

酸蝕がユニバーサルアドヒーシブのエナメル質接着性
および超音波縦波音速に及ぼす影響

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

矢 吹 千 晶

(指導：宮 崎 真 至 教授, 陸 田 明 智 准教授)

概 要

コンポジットレジン修復に用いられる歯質接着システムは、臨床ステップ数を簡略化するとともに、口腔内で安定した接着性を発揮することを開発の方向性としている。最近では、優れた接着性を有しながら異なる被着体に接着性を示すとともに、複数のエッチングモードで使用可能なユニバーサルアドヒーシブが臨床使用されている。このユニバーサルアドヒーシブに関しては、エッチングモード、アドヒーシブの塗布法あるいは試片の保管条件が歯質接着性に及ぼす影響などについて検討されており、その結果として比較的高い評価が得られている。さらに、口腔内で負荷される温熱刺激あるいは咬合負荷などをシミュレートした疲労試験なども行われており、臨床使用における有用性についても検討が継続されている。

近年、ライフスタイルの変化に伴って食生活習慣にも影響が認められるようになり、酸性飲食物を継続的に摂取することに起因する酸蝕歯の発症が問題となっている。この疾患は、齲蝕と歯周病につづく第3の口腔疾患ともされており、予防法とともに治療法について議論されている。酸蝕歯は、齲蝕原因菌が産生した酸とは異なり、飲食物に由来する酸によって経年的に惹き起こされるものであり、さらに咬耗あるいは摩耗が関与することで複雑な進行形態を示す。この疾患への臨床的対応としては、初期段階においては脱灰を抑制することを主眼とした保存的治療が行われるが、実質欠損を伴った症例では、コンポジットレジンなどを用いた修復処置が行われる。しかし、最新の接着システムであるユニバーサルアドヒーシブが、酸の影響を受けた歯質に対して、どの程度の接着性を示すかについては不明な点が多い。

そこで本論文では、口腔内において繰り返して低pH環境に曝された被着歯面を想定し、酸蝕歯に対するユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着性について、剪断接着試験を行うことによって検討した。さらに、被着歯面の脱灰状態を知るために超音波測定を行うとともにレーザー走査顕微鏡 (LSM) を用いて観察を行った。

被着歯面として、ウシ抜去歯の歯冠部を常温重合型レジンに包埋し、直径 6~8 mm のエナメル質平坦面が得られるように唇側中央部を耐水性シリコンカーバイドペーパーで順次研削した。脱灰条件としては、1.23%クエン酸溶液 (pH 2.1, 6.4×10^{-2} mol/L) を用いて 1 分間作用させ水洗と乾燥させる操作を 5 回繰り返した後、人工唾液 (pH 7.0, 14.4 mM NaCl, 16.1 mM KCl, 0.3 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 2.0 mM K_2HPO_4 , 1.0 mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ および 0.10 g% sodium carboxymethyl cellulose) に 1 分間保管した (直後群)。また、直後群と同様の処理を 1 日に 2 回、7 日間行ったものを 7 日群とするとともに、脱灰操作を行うことなく人工唾液に保管したものをコントロール群とした。

供試したユニバーサルアドヒーズは、All-Bond Universal (以後 AB, Bisco), Adhese Universal (以後 AU, Ivoclar Vivadent) および Scotchbond Universal Adhesive (以後 SU, 3M ESPE) の 3 製品とした。コンポジットレジンとしては、Crearfil AP-X (シェード A2, Kuraray Noritake Dental) を用いた。可視光線照射器 (Optilux 501, Kerr) は、その光強度が $600mW/cm^2$ 以上を保っていることを確認して使用した。各脱灰条件に従って処理された酸蝕エナメル質に、直径 4 mm の穴の開いた両面テープを貼付することによって被着面積を規定した。製造者指示条件に従ってアドヒーズを塗布、円筒形デュラコン型 (高さ 2 mm, 直径 4 mm) にコンポジットレジンを填塞した後に、30 秒間照射を行い、これを接着試験用試片

とした。試片は 37°C の蒸留水中に 24 時間保管した後、万能試験機 (Type5500R, 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。接着試験を終了した試片について、10 倍の倍率で光学顕微鏡 (SZH-131, Olympus) を用いて接着部位の歯面およびコンポジットレジンを観察し、破壊形式を判定した。

