

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462895

研究課題名(和文) QAMを用いたコンポジットレジン修復の長期安定性向上

研究課題名(英文) Use of quaternary ammonium methacrylate to improve the long-term stability of composite resin restorations

研究代表者

内山 敏一 (UCHIYAMA, Toshikazu)

日本大学・松戸歯学部・講師

研究者番号：60419760

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：コンポジットレジン修復の長期安定性向上のため、Matrix Metalloproteinase (MMA)を抑制するメタクリル酸第四級アンモニウム(QAM)を使用した。倫理委員会の承認を得て、2種類：QAM(濃度は全て10%) (METMAC, MCMS)を合成した。象牙質レジン接着構造物を作製し、1 mm/min、n=10にて接着試験を行った。24時間後では、Cont.とMETMAC、MCMSに有意差が認められたが、最低限必要な接着力は有すると判断した。1年後では、24時間後と比較し、Cont.とMETMAC、MCMSに有意差がみられ、METMAC、MCMSのMMA抑制効果が認められた。

研究成果の概要(英文)：Polymerizable quaternary ammonium methacrylate (QAM), which suppresses matrix metalloproteinase (MMA), was added to a bonding material to improve the long-term stability of composite resin restorations. This study was approved by the ethics committee of our university. Two types of QAM; METMAC and MCMS were synthesized and used at a final concentration of 10%. Dentin-resin bonded specimens (control, METMAC, and MCMS; each n = 10) were prepared and stored in water for 24 h. Then, a bonding strength test was conducted at a crosshead speed of 1 mm/min. Significant differences in bonding strength were found between the control and METMAC or MCMS, but they all satisfied the minimum required bonding strength. In contrast with these results, the results of a bonding strength test conducted after storage in water for 1 year revealed significant differences in bonding strength among the control, METMAC, and MCMS as well as inhibition of MMA by METMAC and MCMS.

研究分野：保存修復学

キーワード：コンポジットレジン ボンディング MMA QAM 接着試験

### 1. 研究開始当初の背景

我が国において、超高齢化に伴う諸問題が論議され始めて久しい。中でも国民医療費減少への取り組みが国家的に急務となっているが、その障害の一つとしてコンポジットレジン修復後の再治療が挙げられる。

コンポジットレジン修復は、ミニマムインターベーションであり、また、審美的に有利であるため、高頻度に行われる齲蝕治療である。しかし、近年、コンポジットレジン接着後の長期安定性が問題となっており、その要因として注目されているのが象牙質中に存在する Matrix Metalloproteinase (MMP) である。象牙歯質中には、MMP-2、8、9 及び 20 が存在し、その活性化によりレジン - 象牙質接着界面の露出コラーゲン線維が消化・吸収され、その結果、接着構造体が長期的な崩壊に導かれる。

これまでの研究から、齲蝕消毒剤や歯内洗浄薬として使用されている低濃度 (0.01 ~ 0.02%) のクロルヘキシジン (CHX) が、MMP-2、8 及び 9 の活性を阻害することが明らかにされている<sup>1)</sup>。しかし、CHX は水溶性であることから、唾液などが常在する口腔内環境下では長期的な効果に疑問が残る。

そこで、我々は、ヒトの抜去歯から象牙質粉末を作製して CHX と結合させ、2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA)、エタノール、生理食塩水及び蒸留水による脱結合を吸光度法で決定した。その結果、象牙質粉末と結合した CHX は、HEMA、エタノール及び生理食塩水には比較的抵抗性を示すが、蒸留水では簡易に除去されることが明らかになり<sup>2)</sup>、高湿度である口腔内環境における CHX の長期的な MMP 抑制効果は期待できないことが示された。

そこで、CHX の代用として、類似する構造を持ち、歯科用レジンと混合した際の抗菌作用も報告されている、メタクリル酸第四級アンモニウム化合物 (quaternary ammonium methacrylate: QAM<sup>3)</sup>) に着目した。QAM も親水性であるため、その浸出を防ぐ方法として、12-methacryloyloxydodecylpyridinium (MDPB) 等の接着性モノマーと共重合できる QAM を用い、それをボンディング材に配合して、光重合することで固定することを考えた。まず、基礎研究において、6 種類の QAM を合成し、rhMMP-9 Assay を用いて MMP-9 抑制効果をスクリーニングしたところ、[2-(Methacryloxy) ethyl]trimethylammonium (METMAC)、Methacryloyl choline methyl sulfate (MCMS)、及び 2-Acryloxyethylammonium chloride (ATA) に抑制効果があることが明らかになった<sup>3)</sup> (図 1)。

