

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462969

研究課題名(和文) 接着耐久性の高いボンディング材接着システムの構築

研究課題名(英文) Development of adhesive system of one-step self-etch adhesive with a high bond durability

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：MDPを酸性モノマーとしたワンステップセルフエッチボンディング材を調製し、これをエナメル質あるいは象牙質に作用させ、ボンディング材へのMDPの添加量がMDPのカルシウム塩(MDPのCa塩)分子種およびその生成量に及ぼす影響を検討するとともに、歯質接着性、接着耐久性の高いワンステップボンディング歯質接着システムを構築する。その結果、エナメル質はMDPモノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩を生成するのに対し、象牙質はそれらの化合物以外にMDPモノマーおよびダイマーのジカルシウム塩を生成し、その生成量はMDPの濃度の増加とともに増大することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：To determine the amount of calcium salt of MDP (MDP-Ca salt) developed during the adhesive application period to enamel or dentin, we designed a series of experimental MDP-based one-step adhesives with different amounts of MDP (EX adhesive). The effect of the concentration of MDP added in the EX adhesive on the types of the molecular species of MDP-Ca salts and their production amounts were examined. The enamel predominantly yielded mono-calcium salts of the MDP monomer and dimer, but in contrast, the dentin yielded di-calcium salts of the MDP monomer and dimer along with them. The amounts of MDP-Ca salt developed enamel and dentin increased with an increase in the amount of MDP added.

研究分野：歯科生体材料

キーワード：接着 ワンステップセルフエッチボンディング材 MDP MDPのカルシウム塩

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ィング材が開発され、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、酸性モノマー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つけられない。

これまでに申請者らは、NMR法を用いて酸性モノマーと歯質アパタイトの相互作用の詳細を分子レベルで検討し、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し、酸性モノマーのカルシウム塩の生成量はレジンの接着強さおよび接着耐久性に影響を与えることを報告してきた。

2. 研究の目的

本研究では、試作ワンステップボンディング材をエナメル質および象牙質に30秒間作用させた場合のMDPのカルシウム塩(MDPのCa塩)の生成量および分子種を決定するため、MDPのCa塩モデル化合物を合成し、その構造解析をNMR法およびx線回折法を駆使して行った。つぎに、ボンディング材の作用時間がMDPのCa塩および第2リン酸カルシウム(DCPD)の生成量におよぼす影響を検討するとともに、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に及ぼす影響を検討した。

3. 研究の方法

(1) 材料

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、混合モノマーを調製し、これに光増感剤としてカンファキノン、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1mass%、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2,000ppm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種のボンディング材を調製した(表1)。

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ピ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、ピーカーに集め冷却水からエナメル質および象牙質切削片をそれぞれ回収した。この切削片を蒸留水で繰り返し水洗した後、20℃恒温で乾燥し、

表1 ワンステップボンディング材の略号と組成

Code	(unit: g)				
	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

エナメル質および象牙質切削片粉末を作製した。

(2) 方法

MDPのCa塩モデル化合物の合成

エタノールに0.01モルのMDPを溶解した溶液を、塩化カルシウムを溶解した50%エタノール水溶液中に滴下し、MDPとカルシウムイオンを反応させ、反応生成物、MDPのCa塩反応残渣を得た。これをエタノールで繰り返し洗浄し、得られた反応残渣を室温にて乾燥させた。なお、MDPに対する塩化カルシウムのモル比(CaCl<sub>2</sub>/MDP)を0.5/1、1/1、2/1とし、3種類のMDP-Ca塩モデル化合物を合成した。

ワンステップボンディング材のエナメル質および象牙質反応生成物の作製

ボンディング材(1.000g)にエナメル質または象牙質粉末(0.200g)を懸濁し、所定時間振盪・攪拌した。反応終了後、直ちにこの懸濁液にエタノール30mLを加え、遠心分離し、上澄み液を除去した。得られた反応残渣をエタノールで繰り返し洗浄した後、室温にて乾燥させ、ボンディング材のエナメル質および象牙質反応残渣を得た。

分析

1) MDPのCa塩モデル化合物の分析

合成したMDPのCa塩モデル化合物の分析には、固体NMR法および粉末x線回折法を用いて行った。なお、NMRの測定には、EX270スペクトロメーター(日本電子)を用い、x線回折にはRINT2000ディフラクトメーター(リガク)を用いた。