超音波測定に使用した試片は、ウシ抜去歯から低速精密切断機 (IsoMet 1000, Buehler) を用いて唇舌的に幅 1 mm のエナメル質を切り出し、ダイヤモンドディスク (ISO #021, Shofu) を用いて 6×6×1 mm のブロック体に調整した。次いで、耐水性シリコンカーバイドペーパーを用いて研磨し、平坦な表面を作製した。この試験片をダイヤルゲージマイクロメーター (CPM15-25DM, Mitutoyo) を用いて、最終的な試験片の厚さを測定した。

超音波測定は、縦波用トランスデューサ (V112, Panametrics) , パルサーレシーバ (Model 5900PR, Panametrics) およびオシロスコープ (Wave Runner LT584, LeCroy) から構成されたシステムを用いて行った。測定時期としては、脱灰処理前から 1, 3, 7 および 14 日後とした。また、試験片の形態観察には、超音波測定と同様に製作したエナメル質面を三次元 LSM (VK-8700, Keyence) を用いて行った。

その結果、供試したユニバーサルアドヒージブの接着強さは、コントロール群において 15.6~16.5 MPa であったのに対して、直後群においては 18.1~18.7 MPa であり、いずれのユニバーサルアドヒージブにおいても有意差は認められなかった。すなわち、低 pH 環境に曝された被着エナメル質面であっても、それが比較的短時間であり、脱灰が極めて軽微な場合にはユニバーサルアドヒージブの接着性には影響を及ぼさないことが示された。一方、7 日群の接着強さは 21.0~22.8 MPa であり、いずれのユニバーサルアドヒージブにお

いてもコントロール群と比較して有意に高い値を示した。本実験に供試したユニバーサルアドヒーズのpHは2.5~3.1であり、酸性度の分類からはマイルドタイプとされている。したがって、エナメル質表面の脱灰が進行した被着面に対して、ユニバーサルアドヒーズが浸透するとともにそこで硬化することによって、機械的嵌合力が向上したことによるものと考えられた。

超音波測定においては、コントロール群の縦波音速は6,827~6,832 m/sであり、保管期間の違いによる差は認められなかった。一方、脱灰処理を行った試験片の縦波音速は経過時間に伴って低下する傾向を示し、3日後では6,694 m/sと、コントロール群と比較して有意に低い値を示した。この音速の低下は、エナメル質から無機質成分の流失を示し、エナメル質に構造的変化をもたらした結果と考えられた。

LSM観察からは、脱灰条件において、エナメル質表面の凹凸が1日後にすでに著明に認められた。その後、浸漬時間の経過とともにエナメル質表面の凹凸は平坦化する傾向を示し、形態学的な変化は時間に依存するものであった。酸蝕の初期においては、エナメル質表面が粗糙化したところから、エナメル質接着に対しての機械的嵌合力を向上させた可能性が考えられる。しかし、酸蝕が進行することでアパタイト結晶が損傷され、局所的な構造変化としてエナメル質が多孔性となることで機械的性質が低下すると考えられている。したがって、酸蝕エナメル質は部分的には強固な接着系形成を可能にするが、エナメル質の構造変化によって接着試験時に被着体の凝集破壊が生じたものと考えられた。

本実験の結果から、酸蝕はユニバーサルシステムのエナメル質接着性に影響を及ぼすことが示された。したがって、酸蝕エナメル質に対するユニバーサルアドヒーズの接着性

向上，とくに耐久性を獲得するためにはさらなる検討が必要であり，被着対象となる歯質の状態の把握，歯質の再石灰化あるいは適切な歯面処理などを検討することが必要であることが示唆された。

本論文は，原著論文 Yabuki C, Rikuta A, Murayama R, Akiba S, Suzuki S, Takamizawa T, Kurokawa H, Miyazaki M. Effect of acid erosion on enamel bond strength of self-etch adhesives and sonic velocity measurement of enamel. Dent Mater J 2018; 37: 542-548. を基幹論文とし，これに新たな脱灰条件における剪断接着試験の実験データを加えることによって総括したものである。

緒 言

コンポジットレジン修復に用いられる歯質接着システムは、臨床ステップ数を簡略化するとともに、口腔内で安定した接着性を発揮することを開発の方向性としている^{1,2)}。最近では、優れた接着性を有しながら異なる被着体に接着性を示すとともに、複数のエッチングモードで使用可能なユニバーサルアドヒーシブが臨床使用されている³⁻⁵⁾。このユニバーサルアドヒーシブに関しては、エッチングモード、アドヒーシブの塗布法あるいは試片の保管条件が歯質接着性に及ぼす影響などについて検討されており、その結果として比較的高い評価が得られている⁶⁻⁸⁾。さらに、口腔内で負荷される温熱刺激あるいは咬合負荷などをシミュレートした疲労試験なども行われており、臨床使用における有用性についても検討が継続されている⁹⁾。