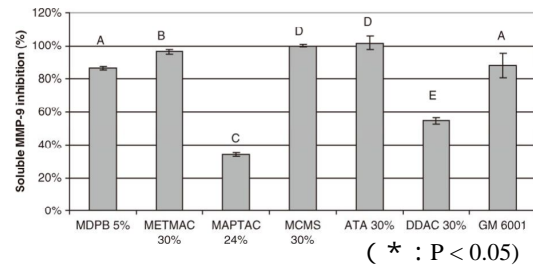


図1 コントロール及び6種類のQAMのMMP-9抑制効果

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、臨床応用を視野に入れ、QAM 含有ボンディング材によるレジン - 象牙質接着構造体の長期的な安定化を明らかにすることである。

すなわち、新規に合成し、スクリーニングにより見出した 3 種類の MMP-9 阻害 QAM (METMAC、MCMS 及び ATA) を用いて QAM 含有ボンディング材を調製し、ヒトの抜去歯に塗布後 24 時間における短期的な接着力、及び水中での長期保管後の接着力、ならびに接着界面の構造状態を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究は、日本大学松戸歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った (承認番号 EC14-029)。

ボンディング材の調製: まず、予備研究にしたがって微小引張試験を行い、塗布後 24 時間において十分な接着力を得るための QAM 含有量は、全ての QAM において 10% であることを明らかにした。以上より、次に示す 4 種類のボンディング材を調製した。

- (1) QAM 非含有ボンディング材 (Cont. ): 60% BisGMA、29% TEGDMA、10% HEMA、1% TPO
- (2) METMAC 含有ボンディング材: 10% METMAC、50% BisGMA、29% TEGDMA、10% HEMA、1% TPO
- (3) MCMS 含有ボンディング材: 10% MCMS、50% BisGMA、29% TEGDMA、10% HEMA、1% TPO
- (4) ATA 含有ボンディング材: 10% ATA、50% BisGMA、29% TEGDMA、10% HEMA、1% TPO

ヒト抜去歯: 計 112 本の健全ヒト大臼歯を入手し、各群に 4 本ずつ割り付けた。

試料の作製: 各種ボンディング材に、100% エタノールを、「ボンディング材: エタノール=7:3」となるように使用直前に加えた。これは、ボンディング材が疎水性であるため、象牙質面を乾燥させることにより接着力を高める目的で行った。健全ヒト大臼歯を I-somet (Buehler) を用いて歯冠中央部で切断後、歯根側の切断面を No. 600 の耐水研磨紙で研磨して作業面とした。同部を ESPE scotchbond™ Etchant (3M) を用いて 15 秒間エッチングし、10 秒間水洗後

キムワイプで水を軽く除去した。各ボンディング材を 10 秒間作用させ、光重合器 Curing Light XL3000 (3M) を用いて 20 秒間照射して Wet Bonding を行った。その後、作業面から 5 mm の高さまでライトフィル A EPIC - TMPT D4 (サンメディカル) を用いてコンポジットレジン充填を行った。I-somet を用いて、充填済の抜去歯から 1x1x7 mm の Dentin Beam を作製した (図 2)。Dentin Beam を水または人工唾液に浸し、37 の恒温槽中において (口腔内環境の想定条件) 24 時間または 1 年間保管した。

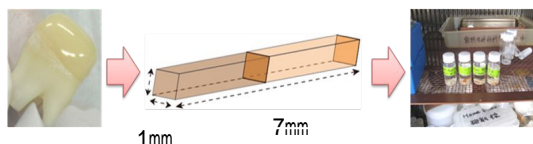


図 2 Dentin Beam

微小引張試験:各溶液中で、37、24 時間保管した試料について、小型卓上試験機 EZ-SX (島津製作所) を用いて 1 mm/min の速度で微小引張試験を行った。各群の測定試料数は n=10 とし、得られた結果については、Sceffe の方法を用いて棄却率 5%として有意差検定を行った。

