

平成21年5月28日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19390485

研究課題名（和文）

歯質-材料ナノ界面の解析とアミノ酸・リン酸・カルボン酸系モノマーの接着機能評価  
 研究課題名（英文） Nano-level analysis of the adhesive interface between tooth and resin, and evaluation of adhesive performance of functional monomers; amino derivatives, phosphate ester and carboxylate monomers.

研究代表者

鳥井 康弘（TORII YASUHIRO）

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・教授

研究者番号：10188831

研究成果の概要：

機能性モノマーのPhenyl-P, 10-MDP, 4-METの人工アパタイト, 歯質表面への作用を調べた。10-MDPはアパタイトに吸着し10-MDP分子が2分子向かい合った層状構造のカルシウム塩を形成した。4-METはカルシウム塩形成を認めず、その反応性は10-MDPより著しく劣る。また、象牙質との反応では10-MDPでは層状構造を形成したが、Phenyl-Pでは認められなかった。アミノ酸モノマーについての検討は十分ではないが、これらの結果よりモノマーの分子構造によって歯質との反応は様々であることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
2008年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：歯科保存学

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・歯科材料学

## 1. 研究開始当初の背景

「歯質接着」は、今日の歯科医療を支える主要技術であり、より簡便な操作性と優れた接着性を目指し、今なお研究開発が続けられている。歯質接着性材料には、メーカー独自の機能性モ

ノマーが主要成分として含有されているが、水洗不要なセルフエッチングシステムの登場とともに、ますますその重要性が注目されてきた。

研究分担者の鈴木らは、歯質接着システムに含有されている3種の機能性モノマー、

4-MET, Phenyl-PおよびMDPを用い、アパタイトとの化学的相互作用を分析した(図1)。その結果、これらの中では、MDP, 4-MET, Phenyl-Pの順で化学結合能に優れていることが示唆された(J Dent Res 83:454-458, 2004)。さらに、それぞれの機能性モノマーを含有する3種のセルフエッチングシステムの接着耐久性を検討した結果、化学的結合能の優れた機能性モノマーを含有する接着システムほど優れた接着耐久性を示すことが明らかとなった(J Dent Res 84:1160-1164, 2005)。しかしながら、機能性モノマーの分子構造と歯質接着性能との関連性については、全く解明されていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、官能基の異なる機能性モノマーの接着性能を以下の手順で比較することにより、長期接着安定性に優れた機能性モノマーを理論的に設計するための基礎的知見を集積することを目的とした。

すなわち、下記の3項目を目的として、研究を行った。

(1) 各種機能性モノマーの化学的結合能の分析, (2) 歯質との接着界面をナノスケールで解析し、接着強さや長期安定性との関連性の検討, (3) 上記の成果をもとに、3次元分子解析モデルを用いて接着に有用な分子構造の検討。

## 3. 研究の方法

(1) 合成アパタイトによる化学的相互作用の検討

ヒドロキシアパタイト粉末 (HAp :

PENTAX,) および、2種類のリン酸エステル系機能性モノマーPhenyl-P, 4-METおよびMDPを用いた。まずHAp2.0gを各機能性モノマーの15wt%溶液(エタノール45wt%, 水40 wt%) 10ml中で所定時間(5min, 1h, 24h) 攪拌, 遠心分離した後, エタノールで3回洗浄ろ過し, 室温で乾燥させた。得られた試料について粉末X線回折装置(XRD : RINT2500, Rigaku)ならびにFT-NMR分光計(Varian<sup>UNITY</sup> INOVA300, Varian)にて分析した。

(2) 歯質と機能性モノマーとの相互作用の検討

10×8×1mmに切り出した牛歯下顎切歯の象牙質を15wt%の機能性モノマー溶液と反応させ, 薄膜X線回折装置(RINT2500)にて測定した。また, 反応後の象牙質を透過電子顕微鏡(TEM)にて観察した。

(3) 歯質接着界面の形態学的観察

健全ヒト抜去第三大臼歯から平坦な歯冠中央部象牙質を得た後, クリアフィルライナーボンドIIとクリアフィルメガボンドをメーカーの指示に従って接着し, 象牙質接着界面のTEM観察を行った。

(4) N-acryloyl aspartic acid および N-acryloyl glycine の合成と接着性の評価

N-AAsp は以前に報告された方法で合成した。市販のDL-アスパラギン酸(東京化成, 東京)を入手し, そのまま使用した。acryloyl chloride(東京化成)は市販品を減圧蒸留法によって精製して使用した。N-AAspの合成では, まず200mLの3N NaOHに0.2molのDL-アスパラギン酸を溶解させた後, 100-mLの3首丸底フラスコに注ぎ, 4°Cに冷却しながらacryloyl chloridを滴下し攪拌した。