近年、ライフスタイルの変化に伴って食生活習慣にも影響が認められるようになり、酸性飲食物を継続的に摂取することに起因する酸蝕歯の発症が問題となっている^{10,11)}。この疾患は、齲蝕と歯周病につづく第3の口腔疾患ともされており、予防法とともに治療法について議論されている¹²⁾。酸蝕歯は、齲蝕原因菌が産生した酸とは異なり、飲食物に由来する酸によって経年的に惹き起こされるものであり、さらに咬耗あるいは摩耗が関与することで複雑な進行形態を示す¹³⁾。この疾患への臨床的対応としては、初期段階においては脱灰を抑制することを主眼とした保存的治療が行われるが、実質欠損を伴った症例では、コンポジットレジンなどを用いた修復処置が行われる^{14,15)}。しかし、最新の接着システムであるユニバーサルアドヒーシブが、酸の影響を受けた歯質に対して、どの程度の接着性を示すかについては不明な点が多い。

そこで本論文では、口腔内において繰り返して低pH環境に曝された被着歯面を想定し、酸蝕歯に対するユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着性について、剪断接着試験を行うことによって検討した。さらに、被着歯面の脱灰状態を知るために超音波測定を行うとともにレーザー走査顕微鏡 (LSM) を用いて観察を行った。

材料および方法

1. エナメル質および脱灰条件

ウシ抜去歯の歯冠部を常温重合型レジンに包埋し、直径 6~8 mm のエナメル質平坦面が得られるように唇側中央部を耐水性シリコンカーバイドペーパーで順次研削した。エナメル質に対する脱灰条件としては、1.23%クエン酸溶液 (pH 2.1, 6.4×10^{-2} mol/L) を用いて1分間作用させ水洗と乾燥させる操作を5回繰り返した後、人工唾液 (pH 7.0, 14.4 mM NaCl, 16.1 mM KCl, 0.3 mM $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 2.0 mM K_2HPO_4 , 1.0 mM $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ および 0.10 g% sodium carboxymethyl cellulose)¹⁶⁾ に1分間保管し、これを直後群とした。また、直後群と同様の処理を1日に2回、7日間行ったものを7日群とするとともに、脱灰操作を行うことなく人工唾液に保管したものをコントロール群とした。

2. 接着強さ試験

供試したユニバーサルアドヒーズは、All-Bond Universal (AB, Bisco), Adhese Universal (AU, Ivoclar Vivadent) および Scotchbond Universal Adhesive (SU, 3MESPE) の3製品とした (Table 1)。コンポジットレジンとしては、Crearfil AP-X (シェード A2, Kuraray Noritake Dental) を用いた。可視光線照射器 (Optilux 501, Kerr) は、その光強度が $600mW/cm^2$ 以上

を保っていることを確認して使用した。

各脱灰条件に従って処理された酸蝕エナメル質に、直径 4 mm の穴の開いた両面テープを貼付することによって被着面積を規定した。製造者指示条件 (Table 2) に従ってアドヒーズを塗布、円筒形デュラコン型 (高さ 2 mm, 直径 4 mm) にコンポジットレジンを充填した後、30 秒間照射した。なお、接着試験片の製作は、室温 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 5\%$ の恒温恒湿室において赤色ランプ照明下で行い、製作された試片は 37°C の蒸留水中に 24 時間保管した。

所定の保管時間が経過した後、試験片を万能試験機 (Type5500R, 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。接着試験を終了した試片について、10 倍の倍率で光学顕微鏡 (SZH-131, Olympus) を用いて接着部位の歯面およびコンポジットレジンを観察し、破壊形式を判定した。

3. 超音波測定

ウシ抜去歯から低速精密切断機 (IsoMet 1000, Buehler) を用いて唇舌的に幅 1 mm のエナメル質を切り出し、ダイヤモンドディスク (ISO #021, Shofu) を用いて $6 \times 6 \times 1$ mm のブロック体に調整した。次いで、耐水性シリコンカーバイドペーパーを用いて研磨し、平坦な表面を作製した。この試験片を、ダイヤルゲージマイクロメーター (CPM15-25DM, Mitutoyo) を用いて最終的な試験片の厚さを測定した。

