

組成が異なる接着システムのエッチ&リンス
モードにおける象牙質接着疲労強さ

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

笠原 悠太

(指導：宮崎 真至 教授, 高見澤 俊樹 准教授)

概 要

光重合型コンポジットレジン（以後、光重合型レジン）修復に用いられる接着システムは、歯質に対してリン酸エッチングを行うエッチ&リンス（ER）モードを採用した接着システムと、リン酸エッチングを行うことなくセルフエッチング（SE）モードを採用した接着システムとに分類される。エナメル質接着においては、リン酸エッチングを行うことでエッチングパターンを形成し、その部にレジン成分が浸透硬化することでマイクロメカニカルリテンションが獲得される。一方、象牙質に対するリン酸エッチングは、無機質が溶解除去されてコラーゲン線維が露出し、この脱灰露出コラーゲン線維網にアドヒーズブが浸透硬化することで樹脂含浸層が形成される。しかし、脱灰露出コラーゲン線維網の全てにレジンモノマーが浸透することができず、接着界面における欠陥として残留する可能性が指摘されている。

ユニバーサルアドヒーズブは、臨床における操作性を簡略化するとともに、汎用性を具備したことによって使用頻度が高くなっている。ユニバーサルアドヒーズブは、ERあるいはSEモードいずれのエッチングモードにおいても使用が可能とされているが、その象牙質接着機構は選択されたエッチングモードによって異なる。とくに、ユニバーサルアドヒーズブをERモードで用いた象牙質接着界面には、樹脂含浸層とともに、これに隣接するように機能性モノマーと hidroksiapatit（以後、HAp）が結合することで形成される反応層、すなわち reaction layer が形成される。しかし、組成が異なる接着システ

ムの ER モードにおいて， reaction layer の形成を含めた象牙質接着性については不明な点が多い。

そこで著者は，組成とともにステップ数の異なる接着システムの象牙質接着性を検討することを目的として，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）の測定に加えて接着界面の走査電子顕微鏡（SEM）観察を行った。

供試した接着システムは，3 ステップシステムの OptiBond FL（OL, Kerr）および Adper Scotchbond Multi-Purpose Plus（SM, 3M Oral Care），2 ステップシステムの Adper Single Bond Plus（SB, 3M Oral Care）およびユニバーサルアドヒーシブシステムの Scotchbond Universal（SU, 3M Oral Care）である。リン酸エッチング剤として，Ultra-Etch（Ultradent Products）を，光重合型レジンとして Clearfil AP-X（Kuraray Noritake Dental）を使用した。

ヒト抜去大白歯歯冠部を近遠心的に切断した後に，常温重合レジンを用いて直径 25 mm の真鍮製リングに包埋した。次いで，象牙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面中央部を研削した。さらに，この面を耐水性研磨紙の#4,000 まで順次研削して，被着象牙質面とした。

被着歯面に対し，リン酸エッチングを 15 秒間行った後，各接着システムを製造者指示条件に従って塗布，照射を行った。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シブ塗布面に固定し，光重合型レ

ジンを填塞して 30 秒間照射を行い，接着試験用試片とした。これらの接着試験用試片は，37℃精製水中に 24 時間保管した。

所定の保管期間が終了した接着試片について，エレクトロダイナミック万能試験機（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，接着強さ試験後の破断試片については，象牙質側およびレジン側破断面を観察し，界面破壊，象牙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。

接着疲労試験は，接着試片に対して万能試験機を用いて staircase method を応用して繰返し負荷を行うことで測定した。すなわち，得られた接着強さの 50～60%の値の荷重を 20 Hz の正弦波で，波形最下点が最大負荷荷重とした条件で 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，試験片の破断個数および負荷荷重からその疲労強さを求めるとともに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た。

象牙質接着界面の SEM 観察用試片の製作に際しては，接着試験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。樹脂が硬化した後，自動精密切断機（IsoMet 1000 Low Speed Saw, Buehler）を用いて縦断し，この面を耐水性研磨紙の#4,000 まで順次研削した。次いで，ダイヤモンドペーストの粒径 0.25 μm まで鏡面研磨して，20 分間超音波洗浄を行った。

通法に従って、*tert*-ブタノール濃度上昇系列に順次浸漬した後、凍結乾燥 (Model ID-3, Elionix) を行った。次いで、切断した試片の半数は、塩酸および次亜塩素酸処理 (以後、酸-塩基処理) を行い、レジンタグ観察用試片とし、残った試片については加速電圧 1.0 kV、イオン流密度 0.4 mA/cm² の条件でアルゴンイオンエッチング (EIS-200 ER, Elionix) を 40 秒間行った。全ての試片は、イオンコーター (Quick Coater Type SC-701, Sanyu Electric) を用いて金蒸着し、フィールドエミッション SEM (ERA-8800 FE, Elionix) を用いて加速電圧 10 kV の条件で観察を行った。

その結果、得られた接着強さは、OL で最も高い値を、SU で最も低い値を示した。また、3 ステップシステムの OL および SM は、SB および SU に比較して有意に高い値を示した。一方、疲労強さは SM で最も高い値を、SB で最も低い値を示した。また、SM は SB に比較して有意に高い値を示し、有意差が認められた。また、いずれの接着システムにおいても、接着試験法の違いにかかわらず試験終了後の破壊形式は、界面破壊が大勢を占めた。

