.1 乳酸生成試験

う蝕形成の第2段階目として、歯の表面に付着した*S. mutans*が乳酸をはじめとする有機酸を産生し、周辺pHを低下させて歯質の脱灰を促進させる。そこで、フッ素徐放性レジンの抽出液が、*S. mutans*の乳酸産生に与える影響を検討した。*S. mutans*が産生する乳酸量は、Lactate Assay Kit-WSTを用いて測定した(図4-16)。本測定法では乳酸量に応じて発色するWSTホルマザンの吸光度を測定することで、細菌養液中の乳酸を検出する。

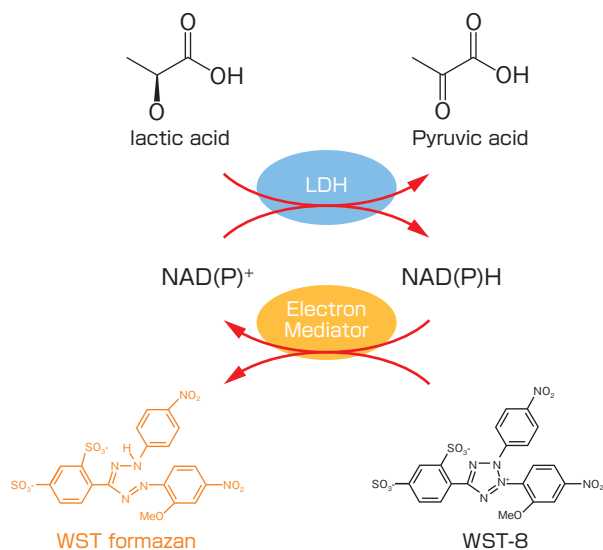


図4-16 乳酸測定原理

測定手順は図4-17に示したように、各レジン抽出液で*S. mutans*を培養し、その培養液を遠心分離後に上清を回収した。上清にWST試薬を添加後、37℃で2時間インキュベートし、波長450 nmの吸光度を測定した。培養液中の乳酸産生量は各濃度の乳酸標品で検量線を作成し、各培養液の吸光度を検量線に外挿することで算出した。また、フッ化物標品を添加していないものをコントロールとした。

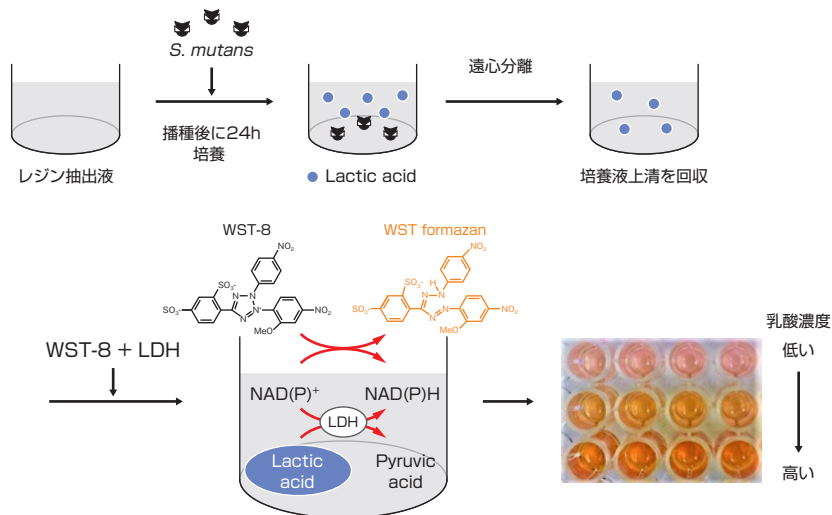


図4-17 乳酸測定手順

図4-18に示すように、フッ素徐放性レジン抽出液中で培養した*S. mutans*が産生した乳酸量は、非フッ素徐放性レジン抽出液と比較すると有意に減少した。また、さまざまな濃度のフッ化物標品を用いて評価したところ、1 ppmのフッ化物の濃度から濃度依存的に*S. mutans*の乳酸産生を抑制した。Exterkateらは、50 ppmのフッ化物濃度で*S. mutans*の乳酸産生が抑制されることを報告しているが<sup>8)</sup>、本試験ではこの報告よりも低濃度のフッ化物においても乳酸産生の抑制が認められた。これらの結果より、レジンから徐放される低濃度のフッ化物が*S. mutans*の乳酸産生に影響を及ぼすことが明らかとなった。

