



匠から科学へ、そして医学への融合



安全性試験レポート

Vol. 13

低濃度フッ化物の機能性と安全性

目 次

1. はじめに	2
2. 歯科におけるフッ化物の背景	5
2.1. 歯科におけるフッ化物活用の概略	5
2.2. フッ化物のリスクとその考え方	7
3. フッ化物が配合される材料概論	16
3.1. フッ化物が配合される材料の分類	16
3.2. 予防歯科に関わる材料	16
3.3. フッ化物徐放性歯科材料（修復系材料）	21
4. フッ化物のう蝕に対する作用機序について	28
4.1. う蝕が起こるメカニズムについて	28
4.2. フッ化物の歯質強化について	28
4.3. フッ化物がう蝕を抑制するメカニズムについて	29
5. フッ化物徐放性レジンが細胞毒性および <i>S. mutans</i> に与える影響について	31
5.1. フッ化物徐放性に関する問題提起	31
5.2. フッ化物徐放性レジンのフッ化物イオン徐放性	31
5.3. フッ化物の細胞毒性について（細胞毒性試験）	33
5.4. フッ化物の <i>S. mutans</i> に与える影響について（細菌試験）	36
6. おわりに	55

1. 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ない反応性に富んだ分子状フッ素 (F₂) 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 mg¹⁾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)²⁾。



図1 食物に含まれるフッ化物 (mg/kg)

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³⁾、フルオロアパタイトの形成による耐酸性の獲得⁴⁾や歯質を修復する再石灰化⁵⁾が挙げられる。

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、フッ化物の機能性について多くの研究が行われてきた。現在では、上記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るようになってきた。また、これらの歯科材料の臨床的な効果も確認されており、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いる。これら歯科材料に配合されたフッ化物が口腔内において、どのような役割を果たすのか注目されているが、口腔内において微量

のフッ化物を徐々に放出するフッ化物徐放性に関しては、いまだ十分な臨床研究がそろっていない。すなわち、高濃度のフッ化物が配合された洗口剤や歯磨剤に対し、フッ化物徐放性のコンポジットレジンが口腔内でう蝕予防に寄与するかどうかは不明であり、臨床現場においても見解は分かれている。

「発行に至った想い」

近年、日本でもう蝕予防のためフッ化物の応用が進んでいますが、歯磨剤に含まれるフッ化物配合量の上限が低かったり、水道水へのフッ化物添加が実施されていなかったりと、海外と比べてフッ化物を利用するための環境整備は遅れています。超高齢化の進む日本では根面う蝕が課題となっており、その予防や治療にフッ化物が有効であると言われていました。歯科材料におけるフッ化物の利用を普及させるためには、より多くの方にフッ化物について知っていただくことが重要と考え、歯科材料におけるフッ化物の歴史、安全性、機能性などの概要をまとめて本レポートを発行することといたしました。本レポートを通じフッ化物についてより深く知っていただくことで、フッ化物の効果的な利用の促進、ひいては、口腔内環境の健全な維持につながればと考えています。

本レポートでは歯科材料から徐放されるフッ化物に着目しました。フッ化物の効果は知りつつも、口腔内でフッ化物が徐放されることによる、歯科材料の劣化や安全性に関して不安を感じる方がいるかもしれません。歯科材料は安全性を第一に設計され、国際規格 (ISO) や日本産業規格 (JIS) などの厳格な規格・規則に基づいています。しかし、あらゆる化合物にはリスクが存在します。そこで、本レポートでは歯科材料からのフッ化物徐放に関連するリスクとその安全性についての情報を提供し、患者さんが安心してオーラルケアにフッ化物を利用できることを目指しています。

本レポートが歯科材料におけるフッ化物のリスク、安全性、機能性について、みなさまの臨床や研究に役立つ情報となれば幸いです。今後も引き続き、フッ化物を中心に歯科材料に関する安全性と機能性に関する情報を幅広くお届けしてまいります。



開発部 生体科学安全研究室 主任研究員 博士 (医学) 林 未季

著者略歴

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

監修

ヤマキン博士会 (50 音順)

安楽 照男 博士 (工学) 糸魚川博之 博士 (理学) 加藤 喬大 博士 (工学)
坂本 猛 博士 (薬学) 佐藤 雄司 博士 (学術) 田中 秀和 博士 (工学)
林 未季 博士 (医学) 松浦理太郎 博士 (農学) 水田 悠介 博士 (工学)
溝渕 真吾 博士 (工学) 山添 正稔 博士 (歯学) 山本 裕久 博士 (学術)

ヤマキン博士会 相談役

山田 文一郎 博士 (工学)

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、おのおのの知識や経験、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, 島根県健康推進課, 島根県歯科衛生士会.
- 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.

2. 歯科におけるフッ化物の背景

2.1. 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^{1,2)}、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¹⁾。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³⁾。

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⁴⁾。

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¹⁾、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⁵⁾。

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^{5,6)}、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、すなわちフロリデーションが開始された。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¹⁾。

1960年代に至ると Arnord らが1945年にフロリデーションの事業を開始した都市のひとつであるグランドラピッツの事業成績を報告している⁷⁾。これによれば、フロリデーションを実施している地域住民において、う蝕の罹患率が50～60%減少し、しかも斑状歯やフッ化物に由来すると考えられるほかの健康異常が認められなかったことが報告されている。

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ン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^{1,8)}。

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⁹⁾。

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¹⁰⁾。

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として、1982 年に Batels らは、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¹¹⁾。

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¹²⁾。

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¹³⁾。フッ化物イオンは、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、1993 年にあらかじめ酸と塩基成分が配合・調整された PRG-filler が開発された¹⁴⁾。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¹⁵⁾。

このほかにも、歯科以外の分野で活用されているフッ化物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。

2.2. フッ化物のリスクとその考え方

2.2.1. 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、後述する歯科技工所で洗浄用に使用されるフッ酸（フッ化水素酸, HF, 毒物）とは別物である。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だ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だ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¹⁶⁾。

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。

(1) 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は、この反応性の高さによる実験中の爆発事故や中毒症などで困難を極めた。

(2) 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用されるが、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^{17,18)}。

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。

(3) 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°C) 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ため、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¹⁹⁾。

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²⁰⁾。

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²¹⁾。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。

(4) フッ化カルシウム (CaF₂)

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、蛍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¹⁹⁾。

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²²⁾。

(5) リン酸酸性フッ化ナトリウム (NaF・H₃PO₄) とモノフルオロリン酸ナトリウム (Na₂FPO₃)

いずれもう蝕予防用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、エナメル質へフッ化物が効率的に取り込まれ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¹⁹⁾。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²³⁾。

(6) フッ化ジアミン銀 ($\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$)

フッ化ジアミン銀 (以下、SDF) は分子式 $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ 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、西野が乳歯う蝕の進行抑制に顕著な効果があることを明らかにした²⁴⁾。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、国外でも一次予防用で安価な薬剤として使用されている²⁵⁾。

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²⁶⁾。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²⁷⁾。

SDFの薬剤の多くはpHが10~11程度の弱アルカリ性の範囲であるが、pH13の薬剤もある。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。

(7) フッ化スズ (SnF_2)

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_2) (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°C), 78.5 g/100 mL (106°C))。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_3 、 Sn_2F_5 や $\text{SnF}_2(\text{OH})_2$ など化学種が知られている¹⁹⁾。

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²⁸⁾。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。

(8) 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²⁹⁾。

歯科では充填材に配合され、セメント系ではガ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、フィラーから低濃度のフッ化物を長期間持続的に放出し続ける。ガラスアイオノマーセメントとコンポジットレジンでは、フッ化物の徐放量が大きく異なり、前者

に比べて後者は極めて少ない。このようなフッ化物徐放性材料のう蝕への効果は、ガラスア
イオノマーセメントでは実験的にも臨床的にも報告されているが^{30,31)}、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。

(9) その他

ここまで紹介してきた無機フッ化物以外に、有機系化合物とフッ素とが結合した「有機フ
ッ素化合物」も多く知られている。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
着性などの点で、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¹⁷⁾。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に、溶解や化学変化によるフッ化物イオンの溶出はない。

2.2.2. 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 2mg 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³²⁾。なお、250 mg 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 113 mg ($250 \text{ mg} \times 19 (\text{F}^-) / 42 (\text{NaF})$)
に相当し、実験者の体重 (56.5 kg) から kg あたりフッ化物イオンとして 2 mg 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 45 mg
F/kg であり、体重 60 kg の成人であれば、約 6 g のフッ化ナトリウムに相当する⁴⁾。

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。1.0 ppm 程度のフッ化物濃度の場合では発
生割合が比較的 low、う蝕の発生も少ないと報告されている⁴⁾。

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、20 ppm 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¹⁾。

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。
この濃度において歯のフッ素症の懸念はない。

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

に基づいて安全性を保証され、使用に関する適性量が定められている^{1,2)}。したがって、上述の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。

2.2.3. 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、腐食による歯科修復物の劣化が起こりうる。これは、前述のとおり、フッ化物が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、どれだけ影響を受けるのか、興味を持たれるところである。

チタンの優れた耐腐食性は表面に形成される強固な不働態に由来する。フッ化水素はこの不働態を酸性条件下で破壊することが知られている²⁷⁾。したがって、不働態の破壊と、破壊面に露出したチタンが酸化されて新たに不働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。フッ化物によってチタンあるいはチタン合金の耐食性が低下するのならば、インプラントを使用している患者に対してフッ化物を含有する歯面塗布剤（フッ化物濃度、約 9,000 ppm）、歯磨剤（同 900ppm）あるいは洗口剤（同 450 ppm）を用いた場合、デンタルインプラントに腐食を生じさせ、破折を引き起こす可能性がある。

また腐食によってインプラント表面が粗面化し、粗面化によって細菌付着が増加することでインプラント周囲炎を発症する可能性も考えられ、デンタルインプラントの予後に影響を及ぼすことが懸念される。こうした中、多くの研究者がチタンおよびチタン合金の腐食に対し、フッ化物存在下におけるチタンあるいはチタン合金の腐食について報告している。小田は市販のフッ化物含有歯磨剤中におけるチタンの溶出について報告している³³⁾。中川らは、腐食電位とチタンの溶出量との関連性に着目し、フッ化物濃度が高く、酸性条件である（pH が低い）ほど、腐食が生じやすいことを報告している。これら条件に加えて、低溶存酸素下ではさらにチタンの耐食性の低下が懸念されるとも述べている³⁴⁻³⁶⁾。

そこで、実際にチタン合金がフッ化物存在下でどのような影響を受けるのか検証するために、デンタルインプラントとして用いられるチタン合金（Ti-6Al-4V）を表 2-2-1 の条件となるよう、リン酸で pH を調整したフッ化ナトリウム溶液に 24 時間浸漬し、溶出金属イオンを分析する（表 2-2-2）と共に走査型電子顕微鏡（SEM）による金属組織の観察をおこなった（図 2-2-1）。

A から D まで SEM 像上で顕著な変化は認められないが、B においてチタンイオンの溶出を認めるため少なからず腐食反応が生じ、NaF 濃度の上昇にしたがい表面が粗造化し、孔食が始まっているものと考えられる。E は B と同等の NaF 濃度で、pH を中性域から酸性域に低下させた際の結果を示している。SEM 像において明らかな粗造化が観察され、ほかの浸漬条件と比較していずれの金属イオンも顕著に高い溶出が認められる。本検証で用いた浸漬条件 E（NaF 0.256%、pH 1.28）のような高濃度のフッ化物、低 pH という過酷な

状態に長期間にわたって口腔内がさらされることが日常的に起こりうるのか、議論はあるかと思われるが、いずれにしろ報告されているようにフッ化物濃度の増加あるいは pH の酸性化 (pH の低下) に伴ってチタン合金が腐食される傾向がうかがえる。

表 2-2-1 NaF 浸漬条件

	A	B	C	D	E
NaF濃度 (%)	0.000	0.255	0.511	1.021	0.256
F濃度換算 (ppm)	0.000	1154	2312	4619	1158
pH値	4.47	6.50	6.59	7.35	1.28

表 2-2-2 チタン合金 (Ti-6Al-4V) より溶出する金属イオン (ppm)

	A	B	C	D	E
Ti	ND	1.756	1.130	2.085	971.850
Al	ND	ND	ND	ND	112.350
V	ND	0.035	0.016	ND	67.900
Fe	ND	ND	0.032	ND	3.728

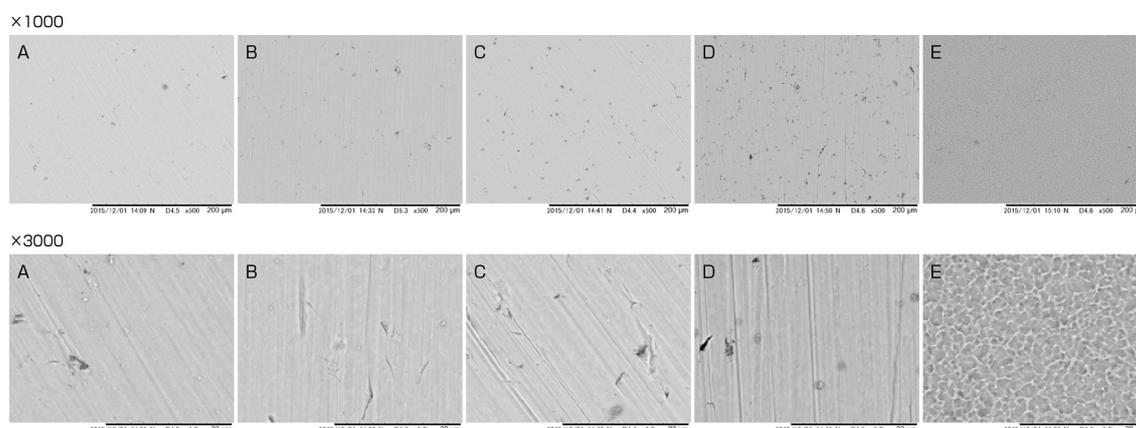


図 2-2-1 NaF 浸漬後のチタン合金 (Ti-6Al-4V) 表面の SEM 像

フッ化物の局所応用について、酸性下や低溶存酸素濃度下ではフッ化物によるチタンインプラントの腐食が懸念されるかもしれない。しかしながら、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³⁷⁾。

