原 著 論 文

新規接着性レジンセメントの口腔内細菌に対する抗菌性

苦瓜 明彦 山内 六男* 松木 光洋 李 吉寿 長澤 亨

Antibacterial Activity of Newly Developed Adhesive Resin Cements against Oral Bacteria

Akihiko Nigauri, Mutsuo Yamauchi*, Mitsuhiro Matsuki, Kilsoo Lee and Tooru Nagasawa

Abstract: The antibacterial activity of newly-developed adhesive resin cement and primer on oral bacteria was investigated. Three types of adhesive resin cements and primers, and glass-ionomer cement as a control were used in the experiment. *S. mutans* ATCC 25175, *S. sanguis* ATCC 10556, *S. mitis* ATCC 3339, *S. salivarius* ATCC 25975, and *B. gingivalis* ATCC 3327 were used as test strains. Antibacterial activity of the resin cement immediately after mixing, after setting and after immersion in artificial saliva for one week were tested. A pH and fluoride release from resin setting were measured, and elute from settings was also measured by high-performance liquid chromatography.

Most resin cements and primers showed antibacterial activity against the *Streptococci*, but did not show antibacterial activity against the *Bacteroides*. Primers and resin cement immediately after mixing showed greater antibacterial activity compared to the settings of resin after immersion of artificial saliva. A pH and fluoride release of settings of resin cement were not related to the antibacterial activity. HEMA, Mac-10, MDP and Bis-GMA were identified from settings and primers by high-performance liquid chromatography.

The results suggested that the antibacterial activity was produced by the monomer of resin cement and primer.

Key words: adhesive resin cements, primers, antibacterial activity, oral bacteria, elute

I. 緒 言

歯冠修復物装着後に生じる二次う蝕や歯髄炎の発症には、セメント自体の唾液による溶解や刺激性も関与しているものの、修復物の直下に残留している細菌や修復物と歯質との間隙への細菌の侵入も大きく関与していると考えられている¹⁻³⁾。そのため、合着用セメントの所要性質の1つとして口腔内細菌に対する抗菌性があげられている⁴⁾。

われわれも、実際に市販の合着用セメントや仮封用セメントの抗菌性について検討を加えており、HY 剤を含有するセメントが高い抗菌性を示すことを報告してきた⁵⁻⁸⁾。

一方、接着性レジンセメントは歯質、歯科用合金および陶材に接着することから、近年臨床に用いられてきている⁹⁾。しかしながら、この種のセメントには硬化後の抗菌性はほとんど認められない¹⁰⁾。最近、新たにいくつかの接着性レジンセメントが市販された。そこで本研究では、新しい接着性レジンセメントの抗菌性について検討したところ、以前の接着性レジンとは異なる結果を得たので報告する。

朝日大学歯学部歯科補綴学講座（主任：長澤 亨教授）

*朝日大学歯科臨床研究所附属歯科診療所（主任：山内六男教授）
Department of Prosthodontics, Asahi University School of Dentistry (Chief: Prof. Tooru Nagasawa)

*Dental Clinic, Post-doctoral Institute of Clinical Dentistry, Asahi University (Chief: Prof. Mutsuo Yamauchi)

平成 11 年 3 月 18 日受付

II. 材料および方法

1. 材料

3種類の接着性レジンセメントおよび付属のプライマーを実験に用いた。また、対照としてガラスイオノマーセメント1種を用いた(表1)。

各セメントはメーカー指示の方法で練和し、練和直後のもの(以下、練和直後と略す)、硬化直後のもの(以下、硬化直後と略す)および人工唾液中に1週間浸漬したもの(以下、浸漬後と略す)の3種類の抗菌性を検討した。

なお、試料は直径8mm、厚さ2mmの大きさに調整したが、練和直後では硬化体とほぼ同量を1試料とした。また、プライマーは直径8mmのガス滅菌した濾紙に染み込ませた後、培地に静置し抗菌性を検討した。なお、試料数はいずれの実験でも3個ずつとした。

