

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 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：26462896

研究課題名(和文) 光干渉断層画像診断法による象牙質接合界面のクオリティ評価

研究課題名(英文) Quality Evaluation of Dentin-Resin Interface by Use of Optical Coherence Tomography

研究代表者

宮崎 真至 (MIYAZAKI, Masashi)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：70239391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：コンポジットレジン復物の予後を支える重要なものとして、歯質接着システムの存在が挙げられる。しかし、その長期接着耐久性に関しては、必ずしも安定したものではなく、象牙質基質から放出されるMatrix Metalloproteinaseなどによって劣化する可能性が指摘されている。したがって、接着システムの予後を考えるうえで、象牙質接着界面の質を判定する手法の確立が必要と考えられる。そこで、象牙質接合界面におけるクオリティを光干渉断層画像診断法および超音波透過法で評価し、これによって欠陥の生じにくい接合界面を形成する修復システムを確立する一助とする。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was evaluate the quality of dentin-resin interface utilizing optical coherence tomography (OCT) and ultrasonic device and. Using OCT at selected locations on the enamel surface, peak intensity at 1/e<sup>2</sup> were measured, and integrated values were calculated. From the OCT observations, obvious changes in B-scan mode were observed, and decreases in signal intensities were detected for the specimens with acidic attack. The propagation time of longitudinal ultrasonic waves was measured by a pulser-receiver with a transducer. The sonic velocity decreased over time for specimens stored in demineralising solution; however, coated specimens had a significantly higher sonic velocity than those without coating. From the results of this study, bonding systems containing PRG fillers appeared to reduce the demineralisation of tooth substrate and maintain the quality of dentin-resin interface.

研究分野：保存修復学

キーワード：歯質接着 接合界面 耐久性 再石灰化 光干渉断層画像診断法 超音波透過法

### 1. 研究開始当初の背景

コンポジットレジンの象牙質接着において、接着界面における耐久性が重要であり、その形態的ならびに機能的検討は現在も国内外で積極的に行われている。最近では、歯質接着性レジンシステムの長期耐久性を低下させる因子として、象牙質基質あるいは口腔内から放出される MMP がハイブリッド層に及ぼす影響について検討されている。そこで、MMP inhibitor であるクロルヘキシジンなどを用いて、生じうる劣化を未然に防ぐことが考えられている。しかし、象牙質接着界面における劣化の機序は、露出コラーゲン線維層の加水分解とともにボンディングレジンの加水分解が生じ、これがレジンとフィラーとの結合の破綻することも考えられる。したがって、単に MMP inhibitor を応用することだけではなく、歯質を強化することが接着耐久性を改善するための臨床的手法ともなる。

一方、代表者は、象牙質との接着界面における弾性率を測定し、“接着の質”について評価してきた。その結果から、象牙質接着界面に劣化が生じないように再石灰化による自己修復を行う方法を検討することが急務と考えられた。そこで、生物学的機能性(バイオアクティブ)を有する Pre-reacted Glass-ionomer Filler に着目し、このフィラーから象牙細管への石灰化物の沈着を誘発する作用を持つとされる F, Ca, P, Mg, Si および Al が徐放されることを報告した。そこで、次の研究の段階として、各種イオンを徐放する機能性接着システムによって、接着耐久性に優れた接合界面を的確に判定するモダリティを確立し、これを検証するとともに機能性修復材の開発さらに推進させることが重要であると考えた。

### 2. 研究の目的

歯冠修復物の口腔内における予後を支える重要な因子の一つとして、歯質接着システムの存在が挙げられる。しかし、その長期接着耐久性に関しては、必ずしも安定したものではなく、MMP などによって劣化する可能性が指摘されている。したがって、接着システムの予後を考えると、脆弱な接合界面を検知する手法の立案とともに、劣化部を改善する臨床的手法に関する早急な検討が必要と考えられる。そこで本研究の目的は、接着耐久性に関連する象牙質接着界面におけるクオリティを検証するモダリティとして光干渉断層画像診断法(Optical Coherence Tomography)に着目し、これを評価することである。

### 3. 研究の方法

(1) ウシの下顎前歯歯冠部唇側歯質を耐水性 SiC ペーパーの #600 研磨し、これを被着歯面とする。この被着歯面に対して、市販の接着システムを、製造者指示条件に従って操作