相田らは文献レビューを通して、pH4.7 以下の酸性条件におけるフッ化物配合歯磨剤によるチタンの腐食の可能性を認めつつ、これらの報告が in vitro 試験による結果であること

や、中性あるいは弱酸性域におけるチタン腐食の可能性が極めて低いこと、口腔内において唾液によってフッ化物濃度が低下したり、あるいは pH の低下が抑制されたりすることが考えられるため、フッ化物配合歯磨剤によるチタンインプラント腐食の可能性について極めて低いものと考察している³⁸⁾。また、フッ化物配合歯磨剤（950 ppm）によるブラッシング後、数分で口腔内（唾液中）のフッ化物濃度が数 ppm まで低下するとの研究報告も認められる³⁹⁾。

以上、現在使用されているフッ化物が配合された歯科材料に関して、そのフッ化物による口腔内のチタン製歯科修復物の腐食リスクは極めて低いものと考えられる。

フッ化物によるう蝕予防効果については学術的根拠が明らかであることから、チタンの腐食リスクを過大に評価してフッ化物の使用を中止することは、う蝕のリスクを高めることを留意すべきである。

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. 日歯保誌, 30, 1551-1555, 1987.
- 4) G.V.Black and F.S.McKey: Mottled Teeth and endemic development imperfection of the enamel of the teeth. Dent Cos: 58, 129, 1916.
- 5) Dean H, T. The investigation of physiological effects by the epidemiological method. In: Moulton F, R, editor. Fluorine and dental health, Washington DC: AAAS Publication: 19, 23-31, 1942.
- 6) 小松久憲: グラスアイオン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. 日歯保誌: 25, 442-457, 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) 田本晃生, 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 of 抗プラーク性と窩壁適合性に関する研究, 日歯保誌: 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ゾン層保護等推進室 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, 木崎治俊, 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) 西野瑞穂: フッ化アンモニア銀による乳歯齲蝕の進行抑制に関する研究, 大阪大学歯学雑誌, 14(2), 1-14, 1969
- 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(NH₃)₂F]: 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: 老年歯科医学, 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) Henschel, C. J.: Observations Concerning vivo Disintegration of Silicate Cement Restorations. J. Dent. Res., 28: 528, 1949.
- 31) Phillips, R. W.: Materials for the Practicing Dentist, The CV Mosby company St. IJouis, 60, 1969.

- 32) Baldwin HB: The toxic action of sodium fluoride. J.Am.Chem.Soc., 21: 517-521, 1899.
- 33) Nakagawa M, Matsuya S, Shiraishi T, Ohta M: Effect of fluoride concentration and pH on corrosion behavior of titanium for dental use., 20: 306-314, 2001.
- 34) 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.
- 35) 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.
- 36) 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.
- 37) 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.
- 38) 相田潤，小林清吾，荒川浩久，八木稔，磯崎篤則，井下英二，晴佐久悟，川村和章，眞木吉信：フッ化物配合剤はチタン製インプラント利用者のインプラント周囲炎のリスクとなるか：文献レビュー. 口腔衛生学会雑誌, 66(3)：308-315, 2016.
- 39) 下井戸さよ：ホームケア用フッ化物製剤のう蝕予防性について -起床時唾液中フッ素濃度からの検討-. 神奈川歯学, 34(1)：43-60, 1999.

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 3-1-1 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、オーラルケア用品とフッ化物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、極めて微量から数万 ppm に至るまで多岐にわたる。

本項では、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 3-1-1 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。	オーラルケア用品	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
	フッ化物徐放性歯科材料 (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。	フッ化物徐放性 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（歯垢）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¹⁾。

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 3-2-1）。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²⁾、カンジダ菌は誤嚥性肺炎³⁾への関与が、う蝕原性細菌は感染性心内膜炎⁴⁾、動脈硬化⁵⁾、脳出血⁶⁾および潰瘍性大腸炎⁷⁾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⁸⁾。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。

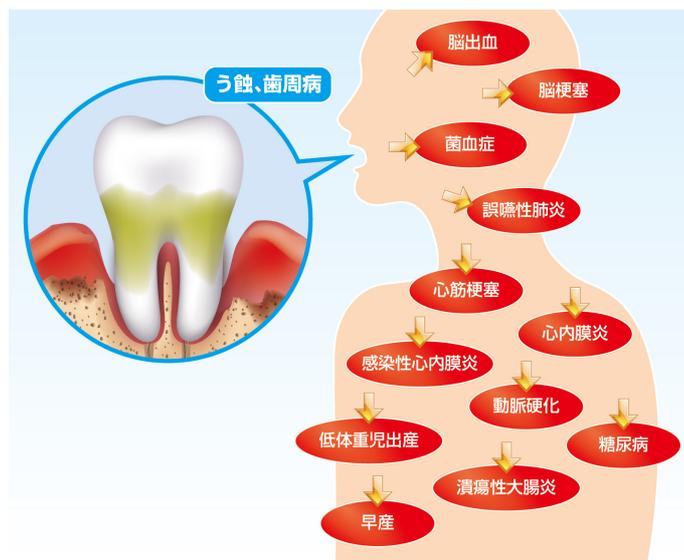


図 3-2-1 口腔内細菌と全身疾患の関わり

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⁹⁾。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、オーラルケアにおいて欠かせない存在となっている。

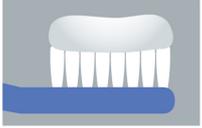
3.2.1. オーラルケア用品

(1) 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¹⁰⁾。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¹¹⁾。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。日本国内におけるフッ化物配合歯磨剤の推奨濃度の基準が 2023 年 1 月 1 日

に変更され、日本のう蝕予防および治療を専門とする4学会合同（日本口腔衛生学会・日本小児歯科学会・日本歯科保存学会・日本老年歯科医学会）で、推奨されるフッ化物配合歯磨剤の利用方法がまとめられた¹²⁾（表3-2-1）。この提言により歯が生えてから2歳、および3～5歳に用いられる歯磨剤の推奨フッ化物濃度が従来は500ppmであったのが1,000ppm、6歳以上は1,000ppmから1,500ppmへと変更された。

表3-2-1 う蝕予防のためのフッ化物配合歯磨剤の推奨される利用方法

年齢	使用量 （※1）	フッ化物濃度 （※2）	使用方法
歯が生えてから 2歳	米粒程度 （1～2mm程度） 	900～1000 ppmF	<ul style="list-style-type: none"> ・フッ化物配合歯磨剤を利用した歯みがきを、就寝前を含め1日2回行う。 ・900～1000 ppmFの歯磨剤をごく少量使用する。歯みがきの後にティッシュなどで歯磨剤を軽く拭き取ってもよい。 ・歯磨剤は子どもの手が届かない所に保管する。 ・歯みがきについて歯科医師等の指導を受ける。
3～5歳	グリーンピース程度 （5mm程度） 	900～1000 ppmF	<ul style="list-style-type: none"> ・フッ化物配合歯磨剤を利用した歯みがきを、就寝前を含め1日2回行う。 ・歯みがきの後は、歯磨剤を軽くはき出す。うがいをする場合は少量の水で1回のみとする。 ・こどもが歯ブラシに適切な量の歯磨剤をつけられない場合は、保護者が歯磨剤をつける。
6歳～成人 （高齢者を含む）	歯ブラシ全体 （1.5cm～2cm程度） 	1400～1500 ppmF	<ul style="list-style-type: none"> ・フッ化物配合歯磨剤を利用した歯みがきを、就寝前を含め1日2回行う。 ・歯みがきの後は、歯磨剤を軽くはき出す。うがいをする場合は少量の水で1回のみとする。 ・チタン製歯科材料（インプラントなど）が使用されていても、自分の歯がある場合はフッ化物配合歯磨剤を使用する。

※1：図の歯ブラシの植毛部の長さは約2cmである。

※2：歯科医師の指示によりう蝕のリスクが高いこどもに対して、1,000ppmFを超える高濃度のフッ化物配合歯磨剤を使用することもある。

WHOのレポートにおいて、1,000 ppm以上のフッ化物イオン濃度では、500 ppm高くなるごとに6%のう蝕予防効果の上昇がみられることが報告されており¹³⁾、高濃度のフッ化物含有歯磨剤は、増加傾向にある歯根面う蝕などの成人のう蝕予防には欠かせないものといわれている。スウェーデンなどのヨーロッパを中心に海外においては、積極的にフッ化物が応用されており、5,000 ppmの歯磨剤も市販されている¹⁴⁾。このため、日本国内においても将来的には成人への応用手段として、1,500 ppmから5,000 ppmの高濃度フッ化物配合歯磨剤の普及が、歯根面う蝕の効果的な予防を推進することになると考えられている¹⁵⁾。

フッ化物としては、フッ化ナトリウム(NaF)、フッ化第一スズ(SnF₂)やモノフルオロリン酸ナトリウム(Na₂PO₃F, MFP)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¹⁶⁾。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^{16,17)}。

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、フルオロオ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¹⁸⁾。

(2) 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、前者が低濃度（225～250 ppm）で、後者が高濃度（450～900 ppm）である¹⁹⁾。

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剤は、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。

(3) 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。この時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、機械的に除去が必要が生じる。

PMTCは、Per Axelsson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²⁰⁻²²⁾。

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除去したのち、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。

(4) 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^{23,24)}。

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歳から永久歯第二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. フッ化物徐放性歯科材料（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。

(1) バーニッシュ

一般的に対象を保護する目的で使用す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深いかもしれない。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（～1,500ppm）や歯面塗布剤（9,000ppm）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²⁵⁾。高濃度の5%フッ化ナトリウム（22,600ppmF）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、歯面は長期にわたり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²⁶⁾。

(2) 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²⁷⁾。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が黒変する。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、オーラルケアが困難な要介護者への使用などが提案されている²⁸⁾。

(3) 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、白歯部の深い溝（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 3-2-2）。

フッ化物源として、フッ化物徐放性のポリマー、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²⁹⁾。

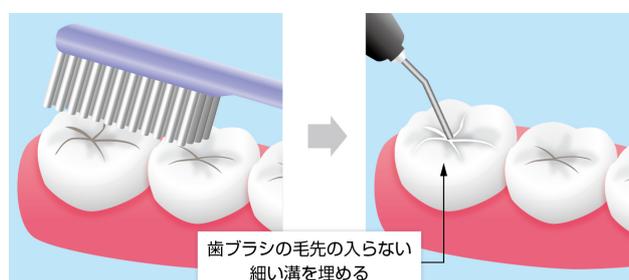


図 3-2-2 フィッシャーシーラント

3.3. フッ化物徐放性歯科材料（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では、フッ化ナトリウム (NaF) やフッ化物徐放性ポリマー (MMAMF)³⁰⁾、フッ化イッテルビウム (YBF3) などがフッ化物供給源として用いられる³¹⁾。

(1) グラスアイオノマーセメント

表 3-3-1 に示すとおり、フッ化物徐放性を有する歯科修復材料の中で、親水性材料であるガ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。

ガ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^{31,32)} 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。ガ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ガ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。

ガ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 3-3-1)。

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³³⁾。

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2,000ppm以上になるという報告もある^{34,35)}。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 3-3-1 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		疎水モノマー (UDMA 等), 光重合触媒			

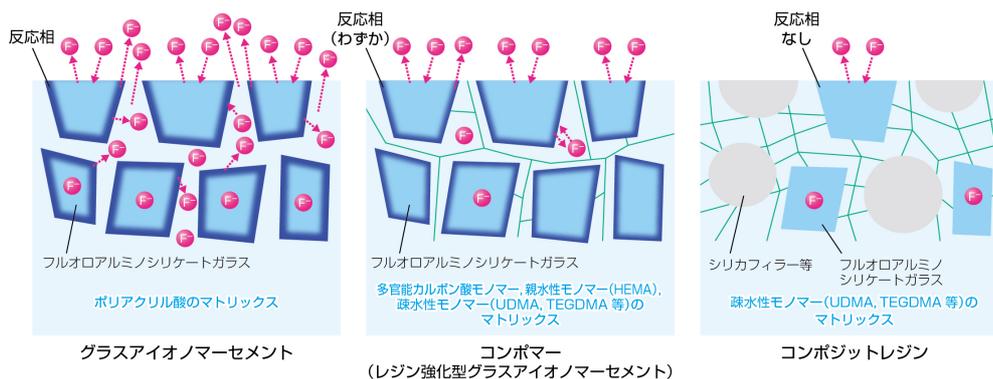


図 3-3-1 フッ化物徐放機構イメージ

(2) レジン強化型グラスアイオノマーセメント

グ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。

レジン強化型グラスアイオノマーセメントは、グ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。この改良によりグ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グ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³⁶⁾。