各溶液中で 37、1 年間保管した試料については、上記と同様の条件で微小引張試験及び有意差検定を行った。3 種の QAM 含有ボンディング材の効果を、Cont. との比較、および 24 時間後と 1 年後の結果を比較することで判定した。

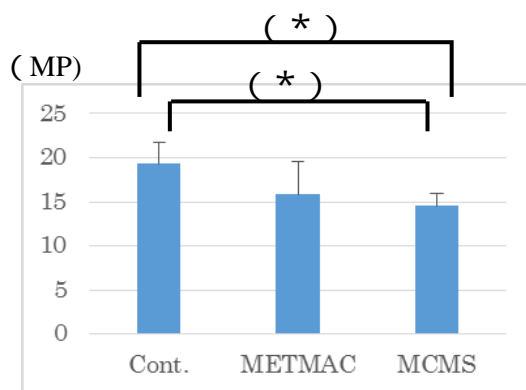
#### 4. 研究成果

3 種類の QAM (METMAC、MCMS、ATA) を合成し、それらを含有するボンディング材を調製した。初年度の研究結果から、METMAC 及び MCMS を含有するボンディング材のみが最低限必要な短期的接着力を有することが明らかになった。したがって、METMAC 含有ボンディング材及び MCMS 含有ボンディング材のみをその後の検討の対象とした。

24 時間後の接着強さは、Cont. が  $19.33 \pm 2.45$  (MP)、METMAC 含有ボンディング材が  $15.80 \pm 3.73$  (MP)、MCMS 含有ボンディング材が  $14.51 \pm 1.44$  (MP) であった。Sceffe の方法を用いた検定の結果、METMAC および MCMS 含有ボンディング材のどちらにも Cont. との有意差が認められた (図 3) が、両ボンディング材は最低限必要な短期的な接着力を有すると判断した<sup>4)</sup>。1 年後の接着強さは、Cont. が  $16.75 \pm 2.02$  (MP)、METMAC 含有ボンディング材が  $13.60 \pm 3.54$  (MP) (図 4) であった。24 時間後の接着強さと 1 年後の接着強さの比較 (各 1 年後の値 / 24 時間後の平均値) の平均値) を Sceffe の方法を用いて検定した結果、METMAC : 0.86、MCMS : 0.88 となり、含有ボンディング材のどちらにも Cont. : 0.81 との有意差が認められ (図 5)、

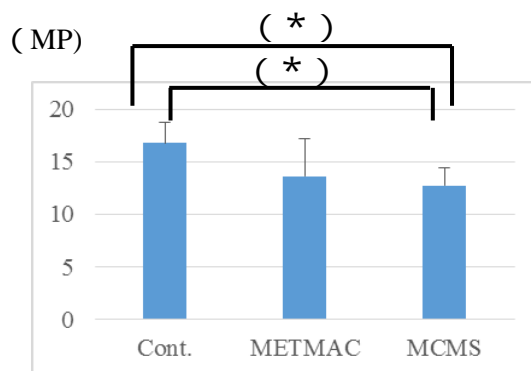
METMAC および MCMS には MMP の抑制効果があることが確認された。しかしながら、1 年後の接着強さは Cont. が最も高かった。

なお、時間的な制限から本報告に含むことはできなかったが、今後、1 年間水中保管した試料の象牙質-コンポジットレジン接着界面の状態を、透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて視覚的に検討する予定である。



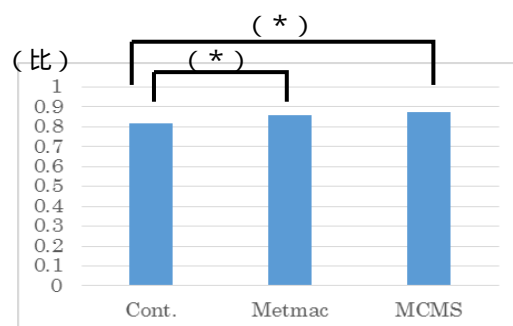
( \* : P < 0.05)

図 3 24 時間後の接着試験



( \* : P < 0.05)

図 4 1 年後の接着試験



( \* : P < 0.05)