酸-塩基処理を行った象牙質接着界面の SEM 像では、いずれの接着システムにおいても、1~2 μm の樹脂含浸層とともに、象牙細管に浸透した長さ 50 μm 以上のレジンタグが観察された。また、OL ではレジンタグ内に不定形フィラーが分散している像が観察された。

アルゴンイオンエッチングを施した象牙質接着界面の SEM 像から、OL においては、無機質フィラーを含有する 20 μm の、SB および SU では 10~15 μm

のアドヒーズ層が観察された。一方、SMにおいては、無機質フィラーは認められず、厚さが40~50 μm の一様なアドヒーズ層が観察された。また、いずれの接着システムにおいても1~2 μm の樹脂含浸層の形成が認められ、OLおよびSUにおいては樹脂含浸層直下に高密度のreaction layerが認められ、とくにSUで明瞭に観察された。

SMおよびSBでは、明瞭なreaction layerは観察されなかったが、これらの接着システムには機能性モノマーが含有されていないためと考えられる。一方、SMおよびSBは、ポリアクリル酸コポリマー (Vitrebond copolymer) を含有することで象牙質中のHApと化学的相互作用をするとされている。しかし、SBおよびSUのERモードにおいては、接着性がOLおよびSMに比較して劣るものとなったのは、アドヒーズ層の厚みの違いに起因した可能性が示唆された。

以上のように、本実験の結果から、組成の異なる接着システムをERモードで用いた場合の象牙質接着機構は、樹脂含浸層およびレジntag形成による機械的嵌合力のみならず、樹脂含浸層下に形成されたreaction layerの存在が影響を及ぼしていることが示された。また、その接着性に関しては、アドヒーズ層の厚さも影響因子となる可能性が示された。

本論文は、原著論文 Kasahara Y, Takamizawa T, Hirokane E, Tsujimoto A, Ishii R, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2021) Comparison of different etch-and-rinse adhesive systems based on shear fatigue dentin bond strength and morphological features the interface. Dent Mater 37, e109-e117. を基幹論文とし、これに各接着システムを用いた象牙質処理面の SEM 観察データを加えることによって総括したものである。

緒 言

光重合型コンポジットレジン（以後、光重合型レジン）修復に用いられる接着システムは、歯質に対してリン酸エッチングを行うエッチ&リンス（ER）モードを採用した接着システムと、リン酸エッチングを行うことなくセルフエッチング（SE）モードを採用した接着システムとに分類される¹⁻³。エナメル質接着においては、リン酸エッチングを行うことで、エッチングパターンという微細な凹凸構造を形成し、その部にレジン成分が浸透硬化することでマイクロメカニカルリテンションが獲得される^{1,4}。一方、象牙質に対するリン酸エッチングは、無機質が溶解除去されてコラーゲン線維が露出し、この脱灰露出コラーゲン線維網にアドヒーシブが浸透硬化することで樹脂含浸層が形成される³。しかし、脱灰露出コラーゲン線維網の全てにレジンモノマーが浸透することができず、接着界面における欠陥として残留する可能性が指摘されている^{5,6}。

ユニバーサルアドヒーシブは、臨床における操作性を簡略化するとともに、汎用性を具備したことによって使用頻度が高くなっている^{7,8}。ユニバーサルアドヒーシブは、ERあるいはSEモードいずれのエッチングモードにおいても使用が可能とされているが、その象牙質接着機構は選択されたエッチングモードによって異なる⁹⁻¹¹。とくに、ユニバーサルアドヒーシブをERモードで用いた象牙質接着界面には、樹脂含浸層とともに、これに隣接するように機能性モノマーとハイドロキシアパタイト（以後、HAp）が結合することで形成さ

れる反応層，すなわち reaction layer が形成される¹²⁾。しかし，組成が異なる接着システムの ER モードにおいて，reaction layer の形成を含めた象牙質接着性の詳細については不明な点が多いのが現状である。

そこで著者は，組成とともにステップ数の異なる接着システムの象牙質接着性を検討することを目的として，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）の測定に加えて象牙質処理面および接着界面の走査電子顕微鏡（以後，SEM）観察を行った。

材料および方法

1. 供試材料および可視光線照射器

供試した接着システムは，3 ステップシステムの OptiBond FL（OL, Kerr）および Adper Scotchbond Multi-Purpose Plus（SM, 3M Oral Care），2 ステップシステムの Adper Single Bond Plus（SB, 3M Oral Care）およびユニバーサルアドヒーシブシステムの Scotchbond Universal（SU, 3M Oral Care）である。リン酸エッチング剤として，Ultra-Etch（Ultradent Products）を，光重合型レジジンとして Clearfil AP-X（Kuraray Noritake Dental）を使用した（Table 1）。可視光線照射器（Spectrum 800, Dentsply Sirona）は，その光強度が 600 mW/cm² 以上であることを確認して使用した。

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，歯冠部を近遠心的に切断した後に，これらを常温重合レジン（Tray Resin II, Shofu）を用いて直径 25 mm の真鍮製リングに包埋した。次いで，象牙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面中央部を研削した。さらに，この面を耐水性研磨紙の#4,000 まで順次研削して，被着象牙質面とした。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 EP20D007）。