を行い、象牙質接合界面モデル試片とした。これらの試片を pH 4.75 の 0.1 mol/l 乳酸緩衝溶液に浸漬する。また、コントロールとして、脱灰させることなく 37 人工唾液中(pH 7.0)あるいは精製水に浸漬した試片を製作した。

これらの試片に、PRG フィラー含有ボンディングシステムと、対象としてこれを含めないシステムを用いてコーティングを行うことで、その界面における質を比較検討した。

(2) 光干渉断層装置(Optical Coherence Tomography, OCT)を象牙質接合界面における質評価という新たなモダリティとして用い、これを超音波透過法で得られた成績と比較、検討を行った。OCT による測定には、Super Luminescent Diode を光源とする Time-Domain 型 OCT 装置(モリタ東京製作所)を用いた。また、A-scan mode の信号強度分布を解析することで最大ピーク強度値を検出し、その座標を割り出した。次いで、この座標を中心として 86.5%の信号強度が含まれる範囲を算出し、その波形幅である  $1/e^2$  幅を求めた。

(3) 超音波測定には、パルサーレーザー(Model 5900PR, パナメトリクス)、縦波用トランスデューサー(V112, パナメトリクス)およびオシロスコープ(Wave Runner LT584, レクロイ)から構成されるシステムを用いた。また、一定期間の浸漬を終えた各試片は、三次元レーザ走査顕微鏡(以後、LSM)を用いて表面性状の観察を行った。各グループ内において得られた最大ピーク強度値、 $1/e^2$  幅および縦波音速の経時的変化については、分散分析を行うとともに Dunnet test によって、各グループ間での最大ピーク強度値、 $1/e^2$  幅および縦波音速の比較は、重複測定分散分析によって有意水準 5%の条件で統計学的検定を行った。

### 4. 研究成果

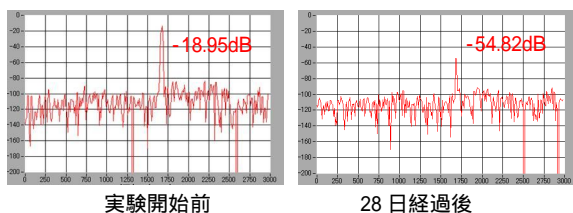
コントロール群における OCT 像は、28 日後で象牙質表層のシグナルの色調に変化は認められないものの、象牙質内部に水色を呈する弱いシグナルが点在するなど、内部断層像にわずかな変化が認められた。

また、同一試片の LSM 像からは、象牙細管の開口が拡大するとともに、研削時に形成された凹凸が観察された。本研究で用いた TD-OCT は、透過率の高い部分は照射された光線の反射光強度が少なく暗部として、逆に散乱の強い部分では明部として可視化される。したがって、コントロール群の OCT 像において、pH サイクル後に象牙質内部のシグナルの色調が変化したのは、脱灰によってコラーゲン線維が露出するとともに象牙細管の開口程度が大きくなることで、象牙質表層付近での照射光線の反射および散乱が大きくなっ

たためと考えられた。一方、象牙質表層での形態的变化が顕著であったものの、表層におけるシグナルに変化が認められなかったのは、光源である近赤外線が生体組織内での水による吸収および散乱の影響が少ない波長であることから、水分を多く含む象牙質表面では影響を受けにくかったためと考えられた。

実験群の OCT 像は、28 日後で象牙質表層のシグナルの輝度の低下が認められ、幅が広がった。また、同一試片の LSM 像からは、象牙細管の封鎖が観察され、コントロール群と比較して平坦な表面性状が観察された。このように、実験群において象牙質表層でのシグナル輝度が低下した理由としては、象牙質表面を被覆したボンディング材が酸緩衝能を示し、象牙質表層の形態的变化が抑制されるとともに S-PRG フィラーから徐放された各種イオンによって象牙細管が封鎖されたことで、細管内での OCT 照射光の反射および散乱状態が変化したためと考えられた。

次いで、OCT 像の変化を数値化するために、A-scan mode における最大ピーク強度値を求めるとともに、 $1/e^2$  幅を求めた。その結果、コントロール群の最大ピーク強度値および  $1/e^2$  幅は、実験期間を通じて変化は認められなかったものの、実験群においては、最大ピーク強度値が 28 日後で約 20 dB 低下し、 $1/e^2$  幅は 28 日後で 40  $\mu\text{m}$  増加した。



これは、コーティング材の被覆によって象牙質表面における脱灰が抑制され、象牙質表面での照射光線の散乱が少なくなるとともに、試片内部への光線透過性が増大したことを示すものである。また、この結果は OCT 像で観察された象牙質表層の変化と一致するものであった。