このようなレジン強化型グラスアイオノマーセメントは、グ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。

(3) 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化物徐放モノマーが添加されている^{33,37)}。

また、ボンディング材の層は非常に薄いため、フッ化物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ことも期待される。

(4) 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 (compomer) とは、コンポジット (composite : 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複合) とガラスアイオノマー (glass-ionomer) を組み合わせた造語であり、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。フッ化物徐放性に関しては、フッ化物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る。また、接着にはボンディング材を必要とする。

(5) 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、フッ化物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³⁸⁾、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。

(6) 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。フッ化物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、フッ化物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、フッ化物徐放性が付与されている。表 3-3-1 に示すとおり、コンポジットレジンのフッ化物徐放量は、ほかのフッ化物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³⁹⁻⁴¹⁾。

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。

(7) CAD/CAM 冠用ハイブリッドレジンプロック

CAD/CAM 冠用ハイブリッドレジンプロック（以下、レジンプロック）は 2014 年の臼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、「K Z R - C A D H R ブロック 2」（YAMAKIN 株式会社）（以下、ヤマキン）がヤマキン製品において初めてである⁴²⁾。

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。フッ化物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、材料の強度とフッ化物徐放性の両立が課題であった。ヤマキンでは当時、この課題の解決を目指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」(ヤマキン)として上市)、その技術をレジンプロックに応用することに成功した。したがって、レジンプロックのフッ化物徐放性は、コンポジットレジンと同等のフッ化物徐放性やリチャージ性能を有している。実験的にはう蝕原性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⁴³⁾。

レジンプロックのフッ化物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長期使用による二次う蝕抑制
- 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、レジンプロックのフッ化物徐放性によって、課題が解決できるか。

このような課題は歯科領域におけるフッ化物徐放性材料のう蝕への有効性を議論する上で大変興味ある研究課題である。

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) 4 学会合同のフッ化物配合歯磨剤の推奨される利用方法
https://www.kokuhoken.or.jp/jsdh/news/2023/news_230106.pdf (2023/12/18 アクセス)
- 13) WHO Expert Committee on Oral Health Status and Fluoride Use. Fluorides and oral health. WHO Technical Report Series, Geneva, 1994,p26- 33.
- 14) 日本歯科保存学会 編: 根面う蝕の診療ガイドライン -非切削でのマネジメント-. 永末書店, 2022
- 15) フッ化物配合歯磨剤に関する日本口腔衛生学会の考え方 一般財団法人口腔保健協会
http://www.kokuhoken.or.jp/jsdh/statement/file/statement_20180301.pdf (2022/11/28 アクセス)
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 可児徳子: フッ化物によるアパタイト結晶の格子不修復に関する研修. *阪大歯学誌*, 15 : 42-56, 1970.
- 19) (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. 719) 可児端夫: 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) Hujoel, P. P.: The effects of simple interventions on tooth mortality:findings in one trial and implications for future studies. *J.Dent.Res.*, 76, 1997.
- 23) 可児端夫: 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.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
- 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: *老年歯科医学*, 33(4), 400-404, 2019.
- 28) Morphiris TK, Toumba KJ, Lygidakis NA.: Fluoride pit and fissure sealants. A review, *Int. J. Paediat. Dent.*, 10: 90 98, 2000.
- 29) 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.
- 30) Arends J, Ruben J: Fluoride release from a composite resin. *Quintessence Int.*, 19: 513-514, 1988.
- 31) Henschrl, C. J.: Observations Concerning vivo Disintegration of Silicate Cement Restorations. *J. Dent. Res.*, 28: 528, 1949.

- 32) Phillips, R. W.: Materials for the Practicing Dentist, The CV Mosby company St. JJOuis, 60, 1969.
- 33) 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.
- 34) 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.
- 35) 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.
- 36) Phillips, R. W.: Materials for the Practicing Dentist, The CV Mosby company St. JJOuis, 60, 1969.
- 37) 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-. 日歯保存誌, 40: 1332-1337, 1997.
- 38) 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.
- 39) 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-. 日歯保存誌, 316-354, 1989.
- 40) 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. 日歯保存誌, 45(3): 459-468, 2002.
- 41) 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.
- 42) YAMAKIN 株式会社, 「K Z R - C A D H R ブロック 2」パンフレット
- 43) 山添正稔, 加藤喬大, 安楽照男:「K Z R - C A D H R 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.

4. フッ化物のう蝕に対する作用機序について

4.1. う蝕が起こるメカニズムについて

現在う蝕は、バイオフィーム感染症と位置付けられている。1995年に野村らによりバイオフィームの概念が初めて日本の歯科分野に導入された¹⁾。バイオフィームの形成には細胞間情報伝達機構であるクオラムセンシング (QS) が重要であるといわれており、菌の生育密度を感知し、シグナルの伝達が起こり、それに応じて物質の産生をコントロールしている。この QS システムが活性化することにより、菌が厳しい環境でも生育しやすくなり、バイオフィーム感染症につながっていく。

う蝕の病因論は、う蝕原性細菌であるミュータンスレンサ球菌 (*Streptococcus mutans* や *Streptococcus sobrinus*) により、う蝕となる特異的細菌説から、生態学的プラーク説、口腔常在細菌叢の変化による細菌叢の乱れ (dysbiosis) によって起こるう蝕・歯周病統合仮説 (dysbiosis 説) へと推移しており、2018年以降は dysbiosis 説が最新の考え方とされている²⁾。従来はミュータンスレンサ球菌による酸産生によってう蝕が発生すると考えられていたが、ミュータンスレンサ球菌が存在しない状態でのう蝕の発生や、ミュータンスレンサ球菌が比較的多い状態でも、う蝕が進行しない例があることが報告されたためである³⁾。Dysbiosis は、う蝕は①不良な口腔衛生状態、②唾液機能の低下、③糖分の多い食事といった環境要因によって起こりやすくなるため、その予防にはバイオフィームの除去や歯質の強化だけではなく、生活習慣の改善も必要であると説いている。

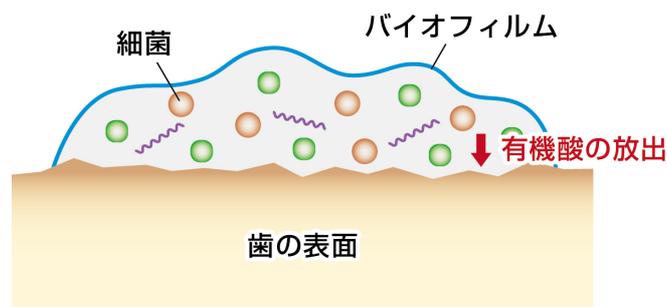


図 4-1-1 デンタルバイオフィーム

4.2. フッ化物の歯質強化について

フッ化物は図 4-2-1 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。フッ化物は、この再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、フッ化物は水酸化シタパタイトと結合し、耐酸性の高い安定したフルオロシタ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。

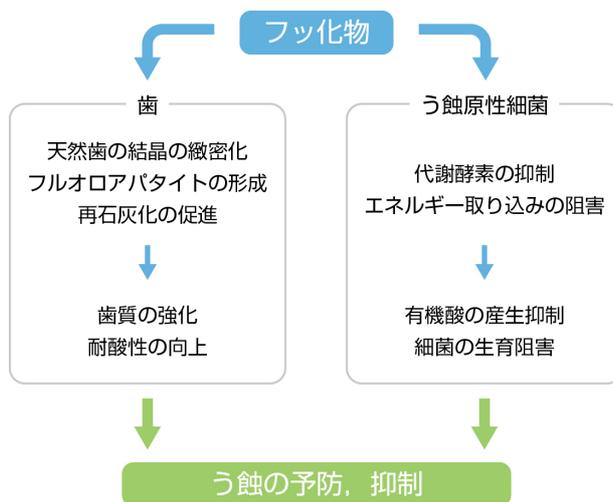


図 4-2-1 フッ化物の役割

4.3. フッ化物がう蝕を抑制するメカニズムについて

う蝕原性細菌に対する抗菌性については、図 4-3-1 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を阻害・抑制することが知られている⁴⁾。

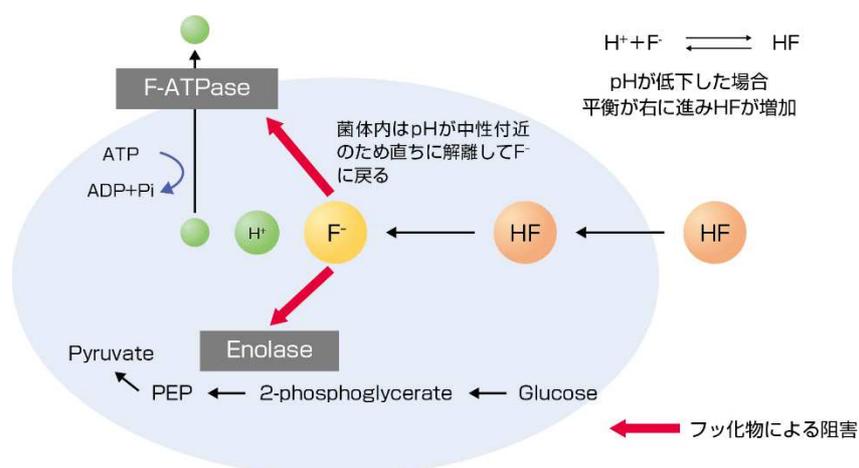
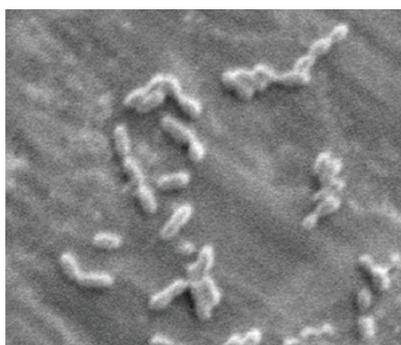


図 4-3-1 フッ化物のう蝕原性細菌への作用



Streptococcus mutans

図 4-3-2 う蝕原性細菌

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^- に再び戻る。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。

参考文献

- 1) 野杵 由一郎, 藤中 恵子, 近藤 妙, 尾崎 和美, 松尾 敬志, 恵比須 繁之: プラーク細菌の定着・増殖における細菌バイオフィルムの関与について, 日歯周誌 37 (2): 329~336, 1995
- 2) 野杵 由一郎編著, よくわかる! 口腔バイオフィルムと歯科治療
- 3) 高橋信博, 恵比須繁之監訳: デンタルカリエス 原著 2 版
- 4) Ying Liao, Bernd W. Brandt, Jiyao Li, Wim Crielaard, Cor Van Loveren, and Dong Mei Dengc: Fluoride resistance in *Streptococcus mutans*: a mini review Dent. JOURNAL OF ORAL MICROBIOLOGY, 9(1), 1344509. 201714

5. フッ化物徐放性レジンが細胞毒性および*S. mutans*に与える影響について

5.1. フッ化物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¹⁾。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、さまざまな特性を持つレジン修復物が各社から発売されており、そのひとつにフッ化物徐放性レジン（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化物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。フッ化物は抗菌性や歯質強化という特性を有する一方、高濃度のフッ化物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化物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、次項ではレジン系の歯科材料から徐放される低濃度のフッ化物が細胞毒性およびう蝕原性菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) に与えるさまざまな影響について紹介する。なお、4.1.で述べたようにう蝕の発症は、口腔常在細菌叢の変化によって起こるため、複雑な機構であり、*S. mutans* のみを対象とした抗う蝕の評価から得られる知見は限定的にならざるを得ない。その一方、*S. mutans* はクオラムセンシングが活性化した時に菌体外多糖や有機酸を産生し、う蝕発症において重要な役割を果たす細菌であるのも事実であり、本レポートでは *S. mutans* を対象とした検証を実施した。

5.2. フッ化物徐放性レジンのフッ化物イオン徐放性

フッ化物徐放性レジンから徐放される低濃度のフッ化物が *S. mutans* に対して及ぼす影響について検証するため、フッ化物徐放性レジンとして、レジンプロックである「K Z R - C A D H R ブロック 2 B G」（以下、HR2）（ヤマキン）および「K Z R - C A D H R ブロック 3 ガンマシータ」（以下、HR3）（ヤマキン）、充填用コンポジットレジン「T M R - ゼットフィル 1 0 .」（以下、ゼットフィル 1 0 .）（ヤマキン）および「ア・ウーノ」（ヤマキン）、非フッ化物徐放性レジンとして、硬質レジン「ルナウイング」（ヤマキン）を用いた。これらのフッ化物徐放性レジンで作製したペレット（直径 12mm、厚さ 10mm）を 1 mL の蒸留水に 24 時間浸漬の間に徐放されるフッ化物イオン濃度は「HR2」：2.6ppm、「HR3」：1.3ppm、「ゼットフィル 1 0 .」：3.9ppm、「ア・ウーノ」：6.0ppm、「ルナウイング」：0.2ppm であった。