混和液の pH は 6N NaOH を加えて 7 から 8 に保ち、24 時間後に 2N HCl を加え pH 1.0 にまで下げた。この反応によって得られた合成物は、酢酸エチルで抽出した。すなわち、無水硫酸ナトリウムで脱水し、減圧下で酢酸エチルを蒸散させた。*N*-AAsp は、デキケーターで減圧下で保存し、再度酢酸エチルを使用して再結晶させた。

また、*N*-acryloyl glycine (*N*-AGly)では、アクリロイルクロライドとグリシン（東京化成）との反応で合成した。合成物の構造、元素分析および  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$  核磁気共鳴 (NMR) 分析で確認した。

セルフエッチングプライマー水溶液は、室温 (24°C) で蒸留水に *N*-Aasp あるいは *N*-AGly を 1.2 mol/L の濃度で溶解して調整し、接着試験に供した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 合成アパタイトによる化学的相互作用の検討

X 線回折から、Phenyl-P ではリン酸水素カルシウム水和物 (DCPD :  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) に帰属される回折ピークが検出され、反応時間の増加に伴いピーク強度も強くなった。しかし、Phenyl-P の Ca 塩に帰属されるピークはほとんど検出されなかった。一方、MDP では 24h の試料のみ DCPD に帰属される回折ピークが認められた。また、MDP の Ca 塩に帰属する特徴的な回折ピークがすべての時間で認められた。これに対して 4-MET は、10-MDP と同じ反応時間では 4-MET のカルシウム塩の形成は認められず、反応の速度が遅いことが示唆された。

$^{31}\text{P}$  CP MAS-NMR による  $^{31}\text{P}$  原子周囲の局所構造解析の結果、Phenyl-P では 1.5ppm 付近に DCPD 由来の化学シフトが認められ、このピークは反応時間が増えるに従い強度が増加した。しかし、Phenyl-P の Ca 塩由来の化学シフトである -6.5ppm 付近のピークはほぼ検出限界以下であった。一方、MDP では、DCPD 由来のピークは 24h の試料のみに検出された。また、-0.50~-2.5ppm 付近に MDP の Ca 塩由来の化学シフトであるブロードなピークが認められ、反応時間に伴い強度も増加した。

また、薄膜 X 線回折装置 (RINT2500) で測定した結果、機能性モノマー溶液にエナメル質と象牙質の試験片を浸漬した場合、Phenyl-P では層状構造は認められなかったが、10-MDP は昨年度に行った合成アパタイト同様、象牙質との反応により層状の構造物を形成した。一方、エナメル質では層状構造の形成は認められず、単分子の層として吸着することが示唆された。このエナメル質と象牙質の違いから、機能性モノマーの反応は被着体最表面で起こるものであり、溶出したカルシウムイオン等により層状構造が形成されたのではないことが示唆された。また、15wt% の機能性モノマー溶液もエナメル質に塗布した場合は層状構造を形成しており、実際のプライマーのように歯面に塗布することにより、溶液に浸漬するよりも反応が進むことが明らかとなった。

##### (2) 歯質と機能性モノマーとの相互作用の検討

Phenyl-P では層状構造は認められなかったが、MDP は合成アパタイト同様、歯質との反応により層状の構造物を形成しており、前述

の測定結果ならびにメカニズムを裏付ける結果となった (図1)。

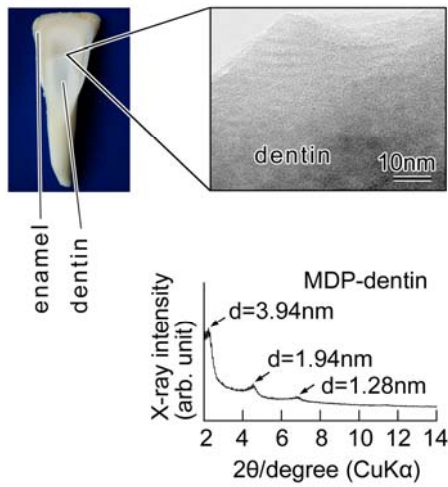


図1 象牙質とMDP 反応層の X 線回折パターンとTEM 像

(3) 歯質接着界面の形態学的観察

Phenyl-P 含有のクリアフィルライナーボンドIIでは、接着界面のコラーゲンがむき出しになっていた。一方、MDP 含有のクリアフィルメガボンドでは、コラーゲン周囲のアパタイトが残存していた (図2)。

