

ユニバーサルアドヒーシブ応用型2ステップセルフエッチング  
システムの歯質接着性および接着疲労耐久性

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

田村 友彦

(指導：宮崎 真至 教授, 高見澤 俊樹 准教授)

## 概 要

ユニバーサルアドヒーシブは、様々な被着体に対して接着性を有するとともに、異なるエッチングモードを選択できることから、使用頻度が増加している。一方、ユニバーサルアドヒーシブは、2ステップセルフエッチングシステム（以後、2ステップシステム）と比較して、初期接着強さあるいは接着耐久性に劣るという報告もある。そこで、ユニバーサルアドヒーシブの汎用性を有しながらも接着性を向上させることを目的として、ユニバーサルアドヒーシブを応用型2ステップセルフエッチングシステム（以後、2ステップユニバーサル）が開発された。この2ステップユニバーサルは、親水性を有するプライマーとともに、疎水性であるアドヒーシブを用いた接着システムというコンセプトを特徴としているが、その詳細については不明な点が多い。

そこで本論文の著者は、2ステップユニバーサルの歯質初期接着性について、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）の測定を行うことによって検討した。さらに、歯質のプライマー処理面および接着界面の走査電子顕微鏡（SEM）観察を行うとともに硬化させたアドヒーシブの微小硬さを測定することによって考察資料とした。

供試した接着システムは、2ステップユニバーサルのBZF-29（BZ, GC）であり、対照として2ステップシステムのClearfil SE Bond 2（SE, Kuraray Noritake Dental）を用いた。ヒト抜去大白歯歯冠部を近遠心方向に切断し、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、エナメル質および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中央部を研削し、耐水性シリコンカーバイドペーパーの#4,000 まで順次研削を行い被着歯面とした。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）。

接着試片の製作に際しては、BZ においてはプライマーを塗布後、光照射を行わない群（以後、BZwo 群）と、プライマーに 10 秒間光照射を行った群（以後、BZw 群）の 2 条件を設定し、これらの面にボンディング材を塗布した後に、光照射を行った。SE においては、製造者指示条件に従ってプライマー処理を行った後、ボンディング材を塗布し、光照射した（以後、SE 群）。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、各アドヒーズブ塗布面にクランプを用いて固定し、コンポジットレジンを填塞して 30 秒間光照射を行い、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 時間保管した。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万能試験機（ElectroPuls E1000, Instron）を用いて、接着強さを測定した。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 15 個とした。

疲労強さ試験は、BZwo 群と SE 群について行うこととし、万能試験機を用いた 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%の値の荷重を約 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

験片の破断個数および負荷荷重からその疲労強さを求めた。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 25 個とした。

各接着システムによる処理面および接着界面については、通法に従って SEM 観察用試料を製作した後、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 SEM 観察を行った。また、硬化アドヒーズの微小硬さ試験については、接着試験と同様に研磨した象牙質被着面に直径 6 mm、厚さ 300  $\mu\text{m}$  の穴の開いたテープを装着し、アドヒーズを塗布した。その後、エアブローを行い、マトリックステープをアドヒーズ上に貼付して、10 秒間光照射を行った。これらの試片は、37°C 精製水中に 24 時間水中保管した後、微小硬さ測定器 (HMV-2, Shimadzu) を用いて荷重 98.07 mN、荷重保持時間 5 秒の条件で試片の中心付近の 3 点を計測し、これらの平均をもって試片のヌープ硬さを求めた。

その結果、いずれの被着歯面においても BZwo 群は BZw 群と比較して有意に高い値を示したが、SE 群との間には有意差は認められなかった。また、接着疲労強さは、いずれの被着歯面においても BZwo 群と SE 群の間に有意差は認められなかった。

SEM 観察においては、BZ 群ではいずれの条件でも 40~50  $\mu\text{m}$  のアドヒーズ層を認めた。BZwo 群においては、均一な層として観察されたが、BZw 群においては厚さと構造の異なる 2 層から成る構造が確認された。このことから、アドヒーズ層内部にこうした物性の異なる不均一な層が形成された結果、BZwo 群は BZw 群と比較して有意に高い接着強さを発揮したと考えられた。また、ヌープ硬さにおいて、BZ 群

はSE群と比較して有意に高いヌープ硬さを示した。

以上のように、本実験の結果から、2ステップユニバーサルを用いたBZwo群の接着強さおよび疲労強さは、SE群と同等であることが示された。また、硬化させたアドヒーシブの微小硬さを測定したところ、SEに比較してBZで有意に高い値を示したところから、これが優れた長期接着耐久性につながる可能性が示唆された。

本論文は、Tamura T, Takamizawa T, Ishii R, Hirokane E, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2020) Influence of a primer resembling universal adhesive on the bonding effectiveness of an experimental two-step self-etch adhesive. J Adhes Dent 22, 635-646. を基幹論文とし、これに硬化アドヒーシブのヌープ硬さデータを追加することによって総括したものである。