2) ワンステップボンディング材のエナメル質および象牙質反応残渣の分析

上記方法に準じて、ワンステップボンディング材のエナメル質および象牙質反応残渣の分析を行った。

カーブフィット法を用いた構造解析

1) MDPのCa塩モデル化合物の構造解析

3種類のMDPのCa塩モデル化合物の固体<sup>31</sup>P NMRスペクトルをカーブフィットし、構造解析を行った。

1) ワンステップボンディング材のエナメル質および象牙質反応生成物の構造解析

上記方法に準じて、反応生成物の固体<sup>31</sup>P NMRスペクトルのカーブフィットし、構造解析を行った。

(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 ( $p < 0.05$ )。

#### 4. 研究成果

(1) MDP に対するカルシウムイオンのモル比が MDP の Ca 塩分子種に及ぼす影響

MDP と塩化カルシウムをエタノール水溶液中で反応させ、合成した 3 種の MDP の Ca 塩のモデル化合物の  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルおよびカーブフィットした  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルを図 1 に示した。

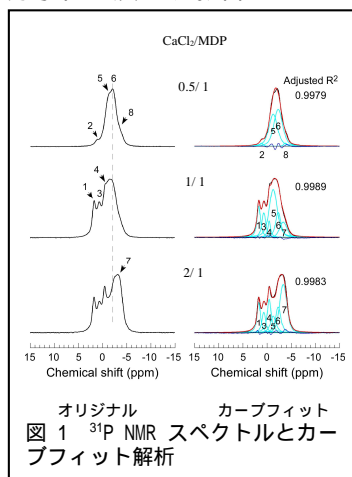


図 1  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルとカーブフィット解析

また、カーブフィットに用いた仮想ピークの化学シフトおよび帰属

表 1 仮想ピークの化学シフトおよび帰属

Simulated peak	Chemical shift	Phosphorus atom	Molecular species	Type
"1"	1.695		$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	IV
"2"	1.127	O	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	III
"3"	0.655	$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{R}$ O-R	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	V
"4"	-0.480		$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	VI
"5"	-1.296		$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	I
"6"	-2.330	$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{R}$	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	II
"7"	-3.380	OH	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	VI
"8"	-3.817		$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	III

合成した MDP の Ca 塩の分子種はカルシウムイオン濃度に強く依存し、カルシウムイオン濃度の増加に伴い、MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩以外に MDP モノマーおよびダイマーのジカルシウム塩の生成が促進されることが明らかとなった。

また、X 線解析結果 (図 2) から、MDP ダイマーのモノおよびジカルシウム塩、さらに MDP トライマーのカルシウム塩が層状構造を形成することが明らかとなった。

つぎに、EX15 ボンディング材をエナメル質および象牙質に 30 秒間作用させ、得られた反応残渣の  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルおよびこれらをカーブフィットした解析結果を図 3 に示す。脱灰

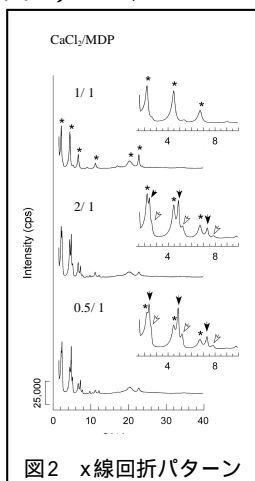


図 2 x線回折パターン

過程を通して生成される MDP の Ca 塩は MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩および DCPD (ピーク  $\gamma$ ) は非晶質であることが明らかとなった。

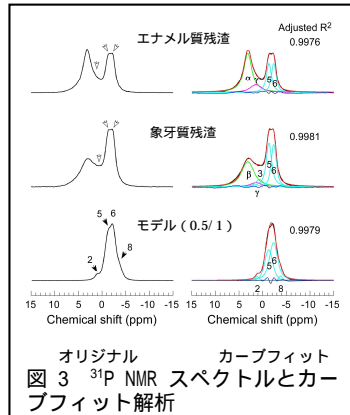


図 3  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルとカーブフィット解析

(2) 試作

ワンステップボンディング材のエナメル質および象牙質への作用時間が MDP の Ca 塩とリン酸カルシウムの生成量および MDP の Ca 塩分子種に及ぼす影響

エナメル質および象牙質反応残渣の x 線回折パターン (図 4) および  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトル (図 5 左) を基に、カーブフィットした解析結果を図 5 右に示した。なお、EX15 ボンディング材 (MDP の添加量: 116.1 mg/g) とエナメル質または象牙質の反応時間を 0.5、1、5、30、60、または 1440 分とした。

