

平成 21年 4月 23日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18791401

研究課題名 (和文) 象牙質コラーゲンの加水分解を最小にする接着手法の開発

研究課題名 (英文) Development of new adhesive methods to reduce hydrolysis of dentin collagen.

研究代表者

西谷 佳浩 (NISHITANI YOSHIHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：60325123

研究成果の概要：

保存修復治療が再治療となる原因の一つと考えられる象牙質コラーゲンの加水分解を最小にする接着システムは、コラーゲン分解酵素の活性値および接着耐久性の観点から判断して、疎水的なモノマーで構成されることである。しかしながら、疎水的な接着システムは初期の接着強さが低下することから、歯面処理にエタノールウェット法を応用することが求められる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,100,000	0	2,100,000
2007年度	600,000	0	600,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	240,000	3,740,000

研究分野：保存修復学

科研費の分科・細目：歯学・保存治療系歯学

キーワード：保存修復学、接着歯学

1. 研究開始当初の背景

歯科保存修復臨床において近年のコンポジットレジンを用いた接着修復技法の発展は目覚しく、接着修復直後に起こりうる術後疼痛、修復物の脱離などは著しく減少している。しかしながら一方で、術後数年以上経過した症例において、修復物周辺から発生する2次う蝕を主とした再治療の必要に迫られる機会が多い。再治療が必要となる大きな原因の一つとして、象牙質が有するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) が着目されている。すなわち、接着修復治療時に形成され

る接着界面においてMMPが活性化されることによって周辺の象牙質コラーゲンが加水分解され、接着界面の劣化が生じる。接着修復治療後の予後を良好に保つためには接着界面の劣化を最小限にする事が重要であるが、長期的な観点から接着界面におけるMMP活性の検討は全くされておらず、この点に関する情報を得ることは急務であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト抜去歯から精製した象牙質粉末を用いて、接着修復時の酸処理ならび

に光重合後のMMP活性について直後から2年後までの長期的な検討を詳細に行うことを目的とする。さらに、親水性の異なるレジンを用いて象牙質接着耐久性とMMP活性の関連性について検索を行うことによって、象牙質接着性を損なわず、かつMMP活性を抑制する接着修復技法を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

【平成 18 年度】

(実験材料および方法)

(1), 象牙質試料の作製

ヒト抜去歯を注水下でエアータービンをを用いて、エナメル質とセメント質を完全に除去した象牙質を作製する。それらを脱水して液体窒素にて凍結後、粉碎機にて球径 180 μ m以下の象牙質粉末とする。

(2), 光硬化型 2 ステップ接着材の作製

TEGDMA/HEMA/Bis-GMA ベースの光硬化型レジンを作製する。HEMA の濃度を調整して親水性が異なるレジンを試作する。

(3), 象牙質 MMP 活性の測定

象牙質粉末を酸処理のみ行ったものと酸処理後に上記で作製したレジンでコーティングしたものについて Type I Collagenase Assay KIT を用いて、MMP 活性値を測定する。すなわち、各条件下での象牙質 MMP が 24 時間後に示す Type I コラーゲン分解能をマイクロプレートリーダーにて測定する。

(4), 光硬化型レジンの吸水特性

各種試作レジンで直径 10mm, 厚さ 0.5mm のレジンディスクを作製する。試料を乾燥させた後、水中に浸漬しレジン体の重量変化を 24 時間毎に測定する。重量の増加が最大になったところで、試料を乾燥剤中に保管し、重量が最小になるまで 24 時間毎の重量変化を測定する。得られた結果から各試作レジンの吸水性をコンピューターで解析する。

【平成 19 年度および 20 年度】

(実験材料および方法)

(1), 酸処理後の象牙質 MMP が一定期間後に象牙質コラーゲンに及ぼす影響

吸水性の異なるレジンでコーティングした象牙質試料 600mg を 20ml の人工唾液中に浸漬する。適用期間は 1, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 300, 600 日後とする。各期間経過後にそれぞれの MMP 活性を測定する。また、MMP 活性測定後の象牙質試料をエポキシ樹脂で包埋した後、TEM 観察用切片を作製し、象牙質試料のコラーゲン変性部位を詳細に解析する。

(2), 象牙質接着試料の作製

歯冠部健全象牙質平坦面をリン酸処理後に 1. と同様の試作レジンを用いて象牙質接着試験用試料を作製して人工唾液中に浸漬し、一定期間経過後の象牙質接着強さを測定する。適用期間は 1, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 300, 600 日後とする。

(3), 象牙質コラーゲンの加水分解を最小にする接着システムの設計 (総括)

長期人工唾液浸漬後の MMP 活性および長期人工唾液浸漬後の象牙質接着試験の解析から得られるデータを総合的に解析する。以上の結果を踏まえて、長期間安定した強固な接着力を有し、かつ MMP 活性を抑制する接着システムを設計する。

