

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：32667

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861815

研究課題名(和文)レーザー切削象牙質面に生成される熱変性層の性状分析と新規接着システムの開発

研究課題名(英文) Analysis of heat denaturation layer of an Er:YAG laser irradiated-dentin and development of new adhesive for lased-dentin

研究代表者

加藤 千景 (KATO, Chikage)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・助教

研究者番号：00459926

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：各照射条件のEr:YAG laser切削象牙質面に各種表面処理を行った試料のアザン染色、SEM、TEM観察、EPMA分析、コンポジットレジンの微小引っ張り接着試験を行った。その結果、アザン染色ではレーザー照射群表層に赤染色される熱変性層が認められた。SEM観察では大きな変化は観察されず、TEM観察ではレーザー照射群の表面に管間象牙質の表面にコラーゲン繊維の構造が不明瞭で不均一な濃く染色される薄い層が観察された。アザン染色とTEM観察では照射条件や表面処理の影響が認められた。EPMA分析では、表層にCa、P、Mg濃度の若干の低下が認められた試料があり、FとCuに変化は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Following experimental conditions, cavity preparation and surface conditioning of the cavity, were conducted using Er:YAG laser; ExpG1: #120-#600 waterproof abrasive paper (Control), ExpG2: 50mJ/10pps irradiation, ExpG3: 150mJ/10pps irradiation, ExpG4: 250mJ/10pps irradiation, ExpG5: 50mJ/10pps 150mJ/10pps irradiation, ExpG6: 150mJ/10pps irradiation H3PO4(30sec), ExpG7:150mJ/10pps irradiation H3PO4(30sec) NaClO(90sec), ExpG8: 150mJ/10pps irradiation H3PO4(30sec) silane coupling treatment, ExpG9: 150mJ/10pps 50mJ/10pps irradiation.

Azan Stains were employed heat denaturation layers colored in red were observed in the laser irradiation groups. Little changes were observed on SEM but large changes were observed on specimens in laser irradiation groups of TEM. The collagen fibers structure changes were led by the above mentioned same factors. On EPMA observation, concentration declines of both Ca, P, and Mg were observed some groups.

研究分野：歯科保存学

キーワード：象牙質 Er:YAG laser 接着 コンポジットレジン

1. 研究開始当初の背景

近年、Er:YAG: laser あるいは Er,Cr:YSGG laser レーザーを用いた歯の切削は、エアターピン切削に匹敵するまでの切削効率を示すようになった。しかしながら、セルフエッチシステムを用いた場合、これらのレーザーにより切削された象牙質とコンポジットレジンとの接着性は回転切削器具により切削された象牙質と比較して著しく劣るといわれている。この原因としては、レーザーによる切削面は熱変性層を形成することによって接着が阻害されることが指摘されている。そこで接着性を改善するために、可及的に熱変性組織を生成しないような照射設定や方法で切削するかあるいは形成後何らかの方法で熱変性組織の除去する方法が検討されている。しかし、レーザー切削はすでに平成 20 年 4 月より歯科医療保険に収載されているにもかかわらず、熱変性層が接着性低下に及ぼす影響は解明されないまま、いまだレーザー切削象牙質に対する接着法は確立されていないのが現状である。

2. 研究の目的

Er: YAG laser による切削は従来の回転切削と比較して象牙質面に対するコンポジットレジンの接着強さが低い原因としては、レーザー切削で象牙質面に形成される熱変性層の存在が指摘されている。しかしながら、熱変性層の詳細は明らかにされていない。そこで本研究の目的は、熱変性層の組織学的・生化学的性状を明らかにしたうえでレーザー切削面に対するコンポジットレジンの象牙質接着性を改善し、Er: YAG laser を用いたレーザー切削によるコンポジットレジン修復法を確立することである。

本研究は日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行っている。(許可番号: ECNG-H-234)

