

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20441

研究課題名(和文)ドーパミンを用いた新規接着性プライマーの開発

研究課題名(英文)Development of novel adhesive primers based on dopamine

研究代表者

柄 博紀(Tsuka, Hiroki)

広島大学・病院(歯)・病院助教

研究者番号：60614378

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ドーパミンの接着機構を応用し、汎用性を持つ新規接着性プライマーの開発を目指した。試作接着性プライマーの抗菌試験を検討した結果、口腔内常在菌に対して、高い抗菌効果を示した。次に、接着性レジンセメントを用い、歯科修復材料に対して、試作接着性プライマーの接着効果を比較検討した。従来の接着性プライマーを用いた場合と比較し、試作接着性プライマーの接着強さは、小さい値を示した。試作接着性プライマーのポリドーパミンの含有量では、化学的接着は起きるが、その接着が接着強さに反映するほどではなかったと考えられる。以上より、接着性プライマーを作製する過程をさらに検討する必要があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research is to develop novel adhesive primers with versatility by applying the adhesion mechanism of dopamine. As a result of examining the antibacterial test of the prototype adhesive primer, it showed high antimicrobial effect against resident bacteria in the oral cavity. Next, using the adhesive resin cement, the adhesion effect of the prototype adhesive primer on the dental restorative material was compared and examined. Compared with the case of using the conventional adhesive primer, the adhesive strength of the prototype adhesive primer showed a significantly small value. Although the chemical bonding occurred with the content of polydopamine in the prototype adhesive primer, it seems that the adhesion did not reflect the adhesive strength. From the above, it is considered necessary to further study the process of preparing adhesive primers.

研究分野：歯科材料

キーワード：接着性レジンセメント ドーパミン 接着強さ

1. 研究開始当初の背景

歯冠修復物を歯質に接着する操作は、歯科治療において欠かせない操作である。近年、CAD/CAM システムが歯科臨床に普及し、歯冠修復物が金属以外にも、ハイブリッドレジン、セラミック、ジルコニアなど多様化してきている。また、支台歯側もエナメル質、象牙質、金属、レジンなど様々である。これらの歯冠修復物を支台歯に接着させるためには、接着性レジンセメントが有効である。しかしながら、接着性レジンセメント単独では実質的な接着強さが得られないため、接着をより確実なものとするには、被着面をそれぞれに適した状態に処理する必要がある、そのため様々な接着性プライマーが開発され使用されている。このことより、接着時には、被着体を見定め、それぞれに応じた接着性プライマーで被着面の処理を行わなければならないこと、それに伴い操作ステップが多くなるのが臨床上の大きな問題点となっている。また、近年、接着性プライマーに含まれている接着性モノマーを配合し、被着面の処理を必要としないセルフアドヒーシブ型の接着性レジンセメントが開発され製品化されているが、セラミックやハイブリッドレジンなどの無機材料および有機・無機複合材料に対しては、表面の処理を行う必要があり、接着強さも大きくない。これらのことより、既存の接着では最新の各種歯冠修復システムに適応しているとは言い難い。

これらの問題の解決のため、申請者は、カテコールを含む高分子が、様々な被着体と強固に結合する性質に着目し、特に、Mefp-5 アミノ酸配列をもったドーパミンに着目した(図1)。Mefp-5 アミノ酸配列をも

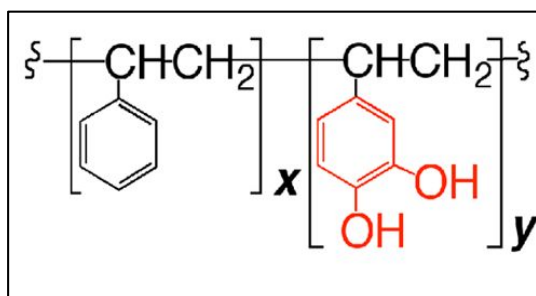


図1 ドーパミンの接着機構

ったドーパミンは、ムール貝が分泌するタンパク質に含まれている接着タンパク質で、ドーパミンの水溶液に材料を浸漬すると重合を開始しポリドーパミンとなり表面粘着性の薄い被膜をつくる接着機構を持つことが報告されている。