## 緒 言

ユニバーサルアドヒーシブは、様々な被着体に対して接着性を有するとともに<sup>1-3)</sup>、異なるエッチングモードを選択できることから、使用頻度が増加している<sup>4,5)</sup>。最近では、歯質接着におけるテクニックセンシティブ因子を減少させる目的から、アドヒーシブ塗布時間の短縮を可能とした製品も開発された<sup>6,7)</sup>。一方、ユニバーサルアドヒーシブは、2ステップセルフエッチングシステム（以後、2ステップシステム）と比較して、初期接着強さあるいは接着耐久性に劣るという報告もある<sup>8,9)</sup>。これは、ユニバーサルアドヒーシブの歯質脱灰能あるいは硬化したアドヒーシブ層の機械的性質が、2ステップシステムと比較して低いことに起因するものとされている<sup>10,11)</sup>。

そこで、ユニバーサルアドヒーシブの汎用性を有しながらも接着性を向上させることを目的として、ユニバーサルアドヒーシブ応用型2ステップセルフエッチングシステム（以後、2ステップユニバーサル）が開発された。この2ステップユニバーサルは、親水性を有するプライマーとともに疎水性であるアドヒーシブを用いた接着システムというコンセプトを特徴としている<sup>12)</sup>が、その詳細については不明な点が多い。

そこで本論文の著者は、2ステップユニバーサルの歯質初期接着性について、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）の測定を行うことによって検討した。さらに、歯質のプライマー処理面および接着界面の走査電子顕微鏡（SEM）観察を行うとともに硬化させたアドヒーシブの微小硬さを測定す

ることによって考察資料とした。

## 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、2ステップユニバーサルの BZF-29 (BZ, GC) であり、対照として2ステップシステムの Clearfil SE Bond 2 (SE, Kuraray Noritake Dental) を、コンポジットレジンとしては Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) を用いた (Table 1)。可視光照射器 (Spectrum 800, Dentsply Sirona) は、その光強度が 600 mW/cm<sup>2</sup>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た後、歯冠部を近遠心方向に切断し、常温重合レジン (Tray Resin II, Shofu) を用いて直径 25 mm の真鍮リングに包埋した。次いで、エナメル質あるいは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歯面とした。

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

エナメル質あるいは象牙質被着面に、各接着システムを用いて Table 2 に示した条件に従って塗布した。すなわち、BZ においてはプライマーを塗布後、光照射を行わない群（以後、BZwo 群）と、プライマーに 10 秒間光照射を行った群（以後、BZw 群）の 2 条件を設定し、これらの面にボンディング材を塗布した後、光照射を行った。SE においては、製造者指示条件に従ってプライマー処理を行った後、ボンディング材を塗布し、光照射した（以後、SE 群）。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、各アドヒーズ塗布面にクランプを用いて固定し、コンポジットレジン充填して 30 秒間光照射を行い、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 時間保管した。

### 3) 剪断接着強さの測定

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、試験後の破断試片については、実体顕微鏡を用いて歯質側およびレジン側破断面を観察し、界面破壊、歯質あるいはコンポジットレジンの凝集破壊および界面破壊と凝集破壊との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

疲労強さ試験は、BZwo 群と SE 群について行うこととし、万能試験機を用いた staircase method を応用して行った<sup>13)</sup>。すなわち、得られた接着強さの約 50~60% の



値の荷重を約 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

エナメル質および象牙質処理面の SEM 観察においては、接着試験と同様にプライマーを用いて歯面処理した被着面を、アセトンおよび蒸留水で 15 秒間交互洗浄し、これを 3 回繰り返して SEM 観察用試片とした。また、歯質との接着界面の SEM 観察においては、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) を用いて縦切後、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  $\mu\text{m}$  まで研磨し、20 分間超音波洗浄を行った。

これらの接着界面観察用試片については、*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 30 分間行った。次いで、加速電圧 1.0 kV、イオン流密度 0.4  $\text{mA}/\text{cm}^2$  の条件でアルゴンイオンエッチング (EIS-200 ER, Elionix) を 40 秒間行い、イオンコーター (Quick Coater Type SC-701, Sanyu Electric) を用いて金蒸着した。SEM 観察は、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 の条件で行った。

#### 4. 硬化アドヒーシブの微小硬さ試験

アドヒーシブ層の厚みを規定するために、直径 6 mm の穴の開いた厚さ 300  $\mu\text{m}$  のテープを接着試片と同様に調整した象牙質表面に貼付し、露出面にアドヒーシブを塗布した。次いで、エアブローを行い、マトリックステープをアドヒーシブ上に貼付して 10 秒間光照射を行った後、室温 37°C、相対湿度 100% の条件で 24 時間保管した。その後、微小硬さ測定器 (HMV-2, Shimadzu) を用いて荷重 98.07 mN、荷重保持時間 5 秒間の条件で、試片の中心付近の 3 点を計測し、これらの平均をもってその試片のヌープ硬さとした。なお、試片の数は各製品についてそれぞれ 6 個とした。

#### 5. 統計処理

得られた接着強さおよびヌープ硬さについては、測定値の等分散性を確認した後、分散分析および Tukey HSD test を、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、破壊形式については、カイ二乗検定によって有意水準 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