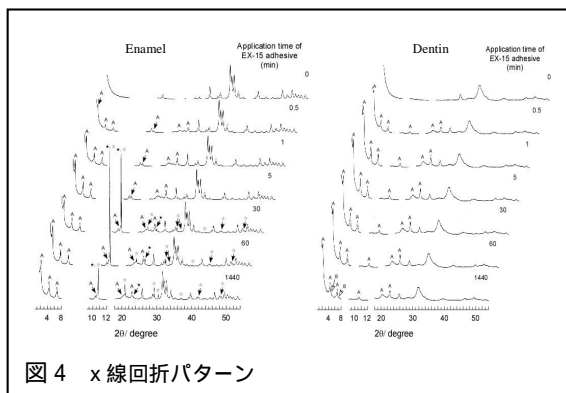


図 4 x線回折パターン

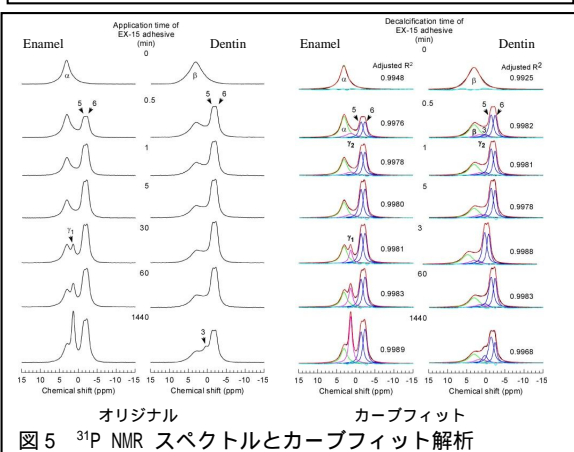


図 5  $^{31}\text{P}$  NMR スペクトルとカーブフィット解析

EX15 ボンディング材をエナメル質および象牙質に作用させた場合、MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩を生成すること、またエナメル質は作用時間が 30 分以上では結晶化した DCPD を生成するが、象牙質は非晶質の DCPD を生成することが明らかとなった。

つぎに、MDP の Ca 塩に帰属される仮想ピーク 5 および 6、さらに DCPD に帰属される仮想ピーク  $\gamma_1$  および  $\gamma_2$  のエナメル質および象牙質に対する相対強度比を求め、ボンディング材の作用時間が MDP の Ca 塩および DCPD に帰属される仮想ピークのトータル強度に及ぼす影響を検討した。

その結果 (図 6)、MDP の Ca 塩のピーク強度、つまり MDP の Ca 塩の生成量は、象牙質の場合作用時間が 5 分までは急激に上昇し、その後一定値を示すのに対し、エナメル質では 1 分後に変曲点を示し、その後 MDP の Ca 塩の生成速度は遅くなることが明らかとなった。これは、MDP が脱灰するエナメル質の Ca サイトが変化するためと考えられ、この Ca サイトの変化が結晶化した DCPD の生成に関連していることが示唆された。

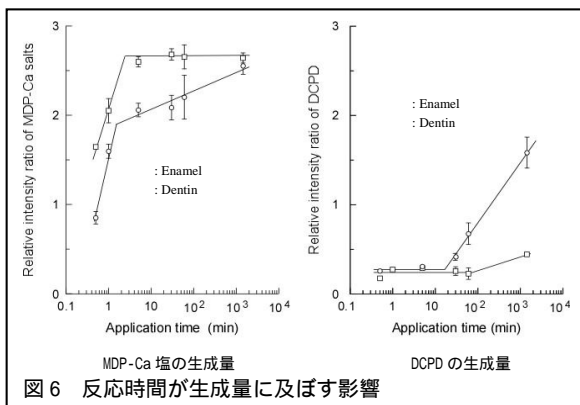


図 6 反応時間が生成量に及ぼす影響

(3) ワンステップボンディング材への MDP の添加量が MDP の Ca 塩の分子種およびその生成量に及ぼす影響

エナメル質および象牙質反応残渣の <sup>31</sup>P NMR スペクトル (図 7 左) を基に、カーブフィットした解析結果を図 7 右に示した。

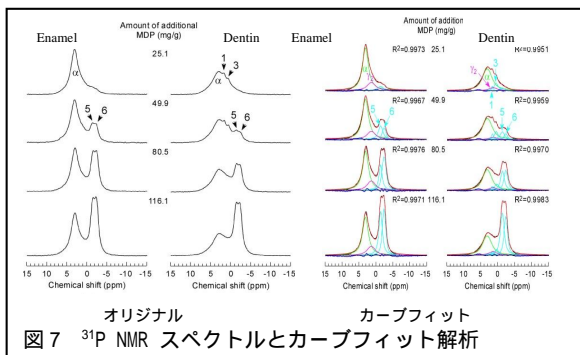


図 7 <sup>31</sup>P NMR スペクトルとカーブフィット解析

エナメル質は MDP の濃度 (25.1 ~ 118.1 mg) が増加しても、生成される MDP の Ca 塩分子種に変化はなく、MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩を生成した。一方、象牙質は、MDP の添加量が 49.9 mg 以上ではエナメル質と同様に Ca 塩分子種は MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩であったが、MDP の添加量が 49.9 mg 以下では、MDP モノマーおよびダイマーのジカルシウム塩を生成することが明らかとなった。

