

エッチングモードおよびアドヒーシブ塗布法が
ユニバーサルアドヒーシブの
象牙質初期接着強さに及ぼす影響

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻

横山 宗典

(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、シングルステップセルフエッチング接着システムから発展したものであり、様々な被着体に対して前処理を必要とすることなく接着性を発揮することを特徴としている。また、窩洞を構成する歯質に適したエッチングモードを選択することが可能であるため、臨床応用範囲も広く汎用性に優れているところから使用頻度も増加している。一方、光重合型コンポジットレジン修復においては、修復直後から接着界面にレジンペーストの重合収縮に起因する、あるいは形態修正および研磨などによる応力が負荷される。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接着システムと比較して歯質接着性に劣ることが指摘されているところから、ユニバーサルアドヒーシブの歯質接着性を向上させることを目的として様々な臨床技法が提唱されてきた。しかし、修復直後のユニバーサルアドヒーシブの歯質接着性の詳細については不明な点が多く、とくに初期接着性の経時的な推移については不明な点が多い。

そこで著者は、エッチングモードおよびアドヒーシブ塗布法の違いが、ユニバーサルアドヒーシブの象牙質に対する初期接着性に及ぼす影響について、剪断接着試験を行うことによって検討するとともに、アドヒーシブ処理面、接着界面および接着試験終了後の破断面の走査型電子顕微鏡（SEM）観察を行った。さらに、硬化アドヒーシブのヌープ硬さの経時的推移を測定することで接着試験の考察資料とした。

供試したユニバーサルアドヒーシブは、Clearfil Universal Bond Quick（CUB, Kuraray Noritake Dental）、G-Premio Bond（GPB, GC）およびScotchbond Universal（SUB, 3M Oral Care）である。また、対照として2ステップセルフエッチングシステムのClearfil SE Bond

2 (CSE, Kuraray Noritake Dental) を用いた。接着試片の製作および剪断接着強さ試験は、ISO 29022 に準じて行った。被着面に対して、アドヒーズ塗布前にリン酸エッチングを15 秒間行うエッチ&リンスモード (ER モード) あるいはこれを行わないセルフエッチングモード (SE モード) の2 条件を設定した。次いで、各条件の被着面に製造者指示条件に従ってアドヒーズを塗布して光照射した条件 (シングルアプリケーション) とともに、アドヒーズ塗布後、光照射をした後にアドヒーズを再度塗布し、光照射した条件 (ダブルアプリケーション) について検討した。次いで、Ultradent 接着試験用治具を被着歯面に固定し、レジンペーストを填塞、光照射を行って接着試片とした。製作した接着試片は5 分、1、6、12 および24 時間、37°C 精製水中に保管した。なお、試片の数は各条件について15 個とした。所定の保管時間が終了した接着試片について、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。接着試験終了後の試片については、実体顕微鏡を用いてレジン側破断面を観察し、破壊形式を分類した。

ヌープ硬さの測定に際しては、SE モードでのシングルアプリケーション条件で硬さ試験用試片の製作を行った。すなわち、被着象牙質面上に厚さ300 μm の、中央に直径6 mm の穴が開いたテープを貼付し、露出象牙質面に製造者指示条件に従ってアドヒーズを塗布して、10 秒間光照射を行い、ヌープ硬さ試験用試片とした。所定の保管期間が終了した試片に対して、微小硬度計 (HMV-2, 島津製作所) を用いて荷重98.07 mN、荷重保持時間5 秒の条件でヌープ硬さを測定した。なお、試片の数は各条件について12 個とし

た。また、各条件におけるアドヒーズ処理面、接着界面および、接着試験終了後の破断面について SEM 観察を行った。

三元配置分散分析の結果から、いずれのエッチングモードにおいても塗布法、保管期間およびアドヒーズの種類は、接着強さへの有意な影響因子であった ($p < 0.001$)。また、各因子における相互作用はいずれのエッチングモードにおいても有意であった ($p < 0.05$)。各条件における象牙質接着強さは、SE モードでのシングルアプリケーション群においては、CUB で 16.5~33.4 MPa、GPB で 17.6~30.5 MPa、SUB で 16.2~37.7MPa および CSE で 24.2~46.9 MPa であった。一方、ダブルアプリケーション群では CUB で 23.6~37.0 MPa、GPB で 22.4~33.3 MPa、SUB で 28.4~39.3 MPa および CSE で 34.2~49.1 MPa であった。いずれのユニバーサルアドヒーズにおいても、ダブルアプリケーション条件はシングルアプリケーション条件に比較して高い値を示し、2 ステップ接着システムでも同様であった。また、いずれのアドヒーズにおいても、塗布法の違いにかかわらず、接着強さは保管期間の延長に伴って上昇した。

ER モードでのシングルアプリケーション群においては、CUB で 16.1~33.5 MPa、GPB で 19.4~29.5 MPa、SUB で 17.1~35.8 MPa および CSE で 25.8~40.7 MPa であった。一方、ダブルアプリケーション群では、CUB で 22.3~36.0 MPa、GPB で 23.8~33.0 MPa、SUB で 28.1~40.0 MPa および CSE で 32.2~45.1 MPa を示した。アドヒーズの塗布法で比較すると、CUB の 24 時間群および GPB の 12 時間群を除き、いずれの保管条件においてもダブルアプリケーション条件は、シングルアプリケーション条件に比較して有意に高い値を示した。

