

機能性モノマーMDP がリン酸エッチングされた  
エナメル質への接着疲労耐久性に及ぼす影響について

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

土屋 賢司

(指導：宮崎 真至 教授，高見澤 俊樹 准教授)

## 概 要

セルフエッチングシステムは機能性モノマーを含有することを特徴としており、その歯質接着性の多くの部分をこのモノマーに依存している。機能性モノマーは、歯質の脱灰とともにハイドキシアパタイト (HAp) と反応して化学的接着性の獲得に寄与している。とくに、機能性モノマーの 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP) は、その優れた接着性能から多くの接着システムに採用されている。また、MDP 含有セルフエッチングアドヒーズは、接着界面直下に ABRZ (acid-base resistant zone) を形成するとされており、辺縁性二次齲蝕の予防あるいは接着耐久性の向上が期待されている。しかし、口腔内で負荷される機械的劣化因子に対する機能性モノマーMDP の効果については不明な点が多い。

そこで著者は、セルフエッチングアドヒーズに使用される機能性モノマーMDP の有無が、エナメル質の接着耐久性に及ぼす影響について、長期水中保管後に接着疲労耐久性試験を行うことで検討した。また、アドヒーズ塗布面の表面自由エネルギーを測定するとともに接着界面および試験終了後の破断面の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行った。

供試したアドヒーズは、MDPを含有した市販製品のClearfil Bond SE ONE (SE, Kuraray Noritake Dental) およびSEと同じ成分に調整しつつMDP未含有とした試作セルフエッチングアドヒーズ (EX, Kuraray Noritake Dental) を用いた。また、リン酸エッチング剤としてUltra-Etch (Ultradent) を、光重合型コンポジットレジンとしてはClearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) を用いた。被着歯面としては、抜去歯の歯冠部を近遠心的に切断し、常温重合型レジンを用いて、真鍮リング内に包埋した。次いで、エナメル質平坦面が得られるようにモデ

ルトリマーを用いて唇側中央部を研削した。さらに、耐水性シリコンカーバイドペーパーの #4,000まで順次研削し、被着歯面とした。アドヒーズの塗布に際しては、いずれのアドヒーズにおいてもリン酸エッチングを15秒間行った (pre-etching) 後にアドヒーズを塗布することとした。すなわち、pre-etchingされたエナメル質面にアドヒーズを塗布し、マイルドエアブロー後に、10秒間照射した。次いで、内径 2.36 mm、高さ 2.5 mmのステンレス製モールドをアドヒーズ塗布面にクランプを用いて静置し、コンポジットレジンを填塞して40秒間照射を行い、これを接着試片とした。これらの試片は、37°C精製水中に24時間、6ヵ月および1年間保管した後に、剪断接着強さ (以後、接着強さ) および接着疲労強さ (以後、疲労強さ) を求めた。

接着強さの測定は、接着試片に対して、万能試験機 (ElectroPuls E1000, Instron) を用いて、クロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件で接着強さを測定した。また、接着試験後の破断試片については、その破壊形式を分類評価した。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 15 個とした。

疲労強さの測定は、接着強さ試験と同様に試片を製作し、エレクトロダイナミック試験機を用いて staircase method を応用して行った。すなわち、得られた接着強さの約 50~60% の値の荷重を 10 Hz の正弦波で繰り返し 50,000 回試片に負荷した。その際、規定回数に達する前に試験片が破断した場合と、破断することなく経過した場合で、段階的に荷重負荷を変動させた。最終的に、試験片の脱落個数および負荷荷重からその接着疲労耐久強さを求めた。なお、試験後の試験片については、接着強さ試験と同様に破壊形式を分類評価した。さらに、疲労試験終了後の破断面と接合界面について、通法に従って SEM 観察した。

なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 30 個とした。

表面自由エネルギーの測定は、接着試験と同様の条件で処理した照射前のアドヒーズブ塗布面を、アセトンおよび蒸留水で 15 秒間交互洗浄を 3 回繰り返して行い、これを表面自由エネルギー測定用試片とした。表面自由エネルギーが既知の液体として 1-ブロムナフタレン、ジヨードメタンおよび蒸留水を使用した。接触角の測定は、全自動接触角計 (Drop Master DM 500, 協和界面科学) を用い、セシルドロップ法でそれぞれの液滴を 1  $\mu\text{l}$  滴下し、装置に付属するソフトウェア (FAMAS, 協和界面科学) を用いて  $\Theta/2$  法で測定を行った。なお、各条件における試片数は 10 個とし、研削未処理面およびリン酸エッチング処理面についても同様に測定を行った。

その結果、水中保管 6 ヶ月および 1 年では、SE が EX に比較して有意に高い接着強さを示し、疲労強さにおいても同様であった。接着耐久性の観点から SE が EX に比較して良好な成績を示した理由としては、HAp と MDP の強固な化学的接着系の形成が関与しているものと考えられた。このことは、表面自由エネルギーを構成する各成分の比較においても、SE は EX および pre-etch 条件のベースラインに比較して水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) が有意に低い値を、双極子成分 ( $\gamma_s^p$ ) は高い値を示したことから推察できる。したがって、MDP の存在によって HAp との化学的結合が形成され、これが長期水中浸漬に伴って生じる加水分解および動的疲労に対する高い抵抗性を示したものと考えられた。

アドヒーズブ塗布に先立って行うリン酸エッチングは、エナメル質への接着性を獲得するうえで確実な歯面処理法とされてきた。本実験の結果からも、MDP を含有しない EX は水中保管 24 時間で、SE と同等な接着強さおよび疲労強さを示すとともに、保管期間を延