2) 接着試片の製作

被着歯面に対し，リン酸エッチングを 15 秒間行った後，各接着システムを製造者指示条件に従って塗布，照射を行った（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ブ塗布面に固定し，光重合型レジンを填塞して 30 秒間照射を行い，接着試験用試片とした。これらの接着試験用試片は，37°C 精製水中に 24 時間保管した。

3) 接着強さの測定

所定の保管期間が終了した接着試片について，エレクトロダイナミック万能試験機（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，接着強さ試験後の破断試片については，象牙質側およびレジン側破断面を観察し，界面破壊，象牙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) 疲労強さの測定

疲労試験は、接着試片に対して万能試験機を用いて **staircase method** を応用して繰り返し負荷を行うことで測定した¹³⁾。すなわち、得られた接着強さの 50～60%の値の荷重を 20 Hz の正弦波で、波形最下点が最大負荷荷重とした条件で 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、試験片の破断個数および負荷荷重からその疲労強さを求めるとともに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た。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 25 個とした。

3. SEM 観察

各接着システムにおける象牙質処理面の SEM 観察には、接着試験と同様に歯面処理した象牙質被着面を、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、象牙質処理面の SEM 観察用試片とした。また、リン酸エッチングを 15 秒間行った後、水洗した試片についても、同様に SEM 観察を行った。

象牙質接着界面の SEM 観察用試片の製作に際しては、接着試験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。樹脂が硬化した後、自動精密切断機 (IsoMet 1000 Low Speed Saw, Buehler) を用いて縦断し、この面を耐水性研磨紙の #4,000 まで順次研削した。次いで、ダイヤモンドペーストの粒径 0.25 μm まで鏡面研磨して、20 分間超音波洗浄を行った。通法に従って、*tert*-ブタノール濃度上昇系列に順次浸漬した後、凍結乾燥 (Model ID-3, Elionix) を行った。次いで、切断した試片の半数は、塩酸およ

び次亜塩素酸処理（以後，酸－塩基処理）を行い，レジンタグ観察用試片とし，残った試片については加速電圧 1.0 kV，イオン流密度 0.4 mA/cm² の条件でアルゴンイオンエッチング（EIS-200 ER, Elionix）を 40 秒間行った。全ての試片は，イオンコーター（Quick Coater Type SC-701, Sanyu Electric）を用いて金蒸着し，フィールドエミッション SEM（ERA-8800 FE, Elionix）を用いて加速電圧 10 kV の条件で観察を行った。

4. 統計処理

得られた接着強さについては，等分散性を確認した後，一元配置分散分析および Tukey HSD test を用いて有意水準 5% の条件で統計学的分析を行った。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。

成 績

1. 接着強さおよび疲労強さ

ステップ数の異なる接着システムの ER モードにおける象牙質の接着強さおよび疲労強さの成績を Table 3 に示した。得られた接着強さは，33.3～41.2 MPa であり，OL で最も高い値を，SU で最も低い値を示した。また，3 ステップシステムの OL および SM は，SB および SU に比較して有意に高い値を示した。一方，疲労強さは 18.3～20.3 MPa であり，SM で最も高い値を，SB で最も低い値を示し，両者間には有意差が認められた。また，疲労強さと接

着強さの比率は、0.464～0.570 であり、OL で最も小さく、SU で最も大きな値を示した。

2. 破壊形式

接着強さおよび疲労強さ試験後の破断面の破壊形式を Table 3 に示した。いずれの接着システムにおいても、接着試験法の違いにかかわらず試験終了後の破壊形式は、界面破壊が大勢を占めた。

3. SEM 観察

リン酸エッチング処理面および供試した接着システムによる象牙質処理面の SEM 像を Fig. 1 に示した。リン酸エッチング処理面は、象牙細管の漏斗状の開口とともに脱灰露出コラーゲン線維網が観察された (Fig. 1A)。リン酸エッチング後に接着システムを用いて処理した象牙質面は、いずれの接着システムにおいても象牙細管の漏斗状の開口が観察されたものの、管間象牙質におけるコラーゲン線維網は認められなかった (Figs. 1B, C, D, E)。

酸-塩基処理を行った象牙質接着界面の SEM 像を Fig. 2 に示した。いずれの接着システムにおいても、1～2 μm の樹脂含浸層とともに、象牙細管に浸透した長さ 50 μm 以上のレジンタグが観察された。また、OL ではレジンタグ内に不定形フィラーが分散している像が観察された (Fig. 2A)。

アルゴンイオンエッチングを施した象牙質接着界面の SEM 像を Fig. 3 に示した。OL においては、無機質フィラーを含有する 20 μm の、SB および SU では 10～15 μm のアドヒーシブ層が観察された。一方、SM においては、無機質

フィラーは認められず、厚さが 40~50 μm の一様なアドヒーシブ層が観察された。また、いずれの接着システムにおいても 1~2 μm の樹脂含浸層の形成が認められ、OL および SU においては樹脂含浸層直下に高密度の reaction layer が認められ、とくに SU で明瞭に観察された (Figs. 3A, D)。

考 察

歯質接着性システムには、ER モードを採用している、あるいは ER モードを用いることを可能とするシステムがある。これらのシステムでは、組成が異なるところから象牙質接着機構に違いを示す可能性があるものの、その詳細に関しては不明な点が多い。そこで著者は、接着試験を行うとともに疲労試験を行うことで、組成の異なる接着システムの ER モードにおける接着性について検討した。