ヌープ硬さの測定結果から、いずれのアドヒーズにおいても、保管期間の延長に伴ってヌープ硬さは上昇するとともに、2ステップ接着システム CSE はユニバーサルアドヒーズと比較して保管時間に関係なく高いヌープ硬さを示した。保管期間 24 時間のヌープ硬さ値を 100%とした際、5 分から 12 時間群の割合は、CUB で 2.8~65.9%、GPB で 4.2~54.2%、SUB で 9.4~56.1%および CSE で 70.7~99.6%を示した。

象牙質処理面の SEM 観察からは、SE モードでの SUB および CSE の処理面では、部分的なスミヤ層の除去とともに一部象牙細管が開口している像が観察された。ER モードにおいては、いずれのアドヒーズにおいても象牙細管の漏斗状の開口が観察された。接着界面の SEM 観察からは、アドヒーズの種類、塗布法およびエッチングモードの違いにかかわらず、接合状態は良好であった。アドヒーズ層の厚さは、SUB では、シングルアプリケーション群で約 10 μm 、ダブルアプリケーション群で約 20 μm であった。一方、CSE ではシングルアプリケーション群で 30~40 μm 、ダブルアプリケーション群で 50~60 μm であった。接着界面付近の微細構造は、いずれのアドヒーズにおいてもエッチングモードの違いによって異なるものであった。また、ER モードではハイブリッド層直下に高密度の反応層 (reaction layer) が確認された。

以上のように、本実験の結果から、ユニバーサルアドヒーズの象牙質初期接着強さは保管期間の延長に伴って上昇し、24 時間後と比較して保管期間 5 分群および 1 時間群の接着強さは、有意に低い値を示した。また、硬化アドヒーズのヌープ硬さ試験においても、接着試験と同様に保管期間の延長に伴ってヌープ硬さが上昇した。このことから、硬化アドヒーズの経時的な機械的性質の向上も、象牙質初期接着強さに関与していることが

示唆された。また、ユニバーサルアドヒーズの象牙質初期接着性の向上には、アドヒーズのダブルアプリケーションが有効であることが明らかとなった。

なお、本論文は原著論文 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 adhesive to dentin in the early phase. *J Adhes Dent* 23, 447-459. を基幹論文とし、これに新たなデータを加え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、シングルステップセルフエッチング接着システムから発展したものであり、様々な被着体に対して前処理を必要とすることなく接着性を発揮することを特徴としている¹⁾。また、窩洞を構成する歯質の状況に適したエッチングモードを選択することが可能であるため^{2,4)}、臨床応用範囲も広く汎用性に優れているところから使用頻度も増加している。

光重合型コンポジットレジン修復においては、修復直後から修復物と歯質との接着界面にレジンペーストの重合収縮に起因する、あるいは形態修正および研磨などによる応力が負荷される⁵⁻⁷⁾。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接着システムに比較して歯質接着性に劣ることが指摘されているところから^{8,9)}、ユニバーサルアドヒーシブの歯質接着性を向上させることを目的として様々な臨床技法が提唱されてきた¹⁰⁻¹³⁾。しかし、修復直後のユニバーサルアドヒーシブの歯質接着性の詳細については不明な点が多く、とくに初期接着性の経時的な推移については不明な点が多い。

そこで著者は、エッチングモードおよびアドヒーシブ塗布法の違いが、ユニバーサルアドヒーシブの象牙質に対する初期接着性に及ぼす影響について、剪断接着試験を行うことによって検討するとともに、アドヒーシブ処理面、接着界面および接着試験終了後の破断面の走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を行った。さらに、硬化アドヒーシブのヌーブ硬さの経時的推移を測定することで接着試験の考察資料とした。

材料および方法

1. 供試材料および可視光線照射器

供試したユニバーサルアドヒーシブは、Clearfil Universal Bond Quick (CUB, Kuraray Noritake Dental) , G-Premio Bond (GPB, GC) および Scotchbond Universal (SUB, 3M Oral Care) である。また、対照として2ステップセルフエッチングシステムの Clearfil SE Bond 2 (CSE, Kuraray Noritake Dental) を用いた (Table 1)。エッチング剤として Ultra-Etch (Ultradent Products) を、光重合型コンポジットレジンとして Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) を用いた。可視光線照射器 (Optilux 501, Kerr) 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

接着試験に使用した歯は、ウシ (2~3 歳齢) 下顎前歯で、歯冠部のみを常温重合型レジン (Tray Resin II, Shofu) に包埋した。次いで、直径 4~5 mm の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後、平坦面を耐水性研磨紙の #320 まで順次研削し、被着面とした。

