HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	自動pHサイクル装置を用いた乳歯に対するシーラントの脱灰抑制効果の評価
Author(s)	牛村, 秀耶
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11698号
Issue Date	2015-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11698
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58838
Type	doctoral thesis
File Information	Syuya_Ushimura.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

博 士 論 文

自動 pH サイクル装置を用いた乳歯に対するシーラントの脱灰抑制効果の評価

平成２７年３月申請

北海道大学

大学院歯学研究科口腔医学専攻

牛　村　秀　耶

緒言

現在，我が国において乳歯う蝕は減少傾向にある[1)]．これは 1 日あたり 2 回以上歯磨きをする者の割合の増加や，フッ素塗布経験者の増加 (60 %) に加え，一人平均シーラント歯数が年々増加傾向にあることも影響している[2)]. しかしながら，平成 23 年に施行された「歯科口腔保健の推進に関する法律」において，3 歳児でのう蝕のない者の割合を，現状値の 77.1 % (平成 21 年) から 90 % (平成 34 年) にすることを目標とするなど，さらなる口腔内の健康増進が求められている[3)].

シーラントがう蝕予防に貢献していることはこれまでの種々の研究により明らかになっており[4,5)]，現在も研究・開発が進んでいる[6,7)]．近年，従来型レジン系シーラントに加え，グラスアイオノマーセメント系シーラントや Surface Reaction Type Pre-Reacted Glassionomer (S-PRG) フィラー含有レジン系シーラントが開発されている．グラスアイオノマーセメント系シーラントに含まれるフッ素の徐放により歯質の耐酸性を向上させる[8)]ことはよく知られているが，Methacryloyl Fluoride - Methyl Methacrylate (MMA-MF) 共重合体[9)]や, S-PRG フィラー[10)]を含有させることにより，レジン系シーラントにフッ素徐放能を付与し，歯質にフッ素を取り込ませることが可能になった[9)].

これまでのシーラントの研究は, *in vivo* では経過を観察する追跡調査研究[11,12], *in vitro* では口腔内の経時的な pH 変化を再現せずに人工的な脱灰を起こし測定する研究がほとんどであった[13,14]．松田らは Stephan のカーブ[15]で代表されるような連続的な pH 変化を再現できる自動 pH サイクル装置を開発し，経時的な脱灰と再石灰化を試料に加えることのできる実験系を確立させた[16]．これによりエナメル質を脱灰し，様々な材料のう蝕抑制効果[17]や，乳歯と永久歯の脱灰傾向の違い[18]を比較検討することが可能となった．しかし，自動 pH サイクル装置を用いた乳歯に対するシーラントの脱灰抑制効果を比較した研究は未だ行われていない．

そこで本研究では，乳歯に対して従来型レジン系シーラント，グラスアイオノマーセメント系シーラント，S-PRG フィラー含有レジン系シーラントの 3 種類のシーラントを用いて，自動 pH サイクル装置によるエナメル質の脱灰がどのように変化するのかを調べ，それぞれの材料の脱灰抑制効果について比較検討した．また，マイクロ PIGE/PIXE を使用し，シーラント周囲のエナメル質内のフッ素量を測定することにより，脱灰量とエナメル質内のフッ素量の間の相関についても検討した．

材料および方法

1)填塞材料

本研究では，従来型レジン系シーラントとしてティースメイト F-1 2.0 (TM：クラレノリタケデンタル，東京)，S-PRG フィラー含有レジン系シーラントとしてビューティシーラント (BS：松風，京都)，グラスアイオノマーセメント系シーラントとしてフジⅢLC (ⅢLC：ジーシー，東京) を使用した．また，歯面処理材は通法に従い，TM に K エッチャント GEL (クラレノリタケデンタル)，BS に付属のプライマー (松風)，ⅢLC にキャビティコンディショナー (ジーシー) を使用した．

2)試料の作製

本研究には，交換期のため抜去した，う蝕が無く修復処置のされていない健全なヒト乳臼歯 8 歯を使用した．乳歯は抜去後，直ちに水中に浸漬し，使用まで室温で保管した．なお，抜去歯の利用については書面にて研究の概要を説明し，患者およびその保護者から利用の同意を得ている．ヒトエナメル質では，最表層部のフッ素量が表層下と比較して多いため [19]，フッ素量を均一にするために前処理として 2.0 mol/L 過塩素酸に 30 秒間浸漬し，最表層部エナメル質を除去した [20]．その後，アルミナ懸濁液 (ALPHA MICROPOLISH ALMINA C,

BUEHLER，USA) を用いてロビンソンブラシで表層を研磨した．ダイヤモンドポイント (FT90,ピーディーアール，愛知) を用いて頬舌側面に幅 1 mm，長さ 5 mm，深さ 1 mm の窩洞を形成し，各材料メーカーの指示に従って歯面処理を行った後，各シーラントを窩洞に填塞し，20 秒間光照射を行い硬化させた．TM を填塞した試料を TM 群，BS を填塞した試料を BS 群，ⅢLC を填塞した試料をⅢLC 群とした．また，窩洞を形成せずにシーラントを填塞しなかったものをコントロール群とした．

試料は，シーラント填塞後，湿度 100%で 24 時間保存し，マイクロカッティングマシン (BS-300CP，盟和商事，東京) を用いて歯軸方向に対して平行に切断を行い，頬舌方向に厚さ 200 μm の切片を作製した．自動 pH サイクル装置に掛ける試料は，切断面に銅製メッシュ (GILDER GRID G100，日新 EM，東京) を設置した後に，スティッキーワックスで被覆して作製した．

3)自動 pH サイクル装置の設定

自動 pH サイクル装置の模式図を図 2 に示す．装置は，Matsuda ら [21,22)]の方法を用いて設定した．脱灰溶液 (0.2 M lactic acid，3.0 mM $CaCl_2$，1.8 mM KH_2PO_4，pH 4.5)，再石灰化溶液 (0.02 M HEPES，3.0 mM $CaCl_2$，1.8 mM KH_2PO_4，pH 7.0) を用いて，各サイクルにおける pH が 5.5 以下である時間 (脱灰時間) を平均 18

分，初期の pH に戻るまでの時間 (回復時間) を平均 52 分とした．サイクル数は 1 日 6 回 (6，9，12，15，18，21 時)，各サイクルの間隔は 120 分とし，この期間および装置を稼働させない期間は再石灰化溶液に浸漬した．サイクル期間は 5 週間とした．

4)Transverse microradiography (TMR) の観察

TMR の撮影は，実験開始前と pH サイクル開始後 1，2，3，4，5 週目に行った．各試料はアルミステップウェッジとともに，コンタクトマイクロラジオグラフィー撮影装置 (CSM-2, Softex, 神奈川) を用いて撮影した．加速電圧 14 kV，加速電流 4 mA，試料-焦点間距離 100 mm，照射時間 20 分の条件下で TMR 撮影を行った．

