

## 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：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22791827

研究課題名(和文)アシッドベースレジスタントゾーンの精査と改質・スーパートゥースの構築

研究課題名(英文)Assesment and reconstruction od the acid-base resistant zones/the creation of theSuper tooth

研究代表者

井上 剛 (INOUE, GO)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：40431928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：これまで確認されていたアシッドベースレジスタントゾーン(以下ABRZ)はセルフエッチングプライマーシステムを用いた場合に樹脂含浸層直下に幅1 $\mu$ m程度で観察されていたが、接着操作前に再石灰化効果のあるフッ素含有の知覚過敏抑制剤等を塗布することにより、さらに厚く明瞭なABRZが確認できるようになった。また、う蝕象牙質内層に対する観察として、健全歯質に比べて表層の脱灰が進行していることから、見かけ上の厚みは増えるが接着強さなどの観点から、脆弱であることが予想されていた。しかしながら同様の処置を行うことにより、さらに明瞭なABRZが観察され、フッ素だけでなく他のイオン徐放の効果も確認できた。

研究成果の概要(英文)：The acid-base resistant zones, which were about 1 micro meter width, were observed beneath the hybrid layer when the self-etching primer bonding systems were used onto dentin surface. However, more thicker and clear ABRZs were created by applying the fluoride containing solution. And the thickness of the ABRZ on caries affected dentin was thicker than normal dentin because of the demineralization of the surface. However the tensile bond strength onto the caries affected dentin was lower than onto the normal dentin so that the quality of the ABRZ might be weak. Then, if fluoride containing solution, which is for the treatment of hyper sensitivity, could make a clear layer and other contained ions might give the good effect on the surface.

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：アシッドベースレジスタントゾーン フッ素 再石灰化 う蝕象牙質内層

### 1. 研究開始当初の背景

近年の接着性修復材料を用いたう蝕治療の進歩、発展は目覚ましい。また、現在、保存修復学分野において、初期う蝕の発生頻度は減少傾向にあるが、2次う蝕や根面う蝕の発生頻度は高齢化に伴って増加傾向にあり、修復治療後の2次う蝕は、依然として大きな問題となっている。

Tsuchiya ら (2003) は、ウシ歯根部象牙質を用い、根面と修復したコンポジットレジン周囲の2次う蝕の発生を想定し、コンポジットレジンと象牙質との周囲を人工脱灰液を用いて、人工2次う蝕を発生させて、その微小構造をSEM観察した。その結果、2次う蝕の発生の様相は用いた接着材料により異なり、樹脂含浸層の直下に酸・塩基抵抗層 (Acid-Base Resistant Zone、ABRZ) と呼ばれる新しい層が観察された。井上 (申請者) ら (2005) はこの方法を改良することにより、SEMを用いて人工2次う蝕による接着界面の変化により、明瞭に観察する方法を確立するに到った。この方法を用いて、接着性コンポジットレジン修復周囲における2次う蝕のSEM観察を行ったところ、ABRZの形態をより明瞭に観察することができた。これにより、健全歯とう蝕歯ではABRZそのものの形態に違いが見られ、またそれぞれの微小硬さの違いから、接着による歯質保護が2次う蝕を抑制している結果が得られた。また、フッ素徐放能を有するセルフエッチングプライマーボンディングシステムのABRZの観察から、フッ素徐放の有無により、ABRZの形態に変化が認められることが分かった。一方、フッ素とカルシウム1つの水溶液に入れるとフッ化カルシウムの沈殿を即座に形成し、イオン化された状態での共存は難しいと考えられて来た。しかしながら、アメリカNIST (National Institute of Standards and Technology) のChow らによって、FCP溶液と呼ばれるF:Ca:P比が6:10:1になるように配合された水溶液中では、CaF<sub>2</sub>などの沈殿を起こさず安定した状態を作れることが発見された。この研究については詳細なデータはまだ少ないが、井上 (申請者) らによって、どの条件下においてフッ素の取り込み量が飛躍的に向上するかが研究され、発表された。(2009)

### 2. 研究の目的

確立した人工2次う蝕の観察方法に用いて、試作及び既存のボンディング材料を各種用いた場合の形態学的な観察をすることにより、含有成分が形態学的差異にどのように作用するか、さらに、中長期的な観察を行うことにより、材料やABRZの耐久性を判定する。また、FCP-COMPLEXやフッ素、カルシウム及びリンを含有した溶液がABRZに及ぼす影響の確認。一度う蝕などの理由によって脱灰された部位が溶液と材料の影響によってどこまで再石灰化や歯質強化に影響する