2) 接着強さ測定用試片 (接着試片) の製作および保管条件

接着試片の製作および剪断接着強さ試験は、ISO 29022: 2013 Dentistry—Adhesion—Notched-edge shear bond strength test に準じて行った¹⁴⁾。被着面に対して、アドヒーシブの塗布前にリン酸エッチングを 15 秒間行うエッチ&リンスモード (ER モード) あるいはこれを行わないセルフエッチングモード (SE モード) の 2 条件を設定した。次いで、各条件の

被着面に製造者指示に従ってアドヒーシブを塗布して光照射した条件（シングルアプリケーション）とともに、アドヒーシブ塗布後、光照射した後にアドヒーシブを再度塗布し、光照射した条件（ダブルアプリケーション）について検討した（Table 2）。

次いで、Ultradent 接着試験用治具（Ultradent Products）を被着歯面に固定し、内径 2.38 mm、高さ 2.0 mm のプラスチックモールド（Ultradent Products）を用いてレジンペーストを填塞し、光照射を 30 秒間行って接着試片とした。製作した接着試片は 5 分、1、6、12 および 24 時間、37°C 精製水中に保管した。なお、試片の数は各条件について 15 個とした。

3) 接着強さの測定

所定の保管時間が終了した接着試片について、万能試験機（Type 5500R, Instron）を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。接着試験終了後の試片については、実体顕微鏡を用いてレジン側破断面を観察し、破壊形式を分類した。

3. 硬化アドヒーシブのヌープ硬さ測定

ヌープ硬さの測定に際しては、SE モードでのシングルアプリケーション条件でヌープ硬さ試験用試片の製作を行った。すなわち、被着象牙質面上に厚さ 300 μm の、中央に直径 6 mm の穴が開いたテープを貼付し、露出象牙質面に製造者指示条件に従ってアドヒーシブを塗布して 10 秒間光照射を行い、ヌープ硬さ試験用試片とした。製作した試片は、剪断接着試験と同一条件で保管した。所定の保管期間が終了した試片に対して、微小硬度計（HMV-2, 島津製作所）を用いて荷重 98.07 mN、荷重保持時間 5 秒の条件でヌープ硬さを測定した。測定部位に関しては、試片中央部の 3 カ所とし、その平均値を算出する事で各試片におけるヌープ硬さとした。なお、試片の数は各条件について 12 個とした。

4. SEM 観察

各条件におけるアドヒーズ処理面，接着界面および接着試験終了後の破断面について SEM 観察を行った。アドヒーズ処理面については，SE モードおよび ER モードでの製造者指示条件（シングルアプリケーション）に従って処理をした象牙質面に対してアセトンおよび蒸留水で15秒間ずつ交互洗浄することを3回繰り返し，SEM 観察用試片とした。接着界面の SEM 観察用試片は，接着試片と同様に製作し，エポキシ樹脂に包埋した。包埋樹脂が硬化した後，自動精密切断機 (IsoMet 1000 Low Speed Saw, Buehler) を用いて縦断し，この面をダイヤモンドペーストの粒径 0.25 μm まで順次研磨した。アドヒーズ処理面および接着界面観察用試片は，*tert*-ブタノール上昇系列に順次浸漬した後，凍結乾燥 (Model ID-3, Elionix) を行った。接着界面観察用試片には，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。また，接着試験終了後の破断面の SEM 観察に際しては，レジン側破断試片を 3 分間超音波洗浄後，乾燥した。

すべての試片に対して，イオンコーター (Quick Coater Type SC-201, 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 の条件で観察した。

5. 統計解析

剪断接着試験から得られた接着強さについては，等分散性を確認した後，三元配置分散分析および Tukey HSD test を用いて有意水準 5% の条件で多重比較検定を行った。また，

ヌープ硬さについては一元配置分散分析および Tukey HSD test を用いて有意水準 5%の条件で多重比較検定を行った。

成 績

1. 接着強さ

異なるエッチングモードおよび塗布法が、ユニバーサルアドヒーシブの象牙質初期接着強さに及ぼす影響についての成績を Table 3 および 4 に示した。三元配置分散分析の結果から、いずれのエッチングモードにおいても塗布法、保管期間およびアドヒーシブの種類は、接着強さへの有意な影響因子であった ($p < 0.001$)。また、各因子における相互作用はいずれのエッチングモードにおいても有意であった ($p < 0.05$)。

各条件における象牙質接着強さは、SE モード (Table 3) でのシングルアプリケーション群においては、CUB で 16.5~33.4 MPa, GPB で 17.6~30.5 MPa, SUB で 16.2~37.7 MPa および CSE で 24.2~46.9 MPa であった。一方、ダブルアプリケーション群では CUB で 23.6~37.0 MPa, GPB で 22.4~33.3 MPa, SUB で 28.4~39.3 MPa および CSE で 34.2~49.1 MPa であった。いずれのユニバーサルアドヒーシブにおいても、ダブルアプリケーション条件はシングルアプリケーション条件に比較して高い値を示し、2 ステップ接着システムでも同様であった。また、いずれのアドヒーシブにおいても塗布法の違いにかかわらず、接着強さは保管期間の延長に伴って上昇した。シングルアプリケーション条件の保管期間 24 時間での接着強さを 100%とした際に、他の条件における接着強さは 43.0~110.8%であった (Table 3, Fig. 1)。