超音波測定は、縦波用トランスデューサ (V112, Panametrics) , パルサーレシーバ (Model 5900PR, Panametrics) およびオシロスコープ (Wave Runner LT584, LeCroy) から構成されたシステムを用いて行った。測定時期としては、脱灰処理前から 1, 3, 7 および 14 日後と

した。測定に際して、SUS304 ステンレス鋼ブロック (2211M, Panametrics) を用いて較正し、トランスデューサを各試験片に対して垂直に接触させた (Fig. 1)。測定は $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の温度および $50 \pm 5\%$ の相対湿度の環境下で行い、試片の数は各条件について 6 個とした。

4. 統計分析

得られた接着強さの値については、等分散性を確認した後に、分散分析および Tukey HSD test を用いて有意水準 5% の条件で統計学的検定を行った。音速については、反復測定 ANOVA および Tukey HSD test を用いて分析した。

5. LSM 観察

試験片の形態観察は、超音波測定と同様に製作したエナメル質面を三次元 LSM (VK-8700, Keyence) を用いて行った。

成 績

1. エナメル質接着強さ

酸蝕エナメル質に対するユニバーサルアドヒージブの接着強さを Table 3 に示した。供試したユニバーサルアドヒージブの接着強さは、コントロール群において 15.6~16.5 MPa であったのに対して、直後群においては 18.1~18.7 MPa であり、いずれのユニバーサルアドヒージブにおいても有意差は認められなかった。一方、7 日群の接着強さは 21.0~22.8 MPa であり、いずれのユニバーサルアドヒージブにおいてもコントロール群と比較して有意に高い値を示した。接着試験後の破壊形式は、コントロール群では界面破壊が大勢を占

め、直後群および7日群においても界面破壊が多く観察されたものの、エナメル質の凝集破壊が散見された。

2. 超音波測定

エナメル質試験片を伝搬する縦波音速を Table 4 に示した。コントロール群の縦波音速は 6,827~6,832 m/s であり、保管期間の違いによる差は認められなかった。一方、脱灰処理を行った試験片の縦波音速は、経過時間に伴って低下する傾向を示し、3日後では 6,694 m/s と、コントロール群と比較して有意に低い値を示した。

3. LSM 観察

エナメル質処理面の代表的な LSM 画像を Fig. 2 に示した。脱灰条件において、エナメル質表面の凹凸が1日後にすでに著明に認められた。その後、浸漬時間の経過とともにエナメル質表面の凹凸は平坦化する傾向を示し、形態学的な変化は時間依存性であった。

考 察

近年、酸性飲食物由来の酸によって歯質の脱灰が進行する酸蝕歯が話題となっている^{10,11)}。酸蝕歯は、これを予防することが重要であるが、進行の程度によってはコンポジットレジンなどを用いた修復処置が必要となる^{14,15)}。しかし、酸蝕歯に対するユニバーサルアドヒーズの接着性については不明な点が多く、多方面からの検討が望まれている。そこで、酸性飲食物を頻回に摂取することで口腔内において繰り返し低 pH 環境に曝されたエナメル質を想定し、酸蝕モデルである脱灰されたエナメル質に対するユニバーサルアドヒーズの接着性について検討した。

歯質接着試験においては、ヒトの歯を用いて行うことが最も適していると考えられるが、本研究においてはウシ抜去歯を使用した。ウシの歯は入手が容易であり、組成が比較的一定で、試片製作のための表面積が大きく確保できるという利点がある^{17,18)}。さらに、ウシ抜去歯を酸で処理した際の構造的変化および無機成分の分布は、ヒトで観察されるものと近似しているとされている¹⁹⁾。そこで、本実験においてはエナメル質酸蝕モデルにウシ抜去歯を用いて歯質接着試験を行った。

その結果、供試したユニバーサルアドヒーズの接着強さは、直後群においてはコントロール群と比較して有意差は認められなかった。すなわち、低 pH 環境に曝された被着エナメル質面であっても、それが比較的短時間であり、脱灰が極めて軽微な場合にはユニバーサルアドヒーズの接着性には影響を及ぼさないことが示された。一方、コントロール群と比較して、7 日群においてはその接着強さは有意に向上した。本実験に供試したユニバーサルアドヒーズの pH は 2.5~3.1 であり、酸性度の分類からはマイルドタイプとされている。したがって、エナメル質表面の脱灰が進行した被着面に対して、ユニバーサルアドヒーズが浸透するとともにそこで硬化することによって、機械的嵌合力が向上したことによるものと考えられた。