長しても安定した接着耐久性を示した。このことから、リン酸エッチングで生じたエナメル質粗面にアドヒーシブが浸透、重合硬化することによって得られた投錨効果が、高い初期接着強さとともに経時的にも安定した接着性の獲得に寄与したものと考えられた。一方、SE と EX で得られた成績を比較すると、とくに長期水中浸漬させた試片において SE が有意に高い値を示した。したがって、エナメル質接着においてリン酸エッチングの効果には高いものがあるものの、さらに安定した接着耐久性を獲得するためには機能性モノマーである MDP の存在は欠かせないことが示された。

本実験の結果から、MDP 含有アドヒーシブは、MDP 未含有アドヒーシブに比較して優れたエナメル質接着耐久性を示すことが判明した。また、MDP と HAp の反応によってエナメル質表面は疎水性を示すことが明らかとなり、この表面改質が接着耐久性の向上に寄与した可能性が示唆された。一方、MDP 未含有のアドヒーシブにおいてもリン酸エッチングを行うことで安定した接着性を示したところから、機能性モノマーを含有するシングルステップセルフエッチングアドヒーシブの臨床使用に際しては、エナメル質歯面処理としてリン酸エッチングを併用することが推奨される。

本論文は、原著論文 Tsuchiya K, Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsubota K, Tsujimoto A, Berry TP, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Effect of a functional monomer (MDP) on the enamel bond durability of single-step self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci* 2016; 124: 96-102. を基幹論文とし、表面自由エネルギーの実験データを新たに加えることによって総括したものである。

## 緒 言

歯質接着システムのうち、セルフエッチングシステムは簡便な操作性とともにテクニクセンシティブティが少ないことなどから、コンポジットレジン修復に広く応用されている<sup>1-3)</sup>。この接着システムは、機能性モノマーを含有することを特徴としており、その歯質接着性の多くの部分をこのモノマーに依存している。すなわち、機能性モノマーは歯質の脱灰とともにハイドキシアパタイト (HAp) と反応して化学的接着性の獲得に寄与している<sup>4,5)</sup>。とくに、機能性モノマーのひとつである 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP) は、優れた接着性を示すことから多くの接着システムに採用されている。MDP と HAp との化学的反応は、臨床的に妥当な時間でカルシウム塩を形成し、HAp 表面にナノレイヤリング構造を構築することで安定した接着性を示す<sup>6-8)</sup>。また、MDP 含有セルフエッチングアドヒーズは、接着界面直下に ABRZ (acid-base resistant zone) を形成するとされており、辺縁性二次齲蝕の予防あるいは接着耐久性の向上が期待されている<sup>9-11)</sup>。しかし、セルフエッチングアドヒーズシステムにおいて、口腔内で負荷される機械的劣化因子に対する機能性モノマーMDP の効果については不明な点が多い。

歯質接着性材料の評価には、剪断あるいは引張りなどによる接着試験が用いられている<sup>12,13)</sup>。これらの試験法は、接着試片破断時における最大応力からその接着性を評価している。しかし、口腔内において修復物に負荷される荷重は、破断に至る以下の繰り返し荷重で生じるとされ、接着界面近傍に生じる修復材の塑性変形あるいは微小亀裂の発生と進展は、一定荷重負荷試験によるものとは異なるとされている<sup>14)</sup>。したがって、接着システムの接着耐久性の評価には、試験試片に繰り返し荷重を負荷する動的疲労試験<sup>15-17)</sup>による評

価も必要と考えられる。

そこで著者は、セルフエッチングアドヒーシブに使用される機能性モノマーMDPの有無が、エナメル質の接着耐久性に及ぼす影響について、長期水中保管後に接着疲労耐久性試験を行うことで検討した。また、アドヒーシブ塗布面の表面自由エネルギー測定を行うとともに接着界面および試験終了後の破断面の走査電子顕微鏡（SEM）観察を行った。

## 材料および方法

### 1. 材料および可視光線照射器

供試したアドヒーシブは、MDPを含有した市販製品の Clearfil Bond SE ONE（SE, Kuraray Noritake Dental）および SE と同じ成分に調整しつつ MDP 未含有とした試作セルフエッチングアドヒーシブ（EX, Kuraray Noritake Dental）を用いた（Table 1）。また、リン酸エッチング剤として Ultra-Etch（Ultradent）を、光重合型コンポジットレジジンとしては Clearfil AP-X（Kuraray Noritake Dental）を用いた。可視光線照射器としては、Spectrum 800（Dentsply Caulk）を、その光強度が  $600 \text{ mW/cm}^2$  以上であることを Curing Radiometer（Model 100, Kerr）で確認して使用した。

### 2. 接着試験

#### 1) 被着歯面の調整

ヒト抜去大白歯の歯根部を除去した後、歯冠部を近遠心的に切断し、常温重合型レジジンを用いて直径 25 mm の真鍮リングに包埋した。次いで、直径 4~5 mm のエナメル質平坦面が得られるようにモデルトリマーを用いて唇側中央部を研削した。さらに、この面を耐

水性シリコンカーバイドペーパーの# 4,000 まで順次研削し、これを被着エナメル質面とした。

なお、本研究の実施にあたっては、日本大学歯学部倫理委員会の承認を得ている（倫許 2015-06）。

## 2) 接着試片の製作

アドヒーズの塗布に際して、EXではセルフエッチング効果が望めないところから、いずれのアドヒーズにおいてもリン酸エッチングを15秒間行った（pre-etching）後に、アドヒーズを塗布することとした。すなわち、pre-etchingされたエナメル質面にアドヒーズを塗布し、マイルドエアブローを行った後に10秒間照射した（Table 2）。次いで、内径 2.36 mm, 高さ 2.5 mmのステンレス製モールドをアドヒーズ塗布面にクランプを用いて静置し、コンポジットレジン充填して40秒間照射を行い、これを接着試片とした。これらの接着試片は、37°C精製水中に24時間、6ヵ月および1年間保管した後に、剪断接着強さを測定するとともに、残りの試片を疲労試験に供することで、接着疲労強さ（以後、疲労強さ）を求めた。