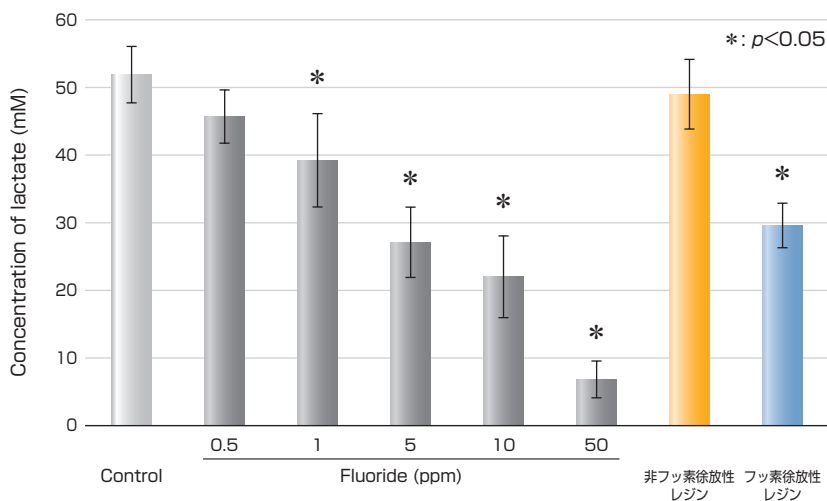


図4-18 乳酸測定結果

06

### *S. mutans*の乳酸産生能に対する影響

こちらから動画でご確認いただけます



#### 4.4.2 Enolase活性および蛋白発現

解糖系の酵素であるEnolaseは、2-phosphoglycerateをphosphoenolpyruvateに変換する反応を触媒し、乳酸を生成する。そこで、フッ素徐放性レジンの*S. mutans*の乳酸産生抑制の要因を検証するために、Enolase活性および蛋白発現に対する影響を評価した。Enolase活性は、Enolase Activity Colorimetric/Fluorometric Assay Kit (BioVision Inc.)を用いて測定した。本試験では図4-19に示したように、Enolaseが2-phosphoglycerateからphosphoenolpyruvateへの変換を触媒し、生成される中間生成物とOxiRed™ プローブとの反応によって生じる発色（吸光度 570 nm）の吸光度に基づいて酵素活性を算出する。



図4-19 Enolase活性測定原理

試験手順は、各レジン抽出液もしくはフッ化物標品を添加したBHIで37℃、24時間培養をおこなった*S. mutans*を遠心分離し、回収した沈殿物を細菌抽出物とした。細菌抽出物にレジン抽出液もしくはフッ化物標品を添加し、25℃で20~60分間、カイネティックモードで波長570 nmの吸光度を測定した（図4-20）。蛋白発現はウエスタンブロッティングにより評価した。試験手順は、細菌抽出物をSDS-PAGEにて分離し、抗体 (anti-ENO1 rabbit polyclonal antibody) にてEnolaseのバンドを検出した。発現量は総タンパク質にて補正することにより定量した。また、フッ化物標品を添加していないものをコントロールとした。

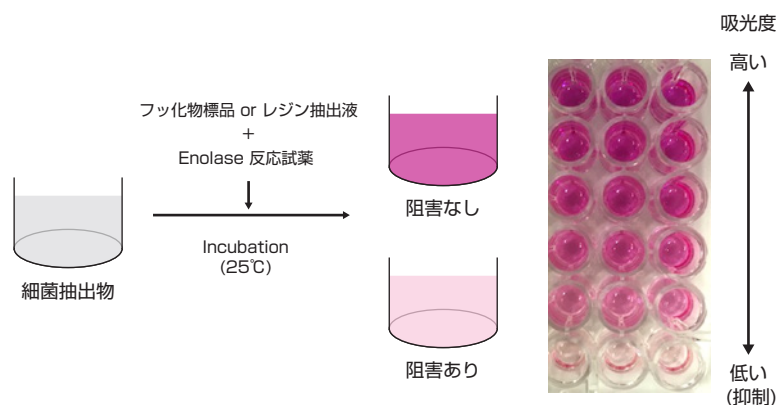


図4-20 Enolase活性測定手順

図4-21に示すように、フッ素徐放性レジンにおけるEnolase活性は、非フッ素徐放性レジンと比べると有意に阻害された。また、フッ化物標品において濃度依存的な吸光度の低下が認められ、1 ppmから阻害を示した。フッ化物がEnolase活性を阻害することは既知ではあるが<sup>9)</sup>、今回低濃度のフッ化物を徐放するフッ素徐放性レジンでも同様に活性の抑制が認められた。