BZ プライマーへの光照射の有無がエナメル質および象牙質に対する接着強さに及ぼす影響の成績を Table 3 に、疲労強さの成績を Table 4 に示した。エナメル質およ

び象牙質のいずれの被着歯面においても，BZwo 群の接着強さは BZw 群に比較して有意に高い値を示したが，対照とした SE 群との間には有意差は認められなかった。

また，疲労強さにおいてはいずれの被着歯面に対しても，BZwo 群と SE 群間に有意差は認められなかった。

## 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 Fig. 1 に示した。すなわち，BZw 群はいずれの被着歯面においても界面破壊が大勢を占めた。BZwo 群および SE 群においては，いずれの被着歯面においても歯質あるいはコンポジットレジンの凝集破壊および界面破壊と凝集破壊との混合破壊の割合が増加し，BZw 群との間に有意差が認められた。一方，疲労強さ試験終了後の破壊形式は，いずれの被着歯面および接着システムにおいても，界面破壊が大勢を占めた。

## 3. SEM 観察

ベースラインとした耐水性研磨紙研削面およびプライマーを用いた処理歯面における代表的な SEM 像を Fig. 2 に示した。すなわち，ベースラインにおけるエナメル質および象牙質研削面は，スミア一層とともに削条痕が観察された (Figs. 2A, B)。これに対して，エナメル質における BZ および SE のプライマー処理面では，プライマーの種類にかかわらず，スミア一層の除去とともに，エッチングパターンが観察された (Figs. 2C, E)。象牙質処理面においては，いずれのプライマーにおいてもスミア一層が除去され，象牙細管が部分的に開口した像が観察された (Figs. 2D, F)。

エナメル質および象牙質接着界面の代表的な SEM 像を Fig. 3 に示した。いずれの接着システムにおいても、被着歯面の違いにかかわらず 40~50  $\mu\text{m}$  のアドヒーシブ層が認められた。このアドヒーシブ層を詳細に観察すると、BZwo 群においては一様な層として観察されたが (Figs. 3A, D), BZw 群においては、厚みとともに構造の異なる 2 層から構成されていた (Figs. 3B, E, 矢先)。エナメル質接着界面においては、いずれの試験群においても、スミア層を取り込んだハイブリッドスミア層が観察された (Figs. 3A, B, C, 矢印)。象牙質接着界面においては、いずれの接着システムにおいてもアドヒーシブ層直下に 0.3~0.5  $\mu\text{m}$  の高密度な reaction layer が観察された (Figs. 3D, E, F, 星印)。また、SE 群においては、約 0.5  $\mu\text{m}$  の樹脂含浸層が観察された (Fig. 3F, 丸印)。

#### 4. アドヒーシブ層のヌープ硬さ

硬化アドヒーシブ層のヌープ硬さを Table 5 に示した。BZ では 38.2, SE では 24.8 であり、BZ は SE に比較して有意に高いヌープ硬さを示した。

### 考 察

ユニバーサルアドヒーシブは、その汎用性ととも異なるエッチングモードで使用可能であることから、使用頻度が高くなっている。一方、長期接着耐久性に関しては、2 ステップシステムに劣るところから改善が望まれており<sup>14,15)</sup>、ユニバーサルアドヒーシブをプライマーとして応用した 2 ステップユニバーサルが開発された。

この接着システムは、これまでの 2 ステップシステムと異なるコンセプトであるところから、歯質接着性を含めた詳細については不明な点が多い。そこで、接着強さ試験を行うとともに口腔内で生じる荷重負荷を想定した疲労強さ試験を行うことによって検討を加えた。

BZ プライマーへの照射の有無が接着強さに及ぼす影響を検討したところ、エナメル質および象牙質のいずれの被着歯面においても、BZwo 群は BZw 群に比較して有意に高い接着強さを示した。この結果は、シングルステップアドヒーズをプライマーとして応用した、2 ステップシステムの接着性に関する検討結果と一致するものであった<sup>16)</sup>。すなわち、プライマーとして塗布したアドヒーズを重合硬化させると、この層が脆弱層となって残留し、照射しない条件と比較して接着強さが低下した可能性がある。これに対して BZwo 群においては、プライマーとアドヒーズとが接着界面において連続的に変化する層となって存在することになる。すなわち、接着界面が傾斜機能的な層<sup>17,18)</sup>となることによって、より高い接着強さを示したものと考えられた。

接着界面の SEM 観察からは、BZwo 群では均質なアドヒーズ層が観察されたものの、BZw 群のアドヒーズ層では明瞭な二層構造を呈した。BZ のボンディング材は HEMA フリーであるとともに水、溶媒および機能性モノマーを含有していない<sup>12)</sup>。そのために、硬化したアドヒーズ層は疎水性を示し、硬化後の機械的性質も高いものと考えられる。一方、BZ のプライマーは、ユニバーサルアドヒーズと類似し