## 3) 剪断接着強さ（Shear Bond Strength: SBS）の測定

所定の保管期間が終了した接着試片に対して、エレクトロダイナミック試験機（ElectroPuls E1000, Instron）を用いて、クロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件で剪断接着強さ（以後、接着強さ）を測定した。また、接着試験後の破断試片については、その破壊形式を知るために実体顕微鏡を用いて 20 倍の倍率でエナメル質側およびレジン側破断面を観察し、界面破壊、エナメル質あるいはコンポジットレジンの凝集破壊および混合破壊として分類した。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 15 個とした。



#### 4) 疲労強さ (Shear Fatigue Strength: SFS) の測定

疲労試験は、所定の保管期間が経過した接着試片に対し、万能試験機を用いて staircase method を応用して行った<sup>18)</sup>。すなわち、得られた接着強さの約 50~60%の値の荷重を 10 Hz の正弦波で、波形最下点が最大負荷荷重とした条件で繰り返し 50,000 回試片に負荷した。その際、規定回数に達する前に試験片が破断した場合は、初期荷重の 10%を減じた荷重を次の試験片に負荷し、逆に破断することなく経過した場合は、荷重を増加することで段階的に荷重負荷を変動させた。最終的に、試験片の脱落個数および負荷荷重からその疲労強さを求めた。なお、試験後の試片については、接着強さ試験と同様に破壊形式を分類評価し、試片の数は各条件についてそれぞれ 30 個とした。

#### 3. SEM 観察

接合界面の SEM 観察には、接着試験用試片と同様に製作した試片を 24 時間水中保管した後、エポキシ樹脂に包埋したものをを用いた。樹脂が硬化した後、硬組織精密低速切断機 (Isomet-400, Buehler) を用いて注水下で縦断し、この面をダイヤモンドペーストの粒径 0.25  $\mu\text{m}$  まで順次研磨して観察面とした。これらの試片は、通法に従って *tert*-ブタノール上昇系列に順次浸漬した後、臨界点乾燥 (凍結乾燥機, Model ID-3, エリオニクス) を行った。次いで、加速電圧 1.0 kV, イオン流密度 1.2 mA/cm<sup>2</sup> の条件でアルゴンイオンエッチング (EIS-200 ER, エリオニクス) を 40 秒間行い、金蒸着を施して、接合界面観察用試片とした。また、疲労試験終了後の破断面の SEM 観察は、レジン側破断試片を 3 分間超音波洗浄した後、イオンコーター (Quick Coater Type SC-201, サンヨー電子) で金蒸着を施した。これらの試片は、フィールドエミッション SEM (ERA-8800 FE, エリオニクス) を用

いて加速電圧 10 kV の条件で観察した。

#### 4. 表面自由エネルギーの測定

表面自由エネルギーの測定は、接着試験と同様の条件で処理した照射前のアドヒーズブ塗布面を、アセトンおよび蒸留水で 15 秒間交互洗浄を 3 回繰り返して行い、これを表面自由エネルギー測定用試片とした。表面自由エネルギーが既知の液体として 1-ブロムナフタレン、ジヨードメタンおよび蒸留水を使用した (Table 3)。接触角の測定は、全自動接触角計 (Drop Master DM 500, 協和界面科学) を用い、セシルドロップ法でそれぞれの液滴を 1  $\mu$ l 滴下し、装置に付属するソフトウェア (FAMAS, 協和界面科学) を用いて  $\theta/2$  法で測定を行った。なお、各条件における試片数は 10 個とし、未処理面およびリン酸エッチング処理面についても同様に測定を行った。

表面自由エネルギーと接触角のとの関係は、接着仕事量を  $W_{SL}$ 、液体の表面自由エネルギーを  $\gamma_L$ 、個体の表面自由エネルギーを  $\gamma_S$  および接触角を  $\theta$  としたとき、次に示す拡張 Fowkes の理論式で定義される<sup>19)</sup>。

$$W_{SL} = \gamma_L + \gamma_S - \gamma_{SL} = \gamma_L (1 + \cos\theta)$$

この拡張 Fowkes の理論式を用いて、各条件における表面自由エネルギー ( $\gamma_S$ ) を分散 ( $\gamma_S^d$ )、双極子 ( $\gamma_S^p$ ) および水素結合 ( $\gamma_S^h$ ) の各成分を、次に示す理論式から算出した。

$$\gamma_{SL} = \gamma_L + \gamma_S - 2(\gamma_L^d \cdot \gamma_S^d)^{1/2} - 2(\gamma_L^p \cdot \gamma_S^p)^{1/2} - 2(\gamma_L^h \cdot \gamma_S^h)^{1/2}$$

$$\gamma_L = \gamma_L^d + \gamma_L^p + \gamma_L^h$$

$$\gamma_S = \gamma_S^d + \gamma_S^p + \gamma_S^h$$

#### 5. 統計処理

接着強さについては、等分散性を確認した後、二元配置分散分析および Turkey HSD test を用いて有意水準 5% の条件で統計分析を行った。また、疲労強さに関しては、modified *t*-test および Bonferroni correction を用いて有意水準 5% の条件で統計処理を行った。また、表面自由エネルギーについては、等分散性を確認した後、一元配置分散分析および Turkey HSD test を用いて有意水準 5% の条件で統計分析を行った。

