

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2013

課題番号：22592109

研究課題名(和文) 1ステップ型接着システムの臨床的スミア層溶解能に基づく分類と短・長期的接着性能

研究課題名(英文) Classification of one-step adhesive systems based by the ability to remove clinically produced smear-layer and evaluation of their short- and long-term bonding effectiveness

研究代表者

井上 哲 (INOUE, Satoshi)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：80184745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：1ステップ型接着システムを臨床的な条件下で作製した2種のスミア層溶解能を指標に分類するとともに、それらの短長期的接着性能を検討した。その結果、当初の目的の一つであった臨床的スミア層溶解能を指標にした1ステップ型接着システムの分類は困難であったが、近年頻りに臨床応用されている1ステップ型接着システムは、スミア層によっては長期的に接着強さが有意に減少するものもあることから、その応用には使用するバーの選択などに注意することが肝要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to classify a lot of commercially available one-step adhesive systems according to the ability to remove (dissolve) clinically produced smear-layer, and to evaluate their short- and long-term bonding effectiveness. Within the limit of the results of the present project, it is concluded that their classification as one of the aims of this study was very difficult to be performed by the ability to remove clinically produced smear-layer, and also indicated that the selection of burs or points to cut tooth substrates is thought to be very important in case of the application of one-step adhesive systems because some adhesive systems decrease the bond strength after 100,000 times thermo-cycle stress when bonded to the dentin surfaces produced with a regular-grit diamond bur.

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：歯学 臨床的スミア層 簡略化接着システム 接着性能

1. 研究開始当初の背景

国内外を問わず臨床で近年頻用されている簡略化ステップ接着システム、特に1ステップ型システムについては、製品により歯質に対する接着性能は大きく異なるとされており、さらに長期接着安定性に関しては、臨床応用されてからの期間が短いため、ほとんど報告されていない (Inoue et al, J Adhes Dent 3, 237-245, 2001; Inoue et al, Am J Dent 16, 329-334, 2003, Van Meerbeek et al, Oper Dent 28, 215-235, 2005)。その要因として、臨床的に形成された被着歯面上に存在するスミア層の厚みや性状の違い、また各材料の歯質脱灰能や化学的接着能が異なることなどが指摘されている (渡辺ら, 歯材器 13, 101-108, 1994, Yoshida et al, J Dent Res 83, 454-458, 2004)。

申請者らは、まず被着体表面のスミア層をより臨床に近づけるため、2種のダイヤモンドバーを使用して形成した象牙質研削面に対する数種類の接着システムおよびレジンセメントの微小引張り接着強さとスミア層溶解能を比較検討した結果、スミア層の溶解が充分ではない場合があり、この残存スミア層が、接着強さを低下させる因子となることを示唆した (井上ら, 日歯保存誌 43: 1211-1219, 2000; 小阿瀬ら, 日歯保存誌 47: 87-109, 2004)。

しかしながら、実際の臨床の場では、使用されるバーはダイヤモンドバー、スチールバー、カーボランダムポイントなど多岐に渡っており、その際のスミア層の厚みと接着強さの関係や接着界面の超微細構造、長期間負荷が加えられた場合の接着性能、さらには機能性モノマーと歯質との化学的接着能の詳細については全く不明であった。そこで申請者らは平成15年度 - 17年度に採択された科学研究費補助金を用い、市販されている異なった機能性モノマーを用いた簡略化ステップ型接着システムの短・長期的接着性能を、まずは臨床的な条件をシミュレートした #600SiC 研削被着面 (象牙質) に対する接着強さと、その接着界面の超微細構造を指標に比較検討した。その結果、ナノ相互作用層形成に分類される簡略化ステップ型接着システムは酸処理される歯質の量 (深さ) が少なく、レジンの浸透が十分に期待できるため、劣化の少ない長期に安定な材料であること (Koshiro et al, J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater 77B: 401-408, 2006)、簡略化ステップ型接着システムに含有されている機能性モノマーの中には歯質の Ca イオンと化学的相互作用を示すものがあること (Yoshida et al, J Dent Res 83: 454-458, 2004)、象牙質接着界面の長期安定性は、機能性モノマー自体の加水分解安定性や機能性モノマーと象牙質との化学的相互作用に依存していること (Inoue et al, J Dent Res 84: 1160-1164, 2005) などを明らかにした。

さらに、申請者らは臨床的な条件で作製し

た種々のスミア層の超微細構造を詳細に解析し、さらにそのスミア層が1ステップ接着システムの短長期的接着性能に及ぼす影響を検討した結果、スミア層の厚さは使用する切削器具に左右されること、接着システムによっては厚いスミア層も除去できるので、スミア層は接着性能に必ずしも影響を及ぼさないこと、および1ステップ接着システムは長期的に接着性能が低下することを示唆した (日歯保存誌 52: 27-38, 2009)。

2. 研究の目的

1ステップ接着システムの臨床的スミア層溶解能は製品によって異なることが、申請者らの平成18年度 - 20年度に採択された科学研究費補助金の研究課題により一部判明しているため、平成22年度以降の4年間で、現在市販されている1ステップ型接着システムの多くについて検討し、その結果から1ステップ型接着システムの分類を行う。同時に、サーマルサイクリング負荷試験前後の接着強さおよび電子顕微鏡による接着界面の超微細構造を指標に、これまで行ってきた短・長期的接着性能について明らかにすることである。

3. 研究の方法

実験方法は、1ステップ接着システムの臨床的スミア層溶解能の検討と短・長期的接着性能の検討の二つに大きく分けられる。

(1) 臨床的スミア層溶解能の検討

走査型電子顕微鏡(SEM)による観察

研削象牙質面を汚染しないよう注意しながら、レギュラーダイヤモンドポイントにて根部を切断し、研削面側の厚みが2mm程度残るように根面側からスリットを形成した。それらの研削象牙質面を、6種の1ステップ接着システム、すなわち Clearfil Tri-S Bond (クラレ; TS), Hybrid Coat II (サンメディカル; HC), BeautiBond (Shofu; BB), Bond Force (トクヤマデンタル; BF), Absolute 2 (デンツプライ三金; AB), あるいは G-Bond Plus (ジーシー; GP) を用い、メーカーの指示に従って処理した後、光照射は行わず、ただちに30秒間アセトン洗浄した(各2本)。その後、試料をエタノール系列脱水し、室温にて24時間放置乾燥させたのち、スリットに合わせて割断した。割断面および処理面に Au-Pd 蒸着 (E-1040, Hitachi) を行い、SEM (S-4000, Hitachi) にて観察した。

透過型電子顕微鏡(TEM)による観察

上述の SEM 観察用試料からおよそ1mm×7mmの切片を切り出し、Van Meerbeek らの方法 (J Dent Res, 77, 50-59, 1998) に従って固定脱水包埋した。その後、ダイヤモンドナイフ (Diatome, Switzerland) を使い、ウルトラミクロトーム (Ultracut UCT, Leica Microsystems, Switzerland) を用いて厚さ約80nmの超薄切片を作製し、TEM (H-800, Hitachi) にて観察を行った。

(2) サーマルサイクリング負荷試験による長期接着耐久性の検討

試料の作製

0.5% クロラミン T 水溶液(4) 中に保存されていた 30 本のヒト抜去健全大白歯を用い、前述の各種スミア層の観察と同様の方法で 2 種(レギュラーおよび#2000)の可及的平坦な研削象牙質面を得た。これら 2 種の研削象牙質面に、6 種の 1 ステップ接着システム、すなわち Clearfil Tri-S Bond (クラレ; TS), Hybrid Coat II (サンメディカル; HC), BeautiBond (Shofu; BB), Bond Force (トクヤマデンタル; BF), Absolute 2 (デンツプライ三金; AB), あるいは G-Bond Plus (ジーシー; GP)を用いてメーカーの指示通り接着操作を行い、コンポジットレジン(Z-100, 3M)を高さ約 7mm になるよう築盛し、光照射を行った(レギュラー各 3 歯、#2000 各 3 歯)。

それらの試料を 37 °C 水中に 24 時間保存した後、Isomet にて歯軸に平行なスティック(ビーム)型試料(1×1mm)を切り出した。サーマルサイクリング(TC)負荷試験を行わない試料は後述の方法にて接着強さの測定を行った。

サーマルサイクリング負荷試験

スティック型に調整された試料を 100,000 回 TC(5 °C および 55 °C の水中に各 60 秒間浸漬)負荷試験に供した。

微小引張り接着強さ(μ TBS)の測定

TC 負荷無しの試料および TC 負荷終了後の試料について微小引張り接着強さを測定した。測定には卓上万能試験機(EZ-test, Shimadzu)を用い、クロスヘッドスピード 1mm/min にて行った。統計学的検索には、一元配置分散分析および Scheffe の多重比較を用いた($p < 0.05$)。