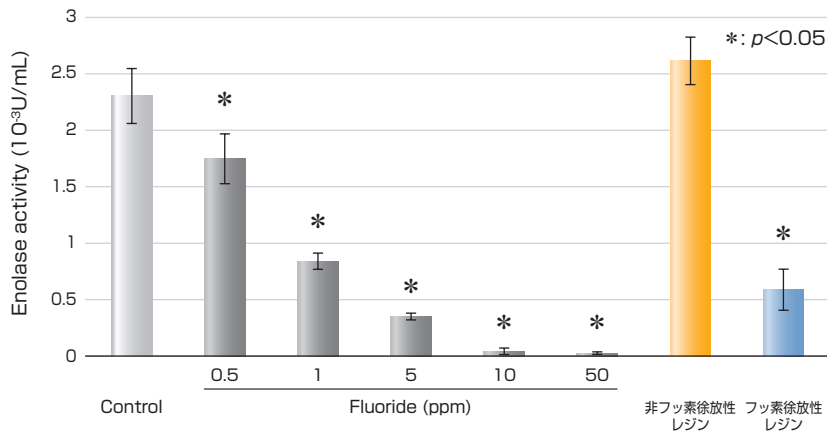


図4-21 Enolase活性測定結果

Enolaseの蛋白発現について評価したところ、酵素活性と同様にフッ素徐放性レジン是非フッ素徐放性レジンと比べると総蛋白あたりのEnolase発現量の抑制が認められた。さらにフッ化物標品で検証したところ、0.5 ppmの低濃度フッ化物から強い抑制が認められた(図4-22)。これらのことから、レジンから徐放される低濃度のフッ化物はEnolaseの活性と発現を抑制することが明らかとなった。

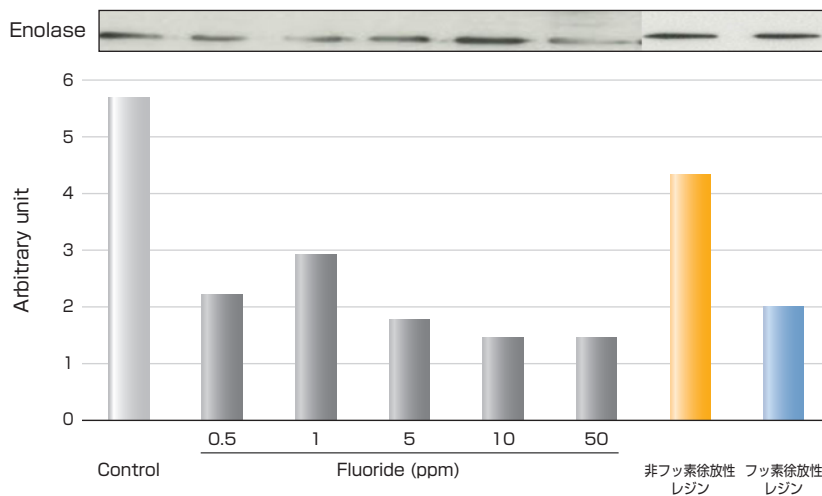


図4-22 Enolase発現測定結果

07

### *S.mutans*のEnolase活性に対する影響

こちらから動画でご確認いただけます



さらに、*S. mutans*の乳酸産生量とEnolase活性の関連性を検証したところ、図4-23に示したように正の相関が認められた。Enolaseはピルビン酸に至るまでの解糖系の最後から2番目の酵素である。フッ化物がEnolaseの活性や蛋白の発現を阻害することで、ピルビン酸までの解糖系の反応が進まず、結果的にピルビン酸から変換される乳酸の産生を抑制するものと推察された。

