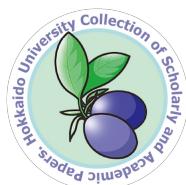




|                  |                                                                                   |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Title            | 自動pHサイクル装置を用いた歯冠修復材料の脱灰抑制の影響                                                      |
| Author(s)        | 遠藤, 一樹; 中村, 光一; 八若, 保孝                                                            |
| Citation         | 北海道歯学雑誌, 39(2), 87-93                                                             |
| Issue Date       | 2019-03                                                                           |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/73621">https://hdl.handle.net/2115/73621</a> |
| Type             | journal article                                                                   |
| File Information | 39_02_01 Endo.pdf                                                                 |



## 原 著

## 自動 pH サイクル装置を用いた歯冠修復材料の脱灰抑制の影響

遠藤 一樹 中村 光一 八若 保孝

**抄 録：**フッ素はエナメル質を強化し、う蝕予防に役立つことが知られている。またフッ素徐放性を有する歯冠修復材料は、二次う蝕予防に効果的だと言われている。本研究は自動pHサイクル装置を使用して、歯冠修復材料ならびにフッ化物処理がエナメル質に与える影響を明らかにし、脱灰溶液中に溶出する元素との相関について検討することを目的とした。

歯冠修復材料にはZ100 (3M ESPE, USA)、ビューティフィルII (BF : 松風, 京都)、フジIXGPエクストラカプセル (フジIX : ジーシー, 東京) を使用した。ヒト大臼歯に各材料を充填したのちに切断し、薄型切片試料を作製した。その後、自動pHサイクル装置を使用し、試料を脱灰した。フッ化物処理は18.4 mMのNaF溶液に試料を1日1回5分間浸漬させて行った。材料周囲エナメル質のTransverse Microradiographyを撮影し、 $\Delta$ Integrated Mineral Loss ( $\Delta$ IML) を求めた。また、各材料ブロックを作製し、脱灰溶液に浸漬させ、材料から溶出したフッ素とストロンチウムを定量した。

フッ化物未処理群では2~4週においてBF群とフジIX群がZ100群と比較して $\Delta$ IMLが有意に低かった。BF群とフジIX群の間には有意差が認められなかった。フッ化物処理群においても同様の傾向が認められた。フッ化物処理の有無で比較した場合、同一材料間では1週においてBF群ならびにフジIX群で有意差が認められた。フッ素とストロンチウムの溶出はBF群とフジIX群から認められ、両元素ともフジIX群からの溶出が有意に多かった。Z100群からは元素の溶出が認められなかった。

また、材料からのフッ素とストロンチウムの溶出が確認できた歯冠修復材料周囲のエナメル質では、 $\Delta$ IMLが有意に低くなった。

**キーワード：**自動pHサイクル装置、S-PRGフィラー、ガラスアイオノマーセメント、フッ素、ストロンチウム

## 緒 言

歯冠修復材料は、現在に至るまで多くの材料が開発されており、著しい発展を遂げている。特に最近では、ミニマルインターペンションの考えに基づき、接着性材料やフッ素徐放性材料の開発が進んでいる<sup>1, 2)</sup>。近年注目されているsurface pre-reacted glassionomer (S-PRG) フィラーはガラスアイオノマーセメントの粉末であるフルオロアルミノシリケートガラスを粉砕し、熱加工した後、ポリアクリル酸による表面処理を行い、ガラス表層部に安定したガラスアイオノマー層を形成させたもので、種々の元素を溶出することが知られている<sup>3-5)</sup>。S-PRGフィラーやガラスアイオノマーセメントから溶出される代表的な元素としては、フッ素やストロンチウムが挙げられる。また、S-PRGフィラーやガラスアイオノマーセメントはフッ素のリチャージ能力があり、フッ素をリチャージすることにより持続的にフ