## 成 績

### 1. 接着強さ

各アドヒーズにおける接着強さの成績を Table 4 に示した。二元配置分散分析の結果から、接着システムおよび水中保管期間は接着強さに影響を及ぼす有意な因子であり ( $p < 0.001$ )、それぞれの因子の相互作用についても有意差が認められた ( $p < 0.001$ )。

各アドヒーズにおけるエナメル質接着強さは、SE では 41.8~52.8 MPa、EX では 37.2~39.4 MPa であった。SE の 6-mo および 1-yr 群は、24-h 群に比較して有意に高い接着強さを示したものの、6-mo および 1-yr 群間に有意差は認められなかった。一方、EX の接着強さは、6-mo 群で高い値を示したものの、いずれの水中保管期間においても有意差は認められなかった。また、SE および EX 間においては、24-h 群では有意差は認められないものの、他の保管期間では SE は EX に比較して有意に高い接着強さを示した。

### 2. 疲労強さ

各アドヒーズの接着疲労強さの成績を Table 5 に示した。すなわち、SE では 18.3~26.1 MPa、EX では 16.0~17.1 MPa であり、いずれのアドヒーズにおいても各保管期間にお

ける疲労強さは接着強さと同様の傾向を示した。すなわち、SE の 6-mo および 1-yr 群は、24-h 群に比較して有意に高い疲労強さを示したものの、6-mo および 1-yr 群間に有意差は認められなかった。一方、EX においてはいずれの水中保管期間においてもその接着強さに有意差は認められないものの、保管期間の延長に伴ってその疲労強さは低下する傾向を示した。

### 3. 破壊形式

接着強さ試験終了後の破断面における破壊形式を Table 6 に示した。すなわち、EX における破壊形式は、いずれの保管期間においても界面破壊が大勢を占めた。一方、SE ではいずれの試験法においても 6-mo 群でエナメル質の凝集破壊が他の保管期間に比較して多かった。

### 4. SEM 観察

SE におけるエナメル質接合界面の代表的な SEM 像を Figs. 1, 2 に示す。いずれのアドヒーズにおいてもその接合状態は良好であり、エナメル小柱およびレジントグの形成が明瞭に観察された。アドヒーズ層の厚みはいずれのアドヒーズにおいても、5~7  $\mu\text{m}$  とほぼ同様であった。また、アドヒーズ層内には、密に充填されたナノフィラーが観察された。

疲労強さ試験終了後の破断面の代表的な SEM 像を Figs. 3~6 に示す。低倍率の観察では、いずれのアドヒーズにおいても 24-h 群では、アドヒーズでの界面破壊像として観察された (Figs. 3a, 5a)。しかし、高倍率の観察では波状の亀裂進展および部分的なエナメル質における凝集破壊が観察された (Figs. 3b, 5b)。保管期間で比較すると、1-yr 群での破

断面 SEM 像では 24-h 群と比較して明らかな形態学的な差異は認められなかったものの、波状の亀裂進展およびエナメル質での凝集破壊は SE に比較して EX では不明瞭となる傾向を示した (Figs. 4b, 6b)。

## 5. 表面自由エネルギーの測定

アドヒージブの違いがエナメル質処理面の表面自由エネルギーに及ぼす影響の成績を Table 7 に示す。ベースラインであるエナメル質研削面およびリン酸エッチング処理面の表面自由エネルギーは、それぞれ  $60.0 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  および  $79.0 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  であり、リン酸エッチングによって表面自由エネルギーが有意に高くなった。これは、双極子成分 ( $\gamma_s^p$ ) および水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) の有意な上昇によるものであった。また、各アドヒージブにおける表面自由エネルギーは、SE で  $76.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  および EX で  $79.1 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$  であり、有意差は認められなかったものの、表面自由エネルギーを構成する各成分で比較すると SE の水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) は、EX に比較して有意に低い値を示した。

## 考 察

コンポジットレジンに用いられる接着システムの耐久性の評価に関しては、口腔内に充填された修復物を観察するという臨床的研究が最も重要と考えられている<sup>15)</sup>。しかし、観察項目、術者および観察者の標準化、患者選択、観察期間、あるいは経済的側面などの観点から、臨床的研究の実施については課題も多いのが現状である<sup>15)</sup>。一方、多様な劣化因子が存在する口腔内環境の複雑な相互作用を実験室環境で規格化し、これを再現するには限界があるのも事実である。そのため、実験室環境において行われる劣化試験においては、

特定の因子に着目した耐久性試験が行われてきた<sup>20-25)</sup>。口腔内環境における劣化因子としては、口腔内細菌が産生する酸による脱灰、レジン成分の加水分解あるいは歯質の変性などの化学的な因子とともに、咬合などによって生じる繰返し荷重による疲労などが挙げられる<sup>26-30)</sup>。これらの接着耐久性に及ぼす因子を負荷した検討はこれまでも多くあったものの、長期水中保管後の試験片に対して咀嚼によって生じる動的疲労を勘案した研究報告は文献渉猟の範囲では見当たらない。

そこで著者は、一定期間水中に保管した接着試片に、口腔内で生じる繰返し荷重をシミュレートした疲労耐久性試験を行うことで、セルフエッチングアドヒーシブに含有されている機能性モノマーMDPの接着耐久性に及ぼす影響について検討した。