た組成であり、機能性モノマーとともに水分などの溶媒が含有されており、硬化させたプライマー層の機械的性質は低くなる可能性がある。また、硬化させたプライマー表層には、酸素の影響によって生じた低重合層が残存する<sup>19)</sup>。したがって、BZwo 群では未硬化のプライマーがボンディング材と混ざり合うことで均質なアドヒーズ層が形成されたことによって、BZw 群と比較して高い接着強さを示したものと考えられた。また、BZw 群においては、硬化したプライマー表層の未重合層に酸性を示す機能性モノマーが残留し、これが接着強さを低下させる要因となったものと考えられた。

次いで、BZwo 群の接着強さおよび疲労強さを 2 ステップシステムのゴールドスタンダードとされている SE 群と比較したところ<sup>20,21)</sup>、いずれの被着歯面および試験法においても両群間に有意差は認められなかった。SE のプライマーおよびアドヒーズには、親水性モノマーである HEMA とともに機能性モノマーの MDP を含有している。HEMA は、水分に富んだ象牙質に対してレジンモノマーの浸透を促進する機能を有するものの、吸水性があることから、長期水中浸漬によって接着耐久性が低下する可能性がある<sup>22-25)</sup>。また、MDP はヒドロキシアパタイトと高い親和性を示すものの<sup>26,27)</sup>、アドヒーズの重合性を低下させることが懸念されている<sup>28)</sup>。そこで、BZ および SE のアドヒーズを硬化させ、これらの微小硬さを測定したところ、SE のアドヒーズは BZ と比較して有意に低いヌープ硬さを示した。したがって、BZwo 群の接着強さおよび疲労強さは SE 群と同程度の値を示したものの、長時間水

中に浸漬させる条件においては、接着性耐久性が優れたものとなる可能性がある。

すなわち、水が存在する環境における長期接着耐久性に関しては、HEMA とともに機能性モノマーを含有していない BZ の組成が有利になるものと考えられることから、今後の検討が必要である。

以上のように、本実験の結果から、2 ステップユニバーサルを用いた BZwo 群の接着強さおよび疲労強さは、SE 群と同等であることが示された。また、硬化させたアドヒーシブの微小硬さを測定したところ、SE に比較して BZ で有意に高い値を示したところから、これが優れた長期接着耐久性につながる可能性が示唆された。

## 結 論

ユニバーサルアドヒーシブ応用型 2 ステップセルフエッチングシステムの接着強さおよび疲労強さを検討するとともに、SEM 観察および硬化させたアドヒーシブの微小硬さの測定を行った結果、以下の結論を得た。

1. BZ のプライマーに対する光照射の有無が、エナメル質および象牙質に対する接着強さに及ぼす影響については、BZwo 群が BZw 群に比較して有意に高い値を示した。
2. BZwo 群のエナメル質および象牙質に対する接着強さおよび疲労強さは、SE 群と比較して有意差は認められなかった。
3. エナメル質および象牙質接着界面の SEM 観察からは、接着システムの違いにか

かわらず良好な接合状態が観察され、アドヒーシブ層直下に reaction layer が確認された。

4. 硬化させたアドヒーシブのヌープ硬さは、BZ が SE と比較して有意に高い値を示した。



## 文 献

- 1) Siqueira F, Cardenas AM, Cutierrez MF, Malaquias P, Hass V, Reis A, Loguericio AD, Perdigão J (2016) Laboratory performance of universal adhesive systems for luting CAD/CAM restorative materials. *J Adhes Dent* 18, 331-340.
- 2) Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Wilwerding TM, Latta MA, Miyazaki M (2017) Interfacial characteristics and bond durability of universal adhesive to various substrates. *Oper Dent* 42, 59-70.
- 3) Araoka D, Hosaka K, Nakajima M, Foxton R, Thanatvarakorn O, Prasansuttiporn T, Chiba A, Sato K, Takahashi M, Otsuki M, Tagami J (2018) The strategies used for curing universal adhesives affect the micro-bond strength of resin cement used to lute indirect resin composites to human dentin. *Dent Mater J* 37, 506-514.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Ahmed MH, Yoshihara K, Mercelis B, Van Landuyt K, Peumans M, Van Meerbeek B. (2020) Quick bonding using a universal adhesive. *Clin Oral Investig* 24, 2837-2851.

- 7) Saito T, Takamizawa T, Ishii R, Tsujimoto A, Hirokane E, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2020) Influence of application time on dentin bond performance in different etching modes of universal adhesives. *Oper Dent* 45, 183-195.
- 8) Sai K, Shimamura Y, Takamizawa T, Tsujimoto A, Imai A, Endo E, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2016) Influence of degradation conditions on dentin bonding durability of three universal adhesives. *J Dent* 54, 56-61.
- 9) Suzuki S, Takamizawa T, Imai A, Tsujimoto A, Sai K, Takimoto M, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2018) Bond durability of universal adhesive to bovine enamel using self-etch mode. *Clin Oral Investig* 22, 1113-1122.
- 10) Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt K (2011) State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater* 27, 17-28.
- 11) Yokoyama M, Takamizawa T, Tamura T, Namura Y, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2021) Influence of different application methods on the bonding effectiveness of universal adhesives to the dentin in the early phase. *J Adhes Dent* 23, 447-59.
- 12) Katsuki S, Takamizawa T, Yokoyama M, Sai K, Tamura T, Ishii R, Latta MA, Miyazaki M (2022) Influence of bonding agent application method on the dentin bond durability of a two-step adhesive utilizing a universal-adhesive-derived primer. *Eur J Oral Sci* 130, e12868.