撮影にはガラス乾板 (High Precision Photo Plate，コニカミノルタ，東京) を用い，現像定着は専用現像液 (CDH-100，コニカミノルタ) および専用定着液 (CFL-881，コニカミノルタ) を用いて行った．

5)評価方法

TMR 画像を Matsuda ら [21,22)]の方法に準じて，光学顕微鏡 (BX50,OLYMPUS，東京) に接続した CCD カメラと汎用画像処理ソフトウェア (Win RooF，三谷商

事，福井) を用いて取り込み，デジタル化処理を行った．デジタル化した画像は Adobe Photoshop 8.0 (Adobe Systems Incorporated，USA) を使用し，試料切断面に設置した銅製メッシュを基準に重ね合わせを行った．シーラントからの距離が 50〜100 µm のエナメル質部分の黒化度を汎用画像解析ソフトウェア (ImageJ, National Institutes of Health，USA) により測定した．得られた黒化度は，アルミニウムステップウェッジの黒化度を基準として補正し，Angmar らの式[23]に基づいて解析を行い，ミネラルプロファイルを算出し，ΔIntegrated Mineral Loss (ΔIML) と ΔLesion depth (ΔLd) を求めた（図 4）．

6)エナメル質内のフッ素量の測定

試料に填塞したシーラントから 50 µm 離れたエナメル質の表層から深部のフッ素量を，マイクロ PIGE/PIXE 装置を用い測定した．試料は pH サイクル前 (1 日) と後 (5 週) の 2 種類を使用し，各シーラントごとに 3 切片ずつ使用した．測定部位は，シーラント周囲のエナメル質 500 µm × 270 µm の範囲とした．装置の設定条件は Komatsu ら[24,25]の方法に準じた．直径約 1 µm, 電流約 100 pA の 1.7 MeV 陽子ビームを試料に照射し，発生した原子核反応 ($^{19}F(p,\alpha\gamma)^{16}O$) から得られたγ線を試料の後方 5 mm に設置された NaI 検出器により測定することにより，フッ素量を求めた．エナメル質表層から 200 µm までのフッ素量を基に，横

軸がエナメル質表層からの距離，縦軸がフッ素量のグラフを作成し，グラフの面積を総フッ素量とした．また，最も高かった値をピークフッ素量とした．

7)走査型電子顕微鏡 ：Scanning Electron Microscope (SEM)

SEM の観察は，pH サイクル後，各シーラントとの境界部のエナメル質に対して行った．各試料は自然乾燥した後，イオンスパッタ装置 (E-1030，日立，東京) で Pt-Pd 蒸着を 150 秒間行い，加速電圧 10 kV で走査型電子顕微鏡 (S-4000，日立) 観察を行った．

8)統計処理

すべての統計処理は，統計用ソフト SPSS ver.21 （IBM，USA） を使用し，one-way ANOVA ならびに Tukey 法を用い，$p<0.05$ の有意差で行った．

9)倫理的配慮

本研究は北海道大学大学院歯学研究科臨床・疫学研究倫理審査委員会の承認 (承認番号：2013 第 1 号) を得て実施した．

結果

1) ΔIML の変化

ΔIML は，すべてのシーラント群においてコントロール群より低い値を示した．シーラント群ではⅢLC 群，BS 群，TM 群の順に低い値を示した．ⅢLC 群は 2 週目以降，すべての群と比較して有意に低い値を示した．また，BS 群はすべての週でコントロール群と比較して有意に低い値を示した. TM 群はコントロール群との有意差は認められなかった (図 5).

2) ΔLd の変化

ΔLd は ΔIML と同様，すべてのシーラント群においてコントロール群より低い値を示した．ⅢLC 群はすべての週でコントロール群と比較して有意に低い値を示した．BS 群は 4 週と 5 週でコントロール群と比較して有意に低い値を示した．TM 群はコントロール群と有意差は認められなかった (図 6).

3)エナメル質内のフッ素分布

エナメル質内のフッ素分布をマイクロ PIGE/PIXE で測定した．シーラント群はコントロール群と比較して多くの量のフッ素の取り込みを認めた (図 7)．TM 群と BS 群がエナメル質の最表層のみにフッ素が取り込まれていたのに対し (図

7A,B)，ⅢLC 群では深部までフッ素が取り込まれていた (図 7C).

マイクロ PIGE/PIXE で測定した pH サイクル前の試料 (1 日) と pH サイクル後の試料 (5 週) の，総フッ素量 (図 8)，ピークフッ素量 (図 9) を示す．シーラント群はコントロール群と比較し，すべての測定結果において高いフッ素量を示した．シーラント群では，ⅢLC 群が他の材料と比較してすべての測定結果で最も高い値を示し，次いで TM 群，BS 群の順であった．ⅢLC 群は総フッ素量が，1 日でコントロール群ならびに BS 群と比較して有意に高く，5 週では有意差が認められなかった. ピークフッ素量は 1 日で有意差が認められなかったが，5 週でコントロール群ならびに BS 群と比較して有意に高かった．1 日と 5 週の比較では， 総フッ素量は，ⅢLC 群は 1 日よりも 5 週で有意に高い値を示した．TM 群では有意差は認められなかったが 1 日より 5 週で高い値を示した．コントロール群と BS 群は 1 日と 5 週で有意な変化が認められなかった．ピークフッ素量は TM 群とⅢLC 群において 1 日より 5 週で高い値を示したが，すべての群において有意差は認められなかった.

4)エナメル質表面の SEM 像

pH サイクル後の試料におけるシーラント周囲のエナメル質の SEM 観察を行った．各シーラント群では，コントロール群と比較してエナメル質の脱灰が少

なかった．また，ⅢLC 群は脱灰が最も少なく、次いで BS 群，TM 群の順に脱灰される傾向が見られた (図 10).

考察

乳歯や幼若永久歯に行われるシーラントは，小窩裂溝を塞ぎ，口腔内細菌やプラークなどのう蝕の原因物質の侵入を防ぐことにより，エナメル質の脱灰を防止する．近年，フッ素を徐放するシーラントが開発され，シーラントから徐放されるフッ素がエナメル質を強化し，脱灰抑制効果を発揮すると考えられている [26)]．本研究では，口腔内に類似した pH の経時的な変化を再現した自動 pH サイクル装置による 1 日 6 回の脱灰・再石灰化処理を，シーラントを填塞した乳歯に 5 週間行った．自動 pH サイクル装置による脱灰・再石灰化処理により，エナメル質が脱灰される．その TMR 撮影像からミネラルプロファイルを算出しΔIML とΔLd を求め，各種シーラントの脱灰抑制効果を比較した．

従来から，初期う蝕に対する pH サイクルを用いた研究は行われていたが，脱灰溶液や再石灰化溶液に一定期間浸漬させるのみであり，口腔内で見られるような pH の経時的な変化は再現されていなかった [27,28)]．本研究で使用した自動 pH サイクル装置は脱灰溶液と再石灰化溶液を交互に還流させるため，pH の経