次いで、酸蝕歯モデルにおけるエナメル質脱灰程度を知るために超音波透過法を用いて試片を透過する縦波音速の測定を行った。この縦波音速の測定に関しては、試片内を伝搬する超音波の変化を電氣的に増幅することによって波形を検出し、1 ns 単位で試片を透過する超音波の伝搬時間と試片の厚さとの関係から求めた。

その結果、脱灰条件における試験片の超音波縦波音速は経時的に低下したが、コントロ

ール群では変化は認められなかった。この縦波音速の低下は、エナメル質から無機質成分の流失を示し、エナメル質に構造的変化をもたらした結果と考えられた²⁰⁻²²⁾。

LSM 観察からは、コントロール群と比較して、酸蝕初期の試験片は不規則な表面性状を示した。酸蝕の初期においては、エナメル質表面が粗糙化するところから、エナメル質接着に対しての機械的嵌合力を向上させた可能性が考えられる。しかし、酸蝕が進行することでアパタイト結晶が損傷され、局所的な構造変化としてエナメル質が多孔性となることで機械的性質が低下すると考えられる。したがって、酸蝕エナメル質は部分的には強固な接着系形成を可能にするが、エナメル質の構造変化によって接着試験時に被着体の凝集破壊が生じたものと考えられた。

酸が除かれた口腔内においては、唾液中のカルシウムイオンおよびリン酸イオンによって再石灰化が生じる²³⁾。走査電子顕微鏡による観察からは、*in vitro* で再石灰化が起こるのに必要な時間は4~24時間とされている²⁴⁾。また、酸蝕に対する唾液の機能として、ペリクル形成能、希釈作用、酸緩衝作用あるいは再石灰化亢進などの重要な役割を果たす²⁵⁾。唾液の有する再石灰化能に関しては、クエン酸に2時間曝露されたエナメル質を人工唾液に保管すると、1~4時間後には部分的な再石灰化が認められ、6~24時間後に完全に再石灰化するとされている²⁶⁾。このように、酸蝕歯の発症においても、脱灰と再石灰化という動的平衡を保つような口腔内機能が作用していることを考慮して^{27,28)}、本疾患の治療にあたる必要があると考えられた。

本実験の結果から、酸蝕はユニバーサルシステムのエナメル質接着性に影響を及ぼすことが示された。したがって、酸蝕エナメル質に対するユニバーサルアドヒーズの接着性

向上，とくに耐久性を獲得するためにはさらなる検討が必要であり，被着対象となる歯質の状態の把握，歯質の再石灰化あるいは適切な歯面処理などを検討することが必要であることが示唆された。

結 論

酸蝕がユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着性に及ぼす影響について，剪断接着試験，超音波測定およびレーザー走査顕微鏡を用いて検討した結果，以下の結論を得た。

1. ユニバーサルアドヒーズの接着強さは，いずれの製品もコントロール群と比較し，直後群ではわずかに値は向上するものの有意な差は認められなかったのに対し，7日群では有意に高い値を示した。
2. 接着試験後の破壊形式は，コントロール群では界面破壊が大勢を占め，直後群および7日群においても界面破壊が多く観察されたものの，エナメル質の凝集破壊が散見された。
3. 脱灰処理後の縦波音速は，経時的に低下したが，コントロール群では変化が認められなかった。
4. LSM 観察において，酸蝕されたエナメル質の表面性状はエッチングパターンを示したが，その形態は時間に依存して変化する傾向を示した。

文 献

- 1) Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: Current status and future challenges. *Oper Dent* 2003; 28: 215-235.
- 2) Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J* 2005; 24: 1-13.
- 3) Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: a systematic review and meta-analysis. *J Dent* 2015; 43: 765-776.
- 4) Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Wilwerding T, Latta MA, Miyazaki M. Interfacial characteristics and bond durability on universal adhesives to various substrates. *Oper Dent* 2017; 42: e59-e70.
- 5) Tsujimoto A, Barkmeier WW, Hosoya Y, Nojiri K, Nagura Y, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Comparison of bond fatigue durability to enamel of universal adhesives and two-step self-etch adhesives in self-etch mode. *Am J Dent* 2017; 30: 279-284.
- 6) Mair L, Padipatvuthikul P. Variables related to materials and preparing for bond strength testing irrespective of the test protocol. *Dent Mater* 2010; 26: e17-e23.
- 7) Deng D, Yang H, Guo J, Chen X, Zhang W, Huang C. Effects of different artificial ageing methods on the degradation of adhesive-dentine interfaces. *J Dent* 2014; 42: 1577-1585.