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、試験に用いたフッ化物徐放性レジンのフッ化物の徐放源であるフルオロアルミノシリケートガラスフィラーは、フッ化物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みリチャージ特性を有する。そこで、フッ化物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。

フッ化物徐放性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 14569-1²⁾ を参考に、試験片をフッ化物配合歯磨剤懸濁液中に固定し、簡易歯ブラシ摩耗試験機を用いて、荷重 2.0 N、滑走速度 850 mm/s で歯ブラシを 500 回滑走させ、ブラッシングした。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 5-2-1 に示すように、フッ化物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、フッ化物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、安定したフッ化物リチャージ性が確認された。

その一方で、非フッ化物徐放性レジン材料を同様に処理しても、フッ化物徐放性レジンのようなリチャージ挙動は認められず、この特性がフッ化物徐放性フィラー由来の性質であることがうかがえる。

以上のことから、フッ化物徐放性フィラーが配合されたレジンを、フッ化物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化物徐放が期待できる。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。

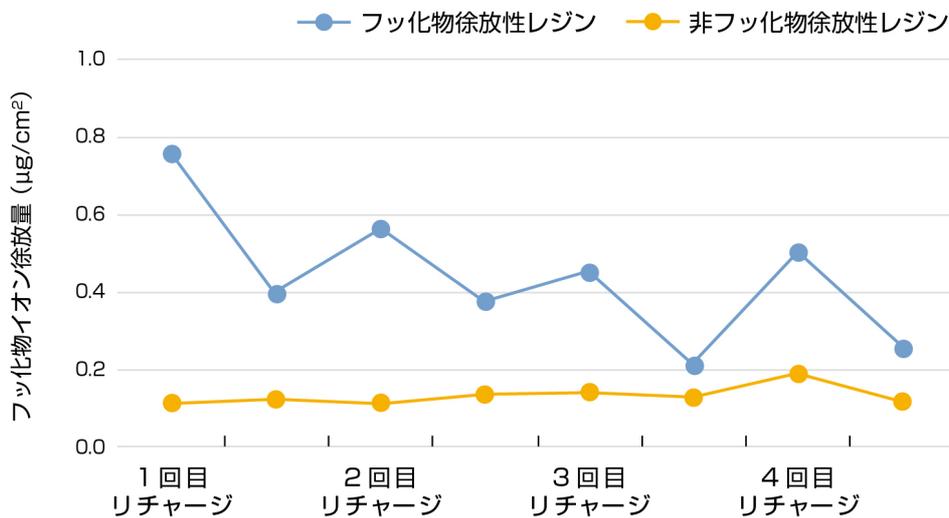


図 5-2-1 フッ化物配合歯磨剤を使ってブラッシングした時のフッ化物イオン徐放性

5.3. フッ化物の細胞毒性について（細胞毒性試験）

ヒトとわずかでも接触する医療機器は、接触する人体組織に対する細胞毒性やアレルギーなどのリスクを評価しなければならない（生物学的安全性評価）。細胞毒性、刺激性、感作性、遺伝毒性、埋植など、考慮すべき生物学的安全性はさまざまであるが、ヒトとの接触部位・接触期間など、医療機器の特性を考慮して必要な安全性評価がおこなわれる。そこでフッ化物徐放性コンポジットレジン「ア・ウーノ」の生物学的安全性評価として、ヒト単球性白血病細胞株 THP.1 細胞（以下、THP.1 細胞）（高知大学医学部歯科口腔外科学講座より分譲）を用いて細胞毒性を評価した（図 5-3-1）。また、フッ化物自体の細胞毒性を評価するため各濃度のフッ化物標品（NaF）を用いた。

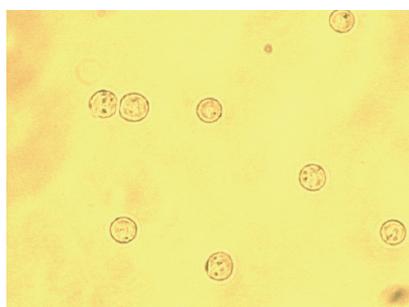


図 5-3-1 ヒト単球性白血病細胞株 THP.1 細胞

<試料>

「ア・ウーノ」のユニバーサル St ベーシックを直径 15 mm、厚さ 1.0 mm のペレット形状に硬化後、鏡面まで研磨した。作製した試料を 24 穴プレートのウエルに設置し、10 万個/mL に調整した THP.1 細胞を 1 mL 播種した。これを炭酸ガスインキュベーター（5%CO₂，37℃）内で 3 日間培養した。培養後の細胞を回収し、トリパンブルー色素排除試験および WST-8 細胞毒性試験に供した。フッ化物標品の細胞毒性はウエルに試料を設置せずに培養液中にフッ化物標品を添加して、評価した。また、ウエルに試料を設置せずに培養した細胞をコントロールとした。

5.3.1. トリパンブルー色素排除試験³⁾

本試験法の原理は次のとおりである。試料の毒性によって細胞死がもたらされると、細胞が膨張し細胞膜が破壊される。色素化合物であるトリパンブルーは生細胞では細胞膜が健康であるため取り込まれないが、細胞膜が破壊されている死細胞には取り込まれて細胞を青く染色する。この色素化合物で染色した後、生細胞と死細胞を顕微鏡観察によって計数することで、細胞の増殖と共に細胞生存率を測定することができる（図 5-3-2）。

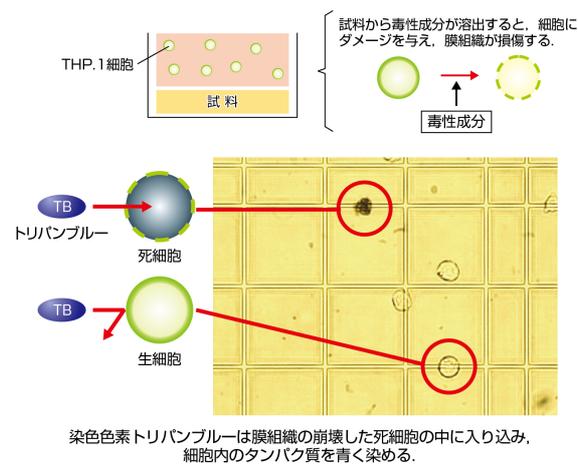


図 5-3-2 トリパンブルー色素排除試験の原理

図 5-3-3 に示すように「ア・ウーノ」の生存率は、コントロール (0 ppm) と比べて有意差は認められず、高い細胞生存率を示した。このことから、「ア・ウーノ」から徐放される低濃度のフッ化物 (約 6.0ppm) では生存率に影響を与えないことが確認された。また、フッ化物濃度が細胞生存率に与える影響を検証したところ、100ppm 以上で生存率 50% 以下まで低下した。

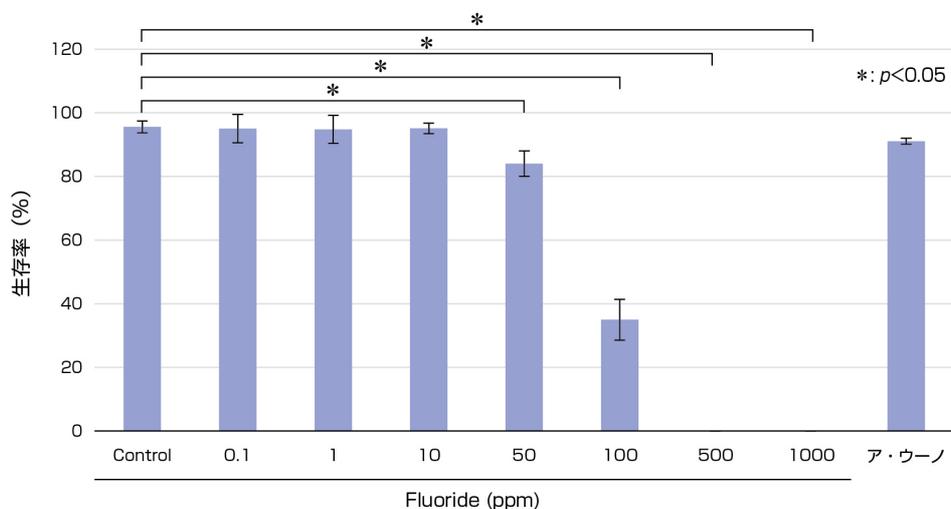


図 5-3-3 フッ化物の THP.1 細胞の生存率に与える影響

5.3.2. WST-8 細胞毒性試験^{4,5)}

WST-8(2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfohenyl)-2H-tetrazolium)は、生細胞の持つ脱水素酵素 (NAD⁺, NAD(P)⁺デヒドロゲナーゼ) によってオレンジ色の WST-8 ホルマザンへと還元される。本試験は、この原理を利用してオレンジ色の濃淡を吸光度として測定することで、試料上で培養した細胞の代謝活性を比較する試

験である。すなわち、オレンジ色が濃い（吸光度が高い）場合、細胞毒性は低く、薄い（吸光度が低い）場合、細胞毒性が高いものと判定する（図 5-3-4）。

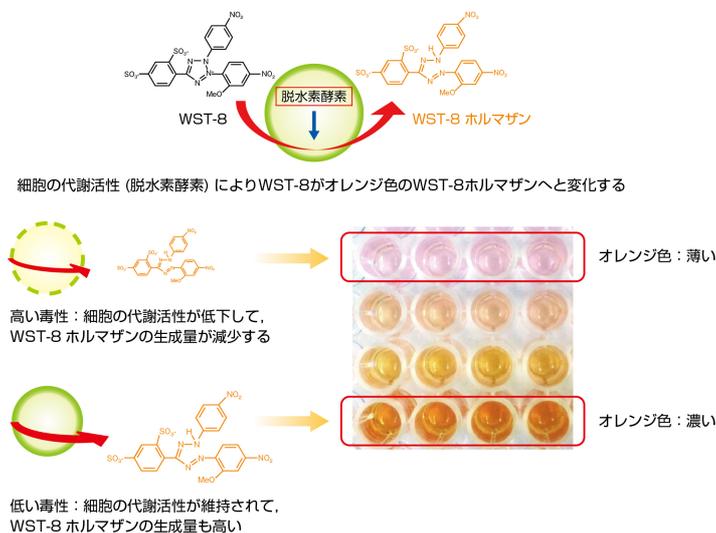


図 5-3-4 WST-8 細胞毒性試験の原理

試料上で培養した細胞を 96 穴培養プレートへのウェルに移し、WST-8 試薬を添加した。37 °Cで 2 時間静置した後、生成するホルマザン（オレンジ色）の吸光度（450nm）を測定した。「ア・ウーノ」はコントロールの吸光度と比べて有意差はなく、THP.1 細胞の代謝活性に対する影響は認められなかった（図 5-3-5）。また、フッ化物標品を用いた試験では、100ppm から吸光度が大きく低下した。このことから、細胞生存率と同様に「ア・ウーノ」から徐放される低濃度のフッ化物は細胞の代謝活性に影響を与えないことが確認された。

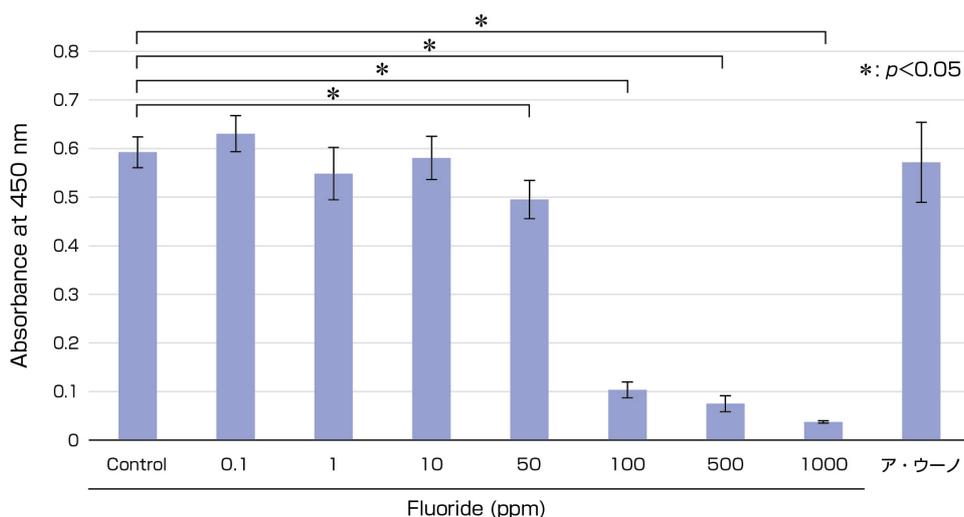


図 5-3-5 フッ化物の THP.1 細胞の代謝活性に与える影響

5.4. フッ化物の *S. mutans* に与える影響について (細菌試験)

フッ化物徐放性レジンとして「ゼットフィル10.」(フッ化物徐放量: 3.9ppm), 比較用の対照試料として非フッ化物徐放性レジン「ルナウィング」(フッ化物徐放量: 0.2ppm) を使用し, 直径 12 mm, 厚さ 10 mm の円形ペレットを作製後, 表面を耐水研磨紙で整えて試験片とした。フッ化物自体が *S. mutans* に与える影響は各濃度のフッ化物標品 (NaF) を用いて評価した。試験に用いた *S. mutans* は, BHI 培地 (Brain-heart infusion broth) を用いて, 37°C で培養した。