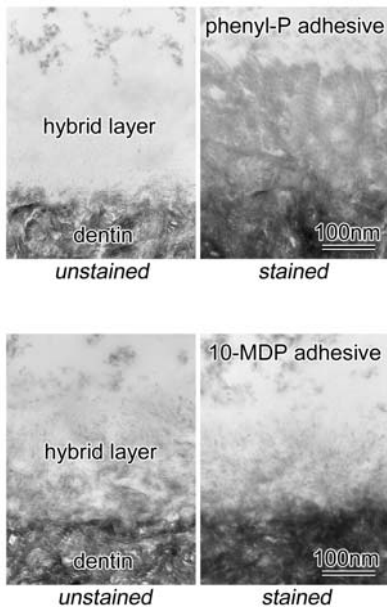


図2 歯質接着界面のTEM 像

上記の結果から、次のメカニズムが考えら

れた。

Phenyl-P は、アパタイトとの反応して析出した Ca 塩が直ちに溶液中に解離し、DCPD の析出を促進する。この反応が進み、コラーゲン周囲のアパタイトを脱灰してむき出しにするため早期に劣化する。一方、MDP ではアパタイトに吸着後、疎水性の層状構造を形成するため、MDP 含有接着システムは Phenyl-P 含有のシステムと比べて著しく優れた接着耐久性を示すと考えられる (図3)。

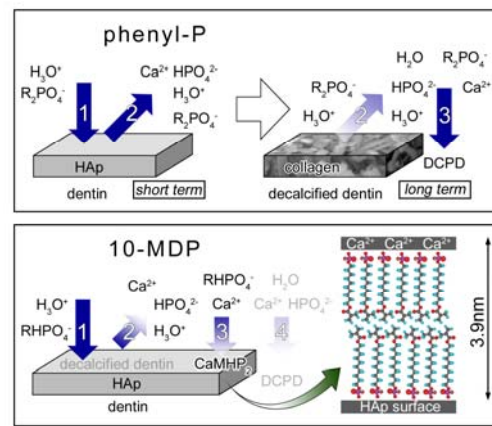


図3 各モノマーの反応メカニズム

(4) N-acryloyl aspartic acid および N-acryloyl glycine の合成と接着性の評価

アミノ酸系モノマーとしてグリシン系モノマー (N-acryloyl Glycine)、アスパラギン酸系モノマー (N-acryloyl aspartic acid) を合成し、プライマーとして象牙質接着効果を調べたところ、後者は前者より高い接着性能を示した。これらのモノマーはリン酸系モノマーと異なった挙動を示す可能性があるが、現在は合成での収率が不良で、今後合成経路を見直し大量合成して詳細な検討を行いたい。

## 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)

本研究により得られた一連の成果に関しては、既に論文の草案を作成しているが、その前段階である知見を現在、投稿中であり、当該論文を引用する必要があるため、投稿を控えている状況である。現在投稿中の論文について掲載許可(アクセプトの通知)を得次第、本研究の成果を投稿する。

以下は、本研究の知見を参考として、研究分担者により報告された論文である。

1. Coutinho, E., Yoshida, Y., Inoue, S., Fukuda, R., Snauwaert, J., Nakayama, Y., De Munck, J., Lambrechts, P., Suzuki, K., Van Meerbeek, B.\* (2007). Gel phase formation at resin-modified glass-ionomer/tooth interfaces. *Journal of Dental Research*, 86:656-661.
2. Van Landuyt, K.L., Snauwaert, J., De Munck, J., Coutinho, E., Poitevin, A., Yoshida, Y., Suzuki, K., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B.\* (2007). Origin of interfacial droplets with one-step self-etch adhesives. *Journal of Dental Research*, 86:739-744.
3. Van Landuyt, K.L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Coutinho, E., Poitevin, A., Suzuki, K., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B.\* (2007). Systematic review of the

chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28:3757-3785.

4. Van Landuyt, K.L., Yoshida, Y., Hirata, I., Snauwaert, J., De Munck, J., Okazaki, M., Suzuki, K., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B.\* (2008). Influence of the chemical structure of functional monomers on their adhesive performance. *Journal of Dental Research*, 87:757-761.

[学会発表] (計 0 件)

本研究により得られた主要な成果に関しては、論文を投稿した後に、学会発表を行う予定である。

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

鳥井 康弘 (TORII YASUHIRO)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・教授  
研究者番号：10188831

### (2)研究分担者

白井 肇 (SHIRAI HAJIME)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師  
研究者番号：00263591

河野 隆幸 (KONO TAKAYUKI)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号：80284074

鈴木 康司 (SUZUKI KOUJI)

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号：30304322

鈴木 一臣 (SUZUKI KAZUOMI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教

授

研究者番号：30050058

長岡 紀幸 (NAGAOKA NORIYUKI)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助

教

研究者番号：70304326

(3)連携研究者

なし