かを、近年話題になっている“Super Tooth”の形成にどのように影響するかを比較観察する。

### 3. 研究の方法

Acid-Base Resistant Zoneの性質向上、耐酸性、及び長期的耐久性を調べるために、SEM、TEM及びMicro-CTを用いて形態学的観察を行うとともに、微小硬さ試験や微小引張試験を用いて機械的性質の評価を行う。

ヒト抜去大白歯 (健全歯及びう蝕歯) を用いて被着体を作成し、既存のボンディング材を用いて試料を作製した。

フッ素濃度が及ぼす影響について、数種のフッ素濃度を試験的に含有したボンディング材を作成し、ABRZの形成にどのような影響を及ぼすかを検討した。また形成されたABRZのエリアについて、量的な分析も行った。

う蝕象牙質内層を模した被着体モデルを作製するために、天然う蝕象牙質内層と人工う蝕象牙質内層の比較を、SEM及びTMR等を用いて行った。

これまで報告されてきたABRZは材料によってさまざまな形態を持っていることから、材料によっての特性等をまとめることで、大まかな分類を行った。

これまでの報告では短期保存での報告のみであったため、長期耐久性に関する報告を行った。

脱灰抑制に関して、ABRZの観察だけでなく、マイクロCTを用いた新規の評価を行った。特に再石灰化に寄与すると言われているCPP-ACPを用い、牛歯での効果を測定した。

もともとのコンセプトである「Super Dentin」を作成し、歯質の強化を図ることを念頭に、これまでの内容をまとめた。

脱灰条件によってABRZにどのような影響を及ぼすかを、リン酸及び塩酸、既存の脱灰液を用いることで比較検討した。

また接着性修復材料の浸透性を調べるために、TOF-SIMSを用いて、特定の元素のマッピングを行い、材料間の比較検討を行う。まずはFCP溶液が象牙質に及ぼす影響について形態学的観察及び機械的性質の評価を短期的に行い、最適と考えられる塗布条件や含有条件を見出し、それを基にして“Super Tooth”の構築を目標に上記に挙げたような短期的評価を行い、さらに長期的保存後の評価につなげて行くことを目的とした。

### 4. 研究成果

フッ素濃度を0%から100%まで8段

階に分けて作成したボンディング材によって出来た ABRZ はそれぞれの濃度によって差が出た。特に 15%及び20%付近において閾値が存在し、それ以上の濃度になることで ABRZ 底部における肥厚した部分が発生し始めることが分かった。また、接着強さに関してはフッ素濃度をあげても影響がないことも分かった。

天然歯から採取したう蝕象牙質内層と、人工的に作成したう蝕象牙質内層では、TMR 分析の結果、表層から 150 $\mu$ m 付近まではミネラル密度等に有意差はなかったが天然歯における脱灰はさらに深い部位まで影響が及んでいる可能性が分かった。

ABRZ のこれまでの発表されたデータを考えると、ABRZ が樹脂含浸層直下に明瞭に観察されるもの、さらに底部において肥厚しているもの、逆に底部においてエロージョンが発現しているものの3しゅに分類された。特にワンステップではエロージョンが多く、フッ素含有材料では肥厚しているものとそうでないものが確認された。

長期保存後の接着界面においても ABRZ は明瞭に観察され、特にフッ素含有のシステムではより強化された像が確認された。一方で水中保管のみによる脱灰の影響も強いことが分かった。

$\mu$ CT を用いることで脱灰抑制の評価が経時的に行えることが確認された。従来の TMR を用いた方法と精度に差はあるものの、3D の観察など特異とする方法があり、再石灰化効果の確認において有用であることが分かった。CPP-ACP では脱灰抑制効果はあるが顕著ではないことが確認された。

歯質強化によるいわゆる「Super Dentin」の構築は、接着材料に含有される機能性モノマーの種類が界面において影響を及ぼし、またフッ素の有無などの影響も強いことが確認されている。

リン酸と塩酸、人工脱灰液による ABRZ の形成に差が出ることが確認された。協賛であるリン酸や塩酸では ABRZ が確認されるもののその幅は薄く、分断されている様子が確認され、人工脱灰液による緩徐脱灰での評価が重要であることが分かった。

FCP-COMPLEX やカルシウム、リン、フッ素を含有した溶液によって、う蝕象牙質内層は強化され、ABRZ の質も向上することが確認されている。さらに健全歯質においてはフッ素の影響で接着強さが減少するが、う蝕象牙質内層においては短期での結果で接着強さに変化はないことが分かっている。これにより、長期での評価がさらに必要で、接着耐久性の