ッ素を溶出させることができる<sup>6)</sup>。フッ素はエナメル質の強化や初期う蝕の再石灰化など、う蝕の発生や進行に対して効果があることが知られている<sup>7, 8)</sup>。ストロンチウムはフッ素と共に作用し、エナメル質の再石灰化を促進する<sup>9-11)</sup>、エナメル質に取り込まれる際はカルシウムと置き換わる<sup>12)</sup>。また、象牙細管を封鎖することにより知覚過敏を抑制することが報告されている<sup>13)</sup>。

一方で、エナメル質の脱灰を評価する研究は、口腔内の経時的なpH変化を再現することなく、単純にpHの低い溶液に浸漬することにより、人工的な脱灰を起こし評価する研究がほとんどであった<sup>14-16)</sup>。そこで松田ら<sup>17-19)</sup>はステファンカーブ<sup>20)</sup>で代表されるような連続的なpH変化を再現し、経時的な脱灰と再石灰化を試料に加えることができる自動pHサイクル装置を開発した。これにより様々な材料の脱灰抑制効果を*in vitro*ながらも可能な限り口腔内環境に近い状態で比較検討することが可能になり、歯冠修復

材料周囲のエナメル質への影響に関する研究が進んでいる。しかし、自動pHサイクル装置を使用した研究で、歯冠修復材料から溶出されるフッ素やストロンチウムの影響や、フッ化物処理の脱灰抑制効果を検討したものは未だ行われていない。

そこで本研究は自動pHサイクル装置を用いて、歯冠修復材料周囲エナメル質の脱灰量を測定し、歯冠修復材料ならびにフッ化物処理による影響について評価した。また歯冠修復材料からのフッ素ならびにストロンチウムの溶出量の測定やカルシウムリン比 (Ca/P) の測定を行い、脱灰量との相関について検討した。

## 材料および方法

### ①使用材料

本研究は、歯冠修復材料であるS-PRGフィラー含有コンボジットレジンビューティフィリII (BF: 松風, 京都)、従来型コンボジットレジンZ100 (3M ESPE, USA)、ガラスイオノマーセメントのフジIXGPエクストラカプセル (フジIX: ジーシー, 東京) の3種類を使用した。また、歯面処理材はクリアフィル®メガボンド® (クラレノリタケデンタル, 東京) を添付文書に従いBFとZ100に使用した。

研究に用いた歯はう蝕が無く、修復処置のされていない健全なヒト大臼歯を使用した。歯は抜去後、直ちに脱イオン水に浸漬し、使用まで4℃で保管した。なお本研究における抜去歯の使用に関しては患者に使用許諾を得て、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において審査承認された (承認番号2014第3号)。

### ②Transverse Microradiography (TMR) 撮影および分析

脱灰量はTMR撮影像から材料周囲のミネラルプロファイルを算出しΔIntegrated Mineral Loss (ΔIML) を求めて比較した。

試料の作製方法は松田ら<sup>17, 18)</sup>の方法に従って作製した。抜去歯のエナメル質表層のフッ素濃度を均一にする為に前処理として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。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歯軸に垂直になるように幅1 mm, 長さ5 mm, 深さ1 mmの窩洞を形成し各材料を充填した。試料は、BFを充填した試料をBF群、Z100を充填した試料をZ100群、フジIXを充填した試料をフジIX群とした。また、窩洞形成や充填をしなかったものをコントロール群とした。

材料の充填後 (コントロール群を含む)、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) を用いて歯軸に対して平行に切断し厚さ200 μmの切片を作製した。自動pHサイクル装置にかかる試料は、切断面に銅製メッシュ (GILDER GRID G100, 日新EM, 東京) を設置した後、スティッキーワックスで被覆した。

自動pHサイクル装置の模式図を図1に示す。装置は、松田ら<sup>17, 18)</sup>の方法に従い設定した。脱灰溶液 (0.2 M Lactic acid, 3.0 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4.5)、再石灰化溶液 (0.02 M HEPES, 3.0 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.0) を用いた。各サイクルにおけるpH 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、この期間以外は再石灰化溶液に浸漬した。サイクル期間は4週間とした。フッ化物処理は一般的な歯磨剤のフッ素濃度1000 μg F/gの30 % (wt/v) の濃度である18.4 mM (350 μg/F) のNaF溶液を使用した<sup>21, 22)</sup>。溶液に各試料を1日1回5分間浸漬させた。