3. 研究の方法

(1) 熱変性層の組織学的性状分析

硬組織自動精密切断装置 (Isomet4000, Buehler) を用いてヒト抜去歯から象牙質片 (約 5 × 5 × 5 mm の立方体) を作製する。

Er:YAG laser (Erwin, tip:FTB-80, J. Morita Mfg Corp) を用いて以下の照射条件で窩洞形成と表面処理を行った。実験群 1: 耐水研磨紙 # 120 ~ # 600 (対照群)、実験群 2: 50mJ/10pps 照射、実験群 3: 150mJ/10pps 照射、実験群 4: 250mJ/10pps 照射、実験群 5: 50mJ/10pps 照射後 150mJ/10pps 照射、実験群 6: 150mJ/10pps 照射後 H₃PO₄ にて 30 秒処理、実験群 7: 150mJ/10pps 照射後 H₃PO₄ にて 30 秒処理 NaClO にて 90 秒処理。

窩洞にアザン染色を行い熱変性層の厚さの測定を行った後、同様に作製した試料の象牙質切削面の SEM 観察を行った。

その結果を踏まえ、実験条件を以下の 2

種追加した。実験群 8: 150mJ/10pps 照射後 H₃PO₄ にて 30 秒処理後シランカップリング処理、実験群 9: 150mJ/10pps 照射後 50mJ/10pps 照射。

実験群 1 ~ 9 の試料を作成し、脱灰後樹脂包埋を行った。確認のため薄切切片にトルイジンブルー染色後、超薄切切片作成しリンタングステン酸染色を行った後 TEM 観察を行った。

(2) 熱変性層の生化学的性状分析

実験群 1 ~ 9 の試料を作成し、EPMA 分析を行い、Er:YAG laser 切削により生じた熱変性層の生化学的性状変化について検討を行った。

(3) 微小接着強さの測定

ヒト抜去歯の咬合面を耐水研磨紙 # 120 ~ # 600 を用いて平坦な象牙質面 (各群につき 5 歯) を形成する。

前述した照射条件にて象牙質平坦面を約 0.5mm 切削する。

透明アクリルチューブ (内径 6 mm、高さ 3 mm) を開窓した両面テープで固定した。

各種前処理後セルフエッチシステムであるクリアフィルメガボンド (クラレノリタケデンタル) プライマー 20 秒処理後エアー乾燥を行い、ボンド塗布後ハロゲン光照射器 (キャンデラックス) 10 秒間光照射を行った。

約 1 mm の厚さでフロアブルレジン (クリアフィル マジェスティ LV、クラレノリタケデンタル) を塗布し 20 秒間光照射、次いでコンポジットレジン (クリアフィル マジェスティ) を約 2 mm 積層填塞し、を用いて 40 秒間光照射を行った。

接着試料は恒温恒湿器中に 24 時間保管後、硬組織自動精密切断装置 (Isomet4000) により象牙質接合界面断面積が 1 mm² とする角柱型ビームを作製した。

ビームは微小引張り試験用治具 (Bencor-multi-T 試験器、Danvill Engineering) に取り付け、小型卓上試験機 (EZ Test 500N、島津) にてクロスヘッドスピード 0.5mm/min で微小引張り接着試験を行った (n=30)。

ANOVA と Steel-Dwass 検定による統計学的解析を行い、実験群間の有意差の検定を行った (P<0.05)。

4. 研究成果

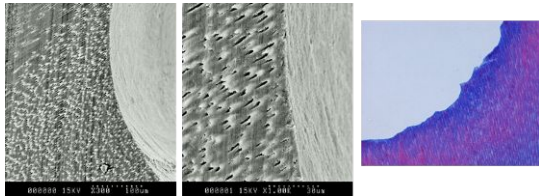
(1) アザン染色

実験群 1・7 では特に変化は観察されず、実験群 2 では形成面表層に熱変性層と思われる厚さ約 15 ~ 50 μm の不均一な厚さの赤染層が認められた。同様の赤染層は実験群 3 で 10 μm、実験群 4 で 7 μm、実験群 5 で 5 μm、実験群 6 では 5 μm 認められた。実験群 2 の切削面は大きな凹凸があり、なだらかな形成面は得られなかった。赤染層の厚さはその表面の凹凸に付随するように大きな幅が認め

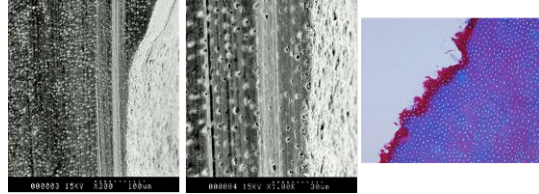
られ不均一であった。しかし、実験群3～5の切断面はなだらかで赤染層の厚みは均一であった。実験群6はなだらかな切断面が得られたが、酸処理の影響で実験群3～5と比較するとわずかながら赤染層の厚みに幅が認められた。

