

平成23年5月20日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791851

研究課題名（和文）

象牙質接着システムの新規耐久性試験の開発および接着界面の劣化メカニズムの解析

研究課題名（英文）

A development of a new durability test using dentin adhesive systems and an analysis of mechanisms of adhesive degradation.

研究代表者

中田 貴（NAKATA TAKASHI）

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：00457201

研究成果の概要（和文）：本研究における新規に開発したサーマルサイクル負荷試験が象牙質接着耐久性を評価する上で有用であることが明らかとなった。さらに劣化メカニズム解析のため単に水中浸漬する場合に比較して、MMP 阻害剤の添加した浸漬液および Mineral Oil（水以外の浸漬液）に浸漬した方が象牙質接着強さの低下を抑制する効果があった。つまり、内因性の MMP によって象牙質内のコラーゲン繊維が分解されることが、象牙質接着の破壊であることを間接的に示すものであった。

研究成果の概要（英文）：

Results of this study revealed that a new thermal cycling method was useful to evaluate the durability of dentin adhesive systems. Moreover, either MMP inhibitors or mineral oil suppressed gradually bond strength reductions of dentin adhesions. It could thus be suggested that the degradation of dentin adhesion was due to degrade collagen fibrils in dentin matrix caused by endogenous MMPs.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			0
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：Tooth Wear

1. 研究開始当初の背景

う蝕の治療、特に接着システムを用いたコンポジットレジンによる修復は社会的なニーズがますます高まっている。なぜなら、より強固に歯質に接着し、色調が歯と同じまたは類似しているため治療後に目立たず審美的に治療できるからである。また、第3の歯科疾患である **Tooth Wear** に対しても接着システムを用いた治療法がますます応用されるであろうと予想できる。これらの修復材料の開発がより進み、その耐久性がより向上すれば、審美的要求のみならず疫学的にも社会に対して有用であると考えられる。

歯質、特に象牙質への接着は酸により表面を脱灰し、象牙細管や露出したコラーゲンへレジン成分が浸透することにより達成される。また、化学的にはハイドロキシapatiteとレジンモノマーの結合もその一助であると考えられる。しかしながら、サルを用いた象牙質接着の耐久性に関する研究によると材料により差はあるものの象牙質接着は劣化する。また *in vitro* の実験によると長期的に水中に浸漬することにより接着強さは低下し、接着界面においてコラーゲン繊維が分解されていると報告されている。こうした現象が日常臨床的に起こっていることが考えられるが、象牙質接着の劣化メカニズムは未だ明らかにされていない。

そこで象牙質接着のメカニズムを明らかにすることで、その劣化に関わる因子に対して何らかの対策を行うことで象牙質接着の耐久性を向上させることは社会的なニーズ、疫学的にも有用であろうと考えている。

2. 研究の目的

象牙質接着の劣化因子として

(1) 経時的なレジン成分の劣化

(2) 接着界面におけるコラーゲン繊維の加水分解

(3) **Matrix Metalloproteinase (Collagenase, Gelatinase)**によるコラーゲン繊維の分解

が挙げられる。IとIIは口腔内での環境を考慮するとある程度は避けられないと考えられる。そこで③に注目し象牙質内の **Collagenase** や **Gelatinase** を **ELISA** 法を用いて定量的に検出し、酸処理によって活性化されるか分析することと、劣化の尺度として微小引張試験と **SEM** を用いた形態学的分析により検討することを目的とした。さらに、象牙質接着界面に水中浸漬と温度負荷をかけるだけでなく、各種阻害剤や薬剤を溶媒中に溶解することができる新たな耐久試験法を用いて劣化予防に繋げられるか検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)象牙質内の **Matrix Metalloproteinase** の検出ならびに活性化の分析

Collagenase, Gelatinase をヒト **MMP** に特異的な抗体を用いて **ELISA** 法で検出する。抗体は2種類使い、非活性型と活性型の両方を検出する。さらに、接着操作に伴う酸処理により **MMP** が活性化しうるかどうかについても検討する。また、酸処理により活性化しなかった場合、経時的に水中に浸漬することで徐々に活性化するのか、また温度変化や活性化するための修飾因子についても検討する。

(2)各種 **MMP** 阻害剤や薬剤に浸漬による象

牙質接着耐久に関する解析

in vitro で口腔内の温度変化を疑似する試験として5〜55℃の温度負荷をかけるサーマルサイクル試験が一般的である。温度負荷を媒介する溶媒を変えることができる新しいサーマルサイクル試験法を用いて、溶媒を水だけでなく各種MMP阻害剤や薬剤を使用し温度負荷を試料に加え、MMPの活性化を抑えることができるか、またMMPの活性化を抑えることができた場合、接着強さに影響があるかどうかを検討する。さらに、阻害剤や薬剤の影響についてSEMを用いて形態学的にも解析する。