TMR撮影は、実験開始前とpHサイクル開始後1, 2, 3, 4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。

TMR画像を光学顕微鏡 (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

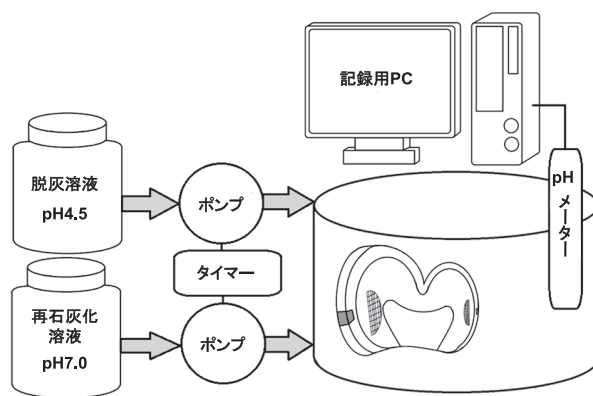


図1 自動pHサイクル装置

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攪拌した。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。

8.0 (Adobe Systems Incorporated, USA) を使用し、試料側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。材料からの距離が50~100  $\mu\text{m}$  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らの式に基づいて解析を行い、ミネラルプロファイルを算出し、 $\Delta\text{IML}$  を求めた。

### ③材料から溶出する元素の定量

材料を6 mm×6 mm×3 mmのブロック上に成形し、#400, #800の耐水研磨紙を用いて表面を研磨した。24時間室温で放置後、脱灰溶液に浸漬させ脱灰溶液のフッ素をフッ素イオン計 (F-10Z, 笠原理化学工業, 埼玉) にて、ストロンチウム元素をInductively coupled plasma atomic emission spectrometer (P-4010, HITACHI, 東京) を用いて定量した。

### ④Ca/Pの測定

ヒトエナメル質をTMRに使用した試料と同じ方法で処理した後に、表面が5 mm×5 mmになるようにマイクロカッティングマシンにて切断し、#400の耐水研磨紙で平坦になるように研磨した。6 mm×6 mm×3 mmのブロック上に成形した材料をエナメル質を平坦にした部分から0.1 mm離れた状態でモデルリペア (デンツプライ三金, 栃木) で固定し、TMRと同じ自動pHサイクル装置の設定で4週間処理した。自動pHサイクル装置で処理する前後のエナメル質をEnergy dispersive X-ray spectrometry (HIT.S2380N, EDAX, 東京) を用いて元素解析を行い、Ca/Pを測定した。

### ⑤統計処理

すべての統計処理は $p<0.05$ の有意差で行った。有意差検定はtwo-way ANOVA, ボンフェローニの方法を用いて比較検討を行った。

## 結 果

### ① $\Delta\text{IML}$

フッ化物未処理群では2~3週においてZ100群がすべての群と比較して $\Delta\text{IML}$ が有意に高かった。4週においてZ100群とコントロール群との間に有意差は認められず、BF群やフジIX群と比較して $\Delta\text{IML}$ が有意に高かった。すべての週においてBF群とフジIX群との間に有意差は認められなかった (図2)。

フッ化物処理群では1週目においてコントロール群がすべての群と比較して $\Delta\text{IML}$ が有意に高かった。2~4週においてZ100群はBF群、フジIX群と比較して $\Delta\text{IML}$ が有意