2. 抗菌性試験

供試菌には *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (以下、*S. mutans* と略す)、*Streptococcus sanguis* ATCC 10556 (以下、*S. sanguis* と略す)、*Streptococcus mitis* ATCC 3339 (以下、*S. mitis* と略す)、*Streptococcus salivarius* ATCC 25975 (以下、*S. salivarius* と略す)、*Bacteroides gingivalis* ATCC 3327 (以下、*B. gingivalis* と略す)の計5菌種を用いた。通性嫌気性菌の *Streptococci* 4菌種には Trypticase soy broth (BBL 社) に yeast extract 0.5% (Difco 社) および agar 1.5% を加えた平板を製作した。偏性嫌気性菌である *B. gingivalis* には Brain heart infusion (Difco 社) に yeast extract 0.5%, agar 1.5%, Vitamine K₁ 0.4 ml および綿羊無菌脱繊維血(日本生物材料センター)5%を加えた平板を製作した。

これら平板上に菌液を均一に塗抹した後、試料を静置し、48時間培養した後に細菌の発育阻止帯の幅を測定した。測定にはノギスを用い、1試料につき4カ所を測定し、その平均値を求めた。なお、抗菌性試験における操作はすべてクリーンベンチ(日立製作所)内で行った。

3. pH および溶出フッ素濃度の測定

抗菌性の発現と pH および溶出フッ素濃度との関連を調べるために、練和直後、硬化直後および人工唾液浸漬後の試料の pH および溶出フッ素濃度を測定した。それぞれの試料を5mlの蒸留水中に24時間浸漬した後に測定した。なお、練和直後のものに関しては硬化後の試料とほぼ同量を蒸留水中に浸漬し、浮遊物を濾紙で除去した後に実験に供した。

pHの測定には卓上pH計(PhL-40, 電気化学計器社)およびpH複合電極(6157-W型, 電気化学計器社)を用いた。溶出フッ素濃度の測定にはion analyzer(EA-940型, オリオン社)にフッ素複合電極(96-09型, オリオン社)を接続し、それぞれの試料からの溶出フッ素濃度の測定を行った。

4. 溶出モノマーの検討

抗菌性の発現との関連性を調べるために、硬化直後の試料の溶出モノマーを高速液体クロマトグラフィーを用いて調べた。硬化直後の試料を80%アセトニトリル水溶液に24時間浸漬し実験に供した。分析には高速液体クロマトグラフ(LC-4A型, 島津製作所), UV検出器(SPD-2AS, 島津製作所), サンプルインジェクター(7125型, Rheodyne 社), カラム恒温槽(CTO-2AS, 島津製作所), クロマトパック記録計(C-R2AX, 島津製作所)から構成したシステムを用いた。測定には内径4.6mm×長さ25cm, 粒子径5 μ mのカラム(Shim-pack CLC-C8, 島津製作所)を用い、アセトニトリル:水=80:20の混合溶媒を移動相として、流速0.8ml/min, 波長220nmで測定を行った。

III. 結 果

1. 抗菌性

1) セメント

S. mutans に対しては浸漬後のID以外は抗菌性を示したが、練和直後のものが強い抗菌性を示した(図1)。

S. sanguis に対しては練和直後、硬化直後、浸漬後のBT、練和直後、硬化直後のPAおよび練和直後のCXが抗菌性を示したが、特に練和直後および硬化直後のBT

表1 Adhesive resin cements and primers used
実験に用いた接着性レジンセメントとプライマー

セメント		付属プライマー		製造会社
略号	商品名	略号	商品名	
ID	Imperva dual	IDP	Imperva bond dentin primer	松風
BT	Bistite resin cement	BTP	Bistite resin cement primer	トクソー
PA	Panavia 21	PAP	Panavia 21 ED primer	クラレ
CX	HY-Bond glasionomer CX			松風

図 1 Antibacterial activity of resin cements against *S. mutans*
レジンセメントの *S. mutans* に対する抗菌性

図 3 Antibacterial activity of resin cements against *S. mitis*
レジンセメントの *S. mitis* に対する抗菌性

図 2 Antibacterial activity of resin cements against *S. sanguis*
レジンセメントの *S. sanguis* に対する抗菌性

図 4 Antibacterial activity of resin cements against *S. salivarius*
レジンセメントの *S. salivarius* に対する抗菌性