時的な変化を引き起こし，口腔内に近い環境を作り出すことができる．自動 pH サイクル装置により，エナメル質はミネラル喪失量を示すΔIML と脱灰深さを示すΔLd が週を経るごとに増大する傾向にあり [18]，本研究においても同様の傾向が認められた．また，ΔIML，ΔLd ともにⅢLC 群，BS 群，TM 群の順に高くなり，ⅢLC 群で最も脱灰抑制が認められた．この順番は Wang らの，フッ素徐放量はⅢLC，BS，TM の順に多かったという報告 [29]と一致する．このことから，シーラント周囲のエナメル質の脱灰はシーラントから徐放されるフッ素の量に影響を受けることが示唆された．

エナメル質内のフッ素量に関するマイクロ PIGE/PIXE の結果では，1 日と 5 週で最も高い総フッ素量を示したのはⅢLC 群であった．他の群が 1 日と 5 週の間に有意差が認められないのに対し，ⅢLC は唯一 5 週が 1 日に対し有意に高い値を示した．これはⅢLC の徐放するフッ素量が最も多く，エナメル質がその多くのフッ素を取り込んだためと考えられる．1 日と 5 週のグループ内で見てみると，ⅢLC は 1 日ではコントロール群と BS 群に対して有意差が認められたのに対して 5 週では有意差が認められなくなった．このことはⅢLC 群の 5 週の標準偏差が大きいことに起因すると考えられる．BS と TM がリキッドタイプのシーラントであるのに対して，ⅢLC は粉液タイプであり練和が必要である．そのため粉液比は一定で練和しているが，同一材料間においてもばらつきが生じ，エ

ナメル質へのフッ素の取り込みに影響を与えたと考えられる．それに対してピークフッ素量では，5 週でコントロール群と BS 群に対し有意差を認めたが，1 日では有意差が認められなかった. これはⅢLC 群の 5 週のピークフッ素量が pH サイクルによって増加したのに対して，コントロール群と BS 群ではわずかに低下したことが影響していると考えられる．試料作製時にフッ素を多量に含む最表層エナメル質を過塩素酸で除去しているが，最表層下にわずかに残存していたフッ素を多く含む層が，脱灰が進むにつれて失われた結果，値が低下した可能性が示唆される．

ⅢLC 群に次いで 5 週でフッ素の取り込みが多かったのは TM 群で，BS 群より高い値を示した．この順番は Wang らのフッ素徐放量の報告 [29]と異なる．これは，歯面処理材の違いによる影響と考えられる．シーラントを填塞する際は基本的に歯面処理を行うが，その方法は材料により異なる．本研究では，TM は K エッチャント GEL (40 ％リン酸) で 40 秒, BS は付属のプライマー (カルボン酸系モノマー，ホスホン酸モノマー含有) で 5 秒，メーカーの指示通りに歯面処理を行った．リン酸による歯面処理はシーラントとエナメル質を強固に接着させるが，エナメル質表層を溶解させ，高粘度のシーラントを用いた場合や低粘度でも填塞時間が短い場合にはシーラント周囲のエナメル質にシーラントが浸透しない脱灰層が残存することが指摘されている [30]．本研究においては TM 群

がリン酸処理を行っており，TM 群で認められるシーラント周囲エナメル質の脱灰は歯面処理の影響の可能性が考えられる．BS 付属のプライマーはセルフエッチングプライマーであり，歯面への影響という点ではリン酸よりマイルドであった．これらの異なる歯面処理方法が前述したエナメル質へのフッ素取り込み量の逆転現象に影響を及ぼしていた可能性が考えられる．TM から溶出するフッ素の量は BS と比較して少ない[29]にも関わらず，TM におけるエナメル質へのフッ素取り込み量が BS よりも多くなった理由として，リン酸エッチングによりエナメル質が強く脱灰され，脱灰部にフッ素が浸透したことが考えられる．

また、エナメル質に取り込まれたフッ素量の順番はΔIML，ΔLd の結果とも異なる．これは，シーラント周囲エナメル質の脱灰は材料からのフッ素徐放量だけではなく，他の要因にも影響を受けていることを示唆している．今回使用したシーラントの主な組成は，TM は TEGDMA，HEMA，MDP，MMA-MF 共重合体 (フッ素徐放性ポリマー)，BS は UDMA，TEGDMA， S-PRG フィラー，ⅢLC はフルオロアルミノシリケートガラス，メタクリル酸エステル，ポリアクリル酸であった．Wang ら[29]は，各材料から徐放されるイオンについて，TM はフッ素が 2.4 ppm で，他のイオンは僅かであり，BS はフッ素が 5.6 ppm，ストロンチウムが 6.4 ppm，ナトリウムが 9.2 ppm，ホウ素が 4.6 ppm であり，ⅢLC はフッ素が 15.7 ppm と最も高い値を示し，ナトリウムも非常に高い値を示したが，

ストロンチウムとホウ素はBSよりも少なかったことを報告している．

これらイオンの中で，ストロンチウムはハイドロキシアパタイトに含まれるカルシウムと置換し[31]，ハイドロキシアパタイトの脱灰抑制効果を向上させる効果がある[32]．TM群とBS群におけるΔIML，ΔLdの逆転現象は，シーラント群の中ではBS群が多く徐放するストロンチウムがエナメル質に取り込まれることにより生じた可能性がある．さらに，BSはS-PRGフィラーから徐放されるストロンチウム，ナトリウム，ホウ素により酸性に傾いたpHを中性に近づける酸緩衝能を有することが明らかになっており[29]，このことも同現象に関わっていることが予想される．ⅢLCはBS同様に酸緩衝能を有しており[29]，ⅢLC群は他のシーラント群と比較してエナメル質のフッ素の取り込み量が多かったことに加え，酸緩衝能を有することから，本研究において最も脱灰抑制効果が認められることが示唆された．

これらの影響については本研究の結果からは明らかにすることはできず，さらなる研究が必要である．

本研究は，シーラントの周囲エナメル質に対する脱灰抑制効果について明らかにした．しかし，シーラントの予後は，口腔内環境[33]や歯質との接着性[34]，歯面処理の方法[35]，フッ素の徐放量[36]など様々な要因に影響を受ける．そのため，実際の臨床においては，歯の萌出状態や口腔内環境等，種々の要因を考慮

しシーラントを選択する必要がある.

結論

本研究は，シーラントを乳歯に填塞し作製した試料を，自動 pH サイクル装置を用いて脱灰させ，ΔIML および ΔLd を算出した．また，マイクロ PIGE/PIXE を用いてエナメル質内のフッ素量を測定することにより，以下の結論を得た.