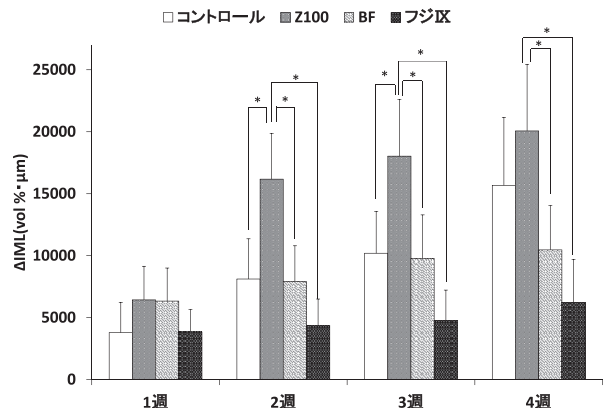


図2 フッ化物未処理群の $\Delta\text{Integrated Mineral Loss}$  ( $\Delta\text{IML}$ )  
線で結ばれているものは有意差があるものを示す ( $p<0.05$ ).  
縦線 (I) はSDを示す。1週目では有意差は認められなかった。  
2, 3週目ではZ100群が他の群より有意に高い脱灰量を示した。  
4週目ではZ100群がBF群、フジIX群より有意に高い脱灰量を示した。

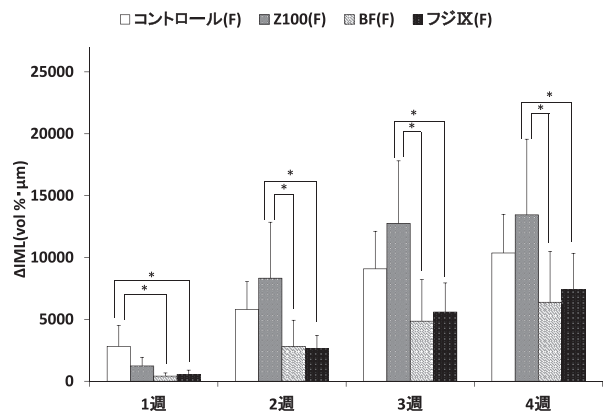


図3 フッ化物処理群の $\Delta\text{Integrated Mineral Loss}$  ( $\Delta\text{IML}$ )  
線で結ばれているものは有意差があるものを示す ( $p<0.05$ ).  
縦線 (I) はSDを示す。1週目ではコントロール群がBF群、フジIX群より有意に高い脱灰量を示した。2~4週ではZ100群がBF群、フジIX群より有意に高い脱灰量を示した。

に高かった。BF群とフジIX群との間に有意差は認められなかった (図3)。

フッ化物処理の有無で比較した場合、同一材料間ではBF群とフジIXの1週目においてフッ化物未処理群の $\Delta\text{IML}$ が有意に高かった (図2, 3)。

### ②元素の溶出量

フッ素の溶出は、BF群、フジIX群で認められた。すべての週においてフジIX群はBF群より溶出量が有意に多かった。Z100群からの溶出は認められなかった (図4)。

ストロンチウムの溶出は、すべての週においてフジIX群が他の群と比較して有意に多かった。BF群は1週においてストロンチウムを多く溶出したが、2週においては減少し、2~4週ではほぼ一定の値での溶出が認められた。Z100群からの溶出は認められなかった (図5)。

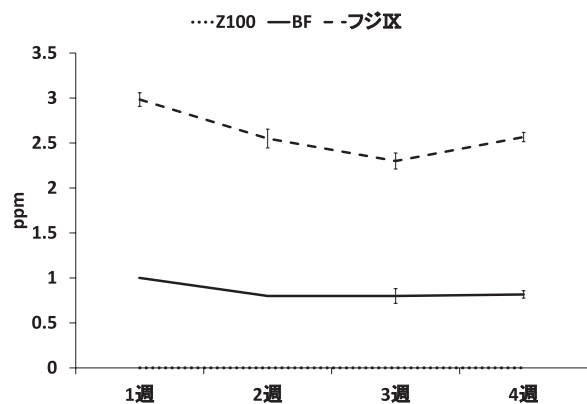


図4 フッ素溶出量

すべての週、すべての群において有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。すべての週においてフジIX群が有意に多いフッ素の溶出を認めた。Z100群からの溶出は認められなかった。