その結果、水中保管 24 時間で比較すると、SE と EX との間に有意差は認められなかったものの、水中保管 6 ヶ月および 1 年では、SE が EX に比較して有意に高い接着強さを示し、疲労強さにおいても同様の傾向を示した。このように、接着耐久性という観点から SE が EX に比較して良好な成績を示した理由としては、HAp と MDP の強固な化学的接着系の形成が関与しているものと考えられた<sup>4,6-8)</sup>。この接着系の形成は、表面自由エネルギーを構成する各成分の比較においても、SE は EX および pre-etch 条件のベースラインに比較して水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) が有意に低い値を、双極子成分 ( $\gamma_s^p$ ) は高い値を示したことから推察できる。すなわち、リン酸エッチングによって HAp の水酸基が配向することでENAMEL質の水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) は上昇し、親水性に富んだエッチング処理面が形成される<sup>31)</sup>。この処理面に MDP を含有する SE が塗布されることで、機能性モノマーの反応基が HAp の水酸基と反応することで水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) が減少したものと考えられる<sup>31)</sup>。し

たがって、機能性モノマーである MDP の存在によって HAp との化学的結合が形成され、これが長期水中浸漬に伴って生じる加水分解および動的疲労に対する高い抵抗性を示したものと考えられた。

EX においてはいずれの保管期間においても接着強さおよび疲労強さに有意差は認められなかったものの、SE では水中保管 6 ヶ月後の値は、24 時間値に比較して有意に向上した。このことは、接着界面を構成するアドヒーズ層の機械的性質が後重合によって向上したこと、あるいは機能性モノマーMDP と HAp との化学的結合が時間経過とともにさらに強固なものとなった可能性などが考えられた<sup>32)</sup>。

アドヒーズ塗布に先立って行う pre-etching は、エナメル質への接着性を獲得するうえで最も確実な歯面処理法とされる<sup>33-35)</sup>。本実験の結果からも、MDP を含有しない EX は、水中保管 24 時間で SE と同等な接着強さおよび疲労強さを示すとともに、保管期間を延長しても安定した接着耐久性を示した。リン酸エッチングの効果としては、清掃作用、粗造化作用、極性化作用およびヌレ性の向上が挙げられる<sup>33-35)</sup>。本実験で使用したリン酸エッチング材を用いると、エナメル質の脱灰深さは、エッチング 15 秒間で約 20~25  $\mu\text{m}$  であったと報告されている<sup>36)</sup>。こうして形成された粗糙面にアドヒーズが浸透、重合硬化することによって得られた投錨効果が、高い初期接着強さとともに経時的にも安定した接着性の獲得に寄与したものと考えられた。一方、SE と EX で得られた成績を比較すると、とくに長期水中浸漬させた試片において SE が有意に高い値を示した。したがって、エナメル質接着においてリン酸エッチングの効果には高いものがあるものの、さらに安定した接着耐久性を獲得するためには機能性モノマーである MDP の存在は欠かせないことが示唆

された。

動的疲労の負荷によって生じた接着界面近傍の亀裂先端には、塑性変形領域が形成され、その大きさは亀裂の進展と破壊とに関連する<sup>37)</sup>。そのため、アドヒーズの厚さが塑性変形領域に比較して十分に厚い場合では応力を分散させることが可能となるが、比較的薄膜のアドヒーズ層を形成するシングルステップセルフエッチングアドヒーズでは、破壊抵抗性の観点からは不利になる可能性がある。また、X線解析によってMDPと歯質HApとの反応生成物を観察した報告<sup>7)</sup>によると、エナメル質におけるナノレイヤリング構造は象牙質に比較して薄く、その化学的反応性も低いとされている。したがって、シングルステップセルフエッチングアドヒーズのエナメル質接着耐久性に関しては、機能性モノマーの存在とともにリン酸エッチングを行うことによって相乗的に向上することが示唆された。

本実験の結果から、MDPを含有するアドヒーズでは、これを含まないアドヒーズに比較して優れたエナメル質接着耐久性を示すことが判明した。また、MDPとHApの反応によってエナメル質表面の界面科学的性質は疎水性を示すようになることが明らかとなり、この表面改質が接着耐久性の向上に寄与する可能性が示唆された。一方、MDP未含有のアドヒーズにおいてもリン酸エッチングを行うことで安定した接着性を示したところから、機能性モノマーを含有するシングルステップセルフエッチングアドヒーズの臨床使用に際しては、エナメル質歯面処理としてリン酸エッチングを併用することが推奨されることが示唆された。



## 結 論

機能性モノマーMDPの有無がエナメル質接着耐久性に及ぼす影響について、長期水中保管後の接着疲労耐久性試験によって検討した結果から、以下の結論を得た。

1. 機能性モノマーMDPを含有するアドヒーシブの接着強さおよび疲労強さは、水中保管6ヶ月以上の条件でMDPを含有しないアドヒーシブに比較して有意に高い値を示した。
2. 機能性モノマーMDPを含有しないアドヒーシブの破壊形式は、いずれの保管期間においても界面破壊が大勢を占めた。一方、機能性モノマーMDPを含有するアドヒーシブの水中保管6ヶ月条件は、エナメル質における凝集破壊が他の保管期間に比較して多かった。
3. 接着界面のSEM観察から、いずれのアドヒーシブにおいてもその接合状態は良好であり、エナメル小柱およびレジクタグの形成が明瞭に観察された。また、試験終了後の破断面の観察から、いずれのアドヒーシブおよび保管期間においてもその破断面に明瞭な形態学的な差異は認められなかった。
4. 機能性モノマーMDPを含有するアドヒーシブ処理面の水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) は、リン酸エッチングのベースラインおよびMDPを含有しないアドヒーシブに比較して有意に低い値を示した。
5. リン酸エッチングによって研削エナメル質面の表面自由エネルギーは有意に上昇した。とくに、双極子成分 ( $\gamma_s^p$ ) および水素結合性成分 ( $\gamma_s^h$ ) の有意な上昇が認められた。