- 13) Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Scheidel DD, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M (2015) Effect of phosphoric acid pre-etching on fatigue limits of self-etching adhesives. *Oper Dent* 40, 379-395.
- 14) Takamizawa T, Barkmeier WW, Sai K, Tsujimoto A, Imai A, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M (2018) Influence of different smear layers on bond durability of self-etch adhesives, *Dent Mater* 34, 246-259.
- 15) Takeda M, Takamizawa T, Imai A, Suzuki T, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2019) Immediate enamel bond strength of universal adhesives to unground and ground surfaces in different etching modes. *Eur J Oral Sci* 127, 351-360.
- 16) Tichy A, Hosaka K, Bradna P, Ikeda M, Abdou A, Nakajima M, Tagami J (2019) Subsequent application of bonding agents to a one-step self-etch adhesive—Its effect with/without previous light-curing. *Dent Mater* 35, e299-e309.
- 17) Van Meerbeek B, Willems G, Celis JP, Roos JR, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G (1993) Assessment by nano-indentation of the hardness and elasticity of the resin-dentin bonding area. *J Dent Res* 72, 1434-1442.
- 18) 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.

- 19) Tsujimoto A, Barkmeier WW, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M (2016) Influence of the oxygen-inhibited layer on bonding performance of dental adhesive systems: surface free energy perspectives. *J Adhes Dent* 18, 51-58.
- 20) Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J (2010) Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater* 26, e100-e121.
- 21) Peumans M, De Munck J, Van Landuyt K, Van Meerbeek B (2015) Thirteen-year randomized controlled clinical trial of a two-step self-etch adhesive in non-carious cervical lesions. *Dent Mater* 31, 308-314.
- 22) Sandberg E, Bergenholtz G, Eklund C, Dahlgren UI (2002) HEMA bound to self-protein promotes auto-antibody production in mice. *J Dent Res* 81, 633-636.
- 23) Lönnroth EC, Wellendorf H, Ruyter E (2003) Permeability of different types of medical protective gloves to acrylic monomers. *Eur J Oral Sci* 111, 440-446.
- 24) Takahashi M, Nakajima M, Hosaka K, Ikeda M, Foxton RM, Tagami J (2011) Long-term evaluation of water sorption and ultimate tensile strength of HEMA-containing/-free one-step self-etch adhesives. *J Dent* 39, 506-512.
- 25) Kawazu M, Takamizawa T, Hirokane E, Tsujimoto A, Tamura T, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2020) Comparison of dentin bond durability of a universal adhesive and two etch-and rinse adhesive systems. *Clin Oral Investig* 24, 2889-2897.

- 26) Fukegawa D, Hayakawa S, Yoshida Y, Suzuki K, Osaka A, Van Meerbeek B (2006) Chemical interaction of phosphoric acid ester with hydroxyapatite. *J Dent Res* 85, 941-949.
- 27) Yoshihara K, Yoshida Y, Hayakawa S, Nagaoka N, Irie M, Ogawa T, Van 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.
- 28) Matsui N, Takagaki T, Sadr A, Ikeda M, Ichinose S, Nikaido T, Tagami J (2015) The role of MDP in a bonding resin of a two-step self-etching adhesive system. *Dent Mater J* 34, 227-233.

## 表および図

Table 1 *Materials used in this study*

Code	Adhesive system (Lot No.)	Main component	pH* (Primer)	Manufacture
BZ	BZF-29 (Primer: 190711) (Adhesive: 190711)	Primer: 4-MET, MDP, MDTP, dimethacrylate monomer, acetone, water, photoinitiator, filler  Adhesive: dimethacrylate monomer, bis-GMA, photoinitiator, filler	1.8	GC, Tokyo, Japan
SE	Clearfil SE Bond 2 (Primer: 582494) (Adhesive: 5847004)	Primer: MDP, HEMA, water, initiators  Adhesive: MDP, HEMA, bis- GMA, initiators, microfiller	2.0	Kuraray Noritake Dental, Tokyo, Japan
Resin composite (Lot No.)		Main components	Manufacture	
Clerfil AP-X (N416713)		bis-GMA, TEGDMA, silane barium glass, silane silica filler, silanated colloidal silica, CQ, pigments, others	Kuraray Noritake Dental	

\*pH measurements were conducted five times for each primer using a compact pH meter (LAQUAtwin-pH-33.Horiba, Tokyo, Japan).