4. 研究成果

試作した 2 ステップセルフエッチングプライマーを用いて、1 日から 300 日間水中浸漬後の象牙質 MMP 活性ならびに象牙質引張り強さを測定した。すなわち親水性の異なるセルフエッチングプライマーとして HEMA を 56wt%, 40wt%, 0wt% を配合するプライマーをそれぞれ P1, P2, P3 とし、ベースモノマーには Bis-GMA および TEGDMA を配合した。全てのプ

ライマーに接着性モノマーである MDP, 光硬化剤としてカンファーキノン, ジメチルアミノエチルメタクリレートと同量配合し, エタノール水溶液を溶媒として加えた. ボンディングレジジンについては HEMA を含まないものを B1 とし, HEMA 30wt%を配合したものを B2 とした. これらを組み合わせることによって P1B1, P1B2, P2B1, P2B2, P3B1, P2B2 の 6 条件とした. 結果を以下に示す.

(1), 象牙質 MMP 活性

無処理の象牙質の活性値 264.8 (RFU 80mg⁻¹) は全てのプライマー処理によって 10 倍以上の活性値を示した. これらをボンディングレジジンでコーティングすることによって活性値は無処理の象牙質よりも低い値を示した. HEMA を多く含む P1B2 および P2B2 は水中浸漬後 60 日までに活性値が増加する傾向を示すものの, 90 日以降では減少し 300 日および 600 日後では有意に低かった.

(2), 象牙質引張り強さ

HEMA を多く含む P1B2 は 24 時間後に 6 条件中最も高い 49.4 MPa を示す一方で, 300 日後で 28.8 MPa となり有意に低下し, 600 日後には 20.3 MPa であった.

その他の条件では 300 日以降 600 日までで有意な低下を認めなかった.

HEMA を多く含む接着システムでは, 初期の接着強さは優れた値を示すものの, 高い吸水性を有する結果, 長期間にわたりポリマーの脆弱化を引き起こすことが示唆された. さらに象牙質の MMP 活性は酸処理後の数ヶ月以内に活性値が上昇するものの, 90 日以降は減少する傾向を示し, その後 600 日後までの減少は緩やかであったことから, 象牙質接合界面に加水分解を容易に引き起こすタイミングが存在すると考えられた.

以上のことから, 象牙質コラーゲンの加水分解を最小にする接着システムには HEMA フ

リーであることが MMP 活性および長期水中浸漬後の接着強さの両方において有利である一方, HEMA を配合しないことによる初期接着強さの低下を補完する方策としては, 現在のところエタノールを応用したウェットボンディングシステムが必要となると考えられた.

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 4 件)

① Durability of resin-dentin bonds to water- vs. ethanol-saturated dentin. , Hosaka K, Nishitani Y, Tagami J, Yoshiyama M, Brackett WW, Agee KA, Tay FR, Pashley DH. , J Dent Res. 2009 Feb;88(2):146-51. 査読有

② Water sorption and solubility of methacrylate resin-based root canal sealers. , Donnelly A, Sword J, Nishitani Y, Yoshiyama M, Agee K, Tay FR, Pashley DH. , J Endod. 2007 Aug;33(8):990-4. 査読有

③ Use of Hoy's solubility parameters to predict water sorption/solubility of experimental primers and adhesives. , Nishitani Y, Yoshiyama M, Hosaka K, Tagami J, Donnelly A, Carrilho M, Tay FR, Pashley DH. , Eur J Oral Sci. 2007 Feb;115(1):81-6. 査読有

④ Effects of resin hydrophilicity on dentin bond strength. , Nishitani Y, Yoshiyama M, Donnelly AM, Agee KA, Sword J, Tay FR, Pashley DH. , J Dent Res. 2006 Nov;85(11):1016-21. 査読有

[学会発表] (計 6 件)

① Nishitani Y, Effects of eccentric vs

concentric specimen attachment on micro-tensile bond strengths using 1 step self-etching adhesive, The 3rd International Congress on Adhesive Dentistry, 2008/9/26, Xian, China

②Nishitani Y, Effects of incorporating chlorhexidine into all-in-one adhesives, 86th International Association for Dental Research, 2008/7/3, Toronto, Canada

③Pashley D, Durability of Resins Bonded to Water Vs. Ethanol-Saturated Acid-Etched Dentin, 37th American Association for Dental Research, 2008/4/3, Dallas, USA

④Nishitani Y, Effects of Incorporating into Chlorhexidine Self-etching Primers, Proceedings of the International Dental Materials Congress 2007, 2007/11/23, Bangkok, Thailand

⑤西谷佳浩, 象牙質接着におけるレジンの親水性の影響, 第 125 回日本歯科保存学会, 2006/11/9, 鹿児島

⑥西谷佳浩, セルフエッチングプライマーによる象牙質中のゼラチン分解酵素の活性化, 第 48 回日本歯科理工学会, 2006/10/28, 名古屋

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西谷 佳浩 (NISHITANI YOSHIHIRO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号 : 60325123

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし