

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 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592128

研究課題名（和文）新規ワンステップボンディング材の接着システムの構築

研究課題名（英文）Development of adhesion system for one-step step bonding agent

研究代表者

西山 典宏 (Nishiyama Norihiro)

日本大学・松戸歯学部・教授

研究者番号：90112953

研究成果の概要（和文）：

MDP の添加量の異なる 5 種のワンステップボンディングを調製し、これをエナメル質あるいは象牙質に作用させ、歯質アパタイトの脱灰過程を通して生成される MDP のカルシウム塩 (MDP の Ca 塩) の生成量を決定し、MDP のカルシウム塩の生成量がボンディング材のエナメル質および象牙質接着耐久性に及ぼす影響を検討した。その結果、エナメル質に対するボンディング材の接着耐久性は MDP の Ca 塩の生成量が 35.4 mg/g 以上で、象牙質では 37.2 mg/g 以上で低下する傾向を示し、その低下率は象牙質の方がエナメル質より大きいことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

To determine the amount of 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP)-calcium (MDP-Ca) salt produced through demineralization of enamel or dentin by MDP, we designed a series of MDP-based one-step adhesives with different amounts of MDP. The null hypotheses were that (1) the amount of MDP-Ca salt produced through demineralization of enamel was the same as dentin, and (2) the amounts of MDP-Ca salt have no effect on the bonding performance. Increases in the amount of MDP resulted in the increased amount of MDP-Ca salt. The production amount of MDP-Ca salt of the dentin was 1.3 times higher than that of the enamel. The predominate species of the MDP and enamel reactants was a calcium hydrogen phosphate of MDP. In contrast, the dentin yielded both calcium phosphate and calcium hydrogen phosphate of MDP. Increases in the amount of MDP-Ca salt decreased both enamel and dentin bond strengths. An optimal concentration of MDP exists in one-step self-etch adhesive.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬系

科研費の分科・細目：保存

キーワード：ワンステップボンディング材、酸性モノマーのカルシウム塩、NMR

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な技術であり、今なお歯質接着性モノマー

の開発が行われている。

近年、コンポジットレジン修復の操作術式の簡略化を図る目的でワンステップボンデ

イング材が開発され、その歯質接着性が検討されている。

ワンステップボンディング材は、分子内にリン酸基またはカルボキシル基を有する酸性モノマー、親水性モノマー、多官能性モノマー、有機溶媒および水から構成され、歯質アパタイトの脱灰、象牙質のプライミングおよびボンディングが同時に行なえる材料である。しかし、ワンステップボンディング材による歯質アパタイトの脱灰量は極めて少ないため、その作用機構を分子レベルで検討した報告はほとんど見うけられない。

これまでに申請者らは、NMR法を用いてワンステップボンディング材と歯質アパタイトの相互作用の詳細を検討し、ワンステップボンディング材に含まれる酸性モノマーは歯質アパタイトの脱灰過程を通してカルシウム塩を形成すること、しかし、その大部分は未反応の酸性モノマーとしてボンディング層に残留することを明らかにしてきた。

これら酸性モノマーのカルシウム塩や未反応の酸性モノマーのボンディング材/エナメル質あるいは象牙質接着界面への残留は、歯質に対するレジンの接着強さおよび接着耐久性を低下させる可能性があるとして指摘されている。しかし、酸性モノマーと歯質アパタイトとの反応について定量的に検討した報告はほとんどなく、これらに関する検討は未だ十分に解明されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、酸性モノマーとしてMDP、象牙質接着促進モノマーとして4-META、ベースモノマーとしてUDMAおよびTEGDMAを用いたワンステップボンディング材を調製し、ボンディング材へのMDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響、さらにMDPのCa塩の生成量がボンディング材のエナメル質および象牙質接着耐久性に及ぼす影響を検討した。

3. 研究の方法

(1) 材料

①ワンステップボンディング材の調製

酸性モノマーとしてMDP、象牙質接着促進モノマーとして4-META、ベースモノマーとしてUDMAおよびTEGDMAを用いて混合モノマーを調製し、これに光増感剤としてカンファーキノン、重合促進剤としてジメチルアミノ安息香酸エチルをそれぞれ1 mass%、また重合禁止剤としてヒドロキシモノメチルエーテルを2,000 ppm添加した。つぎに、この混合モノマーにアセトン水溶液を加え、MDPの添加量の異なる5種のワンステップボンディング材を調製した(表1)。

表1 ワンステップボンディング材の略号と組成

Code	EX0	EX3	EX6	EX10	EX15
MDP	0.0	3.0	6.0	10.0	15.0
4-META	9.4	9.4	9.4	9.4	9.4
TEGDMA	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
UDMA	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Water	11.2	11.2	11.2	11.2	11.2
Acetone	69.3	69.3	69.3	69.3	69.3
Filler	4.26	4.26	4.26	4.26	4.26

②歯質粉末の調整

ダイヤモンドバーを装着したエアータービンを用いウシ前歯歯冠エナメル質または象牙質を注水下にて切削し、冷却水をビーカーに集め、デカンテーション法を用いてそれぞれの切削片を回収した。つぎに、切削片を蒸留水で3回水洗した後、20°C恒温室で乾燥し、エナメル質および象牙質切削片の粉末を作製した。

(2) 方法

①¹³C NMR スペクトルの測定

ボンディング材(1.000 g)にエナメル質または象牙質粉末(0.200 g)を懸濁し、10分間振盪・攪拌した。その後、これらの懸濁液を遠心分離し、得られたボンディング材上澄み液の¹³C NMR スペクトルをEX270 スペクトロメーター(日本電子)にて測定した。なお、コントロールとして歯質成分と反応させる前のボンディング材のNMRスペクトルを測定した。NMRの測定には溶媒としてジメチルスルフォキシド(DMSO)を用いた。

②MDPのCa塩の生成量の決定

UDMAビニル基メチレンカーボンのNMRピークに対するMDPビニル基メチレンカーボンのNMRピークの相対強度を求め、歯質成分添加前後におけるMDPビニル基メチレンカーボンNMRピークの強度の減少率を求め、ボンディング材中のMDPの濃度変化からMDPのCa塩の生成量を算出した。

③接着試験用試験体の作製

ウシ前歯唇側歯冠部を耐水カーバイトペーパー#100、#600、#1,000を用いて平滑に研磨し、新鮮エナメル質または象牙質を露出させ、試料面とした。試料面をエアブローし、その表面に内径3.2 mmの穴の開いた両面テープを貼り付けた。その内面にボンディング材を20秒間処理させ、強圧のエアブローを施し、溶媒を除去した。その後、光照射器 Light Curing Unit (XL3,000、3M ESPE)を用いてボンディング材に10秒間可視光線を照射し、重合・硬化させた。ただちに、両面テープ上にシリコーンリング(内径3.2 mm、厚さ1.0 mm)を仮着し、スティッキーワックスにて固定した後、コンポジットレジペースト(クリアフィルAP-X、A3.5、クラレノリタケ)をシリ

コーンリング内に充填し、光照射を20秒間行い、レジンを重ね・硬化させた。その後、作製した試験体を37℃水中(恒温槽)に保管した。なお、接着試験体は各ボンディング材について30個作製した。

24時間後試験体を水中から取り出し、各ボンディング材について試験体を15個ずつ2群(3万回のサーマルサイクル負荷群と非負荷群)に分割した。サーマルサイクル負荷群の試験体は、5℃と55℃の恒温水中に1分間ずつ浸漬した。移動時間は7秒とした。

④圧縮せん断接着強さの測定

サーマルサイクル負荷群および非負荷群の試験体を治具で固定し、インストロン型万能試験機(TG-5KN、Minebea)に設置した後、エナメル質または象牙質に対するボンディング材の圧縮せん断接着強さを測定した。なお、測定はクロスヘッドスピード1.0 mm/minにて行った。

⑤破壊様式の観察

せん断接着試験後のエナメル質および象牙質の表面を、50%、60%、70%、80%、90%、100%エタノール水溶液で昇順脱水し、三級ブチルアルコールに24時間浸し、凍結乾燥器(FDU-1200、EYELA、Tokyo、Japan)にて乾燥させた。その後、アルミニウムの台に固定し、白金パラ合金で蒸着した。接着試験後のエナメル質または象牙質の破断面を走査型電子顕微鏡(S-2150、Hitachi、Japan)を用い、倍率は50倍から3000倍にて破断面全体を観察した。試験体の破断様式は、Adhesive Remnant Index(9)を用いて4つのカテゴリーに分類した。カテゴリーは、① Score=0:レジンが歯質に残留していない、② Score=1:歯質に残留するレジンが接着面積の半分以下、③ Score=2:歯質に残留するレジンが接着面積の半分以上、④ Score=3:歯質全体にレジンが残留しているとした。

(3) Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDX分析)

サーマルサイクル後せん断接着試験によりエナメル質または象牙質表面から破断したEX-6およびEX-15ボンディングレジンをアルミニウムの台に固定し、白金パラ合金で蒸着した。エナメル質または象牙質から破断したレジン面のEDX分析(リン、カルシウム、ケイ素)を行った。なお、測定には、走査型電子顕微鏡(Field Emission SEM、JSM-7001F、JEOL、Tokyo、Japan)を用い、倍率は5,000倍にて行った。

(4) 統計処理

有意差検定は得られたデータをone-way analysis of variance (ANOVA)にて分散分析した後、Turkeyを用い多重比較検定を行った($p < 0.05$)。サーマルサイクル負荷群と非負荷群の有意差検定は、t検定を用いて行った($p < 0.05$)。

4. 研究成果

(1) ワンステップボンディング材へのMDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響

ワンステップボンディング材へのMDP添加量が増加するにつれて、MDPのCa塩の生成量は増大した。MDPのCa塩の生成量は hidroキシアパタイトの結晶化度の低い象牙質の方が結晶化度の高いエナメル質より多いことがわかった。

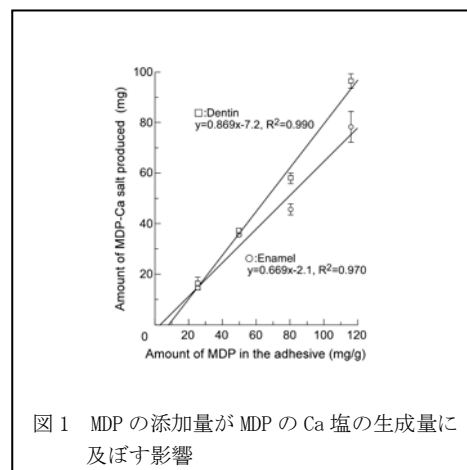


図1 MDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響

(2) MDPのCa塩の生成量がエナメル質および象牙質接着性に及ぼす影響

サーマルサイクル負荷前のエナメル質に対するボンディング材の接着強さはMDPのCa塩の生成量が増加するとともに上昇し、約20 MPaに達した。しかし、接着強さはMDPのCa塩の生成量が35.4 mg/g (EX-6)以上ではわずかに低下する傾向を示した。

象牙質接着においても同様に、接着強さはMDPのCa塩の生成量が増加するにつれて上昇し、約16 MPaに達した。しかし、接着強さはMDPのCa塩の生成量が37.2 mg/g (EX-15)以上では大きな低下を示した。

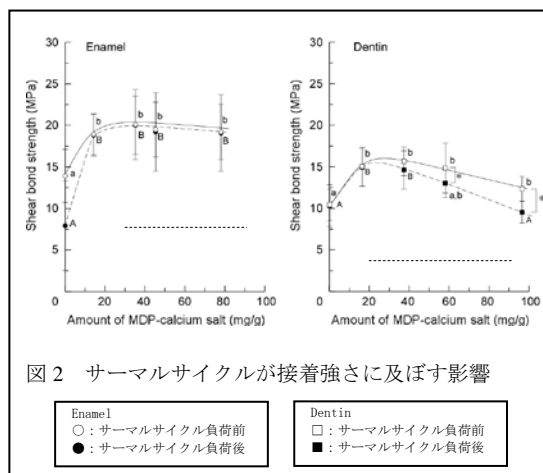


図2 サーマルサイクルが接着強さに及ぼす影響

エナメル質接着においては、サーマルサイクルを負荷すると、MDPのCa塩の生成量がゼロの時、すなわちEX-0ボンディング材では、接

着強さが有意に低下した ($p < 0.05$)。しかし、MDPのCa塩の生成量が14.5 mg/g (EX-3) 以上では、接着強さの低下はほとんど見られず、サーマルサイクル前後の接着強さの間に有意差は認められなかった。

しかし、象牙質接着においては、サーマルサイクルを負荷すると、接着強さの低下が認められ、MDPのCa塩の生成量が57.9 mg/g

(EX-10) 以上では、サーマルサイクル負荷後の接着強さはサーマルサイクル負荷前に比較して有意に低下した ($p < 0.05$)。

(3) 接着試験後のエナメル質および象牙質破断面のSEM観察

MDPのCa塩の生成量が破壊様式 (ARI Score) に及ぼす影響を図3、4に示した。また、接着試験後に得られた典型的なエナメル質および象牙質破断面のSEM像を合わせて示した。

サーマルサイクル前のエナメル質では、ボンディング材がエナメル質表面に残留するため、MDPのCa塩の生成量の増加に伴いARI Score=2の占める割合が増加し、エナメル質表面の研磨傷は、明瞭に観察しにくくなった。しかし、MDPのCa塩の生成量が45.6 mg/g

(EX-10) 以上になると、ARI Score=1の占める割合が増加し、エナメル質表面の研磨傷がわずかに見え始めた。

しかし、サーマルサイクルを負荷すると、ボンディング材がエナメル質表面に残留する面積が減少するため、サーマルサイクル前の破壊様式と比較してARI Score=1の占める割合が増加した。その割合は、MDPのCa塩の生成量増加に伴い増加し、MDPのCa塩の生成量が78.3 mg/g (EX-10) 以上では研磨傷がより明瞭に観察された (図3)。

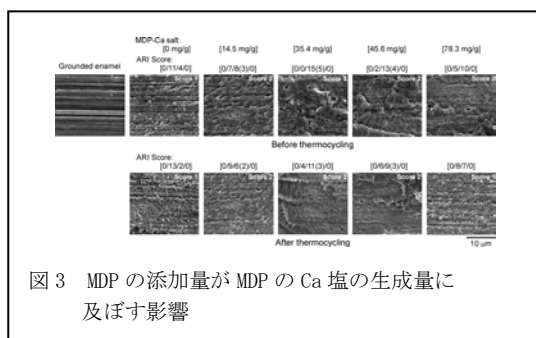


図3 MDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響

一方、サーマルサイクル前の象牙質では、MDPのCa塩の生成量が増加するにつれて、ARI Score=2の占める割合が増加し、ボンディング

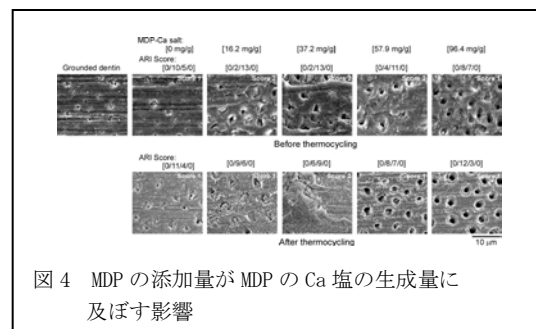


図4 MDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響

材が象牙質に残留する面積が増加するため、象牙細管は観察されにくくなった。しかし、MDPのCa塩の生成量が96.4 mg/g (EX-15) では、ARI Score=1の占める割合が増加して、象牙細管が露出し、管間象牙質表面に研磨傷も観察された。

サーマルサイクルを負荷すると、サーマルサイクル前の破壊様式と比較してARI Score=1の占める割合が増加した。MDPのCa塩の生成量が57.9 mg/g (EX-10) 以上では象牙細管や研磨傷がわずかに見え始め、96.4 mg/g (EX-15) では象牙細管内に管周象牙質が明瞭に観察された (図4)。

(4) エナメル質および象牙質から破断したボンディング材破断面のEDX分析

サーマルサイクル負荷後のEX-6およびEX-15ボンディング材破断面のEDXイメージ像を図5 (エナメル質から破断したボンディング材面) および6 (象牙質から破断したボンディング材面) にそれぞれ示した。

エナメル質から破断したボンディング材においては、MDPのCa塩の生成量が35.4 mg/g (EX-6) から78.3 mg/g (EX-15) に増加すると、破断様式が界面破壊へと推移するため、シリコンは均一に分布するようになり、カルシウムとリンがオーバーラップする部位が広く分散分布するようになった (図5)。

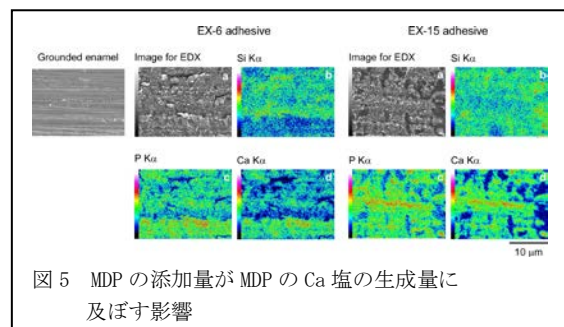


図5 MDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響

しかし、象牙質面から破断したボンディング材においては、MDP-Ca塩の生成量が37.2 mg/g (EX-6) から96.4 mg/g (EX-15) に増加すると管間象牙質剥離面には研磨傷、象牙細管から剥離したレジスタグ基底には象牙質コラーゲン線維が観察される。管間象牙質ではシリコンは均一に分布しているが、レジスタグ部のシリコン濃度は低く、カルシウムとリンはレジスタグ部に局在化して分布し、管間象牙質にはカルシウムとリンの濃度は低い

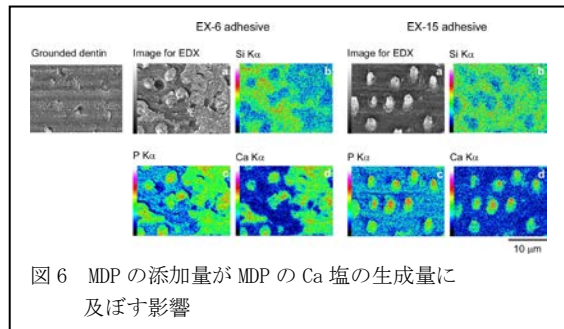


図6 MDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響

ことが判明した。

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 3 件)

(1) 西山典宏、岩井仁寿、藤田 光、岩井啓寿、高橋治好、矢口剛宏、池見宅司、4-META 添加ワンステップボンディング材の開発、歯科材料・器械、有査読有、30 巻、2011、259-265

(2) Hitoshi Iwai and Norihiro Nishiyama、Effect of calcium salt of functional monomer on bonding performance、Journal of Dental Research、有査読有、91、2012、1043-1048

(3) Hitoshi Iwai、Kou Fujita、Hiroto Iwai、Takuji Ikemi、Haruhiko Go to、Masahiro Aida、Norihiro Nishiyama、Development of MDP-based one-step self-etch adhesive effect of additional 4-META on bonding performance、Dental Material Journal、有査読有、32(1)、2012、1-9

[学会発表] (計 5 件)

(1) 岩井仁寿、藤田(中島)光、根本章吾、岩井啓寿、西山典宏、池見宅司：新規ワンステップボンディング材の開発に関する研究

(1)、第133回日本歯科保存学会学術大会、2010年10月29日、長良川国際会議場、岐阜

(2) Norihiro Nishiyama、Hitoshi Iwai、Kou Fujita、Yasuhiro Tanimoto、Ryoichiro Uchida、Haruyoshi Takahashi、Yaguchi Takehiro、Masahiro Teshima、Takuji Ikemi、Development of one-step bonding agent、International Dental Materials Congress 2011、2011年5月29日、ソウル、韓国

(3) 岩井仁寿、藤田(中島)光、根本章吾、周秦、岩井啓寿、西山典宏、池見宅司、新規ワンステップボンディング材の開発に関する研究 (2)、第135回日本歯科保存学会学術大会、2011年10月20日、大阪国際交流センター、大阪

(4) Norihiro Nishiyama、Hitoshi Iwai、Kou Fujita、Ryoichiro Uchida、Yasuhiro Tanimoto、Takuji Ikemi、Effect of Quantity of MDP Reacted on the Bonding Performance、第90回国際歯科会議、2012年06月21日、イグアス、ブラジル

(5) 西山典宏、岩井仁寿、藤田(中島)光、内田僚一郎、谷本安浩、高橋治好、矢口剛宏、渋谷 功、池見宅司、ワンステップボンディング材中のMDP濃度が歯質アパタイトの脱灰に及ぼす影響、第60回日本歯科理工学会学術講演会、2012年10月14日、九州大学医学部 百年講堂、福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西山 典宏 (NISHIYAMA NORIHIRO)
日本大学・松戸歯学部・教授
研究者番号：90112953

(2) 研究分担者

藤田 光 (FUJITA KOU)
日本大学・松戸歯学部・助手
研究者番号：00147737

會田 雅啓 (AIDA MASAHIRO)
日本大学・松戸歯学部・教授
研究者番号：40147715

後藤 治彦 (GOTO HARUHIKO)
日本大学・松戸歯学部・助手
研究者番号：70307875

池見 宅司 (IKEMI TAKUJI)
日本大学・松戸歯学部・教授
研究者番号：80102565

(3) 連携研究者

()

研究者番号：
なし