4-MET: 4methacryloyloxyethyltrimellitate, MDP: 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate, MDTP: 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen thiophosphate, bis-GMA: 2-2-bis[4- (2-hydroxy-3methacryloyloxypropoxy) phenyl] propane, HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate, TEGDMA: trithyleneglycol dimethacrylate, CQ: *dl*-camphorquinone

Table 2 *Adhesive application protocols in this study*

Group	Adhesive application protocol
BZwo	BZF primer was applied to the air-dried tooth surface for 10 s, then medium air pressure was applied over the liquid adhesive for 5 s or until the adhesive no longer moved and the solvent was completely evaporated. BZF bonding agent was then applied to primed surfaces and was gently air thinned. Adhesive was light cured for 10 s.
BZw	BZF primer was applied to the air-dried tooth surface for 10 s and then medium air pressure was applied over the liquid adhesive for 5 s or until the adhesive no longer moved and the solvent was completely evaporated, and then light cured for 10 s. BZF bonding agent was then applied to primed surfaces and was gently air thinned. Adhesive was light cured for 10 s.
SE	SE primer was applied to the air-dried tooth surfaces for 20 s followed by medium air pressure for 5 s. SE bonding agent was then applied to primed surfaces and was gently air thinned. Adhesive was light cured for 10 s.



Table 3 Shear bond strength (SBS) of enamel and dentin

Group	Enamel	Dentin
BZwo	46.1 (5.4) <sup>a</sup>	47.1 (4.8) <sup>a</sup>
BZw	33.1 (3.8) <sup>b</sup>	33.2 (2.8) <sup>b</sup>
SE	42.6 (4.0) <sup>a</sup>	45.0 (2.9) <sup>a</sup>

N=15, mean (SD) in MPa.

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

Table 4 Shear fatigue strength (SFS) of enamel and dentin

Group	Enamel	Dentin
BZwo	18.0 (3.7) <sup>a</sup>	18.8 (2.0) <sup>a</sup>
SE	19.4 (2.9) <sup>a</sup>	20.1 (2.9) <sup>a</sup>

N=25, mean (SD) in MPa.

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

Table 5 Knoop hardness number (KHN) of the cured adhesive layer

Group	KHN
BZ	38.2 (1.6) <sup>a</sup>
SE	24.8 (1.4) <sup>b</sup>

N=6, mean (SD)

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

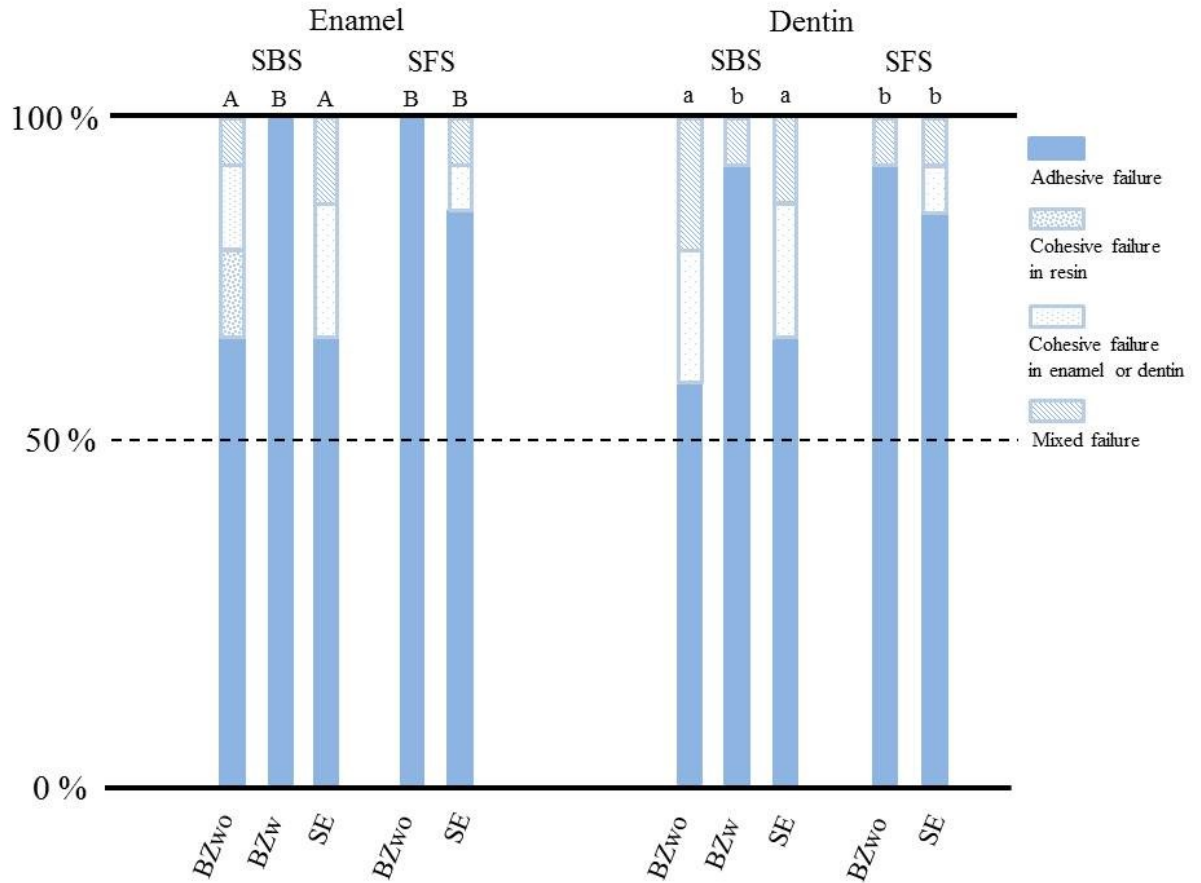


Fig. 1 Failure mode analysis of the debonded specimens in SBS and SFS tests.