ER モード (Table 4) でのシングルアプリケーション群においては, CUB で 16.1~33.5 MPa, GPB で 19.4~29.5 MPa, SUB で 17.1~35.8 MPa および CSE で 25.8~40.7 MPa であった。一方, ダブルアプリケーション群では, CUB で 22.3~36.0 MPa, GPB で 23.8~33.0 MPa, SUB で 28.1~40.0 MPa および CSE で 32.2~45.1 MPa を示した。アドヒーズブの塗布法で比較すると, CUB の 24 時間群および GPB の 12 時間群を除き, いずれの保管期間においてもダブルアプリケーション条件は, シングルアプリケーション条件に比較して有意に高い値を示した。また, いずれのアドヒーズブにおいても, 塗布条件の違いにかかわらず, 接着強さは保管期間の延長に伴って上昇した。シングルアプリケーション条件の保管期間 24 時間での接着強さを 100%とした際に, 他の条件における接着強さは, 47.8~111.9%であった (Table 4, Fig. 2)。

2. 破壊形式の分析

いずれのユニバーサルアドヒーズブにおいても, シングルアプリケーション群は, エッチングモードの違いにかかわらず, 界面破壊が大勢を占めた。一方, ダブルアプリケーション群では, GPB を除くユニバーサルアドヒーズブにおいて, 混合破壊および凝集破壊が増加した。2 ステップ接着システムの CSE では, 混合破壊および凝集破壊の頻度がユニバーサルアドヒーズブに比較して高かった。

3. 硬化アドヒーズのヌープ硬さ

いずれのアドヒーズにおいても、保管期間の延長に伴ってヌープ硬さは上昇するとともに、2ステップ接着システムのCSEはユニバーサルアドヒーズと比較して保管期間に関係なく高い値を示した。保管期間24時間のヌープ硬さ値を100%とした際における5分から12時間群の割合は、CUBで2.8~65.9%、GPBで4.2~54.2%、SUBで9.4~56.1%およびCSEで70.7~99.6%を示した (Table 5, Fig. 3)。

4. SEM 観察

ベースラインおよび異なるエッチングモードでのアドヒーズ処理面のSEM像をFig. 4に示した。ベースラインとした象牙質面は、耐水性研磨紙による削除痕とともにスミヤー層が観察された (Fig. 4A)。一方、リン酸エッチング後の象牙質面は、コラーゲン繊維網の露出とともに象牙細管の漏斗状の開口が観察された (Fig. 4B)。SEモードでのSUBおよびCSEの処理面では、部分的なスミヤー層の除去とともに一部象牙細管が開口している像が観察された (Figs. 4C, E)。ERモードにおいては、いずれのアドヒーズにおいても象牙細管の漏斗状の開口が観察された (Figs. 4D, F)。

接着界面のSEM像をFigs. 5および6に示した。アドヒーズの種類、塗布法およびエッチングモードの違いにかかわらず、接合状態は良好であった。アドヒーズ層の厚さは、SUBでは、シングルアプリケーション群で約10 μm 、ダブルアプリケーション群で約20 μm であった (Figs. 5A, B, Figs. 6A, B)。一方、CSEではシングルアプリケーション群で30~40 μm 、ダブルアプリケーション群で50~60 μm であった (Figs. 5C, D, Figs. 6C, D)。接着界面付近の微細構造は、いずれのアドヒーズにおいてもエッチングモードの違いによ

って異なるものであった。また、ER モードではハイブリッド層直下に高密度の反応層 (reaction layer) が確認された (Fig. 6)。

レジシン側破断面の SEM 像を Figs. 7 および 8 に示した。SUB のシングルアプリケーション条件における保管期間 5 分群では、SE モードで比較的平坦な破断面を呈したものの (Fig. 7A) , ER モードでは粗造な面を呈した (Fig. 7E) 。保管期間 24 時間群では、いずれのエッチングモードにおいてもアドヒーズ層内での亀裂進展が観察された (Figs. 7C, G) 。一方、ダブルアプリケーション条件の保管期間 5 分群では、SE モードでは比較的平坦な面を呈していたものが (Fig. 7B) , ER モードではアドヒーズ層内での亀裂進展が明瞭に観察された (Fig. 7F) 。保管期間 24 時間群では、SE モードではアドヒーズ層内での亀裂が明瞭に観察され (Fig. 7D) , ER モードにおいてはレジシタグが明瞭に観察された (Fig. 7H) 。

CSE のシングルアプリケーション条件では、ユニバーサルアドヒーズと同様の傾向を示し、保管期間 5 分群の SE モードでは平坦な破断面を呈したものの (Fig. 8A) , ER モードではアドヒーズ層内での亀裂進展が認められた (Fig. 8E) 。保管期間 24 時間群ではアドヒーズ層内での亀裂進展および象牙質の凝集破壊が観察された (Figs. 8C, G) 。一方、ダブルアプリケーション条件では、5 分群の SE モードでは比較的平坦な像を呈していたものの (Fig. 8B) , 他の条件ではアドヒーズ層内に亀裂進展が観察された (Figs. 8D, F, H) 。