その結果、OL および SM は、SB および SU と比較して有意に高い接着強さを示し、疲労強さも SB と比較して高い値を示した。OL で高い接着強さおよび疲労強さを示した理由として、OL に含有されている機能性モノマーである GPDM の化学的接着性ととも¹⁴⁻¹⁶⁾、ボンディング材に含有されている不定形フィラーの存在が挙げられる^{17,18)}。OL においては、SEM 観察からもアドヒーシブ層にフィラーの存在が確認されており、これによって機械的性質が向上し、優れた接着性の獲得に寄与したものと考えられた。

一方、SMにおいて接着性が高かった理由としては、アドヒーズ層が適度な厚みであることから、亀裂を進展させる応力を効果的に分散したためと考えられた。すなわち、SMのアドヒーズ層の厚さは40~50 μmであり、OLの約2倍、SBおよびSUの約4倍であった。象牙質との接着界面に負荷された荷重によって生じた亀裂の先端には、塑性変形領域が形成される¹⁹⁾。接着界面において、アドヒーズ層の厚みが亀裂先端に形成された塑性変形領域に対して十分に厚い条件では、応力を効果的に分散させることが可能となり、亀裂進展に対する抵抗性が高くなる^{20,21)}。したがって、SMの接着性も比較的高いものとなったと考えられた。

象牙細管内に浸透したレジンタグのSEM観察からは、供試した接着システムのいずれにおいても、樹脂含浸層および象牙細管内に浸透した長さ50 μm以上のレジンタグが観察された。また、アルゴンイオンエッチングを施した接着界面のSEM観察からは、OLおよびSUにおいて、樹脂含浸層直下にreaction layerが観察され、とくにSUのreaction layerはOLよりも明瞭に観察された。Reaction layerは、接着システムに含有される機能性モノマーと樹脂含浸層直下のHApとの反応によって形成された不溶性のCa塩と考えられている¹²⁾。とくに、MDPは機能性モノマーのなかでもHApへの化学的接着性が高く²²⁾、Ca塩によって形成された層状構造物が透過電子顕微鏡観察によって確認されている²³⁾。SEM観察によって明瞭に示されたreaction layerは、この層状構造に相当するものと考えられる。また、核磁気共鳴(NMR)分光法を用いて、

GPDMおよびMDPによって形成されたCa塩の安定性を検討した報告からは、GPDMではHApへの吸着は確認されたものの、MDPに比較して安定性に劣るとされている¹⁵⁾。このCa塩の安定性の違いが、SEM像におけるreaction layerの密度に影響を及ぼした可能性が考えられた。

SMおよびSBでは、明瞭なreaction layerは観察されなかったが、これらの接着システムには機能性モノマーが含有されていないためと考えられる。一方、SMおよびSBは、ポリアクリル酸コポリマー（Vitrebond copolymer）を含有することで象牙質中のHApと化学的相互作用をするとされている^{24,25)}。しかし、SBおよびSUのERモードにおいては、接着性がOLおよびSMに比較して劣るものとなったのは、アドヒーシブ層の厚みの違いに起因した可能性が示唆された。

以上のように、本実験の結果から、組成の異なる接着システムをERモードで用いた場合の象牙質接着機構は、樹脂含浸層およびレジントグ形成による機械的嵌合力のみならず、樹脂含浸層下に形成されたreaction layerの存在が影響を及ぼしていることが示された。また、その接着性に関しては、アドヒーシブ層の厚さも影響因子となる可能性が示された。

結 論

組成の異なる接着システムの ER モードにおける象牙質接着性を解明する研究の一環として、接着試験とともに疲労試験および SEM 観察を行った結果、以下の結論を得た。

1. OL および SM は、SB および SU と比較して有意に高い接着強さを示した。
2. 疲労強さは、SM, OL, SU, および SB の順であり、SM と SB の間に有意差が認められた。
3. 接着界面における SEM 観察から、いずれの接着システムにおいても、1 ~2 μm の樹脂含浸層とともに長さ 50 μm 以上のレジンタグが観察された。
4. 機能性モノマーを含有する OL および SU においては、樹脂含浸層直下に reaction layer が観察された。
5. SM のアドヒーズ層の厚さは 40~50 μm であり、供試した他のアドヒーズに比較して厚い層として観察された。

文 献

- 1) Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvegril-Mutluay A (2011) State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater* 27, 1-16.
- 2) Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL (2011) State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 27, 17-28.
- 3) Miyazaki M, Tsujimoto A, Tsubota K, Takamizawa T, Kurokawa H, Platt JA (2014) Important compositional characteristics in the clinical use of adhesive systems. *J Oral Sci* 56, 1-9.
- 4) Barkmeier WW, Erickson RL, Kimmes NS, Latta MA, Wilwerding TM (2009) Effect of enamel etching time on roughness and bond strength. *Oper Dent* 34, 217-222.
- 5) Miyazaki M, Onose H, Moore BK (2002) Analysis of the dentin-resin interface by use of laser Raman spectroscopy. *Dent Mater* 18, 576-580.
- 6) Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M, Oguchi H (2003) In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials* 24, 3795-3803.