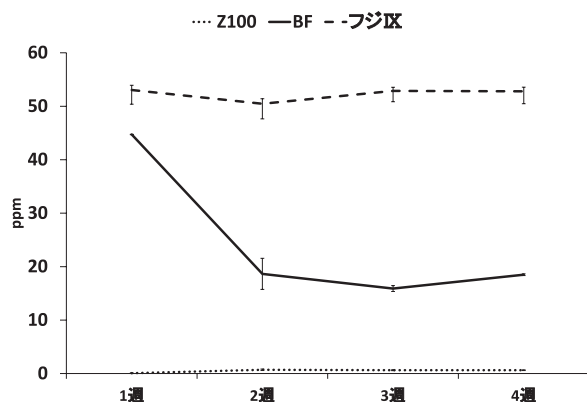


図5 ストロニウム溶出量

すべての週、すべての群において有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。すべての週においてフジIX群が有意に多いフッ素の溶出を認めた。BF群は1週目に多くの溶出を認めたが、2週目以降では溶出量が減少した。Z100群からの溶出は認められなかった。

### ③Ca/P

コントロール群のCa/Pは1.47, Z100群は1.44, BF群は1.24, フジIX群は0.87となった(図6)。

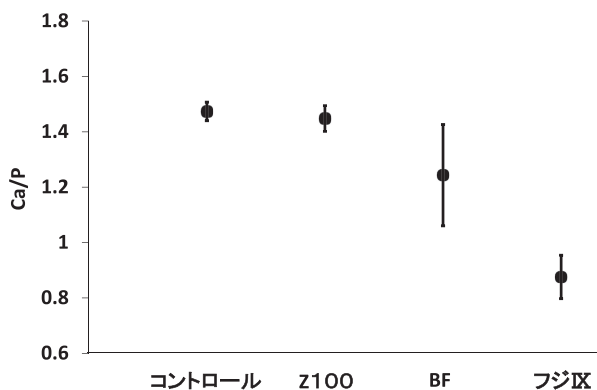


図6 エナメル質表面のCa/P

EDS観察を行い、Ca/Pを求めた。コントロール群、Z100群と比較してBF群、フジIX群は低い値となった。

## 考 察

従来、*in vitro*で行われていた研究は、試料を脱灰溶液と再石灰化溶液に交互に浸漬する断続的な研究が主であった。そこで松田ら<sup>17-19)</sup>はステファンカーブのような連続的なpH変化を再現した自動pHサイクル装置を開発した。自動pHサイクル装置を使用したエナメル質の脱灰に関する研究において、 $\Delta\text{IML}$ はサイクル期間が長くなるに従い増加する傾向にある<sup>23)</sup>。本研究においても同様にサイクル期間が長くなるに従い $\Delta\text{IML}$ は増加した。また、フッ化物未処理群では、BF群とフジIX群がZ100群と比較して $\Delta\text{IML}$ が有意に低いという結果を得た。これらの材料の違いにはフッ素とストロンチウムの溶出の有無があり、本研究の結果より歯冠修復材料から溶出したフッ素やストロンチウムがエナメル質の耐酸性を向上されることが示唆された。材料から溶出した元素が近接するエナメル質に取り込まれるという報告はあるものの<sup>24)</sup>、本研究においても同様の現象が起こったかどうかは元素分析などによる検証が必要である。

本研究で $\Delta\text{IML}$ を減少させたBF群とフジIX群はそれぞれ、BFがS-PRGフィラー含有コンポジットレジン、フジIXがガラスアイオノマーセメントである。S-PRGフィラーは表層部がゲル状構造となっており、フッ素、ストロンチウム、ナトリウム、ホウ素、アルミニウム、ケイ素を溶出することが知られている<sup>5)</sup>。さらにコンポジットレジンなどの材料に添加されてもフッ素などの溶出がスムーズに行える特徴をもつ<sup>25)</sup>。本研究においてもBF群からはフッ素とストロンチウム、さらにデータには示さないがナトリウム、ホウ素、アルミニウムの溶出が確認されている。ガラスアイオノマーセメントはフッ素徐放性を有しており、抗う蝕作用を期待して広く臨床で用いられている。ガラスアイオノマーセメントによるフッ素の溶出は、フルオロアルミノシリケートガラスとポリアクリル酸の酸-塩基反応によって生成されたガラスアイオノマー反応相によるものと考えられている。ガラスアイオノマーセメントからはフッ素、ストロンチウム、ナトリウム、アルミニウムが溶出することが知られている<sup>26)</sup>。本研究においてもフジIX群からはフッ素とストロンチウム、データには示さないがナトリウム、アルミニウムの溶出が確認されている。