考 察

ユニバーサルアドヒーシブの臨床使用術式を確立する研究の一環として、エッチングモードおよびアドヒーシブの塗布法の違いが象牙質への初期接着性に及ぼす影響について検討するとともに、硬化アドヒーシブのヌープ硬さの推移を経時的に測定した。

その結果、象牙質接着強さは、いずれの接着システムにおいてもエッチングモードおよび塗布法の違いにかかわらず、保管期間の延長に伴って上昇した。また、硬化アドヒーシブのヌープ硬さも保管期間の延長に伴って上昇した。しかし、経時的な接着強さの変化は、エッチングモード、アドヒーシブの種類および塗布法の違いによって異なる傾向を示した。ユニバーサルアドヒーシブは、アドヒーシブの塗布によって歯質の脱灰、レジンモノマーの浸透およびハイドロキシアパタイトとの化学的な接着が同時に生じるとともに光照射によって重合硬化を可能としている¹⁵⁾。このように、各接着システムで24時間以内での象牙質接着強さの上昇傾向には、用いたユニバーサルアドヒーシブのpH、組成、エアブローの違いあるいはリン酸エッチングの有無などが影響を及ぼしたとも考えられた¹⁶⁻¹⁸⁾。

アドヒーシブの塗布法に着目すると、ダブルアプリケーションの効果は、ユニバーサルアドヒーシブの象牙質初期接着強さの向上に有効であることが示された。すなわち、接着強さを同一保管期間で比較した場合、供試したユニバーサルアドヒーシブの多くで、いずれのエッチングモードでもダブルアプリケーション条件がシングルアプリケーション条件に比較して有意に高い値を示した。この結果は、ユニバーサルアドヒーシブのダブルアプリケーションについて接着疲労試験から検討した報告¹³⁾およびユニバーサルアドヒーシブのダブルアプリケーションがエナメル質初期接着強さに及ぼす影響に関する報告¹⁹⁾と一致

するものであった。この理由として、アドヒーシブ層の厚みが増すことによって接着界面付近で生じる応力が効果的に分散したために、結果として接着強さが向上した可能性が考えられた²⁰⁻²²⁾。すなわち、アドヒーシブ層の厚みが増すことによって荷重負荷の際に接着界面で形成される塑性変形領域が拡大するとともに硬化アドヒーシブ層の弾性が変化することで破壊に対する抵抗が向上した²³⁾ものと考えられた。

以上のように、本実験の結果から、ユニバーサルアドヒーシブの象牙質初期接着強さは保管期間の延長に伴って上昇し、24時間後と比較して保管期間5分群および1時間群の接着強さは、有意に低い値を示した。また、硬化アドヒーシブのヌープ硬さ試験においても、接着試験と同様に保管期間の延長に伴ってヌープ硬さが上昇した。このことから、硬化アドヒーシブの経時的な機械的性質の向上も、象牙質初期接着強さに関与していることが示唆された。また、ユニバーサルアドヒーシブの象牙質初期接着性の向上には、アドヒーシブのダブルアプリケーションが有効であることが明らかとなった。

結 論

ユニバーサルアドヒーズの象牙質初期接着性およびアドヒーズのダブルアプリケーションが、その接着性に及ぼす影響について検討した結果、以下の結論を得た。

1. いずれのアドヒーズにおいても、エッチングモードあるいは塗布法の違いにかかわらず、保管期間の延長に伴って象牙質接着強さは上昇した。
2. エッチングモードの違いにかかわらず、同一保管条件ではユニバーサルアドヒーズのダブルアプリケーション条件はシングルアプリケーション条件に比較して高い象牙質接着強さを示した。
3. ユニバーサルアドヒーズのアドヒーズ層の厚みは、いずれのエッチングモードにおいても同等であり、シングルアプリケーション条件では約 10 μm 、ダブルアプリケーション条件では約 20 μm であった。
4. いずれのアドヒーズにおいても、保管期間の延長に伴ってアドヒーズ層の硬さが上昇した。

文 献

- 1) Cuevas-Suárez CE, de Oliveira da Rosa WL, Vitti RP, da Silva AF, Piva E (2020) Bonding strength of universal adhesives to indirect substrates: A meta-analysis of in vitro studies. *J Prosthodont* 29, 298-308.
- 2) 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.
- 3) Suzuki T, Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Erickson RL, Latta MA, Miyazaki M (2016) Influence of etching mode on enamel bond durability of universal adhesive systems. *Oper Dent* 41, 520-530.
- 4) 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.
- 5) Irie M, Maruo Y, Nishigawa G (2017) Performance of class I composite restorations when polished immediately or after one-day water storage. *PLoS One* 12, e0183381.
- 6) Tsujimoto A, Jurado CA, Barkmeier WW, Sayed ME, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M, Garcia-Godoy F (2020) Effect of layering techniques on polymerization shrinkage stress of high- and low-viscosity bulk-fill resins. *Oper Dent* 45, 655-663.
- 7) Ezaki R, Mine A, Sato K, Fukui KI, Kumada K, Yumitate M, Ban S, Yamanaka A, Matsumoto M, Van Meerbeek B, Moriya H, Hashida T, Yatani H (2022) Development of dental inspection