- 7) Cuevas-Suárez CE, da Rosa WLO, Lund RG, da Silva AF, Piva E (2019) Bonding performance of universal adhesives: An updated systematic review and meta-analysis. *J Adhes Dent* 21, 7-26.
- 8) Nagarkar S, Theis-Mahon N, Perdigão J (2019) Universal dental adhesives: Current status, laboratory testing, and clinical performance. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 107, 2121-2131.
- 9) Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Berry TP, Watanabe H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M (2016) Influence of different etching modes on bond strength and fatigue strength to dentin using universal adhesive systems. *Dent Mater* 32, e9-e21.
- 10) Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Suzuki T, Scheidel DD, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M (2016) Influence of different pre-etching times on fatigue strength of self-etch adhesives to dentin. *Eur J Oral Sci* 124, 210-218.
- 11) Jacker-Guhr S, Sander J, Luehrs AK (2019) How “universal “is adhesion? Shear bond strength of multi-mode adhesives to enamel and dentin. *J Adhes Dent* 21, 87-95.
- 12) Takamizawa T, Imai A, Hirokane E, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M (2019) SEM observation of novel characteristic

- of the dentin bond interfaces of universal adhesives. *Dent Mater* 35, 1791-1804.
- 13) Takamizawa T, Scheidel DD, Barkmeier WW, Erickson RL, Tsujimoto A, Latta MA, Miyazaki M (2016) Influence of frequency on shear fatigue strength of resin composite to enamel bonds using self-etch adhesives. *J Mech Behav Biomed Mater* 62, 291-298.
 - 14) Wang R, Shi Y, Li T, Pan Y, Cui Y, Xia W (2017) Adhesive interfacial characteristics and the related bonding performance of four self-etching adhesives with different functional monomers applied to dentin. *J Dent* 62, 72-80.
 - 15) Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Okihara T, Yoshida Y, Van Meerbeek B (2018) Chemical interaction of glycerophosphate dimethacrylate (GPDM) with hydroxyapatite and dentin. *Dent Mater* 34, 1072-1081.
 - 16) Hoshika S, Kameyama A, Suyama Y, De Munck J, Sano H, Van Meerbeek B (2018) GPDM- and 10-MDP-based self-etch adhesives bonded to bur-cut and uncut enamel - "immediate" and "aged" μ TBS. *J Adhes Dent* 20, 113-120.
 - 17) Miyazaki M, Ando S, Hinoura K, Onose H, Moore BK (1995) Influence of filler addition to bonding agents on shear bond strength to bovine dentin. *Dent Mater* 11, 234-238.

- 18) Condon JR, Ferracane FL (2002) Reduced polymerization stress through non-bonded nanofiller particles. *Biomaterials* 23, 3807-3815.
- 19) Wood JD, Sobolewski P, Thakur V, Arola D, Nazari A, Tay FR, Pashley DH (2008) Measurement of microstrains across loaded resin-dentin interfaces using microscopic moiré interferometry. *Dent Mater* 24, 859-866
- 20) Wakasa K, Yamaki M, Matsui A (1995) Calculation models for average stress and plastic deformation zone size of bonding area in dentine bonding systems. *Dent Mater J* 14, 152-165.
- 21) Ausiello P, Apicella A, Davidson CL (2002) Effect of adhesive layer properties on stress distribution in composite restorations - A 3D finite element analysis. *Dent Mater* 18, 295-303.
- 22) Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B (2004) Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res* 84, 454-458.
- 23) Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, Landuyt KL, Osaka A, Suzuki K, Minagi S, Van Meerbeek B (2011) Nanolayering of phosphoric acid ester monomer on enamel and dentin. *Acta Biomater* 7, 3187-3195.

- 24) Fukuda R, Yoshida Y, Nakayama Y, Okazaki M, Inoue S, Sano H, Suzuki K, Shintani H, Van Meerbeek B (2003) Bonding efficacy of polyalkenoic acids to hydroxyapatite, enamel and dentin. *Biomaterials* 24,1861-1867.
- 25) Sezinando A, Serrano ML, Pérez VM, Muñoz RA, Ceballos L, Perdigão J (2016) Chemical adhesion of polyalkenoate-based adhesives to hydroxyapatite. *J Adhes Dent* 18, 257-265.

表および図

Table 1 *Materials used in this study*

Code	Adhesive system (Lot No.)	Main components	Manufacturer
OL	Three-step etch-&-rinse OptiBond FL (6902900: Primer) (6911571: Adhesive)	Primer: HEMA, GPDM, BHT, ethanol, water, CQ Adhesive: bis-GMA, UDMA, TEGDMA, GDMA, HEMA, filler, CQ, ODMAB, filler (fumed SiO ₂ , barium aluminoborosilicate, Na ₂ SiF ₆), ytterbium trifluoride, coupling factor A174	Kerr, Orange, CA, USA
SM	Three-step etch-&-rinse Adper Scotchbond Multi-Purpose Plus (N852287: Primer) (N86909: Adhesive)	Primer: HEMA, polyalkenoic acid, water Adhesive: bis-GMA, HEMA, triphenylantimony, amines	3M Oral Care, St. Paul, MN, USA
SB	Two-step etch-&-rinse Adper Single Bond Plus (N898889)	bis-GMA, HEMA, UDMA, Vitrebond copolymer, GDMA, ethanol, water, silane treated silica, diphenyliodonium hexafluorophosphate, EDMAB, CQ	3M Oral Care
SU	Universal adhesive Scotchbond Universal (666964)	bis-GMA, MDP, HEMA, Vitrebond copolymer, silane treated silica, ethanol, water, CQ, silane	3M Oral Care
	Etching agent Ultra-Etch (G017)	35% phosphoric acid	Ultradent Products South Jordan, UT, USA
	Resin composite Clearfil AP-X	bis-GMA, TEGDMA, silane barium glass filler, silane, silica filler, silanated colloidal silica, CQ, pigments, others	Kuraray Noritake Dental, Tokyo, Japan

HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate, GPDM: glycerol dimethacrylate dihydrogen phosphate, BHT: butylated hydroxytoluene, CQ: *dl*-camphorquinone, bis-GMA: 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy)phenyl] propane, UDMA: urethane dimethacrylate, TEGDMA: triethyleneglycol dimethacrylate, GDMA: glycerol dimethacrylate, ODMAB: 2-ethylhexyl-4-(dimethylamino)benzoate, EDMAB: ethyl 4-dimethyl aminobenzoate, MDP: 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate.

Table 2 *Bonding procedures for the tested adhesives*

Adhesive	Adhesive application protocol
OL	Dentin surface was phosphoric acid etched for 15 s. Etched surface was rinsed with water for 15 s. Dried gently for 3 s (do not desiccate). Primer was applied to dentin surface with light scrubbing motion for 15 s. Air dried for 5 s. Using same applicator, adhesive was applied with light scrubbing motion for 5 s. Air thinned for 3 s. Light irradiated for 20 s.
SM	Dentin surface was phosphoric acid etched for 15 s. Etched surface was rinsed with water for 15 s. Air dried gently for 2 s. Left moist. Primer was applied to dentin. Air dried gently for 5 s. Adhesive was applied to dentin. Light cured for 10 s.
SB	Dentin surface was phosphoric acid etched for 15 s. Etched surface was rinsed with water for 10 s and blotted dry. Apply 2–3 consecutive coats of adhesive for 15 s with gentle agitation. Air dried gently for 5 s. Light cured for 10 s.
SU	Dentin surface was phosphoric acid etched for 15 s. Etched surface was rinsed with water for 10 s. Adhesive was applied to air-dried dentin surface with rubbing motion for 20 s and then medium air pressure applied to surface for 5 s. Light irradiated for 10 s.

Table 3 Comparison of SBS and SFS in different etch-&-rinse adhesive systems

Adhesive	SBS	SFS	Ratio SFS/SBS
OL	41.2 (5.3) ^A [93/0/7/0]	19.1 (1.9) ^{ab} [100/0/0/0]	0.464
SM	39.8 (4.7) ^A [93/0/7/0]	20.3 (3.3) ^a [100/0/0/0]	0.510
SB	34.2 (4.6) ^B [93/0/0/7]	18.3 (1.8) ^b [100/0/0/0]	0.535
SU	33.3 (6.3) ^B [100/0/0/0]	19.0 (2.0) ^{ab} [100/0/0/0]	0.570

Same upper case letter in vertical columns (SBS) indicates no difference at 5% significance level.

Same lower case letter in vertical columns (SFS) indicates no difference at 5% significance level.

Values in parenthesis indicate standard deviation.

SBS: shear bond strength, SFS: shear fatigue strength, n = 15 for SBS, n = 25 for SFS, mean (SD) in MPa.

