

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17130

研究課題名(和文)象牙質コラーゲンの強化による接着耐久性の向上を目的とした象牙質処理法の構築

研究課題名(英文) Construction of dentin treatment method for improving adhesive durability by strengthening dentin collagen

研究代表者

内田 悦子(會田悦子)(UCHIDA, Etsuko)

日本大学・松戸歯学部・兼任講師

研究者番号：90758088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本申請では、象牙質と接着性レジンセメントとの化学的接着に重要な樹脂含浸層の耐久性を向上させるために、タンニン酸による象牙質コラーゲンの強化を目的としている。タービンで切削した象牙質は、機械的に粉碎したものよりも熱変性温度が低く、タービンにて切削することでコラーゲンに変化が起こることが考えられる。しかし、これにタンニン酸を作用させると、熱変性温度は上昇し、象牙質コラーゲンが回復したことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科診療において、歯牙をタービンで切削することが日常的に行われている。しかし、その行為により、象牙質コラーゲンは本来の構造を破壊され、補綴物等が強固に接着できないことが考えられる。そのため、タンニン酸を作用させることにより、コラーゲンの耐久性の向上を図ることができれば、接着力が向上すると考え、熱変性温度を測定したところ、タービンで切削した象牙質よりも、タービンで切削後、タンニン酸を作用させた象牙質の方が熱変性温度が上昇し、コラーゲンの耐久性が上がったことが示唆された。このことは、将来、補綴物を口腔内に長期にわたり維持するために有効な研究結果である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to strengthen dentin collagen with tannic acid in order to improve the durability of the hybrid layer, which was important for the chemical adhesion between dentin and adhesive resin cement.

The dentin cutting with the high-speed dental handpieces indicated a lower thermal denaturation temperature than the dentin grinding with the low-speed miller. It was considered the collagens were changed by cutting with the high-speed dental handpieces. However, when the collagen cutting with the high-speed dental handpieces were immersed in the tannic acids, the thermal denaturation temperatures were increased. The results suggested that the tannic acids were restored the collagen cutting with the high-speed dental handpieces.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：象牙質コラーゲン タンニン酸 熱変性温度 ラマン分光分析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

歯科臨床では機能の回復と審美性確保の目的で、人工物による歯冠補綴治療が頻繁に行われている。歯冠補綴装置は長期間、口腔内に維持されることが重要であるが、接着性レジンセメントを用いて象牙質に合着する場合、酸を用いて象牙質面を処理する。その酸処理によって影響を受けた樹脂含浸層内または樹脂含浸層直下のコラーゲンが歯冠補綴装置合着直後の長期にわたる水の侵入により、加水分解してしまうことが原因で、象牙質と接着性レジンセメントとの接着性は経時的に低下すると報告されている。

一方、歯質強化を目的としてタンニン・フッ化物合剤(以下、HY材)が開発された。HY材は構成成分中のタンニン酸がタンパクを収斂凝固させることが知られている。著者はこれまでにタンニン酸を用いた象牙質コラーゲンの強化について、ウシアキレス腱(Ⅰ型コラーゲン)を用いて検討してきた。その結果、コラーゲンにタンニン酸を作用させることにより、コラーゲンを強化することが分かっている。

そこで、タンニン酸を利用して、象牙質コラーゲンを強化できる可能性があり、その結果、象牙質と接着性レジンセメントとの接着耐久性の低下の原因とされている象牙質コラーゲンの加水分解を抑制し、接着耐久性を向上することができるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

歯科臨床では、象牙質に対して接着性を示すことから、歯冠補綴物の装着に、接着性レジンセメントが多用されている。象牙質と接着性レジンセメントとの接着は、象牙質側に形成される樹脂含浸層によって行われる。この樹脂含浸層は象牙質を酸処理し、プライマーによって露出したコラーゲンの浸潤性を回復し、そこにボンディング材が浸透することによって形成される。しかし、この樹脂含浸層は経時的に劣化し、結果として、象牙質と接着性レジンセメントとの接着耐久性が低下する。その原因として、歯冠補綴物装着時に行われる酸処理が象牙質コラーゲンにダメージを与え、ダメージを受けた象牙質コラーゲンが長期にわたる樹脂含浸層内への水の侵入によって加水分解してしまうことであるとされている。

本研究では、タンパク収斂作用を有するタンニン酸を用いて象牙質コラーゲンを強化し、象牙質コラーゲンの加水分解を抑制することによって樹脂含浸層の劣化を防止し、象牙質と接着性レジンセメントとの接着耐久性を向上させることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 試料の作製