フッ化物処理の有無で比較した場合、同一材料間においてフッ化物処理により $\Delta\text{IML}$ が有意に減少したのはBF群とフジIX群の1週目のみであり、ほかの材料、週においては有意差が認められなかった。本研究でのフッ化物処理は歯磨剤に含まれるフッ素がブラッシング後に口腔内に残留する濃度を参考にして18.4 mMのNaF溶液に1日1回5分間浸漬させて行った<sup>21, 22)</sup>。過去の研究においてフッ素濃度が低濃度よりも高濃度の場合に、また、中性条件よりも酸性条件においてエナメル質に取り込まれるフッ素の量が



増加し、脱灰量やエナメル質の硬さに影響を及ぼすことが報告されている<sup>26-28)</sup>。さらにフッ素濃度が高い条件で検討した場合には異なる結果が得られるかもしれない。また、自動pHサイクル装置によりpH変化はコントロールしていたが、フッ化物処理に用いたNaF溶液はpH 6.8であり、NaF溶液を酸性にした場合にはΔIMLが減少する可能性も考えられる。

ガラスアイオノマーセメントやS-PRGフィラー含有コンポジットレジンからのフッ素の溶出は、脱イオン水に浸漬した場合、浸漬後24時間をピークにその後は急激に減少すると報告されている<sup>6)</sup>。本研究においてもBF群ならびにフジIX群から脱灰溶液中に溶出したフッ素は1週目から2週目にかけて急激に減少し、その後はなだらかに減少した。自動pHサイクル装置に使用する脱灰溶液に浸漬した場合も、脱イオン水に浸漬した場合と似たフッ素の溶出パターンを示すことが分かった。また、フジIX群のフッ素溶出量はBF群と比較して有意に多かった。Mellbergら<sup>29)</sup>はフッ素徐放性材料からのフッ素溶出量とエナメル質に対するフッ素の取り込み量は作用時間と濃度に比例すると報告しており、それに従うとフッ素溶出量の多いフジIX群においてBF群よりもΔIMLが低くなると考えられるが、本研究では有意差は認められなかった。

ハイドロキシアパタイトは化学式が $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ で表されるイオン結晶である。生体内ではカルシウムイオンが鉄イオンやマグネシウムイオンに置換されていることがある。ハイドロキシアパタイト中のカルシウムイオンの配置は2種類ある。ひとつはscrew axisカルシウムと呼ばれ、三角形の各頂点にカルシウムイオンが存在する構造になっている。もうひとつはcolumnarカルシウムと呼ばれ、トンネル構造となっており、動きやすいものとなっている。そのため、columnarカルシウムは他のイオンと置換しやすいと考えられている<sup>30)</sup>。また、ストロンチウムはハイドロキシアパタイトのカルシウムイオンと置換することが報告されている<sup>9-11)</sup>。本研究ではストロンチウムの溶出量が多いほどCa/Pが低下するという結果を得たが、Ca/Pが低下した原因としてはストロンチウムがcolumnarカルシウムと置き換わった可能性が考えられる。しかし、本研究ではストロンチウムのエナメル質への取り込みは確認できておらず、今後解明していく必要がある。

本研究では歯冠修復材料の違いによる脱灰抑制効果は認められたが、フッ化物処理による違いは一部でしか認められなかった。また、pHは自動pHサイクル装置を用いて口腔内を想定した連続的な変化を再現したが、フッ化物処理は試料をNaF溶液に浸漬する方法で行っているため、口腔内のフッ素動態を再現できていない。口腔内のフッ素濃度はブラッシング後2時間で元の濃度に戻るという報告もあり<sup>31)</sup>、今後は口腔内のpHのみではなく、フッ化物の濃度の推移を再現し、より口腔内に近い環境での検討が必要と