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

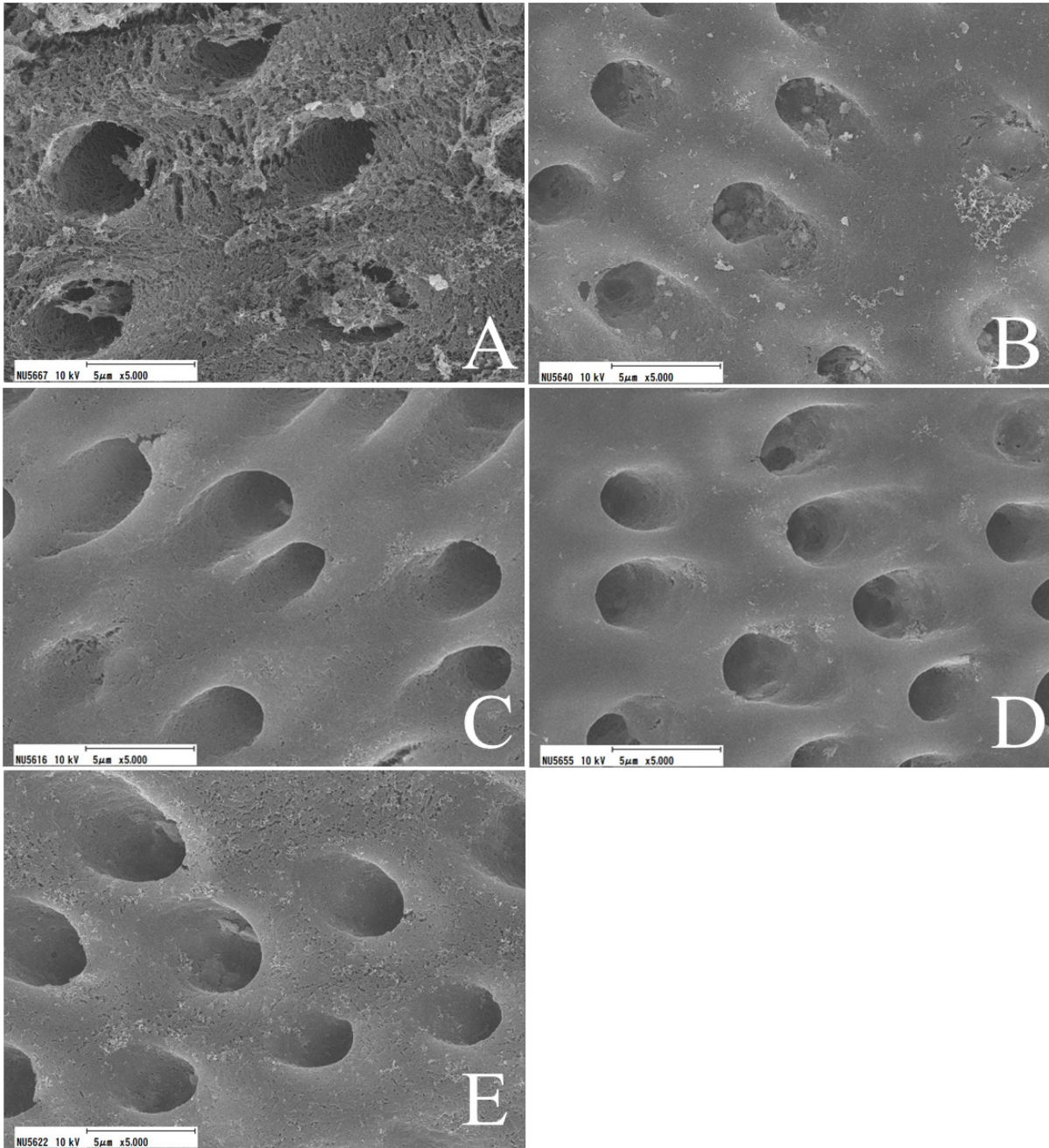


Fig. 1 Representative SEM images of treated dentin surfaces.

- (A) Dentin surface pre-etched using phosphoric acid for 15 s ($\times 5,000$).
- (B) Dentin surface with OL ($\times 5,000$).
- (C) Dentin surface with SM ($\times 5,000$).
- (D) Dentin surface with SB ($\times 5,000$).
- (E) Dentin surface with SU ($\times 5,000$).

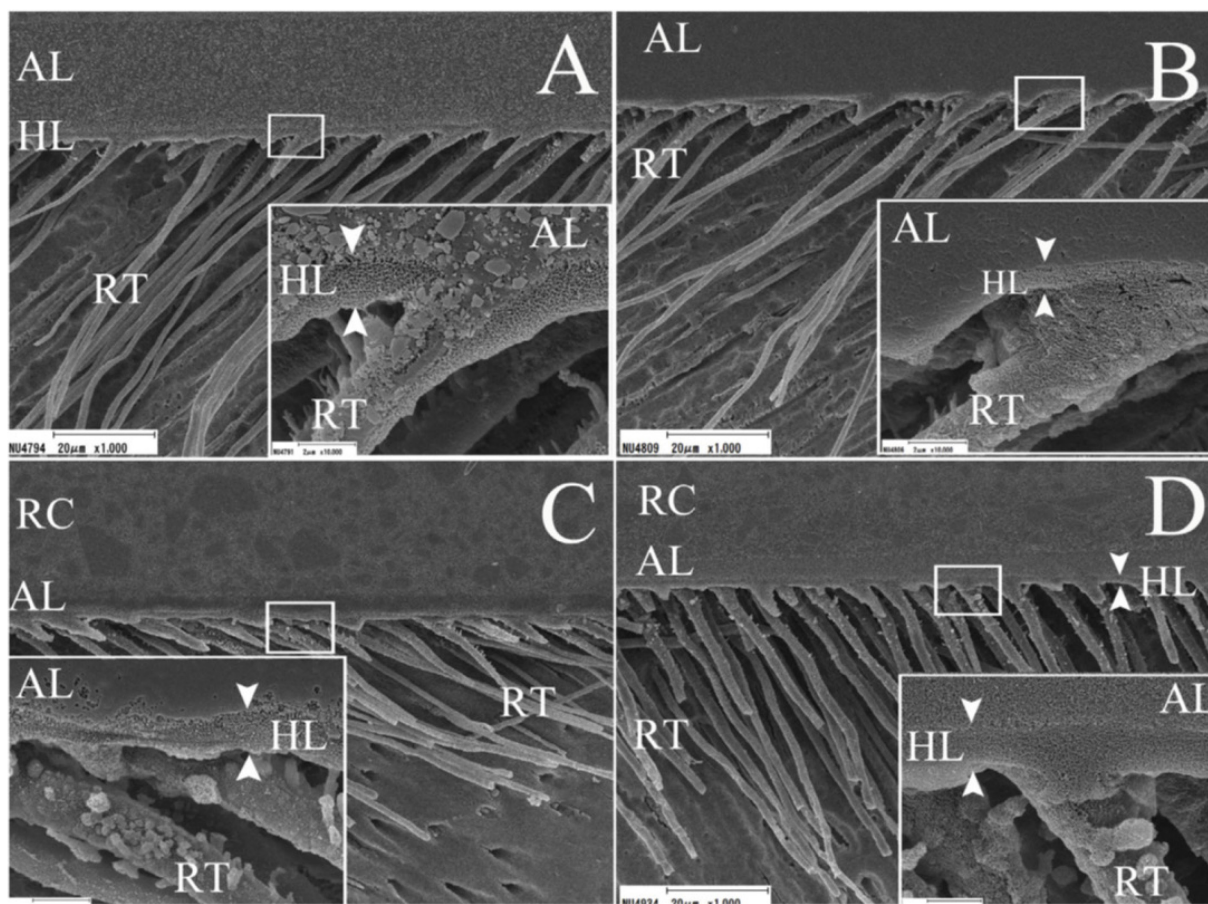


Fig. 2 Representative SEM images of resin/dentin interface after HCL and NaOCl treatment.