図 5 (各 1 年後の値 / 24 時間後の平均値) の比較

<引用文献>

- 1) S. Martin-De Las Heras, A. Valenzuela, C.M. Overall, The matrix metalloproteinase gelatinase A in human dentine, Archives of Oral Biology, 45, 2000, 757-765
- 2) Jongryul Kim, Toshikazu Uchiyama, Marcela Carrilho, Kelli A. Agee, Annalisa Mazzone, Lorenzo Breschi, Ricardo M. Carvalho, Leo Tjäderhane, Stephen Looney, Courtney Wimmer, Arzu Tezvergil-Mutluay, Franklin R Tay and David H. Pashley, Chlorhexidine binding to mineralized versus demineralized dentin powder, Dent Mater., 26(8), 2010, 771-778
- 3) A. Tezvergil-Mutluay, K.A. Agee, T. Uchiyama, S. Imazato, M.M. Mutluay, M. Cadenaro, L. Breschi, Y. Nishitani, F.R. Tay and D.H. Pashley, J Dent Res, 90(4), 2011, 535-540
- 4) 宮崎真至、クインテッセンス出版株式会社、コンボジットレジン修復のサイエンス & テクニック、2015、82-120

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 14 件)

小林良喜、田口千恵子、有川量崇、内山敏一、齋藤孝親、落合智子、日大口腔科学、査読有、43 巻、2017、41-47

田口千恵子、小林良喜、加藤志奈、有川量崇、内山敏一、那須郁夫、歯科診療室内の浮遊微粒子群が THP-1 細胞に与える影響、日大口腔科学、査読有、43 巻、2017、35-40

Cintia Yuki Fukuoka, Alyne Simoes, Toshikazu Uchiyama, Victor Elias Arana-Chavez, Yoshimitsu Abiko, Noboru Kuboyama, Ujjal K Bhawal, The Effects of Low-Power Laser Irradiation on inflammation and Apoptosis in Submandibular Glands of Diabetes-Induced Rats, Plos ONE, 査読有、12 巻、2017、1-13

DOI e0169443

小林良喜、田口千恵子、有川量崇、内山敏一、伊藤誠康、落合智子、Porphyromonas gingivalis 口腔感染により発現する Exsome の検討、日大口腔科学、査読有、42 巻、2016、34-39

藤田 光、関根哲子、岡田珠美、伊東哲明、内山敏一、西山典弘、平山聡司、保存期間によるワンステップボンディング材の変性、日本歯科保存学会誌、査読有、58 巻、2015、398-405

藤田 光、岩井仁寿、岩井啓寿、岡田珠美、鈴木英明、内山敏一、西山典弘、平山聡司、ワンステップボンディング材の歯質脱灰能に関する研究、日本歯科保存学会誌、査読有、58 巻、2015、273-281

布施 恵、遠藤弘康、小西賀美、小峯千明、末光正昌、田中宏征、淵上真奈、内山敏一、續橋 治、松本京子、深津 昌、久山佳代、伊藤孝訓、福本雅彦、口腔乾燥を主訴に日本大学松戸歯学部付属病院を受診した患者の検査の 1 例、日本歯科人間ドック学会誌、査読有、10 巻、2015、53-57

長濱文雄、田中宏征、内山敏一、有川量崇、田口千恵子、横田容子、牧村英樹、景山万貴子、藤田 光、木本 統、河野善治、福本雅彦、多項目・短時間唾液検査システム (AL-55) の口臭評価における有用性、日本歯科人間ドック学会誌、査読有、10 巻、2015、27-33

Ryoki Kobayashi, Chieko Taguchi, Sgusuke Yonenaga, Kazumune Arikawa, Toshikazu Uchiyama, Tetsuro Kono, Takashi, CircadRhythm Affects the Dynamics of S-IgA Mucosal Secretion, IJOMS, 査読有、14 巻、2015、1-7

藤田 光、横田容子、内山敏一、岡田珠美、大村基守、西山典弘、平山聡志、MDP 含有ワンステップボンディング材の歯質接着性に関する研究、日本歯科保存学会誌、査読有、58 巻、2015、192-199