なると考えられる。

## 結 論

自動pHサイクル装置を使用して歯冠修復材料やフッ化物処理が材料周囲エナメル質に及ぼす影響を調べた。その結果、以下の結論を得た。

1. BF群とフジIX群では周囲エナメル質のΔIMLが減少した。
2. フッ化物処理を行った場合、BF群とフジIX群においてΔIMLが有意に減少した。
3. BF群とフジIX群からはフッ素とストロンチウムの溶出が認められた。

## 参 考 文 献

- 1) Simonsen RJ : From prevention to therapy : minimal intervention with sealants and resin restorative materials. J Dent 39 : 27-33, 2011.
- 2) Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan VV, Eden E : Minimal intervention dentistry for managing dental caries - a review : report of a FDI task group. Int Dent J 62 : 223-243, 2012.
- 3) Fujimoto Y, Iwasa M, Murayama R, Miyazaki M, Nagafuji A, Nakatsuka T : Detection of ions released from S-PRG fillers and their modulation effect. Dent Mater J 29 : 392-397, 2010.
- 4) 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.
- 5) 韓 臨麟, 興地隆史 : S-PRGフィラー抽出液の人工脱灰象牙質に対する象牙細管封鎖効果. 日歯保存誌, 58 : 17-25, 2015.
- 6) Dionysopoulos D, Koliniotou-Koumpia E, Helvatzoglou-Antoniades M, Kotsanos N : Fluoride release and recharge abilities of contemporary fluoride-containing restorative materials and dental adhesives. Dent Mater J 32 : 296-304, 2013.
- 7) Iijima Y, Koulourides T : Fluoride incorporation into and retention in remineralized enamel. J Dent Res 68 : 1289-1292, 1989.
- 8) Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC : Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. Caries Res 42 : 88-97, 2008.
- 9) Spets-Happonen S, Luoma H, Seppä L, Räisänen J : The effect of different strontium concentrations on