- 8) 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.
- 9) Tsujimoto A, Barkmeier WW, Erickson RL, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of number of cycles on shear fatigue strength of resin composite bonded to enamel and dentin using adhesives in self-etch mode. *Dent Mater J* 2018; 37: 113-121.
- 10) Dugmore CR, Rock WP. A multifactorial analysis of factors associated with dental erosion. *Br Dent J* 2004; 196: 283-286.
- 11) Lussi A, Schaffner M, Jaeggi T. Dental erosion-diagnosis and prevention in children and adults. *Int Dent J* 2007; 57: 385-398.
- 12) Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: A multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monogr Oral Sci* 2014; 25: 1-15.
- 13) Huysmans MCDNJM, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. *Caries Res* 2011; 45 (Suppl 1): 60-68.
- 14) Reis A, Higashi C, Loguercio AD. Re-anatomization of anterior eroded teeth by stratification with direct composite resin. *J Esthet Restor Dent* 2009; 21: 304-316.
- 15) Peutzfeld A, Jaeggi T, Lussi A. Restorative therapy of erosive lesions. *Monogr Oral Sci* 2014; 25: 253-261.
- 16) Adair SM, Whitford GM, McKnight-Hanes C. Effect of artificial saliva and calcium on fluoride output of controlled-release devices. *Caries Res* 1994; 28: 28-34.

- 17) White AJ, Yorath C, ten Hengel V, Leary SD, Huysmans M-CDNJM, Barbour ME. Human and bovine enamel erosion under 'single-drink' conditions. *Eur J Oral Sci* 2010; 118: 604-609.
- 18) Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci* 2011; 53: 273-282.
- 19) Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res* 1988; 22: 327-336.
- 20) Peck SD, Rowe JM, Briggs GA. Studies on sound and carious enamel with the quantitative acoustic microscope. *J Dent Res* 1989; 68: 107-112.
- 21) Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Kurokawa H. Ultrasonic determination of the effects of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste on the demineralization of bovine dentine. *Caries Res* 2007; 41: 204-207.
- 22) Murayama R, Furuichi T, Yokokawa M, Takahashi F, Kawamoto R, Takamizawa T, Kurokawa H, Miyazaki M. Ultrasonic investigation of the effect of S-PRG filler-containing coating material on bovine tooth demineralization. *Dent Mater J* 2012; 31: 954-959.
- 23) Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion —An overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011; 45 (Suppl 1): 2-12.
- 24) Seong J, Virani A, Parkinson C, Claydon N, Hellin N, Newcombe RG, West N. Clinical enamel surface changes following an intra-oral acidic challenge. *J Dent* 2015; 43: 1013-1020.
- 25) Amaechi BT, Higham SM. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent* 2001; 29: 371-376.

- 26) Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP. Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Res* 2001; 35: 211-215.
- 27) Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000; 131: 887-899.
- 28) Featherstone JD. The continuum of dental caries evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004; 83 (Spec Iss C): C39-C42.

表および図

Table1 Universal adhesives used in this study

Code	Adhesive	Main components	Manufacturer
AB	All-Bond Universal	MDP phosphate monomer, bis-GMA, HEMA, ethanol, water, initiators	Bisco, Schaumburg, IL, USA
AU	Adhese Universal	MDP, bis-GMA, HEMA, MCAP, D3MA, ethanol, water, initiator stabilizers, silicon dioxide	Ivoclar Vivadent, Schaan, Lichtenstein
SU	Scotchbond Universal	MDP phosphate monomer, HEMA, dimethacrylate resins, Vitrebond copolymer, filler, ethanol, water, initiators, silane	3M ESPE, St.Paul, MN, USA

MDP: 10-methacryloyloxydecryl dihydrogen phosphate; bis-GMA: 2,2-bis[4-(2hydroxy-3-methacryloyloxy-propoxy)-phenyl]propane; HEMA: 2-Hydroxyethyl methacrylate; MCAP: methacrylated carboxylic acid polymer; D3MA: decandiol dimethacrylate.