- (A) Resin dentin interface with OL ($\times 1,000$ and $\times 10,000$).
- (B) Resin dentin interface with SM ($\times 1,000$ and $\times 10,000$).
- (C) Resin dentin interface with SB ($\times 1,000$ and $\times 10,000$).
- (D) Resin dentin interface with SU ($\times 1,000$ and $\times 10,000$).

The visible material is indicated by abbreviations: AL: adhesive layer, HL: hybrid layer (white arrowheads), RT: resin tag.

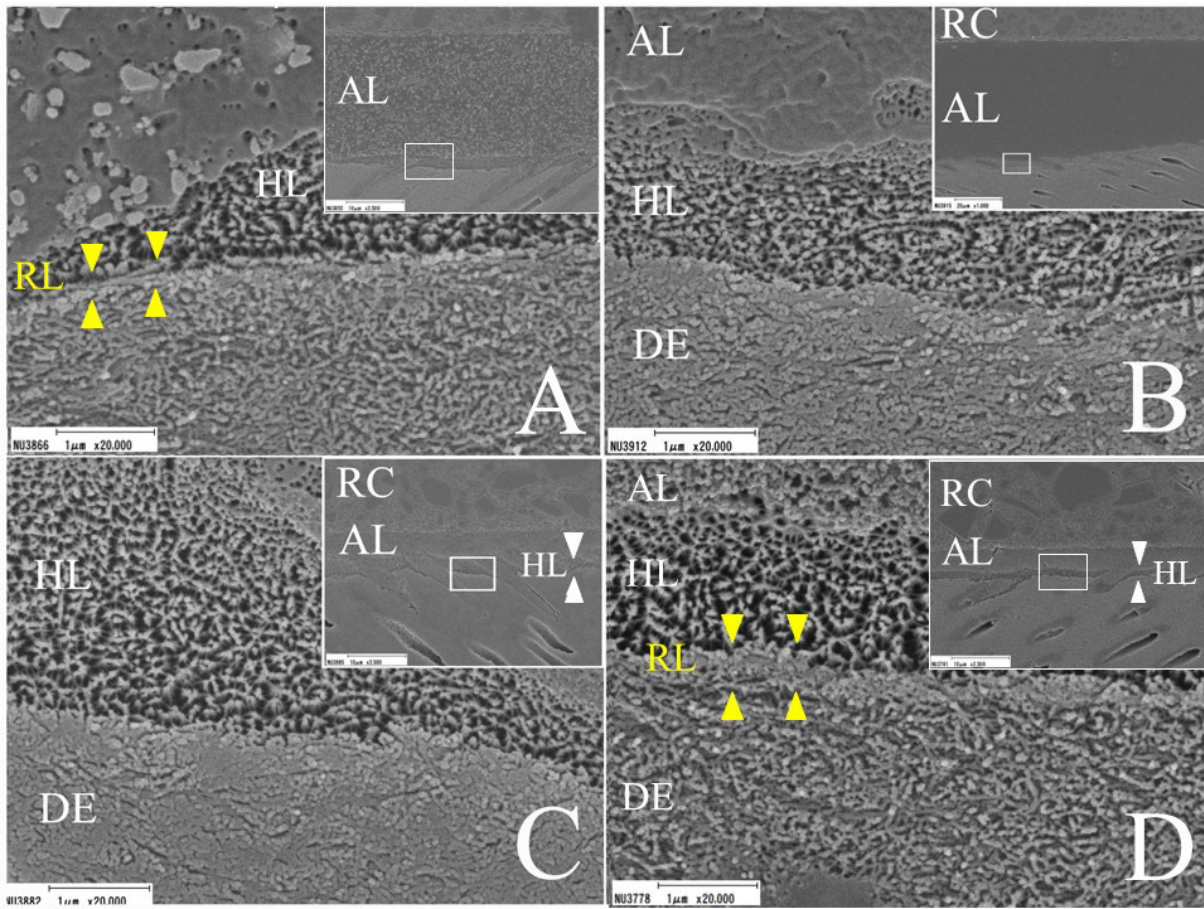


Fig. 3 Representative SEM images of resin/dentin interface after argon-ion etching.

- (A) Resin/dentin interface with OL ($\times 2,500$ and $\times 20,000$).
- (B) Resin/dentin interface with SM ($\times 1,000$ and $\times 20,000$).
- (C) Resin/dentin interface with SB ($\times 2,500$ and $\times 20,000$).
- (D) Resin/dentin interface with SU ($\times 2,500$ and $\times 20,000$).

The visible material is indicated by abbreviations: AL: adhesive layer, HL: hybrid layer (white arrowheads), RC: resin composite, RL: reaction layer (yellow arrowheads).