超音波縦波音速の測定結果からは、非コート群では他の条件と比較して経時的に音速が低下する傾向を示した。一方、コート群では実験期間を通じて音速の著明な変化は認められないものの、14 日以降の音速は非コート群と比較して有意に高い値を示した。超音波透過法における硬組織中を伝播する超音波の音速の変化は、歯質の石灰化の程度と相関があり、無機成分の体積密度の変化に伴って上昇する。S-PRG フィラーは、多機能性ガラスフィラーの表層にガラスアイオノマー相を形成させたものであり、この層から各種イオンを徐放するとされている。徐放されたイオンのうち Si は象牙質に短時間で取り込まれながら石灰化を促進する。さらに、S-PRG フィラーから放出される F および Sr は、ハ

イドロキシアパタイトの水酸基や Ca と置換することによって、耐酸性に優れたフルオロアパタイトやストロンチウムアパタイトを形成する。本実験の結果からも、実験群と比較してコントロール群では音速の有意な低下が認められていることから、S-PRG フィラーの応用によって、象牙質の脱灰抑制ならびに石灰化促進効果が発揮された可能性が考えられた。

## 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 15 件)

Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Wilwerding TM, Latta MA, Miyazaki M. Interfacial characteristics and bond durability of universal adhesive to various substrates. Oper Dent, 42(2), e-59-e70, 2017, 査読有

DOI: 10.2341/15-353-L

Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Tsuchiya K, Erickson EL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of pre-etching times on fatigue strength of self-etch adhesives to enamel. J Adhes Dent 18(6), 501-511, 2016, 査読有

DOI: 10.3290/j.jad.a37361

Scheidel DD, Takamizawa T, Barkmeier WW, Erickson RL, Tsujimoto A, Miyazaki M. Effect of frequency on fatigue strength of dentin bonds. J Oral Sci 58(4), 539-546, 2016, 査読有

DOI: 10.2334/josnusd.16-0229

Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Watanabe H, Johnson WW, Latta MA, Miyazaki M. Relationship between mechanical properties and bond durability of short fiber-reinforced resin composite with universal adhesive. Eur J Oral Sci 124(5) 480-489, 2016, 査読有

DOI: 10.1111/eos.12291

Sai K, Shimamura Y, Takamizawa T, Tsujimoto A, Imai A, Endo H, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Influence of degradation conditions on dentin bonding durability of three universal adhesives. J Dent 54, 2016, 査読有

DOI: 10.1016/j.jdent.2016.09.004

Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. The effect of phosphoric acid pre-etching times on bonding performance and surface free energy with single-step self-etch adhesives. Oper Dent 41(4), 441-449, 2016, 査読有

DOI: 10.2341/15-221-L

Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Bonding performance and interfacial characteristics of short fiber-reinforced resin composite in comparison with other composite restoratives. *Eur J Oral Sci* 124(3), 301-308, 2016, 査読有  
DOI: 10.1111/eos.12262

Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Suzuki T, Scheidel DD, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of different pre-etching times on fatigue strength of self-etch adhesives to dentin. *Eur J Oral Sci* 124(2), 2016, 査読有  
DOI: 10.1111/eos.12253

Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of the oxygen-inhibited layer on bonding performance of dental adhesive systems: Surface free energy perspectives. *J Adhes Dent* 18(1), 51-58, 2016, 査読有  
DOI: 10.3290/j.jad.a35515

Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Berry TP, Watanabe H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of different etching modes on bond strength and fatigue strength to dentin using universal adhesive systems. *Dent Mater* 32(2), e9-e21, 2016, 査読有  
DOI: 10.1016/j.dental.2015.11.005

Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Scheidel DD, Watanabe H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of water storage on fatigue strength of self-etch adhesives. *J Dent* 43(12), 1416-1427, 2015 査読有  
DOI: 10.1016/j.jdent.2015.10.018

Nojiri K, Tsujimoto A, Suzuki T, Shibasaki S, Matsuyoshi S, Takamizawa T, Miyazaki M. Influence of light intensity on surface-free energy and dentin bond strength of single-step self-etch adhesives. *Dent Mater J* 34(5), 611-617, 2015, 査読有  
DOI: 10.4012/dmj.2015-045

Takamizawa T, Barkmeier W, Tsujimoto A, Scheidel D, Erickson R, Latta M, Miyazaki M. Effect of phosphoric acid pre-etching on fatigue limits of self-etching adhesives. *Oper Dent* 40(4), 379-395, 2015, 査読有  
DOI: 10.2341/13-252-L

