

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23792175

研究課題名（和文） 象牙質接着界面の劣化を抑制する接着修復法の開発

研究課題名（英文） Development of a new adhesive system to reduce degradation on resin-dentin interface

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（和文）：1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩およびクロロヘキシジン接着システムに配合することによって、象牙質内因性のマトリックスメタロプロテアーゼ（コラーゲン分解酵素）活性は抑制され、長期水中浸漬後の象牙質引張接着強さの低下も抑制されることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：It was suggested that adhesive systems incorporated 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride and/or chlorhexidine reduced latent enzymatic activities in dentin and dentin bond strengths after long-term water storage.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

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：象牙質、接着強さ、マトリックスメタロプロテアーゼ

1. 研究開始当初の背景

接着修復治療を行って数年後に接着界面が劣化する原因の一つとして、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）が着目されている。接着界面で活性化されたMMPsは周辺の象牙質コラーゲンを加水分解する結果、接着界面の劣化が生じる。この問題を解決する必要がある。

2. 研究の目的

レジン-象牙質接着界面で活性化されたMMPsが周辺の象牙質コラーゲンを加水分解する結果、接着界面の劣化が生じる。この問題を解決するために本研究では、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩（EDC）を配合した接着システムを試

作り、歯面処理時に象牙質MMPsを架橋して不活化した場合の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、MMP活性を抑制する接着修復法を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

研究に用いる EDC 配合接着システムを設計し、初期の象牙質接着性および MMP 活性を抑制する EDC の適正濃度の検討を行う。さらに長期水中浸漬後の試料について MMP 活性を測定し、酸処理後の象牙質 MMP 活性に対して接着システム中の EDC および CHX の抑制効果について解析する。また、同試作レジンを用いた象牙質接着試験についても検討を行う。

(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、凍結粉碎機にて球径180 μ m以下の象牙質粉末とする。

(2)光硬化型象牙質接着システムの作製

4METを接着性モノマーとして、UDMA/水/アセトンで構成される光硬化型レジンを作製する。光重合開始剤としてカンファーキノンおよびスルフィン酸芳香族アミンを添加する。試作した接着システムに0.1~2.0% EDCおよび0.001~0.5% CHXを配合したものを本実験で使用する。

(3)象牙質接着強さの測定

歯冠部健全象牙質平坦面を上記の接着システムにて処理してコンポジットレジンにて接着した試料を象牙質接着試験用試料とする。得られた試料を精密低速切断機にて1mm幅に

薄切した後に、人工唾液に浸漬して24時間から2年間経過後の象牙質接着強さを測定する。

(4)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時間後から2年間までの長期水中浸漬後に示す 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. 研究成果

(1)EDC 配合接着システムを設計し、初期の象牙質接着性および MMP 活性を抑制する EDC の適正濃度の検討を行った。

象牙質試料については、エナメル質とセメント質を完全に除去した後に液体窒素にて凍結後、凍結粉碎機にて球径 180 μ m以下の象牙質試料を得た。光硬化型象牙質接着システムについては、4-META を接着性モノマーとして、UDMA/水/アセトンで構成される光硬化型レジンとし、光重合開始剤としてカンファーキノンおよびアミンを添加した。さらに0.1~3.0% EDC および0.001~0.5% クロルヘキシジン (CHX) を配合したものを本実験で使用した。健全象牙質に対して上記の接着システムにて処理してコンポジットレジンにて接着した試料を水中保管 24 時間経過後の象牙質接着強さを行った結果、0.5%までの配合では CHX は初期接着強さに影響しなかった。一方で、EDC の添加は濃度依存性に接着強さが低下する傾向にあり、3.0%の添加では無添加のコントロールに対して有意に低い値で

あった。象牙質 MMP 活性については、Type I Collagenase Assay KIT を用いて、MMP 活性値を測定した。その結果、EDC 配合量の増加に伴い MMP 活性は抑制される傾向を認め、3.0%配合の場合に最も高い抑制効果を認めた。CHX により初期の MMP 活性に影響はなかった。1.0% EDC および 0.5% CHX を同時に配合した場合には、比較的高い MMP 抑制効果が得られた。

(2) EDC 配合接着システムを用いて、長期水中浸漬後の象牙質引張接着強さおよび MMP 活性について検討を行った。MMP 活性の測定については、EDC あるいは CHX を配合した接着システムで処理した後にアセトンおよび水で水洗した試料と、各種接着システムで処理した試料を光硬化させて、試料をレジンコーティングした試料について測定を行った。その結果、1 年後の象牙質引張接着強さの低下率は、コントロールの 48.0%に比較して、EDC1%、2%、CHX1%、CHX2%を配合した場合は、42.1~51.3%であり、コントロールと比較して有意差は認められなかった。EDC0.5%、CHX0.5%および CHX0.5%+EDC1%を配合した場合は 16.8~19.6%であり、有意に低かった。MMP 活性については、試料をレジンでコーティングしなかった試料では水中浸漬後、活性は 6 か月間では高くなり、1 年後には低下した。レジンでコーティングした試料では、CHX0.5%、CHX1.0%、CHX0.5%+EDC1%を配合した場合は 6 か月後も MMP 活性は抑制されたが、その他の場合は活性が高くなった。1 年後においては、CHX0.5%、CHX1.0%、CHX0.5%+EDC1%を配合した場合は活性が高くなり、その他の場合は低下し

た。

以上のことから、EDC および CHX を接着システムに配合することによって、内因性象牙質 MMP 活性は抑制され、長期水中浸漬後の象牙質引張接着強さの低下も抑制されることが示唆された。しかしながら、長期間水中に暴露された酵素は変性する結果、酵素活性を失う可能性が高いことから、レジンでコーティングされた試料が 1 年後においても活性を有していると考えられた。

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 2 件)

- ① Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DL, Breschi L, Mazzoni A, Tjäderhane L, Nishitani Y, Tay FR, Pashley DH. Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. Journal of Dental Research, 査読有, Vol.92, No.1, 2013, pp.87-91
- ② Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, Imazato S, Mutluay MM, Cadenaro M, Breschi L, Nishitani Y, Tay FR, Pashley DH. The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. Journal of Dental Research, 査読有, Vol.90, No.4, 2011, pp.535-540

[学会発表] (計2件)

- ① Hoshika Tomohiro, Effects of Quaternary-Ammonium-Methacrylates on the Fracture Toughness of Resin Beams, The 90th General Session & Exhibition of the International Association of Dental Research, 平成24年6月22日, Iguacu Falls, Brazil

- ② Hoshika Tomohiro, Mineralization of resin using experimental adhesives containing hydroxyapatite, 41th American Association for Dental Research Annual Meeting, 平成23年3月22日, Tampa, Florida, USA

[その他]

ホームページ等

<http://opera.dent.okayama-u.ac.jp/>

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

(3) 連携研究者