

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18390502
 研究課題名（和文） 歯質接着界面のバイオデグラデーションへのナノレベルでの検索とその制御
 研究課題名（英文） Evaluation of bio-degradation of resin/tooth interface at nano-level

研究代表者
 佐野 英彦 (SANO HIDEHIKO)
 北海道大学・大学院歯学研究科・教授
 研究者番号：90205998

研究成果の概要：

生体内でレジン象牙質界面に引き起こされるバイオデグラデーション（生体劣化）を防ぐことは重要である。そのためには、①接着界面にナノインタラクションゾーンを形成する、②生体材料を用いて接着界面を再石灰化させる、③ナノテクノロジーを応用して、接着界面の重合率を向上させ界面の長期耐久性を向上させる、という3点が今後の重要な研究課題であることが判明した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
2007年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：バイオデグラデーション、接着耐久性

1. 研究開始当初の背景

Sano らは 1995 年に樹脂含浸層の質に注目し、含浸層内に水分が透過できる Nanoleakage (Oper Dent, 1995) の経路があることを世界に先駆けて見出し、Nanoleakage は接着界面の劣化にかかわるという仮説が提唱された。

まず、Sano らは (J Dent Res, 1999)、サルの口腔内で接着材の長期耐久性を検討した。その結果、接着界面から経時的にレジン成分が抽出され疎な接着界面に変化していくことを世界に先駆けて見出した。次いで、

Hashimoto らは (J Dent Res, 2000)、乳臼歯の 2 級窩洞にウエットボンディングを用いたコンポジットレジン修復を施し、1 年から 3 年後の乳歯の交換期に抜去し、窩底部でのレジン・象牙質間の接合状態を世界で初めて評価した。その結果、口腔内で機能した修復物の接着強さは 3 年間でおよそ 3 分の 1 に減少すること、接着界面からレジンが抽出され、場合によっては接着界面にあるコラーゲン線維が消化される場合があることが判明した。その後の、in vitro の研究で (Pashley ら、J Dent Res, 2004) 象牙質に取り込まれ

ている MMP がコラーゲンを消化することを示唆している。また、教室の Koshiro らは、TEM 観察により *in vivo* で、接着界面のコラーゲンが一年の間に消化されつつあることを明らかにした。接着界面の劣化は物理的な要因に加え、口腔内のさまざまな酵素が影響を及ぼしていることが推察される。そのため、生体内での劣化（バイオデグラデーション）への対応が臨床にきわめて重要であった。

2. 研究の目的

接着界面におけるバイオデグラデーションのナノレベルでの解析とそれをどのように制御していく方法の検討を目的とした。

3. 研究の方法

(1) *in vitro* の検討

各種の象牙質接着材を用いて、短期および長期観察用の試料を作成し水中保存後に接着試験を行い、SEM および TEM 観察を行った。加えて、劣化の加速試験を検討するために、PCR のサーマルサイクラーを用いて温度負荷試験を行い、SEM および TEM 観察を行った。この際には、接着界面におけるコラーゲン線維の長期的な変化、ならびに重合したボンディングレジンの劣化を観察した。以上の観察に加え、ナノインタラクシオンゾーンを形成する場合としない場合において、接着界面とボンディングレジンはどのような長期的変化を見せるかを確認した。

(2) *in vivo* の検討

脱灰された象牙質が、バイオガラス等の存在下で長期的にはどのような経過を示すかを、サル歯を用いて検討した。詳細な観察のために、TEM を用いてコラーゲン線維と無機物の経時的な変化を見た。

(3) ナノテクノロジーの応用

白金ナノコロイドをプライマーとして使用した際に、レジ系接着材に与える影響について試験し、接着耐久性の向上にどのように寄与したかを検討した。

4. 研究成果

象牙質接着の劣化を最小限にするためには、①コラーゲン線維を露出させない：ナノインタラクシオンゾーンを作る、②MMP インヒビターを用いる：クロルヘキシジン等の利用、③ポーラスな界面を再生させる：ナノテクノロジー/バイオガラスの利用、④接着界面の質の向上：ナノテクノロジーの応用ということが重要である (Sano H, Symposia 'Durability of Bonds' Keynote Address, IADR, Toronto, 08)。