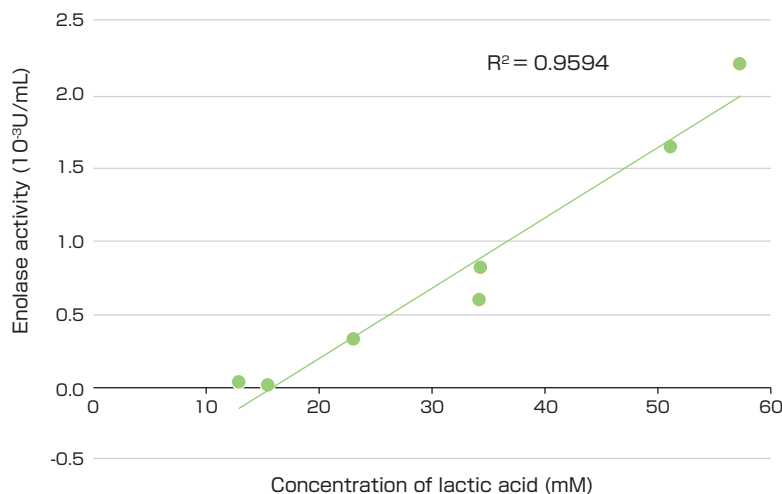


図4-23 Enolase活性と乳酸産生量の相関

以上の結果をまとめると、フッ素徐放性レジンから徐放された低濃度のフッ化物は、GTFの発現を抑制するとともに、Enolaseの発現および活性を抑制することで、*S. mutans*の接着およびバイオフィーム形成、ならびに乳酸生成を阻害することが示された。

上記の生物学的な試験は、すべて高知大学医学部歯科口腔外科学講座との共同研究により実施されたものである。

## 4.5 フッ素リチャージ性

一連の検証において、フッ素徐放性レジンから24時間の間に徐放される低濃度（約3 ppm）のフッ化物が*S. mutans*に対してさまざまな作用を及ぼすことを示した。一方、臨床で長期間にわたり使用されることを考慮すると、フッ化物の徐放量は徐々に減衰し、これら作用もやがては消失するものと推察される。しかし、試験に用いたフッ素徐放性レジンのフッ素の徐放源であるフルオロアルミノシリケートガラスファイラーは、フッ素配合の歯磨剤を用いてブラッシングすることでフッ化物イオンを取り込むリチャージ特性を有する。そこで、フッ素徐放性レジンのリチャージ特性を以下のモデル実験によって検証した。

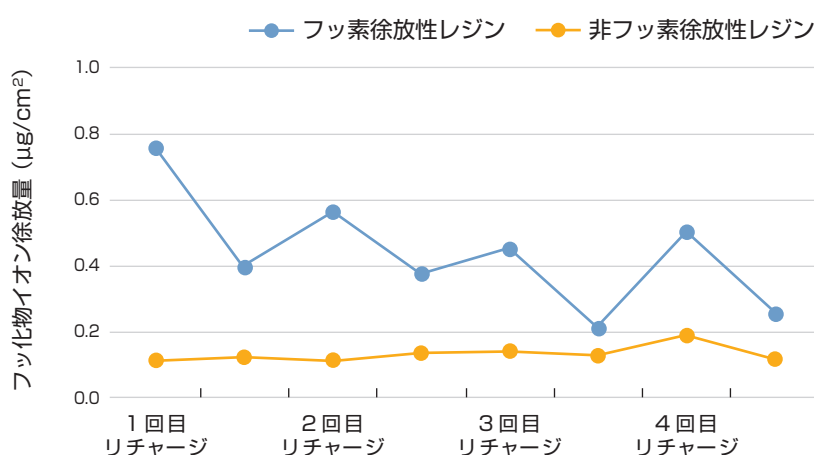
レジンで作製したペレットを15 mLの蒸留水に計48時間浸漬し、フッ化物イオン徐放後の試験片とした。フッ化物イオン徐放後の試験片を、ISO 14569-1<sup>11)</sup>を参考に簡易歯ブラシ摩耗試験機を用いて以下のようにブラッシングした。試験片をフッ素配合歯磨剤懸濁液中に固定し、荷重2.0 N、滑走速度850 mm/sで歯ブラシを500回滑走した。ブラッシング後の試験片は流水で十分洗浄し、再度15 mLの蒸留水に24時間浸漬し、回収した浸漬液中の試験片から徐放したフッ化物イオン量をイオ