1. シーラントを填塞した乳歯の ΔIML，ΔLd がコントロールと比較して低かったことから，シーラントには乳歯の脱灰抑制効果があることが認められた．また，研究に使用したシーラントの中ではⅢLC の脱灰抑制効果が最も高いことが示された.
2. BS は TM と比較してエナメル質に取り込まれたフッ素が少なかったが，TM よりも脱灰抑制効果を示したことから，フッ素以外の要因が脱灰抑制に関与していることが示唆された.

謝辞

本稿を終えるに当たり，本研究に御理解と御支援を頂きました本学口腔機能

学講座小児・障害者歯科学教室，ならびに口腔健康科学講座歯科保存学教室の皆様に厚く御礼申し上げます.

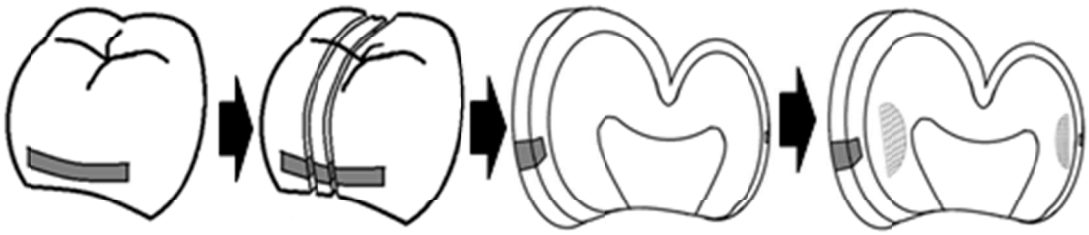


図1　切片の作製

頬舌側に便宜的に窩洞を形成し，シーラントを填塞した．その後，頬舌方向に幅 200μm の厚さで切断し，切断面に銅製メッシュを設置後，スティッキーワックスで被覆した．

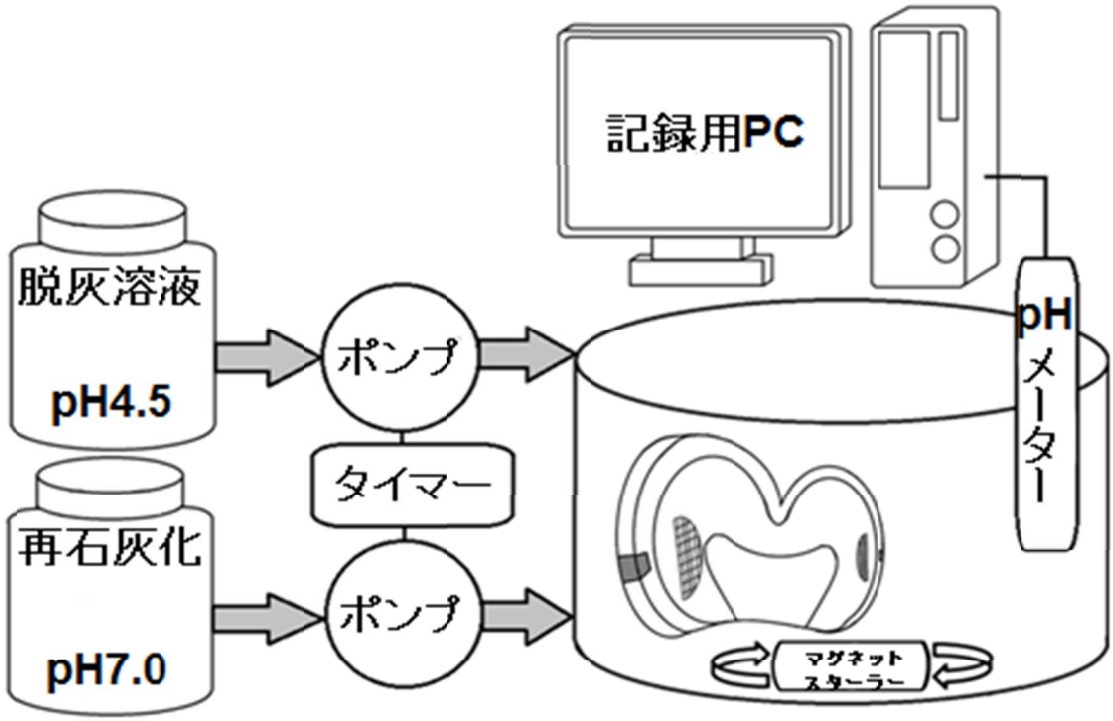


図2　自動pHサイクル装置

脱灰溶液および再石灰化溶液はタイマーで制御されたポンプによりビーカーに注入した．溶液濃度が均一になるように，ビーカー内の溶液は常時マグネットスターラーで撹拌した．溶液の pH は pH メーターによって 1 分ごとに PC に記録した．

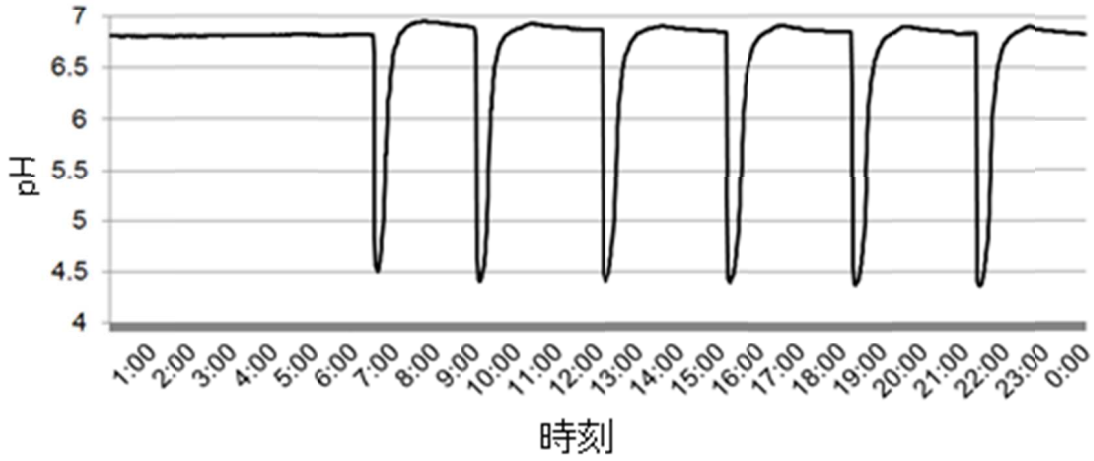


図3　1日のpH変化

今回の実験では 1 日に 6 回 (6，9，12，15，18，21 時) pH サイクルを行った．各 pH サイクル間は 120 分で，この期間および装置を稼働させていない時間はビーカー内を再石灰化溶液で満たした．