(2) SEM 観察

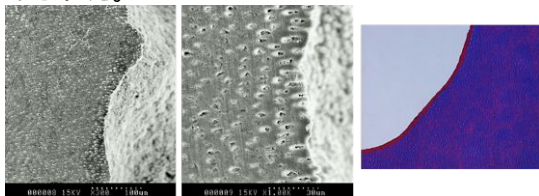
実験群1：SEM 観察では切断面がスミヤー層で覆われており、アザン染色では熱変性層は観察されなかった。



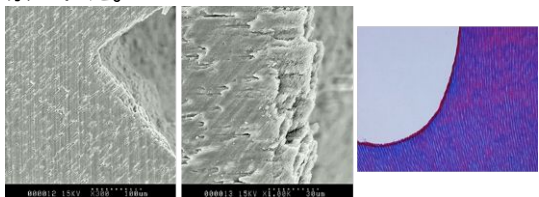
実験群2：SEM 観察では象牙質基質が他群と比較して緻密さに欠けており、アザン染色では切断面に熱変性層と思われる15～50μmの不均一な厚さの赤染層が認められた。



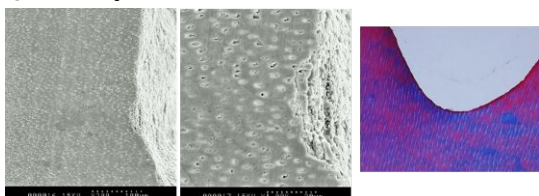
実験群3：SEM 観察では目立った変化は観察されず、アザン染色では10μmの赤染層が認められた。



実験群4：SEM 観察では目立った変化は観察されず、アザン染色では7μmの赤染層が観察された。

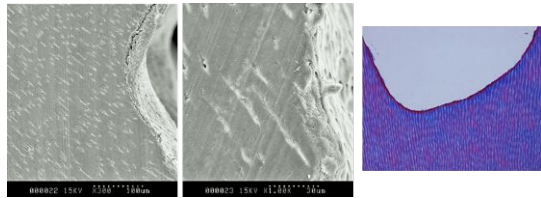


実験群5：SEM 観察では目立った変化は観察されず、アザン染色では5μmの赤染層が観察された。

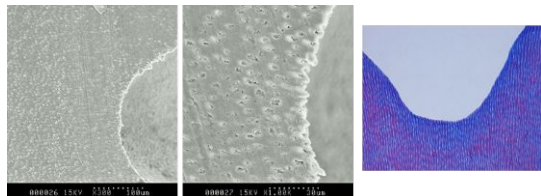


実験群6：SEM 観察では象牙細管のロート状

の開口が認められ、アザン染色では5μmの赤染層が観察された。

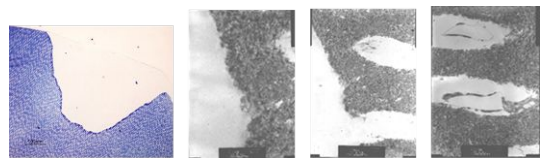


実験群7：SEM 観察では管周象牙質が突出したような表面性状で、アザン染色では熱変性層は観察されなかった。



(3) TEM 観察

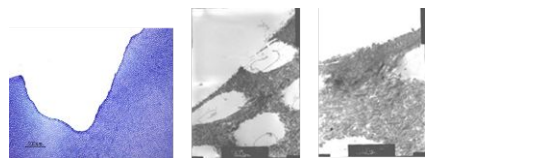
実験群1：主にコラーゲンの多い管間象牙質が染色されており、コラーゲンのない管周象牙質は染色されていない。管周象牙質の中に象牙細管のへりが認められる部位も存在する。



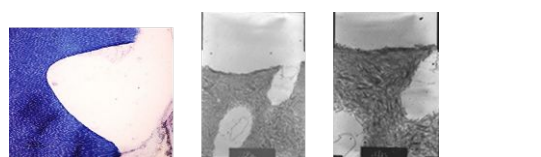
実験群2：管間象牙質の表面に正常な管間象牙質に比べコラーゲン繊維の構造が不明瞭で不均一な濃く染色される薄い層が観察される。この変性した層はトルイジンブルー染色で濃く染色された層の厚みに比較し薄い。変性した層の下には正常な象牙質と同様な像がみられる。