Failure mode: [adhesive failure/ cohesive failure in resin composite/ cohesive in enamel or dentin/ mixed failure].

Same capital letter in enamel indicates no difference at a significance level of 5%.

Same lowercase letter in dentin indicates no difference at a significance level of 5%.

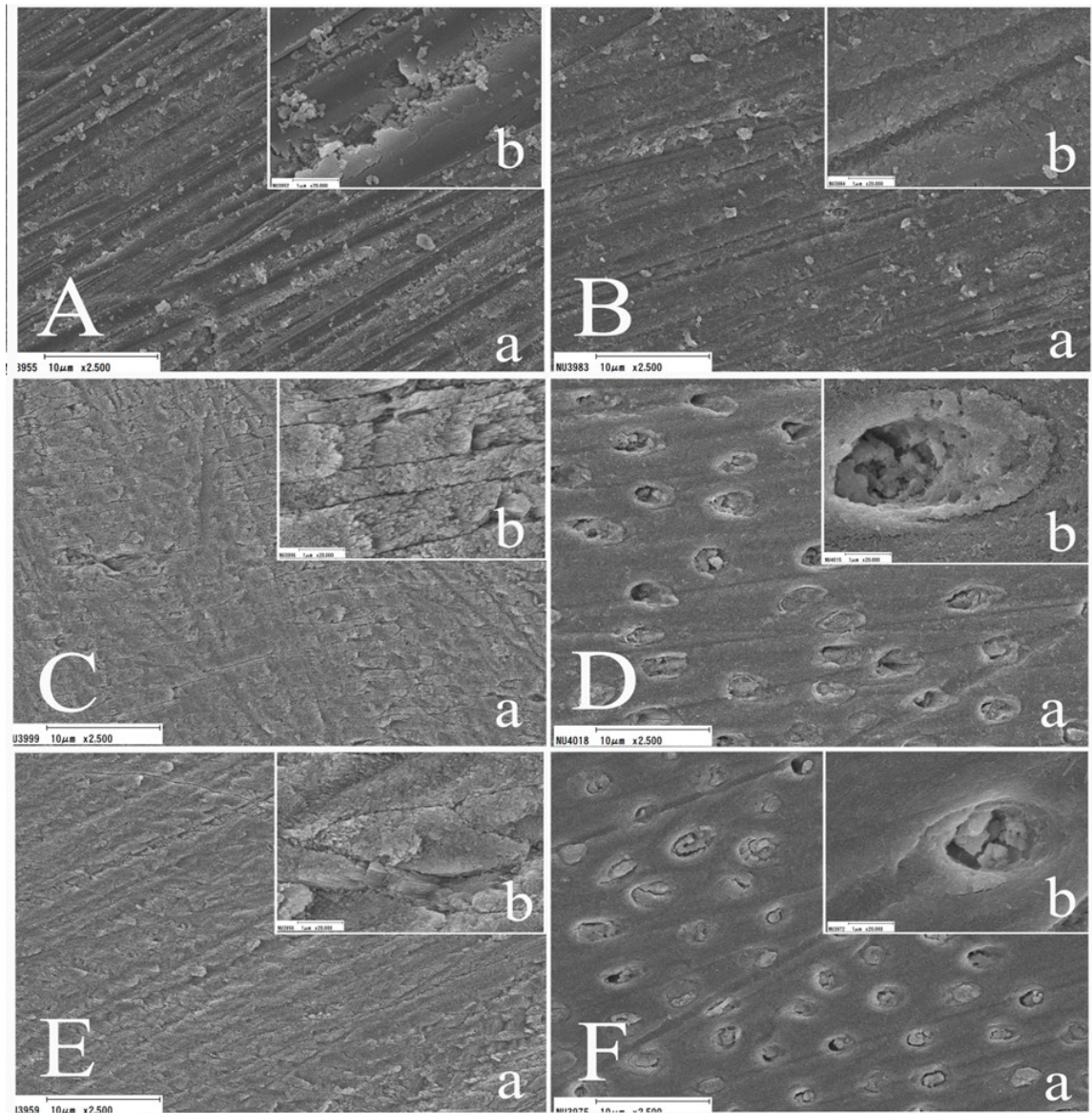


Fig. 2 Representative SEM images of primer-treated enamel and dentin surfaces.  
 (A) Baseline surface in enamel (a: 2,500 $\times$ , b: 20,000 $\times$ )  
 (B) Baseline surface in dentin (a: 2,500 $\times$ , b: 20,000 $\times$ )  
 (C) BZ primer-treated surface in enamel (a: 25,000 $\times$ , b: 20,000 $\times$ )  
 (D) BZ primer-treated surface in dentin (a: 2,500 $\times$ , b: 20,000 $\times$ )  
 (E) SE primer-treated surface in enamel (a: 2,500 $\times$ , b: 20,000 $\times$ )  
 (F) SE primer-treated surface in dentin (a: 2,500 $\times$ , b: 20,000 $\times$ )

