

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月23日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791835

研究課題名（和文） 再石灰化象牙質へのセルフエッチング接着システムの浸透と接着

研究課題名（英文） The penetration and bonding of self-etching adhesive system to remineralized dentin

研究代表者

田中 久美子（TANAKA KUMIKO）

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号：50550802

研究成果の概要（和文）：象牙質接着修復において重要な要素となる、象牙質への接着システムの浸透に関する研究を行った。レジン-象牙質接着界面の観察を、共焦点レーザー顕微鏡の蛍光染色法を応用して行い、接着システムに配合する蛍光色素の濃度を特定した。この濃度を用いて研究を行った結果、人工再石灰化象牙質では、健全象牙質と比較して、プライマーの浸透およびレジントグの形成が劣るために、接着性が低下することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：This study relates to the penetration of the adhesion system to dentin. The resin-dentin interface observed by Confocal laser scanning microscopy. The density of fluorescent-dye which was mixed with the adhesive system was identified in this study, so it was easy to observe the penetration. In this study, while the adhesive system in sound dentin permeated the dentinal tubules, that in the artificial remineralized dentin permeated little.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：レジン-象牙質接着界面、共焦点レーザー顕微鏡、走査電子顕微鏡、象牙質微小引張接着強さ

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 一般に、接着システムの浸透は走査電子顕微鏡(SEM)にてレジン-象牙質接着界面を観

察することで検討されることが多いが、この場合、高度真空下での観察のため、観察試料体の損傷が危惧される。そこで、本研究では試料損傷

の危険が少ない共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM)での観察を行うことを考えた。CLSM での観察には蛍光染色法を用い、接着システムが象牙細管に浸透する様子を赤色に染色された像として観察することで、セルフエッチング接着システムの浸透と象牙質接着強さの関連性を評価できると考えた。

(2)臨床において接着の対象となるのは多くの場合、健全象牙質ではなく、う蝕影響象牙質である。また、う蝕影響象牙質では健全象牙質と比較し、接着性が劣ることが報告されている。その原因を、(1)で記述した CLSM でのレジネー象牙質接着界面の観察を行うことで解明することを考えた。う蝕影響象牙質を想定した人工再石灰化象牙質を使用することとした。

(3)CLSM では、400 倍程度の画像しか得られず、数千倍、数万倍の画像が得られる SEMと比較し、細部の構造は観察されない。しかし、セルフエッチング接着システムの浸透と象牙質接着性の関連性を確認する手段として、CLSM は有効な手段であると考えた。そこで、レジネー象牙質接着界面観察用試料を、CLSM および SEMで観察し、比較検討を行うことを考えた。

## 2. 研究の目的

(1)セルフエッチング接着システムの浸透を CLSMで観察するにあたり、接着システムに蛍光色素を混入する蛍光染色法を採用することとする。その際、蛍光色素が及ぼす象牙質接着への影響を考慮する必要がある。そのため、浸透の観察に適し、且つ接着に影響を及ぼさない蛍光色素の濃度の特定を行うことを目的とする。このことにより、セルフエッチング接着システムの浸透と象牙質接着強さの関係が明確となると考える。

(2)(1)で特定できた濃度の蛍光色素を用いて健全象牙質およびう蝕影響象牙質を想定した人工再石灰化象牙質の CLSM 観察用試料を作製し、界面の観察を行うこととする。また、人工再石灰化象牙質に対する接着強さを測定することとする。このようにして、健全象牙質および再石灰化象牙質におけるセルフエッチング接着システムの浸透および接着性を比較検討することを目的とする。

(3)セルフエッチング接着システムの象牙質への浸透を評価するにあたり、CLSM によるレジネー象牙質接着界面の観察が有効であるかを評価することを目的とし、レジネー象牙質接着界面観察用試料を、CLSM および SEMを用いて観察する。

## 3. 研究の方法

(1)健全象牙質に対し、セルフエッチング接着システムを用いて CLSM 観察用試料体を作製する際に、接着システムに混入する蛍光色素の濃度を 0%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.2%の8種類を設定する。各々の試料を CLSM で観察し、観察に適した濃度を特定する。次に、上記で設定した数種類の濃度の蛍光色素を混入した接着試料体を作製し、象牙質微小引張接着強さを測定し、蛍光色素が及ぼす接着強さへの影響を検討する。以上より、浸透の観察に適し、かつ、接着に影響を及ぼさない蛍光色素の濃度を特定する。

(2)う蝕影響象牙質を想定した、人工再石灰化象牙質を作製する。(1)で特定できた蛍光色素の濃度を配合したセルフエッチング接着システムを用い、人工再石灰化象牙質に対して界面の観察および接着強さの測定を行う。また、(1)で