が強い抗菌性を示した (図 2)。

S. mitis に対しては練和直後, 硬化直後および浸漬後の BT, 練和直後と硬化直後の PA, 練和直後の CX が抗菌性を示したが, 特に練和直後の BT が強い抗菌性を示した (図 3)。

S. salivarius に対しては練和直後, 硬化直後および浸漬後の BT, 練和直後の CX が抗菌性を示したが, 練和直後の BT が強い抗菌性を示した (図 4)。

B. gingivalis に対しては BT のみ抗菌性を示し, 特に練和直後の BT は強い抗菌性を示した。しかし, 他の 3 種類のセメントは, 抗菌性を示さなかった (図 5)。

2) プライマー

S. sanguis, *S. mutans* および *S. mitis* に対して 3 種類のプライマーはいずれも強い抗菌性を示した。*S. salivarius* に対しては IDP 以外のプライマーは強い抗菌性を示した (図 6~9)。なお, *B. gingivalis* に対しては 3 種のプライマーいずれも抗菌性を示さなかった。

2. pH

いずれの試料でも同様の条件で測定した蒸留水の pH

図 5 Antibacterial activity of resin cements against *B. gingivalis*
レジンセメントの *B. gingivalis* に対する抗菌性

6.1 よりも低くなっていたが, そのなかでも練和直後の試料の pH が最も低く, 浸漬後の試料の pH が最も高かった。セメント間で比較すると, 練和直後の試料では CX の pH が最も低く, ID の pH が最も高かった。硬化後の試料では PA の pH が最も低く, ID の pH が最も高かった。浸漬後の試料では CX の pH が最も低く, ID の pH が最も高かった (図 10)。

図 6 Antibacterial activity of primers against *S. mutans*
プライマーの *S. mutans* に対する抗菌性

図 9 Antibacterial activity of primers against *S. salivarius*
プライマーの *S. salivarius* に対する抗菌性

図 7 Antibacterial activity of primers against *S. sanguis*
プライマーの *S. sanguis* に対する抗菌性

図 8 Antibacterial activity of primers against *S. mitis*
プライマーの *S. mitis* に対する抗菌性

図 10 pH of resin cement
セメントの pH

表 2 Fluoride concentration
セメントの溶出フッ素濃度

材料	練和直後	硬化直後	浸漬後
ID	0.108(0.020)	0.080(0.005)	0.077(0.019)
BT	1.123(0.005)	0.089(0.005)	0.046(0.001)
PA	0.025(0.060)	0.021(0.006)	0.018(0.001)
CX	14.391(0.173)	10.717(0.050)	3.738(0.022)

単位: ppm () : SD

では BT が最も高く、次いで ID, PA の順であった。浸漬後の試料では ID が最も高く、次いで BT, PA の順であった (表 2)。なお、実験に使用した蒸留水のフッ素濃度は 0.013 ppm であった。

3. 溶出フッ素濃度

いずれの試料でも練和直後の試料の溶出濃度が最も高く、浸漬後の試料の溶出濃度が最も低かった。セメント間で比較すると、CX の溶出濃度がすべての条件で最も高かった。レジンセメント間では練和直後では BT の溶出濃度が最も高く、ID, PA の順であった。硬化後の試料

4. セメントおよびプライマーの溶出パターン

1) セメント

ID では、4 つの大きなピークと 2 つの小さなピークが観察された。そのうち、右端の大きなピークは Urethane dimethacrylate (以下、UDMA と略す) と同定された。右端から 2 番目の大きなピークは Hydroxyethyl methacrylate (以下、HEMA と略す) と推察されたが、ほかの

図 11 High-performance liquid chromatogram obtained from ID
ID の溶出パターン

図 13 High-performance liquid chromatogram obtained from PA
PA の溶出パターン

図 12 High-performance liquid chromatogram obtained from BT
BT の溶出パターン

図 14 High-performance liquid chromatogram obtained from primer of ID
ID 付属のプライマーの溶出パターン

ピークについては同定できなかった (図 11)。

BT では、3 つの大きなピークといくつかの小さなピークが観察された。大きなピークは 2,2-bis [4-(3-methacryloxy-2-hydroxypropoxy) phenyl] propane (以下、Bis-GMA と略す) と推察された。左端のピークは 11-Methacryloyl-1, 1-undecanedicarboxylic acid (以下、MAC-10 と略す) と推察されたが、ほかのピークは同定できなかった (図 12)。

PA では、6 本の大きなピークといくつかの小さなピークが観察された。このうち 5 本の大きなピークは Bis-GMA と推察され、左端の大きなピークは 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (以下、MDP と略す) と推察されたが、ほかのピークは同定できなかった (図 13)。

図 15 High-performance liquid chromatogram obtained from primer of BT
BT 付属のプライマーの溶出パターン

図 16 High-performance liquid chromatogram obtained from primer of PA
PA 付属のプライマーの溶出パターン