有川量崇、田口千恵子、鈴木浩司、石井広志、千葉和成、長谷川勝、内山敏一、小林良喜、伊藤誠康、竹内麗理、永岡明記、小椋正之、和田康此志、那須郁夫、口腔環境といびきの関連性-市川市(千葉県)における口腔内診査とアンケート調査結果、日本歯科医療管理学会雑誌、査読有、49 巻、2015、200-209

Toshikazu Uchiyama, Hiroyuki Tanaka, Kazumune Arikawa, Chieko Taguchi, Suguru Kimoto, Megumi Fuse, Yoko Yokota, Nobuyuki Kikuchi, Chikako Nishitani, Hideki Makimura, Fumio Nagahama, Akira Fukatsu, Yoshiharu Kono, Masahiro Fukumoto and Moriyasu Wada, Patients Satisfaction Survey at the dental Human Dock Clinic of Nihon University School of Matsudo Hospital, IJOMS, 査読有、13 巻、2014、45-52

布施 恵、遠藤弘康、末光正昌、田中宏征、市村真奈、田口千恵子、有川量崇、内山敏一、続橋 治、深津 昌、久山佳代、伊藤孝訓、福本雅彦、歯肉の限局した色素沈着 2 症例の検討、日本歯科人間ドック学会誌、査読有、9 巻、2014、45-49

有川量崇、田口千恵子、小林良喜、竹内麗理、谷野 弦、内山敏一、榎本みど理、伊藤誠康、河野善治、福本雅彦、中久木康一、久保山 昇、那須郁夫、高齢者におけるプロタミン分解ペプチドの舌苔蓄積

予防効果、日本歯科人間ドック学会誌、  
査読有、9巻、2014、36-44

〔学会発表〕(計6件)

布施 恵、遠藤弘康、小倉由希、小西賀美、田中宏征、小峯千明、淵上真奈、末光正昌、内山敏一、松本京子、深津 昌、久山佳代、伊藤孝訓、福本雅彦、シェーグレン症候群を合併した全身強皮症の1例、日本歯科人間ドック学会、2016年12月17日、藤井節郎記念医科学センター、徳島県徳島市

田中宏征、内山敏一、小倉由希、小西賀美、小峯千明、淵上真奈、布施 恵、深津 昌、福本雅彦、口臭を主訴として歯科人間ドック外来を受診した患者のCMI健康調査票を用いた評価、2016年12月17日、藤井節郎記念医科学センター、徳島県徳島市

藤田 光、大塚一世、岡田珠美、神谷直孝、庫山末希、内山敏一、西山典宏、平山聡司、ワンステップボンディング材が歯質アパタイトの脱灰におよぼす影響(第3報)、日本歯科保存学会、2016年6月10日、栃木県総合文化センター、栃木県宇都宮市

有川量崇、小林良喜、田口千恵子、中山竜司、河野哲朗、内山敏一、生田明敏、落合智子、那須郁夫、市販発酵食品摂取による唾液分泌IgA抗体の誘導効果、日本口腔衛生学会、2015年5月29日、東京医科歯科大学 M&D タワー 鈴木章夫記念講堂、東京都文京区

布施恵、遠藤弘康、小西賀美、小峯千明、末光正昌、田中宏征、市村真奈、内山敏一、続橋治、松本京子、深津昌、久山佳代、伊藤孝訓、福本雅彦、口渴を主訴に日本大学松戸歯学部付属病院を受診した患者の臨床的検討、日本歯科人間ドック学会、2014年11月15日、北海道大学クラーク会館、北海道札幌市

田口千恵子、有川量崇、馬場俊郎、内山敏一、後藤田宏也、那須郁夫、特別支援学校におけるフッ化物洗口普及事業の取組みについて、日本口腔衛生学会総会、2014年5月30日、熊本市国際交流会館、熊本県熊本市

〔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

内山 敏一 (UCHIYAMA Toshikazu)  
日本大学・松戸歯学部・講師  
研究者番号：60419760

(2) 研究分担者

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

木本 統 (KIMOTO Suguru)  
日本大学・松戸歯学部・准教授  
研究者番号：10267106

中島 光 (藤田 光) (Nakajima Kou,  
Fujita Kou)

日本大学・松戸歯学部・助教  
研究者番号：00147737

(平成27年度4月10日より研究分担者追加)