牛歯エナメル質を削除した後、ダイヤモンドバーを装着したエアーターピンにて象牙質を切削し、切削粉末を粒径200 $\mu$ m以下に調整(ターピン粉末)。また、エアーターピンを使用せず、ダイヤモンドソーにて象牙質をブロックとして切り出し、クラッシャー等にて機械的に粉碎し、粒径200 $\mu$ m以下に調整した(機械的粉末)。両粉末6gをEDTA溶液120ccに、6時間浸漬、脱灰後、洗浄・乾燥して、象牙質コラーゲンを抽出し(それぞれターピンコラーゲン、機械的コラーゲン)試料とした。

#### (2) 熱変性温度の測定

(1)で作成した象牙質コラーゲンの変性温度を示差走査熱量測定装置(DSC)にて測定することによって、象牙質コラーゲンの耐久性について検討した。

尚、本実験において再現性を確認するため、同じ方法を5回繰り返し、実施した。

### (3) タンニン酸を作用させた象牙質コラーゲンの熱変性温度の測定

(1) で作成した両者の象牙質コラーゲンを 1% タンニン酸溶液に 7 日間浸漬後、洗浄・自然乾燥し、両者の熱変性温度を測定した。

尚、本実験において再現性を確認するため、同じ方法を 5 回繰り返し、実施した。

### (4) ラマン分光分析

(1) で作成した両者象牙質コラーゲン、(3) でタンニン酸を作用させた象牙質コラーゲンをラマン分光分析にて解析した。

## 4. 研究成果

### (1) 象牙質粉末の作製法の違いによる熱変性温度の違い

牛歯象牙質をダイヤモンドバーを装着したエアタービンにて切削し、作製した象牙質粉末(タービン粉末)、または、エアタービンを使用せずに象牙質をブロックとして切り出し、クラッシャー等で機械的に粉碎し作製した象牙質粉末(機械粉末)を、それぞれ EDTA にて脱灰、象牙質コラーゲンを抽出し(それぞれ、タービンコラーゲン、機械的コラーゲン)、熱変性温度を測定した結果、タービンコラーゲンで約 51、機械的コラーゲンで約 72 を示したことから、タービンでの切削によって、コラーゲンの 3 重らせん構造の破壊には至っていないものの象牙質コラーゲンの構造に何らかの影響を与えていることがわかった。

### (2) タンニン酸を作用させた象牙質コラーゲンの熱変性温度の測定

象牙質コラーゲンの強化を検討するため、EDTA に 6 時間浸漬し、脱灰して得られたタービンコラーゲンおよび機械的コラーゲンを、1% タンニン酸溶液に 7 日間浸漬後、洗浄・乾燥し、熱変性温度の測定を行った。その結果、タービンコラーゲンでは約 65、機械的コラーゲンでは約 76 を示し、タンニン酸処理前の測定値よりタービンコラーゲンで約 13 (処理前約 52)、機械的コラーゲンで約 5 (処理前約 71) の上昇が認められた。これらの結果から、タンニン酸を作用させることにより、象牙質コラーゲンは強化され、耐久性が上がったことがわかった。

### (3) タンニン酸処理コラーゲンの酸処理による変化

レジンセメントで歯冠修復物を装着する際、象牙質面を処理するが、この操作が象牙質コラーゲンにダメージを与え、樹脂含浸層の崩壊の一因となるとされている。そこで、それぞれのタンニン酸処理コラーゲンに、40% リン酸溶液を 10 秒間作用させ、洗浄後の変化を肉眼で観察した。その結果、タービンコラーゲン、機械的コラーゲンはゲル状を示したが、タンニン酸処理コラーゲンは、両者とも原型を保っていた。従って、タンニン酸処理により、象牙質コラーゲンが強化され、酸に対する抵抗性を示したことがわかった。

### (4) ラマン分光分析によるコラーゲンの解析

タービンで切削した象牙質粉末と、機械的に切削した象牙質粉末の間に熱変性温度の差が出たことと、それらの象牙質粉末に、タンニン酸を作用させることで熱変性温度の上昇がみられたことの本質を捉えるべく、ラマン分光分析を行った。その結果、タービンと機械的に切削した象牙質粉末を比較した場合、タービンの場合のみ  $\sim 880\text{cm}^{-1}$  のピークがみられたため、Hydroxyproline が何らかの影響を受けた、つまり、Triple-helix 間の相互作用がタービン処理によって破壊されたのではないかと考えられる。一方、タービン処理と機械的処理の間で、主鎖ペプチド結合周りのピークパターンは変化しなかったことより主鎖は影響を受けていないので、Triple-helix 内は影響を受けていないと考えられる。また、タンニン酸処理をした場

合，タンニン酸は主鎖ペプチド結合を，本来の結合でない何らかの形に変換していると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------