2) プライマー

IDP では3本の大きなピークが観察され、右端は HEMA と推察されたが、ほかのピークは同定できなかった (図 14)。BTP では MAC-10 と思われるピークが観察された (図 15)。PAP では MDP と思われる大きなピークと不明な2つのピークが観察された (図 16)。

IV. 考 察

抗菌性試験の結果より、ID は *S. mutans* に対して、BT は今回用いた全菌種に対して、PA は *S. sanguis*, *S. mutans* および *S. mitis* に対して抗菌性を示した。今回の結果は、先に報告した初期の接着性レジンセメントの抗菌性¹⁰⁾とは大きく異なっていた。今里ら¹¹⁾は、各種接着システムの抗菌性について検討し、充填用コンポジットレジンの硬化体は一部を除いて抗菌性を示さないが、プライマーは抗菌性を示すと報告している。接着システムとレジンセメントとは材料は異なるものの、今里ら¹¹⁾が用いた材料のうち2種は今回検討したレジンセメントのプライマーと同じモノマーを含んでいるため、同様な結果を示したと思われる。

今回の実験で用いた接着性レジンセメント3種類はすべてコンポジットレジンタイプのものである。フッ素を高濃度に含有するコンポジットレジンでは抗菌性を示すことが報告されている¹²⁾ことから、全菌種に対して強い抗菌性を示した BT が ID および PA と比較してフッ素の含有量が多い可能性が考えられた。そこで、練和直後、硬化体および浸漬後の試料の溶出フッ素濃度を測定した。溶出フッ素濃度は、抗菌性が低かった CX が最も高く、次いで BT、ID、PA の順であった。そのなかでも CX からのフッ素の溶出濃度がほかの3種類のレジンセメントに比較して特に高く、CX に次いで高い BT の10倍以上の濃度であった。

また、ID と PA からはほとんどフッ素の溶出はみられなかった。溶出フッ素濃度と抗菌性の結果を考え合わせると、抗菌性の発現には溶出フッ素濃度は影響していないといえる。また、同時に測定した pH もレジンセメント間で顕著な差はなく、従来の報告⁴⁾と同じく pH も抗菌性には影響していないといえる。

このように、溶出フッ素および pH と抗菌性との関連はみられず、練和直後の試料がより強い抗菌性を示したことから、フッ素以外のセメントの成分や溶出物の違いが抗菌性に影響していることが推察された。そこで、高速液体クロマトグラフィーを用いてセメントの硬化体およびプライマーの溶出パターンを検討したところ、HEMA、UDMA、MDP、MAC-10、Bis-GMA などのモノマーが同定された。HEMA はわずかな抗菌性しか示さないこと¹³⁾、Bis-GMA は抗菌性がない¹⁴⁾ことから、抗菌性の発現には接着性モノマーである MAC-10 や MDP の関与が考えられた。特に BT の抗菌性が他のレジンよりも強かったことから、BT に含まれる MAC-10 の抗菌性が強いものと推察された。しかし、本研究では同定できたモノマー単体の抗菌性に関しては検討を行っておらず、また同定できなかった成分もあり、溶出量の差もあることから断定はできない。

一方、セメントに比較してプライマーが強い抗菌性を示したのは、液体であるために培地に浸透拡散しやすかったのか、あるいはセメント練和直後や硬化直後では溶出しにくい成分や微量ながらも強い抗菌性を示す物質が存在することなどが考えられる。

今回の実験では、硬化直後に比較して浸漬後の試料に抗菌性の低下がみられたことから、実験に用いた接着性レジンセメントの長期間にわたる抗菌性は期待できないものと思われる。しかし、接着性レジンセメントは従来のセメントに比べて歯質との接着性がよく^{15,16)}、口腔内における崩壊率も低いことから^{17,18)}、臨床的には持続的な抗菌性がなくとも、窩洞や歯質表面に残存している細菌の増殖を抑制するだけの抗菌性があれば効果的ではないかと思われる。また、菌種によっては抗菌性を示さない接着性レジンセメントもあったが、接着前に歯質の清掃、消毒を十分にを行い、無菌的に処置を行えば、やはり従来のセメントよりも接着性がよいことから、微小漏洩によって生じる細菌侵入による二次カリエスや歯髄への為害性についてはほとんど問題にならないと思われる。