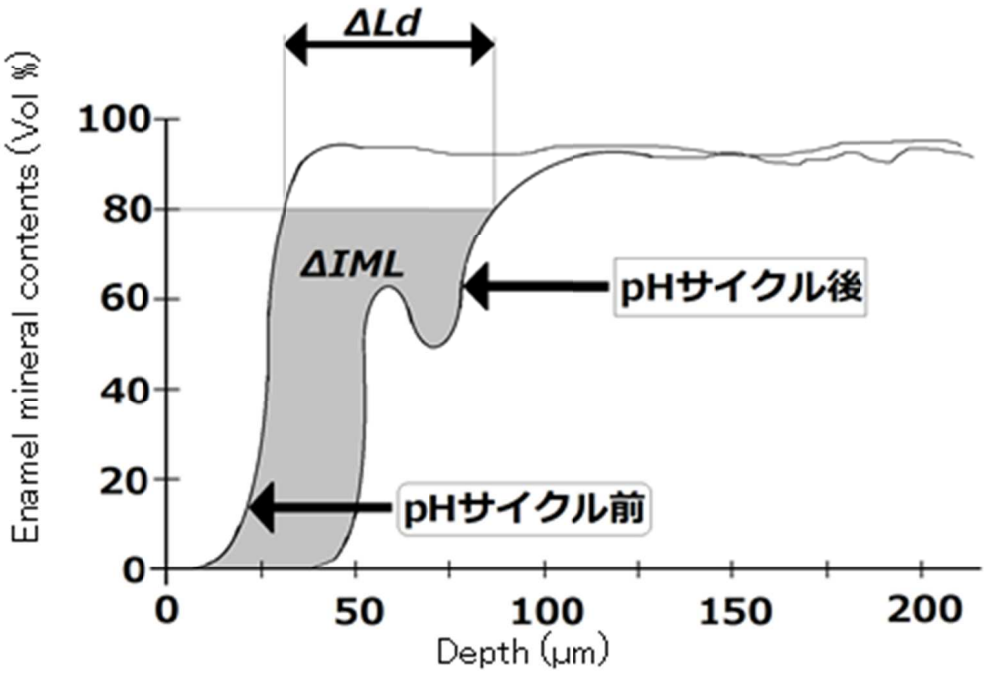


図4　ΔIML，ΔLdの算出方法

実験開始前のミネラルプロファイルと pH サイクル後のミネラルプロファイルを重ね合わせ，その差として表れる面積であるミネラル喪失量をΔIML (Vol%)，脱灰深度をΔLd (μm) として算出した.

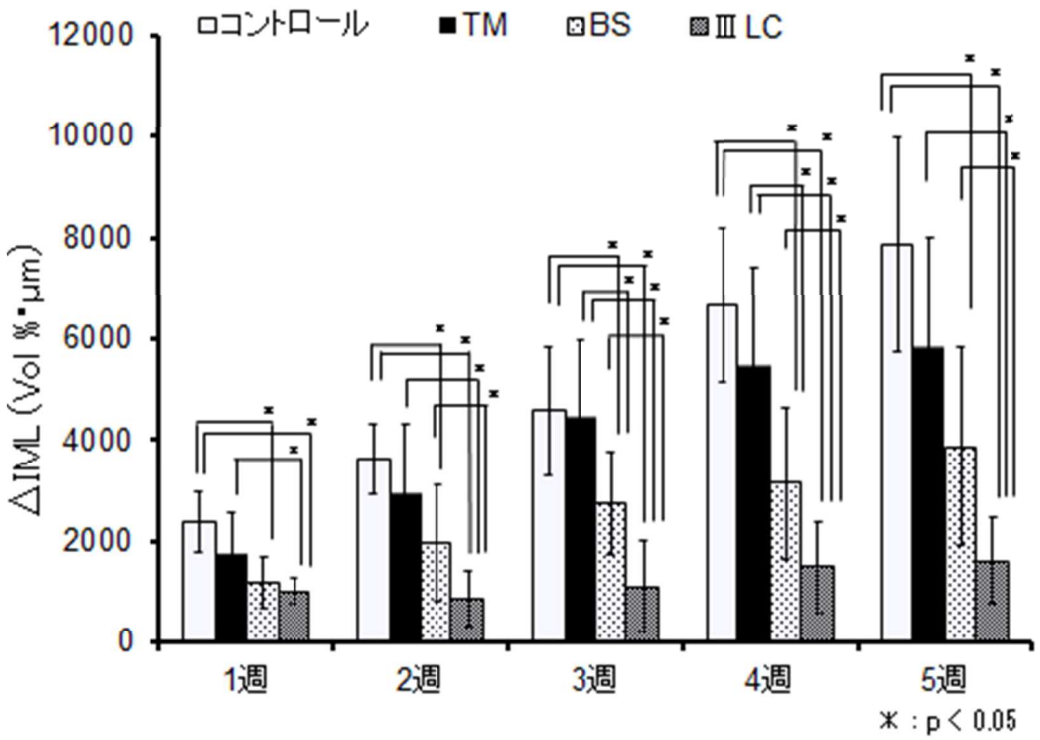


図5　△Integrated Mineral Loss (△IML)

線で結ばれているものは有意差があるものを示す (p<0.05). 縦線 (Ⅰ) は SD を示す. シーラント群はコントロール群と比較して値は低く，ⅢLC 群，BS 群，TM 群の順に値は増加していった. ⅢLC 群は 2 週目以降すべての群と比較して有意に低い値を示した. また，BS 群はすべての週でコントロール群と比較して有意に低い値を示した.

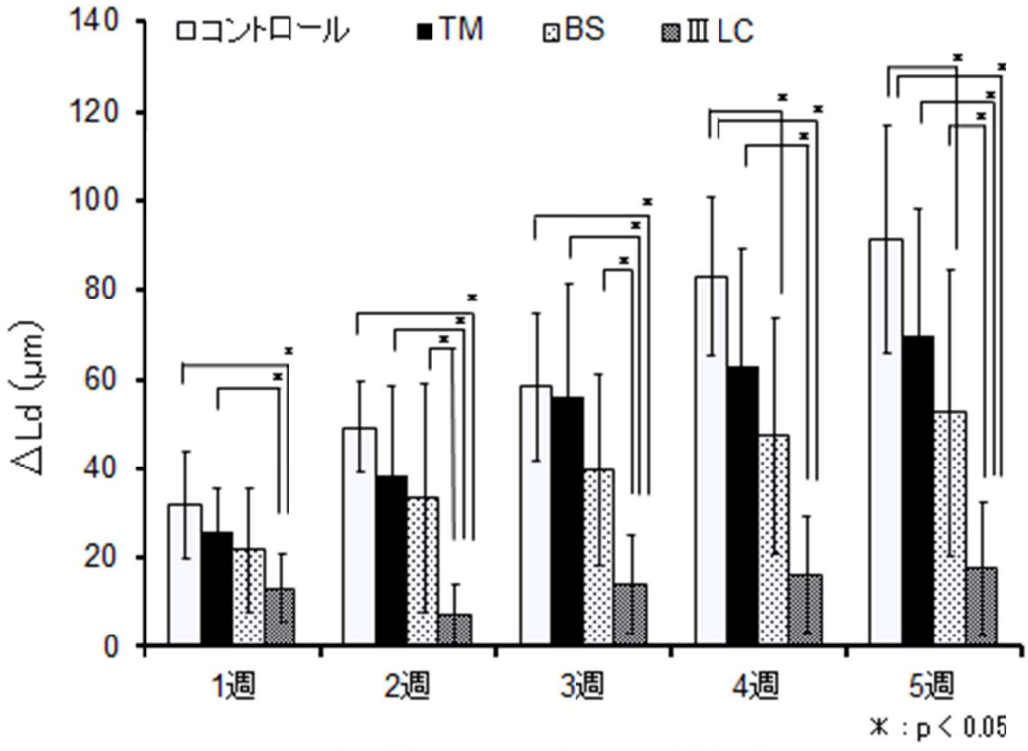


図6 ΔLesion depth (ΔLd)