Table2 Application protocol for universal adhesives

Code	Adhesive application protocol
AB	Apply two separate coats of adhesive to the air-dried enamel surface with scrubbing for 15 s per coat, and then evaporate excess solvent by thoroughly air-drying with an air syringe for 10 s. Light irradiation was done for 10 s.
AU	Adhesive was applied to enamel surface with rubbing motion for 20 s. Medium stream of air applied over the surface for 5 s, then light irradiate was done for 10 s.
SU	Adhesive was applied to air-dried enamel surface with rubbing action for 20 s, and then medium air pressure was applied to the surface for 5 s. Light irradiation was done for 10 s.

Table 3 Influence of acidic erosion on enamel bond strength (MPa) of universal adhesives

Code	Control group	Er group	7-day group
AB	16.0 (2.9)aA [0/2/8]	18.1 (4.7)aAB [0/3/7]	21.7 (4.2)aB [0/3/7]
AU	15.6 (2.6)aA [0/2/8]	18.3 (4.3)aAB [0/3/7]	21.0 (2.4)aB [0/2/8]
SU	16.5 (2.6)aA [0/1/9]	18.7 (4.7)aA [0/1/9]	22.8 (3.2)aB [1/1/8]

Same small case letter in vertical columns indicates no difference ($p > 0.05$).

Same capital letter in horizontal columns indicates no difference ($p > 0.05$).

Failure mode:[cohesive failure in resin or adhesive/ cohesive failure in enamel/ adhesive failure]

Table 4 Influence of acidic erosion on average Ultrasonic velocities (m/s) of bovine enamel

Group	Treatment time (days)				
	0	1	3	7	14
Control	6,832 (65)a	6,829 (66)a	6,829 (64)a	6,828 (65)a	6,827 (65)a
Er	6,827 (68)a	6,765 (66)a,b	6,694 (65)b	6,671 (66)b	6,661 (74)b

n=6 per group, values with the same superscript letter are not significantly different ($p > 0.05$).