V. 結 論

今回われわれは、3種の新規接着性レジンセメントおよびそれに付属するプライマーの口腔内細菌に対する抗菌性を検討したところ、ID は *S. mutans* のみに、BT は全菌種に対して、PA は *S. sanguis*, *S. mutans* および *S.*

mitis に対して抗菌性を示した。また、プライマーは *B. gingivalis* 以外の菌種に対して抗菌性を示した

一方、セメントの pH およびセメントからの溶出フッ素濃度と抗菌性とは関連がなかった。セメント硬化体およびプライマーの高速液体クロマトグラフィーによる溶出パターンを検討から、数種のモノマーが同定された。

これらのことから、抗菌性の発現にはセメントの構成成分が関与していることが推察された。

本論文の一部は第 12 回日本接着歯学会学術大会 (平成 6 年 6 月 11 日, 神戸市) において発表した。

文 献

- 1) Brannstrom M, Nyborg H. Bacterial growth and pulpal changes under inlays cemented with zinc phosphate and Epoxylite CBA 9080. J Prosthet Dent 31 : 556-565, 1974.
- 2) Mjor IA. Histologic demonstration of bacteria subjacent to dental restoration. Scand J Dent Res 85 : 169-174, 1977.
- 3) Browne RM, Tibias RS. Microbial microleakage and pulpal inflammation : A review. Endod Dent Traumatol 2 : 177-183, 1986.
- 4) Tamura M, Kanagawa N, Fujimura S et al. Antibacterial actions of cements. 松本歯学 5 : 200-207, 1979.
- 5) 山本宏治, 山内六男, 松本 敦ほか. 口腔細菌に対する合着用セメントの抗菌性. 日歯保存誌 30 : 1551-1555, 1987.
- 6) 山本宏治, 山内六男, 松本 敦ほか. 口腔細菌に対する仮封用セメントの抗菌性. 日歯保存誌 31 : 1114-1117, 1988.
- 7) 甲斐敬幸, 山本宏治, 山内六男ほか. HY 剤配合セメントの抗菌性について. 日歯保存誌 31 : 1402-1405, 1988.
- 8) 甲斐敬幸, 山本宏治, 山内六男ほか. HY 剤配合セメントの抗菌性—Black-pigmented Bacteroides—について. 日歯保存誌 32 : 1-5, 1989.
- 9) クインテッセンス出版編. 接着性レジンセメントとその臨床応用 初版 5-196, 東京 : クインテッセンス出版, 1986.
- 10) 山内六男, 山本宏治, 甲斐敬幸. 接着性レジンセメントの口腔内細菌に対する抗菌性について. 接着歯学 9 : 266-270, 1991.
- 11) 今里 聡, 小林恭子, 樽味 寿ほか. 数種の接着システムの硬化後の抗菌性. 接着歯学 13 : 125-133, 1995.
- 12) 佐藤尚毅, 村上淳子, 香西淑子ほか. 歯冠修復材の抗菌性について. 日歯保存誌 25 : 442-452, 1982.
- 13) 尾上成樹, 中嶋正俊, 富士谷盛興ほか. サリチル酸誘導体含有溶液の抗菌性について. 日歯保存誌 36 : 13-24, 1993.
- 14) 河合啓次. 複合レジン構成成分が *Streptococcus mutans* の不溶性グルカン合成および増殖に及ぼす影響. 日歯保存誌 31 : 332-351, 1988.
- 15) 三島信好, 藤田元英, 近藤康弘ほか. クラウンに用いられる各種装着材の辺縁漏洩について. 補綴誌 31 : 88-100, 1987.
- 16) 赤瀬公計, 矢谷博文, 近藤康弘ほか. 装着材の違いが全部被覆冠の適合精度ならびに維持力に及ぼす影響—従来型歯科用セメントと接着性レジンの比較—. 補綴誌 33 : 8-16, 1989.
- 17) 熱田 充, 田中卓男, 日景 盛ほか. 接着性レジンセメントのクラウン合着の被膜度と接着性および溶解性について. 補綴誌 28 : 767-774, 1984.
- 18) 吉田圭一, 舟木和紀, 棚川美佳ほか. 市販接着性レジンセメントの機械的性質と歯質および貴金属合金との接着強さに関する研究. 歯材器 13 : 529-536, 1994.

著者連絡先 : 苦瓜 明彦

〒501-0296 岐阜県本巣郡穂積町穂積 1851
TEL・FAX 058-329-1109