

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792016

研究課題名(和文) FIB-TEMを用いたエナメル質接着界面のナノレベル解析

研究課題名(英文) Nanoscale analysis of enamel-adhesive interface with using FIB-TEM.

研究代表者

高垣 智博 (Takagaki, Tomohiro)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：60516300

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトエナメル質接着界面において、FIBを用いたマイクロサンプリング法を応用し、TEM試料を作成、観察を実施した。硬さの異なる2種の材料の界面における加工は高度な技術を要するため、再現性の高い手法の開発が必要であった。また、複数の機能性モノマーのエナメル質に対する化学的結合の比較を行い、そのデータの蓄積から新しい機能性モノマーの開発への検討を行った。これらにより、機能性モノマーがエナメル質接着の長期安定性に及ぼす影響を明らかにし、より信頼性の高い接着歯質接着システムの開発に役立てることができた。

研究成果の概要(英文)：An FIB (Focused ion beam) micro-sampling technique has been used for specimen preparation for TEM microscopy of semiconductor devices and other electronic materials as it allows direct and site-specific specimen preparation from a bulky sample. This technique is also useful for hard-tissue specimens since they are often deformed by mechanical forces applied during the initial cutout in the preparation. We have applied this technique for preparation of enamel-adhesive interface specimen for TEM observation. The purpose of this study was to analyze enamel-adhesive interface with using FIB-TEM technique. Micro-sampling method with FIB is practical and reliable method of TEM cross-section specimen preparation of biomaterial-hard tissue interfaces.

研究分野：保存修復学

キーワード：FIB-TEM

1. 研究開始当初の背景

(1) 収束イオンビーム装置(FIB)は歯科材料学においてはまだまだ応用例の少ない装置ではあるが、工学分野では90年代から走査電子顕微鏡(SEM)、透過電子顕微鏡(TEM)の試料作製に頻用されてきた。工学分野での主な用途は集積回路の欠陥解析などであったが、近年SEM、EDSなどを組み合わせたマルチビームタイプの機器が登場したことにより、試料加工後の元素分析なども同一チャンバー内で可能となり、その用途は拡大されてきている。

(2) 主な利点としては脆性材料においても、試料を破損することなく加工することができることがあげられる。すなわち歯科分野においては、エナメル質やセラミックス材料における解析において応用が期待される装置である

(3) 本装置はまずGa液体金属イオン源から電界によりGaイオンビームを発生させ、カソードの電界で加速した後さらにこのイオンビームを静電レンズによって縮小し試料上に集束する。基本的な原理はSEMと近似しており、SEMでは一次電子が試料表面に照射され二次電子や特性X線が観察されるが、FIBでは電子と比較してはるかに重い一次イオン(Ga)が試料表面に照射されることにより、二次電子だけでなくはじき出された原子により二次イオンが発生する(スパッタリング現象)。集束イオンビームは数100nmから数nmまで絞ることができるので、ナノ領域での精細な切削加工が可能である。

イオンビームによる蒸着法は直接蒸着法と集束イオンビームアシスト蒸着法の2つが挙げられるが、本装置では後者の原理を用いている。すなわち、試料表面に吸着させたPt、W、Cなどのガスをイオンビームにより分解し蒸着することを利用した化学気相成長(Chemical Vapor Deposition)の1種であると言える。

また、SEMと同様にイオンビームを偏向板により試料上をX、Y方向に走査させることが可能でその際検出される二次イオンにより、SIM(Scanning Ion Microscope)像を得ることができる。実際の加工の際にはそのSIM像下にて操作を行う。

2. 研究の目的

エナメル質における接着界面の分析は、走査型電子顕微鏡(SEM)による観察を中心に行われてきた。象牙質と比較して脆性が高く、マイクロトームによる超薄切片作製は困難とされてきた。本研究の目的は集束イオンビーム加工を応用した「マイクロサンプリング法」を用いることによりエナメル質接着界面のTEM試料を作成、観察を行い、その機序

をナノレベルで解明することである。

3. 研究の方法

ヒトエナメル質接着界面において、FIBを用いたマイクロサンプリング法を応用し、TEM試料を作成、観察する。硬さの異なる2種の材料の界面における加工は高度な技術を要するため、再現性の高い手法の開発を目指す。また、複数の機能性モノマーのエナメル質に対する化学的結合の比較を行い、そのデータの蓄積から新しい機能性モノマーの開発への指標を探る。これらにより、機能性モノマーがエナメル質接着の長期安定性に及ぼす影響を明らかにし、より信頼性の高い接着歯質接着システムの開発に役立てる。最終年度ではエナメル質に留まらず、マイクロサンプリング法を歯科における汎用性のあるナノレベル解析ツールとして役立てるために、その適用範囲の拡大を模索するした実験を行った。

4. 研究成果

(1) エナメル質接着界面を用いた試料作成の基礎の確立

FIBを用いたマイクロサンプリング法は確立されたものではあるが、硬さの異なる2種の材料の界面における加工にはまだ工夫が必要であった。他にも超高倍観察時のための追薄片化技術の基準を設定する必要があった。ヒトエナメル質に対して市販の接着材料を用いたサンプルを作成し、再現性のある試料作成の手法を確立することができた。

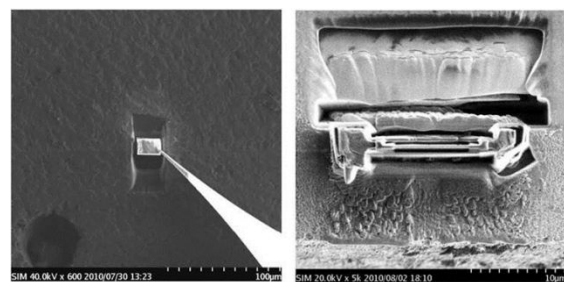


図1 実際のマイクロサンプリングの様子

(2) 各種機能性モノマーならびにその有無がアパタイト結晶の形態に及ぼす影響

MDP、Phenyl-P、4-METAなどの代表的な機能性モノマーを使用した2ステップセルフエッチングシステムを用いて。各種接着剤で処理されたエナメル質のアパタイト結晶が、それぞれどのような形態を示すかをナノレベルで比較検討を実施した。また、各機能性モノマーがアパタイト内のCa