- method: nondestructive evaluation of an adhesive interface by active acoustic emission. *J Prosthodont Res* 66, 236-242.
- 8) 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.
 - 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) Shiratsuchi K, Tsujimoto A, Takamizawa T, Furuichi T, Tsubota K, Kurokawa H, Miyazaki M (2013) Influence of warm air-drying on enamel bond strength and surface free-energy of self-etch adhesives. *Eur J Oral Sci* 121, 370-376.
 - 11) Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez IV, Staichak R, Reis A, Loguercio AD (2014) Immediate adhesive properties to dentin and enamel of a universal adhesive associated with a hydrophobic resin coat. *Oper Dent* 39, 489-499.
 - 12) Sezinando A, Luque-Martinez IV, Muñoz MA, Reis A, Loguercio AD, Perdigão J (2015) Influence of a hydrophobic resin coating on the immediate and 6-month dentin bonding of three universal adhesives. *Dent Mater* 31, e236-e246.
 - 13) Fujiwara S, Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Imai A, Watanabe H, Erickson RL, Latta MA, Nakatsuka T, Miyazaki M (2018) Effect of double-layer application on bond quality of adhesive systems. *J Mech Behav Biomed Mater* 77, 501-509.

- 14) International Organization for Standardization (2013) ISO 29022: 2013 Dentistry–Adhesion–Notched-edge shear bond strength test. 1st edn. Geneva, Switzerland: 1-12.
- 15) Van Meerbeek B, Yoshihara K, Van Landuyt K, Yoshida Y, Peumans M (2020) From Buonocore's pioneering acid-etch technique to self-adhering restoratives. A status perspective of rapidly advancing dental adhesive technology. *J Adhes Dent* 22, 12-17.
- 16) Imai A, Takamizawa T, Sai K, Tsujimoto A, Nojiri K, Endo H, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2017) Influence of application method on surface free energy and bond strength of universal adhesive systems to enamel. *Eur J Oral Sci* 125, 385-395.
- 17) Moritake N, Takamizawa T, Ishii R, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2019) Effect of active application on bond durability of universal adhesives. *Oper Dent* 44, 188-199.
- 18) 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.
- 19) Hirokane E, Takamizawa T, Kasahara Y, Ishii R, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Latta MA, Miyazaki M (2020) Effect of double-layer application on the early enamel bond strength of universal adhesives. *Clin Oral Investig* 25, 907-921.
- 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) de A Neves A, Countinho E, Poitevin A, Van der Sloten J, Van Meerbeek B, Van Oosterwyck H
(2009) Influence of joint component mechanical properties and adhesive layer thickness on stress distribution in micro-tensile bond strength specimens. *Dent Mater* 25, 4-12.
- 23) Katsuki S, Takamizawa T, Yokoyama M, Sai K, Tamura T, Ishii R, Kamimoto A, 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.

表および図

Table 1: Materials used in this study

Code	Adhesive (Lot No.)	Main component	pH	Manufacturer
CUB	Clearfil Universal Bond Quick (9T0050)	bis-GMA, MDP, HEMA, hydrophilic amide monomer, filler, ethanol, water, NaF, photo initiators, chemical polymerization accelerator, silane coupling agent, others	2.3	Kuraray Noritake Dental
GPB	G-Premio Bond (4G0011)	MDP, 4-MET, MEPS, BHT, acetone, dimethacrylate resins, initiators, filler, water	1.5	GC
SUB	Scotchbond Universal (41256)	MDP, HEMA, dimethacrylate resins, Vitrebond copolymer, filler, ethanol, water, initiators, silane	2.7	3M Oral Care
CSE	Clearfil SE Bond 2 (Primer: 5852494) (Adhesive: 5847004)	Primer: MDP, HEMA, water, initiators Adhesive: MDP, HEMA, bis-GMA, initiators, microfiller	2.0 (Primer)	Kuraray Noritake Dental
Pre-etching agent				
	Ultra-Etch (G017)	35% phosphoric acid		Ultradent Products
Resin composite				
	Clearfil AP-X (380094)	bis-GMA, TEGDMA, silane barium glass filler, silane silica filler, silanated colloidal silica, CQ, pigments, others		Kuraray Noritake Dental

bis-GMA: 2,2-bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy) phenyl] propane, MDP: 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate, HEMA: 2-hydroxyethyl methacrylate, 4-MET: 4-methacryloyloxyethyl trimellitate, MEPS: methacryloyloxyalkyl thiophosphate methylmethacrylate, BHT: butylated hydroxytoluene, TEGDMA: triethyleneglycol dimethacrylate, CQ: *dl*-camphorquinone