ンメーターで測定した。

図4-24に示すように、フッ素徐放性レジンのフッ化物イオン徐放量は徐放によっていったん低下した後、フッ素配合歯磨剤でブラッシングするごとに一定量まで回復した。ブラッシング回数を重ねても同様の挙動を示しており、安定したフッ素リチャージ性が確認された。

その一方で、非フッ素徐放性レジンを同様に処理しても、フッ素徐放性レジンのようなリチャージ挙動は認められず、この特性がフッ素徐放性フィラー由来の性質であることが伺える。

以上のことから、フッ素徐放性フィラーが配合されたコンポジットレジンを、フッ素配合歯磨剤を用いて定期的にブラッシングすることで半永久的なフッ素徐放が期待できる。したがって、低濃度フッ化物が*S. mutans*に対して示したさまざまな機能性が、仮に口腔内においても発露するならば、それらは一時的ではなく持続性を有するものと期待される。



4-24 フッ素配合歯磨剤を使ってブラッシングした時のフッ化物イオン徐放量

#### 参考文献

- 1) Bender GR, Sutton SV, Marquis RE. Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPases of oral streptococci. *Infect Immun* 1986; 53: 331-338.
- 2) Meurman JH. Ultrastructure, growth, and adherence of *Streptococcus mutans* after treatment with chlorhexidine and fluoride. *Caries Res* 1988; 22: 283-287.
- 3) Rölla G, Melsen B. Desorption of protein and bacteria from hydroxyapatite by fluoride and monofluorophosphate. *Caries Res* 1975; 9: 66-73.
- 4) Shani S, Friedman M, Steinberg D. The anticariogenic effect of amine fluorides on *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase in biofilms. *Caries Res* 2000; 34: 260-267.
- 5) Streckfuss JL, Perkins D, Horton IM, Brown LR, Dreizen S, Graves L. Fluoride resistance and adherence of selected strains of *Streptococcus mutans* to smooth surfaces after exposure to fluoride. *J Dent Res* 1980; 59: 151-158.
- 6) Tamesada M, Kawabata S, Fujiwara T, Hamada S. Synergistic effects of streptococcal glucosyltransferases on adhesive biofilm formation. *J Dent Res* 2004; 83: 874-879.
- 7) Pandit S, Kim JE, Jung KH, Chang KW, Jeon JG. Effect of sodium fluoride on the virulence factors and composition of *Streptococcus mutans* biofilms. *Arch Oral Biol* 2011; 56: 643-649.
- 8) Exterkate RAM, Crielaard W, Ten Cate JM. Different response to amine fluoride by *Streptococcus mutans* and polymicrobial biofilms in a novel high-throughput active attachment model. *Caries Res* 2010; 44: 372-379.
- 9) Cimasoni G. The inhibition of enolase by fluoride in vitro. *Caries Res* 1972; 6: 93-102.



# 5

## まとめ

フッ化物と、う蝕予防の関連性は長年研究されており、その機能性について明らかにされてきた。しかしながら、これまでに報告されている多くの研究は、高濃度フッ化物による検証結果であり、レジン材料から徐放されるような低濃度のフッ化物の効果については不明な点が数多くある。そこで、フッ素徐放性レジンを用いて*S. mutans*の各作用への影響を検証したところ、増殖能は阻害せずに、付着能、バイオフィーム形成能および乳酸産生能を抑制することが明らかとなった。フッ化物はさまざまな歯科修復物に配合されているが、効果的な徐放量や臨床的な有効性については明確化されていない。そのため今後もさらなる検証が必要になるが、今回の報告した内容は一助になると考えられる。

フッ化物には本レポートで触れた歯質の強化やう蝕原性細菌の働きの抑制のようなベネフィットがある一方で、扱いを誤れば歯牙フッ素症のようなヒトへの影響、歯科修復物の腐食といったリスクも存在する。中世の錬金術師、パラケルスス（1493-1541）が残した「全てのものは毒であり、毒でないものなど存在しない。摂取する量が毒か薬かを定める。」という言葉のとおり、ヒトの健康に対する有効性と好ましくない影響とは表裏一体の関係であり、フッ化物の量や扱い方が両者を分ける。それゆえにフッ化物に関して正しい情報を把握する必要がある。フッ化物を歯科材料に応用する上で、フッ素について正しい理解を深めるために今後もフッ化物に関する研究を進め、得られた情報を発信し続ける所存である。