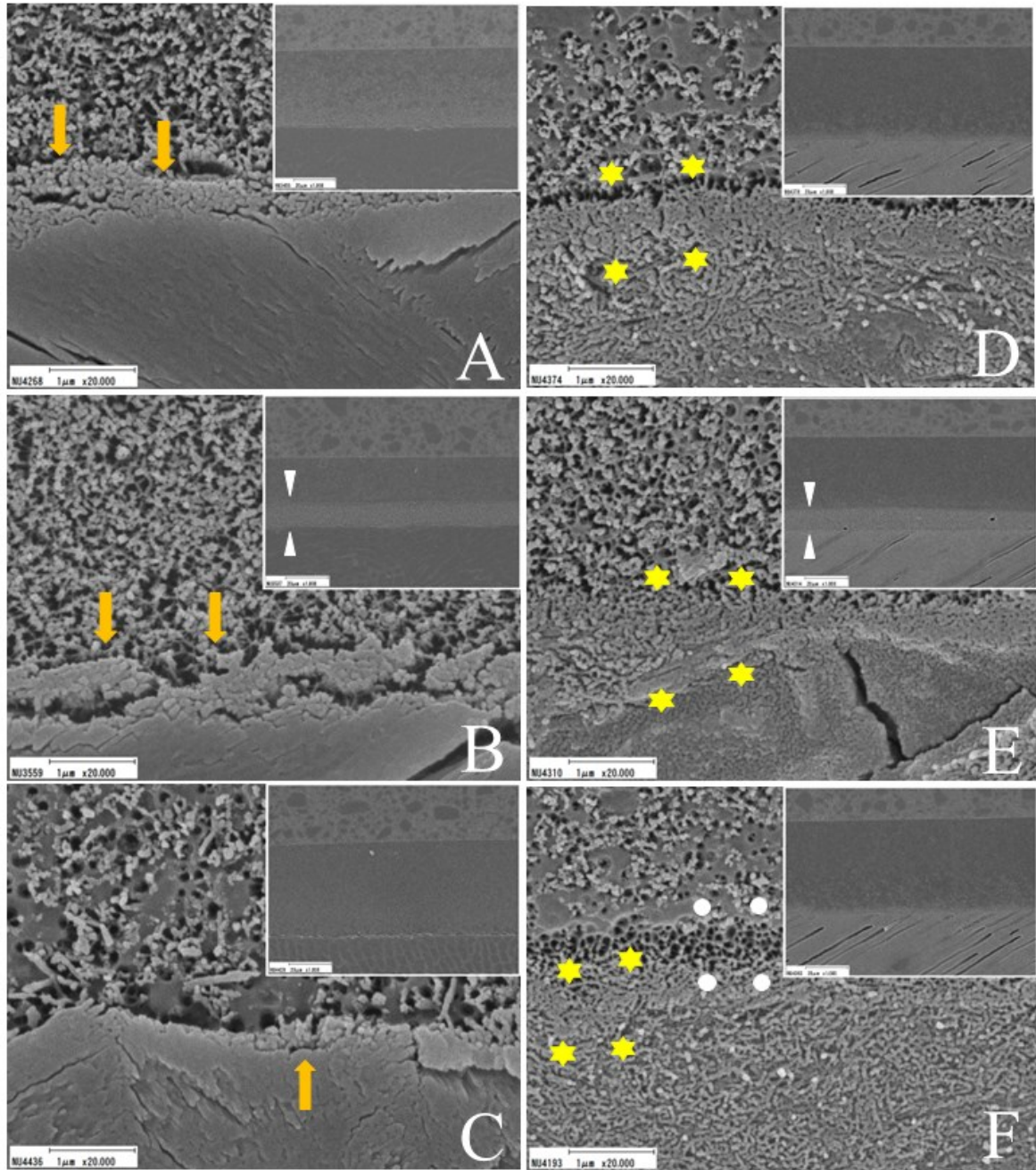


Fig. 3 Representative SEM images of resin/enamel and resin/dentin interfaces of the used adhesive systems.

- (A) Resin/enamel interface of BZwo (20,000×, 1,000×)
- (B) Resin/enamel interface of BZw (20,000×, 1,000×)
- (C) Resin/enamel interface of SE (20,000×, 1,000×)
- (D) Resin/dentin interface of BZwo (20,000×, 1,000×)
- (E) Resin/dentin interface of BZw (20,000×, 1,000×)
- (F) Resin/dentin interface of SE (20,000×, 1,000×)

The arrowheads indicate the first layer in the resin/tooth interface of BZw.  
 The arrows indicate hybrid smear layers.  
 The stars indicate a high-density layer (reaction layer).  
 The circles indicate hybrid layer.