Table 2: Application protocol for pre-etching and the tested adhesives

Etching mode	Pre-etching protocol
SE (self-etch)	Phosphoric acid pre-etching was not performed.
ER (etch-&-rinse)	Dentin surface was phosphoric acid etched for 15 s. Etched surface was rinsed with water for 15 s (three-way dental syringe) and air-dried.
Adhesive	Adhesive application protocol
CUB	Single layer Adhesive was applied to air-dried dentin 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 had completely evaporated. Light irradiated for 10 s.
	Double layer The above application procedure was performed twice, applying the second coat of adhesive immediately after completing light irradiation.
GPB	Single layer Adhesive was applied to air-dried dentin surface and immediately a strong stream of air applied over the liquid adhesive for 5 s or until the adhesive no longer moved and the solvent had completely evaporated. Light irradiated for 10 s.
	Double layer The above application procedure was performed twice, applying the second coat of adhesive immediately after completing light irradiation.
SUB	Single layer Adhesive was applied to air-dried dentin surface (not desiccated) with rubbing motion for 20 s and then medium air pressure applied to surface for 5 s. Light irradiated for 10 s.
	Double layer The above application procedure was performed twice, applying the second coat of adhesive immediately after completing light irradiation.
CSE	Single layer Primer was applied to air-dried dentin surfaces for 20 s followed by medium air pressure for 5s. Adhesive was then applied to primed surfaces and was air thinned gently. Adhesive was light irradiated for 10 s.
	Double layer The primer was applied once, followed by two applications of adhesive, as above. Applying the second coat of adhesive began immediately after completing light irradiation.

Table 3: Influence of adhesive application on early dentin bond strength (SE mode)

	5 min		1 h		6 h		12 h		24 h	
	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer
CUB	16.5 (1.7) ^{bE} [49.4%]	23.6 (2.2) ^{cC} [70.7%]	19.7 (1.2) ^{dD} [59.0%]	23.5 (3.0) ^{cC} [70.4%]	22.3 (4.2) ^{cCD} [66.8%]	30.4 (3.3) ^{eB} [91.0%]	26.1 (3.1) ^{cC} [78.1%]	31.1 (3.4) ^{eB} [93.1%]	33.4 (2.8) ^{eB} [100%]	37.0 (2.2) ^{bA} [110.8%]
GPB	17.6 (1.9) ^{bE} [57.7%]	22.4 (1.0) ^{dD} [73.4%]	23.9 (2.6) ^{bD} [78.4%]	27.4 (3.2) ^{bBC} [89.8%]	25.0 (3.9) ^{bcCD} [82.0%]	28.4 (1.4) ^{eBC} [93.1%]	28.2 (3.2) ^{bcBC} [92.5%]	30.4 (1.4) ^{cAB} [99.7%]	30.5 (4.1) ^{cAB} [100%]	33.3 (3.5) ^{cA} [109.2%]
SUB	16.2 (2.0) ^{bD} [43.0%]	28.4 (1.9) ^{bB} [75.3%]	20.0 (3.0) ^{cC} [53.1%]	30.1 (4.1) ^{bB} [79.8%]	27.4 (4.7) ^{bB} [72.7%]	36.6 (2.5) ^{bA} [97.1%]	31.6 (4.5) ^{bB} [83.8%]	37.6 (3.4) ^{bA} [99.7%]	37.7 (5.8) ^{bA} [100%]	39.3 (2.9) ^{bA} [104.2%]
CSE	24.2 (4.3) ^{aE} [51.6%]	34.2 (1.5) ^{aD} [72.9%]	26.9 (2.9) ^{aE} [57.3%]	35.3 (3.1) ^{aD} [75.3%]	37.4 (2.1) ^{aD} [79.7%]	43.0 (3.0) ^{aC} [91.7%]	43.9 (3.8) ^{aBC} [93.2%]	44.3 (3.8) ^{aBC} [94.5%]	46.9 (2.2) ^{aAB} [100%]	49.1 (2.8) ^{aA} [104.7%]

n = 15, mean (SD) in MPa.

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

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

Values in parenthesis indicate standard deviation.

Percentage values in brackets indicate strength relative to single layer strength at 24 h.

Table 4: Influence of adhesive application on early dentin bond strength (ER mode)

	5 min		1 h		6 h		12 h		24 h	
	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer	Single layer	Double layer
CUB	16.1 (3.5) ^{bE} [48.1%]	22.3 (3.6) ^{cCD} [66.6%]	16.9 (3.4) ^{cE} [50.4%]	25.7 (2.9) ^{bC} [76.7%]	21.8 (2.9) ^{cD} [65.1%]	29.7 (2.6) ^{eB} [88.7%]	25.2 (3.0) ^{cC} [75.2%]	30.7 (5.9) ^{eB} [91.6%]	33.5 (3.7) ^{bAB} [100%]	36.0 (2.5) ^{eA} [107.5%]
GPB	19.4 (1.0) ^{bE} [65.8%]	23.8 (1.5) ^{eD} [80.7%]	22.4 (2.4) ^{bD} [75.9%]	27.4 (2.5) ^{bBC} [92.9%]	24.6 (3.2) ^{bcCD} [83.4%]	27.8 (3.1) ^{eB} [94.2%]	28.9 (2.6) ^{bB} [98.0%]	29.1 (1.5) ^{eB} [98.6%]	29.5 (3.1) ^{cB} [100%]	33.0 (2.4) ^{dA} [111.9%]
SUB	17.1 (3.0) ^{bG} [47.8%]	28.1 (3.3) ^{bE} [78.5%]	22.8 (1.6) ^{bF} [63.7%]	32.6 (1.6) ^{aCD} [91.1%]	27.5 (3.0) ^{bE} [76.8%]	35.6 (3.9) ^{bBC} [99.4%]	30.9 (2.9) ^{bDE} [86.3%]	38.1 (4.2) ^{bAB} [106.4%]	35.8 (4.0) ^{bBC} [100%]	40.0 (2.3) ^{bA} [111.7%]
CSE	25.8 (3.1) ^{aE} [63.4%]	32.2 (3.6) ^{aD} [79.1%]	28.6 (3.5) ^{aE} [70.3%]	33.2 (3.3) ^{aD} [81.6%]	33.2 (3.0) ^{aD} [81.6%]	41.8 (2.9) ^{aB} [102.7%]	37.9 (3.0) ^{aC} [93.1%]	42.9 (3.0) ^{aB} [105.4%]	40.7 (3.0) ^{aBC} [100%]	45.1 (1.6) ^{aA} [110.8%]