TEM 観察

TC 負荷有無のダンベル型試料を、接着界面を中心に直径約 3mm 程度の大きさより小さくなるようにレギュラーダイヤモンドポイントを用いてトリミングし、前述の各種接着システムのスミア層溶解能の TEM 観察と同様に、固定、脱水、包埋後、ダイヤモンドナイフにて厚み約 80nm の超薄切片を切り出し、TEM 観察した。

4. 研究成果

(1) 臨床的スミア層溶解能の観察

SEM による観察(図 1)

図 1 に TS と AB の臨床的スミア層溶解能とコントロール(象牙質表面のみ)を示した。TS においては、#2000 研削象牙質表面ではスミア層は脱灰され、象牙細管が観察されたが、断面の細管中にはスミアプラグが残存していた。これに対し、レギュラー研削象牙質表面表面はスミア層で覆われており、細管部のひび割れ様の像が認められた。断面の象牙細管はスミアで埋まり、細管内にはスミアプラグが認められた。同様の像が、HC、GP、BF、および BB のレギュラーおよび#2000

研削象牙質の表面および断面においても観察された。一方 AB においては、#2000 およびレギュラーいずれの研削象牙質表面においてもスミア層は除去され、象牙細管は開口し、スミアプラグは認められなかった。特に細管開口部が漏斗状に広がっており、管周象牙質が脱灰されていた。

以上のことから、今回使用した接着システムの中で、いずれの研削面においても AB が最も強いスミア層溶解能を持つことが示唆された。これは、AB が特に強い酸性度(pH1.8)を持つことによると考えられた。

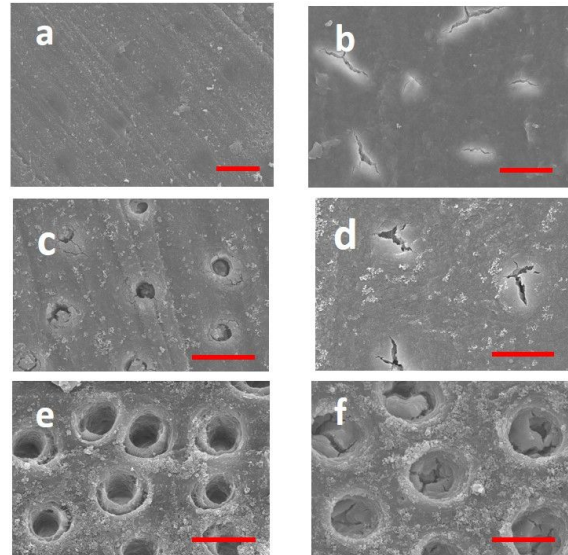


図 1 . 臨床的スミア層溶解能の SEM 像

a : #2000 研削象牙質表面(コントロール) b : レギュラー研削象牙質表面(コントロール) c : TS による #2000 研削象牙質表面、d : TS によるレギュラー研削象牙質表面、e : AB による #2000 研削象牙質表面、e : AB によるレギュラー研削象牙質表面

Bar = 5 μ m

ただし、GP の pH は 1.5 程度であるものの、スミア層の除去に関しては他のマイルド(BF、BB)や超マイルド(TS、HC)な材料と同様の像を示した。その理由として処理時間や構成成分の違いなどが影響したと考えられた。

臨床的スミア層溶解能の TEM による観察

前述のスミア層溶解能を検討するために表面を SEM 観察した試料を用い、通法に従い TEM 観察した。その結果、AB の#2000 およびレギュラーいずれの研削面においても、蒸着した Ag-Pd 粒子層の下部にアパタイトが脱灰したコラーゲン線維網と思われる層が見られた。また象牙細管開口部は漏斗状に広がっていた。一方 TS や HC、GP、BF、および BB では、レギュラー研削面の方がスミア層が残存していると思われる像が観察され、また細管中にはスミアプラグが認められた。(2) 短・長期的接着性能の検討(図 2 および図 3)

サーマルサイクリング(TC)負荷試験による長期接着耐久性の検討

レギュラー研削面に対する接着強さ(図2)は、TCなしの接着強さと比較し、GPでは32.3MPaから11.1MPaへ、BFでは24.0MPaから9.4MPaへ減少し、統計学的に有意に低い値を示したが、その他のシステムではTC前後で有意差は認めなかった。一方#2000研削面(図3)では、すべてのシステムにおいて、TCの有無による比較で統計学的有意差を認めなかった。接着システムそれぞれのpHは、GP: 1.5, AB: 1.8-2.0, BF: 2.3, BB: 2.4, HC: 2.5, TS: 2.7であり、以上の結果は、単に酸性度(pH)の差だけでは説明できず、各システムの処理時間や構成成分の違いなどを要因として考える必要がある。