## 文 献

- 1) Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2011; 27: 17-28.
- 2) Miyazaki M, Tsujimoto A, Tsubota K, Takamizawa T, Kurokawa H, Platt JA. Important compositional characteristics in the clinical use of adhesive systems. *J Oral Sci* 2014; 56: 1-9.
- 3) Kurokawa H, Takamizawa T, Rikuta A, Tsubota K, Miyazaki M. Three-year clinical evaluation of posterior composite restorations placed with a single-step self-etch adhesive. *J Oral Sci* 2015; 57: 101-108.
- 4) Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y, Okazaki M, Shintani H, Van Meerbeek B. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res* 2002; 59: 56-62.
- 5) Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Torii Y, Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B, Van Landuyt KL. Self-etch monomer-calcium salt deposition on dentin. *J Dent Res* 2011; 90: 602-606.
- 6) Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B. Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res* 2006; 85: 941-944.
- 7) Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, Van Landuyt KL, Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B. Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater* 2011; 7: 3187-3195.
- 8) Yaguchi T. Layering mechanism of MDP-Ca salt produced in demineralization of enamel and

- dentin apatite. *Dent Mater* 2017; 33: 23-32.
- 9) Li N, Nikaido T, Takagaki T, Sadr A, Makishi P, Chen J, Tagami J. The role of functional monomers in bonding to enamel: acid-base resistant zone and bonding performance. *J Dent* 2010; 38: 722-730.
  - 10) Nikaido T, Ichikawa C, Li N, Takagaki T, Sadr A, Yoshida Y, Suzuki K, Tagami J. Effect of functional monomers in all-in-adhesive systems on formation of enamel/dentin acid-base resistant zone. *Dent Mater J* 2011; 30: 576-582.
  - 11) Matsui N, Takagaki T, Sadr A, Ikeda M, Ichinose S, Nikaido T, Tagami J. The role of MDP in a bonding resin of a two-step self-etching adhesive system. *Dent Mater J* 2015; 34: 227-233.
  - 12) Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater* 2010; 26: 78-93.
  - 13) Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater* 2010; 26: 100-121.
  - 14) Phrukkanon S, Burrow MF, Tyas MJ. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent Mater* 1998; 14: 212-221.
  - 15) De Munck J, Van Landuyt KL, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005; 84: 118-132.
  - 16) Erickson RL, De Gee AJ, Feilzer AJ. Fatigue testing of enamel bonds with self-etch and total-etch adhesive systems. *Dent Mater* 2006; 22: 981-987.

- 17) Barkmeier WW, Erickson RL, Latta MA. Fatigue limits of enamel bond with moist and dry techniques. *Dent Mater* 2009; 25: 1527-1531.
- 18) Draughn RA. Compressive fatigue limits of composite restorative materials. *J Dent Res* 1979; 58: 1093-1096.
- 19) Hata T, Kitazaki Y, Saito T. Estimation of the surface energy of polymer solids. *J Adhes* 1987; 21: 177-194.
- 20) Sakaguchi RL, Douglas WH, DeLong R, Pintado MR. The wear of posterior composite in artificial mouth: a clinical correlation. *Dent Mater* 1986; 2: 235-240.
- 21) Sezinando A, Perdigão J, Regalheiro R. Dentin bond strengths of four adhesion strategies after thermal fatigue and 6-month water storage. *J Esthet Restor Dent* 2012; 24: 345-355.
- 22) Sheets JL, Wilcox CW, Barkmeier WW, Nunn ME. The effect of phosphoric acid pre-etching and thermocycling on self-etching adhesive enamel bonding. *J Prosthet Dent* 2012; 107: 102-108.
- 23) Marchesi G, Frassetto A, Visintini E, Diolosà M, Turco G, Salgarello S, Di Lenarda R, Cadenaro M, Breschi L. Influence of ageing on self-etch adhesives: one-step vs. two-step systems. *Eur J Oral Sci* 2013; 121: 43-49.
- 24) Thanatvarakorn O, Nakajima M, Prasansuttiporn T, Ichinose S, Foxton RM, Tagami J. Effect of smear layer deproteinizing on resin-dentine interface with self-etch adhesive. *J Dent* 2014; 42: 298-304.
- 25) Sai K, Shimamura Y, Takamizawa T, Tsujimoto A, Imai A, Endo E, Barkmeier WW, Latta MA,

- Miyazaki M. Influence of degradation conditions on dentin bonding durability of three universal adhesives. *J Dent* 2016; 54: 56-61.
- 26) Breschi L, Mazzoni A, Ruggeri A, Cadenaro M, Di Lenarda R, De Stefano Dorigo E. Dental adhesion review: aging and stability of the bonded interface. *Dent Mater* 2008; 24: 90-101.
- 27) Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater* 2012; 28: 72-86.
- 28) Tezvergil-Mutluy A, Pashley D, Mutluray MM. Long-term durability of dental adhesives. *Curr Oral Health Rep* 2015; 2: 174-181.
- 29) 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* 2016; 32: e9-e21.
- 30) Suzuki T, Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of etching mode on enamel bond durability of universal adhesive systems. *Oper Dent* 2016; 41: 520-530.
- 31) Tsujimoto A, Iwasa M, Shimamura Y, Murayama R, Takamizawa T, Miyazaki M. Enamel bonding of single-step self-etch adhesives: influence of surface energy characteristics. *J Dent* 2010; 38: 123-130.
- 32) 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* 2015; 43: 1416-1427.