線で結ばれているものは有意差があるものを示す (p<0.05)．縦線 (Ⅰ) は SD を示す．シーラント群はコントロール群と比較して値は低く，ⅢLC 群，BS 群，TM 群の順に値は増加していった．ⅢLC 群はすべての週でコントロール群と比較して有意に低い値を示した．BS 群は 4 週と 5 週でコントロール群と比較して有意に低い値を示した．

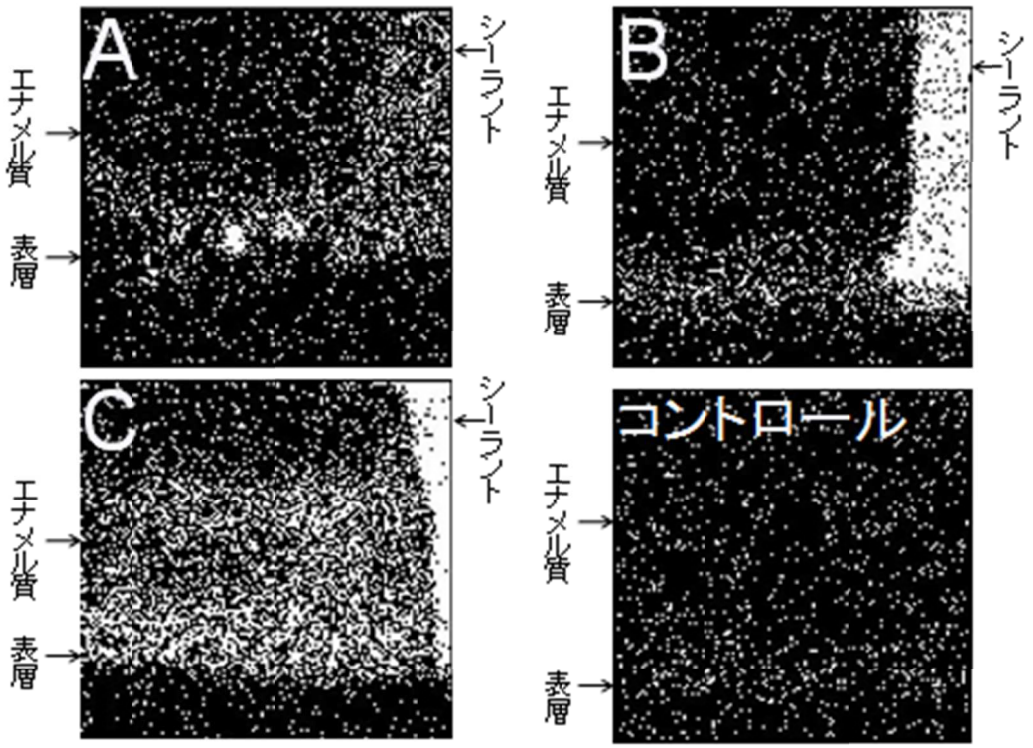


図7　エナメル質内のフッ素分布

A : TM，B : BS，C : ⅢLC．矢印はエナメル表層，エナメル質，シーラントの部位を示す．コントロールと比較し，いずれの材料もエナメル質にフッ素の取り込みを認めた．

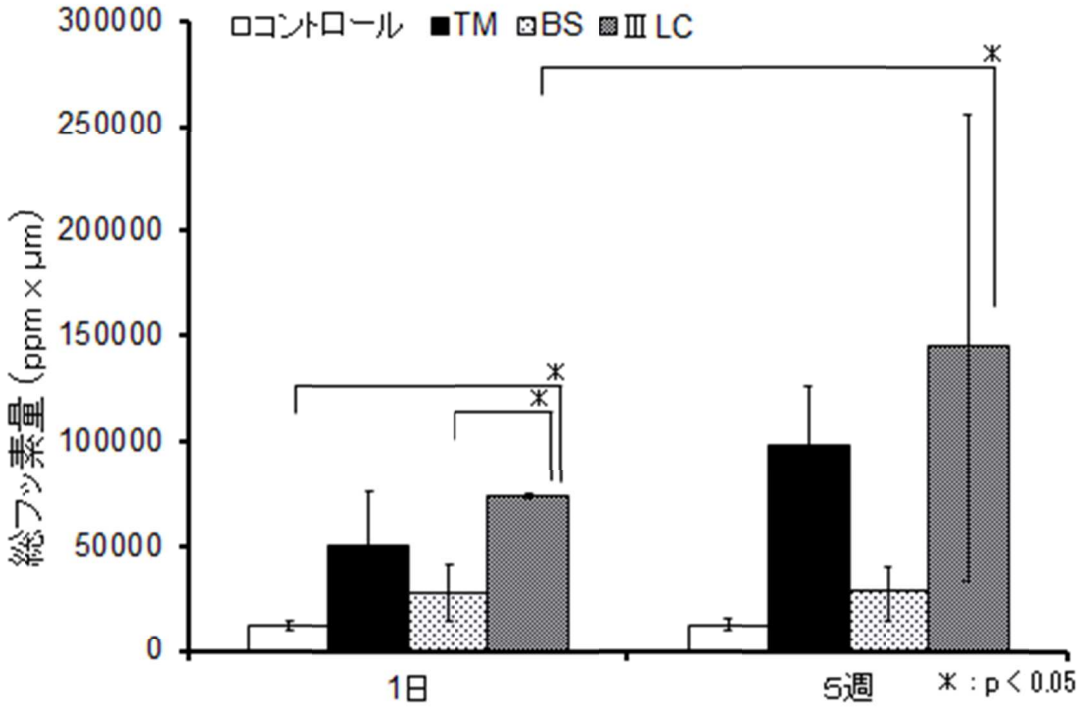


図8　エナメル質内の総フッ素量

線で結ばれているものは有意差があるものを示す (p<0.05). 縦線 (I) は SD を示す. pH サイクル後の試料 (5 週) は pH サイクル前の試料 (1 日) に比べ, ⅢLC 群, TM 群でエナメル質内のフッ素量の増加を認めた. ⅢLC 群は 1 日においてコントロール群と BS 群に対し有意に高い値を示した. BS 群, コントロール群ではほとんど増加を認めなかった.