5.4.1. 増殖能評価

・増殖試験

各レジンおよびフッ化物標品が *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 5-4-1)。レジンの評価は, 図 5-4-2 に示した手順で, レジン抽出液を調製し, 各試験に供した。また, 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。

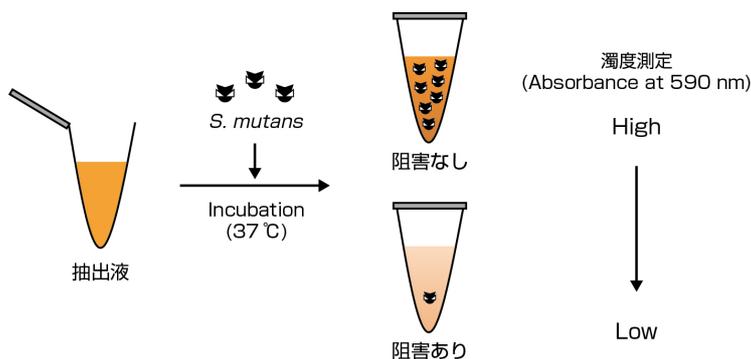


図 5-4-1 増殖試験手順

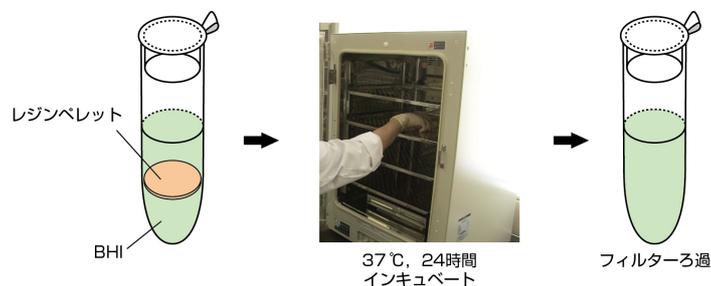


図 5-4-2 レジン抽出液の調製手順

図 5-4-3 に示すように, フッ化物徐放性あるいは非フッ化物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、フッ化物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。

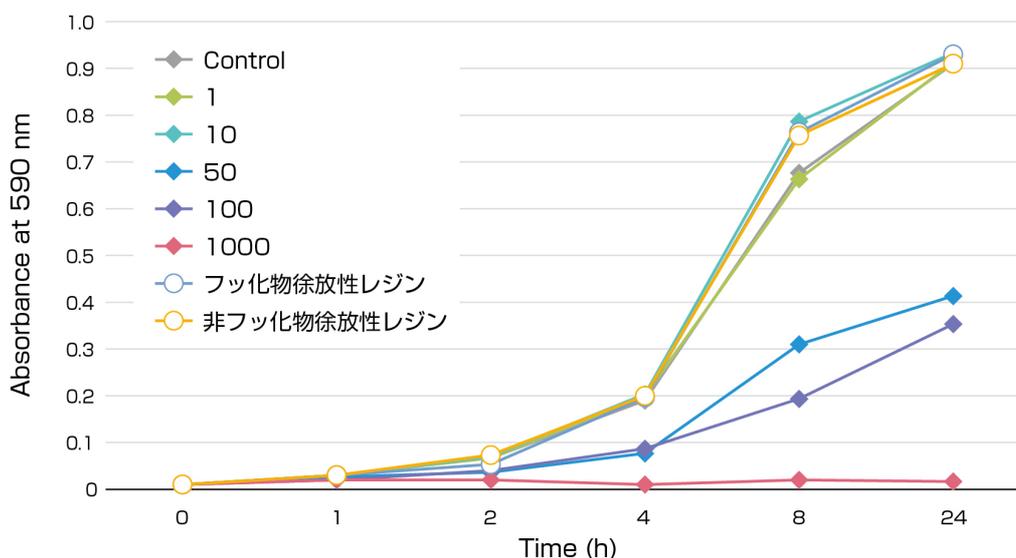


図 5-4-3 増殖試験結果

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



・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⁵⁾。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 5-4-4 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 活性を阻害すると、吸光度が低くなる。

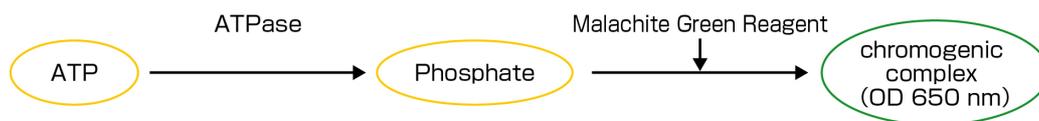


図 5-4-4 ATPase 活性測定原理

各レジジン抽出液もしくはフッ化物標品を添加した BHI 培地で 37°C, 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. 測定手順は図 5-4-5 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ジン抽出液および ATPase 基質を添加し, 25°C 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°C 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.

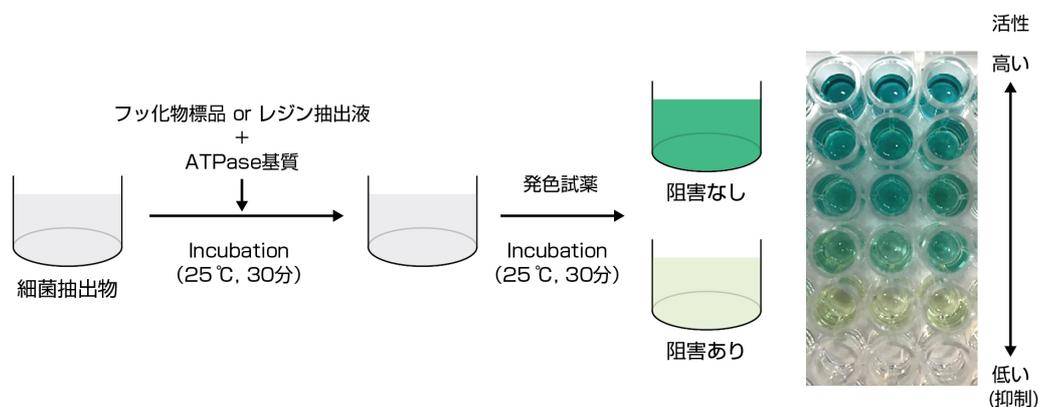


図 5-4-5 ATPase 活性測定手順

図 5-4-6 に示すように, 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 活性の阻害は認められなかった.

以上の結果により, 今回用いたフッ化物徐放性レジジンが 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.

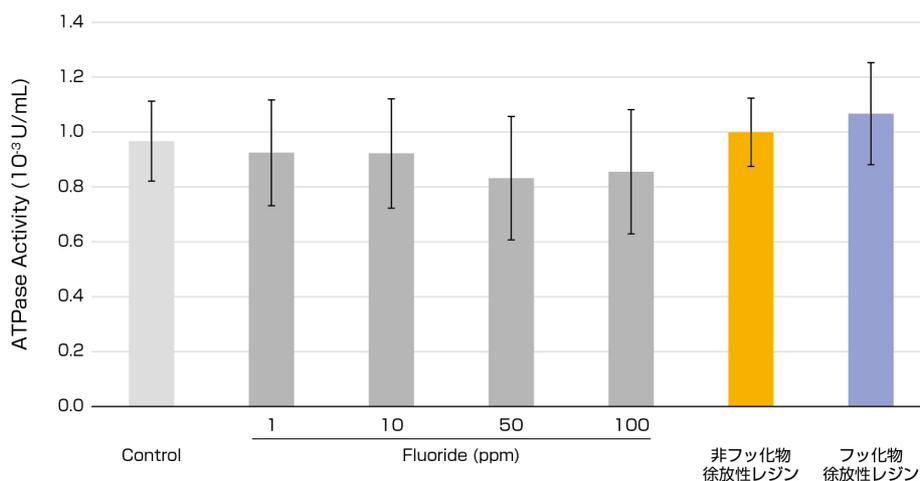


図 5-4-6 ATPase 活性測定結果

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



5.4.2. 付着能およびバイオフィーム形成能評価

・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、フッ化物徐放性レジンが *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。

付着試験の測定原理を図 5-4-7 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。

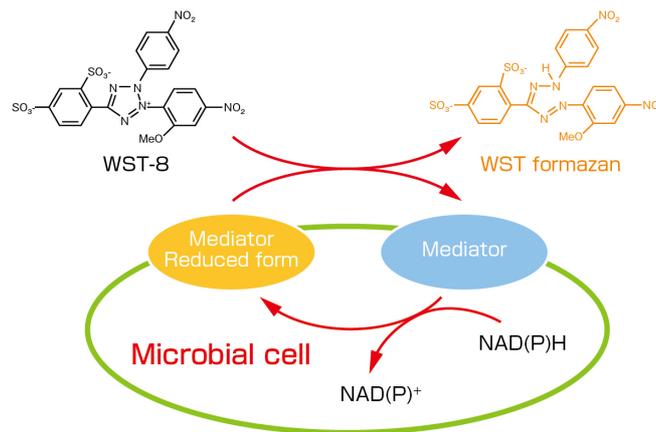


図 5-4-7 付着試験測定原理

この原理に基づき、図 5-4-8 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 穴培養プレートのウェルに設置した。 *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°C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ェルに移し、Microbial Viability Assay Kit-WST (同仁化学研究所) の試験薬を添加後 37°C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、非フッ化物徐放性レジン (フッ化物濃度 0 ppm) 上で培養した結果をコントロールとした。

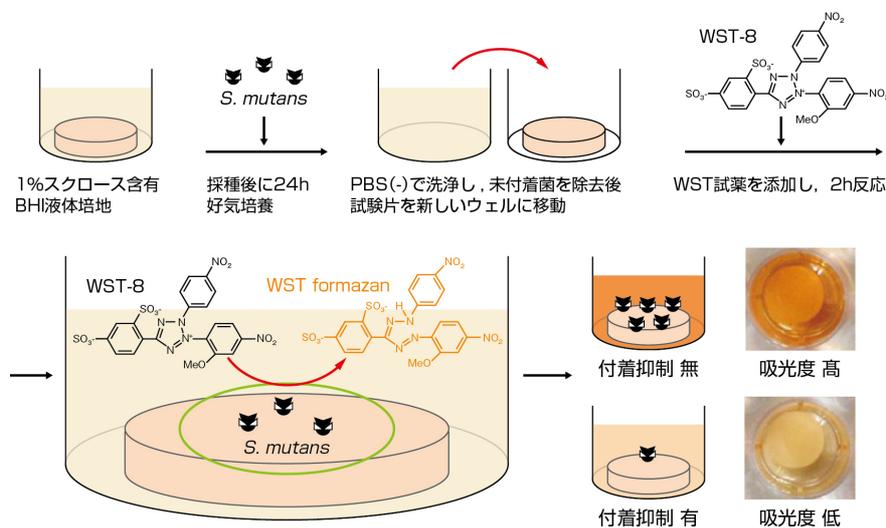


図 5-4-8 付着試験測定手順

図 5-4-9 に示すように、フッ化物徐放性レジンでは、コントロールと比較して有意に吸光度が低下した。次に、非フッ化物徐放性レジン上でフッ化物の濃度が 0.5, 1, 5, 10, 50 ppm 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。

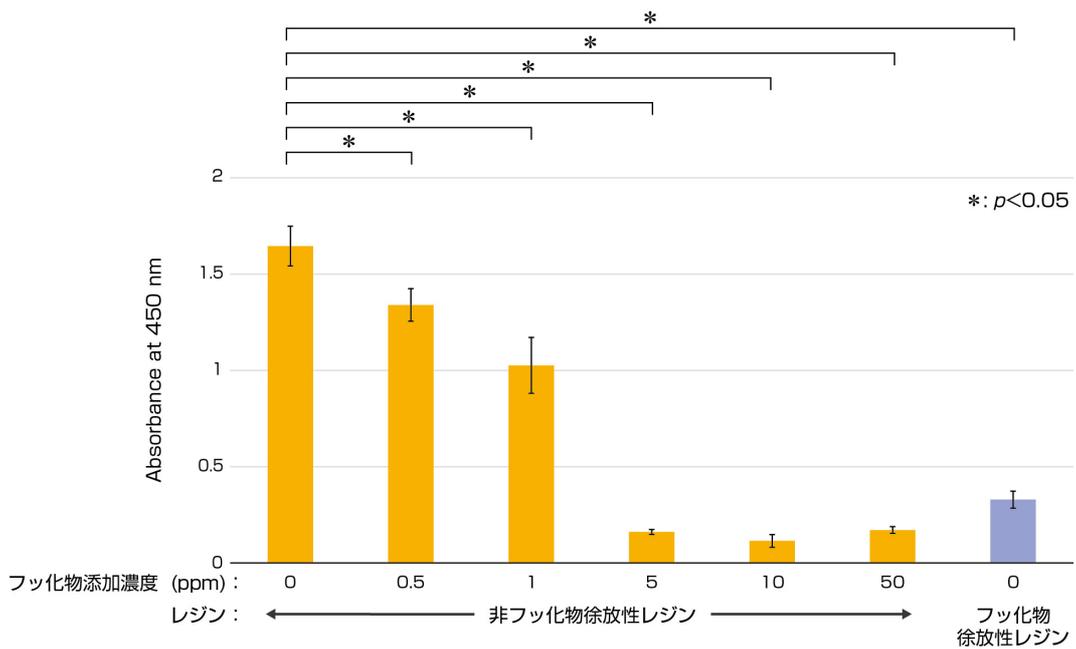


図 5-4-9 付着試験結果

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



さらにフッ化物徐放性レジン製品ごとの *S. mutans* の付着能に与える影響について評価した (図 5-4-10)。試験条件は上述と同じく各レジンで作製したペレット上で *S. mutans* を培養後に付着した細菌を検出した。いずれもコントロールである非フッ化物徐放性レジンと比較して吸光度の低下が認められ、*S. mutans* の付着能を抑制することが示唆された。本試験における各レジンのフッ化物イオン徐放量は「HR2」: 2.6ppm, 「HR3」: 1.3ppm, 「ゼットフィル10.」: 3.9ppm, 「ア・ウーノ」: 6.0ppm であるが、図 5-4-9 で示したように、これらの濃度域のフッ化物は *S. mutans* の付着能を抑制する。したがって、各レジン製品の示した *S. mutans* 付着抑制は、自身の徐放したフッ化物イオンによるものと推察された。