Murayama R, Matsuyoshi S, Shibasaki S, Tsuchiya K, Takimoto M, Kawamoto R, Kurokawa H, Miyazaki M. The effect of coating S-PRG filler on the prevention of enamel demineralization detected by

optical coherence tomography. *日歯保存誌* 57(6), 578-588, 2014, 査読有  
DOI: 10.11471/shikahozon.57.578

Kotaku M, Murayama R, Shimamura Y, Takahashi F, Suzuki T, Kurokawa H, Miyazaki M. Evaluation of the effects of fluoride-releasing varnish on dentin demineralization using optical coherence tomography. *Dent Mater J* 33(5), 648-655, 2014, 査読有  
DOI: org/10.4012/dmj.2014-072

[学会発表](計 11 件)

Takamizawa T, Shimamura Y, Hosoya Y, Sai K, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M. Degradation of universal adhesive dentin bonds under different simulation condition. 93th General Session & Exhibition of the IADR, San Fransisco (USA), 2017.3.25.

Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of number of cycles on fatigue strength with adhesives. 93th General Session & Exhibition of the IADR, San Fransisco (USA), 2017.3.25.

Takahashi F, Suda S, Sai K, Kurokawa H, Hinooura K, Miyazaki M. Application of the self-assembling peptide P<sub>11</sub>-4 on acid erosion prevention. 93th General Session & Exhibition of the IADR, San Fransisco (USA), 2017.3.22.

島村 穰, 高見澤俊樹, 下山侑里子, 田村ゆきえ, 瀧本正行, 坪田圭司, 宮崎真至, 青島 裕. 長期水中浸漬がユニバーサルアドヒーズの接着強さに及ぼす影響. 日本歯科保存学会 2016 年春季学術大会 (第 144 回), 栃木県総合文化センター (栃木県宇都宮市), 2016.6.10

古市哲也, 村山良介, 飯野正義, 佐藤愛子, 黒川裕康, 升谷滋行, 宮崎真至, 岩崎圭祐. 光干渉断層法 (Optical Coherence Tomography) による低粘度レジンのエナメル質浸透状態の観察. 日本歯科保存学会 2016 年春季学術大会 (第 144 回), 栃木県総合文化センター (栃木県宇都宮市), 2016.6.10

Takamizawa T, Barkmeier W, Tsujimoto A, Latta M, Miyazaki M, Hosoya Y. Influence of pre-etching times on fatigue strength of self-etch adhesives. 44th Annual Meeting & Exhibition of the AADR, Los Angeles (USA), 2016.3.18

瀧本正行, 高橋史典, 黒川裕康, 古市哲也, 佐藤愛子, 寺井里沙, 宮崎真至. ペプチド P<sub>11</sub>-4 のエナメル質への応用における OCT 像の観察. 日本歯科保存学会 2015 年春季学術大会 (第 142 回), 北九州交際会議場 (福岡県北九州市), 2015.6.25

Kawamoto R, Endo H, Tsuchiya K, Takamizawa T, Kurokawa H, Miyazaki M. Evaluation of a calcium phosphate desensitizer using an ultrasonic device. 92nd General Session & Exhibition of the IADR, Boston (USA), 2015.3.14

Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Scheidel D, Latta MA, Miyazaki M, Hosoya Y. Influence of water storage on fatigue limits of self-etch adhesives. 92nd General Session & Exhibition of the IADR, Boston (USA), 2015.3.14

Kurokawa H, Takamizawa T, Rikuta A, Tsubota K, Miyazaki M. 12 years clinical evaluation of one-step self-etch adhesive systems. 92nd General Session & Exhibition of the IADR, Boston (USA), 2015.3.12

古宅真由美, 飯野正義, 瀧本正行, 村山良介, 島村 穰, 黒川裕康, 宮崎真至. OCT をモダリティとしたシーラント填塞状態の観察. 日本歯科理工学会第64回秋期学術講演会, アステールプラザ(広島県広島市), 2014.10.4

〔その他〕

ホームページ等

所属機関の URL

<http://www.dent.nihon-u.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

宮崎 真至 (MIYAZAKI, Masashi)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号: 7 0 2 3 9 3 9 1

### (2) 研究協力者

黒川 弘康 (KUROKAWA, Hiroyasu)

高見澤 俊樹 (TAKAMIZAWA, Toshiki)