向上や、さらには耐酸性の向上が、う蝕象牙質内層における再石灰化へつなげる指標として重要であることが示唆された。

またこれまで確認が難しかったフッ素の浸透深さの確認は TOF-SIMS を用いることで可能となった。解像度に限界はあるものの、フッ素含有のボンディング材を用いることで、ABRZ で発現した肥厚部分(表層からの深さが5ミクロン程度)よしさらに深部においてもフッ素の存在が確認できている。

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7件)

Kirihara M, Inoue G, Nikaido T, Ikeda M, Sadr A, Tagami J. Effect of fluoride concentration in adhesives on morphology of acid-base resistant zones. Dent Mater J, 査読有, No32, 2013, 578-584

Joves GJ, Inoue G, Nakashima S, Sadr A, Nikaido T, Tagami J. Mineral density, morphology and bond strength of natural versus artificial caries-affected dentin. Dent Mater J, 査読有, No32, 2013, 138-143

Inoue G, Nikaido T, Sadr A, Tagami J. Morphological categorization of acid-base resistant zones with self-etching primer adhesive systems. Dent Mater J, 査読有, No31, 2012, 232-238

Ichikawa C, Nikaido T, Inoue G, Sadr A, Tagami J. Ultra-morphologies of the dentin acid-base resistant zone of two-step self-etching systems after long-term storage in water. J Adhes Dent, 査読有, No14, 2012, 207-213

Hamba H, Nikaido T, Inoue G, Sadr A, Tagami J. Effects of CPP-ACP with sodium fluoride on inhibition of bovine enamel demineralization: A quantitative assessment using micro-computed tomography. J Dent, 査読有, No39, 2011, 405-413

Nikaido T, Inoue G, Takagaki T, Waidyasekera K, Iida Y, Shinohara MS, Sadr A, Tagami J. New strategy to create "Super Dentin" using adhesive technology: Reinforcement of adhesive-dentin interface and protection of tooth structures Japanese Dental Science Review, 査読無, No47, 2011, 31-42

Tsujimoto M, Nikaido T, Inoue G, Sadr A, Tagami J. Ultrastructural observation of the acid-base resistant zone of all-in-one adhesives using three different acid-base challenges. Dent Mater J, 査読有, No29, 2010, 655-660

[学会発表](計11件)

品川淳一、井上剛、二階堂徹、田上順次、MMA系接着充填材の接着強さと耐酸性の評価、第138回日本歯科保存学会秋季学術大会、

2013年6月27日、28日、福岡

Inoue G, Shinagawa J, Tagami J. Morphological Assessment of the Effect of Fluoride-containing Solutions onto Dentin.

5th IAD, 2013 June 14-15, Philadelphia, USA

Joves GJ, Inoue G, Hamba H, Nikaido T, Tagami J. Remineralization assessment of two-step adhesive with simulated-pulpal fluid using Micro-CT. 5th IAD, 2013 June 14-15, Philadelphia, USA

Kirihara M, Inoue G, Nikaido T, Tagami J, Momoi Y. Elemental Analysis of the Resin-dentin Interface Using TOF-SIMS. 5th IAD, 2013 June 14-15, Philadelphia, USA

Inoue G, Kirihara M, Tagami J. Long-term effects of F-Ca-P containing solution on morphology and  $\mu$ TBS. 90<sup>th</sup> IADR, 2012 June 20-23, Iguacu, Brazil

Kirihara M, Inoue G, Nikaido T, Ikeda M, Alireza Sadr, Tagami J. Relationship between F-release and morphology of acid-base resistant zones. 90th IADR, 2012 June 20-23, Iguacu, Brazil

Kirihara M, Inoue G, Nikaido T, Tagami J. Effect of fluoride concentration in adhesives on morphology of Acid-base resistant zone. 12<sup>th</sup> Joint-Scientific Meeting between KACD and JSCD, 2011 November 11<sup>th</sup>, Seoul

Inoue G, Kirihara M, Tagami J. Morphological comparison of three different self-adhesive cements after acid-base challenge. IADR, 2011 March 16<sup>th</sup>, San Diego, USA

Ichikawa M, Inoue G, Nikaido T, Tagami J. SEM Observations of the Acid-Base Resistant Zone After Long-term Storage. IADR, 2010, July 16, Barcelona

井上剛、田上順次、F-Ca-PO<sub>4</sub>混合液が acid-base resistant zoneの形成と接着強さに及ぼす影響、第132回日本歯科保存学会春季学術大会、2010年6月4日、5日、熊本

桐原大、井上剛、二階堂徹、田上順次、2ステップセルフエッチングシステムにおけるフッ素徐放性が接着強さとAcid-Base resistant Zoneの形態に及ぼす影響について、第132回日本歯科保存学会春季学術大会、2010年6月4日、5日、熊本

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

井上 剛 (INOUE, Go)

東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科・助教

研究者番号：40431928