このドーパミンを接着性プライマーに応用することにより、接着性レジンセメントが金属、ハイブリッドレジン、セラミック、ジルコニアなどの様々な歯冠修復材料と強固に接着することが可能となり、被着体に合致した接着性プライマーを選択する必要がなくなることで、接着操作の簡便化を図ることが可能であると着想した。さらに、ポリドーパミンは、抗菌作用を有することで、医療用の抗菌コーティングとしても応用されており、歯冠修復物においてもその抗菌効果が期待できる。また、ドーパミンの接着機構が接着性プライマーに応用可能であれば、すべての歯冠修復物に表面処理不要で十分な接着強さを発揮するセルフアドヒーシブ型の接着性レジンセメントの開発も可能であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、従来歯科では用いられていないドーパミンの接着機構を応用し、被着体を選定しない汎用性を持つ新規接着性プライマーの開発を目指す。

3. 研究の方法

まず、ポリドーパミンを作製し、試作接着プライマーの作製を行った。方法は、Dopamine hydrochloride および Dopamine-1,1,2,2-d hydrochloride (Sigma-Aldrich 社製)を用いて、MES buffer (pH 4.5、1 ml)に溶解させ (pH=8.5)、40、60 および 80 で 24 時間熱処理を行い、3 種類のポリドーパミンを作製した。接着性プライマーの試作作製した 3 種類のポリドーパミンをそれぞれアセトンに対して 0.1~5.0wt% の間で溶解し、ポリドーパミン溶液を作製した。溶液作製 24 時間後に、核磁気共鳴分光計 (NMR)(AVANCE600、Bruker 社製)を用いて定量測定を行った。ドーパミン数をドーパ

ミン標準曲線に基づくピーク強さから、溶解度の低いものをいくつか選定し、接着性プライマーを試作した。

次に、試作接着性プライマーの接着性レジンセメントと歯冠修復材料の接着に及ぼす影響および抗菌効果の検討を行った。

(1) 試作接着性プライマーの接着性レジンセメントと歯冠修復材料の接着強さの検討は、被着体に、金銀パラジウム合金、ハイブリッドレジン、セラミック(山本貴金属地金社製)、ジルコニア(GC社製)を用いて試験片とし、それぞれを直径10mm、高さ3mmの円板状試験片と直径6mm、高さ4mmの円柱状試験片とし、それぞれ60個ずつ作製した。円板状試験片は常温重合レジンで包埋し、表面を耐水研磨紙120番から600番まで注水下で研磨し、エタノールおよび蒸留水中で5分間超音波洗浄後、エアード乾燥を行った。次いで、直径4mmの穴があいた厚さ0.1mmのポリエチレン製の両面テープを円板状試験片中央部に被覆し、被着面積を規定した。これらに各種接着性レジンセメントを用いて円柱状試験片を一定の荷重(手圧で圧接)加えながら圧接し接着させた。接着は、試作接着プライマーで表面処理を行った群、各種接着性レジンセメントのメーカー指示に従ってプライマー処理を行った群にわけた。また、コンポジットレジン系接着性レジンセメントは、照射器を用いてメーカー指示の照射時間で各4方向から光照射を行った後、余剰セメントを除去し、試験片とした。

これらを30分間放置した後、37℃蒸留水中で24時間保管後、せん断接着強さの測定に供した。また、試験片数は各群それぞれ5個とした。これらに、各種接着性レジンセメントを接着させた試験片を作製し(図2)各接着試験片を材料試験機(Model 5565、Instron社製)を用いて、せん断接着試験用特殊ジグ(島津製作所製)に固定し(図3)クロスヘッドスピード1mm/minにて、圧縮せん断接着強さの測定を行った。また、得られた最大荷重(N)を被着断面積で除した値を接着強さ(MPa)とした。接着強さの測定後、破壊形式を判定するため、実体顕微鏡を用いて接着試験片の破断面を観察し、破断面の様相を界面破壊、セメントの凝集破壊、被着体