- 33) Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt KL, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture, Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28: 215-235.
- 34) Erickson RL, Barkmeier WW, Latta MA. The role of etching in bonding to enamel: A comparison of self-etching and etch-and-rinse adhesive systems. *Dent Mater* 2009; 25: 1459-1467.
- 35) Zhu JJ, Tang AT, Matinlinna JP, Hägg U. Acid etching of human enamel in clinical applications: a systematic review. *J Prosthet Dent* 2014; 112: 122-135.
- 36) Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Tsuchiya K, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M. Influence of pre-etching times on fatigue strength of self-etch adhesives to enamel. *J Adhes Dent* 2016; 18: 510-511.
- 37) Wakasa K, Yamaki M, Matsui A. Calculation models for average stress and plastic deformation zone size of bonding area in dentine bonding systems. *Dent Mater J* 1995; 14: 152-165.

## 表および図

Table 1 Materials used in this study

Adhesive	Code	Lot No.	Main components	Manufacturer
Clearfil Bond SE ONE	SE	4483016	MDP, bis-GMA, HEMA, ethanol, water, filler, CQ	Kuraray Noritake Dental Inc.
Experimental Adhesive	EX	451192	bis-GMA, HEMA, ethanol, water, filler, CQ	Kuraray Noritake Dental Inc.
Pre-etching agent		Lot No.	Main components	Manufacturer
Ultra-Etch		G017	35% phosphoric acid	Ultradent Products Inc.
Resin composite		Lot No.	Main components	Manufacturer
Clearfil AP-X		9B0035	bis-GMA, TEGDMA, silanated barium glass filler, silanated silica filler, silanated colloidal silica, catalysts, accelerators, CQ, pigments, others, Filler load: 83.5 wt%	Kuraray Noritake Dental Inc.

MDP: 10-methacryloyloxydecyl di-hydrogen phosphate  
bis-GMA: 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy)phenyl]propane  
HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate  
CQ: *dl*-camphorquinone  
TEGDMA: triethyleneglycol dimethacrylate



Table 2 Application protocol for pre-etching and self-etching adhesives

Method	Protocol
Pre-etch	Enamel surface was phosphoric acid conditioned for 15 sec. Conditioned surface was rinsed with water spray for 15 sec.
Adhesive application	Adhesive was applied to the air-dried tooth surface for 10 sec, followed by medium air pressure for 5 sec. Adhesive was light-cured for 10 sec.

Table 3 Surface free energy and their components values of test liquids

Liquid	Lot No.	Manufacturer	$\gamma_L$	$\gamma_L^d$	$\gamma_L^p$	$\gamma_L^h$
1-Bromonaphthalene	ALH4513	Wako Pure Chemical Industries	44.6	44.4	0.2	0.0
Diiodomethane	ALL2310	Wako Pure Chemical Industries	50.8	46.8	4.0	0.0
Distilled water	—	—	72.8	29.1	1.3	42.4

Table 4 Influence of long-term water storage on SBS

	SE	EX
24-h	41.8 (6.6) <sup>bA</sup>	37.5 (4.9) <sup>aA</sup>
6-mo	52.8 (4.9) <sup>aA</sup>	39.4 (5.0) <sup>aB</sup>
1-yr	48.4 (5.0) <sup>aA</sup>	37.2 (4.8) <sup>aB</sup>

Unit: MPa, values in parentheses are standard deviations.

Same lowercase letter in vertical columns indicates no difference at 5% significance level.

Same uppercase letter in horizontal rows indicates no difference at 5% significance level.

Table 5 Influence of long-term water storage on SFS

	SE	EX
24-h	18.3 (4.3) <sup>bA</sup>	17.1 (3.5) <sup>aA</sup>
6-mo	26.1 (3.1) <sup>aA</sup>	16.3 (2.9) <sup>aB</sup>
1-yr	23.6 (2.8) <sup>aA</sup>	16.0 (5.6) <sup>aB</sup>

Unit: MPa, values in parentheses are standard deviations.

Same lowercase letter in vertical columns indicates no difference at 5% significance level.

Same uppercase letter in horizontal rows indicates no difference at 5% significance level.

Table 6 Failure mode analysis of debonded specimens

	SBS			SFS		
	24-h	6-mo	1-yr	24-h	6-mo	1-yr
SE	[80/0/7/13]	[67/0/20/13]	[80/0/7/13]	[77/0/23/0]	[47/6/47/0]	[92/0/8/0]
EX	[86/0/7/7]	[100/0/0/0]	[87/0/0/13]	[92/0/0/8]	[92/0/0/8]	[92/0/0/8]

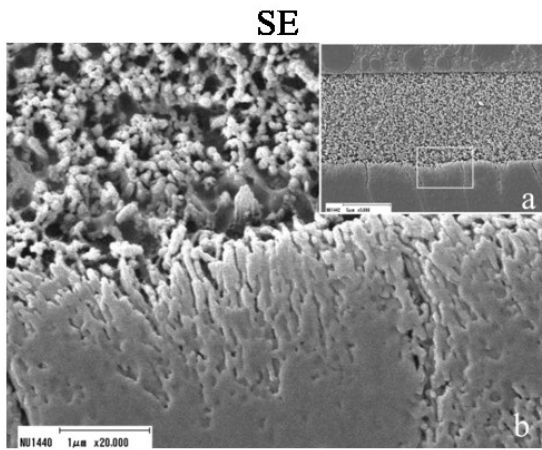
Failure mode: [adhesive failure/ cohesive failure in resin composite/ cohesive failure in enamel/ mixed failure] percent of each failure mode.