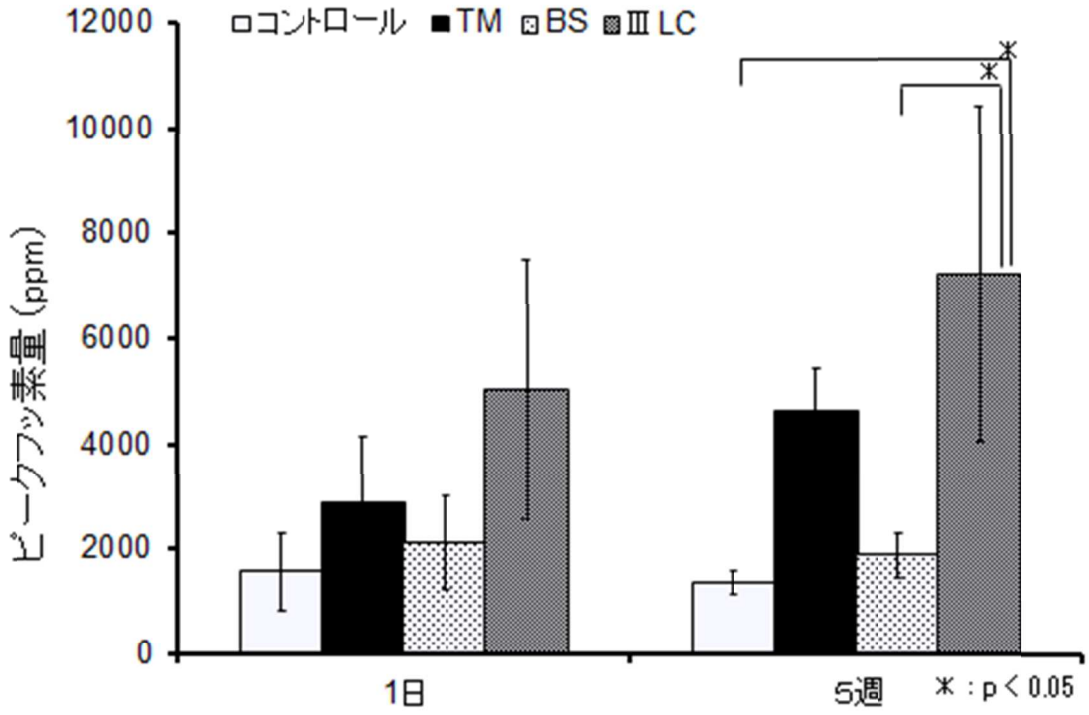


図9　エナメル質内のピークフッ素量

線で結ばれているものは有意差があるものを示す (p<0.05). 縦線 (Ⅰ) は SD を示す. エナメル質内の総フッ素量と同様の傾向を示した.

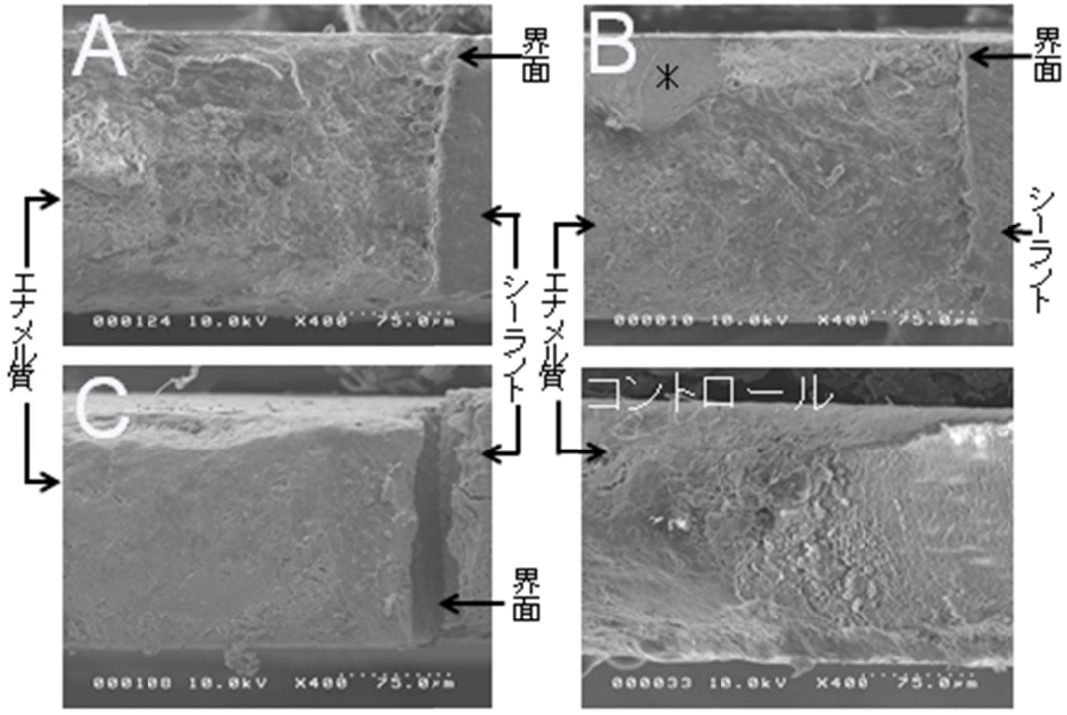


図10　材料周囲のSEM像

A : TM，B : BS，C : ⅢLC．画像の右端がシーラントで，界面から左側がエナメル質．コントロールは実質欠損を含めた強い脱灰を示した．TM 群は界面からエナメル質に脱灰を認めた。BS 群も同様の傾向を示したが，脱灰程度が低い部分 (＊) が一部に認められた．ⅢLC 群の脱灰は少なかった．

参考文献

1) Ministry of Health, Labour and Welfare. http://www.mhlw.go.jp/topics/kenko21_11/b6.html

2) 一般社団法人 日本口腔衛生学会 : 平成 23 年度歯科疾患実態調査報告, 86-143, 一般財団法人 口腔保健協会, 東京, 2013.

3) Ministry of Health, Labour and Welfare. http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/kenkou/shikakoukuuhoken/dl/07.pdf

4) 中島由美子, 伊平弥生, 八十島華子, 大森郁朗 : フッ素徐放性シーラント (Teethmate-F1®) の臨床成績. 小児歯誌, 39 : 103-109, 2001.

5) 伊平弥生, 八十島華子, 川原由季, 大森郁朗 : フルオロシーラントとクリアシール F の臨床成績. 小児歯誌, 39 : 877-883, 2001.

6) Cueto EI, Buonocore MG: Sealing of pits and fissures with an adhesive resin: its use in caries prevention. J Am Dent Assoc 75 : 121-128, 1967.