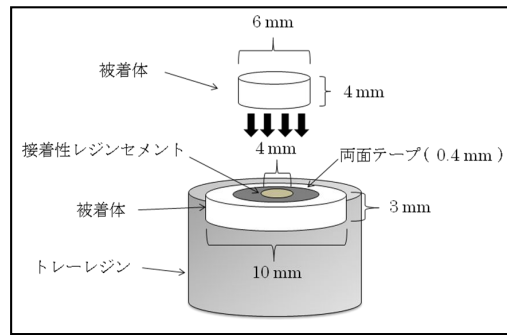


図2 せん断接着強さの試験片の模式図

の凝集破壊の3種類の破壊形式に分類した。破壊形式の判定後、接着試験片の破断面を電子顕微鏡(SEM)(VE-8800、KEYENCE社製)を用いて観察した。

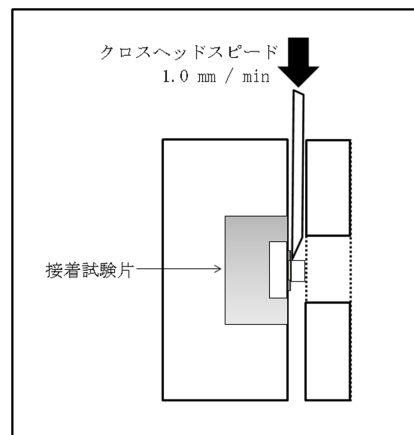


図3 せん断接着強さ試験用ジグ

(2) 試作接着性プライマーの抗菌効果の検討は、円板状の金銀パラジウム合金、ハイブリッドレジン、セラミック(山本貴金属地金社製)、ジルコニア(GC社製)の表面を試作接着性プライマーで処理を行い、試験片とし、口腔内常在菌(*S. mutans*、*A. naeslundii*)を被験菌株とし、培地上で細菌培養した後、その菌液を作製した。作製した菌液をそれぞれの試料表面に定着させた後、バイオフィルムからATPを抽出し、ATPアナライザー(ルミネッセンサー、ATTO社製)を用いてATP量の測定を行い、抗菌効果の検討を行った。

4. 研究成果

試作接着性プライマーの抗菌試験を検討した結果、試作接着性プライマーで表面処理した試料は、無処理の試料と比較して、

S.mutans, *A.naeslundii* など口腔内常在菌に対して、有意に高い抗菌効果を示しており、接着性プライマーにポリドーパミンを含有することにより、歯冠修復物接着後に、ブランク付着の抑制および防止に効果を期待できることが示唆された。

次に、市販の接着性レジンセメントを用いて、歯科修復材料である金銀パラジウム合金、ハイブリッドレジン、セラミック、ジルコニアに対して、試作接着性プライマーの接着効果を比較検討した。その結果、従来の接着プライマーを用いた場合と比較し、試作接着性プライマーを用いた場合の接着強さの値は、有意差なし、または、小さい値を示した(図4)。破壊形式を判定およびSEMによる表面観察においても従来の接着プライマーを用いた場合と比較し、破壊様式および被着面とセメントにおけるSEM像に変化は認められなかった。おそらく、試作した接着性プライマーのポリドーパミンの含有量では、化学的接着は起きるが、その接着が接着強さに反映するほどではなかったと考えられる。

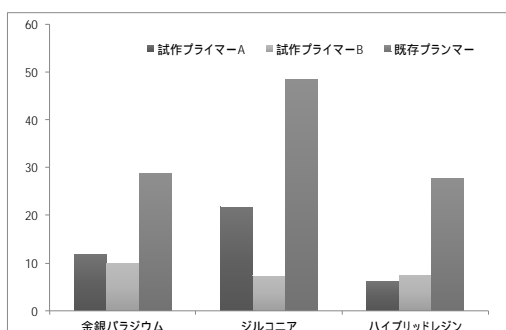


図4 せん断接着強さの測定結果

以上の結果より、ドーパミンの接着機構を応用した被着体を選定しない汎用性を持つ新規接着性プライマーは、抗菌効果は高いが、接着においては効果を発揮しなかった。しかし、ドーパミンの抗菌効果は医科領域で応用されているように、歯科材料においても応用できる可能性が示唆された。今後、ドーパミンを応用した接着プライマーに関する研究では、接着性プライマーを作製する過程においてドーパミンの種類、作製方法および含有量をさらに検討することで、新規接着プライマーとして応用できると考えられる。

5. 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

柄 博紀、森田 晃司、土井 一矢、阿部 泰彦、津賀 一弘、レーザー処理を施したポリエーテルエーテルケトン(PEEK)の接着性レジンセメントに対する接着強さの検討、日本歯科理工学会第69回学術講演会、2017、4.15-16、日本歯科大学富士見ホール(東京)

柄 博紀、森田 晃司、加藤 寛、牧原 勇介、安部倉 仁、津賀 一弘、ポリエーテルエーテルケトン(PEEK)の接着性レジンセメントに対する接着強さ、日本補綴歯科学会九州支部、中国・四国支部合同学術大会、2016、9.3-4、熊本県歯科医師会館(熊本)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

柄 博紀 (TSUKA HIROKI)
広島大学・病院(歯)・病院助教
研究者番号：60614378

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()