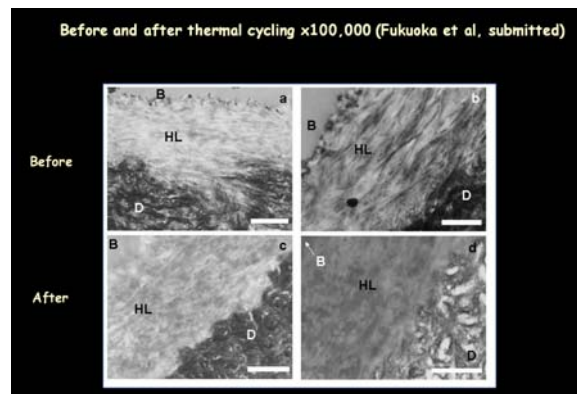
①のナノインタラクシオンゾーンの形成に関するシステム作りは、産学協同で共同開発中であるが、本邦以外の開発は比較的脱灰の多いシステムが多く従来型の樹脂含浸層を

形成することになる。そのため、海外の接着システムに関してはナノテクノロジーを用い接着界面の改質や強化が必要になる。②の MMP インヒビターとしてのクロルヘキシジンは長期耐久性を目指す場合 3% の濃度が必要で (Symposia 'Durability of Bonds' IADR, Toronto, 2008)、さまざまな面から考慮すると本邦では現実的ではない。

そこで、③、④の方策を本研究で行った。すなわち、劣化のカスケードの中で、ポーラスになった界面に対しバイオガラス等を用い、積極的にナノレベルで再石灰化や再生を狙う及び長期的にレジ成分が抽出されることのないようにナノテクノロジーを用いて界面の重合性の向上を目指すことにある

(1) *in vitro* の検討

日本で広く用いられているセルフエッチング系接着材のうち、ナノインタラクシオンゾーンを形成するシステムあるいは形成しないシステム、別の表現でいえばマイルドな酸処理あるいは強力な酸処理を行うシステム間では接着界面の長期挙動に大きな違いが認められた。すなわち、ナノインタラクシオンゾーンを作らない強酸処理システムでは、長期的には樹脂含浸層部分のコラーゲン線維がゼラチン化して劣化していくことが観察され、臨床的には推奨されないシステムであるということが判明した (下図)

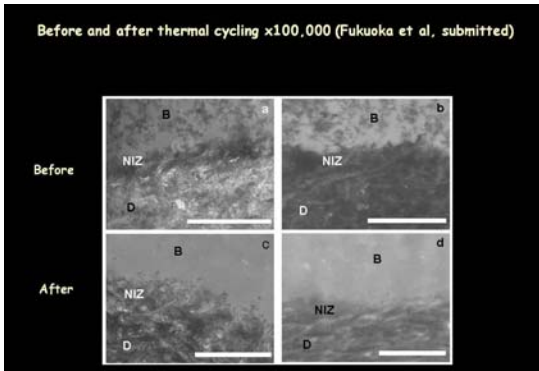


また、同様に欧米で広く使用されているリン酸エッチングシステムでも上図と同様な界面の劣化傾向を示すため、その使用には注意を要する。これに対する対応が、Pashley らのグループで活発に行われている。しかし、彼らの方法は、高濃度のクロルヘキシジンの持つアナフィラキシーショック発現のリスクへの対応はない。高濃度のクロルヘキシジンの持つこのような危険性を考慮に入れると、本邦での臨床応用の目はない。さらに、Pashley、Tay らの Portland セメントを用いた脱灰象牙質の再石灰化法も高アルカリ性環境下で数ヶ月間の時間を有することから決して現実的であるとは言えない。

そのため、リン酸エッチングを象牙質に施すべきではなく、もし、象牙質をエッチング

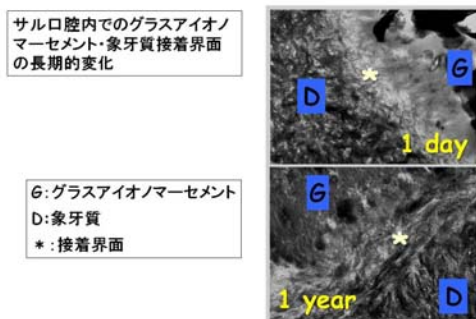
するのであれば、後述するようなナノテクノロジーの応用が現実的であろう。

ナノインタラクシオンゾーンを形成するシステムにおいても、新たな問題点が認められた。この場合の問題点としては、長期的には接着界面近傍（樹脂含浸層相当部）の耐久性は上昇しているが、硬化したボンディングレジン劣化が著しい（下図）。このような現象は親水性の高いモノマーを利用しているシステムに多く、今後の開発方向としては、疎水性にバランスを移行したシステムを作ることである。