## 謝辞

細菌試験に関するご指導ならびにご協力いただいた高知大学医学部歯科口腔外科学講座 山本 哲也 教授をはじめとする医局の方々に心より感謝申し上げます。

KZR-CAD HR ブロック2  
管理医療機器 歯科切削加工用レジン材料 認証番号：226AABZX00171000 CAD/CAM冠用材料（I）小白歯用  
アイゴス  
管理医療機器 歯科充填用コンポジットレジン 認証番号：226AABZX00132000

製造販売元  
YAMAKIN株式会社 〒781-5451 高知県香南市香我美町上分字大谷1090-3

## 著者略歴



博士（医学）

### 林 未季（はやし みき）

2013年3月 高知大学 農学部 卒業  
2015年3月 高知大学大学院 総合人間自然科学研究科 農学専攻 修了  
2015年4月 山本貴金属地金株式会社（現YAMAKIN株式会社）入社  
2022年1月 高知大学大学院 総合人間自然科学研究科 医学専攻 修了

（氏名掲載は50音順）

## 監修者

### ・ヤマキン博士会 会員

#### 安楽 照男

高知工科大学大学院博士課程修了 博士（工学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 技術顧問

#### 糸魚川 博之

北海道大学大学院博士課程単位取得後退学 博士（理学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 品質管理課 学術技師

#### 加藤 喬大

高知工科大学大学院博士課程修了 博士（工学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 特任主席研究員

#### 坂本 猛（ヤマキン博士会 幹事長）

北海道大学大学院博士課程修了 博士（薬学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 常務執行役員 兼 技術・情報マーケティング本部 本部長  
高知大学医学部 特任准教授

#### 佐藤 雄司

高知工科大学大学院博士課程修了 博士（学術）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 企画戦略室 室長

#### 田中 秀和

高知工科大学大学院博士課程修了 博士（工学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 開発部 主幹研究員  
高知工科大学 客員研究員

### ・ヤマキン博士会 準会員

#### 水田 悠介

神戸大学大学院修士課程修了 修士（工学）  
博士後期課程在学中（高知工科大学大学院工学研究科基盤工学専攻）  
YAMAKIN株式会社 開発部 有機材料開発課 リーダー（上級主任研究員）

#### 林 未季

高知大学大学院博士課程修了 博士（医学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 生体科学安全研究室 主任研究員

#### 松浦 理太郎

愛媛大学大学院連合博士課程修了 博士（農学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事  
YAMAKIN株式会社 開発部 上席主幹研究員  
高知大学医学部 特任研究員

#### 山添 正稔

松本歯科大学大学院博士課程修了 博士（歯学）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 常任理事  
YAMAKIN株式会社 主席研究員  
松本歯科大学 非常勤講師

#### 山本 裕久（ヤマキン博士会 会長）

高知工科大学大学院博士課程修了 博士（学術）  
一般財団法人ヤマキン学術文化振興財団 理事長  
YAMAKIN株式会社 会長

#### 山田 文一郎（ヤマキン博士会 相談役）

元 大阪市立大学工学部長 大阪市立大学名誉教授 工学博士  
YAMAKIN株式会社 顧問

#### 溝渕 真吾

愛媛大学大学院修士課程修了 修士（理学）  
博士後期課程在学中（高知工科大学大学院工学研究科基盤工学専攻）  
YAMAKIN株式会社 開発部 有機材料開発課 レジン開発チーム  
上級主任研究員（プロジェクトリーダー）

## メディカルバイオロジーレポート Vol.1 ～低濃度フッ化物と口腔内細菌～

2022年7月1日 第1版発行

発行責任者 山本 樹育

発行所 YAMAKIN株式会社

〒781-5451 高知県香南市香我美町上分1090番地3

URL <https://www.yamakin-gold.co.jp>

本書の無断複製は著作権法上での例外を除き禁じられています。






## YAMAKIN株式会社

本社：〒781-5451 高知県香南市香我美町上分1090番地3  
生体科学安全研究室：〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮 高知大学医学部YAMAKIN次世代歯科医療開発講座  
大阪・東京・名古屋・福岡・仙台・高知・生体科学安全研究室・YAMAKINデジタル研究開発室  
<https://www.yamakin-gold.co.jp>

● 製品に関するお問い合わせはこちら

テクニカルサポート  0120-39-4929 (9:00~17:00)

サンキューボックス