7) Komatsu H, Shimokobe H, Kawakami S, Yoshimura M: Caries-preventive effect of glass ionomer sealant reapplication: study presents three-year results. J Am Dent Assoc 125 : 543-549, 1994.

8) 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.

9) 山田朋美，讃井茂行，北谷真，木ノ本喜史，竹重文雄，鳥居光男，土谷裕彦 ：フッ素徐放性レジンセメントに関する研究 –とくに機械的強度，歯質への接着強さおよびフッ素の取り込みについて– ． 日歯保存誌，36 : 75-81，1993.

10) Kaga M，Masuta J，Hoshino M，Genchou M，Minamikawa H，Hashimoto M，Yawaka Y: Mechanical properties and ions release of S-PRG filler-containing pit and fissure sealant．Nano Biomed 3 : 191-199，2011.

11) 大西暢子，竹村衿子，荒井久仁子，小熊綾，川上康子，西巻弘子，千葉秀樹，真柳秀昭, 神山紀久男 : Fissure sealant の第二乳臼歯への適用に関する研究. 小児歯誌，24 : 67-80，1986.

12) 加納能理子，真柳秀昭，斉藤徹，神山紀久男 ： 光重合型小窩裂溝填塞材の臨床成績．小児歯誌，30 : 624-633，1992.

13) 長谷川晴彦，飯塚純子，椎谷亨，富山潔，倉持江里香，寺中敏夫，向井義晴 ：人工エナメル質裂溝に塡塞した S-PRG フィラー含有シーラント材の脱灰抑制効果．日歯保存誌，56 : 370-376，2013.

14) 島津貴咲 : S-PRG フィラー含有シーラントの齲蝕予防効果の検討. 小児歯誌, 51 : 347-352，2013.

15) Stephan RM: Changes in hydrogen-ion concentration on tooth surfaces and in carious lesions．J Am Dent Assoc 27 : 718-723，1940.

16) 松田康裕，小松久憲，村田幸枝，田中享，佐野英彦 ： 自動 pH サイクル装置を用いた人工裂溝う蝕においてその幅が及ぼす影響．日歯保存誌，48 : 828-834，2005.

17) 木地村太基，小松久憲，松田康裕，奥山克史，衣川道彦，佐野英彦 ： フッ素徐放性レジンの齲蝕抑制効果の pH サイクルによる評価．日歯保存誌，52 ：39-50，2009.

18) 須貝誠，松田康裕，永山正人，加我正行，八若保孝 ： 自動 pH サイクル装置を用いた乳歯および永久歯エナメル質脱灰の比較. 小児歯誌, 48 : 48-55, 2010.

19) 広瀬弥奈，浜岡英志，松本大輔，丹下貴司，西貴宏，時安喜彦，河野英司，五十嵐清治，中垣晴男 ：5 歳児および 6 歳児における抜去下顎乳中切歯のエナメル質表層フッ素濃度．小児歯誌，34 : 91-98，1996.

20) Putt MS，Kleber CJ，Muhler JC: Studies of prophylaxis pastes containing sodium-potassium aluminum silicate and fluoride．J Dent Res 58 : 1659-1663, 1979.

21) Matsuda Y, Komatsu H, Murata Y, Tanaka T, Sano H: A newly designed automatic pH-cycling system to simulate daily pH fluctuations．Dent Mater J 25 : 280-285, 2006.

22) Matsuda Y，Murata Y，Tanaka T，Komatsu H，Sano H: Development of new

software as a convenient analysis method for dental microradiography. Dent Mater J 26 : 414-421, 2007.

23) Angmar B, Carlström D, Glas JE: Studies on the ultrastructure of dental enamel Ⅳ. the mineralization of normal human enamel. J Ultrastruct Res 8 : 12-23, 1963.

24) Komatsu H, Yamamoto H, Nomachi M, Yasuda K, Matsuda Y, Kinugawa M, Kijimura T, sano H, Satou T, Oikawa S, Kamiya T: Fluorine uptake into human enamel around fluoride-containing dental materials during cariogenic pH cycling. Nucl Instrum Methods Phys Res B 267 : 2136-2139, 2009.

25) Komatsu H, Yamamoto H, Matsuda Y, Kijimura T, Kinugawa M, Okuyama K, Nomachi M, Yasuda K, Satoh T, Oikawa S: Fluorine analysis of human enamel around fluoride-containing materials under different pH-cycling by μ-PIGE/PIXE system. Nucl Instrum Methods Phys Res B 269 : 2274-2277, 2011.

26) Saloranta AA, Hiiri A, Nordblad A, Worthington H, Mäkelä M: Pit and fissure sealants for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev CD001830, 2008. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD001830.pub3/pdf

27) Lobo MM, Pecharki GD, Tengan C. Silva DD, Tagliaferro EPS, Napimoga MH: Fluoride-releasing capacity and cariostatic effect provided by sealants. J Oral Sci

47 : 35-41，2005.

28) 三冨純一 ： エナメル質表層脱灰の光干渉断層画像解析への$1/e^2$幅の応用．日歯保存誌，56 : 488-497，2013.

29) Wang Y, Kaga M, Kajiwara D, Minamikawa H, Kakuda S, Hashimoto M, Yawaka Y: Ion release and buffering capacity of S-PRG filler–containing pit and fissure sealant in lactic acid. Nano Biomed 3 : 275-281，2011.

30) 入野田芳子 ： シーラントの小窩裂溝部エナメル質への浸透性に関する研究．愛院大歯誌，30 : 1-23，1992.

31) 倉田茂昭，藤原努，根岸秀幸，山崎升，藤瀬精一 ： ストロンチウムおよびバリウムハイドロキシアパタイトの溶解度積．Jpn J Oral Biol， 25 : 139-144, 1984.

32) Dedhiya MG，Young F，Higuchi WI: Mechanism for the retardation of the acid dissolution rate of hydroxyapatite by strontium. J Dent Res 52 : 1097-1109, 1972.

33) 大須賀直人，竹内瑞穂，鬼澤良子，勝木完司，岩崎造，宮沢裕夫，伊藤充雄 ： 各種填塞・修復材のpHおよびフッ素徐放性の経時的変化．小児歯誌， 41 : 24-30，2003.

34) Dhar V, Chen H: Evaluation of resin based and glass ionomer based sealants placed with or without tooth preparation-a two year clinical trial. Pediatr Dent 34 : 46-50, 2012.

35) Nogourani MK, Janghorbani M, Khadem P, Jadidi Z, Jalali S: A 12-month clinical evaluation of pit-and-fissure sealants placed with and without etch-and-rinse and self-etch adhesive systems in newly-erupted teeth. J Appl Oral Sci 20 : 352-356, 2012.

36) Liu BY, Lo ECM, Chu CH, Lin HC: Randomized trial on fluorides and sealants for fissure caries prevention. J Dent Res 91 : 753-758, 2012.