に対してどのように結合しているのかを、超高倍観察にて検討を実施した。

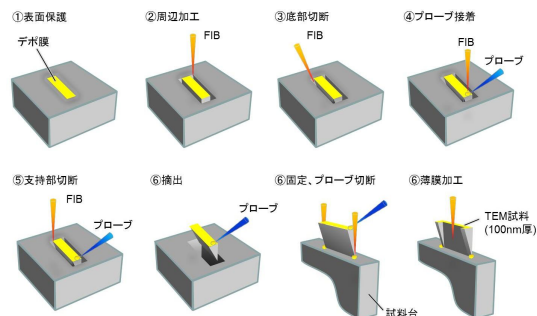


図2 マイクロサンプリング法の手技

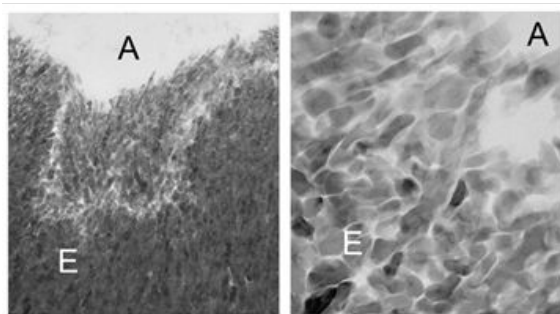


図3 マイクロサンプリング法にて作製したTEM試料の観察画像(左50000倍、右300000倍)

非研削 - リン酸未処理群では、接着界面の粗造性は確認されなかったが、より高倍の観察において、表層500nm部に脱灰部が見られた。また、非切削 - リン酸処理群(U)においては、表層より3~4μm程度の強い脱灰部が観察され、HApの結晶が酸処理により溶解され、縮小しており、低倍でも結晶間にスペースが観察された。

(3) 脆性歯科材料における応用の検討

FIBによる試料の作製法を用いて、ジルコニアセラミック材料やコンポジットレジン材料における接着界面の詳細な検討への応用を検討し、観察が可能であることを示した。

FIBを用いたこれらの手法は、接着分野の研究だけでなく、歯学全般の従来から行われてきたSEM, TEMによる構造解析の分析精度を飛躍的に向上させることが可能であると考えられる。今後の生体材料におけるナノレベルの解析において、欠かせないツールの一つとなることが予測される。

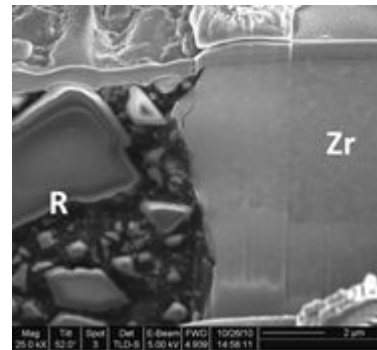


図4 ジルコニアセラミックス-レジセメント界面のSEM観察像

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 2件)

(1) Matsui N, Takagaki T, Sadr A, Ikeda M, Ichinose S, Nikaido T, Tagami J. The role of MDP in a bonding resin of a two-step self-etching adhesive system. Dent Mater J. 2015 Apr 1;34(2):227-33. 査読有 doi: 10.4012/dmj.2014-205.

(2) Nurrohman H, Nakashima S, Takagaki T, Sadr A, Nikaido T, Asakawa Y, Uo M, Marshall SJ, Tagami J. Immobilization of phosphate monomers on collagen induces biomimetic mineralization. Biomed Mater Eng. 2015;25(1):89-99. 査読有 doi: 10.3233/BME-141243.

〔学会発表〕(計 5件)

(1) Guan Rui, Naoko Matsui, Takaaki Sato, Tomohiro Takagaki, Toru Nikaido, Junji Tagami Evaluation of Dentin Bonding Performance and ABRZ Formation of Newly-developed Adhesives. IADR General Session 2015年3月11-14日 ポストン アメリカ合衆国

(2) Takaak Sato, Tomohiro Takagaki, Naoko Matsui, Hidenori Hamba, Toru Nikaido, Alireza Sadr, Nobuhiko Yui, Junji Tagami Morphological and mechanical evaluation of enamel-adhesive interface of self-etch systems IADR General Session 2015年3月11-14日 ポストン アメリカ合衆国

(3) 荒井昌海、佐藤隆明、高垣智博、二階堂徹、田上順次 ジルコニアセラミックス表面処理におけるリン酸系機能性モノマーの役割 第141回日本歯科保存学会秋季学術大会 2014年10月30、31日 山形

(4) 成瀬由己、高垣智博、松井七生子、佐藤隆明、二階堂 徹、池田 正臣、田上 順次 コンポジットレジンの耐摩耗性に関する新規評価法の検討 第 141 回日本歯科保存学会秋季学術大会 2014 年 10 月 30、31 日 山形

(5) Guan Rui, Naoko Matsui, Tomohiro Takagaki, Toru Nikaido, Junji Tagami SEM observation of acid-base resistant zone in newly-developed bonding system. 2014 年 6 月 19、2 日 第 140 回日本歯科保存学会春季保存学会 滋賀

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.tmd.ac.jp/grad/ope/research/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高垣 智博 (TAKAGAKI TOMOHIRO)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：60516300

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：