(3)Tooth Wear、特に歯頸部へのコンポジットレジン修復の劣化メカニズムの解析

ウシ抜去歯の頬側歯頸部に規格窩洞を形成し、コンポジットレジン修復を施す。それらのサンプルを上記実験同様に5〜55℃の温度負荷をかける。コンポジットレジン修復の劣化は辺縁から始まると考えられるが、規格した窩洞のどの部位から劣化が始まるのかを形態学的に解析する。微細形態学的観察にはSEMおよびTEMを用いる。

4. 研究成果

本研究の計画では大きく3つの骨子から成り立ち、1 象牙質内のMatrix Metalloproteinaseの検出ならびに活性化の分析 2 各種MMP阻害剤や薬剤に浸漬による象牙質接着耐久に関する解析 3 Tooth Wear、特に歯頸部へのコンポジットレジン修復の劣化メカニズム解析 とし、平成21年度は1および2を実行する予定であった。1については象牙質内のMMPについて解析する予定であったが、象牙質内のMMP検出する実験系確立には至っておらず、未だ成果発表できる

状態ではない。2について、本研究における象牙質接着の耐久性に関するPCRサーマルサイクラーを用いたサーマルサイクル負荷試験では、従来型の試験よりもPCRサーマルサイクラーを用いる方がより接着強さの低下が緩徐になることが判明した(図1)。

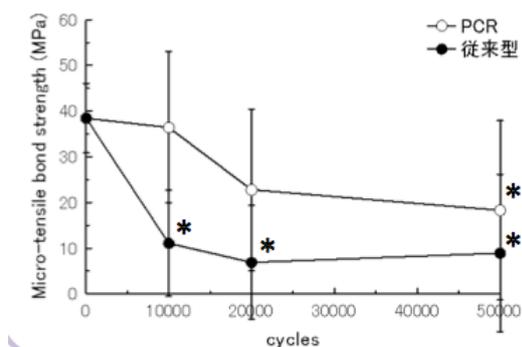


図1

従来型では接着強さが急激に低下するために、接着界面に及ぼす外的因子の影響を解析するのは難しかった。本研究においては計画していた解析にとって都合のよい実験系であることが明らかとなった。上記の結果においては原著論文1報と学会発表2件にて成果発表を行った。

続いて劣化メカニズム解析のためサーマルサイクル負荷試験に用いる浸漬水にMMP阻害剤やMineral Oilを添加して耐久性への影響を解析した。その結果、単に水中浸漬する場合に比較して、MMP阻害剤の添加した浸漬液およびMineral Oil(水以外の浸漬液)に浸漬した方が象牙質接着強さの低下を抑制する効果があった(図2)。

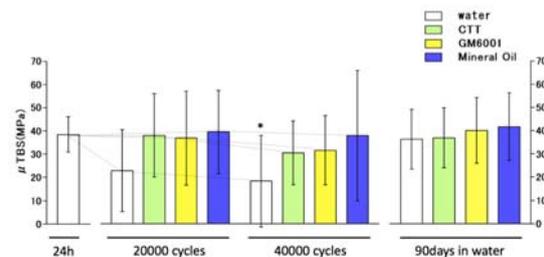


図2

これはサーマルサイクル負荷試験を行

った場合でも同様の結果となった。つまり、内因性の MMP によって象牙質内のコラーゲン繊維が分解されることによって象牙質接着が破壊されることを間接的に示すものであった。これらの結果は象牙質とコンポジットレジン接着の破壊メカニズムの一部であること示唆するものであり、今後の材料開発または、コンポジットレジン修復後の修復物のメンテナンスの改善において重要なデータとなった。

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 中田貴、西谷佳浩、吉山昌宏、MMA レジンセメントのサーマルサイクリング後および水中浸漬後の象牙質接着強さ、接着歯学、査読有、Vol. 28、2010、pp. 67-72
- ② 中田貴、李相紅、西谷佳浩、吉山昌宏、次亜塩素酸ナトリウム処理した象牙質への MMA 系レジンセメント 3 種の接着強さ、接着歯学、査読有、Vol. 27、2009、pp. 135-140

[学会発表] (計 4 件)

- ① 中田貴、物性の異なる修復材料のサーマルサイクリング後の象牙質接着強さ、日本歯科保存学会 (第 133 回)、平成 22 年 10 月 29 日、長良川国際会議場
- ② 中田貴、浸漬溶液の違いがサーマルサイクル負荷後の象牙質接着強さに及ぼす影響、日本歯科保存学会 (第 132 回)、平成 22 年 6 月 4 日、熊本市国際交流会館
- ③ Takashi Nakata、Dentin bond strengths after thermal cycling using PCR

thermal cycler or conventional thermal cycler、Korean Academy of Conservative Dentistry, 2009 Autumn Scientific Meeting (the 132nd) The 11th Joint Meeting between KACD and JSCD、平成 21 年 11 月 13 日、Jeju, Korea

- ④ 中田貴、PCRサーマルサイクラーおよび従来型サーマルサイクル負荷後の象牙質接着強さ、日本歯科保存学会 (第 131 回)、平成 21 年 10 月 29 日、仙台国際センター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中田 貴 (NAKATA TAKASHI)
岡山大学・岡山大学病院・助教
研究者番号：00457201