(2) in vivo の検討

サルの歯にポリアクリル酸処理を行った後にガラスアイオノマーセメントを充填し、一年後の接着界面に興味深い像が観察された。（下図）

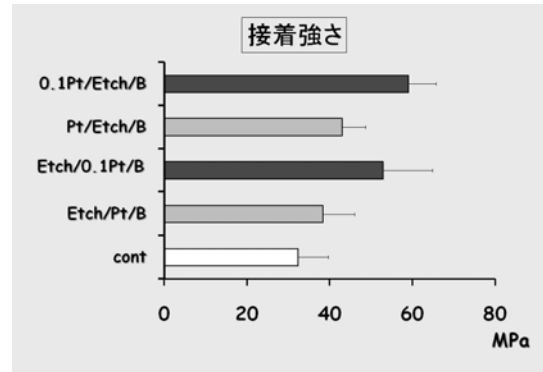


この図をみると、1日後の接着界面では脱灰象牙質が観察されるが、1年後の接着界面では脱灰象牙質が消失し、界面の電子密度が上昇している。この現象は、バイオガラス等を適切に使用すると生体内で再生を中性環境下で惹起できる可能性を示しており、今後の研究に大きく寄与する可能性がある。

(3) ナノテクノロジーの応用

白金ナノコロイドはそれ自体の持つ抗酸化作用、触媒作用に優れている。歯科治療においては、活性酸素を発生する行為が多いため、活性酸素の除去しようとする試みは重要である。特に、4META/MMA-TBB レジンのシステムでは、活性酸素の存在下では重合の阻害が起こり良好な接着性能の発揮が得られないといわれている。そこで、活性酸素を除去

するために、白金ナノコロイドを用いた場合にその重合を阻害しないことを見出した。さらに、特筆的なこととして、このコロイドを用いると、4META/MMA-TBB レジンの接着強さがコントロールの倍の値を示すことが可能になった（下図）。



この結果は、ナノテクノロジーの利用という分野では極めて注目されており、今後はリン酸エッチングを行うシステムにも応用が可能である。

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 8 件）

- ① Nakata T, Fujita M, Nagano F, Noda M, Sano H, Effect of a new thermal cycling method on bond strength of two-step self-etching adhesive systems, Dent Mater J, 26, 635-641, 2007, 査読有
- ② Sidhu SK, Omata Y, Tanaka T, Koshiro K, Spreafico D, Semeraro S, Mezzanzanica D, Sano H, Bonding characteristics of newly developed all-in-one adhesives, J Biomed Mater Res B Appl Biometer, 80, 297-303, 2007, 査読有
- ③ Semeraro S, Mezzanzanica D, Spreafico D, Gagliani M, ReD, Tanaka T, Sidhu SK, Sano H, Effect of different bur grinding on the bond strength of self-etching adhesives, Oper Dent, 31, 80, 317-323, 2006, 査読有

〔学会発表〕（計 10 件）

- ① Hoshika S, Expansion of Nano-technology for dental adhesion using colloidal platinum nanoparticles, International Association for Dental Research, 2008/4/4, Miami, USA
- ② Sano H, Keynote address “Durability of Bonds”, International Association for Dental Research, 2008/7/6, Toronto, Canada

- ③ Sano H, Symposia, Present Status and Future of Self-etching Systems, International Symposium for Adhesive Dentistry 2008 in Kanazawa, 2008/2/17, Kanazawa
- ④ Sano H, Current Trends in Adhesive Dentistry Part I and II, GBMD, 2007/7/26-27, Sao Paulo, Brazil

[図書] (計1件)

- ① Sano H, Woodhead Publishing Limited, Dental biomaterials Imaging, testing and modeling, 2008, 58-80

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐野 英彦 (SANO HIDEHIKO)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：90205998

(2) 研究分担者

井上 哲 (INOUE SATOSHI)
北海道大学病院・講師
研究者番号：80184745
野田 守 (NODA MAMORU)
北海道大学病院・講師
研究者番号：10301889
橋本正則 (HASIMOTO MASANORI)
北海道医療大学・講師
研究者番号：00337164
平成20年3月まで

(3) 連携研究者

なし