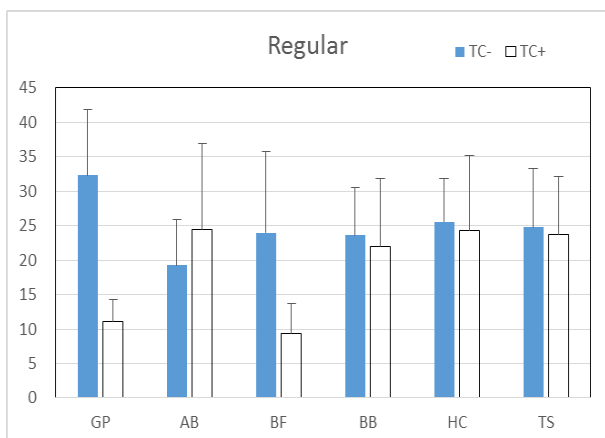


図2. TC負荷試験前後のレギュラー研削象牙質面に対する各システムの微小引張接着強さ(MPa)

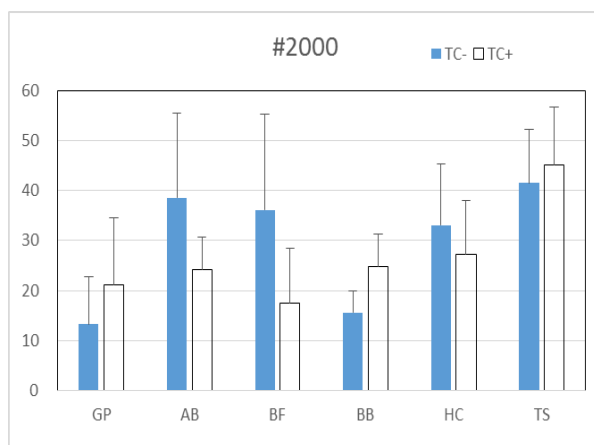


図3. TC負荷試験前後の#2000研削象牙質面に対する各接着システムの微小引張接着強さ(MPa)

TC負荷試験前後のTEM観察

現在観察用試料の作製中であり、その結果が得られるには至らなかった。本年度で本研究期間は終了するが、継続して実験を行い、最終的にTEM観察までを行い、その研究成果は国際的な学術雑誌に投稿し公表したいと考えている。

以上より、今回使用した接着システムの中で、いずれの研削面においてもABが最も強いスミア層溶解能を持つこと、スミア層の薄い#2000研削面ではサーマルサイクリング負荷は接着強さに影響しないこと、スミア層の厚いレギュラー研削面では有意に接着強さが減少するシステムがあること、が判明した。

当初の目的であった臨床的スミア層溶解能を指標にした1ステップ型接着システムの分類は困難であったが、近年頻りに臨床応用されている1ステップ接着システムは、スミア層によっては長期的に接着強さが有意に減少するものもあることから、その応用には使用するバーの選択などに注意することが肝要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)

Yoshida Y, Inoue S: Chemical analysis in dental adhesive technology. Japanese Dental Science Review 48, 14-20, 2012. 査読有

吉田靖弘、沖原 巧、長岡紀幸、井上 哲、鳥井康弘: 「誌上フォーラム: 接着試験法」従来法 引張り接着強さとせん断接着強さの測定、接着歯学 29、90-94、2011、査読無

〔学会発表〕(計2件)

Inoue S, Fukuzawa N, Fukuoka A, Sano H: Ability of one-step adhesives to remove dentin smear-layer, PER/IADR Congress Helsinki, 2012/09/14, Finlandia Hall, Finland. 福澤尚幸、福岡杏理、井上 哲、佐野英彦: 1ステップ接着システムの象牙質スミア層の除去能、日本歯科保存学会2011年度秋季学会(第135回)、2011/10/21、大阪国際交流センター(大阪市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

井上 哲 (INOUE Satoshi)

北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号: 80184745

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者

福澤 尚幸(FUKUZAWA Naoyuki)

北海道大学・大学院歯学研究科・大学院生

福岡 杏理(FUKUOKA Anri)

北海道大学病院・歯冠修復科・医員

(5)海外共同研究者

Bart Van Meerbeek

ベルギー王国ルーベンカソリック大学
医学部・教授