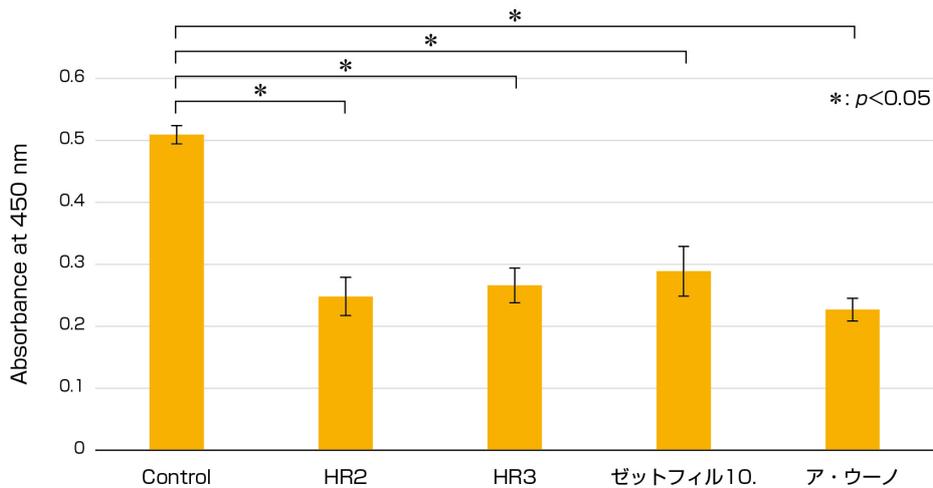


図 5-4-10 各レジン製品が *S. mutans* の付着抑制に与える影響

・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量を定量化した (図 5-4-11)。また、非フッ化物徐放性レジン上で *S. mutans* を培養した結果をコントロールとした。

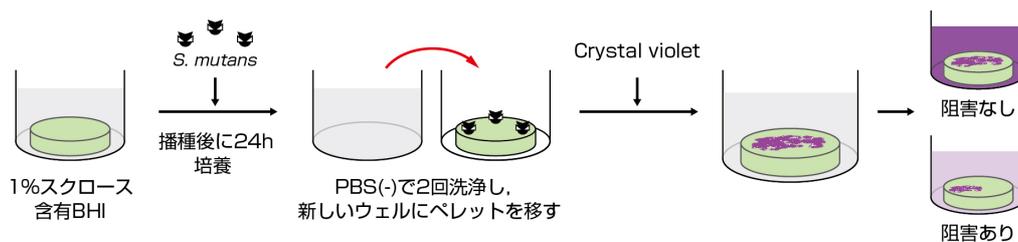


図 5-4-11 バイオフィーム形成試験手順

その結果、フッ化物徐放性レジンでは、非フッ化物徐放性レジン (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 5-4-12)。非フッ化物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。

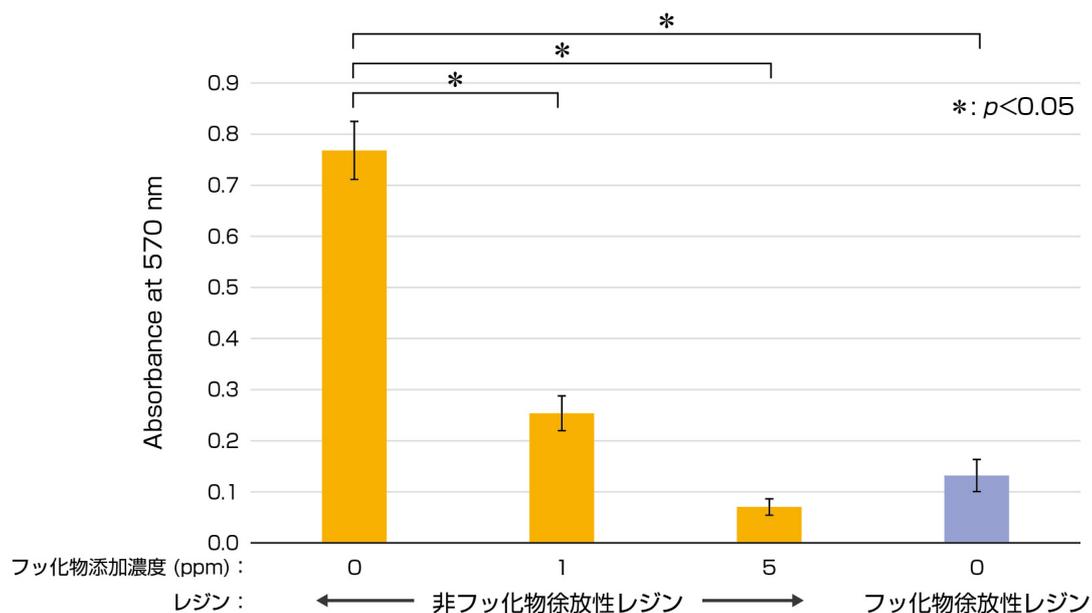


図 5-4-12 バイオフィーム形成試験結果

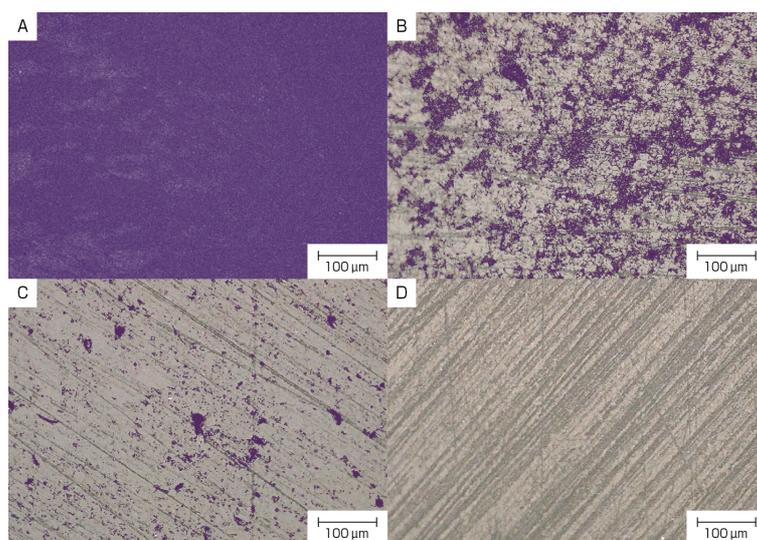
04

***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



各レジン表面を P2000 の耐水研磨紙で研磨後、*S. mutans* を各レジン上で 1 日培養した。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、デジタルマイクロスコープ「VHX-6000」(Keyence, Selangor, Malaysia) で表面観察をおこなった。



A : 非フッ化物徐放性レジン, B : 非フッ化物徐放性レジン+1 ppmF,
C : 非フッ化物徐放性レジン+5 ppmF, D : フッ化物徐放性レジン

図 5-4-13 *S. mutans* 培養 1 日後の各レジン表面のマイクロSCOPE像

図 5-4-13 に示すように、非フッ化物徐放性レジン (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。1ppm のフッ化物存在下の非フッ化物徐放性レジン (B) では A と比較すると *S. mutans* 量が減少した。5ppm のフッ化物存在下の非フッ化物徐放性レジン (C) ではほとんど *S. mutans* の付着が確認できなかった。フッ化物徐放性レジン (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、マイクロSCOPE 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、フッ化物徐放性レジンに *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、フッ化物徐放性レジンから徐放された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 (500ppm) 付着を阻害することが報告されている⁶⁻⁸⁾。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、フッ化物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。また、バイオフィーム形成に関してはフッ化物濃度 4.75 ppm で *S. mutans* のバイオフィーム形成が阻害されることを報告しているが⁹⁾、本研究でもフッ化物徐放性レジン上では *S. mutans* のバイオフィーム形成が抑制されることが示された。

・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ルムの形成に寄与する¹⁰⁾。そこで、フッ化物徐放性レジンにおいて認められた、低濃度フッ化物による細菌付着抑制およびバイオフィル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。測定手順は図 5-4-14 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°C で 18 時間インキュベート後の濁度を測定した。蛋白発現はウェ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。

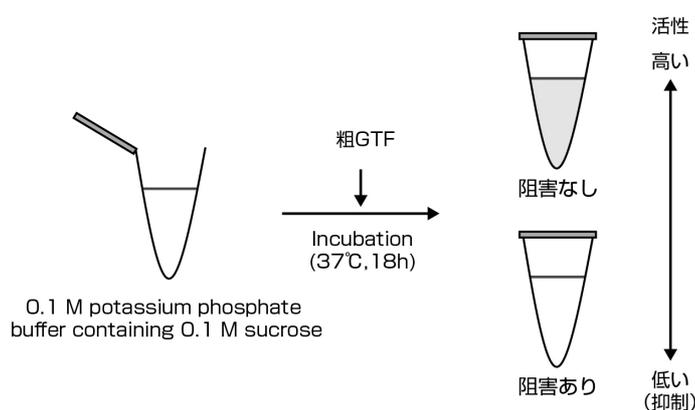


図 5-4-14 GTF 活性測定手順

図 5-4-15 に示すように、いずれのレジンにおいてもコントロール (フッ化物濃度 0ppm) 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、フッ化物標品の 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¹¹⁾。

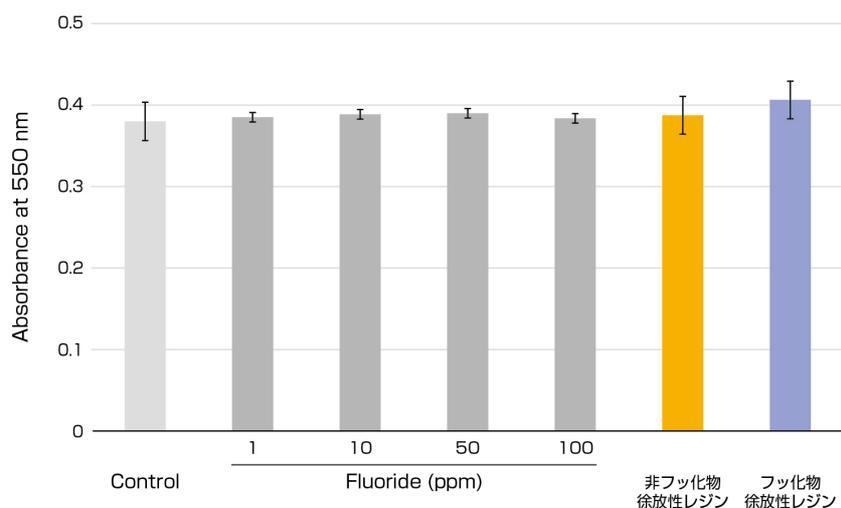


図 5-4-15 GTF 活性測定結果

図 5-4-16 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 の発現量にばらつきはあるもののレジン同士を比較すると、フッ化物徐放性レジンでは非フッ化物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。

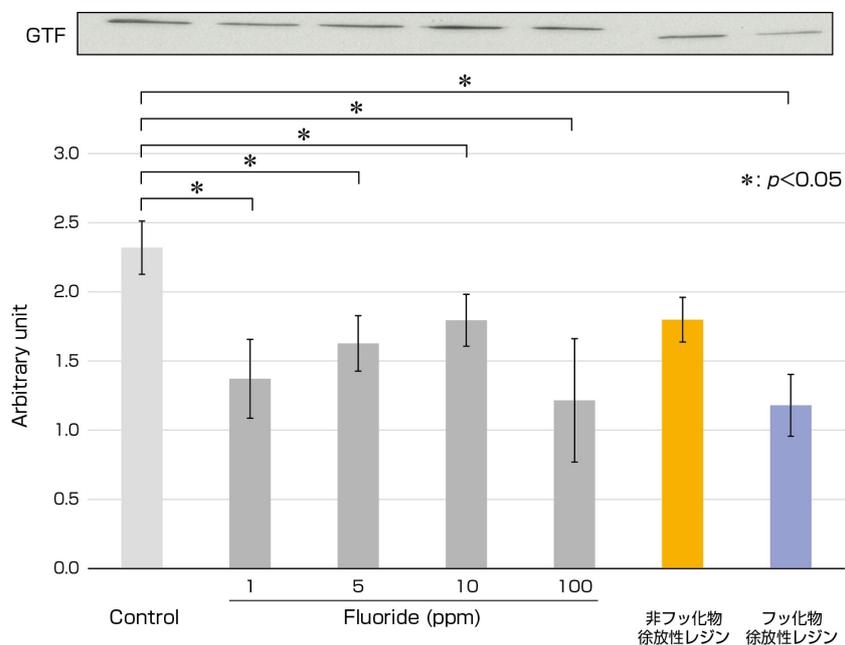


図 5-4-16 GTF 発現測定結果

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。

5.4.3. 乳酸産生能評価**・乳酸生成試験**

う蝕発症のメカニズムのひとつとして、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、周辺の pH を低下させることによる歯質の脱灰促進が挙げられる。そこで、フッ化物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 5-4-17）。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。