また、MDP の Ca 塩の生成量は図 8 に示すよ

うに MDP の濃度の増加に伴い増大することが明らかとなった。

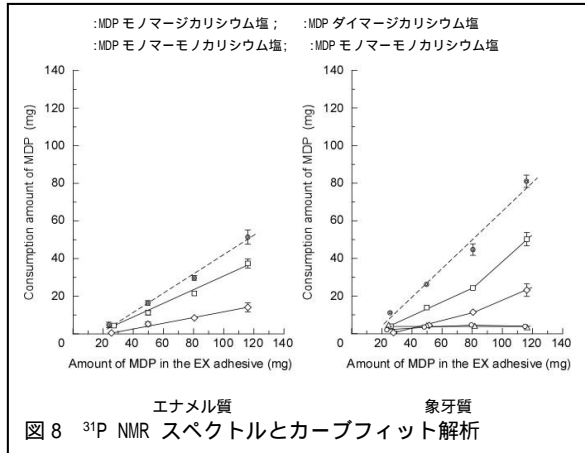


図 8 <sup>31</sup>P NMR スペクトルとカーブフィット解析

(4) ワンステップボンディング材への水の添加量が MDP の Ca 塩とリン酸カルシウムの生成量および MDP の Ca 塩分子種に及ぼす影響

EX6 ボンディング材を調製し、これを水/アセトン比 (water/acetone= 5.6/74.9、11.2/69.3、25.0/55.5) の異なるアセトン水溶液にて希釈し、ボンディング材 1 g 中の水の濃度が 46.6、93.2 および 208.1 mg のボンディング材を調整した。この EX6 ボンディング材を用い、水の添加量が MDP の Ca 塩の分子種およびその生成量に及ぼす影響を検討し、図 9 に示した。なお、MDP の添加量は 49.9 mg/g と一定である。

その結果、水の添加量の増加に伴い MDP の Ca 塩の生成量は増大すること、エナメル質は MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウム塩を生成するのに対し、象牙質は MDP モノマーおよびダイマーのジカルシウム塩を生成することが明らかとなった。

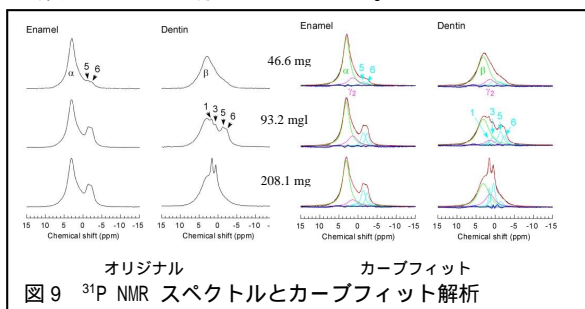


図 9 <sup>31</sup>P NMR スペクトルとカーブフィット解析

現在、MDP の Ca 塩の生成量がワンステップボンディング材の象牙質接着および接着耐久性に及ぼす影響を検討している。

#### 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 2 件)

(1) Yoko Yokota, Kou Fujita (Nakajima), Ryoichiro Uchida, Etsuko Aida, Naoko Aoki (Tabei), Masahiro Aida, Norihiko Nishiyama, Quantitative evaluation of MDP-Ca salt and DCPD after application of MDP-based

one-step self-etch adhesive on enamel and dentin、Journal of Adhesive Dentistry、査読有、印刷中、2016

(2) Yoko Yokota、Norihiro Nishiyama、Determination of molecular species of calcium salt of MDP produced through decalcification of enamel and dentin by MDP-based one-step adhesive、Dental Material Journal、有査読有、34 巻、2015、270-279

〔学会発表〕(計2件)

(1) Norihiro Nishiyama、Kou Fujita、Yoko Yokota、Ryoichiro Uchida、Yasuhiro Tanimoto、and Hideki Teshima、<sup>31</sup>P NMR analyses of enamel and dentin reactants of MDP-based one-step adhesive、International Dental Materials Congress 2015、2015年3月14日、ボストン、USA

(2) 横田容子、西山典宏、和田守康：試作ワンステップボンディング材と歯質における反応生成物の分析、第141回日本歯科保存学会2014年度秋季学術大会、2014年10月31日、山形テルサ、山形

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 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

内田 僚一郎 (UCHIDA Ryoichiro)  
日本大学・松戸歯学部・助教

研究者番号：10623960

藤田 光 (FUJITA Kou)  
日本大学・松戸歯学部・助教  
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

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：