用いた健全象牙質の結果と比較検討を行う。

(3) (1)および(2)で CLSM での観察に用いたレジナー象牙質接着界面観察用試料を、通法に従い処理し、SEM で観察を行う。観察には CLSM と同等の倍率を用い、CLSM と SEM の観察結果を比較検討する。

#### 4. 研究成果

(1)セルフエッチング接着システムの象牙質に対する浸透を、蛍光染色法を採用し、CLSM で観察した。その結果、蛍光色素の濃度が 0%～0.06%では染色が薄く、詳細を観察するには困難であった。0.07%～0.1%では、象牙細管に浸透した接着システムが赤色に呈し、適切に観察された。0.2%では、染色の濃度が高く、象牙細管が判別しづらい状態であった。また、接着強さに関しては、蛍光色素の濃度が 0.05%～0.07%では、蛍光色素を配合しない群と比較して有意差を認めず、0.08%以上の群においては有意に接着強さが低下した。このように、セルフエッチング接着システムに配合する蛍光色素は、濃度によっては視覚的に観察が困難なこと、あるいは接着強さに影響を及ぼすことが明らかとなった。検討した結果、本研究においてセルフエッチング接着システムに配合する蛍光色素の濃度は 0.07%が適切であることが示唆された。

(2) (1)で特定できた 0.07%という濃度を用いて人工再石灰化象牙質に対するセルフエッチング接着システムの浸透の観察および接着強さの測定を行った。この背景として、臨床の現場の多くの場合、接着の対象となるのが健全象牙質ではなく、う蝕影響象牙質であることから、本研究ではう蝕影響象牙質を想定した人工再石灰化象牙質を作製したものである。その結果、健全象牙質と比較して、人工再石灰化象牙質では接

着システムの浸透を示す赤色を呈した像が象牙細管内部まで達していないこと、また、レジンタグが短いことが示された。つまり、人工再石灰化象牙質においては、健全象牙質と比較し、接着システムの浸透が劣るためにレジンタグの形成も劣り、その結果、接着強さが低下することが示唆された。これまで、セルフエッチング接着システムの浸透は SEM を用いてレジンタグあるいは樹脂含浸層を観察することで評価されるのが一般的であった。今回の研究により、セルフエッチング接着システムが蛍光染色されて象牙細管に浸透する様子が CLSM での観察で明らかとなった。

(3) CLSM を用いたレジナー象牙質接着界面の観察が、セルフエッチング接着システムの象牙質への浸透を評価するうえで有効であるかを検討すべく、(1)および(2)で用いた観察用試料に対し、通法に従い処理を行い、SEM で観察を行った。通常用いられる界面の SEM 観察では、3000～5000 倍の倍率での観察が求められる。あるいは、レジンタグやボンド層をより観察するためには、10000 倍程度の強拡大が望ましい。しかし、本研究で SEM 観察を行う目的が、詳細な構造の観察ではなく、CLSM との比較のため、CLSM での観察時と同等の 400 倍の倍率で観察を行った。その結果、両者ともに界面のボンド層、および象牙細管に浸透し形成されたレジンタグが観察された。蛍光色素の配合量の異なる群のいずれにおいても、CLSM と SEM の間に明らかな違いを認めなかった。一般的に、CLSM は高分解能といいながらも SEM には解像度の点で及ぶものではないと言われている。しかし、本研究で行った、レジナー象牙質接着界面の検討手法として、蛍光染色法を用いた CLSM の活用は、観察方法のひとつとして有効であることが示唆された。

## 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 西谷佳浩、糸田俊之、星加知宏、高橋 圭、田中久美子、森本紗也子、伊澤俊次、山路公造、鳥井康弘、吉山昌宏 う蝕除去法の異なる象牙質へのセルフエッチングシステムの接着、日本歯科保存学雑誌、査読有、54 巻、2011、276-288

[学会発表](計2件)

① 田中久美子、西谷佳浩、吉山昌宏 各種根管充填用シーラーを用いた根管封鎖性に関する研究 第32回日本歯内療法学会  
2011/7/30 長崎

② 田中久美子、星加知宏、澁谷和彦、大原直子、西谷佳浩、吉山昌宏 共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)によるレジシー象牙質接着界面の観察 第134回日本歯科保存学会学術大会  
2011/6/9 千葉

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 久美子(TANAKA KUMIKO)

岡山大学・岡山大学病院・助教

研究者番号:50550802

(2)研究分担者

(3)連携研究者