Table 7 Influence of presence or absence of MDP on enamel surface free energy

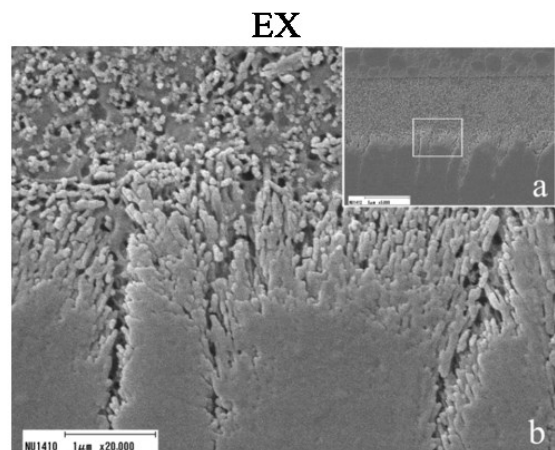
	$\gamma_s$	$\gamma_s^d$	$\gamma_s^p$	$\gamma_s^h$
Base line (initial)	60.0 (2.5) <sup>b</sup>	41.8 (0.2) <sup>a</sup>	3.2 (0.2) <sup>b</sup>	15.0 (2.6) <sup>c</sup>
Etching	79.0 (2.3) <sup>a</sup>	41.9 (0.2) <sup>a</sup>	9.4 (1.5) <sup>a</sup>	27.7 (2.0) <sup>a</sup>
SE	76.8 (2.8) <sup>a</sup>	41.6 (0.2) <sup>a</sup>	10.5 (1.4) <sup>a</sup>	24.7 (2.4) <sup>b</sup>
EX	79.1 (2.7) <sup>a</sup>	41.8 (0.2) <sup>a</sup>	9.7 (1.4) <sup>a</sup>	27.6 (2.3) <sup>a</sup>

Unit:  $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ , values in parentheses are standard deviations.

Same lower case letter in vertical column indicates no difference at a 5% significance level.

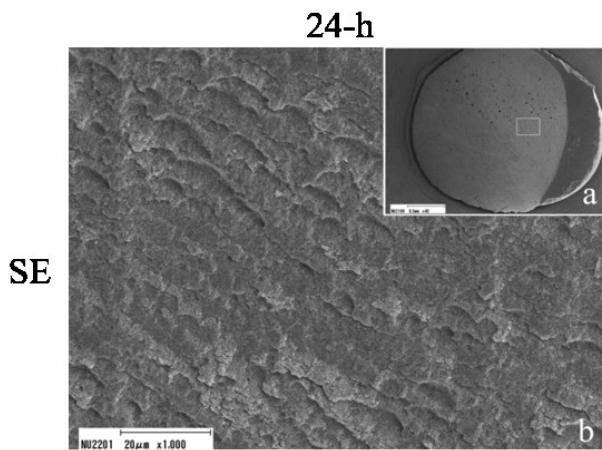


**Fig. 1**

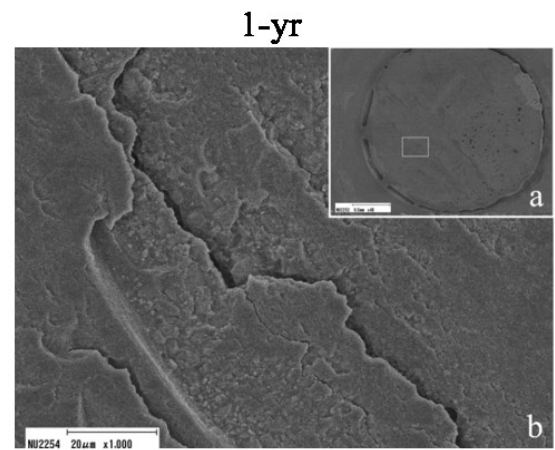


**Fig. 2**

**Figs. 1, 2** Representative SEM images of the enamel-resin interface of SE and EX (original magnification, x 5,000 (a), x 20,000 (b)).

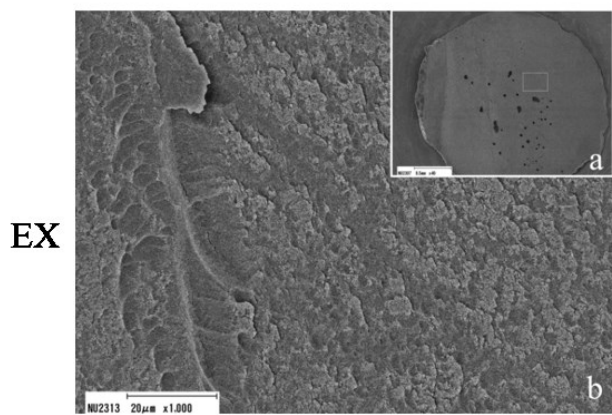


**Fig. 3**

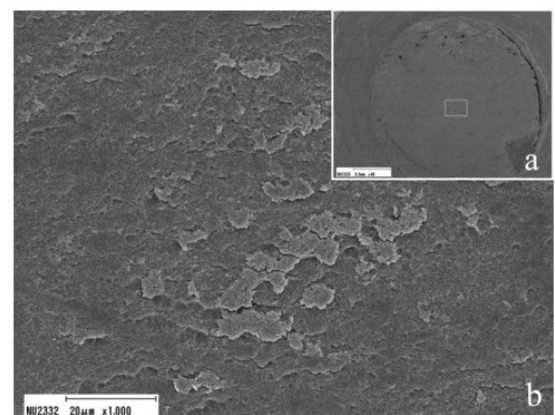


**Fig. 4**

**Figs. 3, 4** Representative SEM images of fracture resin surfaces after the SFS of SE with pre-etching (original magnification, x 50 (a), x 2,500 (b)).



**Fig. 5**



**Fig. 6**

**Figs. 5, 6** Representative SEM images of fracture resin surfaces after the SFS of EX with pre-etching (original magnification, x 50 (a), x 2,500 (b)).