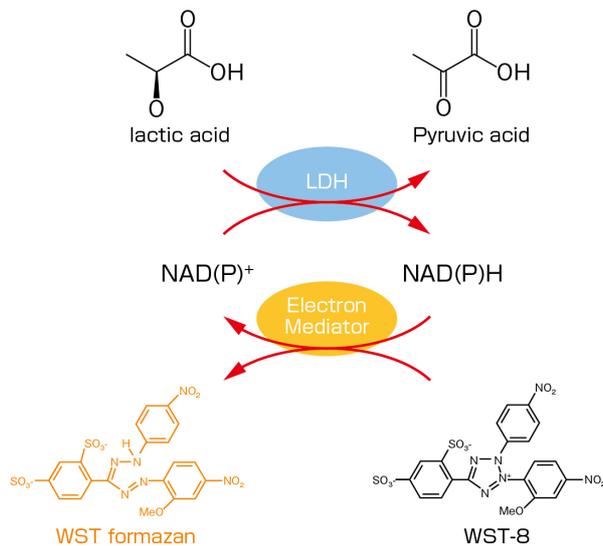


図 5-4-17 乳酸測定原理

測定手順は図 5-4-18 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°C で 2 時間インキュベ

とし、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。

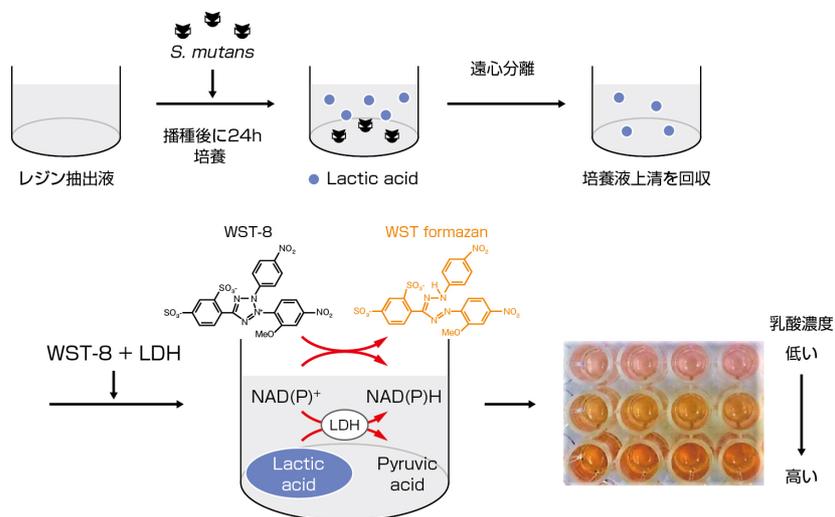


図 5-4-18 乳酸測定手順

図 5-4-19 に示すように、フッ化物徐放性レジジン抽出液中で培養した *S. mutans* が産生した乳酸量は、非フッ化物徐放性レジ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、1ppm 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、50ppm 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¹²⁾、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。

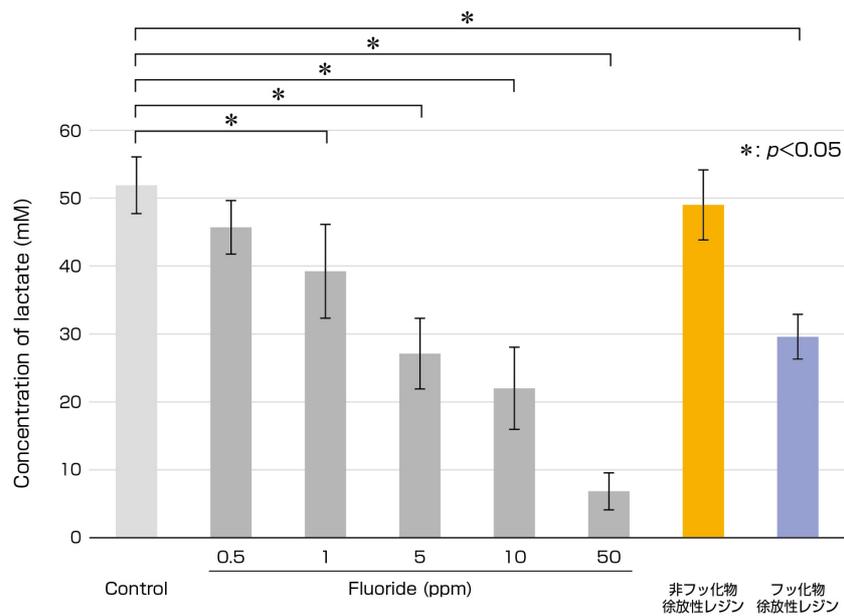


図 5-4-19 乳酸測定結果

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



さらにフッ化物徐放性レジン製品ごとの *S. mutans* の乳酸産生能に与える影響について評価した (図 5-4-20)。いずれのレジン製品も、コントロールと比較して吸光度の低下が認められた。本試験での各レジンのフッ化物イオン徐放量は「HR2」:2.6ppm, 「HR3」:1.3ppm, 「ゼットフィル10」:3.9ppm, 「ア・ウーノ」:6.0ppm であるが、これらの濃度のフッ化物標品に期待される乳酸産生抑制と、各レジン製品の実際の乳酸産生抑制能との間には、乖離も認められる。これはレジン製品におけるフッ化物以外の溶出成分の影響によるものと考えられる。

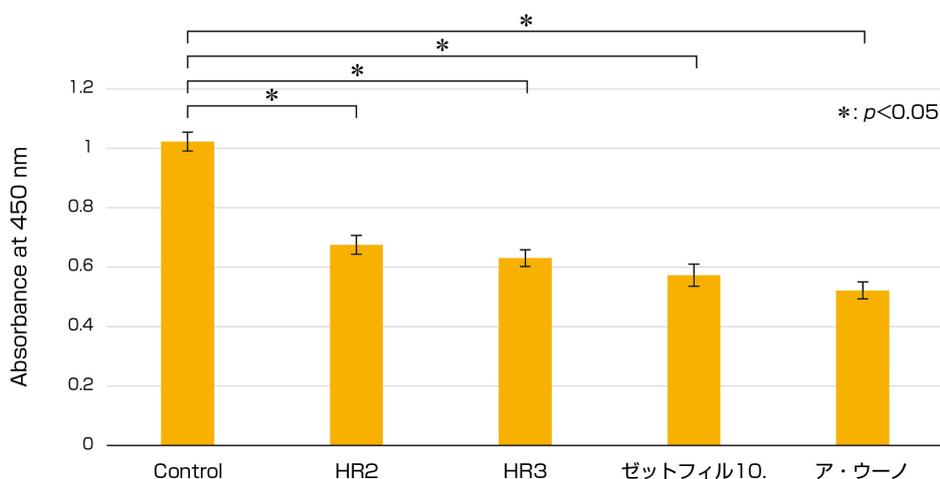


図 5-4-20 各レジン製品による *S. mutans* の乳酸測定結果

・ 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、フッ化物徐放性レジンの *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 5-4-21 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。

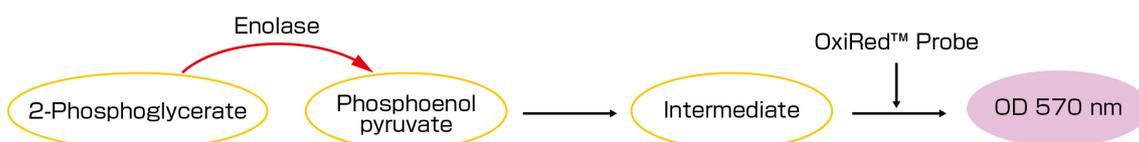


図 5-4-21 Enolase 活性測定原理

測定手順は、各レジン抽出液もしくはフッ化物標品を添加した BHI 培地で 37°C、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物もしくはフッ化物標品を添加し、25°C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 5-4-22)。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。

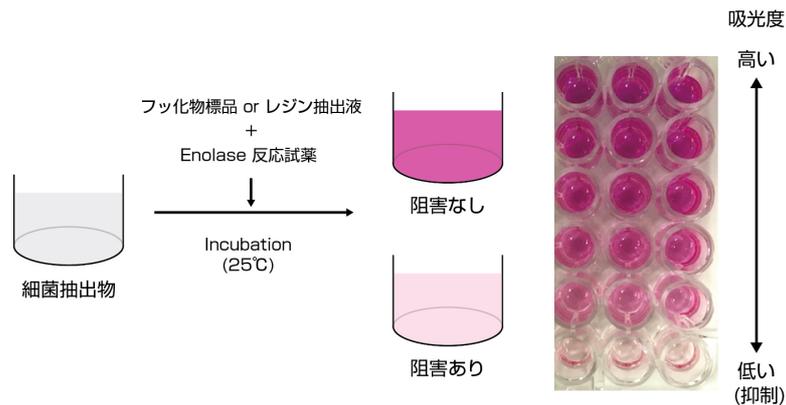


図 5-4-22 Enolase 活性測定手順

図 5-4-23 に示すように、フッ化物徐放性レジンにおける Enolase 活性は、非フッ化物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¹³⁾、今回低濃度のフッ化物を徐放するフッ化物徐放性レジンでも同様に活性の抑制が認められた。

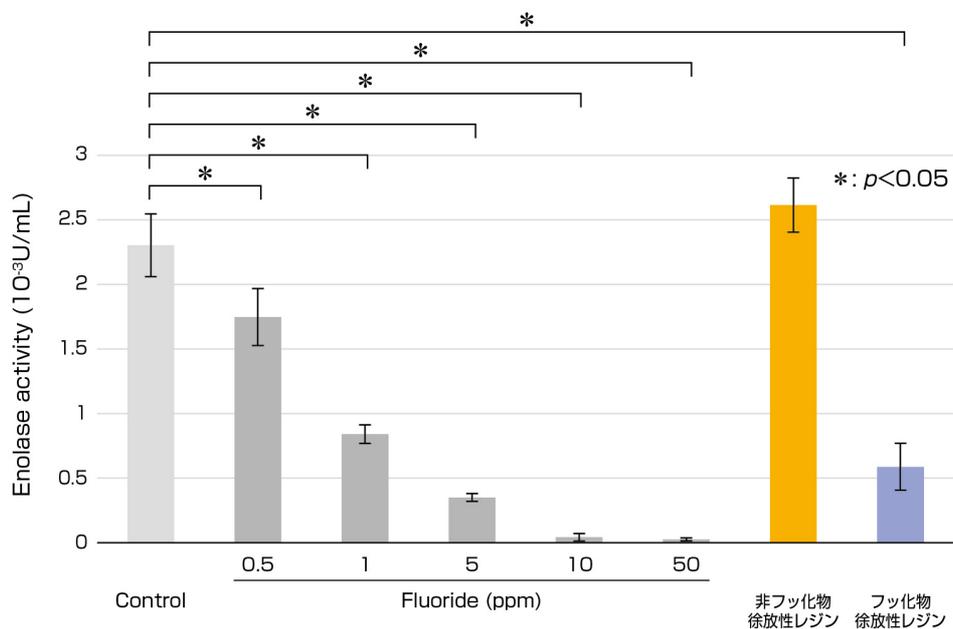


図 5-4-23 Enolase 活性測定結果

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化物徐放性レジン是非フッ化物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

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 5-4-24)。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。

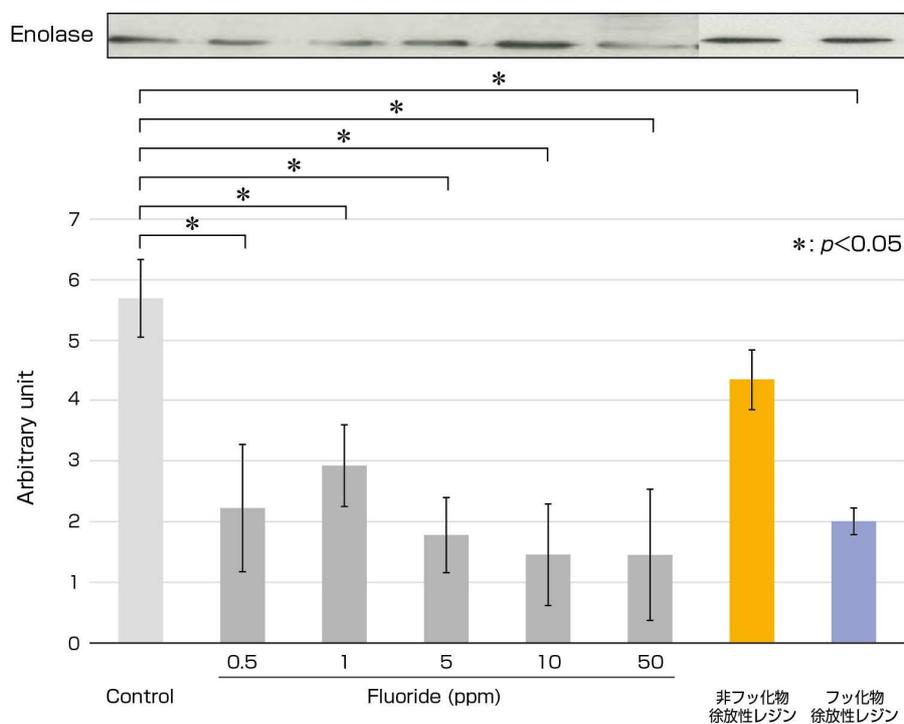


図 5-4-24 Enolase 発現測定結果

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 5-4-25 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。