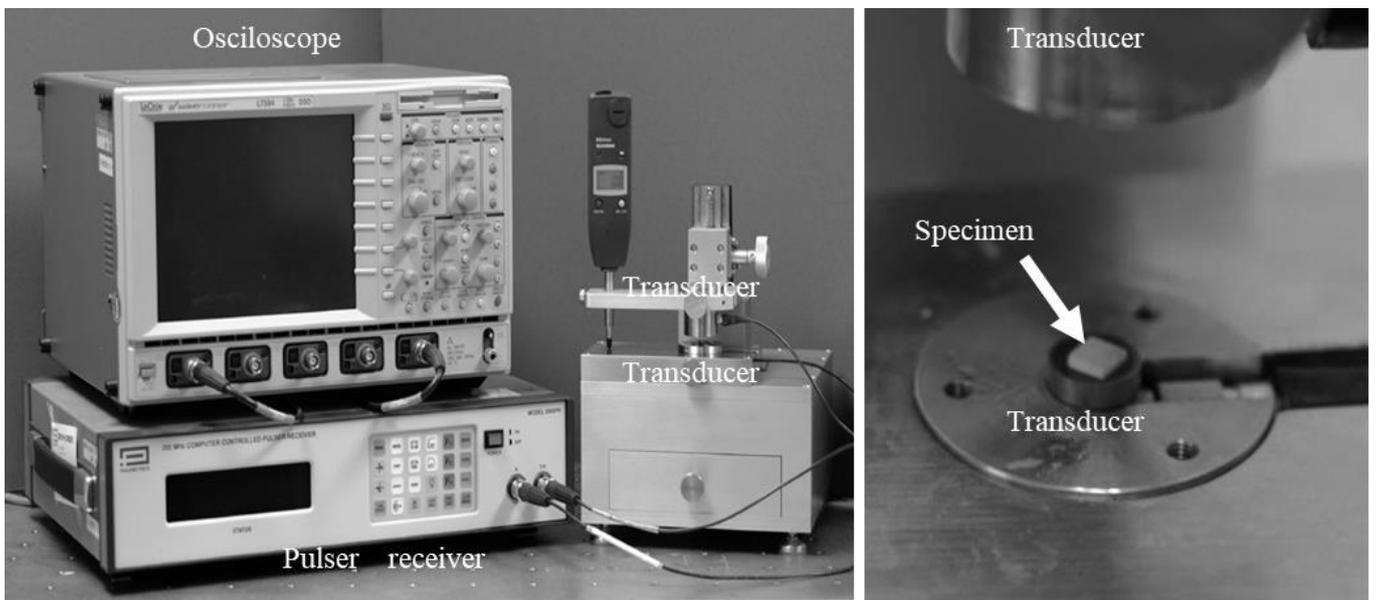
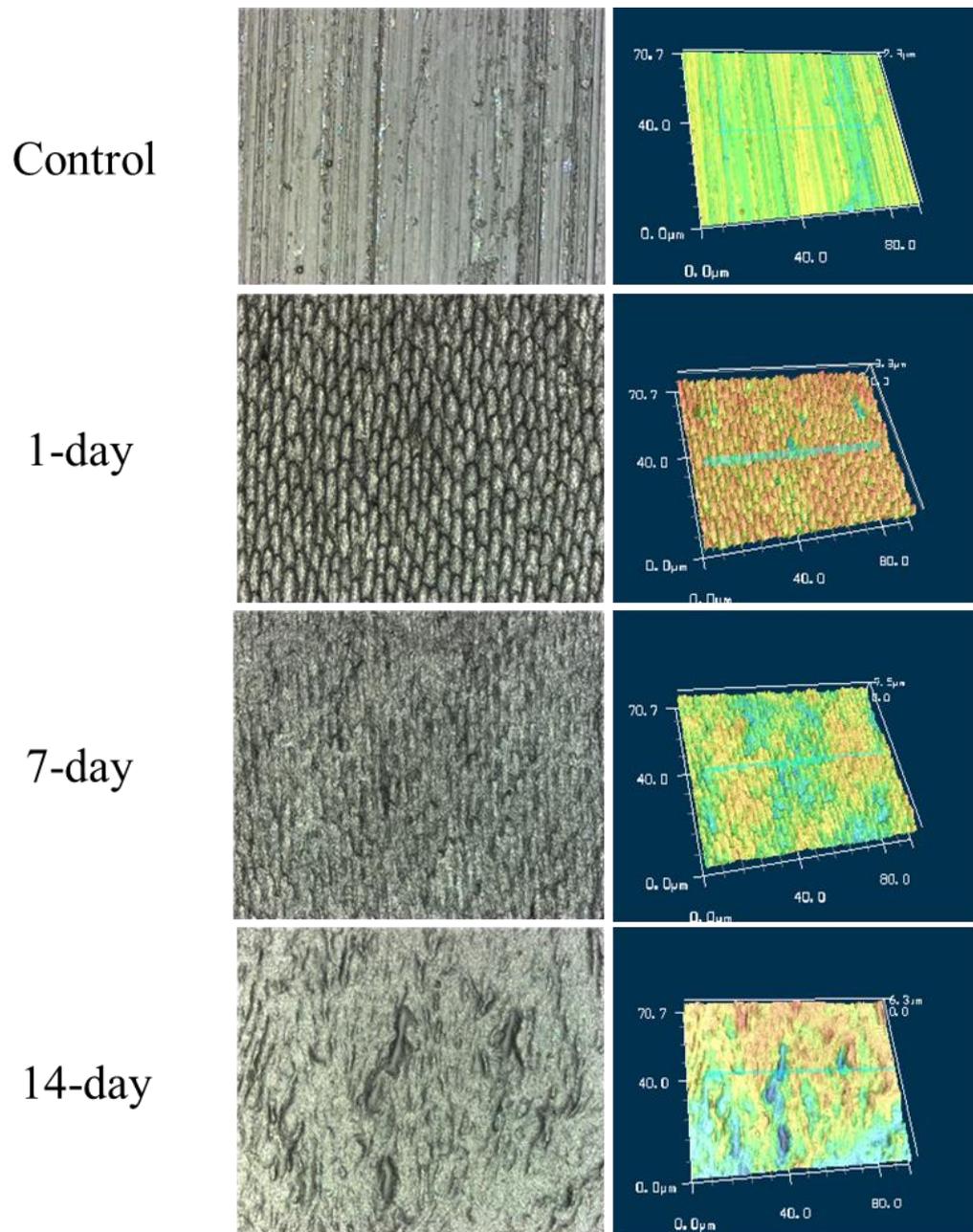


Fig. 1 Ultrasonic measuring system used in this study.



(Original magnification: $\times 3,000$)

Fig. 2 Representative 3D-LSM images of enamel surfaces before adhesive application.