- the efficacy of chlorhexidine-fluoride-strontium gel in preventing enamel softening in vitro. *Arch Oral Biol* 38 : 107-112, 1993.
- 10) Alvira F, Ramirez Rozzi F, Torchia G, Roso L, Bilmes G : A new method for relative Sr determination in human teeth enamel. *J Anthropol Sci* 89 : 153-160, 2011.
  - 11) Lippert F : The effects of lesion baseline characteristics and different Sr:Ca ratios in plaque fluid-like solutions on caries lesion de- and remineralization. *Arch Oral Biol* 57 : 1299-1306, 2012.
  - 12) Kim TG, Park B : Synthesis and growth mechanisms of one-dimensional strontium hydroxyapatite nanostructures. *Inorg Chem* 44 : 9895-9901, 2005.
  - 13) West N, Newcombe RG, Hughes N, Mason S, Maggio B, Sufi F, Claydon N : A 3-day randomised clinical study investigating the efficacy of two toothpastes, designed to occlude dentine tubules, for the treatment of dentine hypersensitivity. *J Dent* 41 : 187-194, 2013.
  - 14) Islam SM, Hiraishi N, Nassar M, Sono R, Otsuki M, Takatsura T, Yiu C, Tagami J : In vitro effect of hesperidin on root dentin collagen and de/re-mineralization. *Dent Mater J* 31 : 362-367, 2012.
  - 15) Amaechi BT, Porteous N, Ramalingam K, Mensinkai PK, Ccahuana Vasquez RA, Sadeghpour A, Nakamoto T : Remineralization of artificial enamel lesions by theobromine. *Caries Res* 47 : 399-405, 2013.
  - 16) Borges AB, Scaramucci T, Lippert F, Zero DT, Hara AT : Erosion protection by calcium lactate/sodium fluoride rinses under different salivary flows in vitro. *Caries Res* 48 : 193-199, 2014.
  - 17) Stephan RM : Changes in Hydrogen-Ion Concentration on Tooth Surfaces and in Carious Lesions. *J Am Dent Assoc* 27 : 718-723, 1940.
  - 18) 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*, 48 : 828-834, 2005.
  - 19) 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.
  - 20) 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 : 280-285, 2007.
  - 21) Damen JJ, Exterkate RA, ten Cate JM : Reproducibility of TMR for the determination of longitudinal mineral changes in dental hard tissues. *Adv Dent Res* 11 : 415-419, 1997.
  - 22) ten Cate JM, Exterkate RA, Buijs MJ : The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res* 40 : 136-141, 2006.
  - 23) 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 Instr and Meth B* 267 : 2136-2139, 2009.
  - 24) Komatsu H, Yamamoto H, Matsuda Y, Kijimura T, Kinugawa M, Okuyama K, Nomachi M, Yasuda K, Satou T, Oikawa S : Fluorine analysis of human enamel around fluoride-containing materials under different pH-cycling by PIGE/PIXE system. *Nucl Instr and Meth B* 269 : 2274-2277, 2011.
  - 25) Czarnecka B, Limanowska-Shaw H, Hatton R, Nicholson JW : Ion release by endodontic grade glass-ionomer cement. *J Mater Sci Mater Med* 18 : 649-652, 2007.
  - 26) Yu F, Kubo S, Yakushiji M : Effect of three fluoride agents on remineralization and fluoride uptake on enamel lesion. *Pediatr Dent J* 15 : 165-170, 2005.
  - 27) Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, Oliveira FA, Ribeiro DB, Sassaki KT : In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 40 : 239-244, 2006.
  - 28) Nobre-dos-Santos M, Rodrigues LK, Del-Bel-Cury AA, Cury JA : In situ effect of a dentifrice with low fluoride concentration and low pH on enamel remineralization and fluoride uptake. *J Oral Sci* 49 : 147-54, 2007.
  - 29) Mellberg JR : Rate of fluorine uptake by surface and subsurface sound enamel from sodium monofluorophosphate. *Caries Res* 14 : 50-55, 1980.
  - 30) Okazaki M1, Sato M, Takahashi J : Space-cutting model of hydroxyapatite: *Biomaterials* 16 : 45-49, 1995.
  - 31) Pessan JPI, Conceição JM, Grizzo LT, Székely M, Fazakas Z, Buzalaf MA : Intraoral fluoride levels after use of conventional and high-fluoride dentifrices. *Clin Oral Investig* 19 : 955-958, 2015.

## ORIGINAL

## The inhibitory effects of the restorative materials on the demineralization of human molars using the automatic pH-cycling system

Kazuki Endo, Koichi Nakamura and Yasutaka Yawaka

**ABSTRACT** : Fluoride is known to be effective for prevention of dental caries by strengthening enamel. Fluoride releasing materials were expected as prevention for secondary caries. The purpose of this study is to evaluate the inhibitory effects of the restorative materials and fluoride treatment using an automatic pH-cycling system.

In this study, we used the following three restorative materials ; Z100 (3M ESPE, USA), BEAUTIFIL II (BF : Shofu, Tokyo), FUJI IX GP EXTRA CAPSULE (Fuji IX, GC, Tokyo). Extracted non-caries human molars were used. The specimens were filled with each material, and all specimens were repeated demineralization and remineralization using the automatic pH-cycling system for 1 to 4 weeks. Specimens were treated for 5 minutes every day with 18.4 mM NaF solution. Every each week,  $\Delta$ integrated mineral loss ( $\Delta$ IML) of the specimens was calculated from transverse microradiography images. Also, materials blocks immersed in demineralized solution for 1 to 4 weeks, and released elements from materials blocks were determined in demineralized solution.

As a result,  $\Delta$ IML of BF and FujiIX in which with and without fluoride treatment were significantly smaller than that of Z100 in 2 to 4 weeks. The significant difference was not recognized between BF and Fuji IX. The elements releasing from materials blocks, fluorine and strontium were measured from the BF and FujiIX , Fuji IX were released much these ions than the other materials. Z100 released no ions.

In conclusion,  $\Delta$ IML was reduced in ion releasing materials group, and it was suggested that the surface properties of the enamel was improved.

**Key Words** : automatic pH-cycling system, S-PRG filler, glass ionomer cement, fluorine, strontium