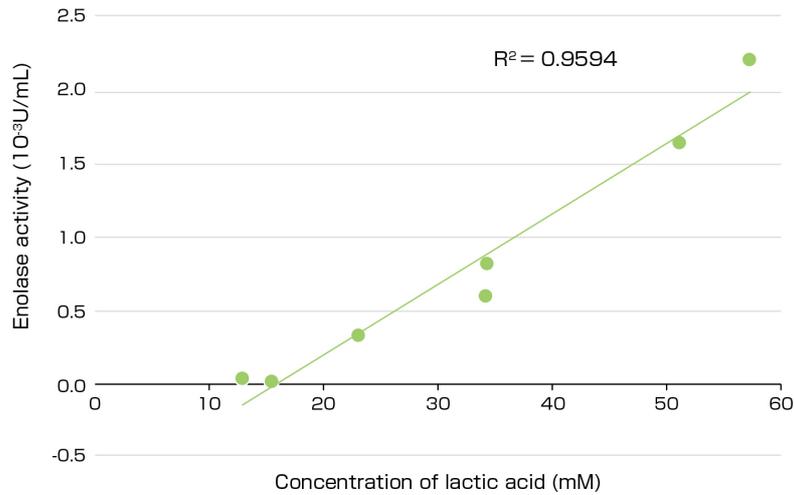


図 5-4-25 Enolase 活性と乳酸産生量の相関

以上の結果をまとめると、フッ化物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、全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。

参考文献

- 1) 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.
- 2) ISO/TR 14569-1: 2007, Dental materials - Guidance on testing of wear - Part 1: Wear by toothbrushing
- 3) Correa GT, Veranio GA, Silva LE, Hirata Junior R, Coil JM, Scelza MF, Cytotoxicity evaluation of two root canal sealers and a commercial calcium hydroxide paste on THP1 cell line by Trypan Blue assay. J. Appl. Oral Sci., 17 : 457-461, 2009.
- 4) Ishiyama M, Miyazono Y, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K, A Highly Water-Soluble Disulfonated Tetrazolium Salt as a Chromogenic Indicator for NADH as Well as Cell Viability. Talanta, 44: 1299-1305, 1997. 23) Tominaga H, Ishiyama M, Ohseto F, Sasamoto K, Hamamoto T, Suzuki K, Watanabe M, A water-soluble tetrazolium salt useful for colorimetric cell viability assay. Anal. Commun., 36: 47-50, 1999.
- 5) Bender GR, Sutton SV, Marquis RE. Acid tolerance, proton permeabilities, and membrane ATPases of oral streptococci. Infect Immun 1986; 53: 331-338.
- 6) Meurman JH. Ultrastructure, growth, and adherence of Streptococcus mutans after treatment with chlorhexidine and fluoride. Caries Res 1988; 22: 283-287.
- 7) Rölla G, Melsen B. Desorption of protein and bacteria from hydroxyapatite by fluoride and monofluorophosphate. Caries Res 1975; 9: 66-73.
- 8) 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.
- 9) Cai Y, Liao Y, Brandt BW, Wei X, Liu H, Crielaard W, et al. The fitness cost of fluoride resistance for different Streptococcus mutans strains in biofilms. Front Microbiol 2017 ; 8 : 1630.
- 10) Tamesada M, Kawabata S, Fujiwara T, Hamada S. Synergistic effects of streptococcal glucosyltransferases on adhesive biofilm formation. J Dent Res 2004; 83: 874-879.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Cimasoni G. The inhibition of enolase by fluoride in vitro. Caries Res 1972; 6: 93-102.

6. おわりに

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、フッ化物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決める。」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。

ヤマキンでは、安全性に重点をおき、科学的な機能性と医学的な安全性の両者を融合した新しい研究開発を提案している。この活動の過程で得られた知見の数々は、レポートおよび書籍として公開されている。ご興味を持たれた方は是非ご一読いただきたい。
 ※各出版物は、歯科商店様または弊社 WEB サイトからご購入いただけます。

《専門書 既刊》



歯科用貴金属合金の科学
 基礎知識と铸造の実際
 ・発行日：2010年11月
 ・238P
 ・価格：本体 8,000 円＋税
 ・発行：株式会社 学建書院



知っておきたい
歯科材料の安全性
 ・発行日：2017年2月
 ・212P
 ・価格：本体 4,000 円＋税
 ・発行：YAMAKIN 株式会社



歯科有機材料の化学<改訂版>
 基礎知識と応用
 ・発行日：2018年9月
 ・200P
 ・価格：本体 5,000 円＋税
 ・発行：YAMAKIN 株式会社

《歯科用デジタルハンドブック 既刊》



**歯科用デジタル
 ハンドブック 1**
 ・発行日：2019年8月
 ・192P
 ・価格：本体 2,000 円＋税
 ・発行：YAMAKIN 株式会社



**歯科用デジタル
 ハンドブック 2**
 ・発行日：2020年5月
 ・194P
 ・価格：本体 1,000 円＋税
 ・発行：YAMAKIN 株式会社



**歯科用デジタル
 ハンドブック 3**
 ・発行日：2020年10月
 ・220P
 ・価格：本体 1,000 円＋税
 ・発行：YAMAKIN 株式会社



**歯科用デジタル
 ハンドブック 4**
 ・発行日：2021年8月
 ・150P
 ・価格：本体 1,000 円＋税
 ・発行：一般財団法人ヤマキン
 学術文化振興財団



**歯科用デジタル
 ハンドブック 5**
 ・発行日：2022年5月
 ・172P
 ・価格：本体 1,000 円＋税
 ・発行：一般財団法人ヤマキン
 学術文化振興財団



**歯科用デジタル
 ハンドブック 6**
 ・発行日：2023年2月
 ・160P
 ・価格：本体 1,000 円＋税
 ・発行：一般財団法人ヤマキン
 学術文化振興財団



歯科用デジタル ハンドブック 7

- ・発行日：2023年11月
- ・132P
- ・価格：本体 1,000円＋税
- ・発行：一般財団法人ヤマキン
学術文化振興財団

《テクニカルレポート 既刊》

- ゼオセライトテクニカルレポート（2002年8月）
- ルナウィングテクニカルレポート（2007年5月）
- ツイニーテクニカルレポート（2010年7月）

《安全性試験レポート 既刊》

- Vol.1 国際水準の品質と安全を求めて（2004年12月）
- Vol.2 「ZEO METAL」シリーズ 溶出試験と in vitro による細胞毒性試験（2005年6月）
- Vol.3 メタルセラミック修復用貴金属合金及び金合金 溶出試験と in vitro による細胞毒性試験（2005年12月）
- Vol.4 「ルナウィング」の生物学的評価（2006年6月）
- Vol.5 高カット金合金の物性・安全性レポート（2007年10月）
- Vol.6 歯科材料の物性から生物学的影響まで 硬質レジン、メタルセラミック修復用合金、金合金における検討（2008年5月）
- Vol.7 金合金「ネクシオキャスト」の物性・安全性レポート（2008年10月）
- Vol.8 ハイブリッド型硬質レジン「ツイニー」の生物学的評価（2010年6月）
- Vol.9 貴金属合金の化学的・生物学的特性 チタンとの組み合わせによる溶出特性（2011年2月）
- Vol.10 メタルセラミック修復用貴金属合金「ブライティス」の物性と安全性（2011年10月）
- Vol.11 歯科用接着材料「マルチプライマー」の物性と安全性（2014年3月）
- Vol.12 歯科用覆髄材料「TMR-MTAセメント」の安全性（2018年1月）

《高分子技術レポート 既刊》

- Vol.1 歯科材料モノマーの重合ーラジカル重合の基礎（1）（2009年10月）
- Vol.2 歯科材料モノマーの重合ーラジカル重合の基礎（2）（2010年2月）
- Vol.3 歯科材料モノマーの重合ー修復材モノマー（1）（2010年3月）
- Vol.4 歯科材料モノマーの重合ー修復材モノマー（2）（2010年7月）
- Vol.5 歯科材料モノマーの重合ー酸素の影響（2011年8月）
- Vol.6 歯科材料モノマーの重合ー開始剤と開始（2012年10月）
- Vol.7 重合性シランカップリング剤ーメタクリロイルオキシアルキルトリアルコキシシラン（2013年6月）
- Vol.8 歯科用レジンの硬化における重合収縮（2014年11月）
- Vol.9 歯科材料における開始剤成分としてのヨードニウム塩の利用（2017年3月）
- Vol.10 ナノゲルの歯科レジンならびに接着材への応用（2018年6月）

《オーラルサイエンスレポート 既刊》

- Vol.1 歯科口腔外科とビスフォスフォネート製剤（2010年8月）
- Vol.2 活性酸素ーその生成、消去および作用ー（2011年4月）
- Vol.3 低酸素の世界（2012年7月）
- Vol.4 歯の再生に関する最近の進歩（2014年2月）
- Vol.5 フッ化物応用とその影響（2016年10月）

《メディカルバイオロジーレポート 既刊》

- Vol.1 低濃度フッ化物と口腔内細菌（2022年7月）

《製品レポート 既刊》

- ジルコニアの基礎知識と製品レポート（2014年2月）
- チタンの基礎知識と製品レポート（2014年6月）
- CAD/CAM用ハイブリッドレジンの基礎知識と製品レポート（2014年9月）
- 歯科充填用コンポジットレジンの基礎知識と製品レポート（2015年9月）
- 歯科用ボンディング材の基礎知識と製品レポート（2016年1月）
- TMR-MTAセメント製品レポート（2017年8月）
- マルチプライマーシリーズ製品レポート（2017年10月）
- KZR-CAD HR ブロック3 ガンマシータ製品レポート（2018年1月）
- マルチエッチャント製品レポート（2018年7月）
- 「KZR-CAD ナノジルコニア」の基礎知識と製品レポート（2018年7月）
- TMR-ゼットフィル 10. 製品レポート（2018年8月）
- TMR-アクアボンド 0 製品レポート（2018年8月）

KZR-CAD ジルコニアグラデーションの基礎知識と製品レポート (2019年3月)
TMR-MTA セメント ミエール製品レポート (2019年8月)
「KZR-CAD ワックスディスク」の基礎知識と製品レポート (2020年2月)
KZR-CAD マリモセメント LC 製品レポート (2020年5月)
ユニコム PT 製品レポート (2021年2月)
ア・ウーノ 製品レポート (2022年6月)
TMR-アクアボンド 0-n 製品レポート (2023年2月)
KZR-CAD ジルコニア Laxio 製品レポート (2023年2月)
KZR-CAD ピーク製品レポート (2023年4月)
Nu:le コート製品レポート (2023年6月)
ゼロフローエッチャント製品レポート (2023年9月)
KZR-CAD ファイバーブロック フレーム製品レポート (2023年9月)

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 CAD/CAM 冠用材料(I) 認証番号:226AABZX00171000
アイコス 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
KZR-CAD HR ブロック2 B5y 管理医療機器 歯科切削加工用レジン材料 CAD/CAM 冠用材料(II) 認証番号:304AKBZX00090000
KZR-CAD HR ブロック3 ガンマシャーター 管理医療機器 歯科切削加工用レジン材料 CAD/CAM 冠用材料(III) 認証番号:303AKBZX00111000
TMR-ゼットフィル10. 管理医療機器 歯科充填用コンポジットレジン 認証番号:230AABZX00066000
ア・ウーノ 管理医療機器 歯科充填用コンポジットレジン 認証番号:304AABZX00013000
ルナウィング 管理医療機器 歯冠用硬質レジン 認証番号:218AABZX00035000

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

製品や模型、パッケージなどの色は、印刷インクや撮影条件などから、実際の色とは異なって見えることがあります。記載のデータは条件によって異なる場合があります。
製品の仕様、外觀や容器などは予告なく変更する場合があります。製品を使用するときは必ず最新の電子添文をご確認ください。
Designed by TEAM-DESIGN CONTENTS in house YAMAKIN CO., LTD.

タイムリーな情報は、
Webマガジン「ヤマキンニュース」でお知らせします。



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

歯科材料の安全性や品質管理への取り組みはこちらから

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

編集者 加藤 喬大
発行者 山本 樹育
発行日 2024年1月29日

創業70周年に向けて

70

FOUNDATION III

変化は決して発展を伴わないが、
発展は変化なしにはありえない。

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)

SD20240129