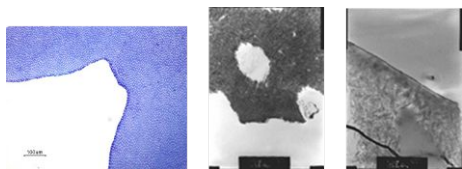
実験群3：管間象牙質表層にコラーゲンが変性し濃く染色された層が認められる。



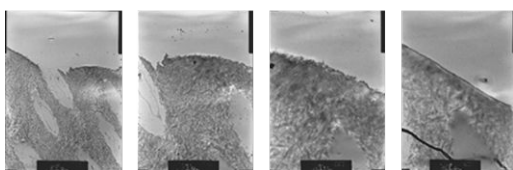
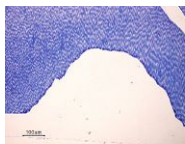
実験群4：管間象牙質表層にコラーゲンが変性し濃く染色された薄い層が認められる。



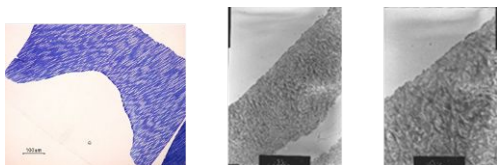
実験群 5：管間象牙質表層にコラーゲンが変性し濃く染色された層が認められる。



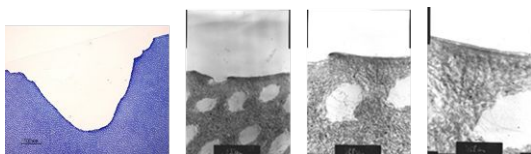
実験群 6：管間象牙質表層にコラーゲンが変性し濃く染色される層が認められる。他のレーザー照射群と比較し、様相が滑沢である。また、滑沢で白く抜けたようなアモルファスな表層部も一部に認める。



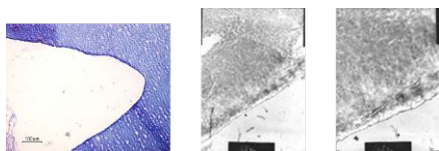
実験群 7：管間象牙質表層にコラーゲンが変性し濃く染色される層が認められるものとても薄い。



実験群 8：管間象牙質表層にコラーゲンが変性し濃く染色される層が認められるものの、その表面に凹凸は少なく、滑沢である。また、白く抜けたようなアモルファスの表層を時々認める。



実験群 9：表面処理をしていないが、表層に白く抜けるようなアモルファスを認める。しかし、表面下にはレーザー照射面特有の繊維構造が不明瞭で濃く染色される層が認められる。



(4) EPMA 分析

Ca、P、Mg、F、Cu について分析を行ったところ、各元素の試料間の差は観察されなかった。各試料の表層から内側にかけての濃度分析を検討したところ、実験群 3、5 は内層に比

較しレーザー照射直下の Ca、P の濃度の若干の低下が認められ、実験群 2、3、4、5、7 は同様にレーザー照射直下の Mg 濃度の若干の低下が認められた。F と Cu に変化は認められなかった。

(5) 微小接着強さ

($P < 0.05$ 、同一文字が有意差あり)

実験群 1：35.72 ± 5.17^{abcdef}

実験群 2：36.16 ± 6.69^{ghijk}

実験群 3：27.34 ± 6.38^{ag^l}

実験群 4：23.52 ± 4.26^{bhmnop}

実験群 5：26.21 ± 5.62^{ciq}

実験群 6：30.79 ± 7.73^{dm}

実験群 7：34.88 ± 4.56^{lnqrs}

実験群 8：30.06 ± 5.99^{ejor}

実験群 9：29.89 ± 6.58^{fkps}

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

加藤千景、Er:YAG laser 照射面の熱変性層について、日本歯科保存学会 2014 年度秋季学術大会、2014 年 10 月 30～31 日、山形テルサ(山形県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加藤 千景 (KATO, Chikage)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・助教

研究者番号：00459926