n = 15, mean (SD) in MPa.

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

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

Percentage values in brackets indicate strength relative to single layer strength at 24 h.

Table 5: Changes in the KHN of the adhesives over time

	5 min	1 h	6 h	12 h	24 h
CUB	0.5 (0.1) ^{cE} [2.8%]	2.3 (0.6) ^{cD} [13.1%]	6.4 (0.7) ^{bC} [36.4%]	11.6 (0.8) ^{bB} [65.9%]	17.6 (1.8) ^{bA} [100%]
GPB	0.4 (0.1) ^{cD} [4.2%]	0.6 (0.1) ^{dD} [6.3%]	2.7 (0.2) ^{dC} [28.1%]	5.2 (0.3) ^{dB} [54.2%]	9.6 (1.1) ^{cA} [100%]
SUB	1.7 (0.2) ^{bE} [9.4%]	4.3 (0.5) ^{bD} [23.9%]	6.5 (0.6) ^{bC} [36.1%]	10.1 (0.5) ^{cB} [56.1%]	18.0 (1.3) ^{bA} [100%]
CSE	18.1 (0.4) ^{aD} [70.7%]	19.9 (1.2) ^{aC} [77.7%]	22.6 (0.6) ^{aB} [88.3%]	25.5 (0.5) ^{aA} [99.6%]	25.6 (0.5) ^{aA} [100%]

n = 12, mean (SD).

Percentage values in brackets indicate KHN relative to values at 24 h.

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

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

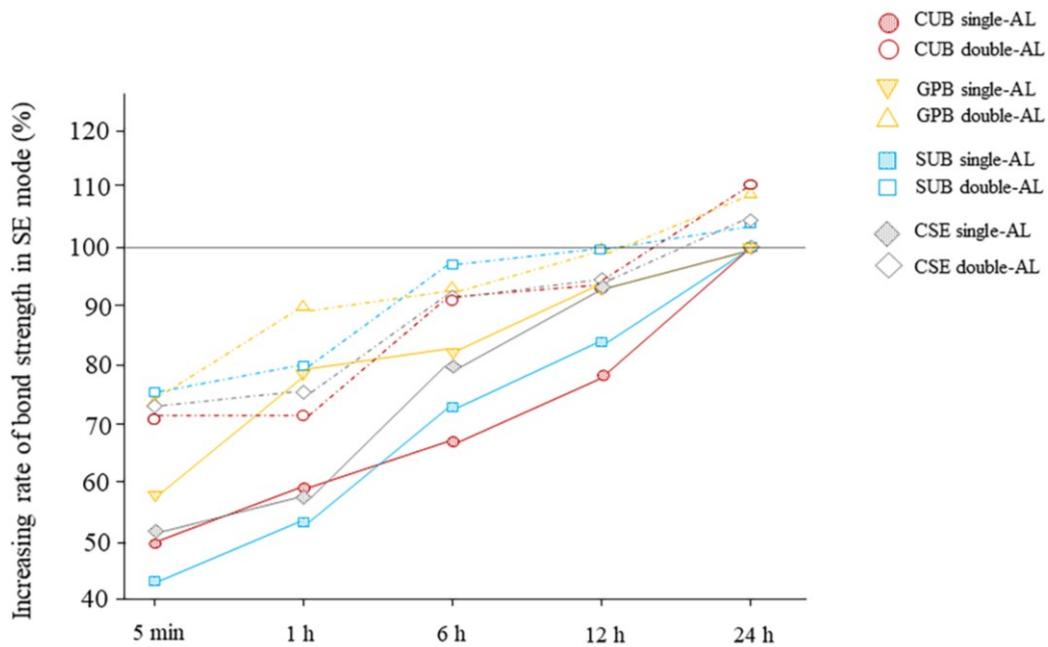


Fig. 1. Changes in shear bond strength (%) in the self-etch mode (CUB, Clearfil Universal Bond Quick; GPB, G-Premio Bond; SUB, Scotchbond Universal; CSE, Clearfil SE Bond; AL, adhesive layer).

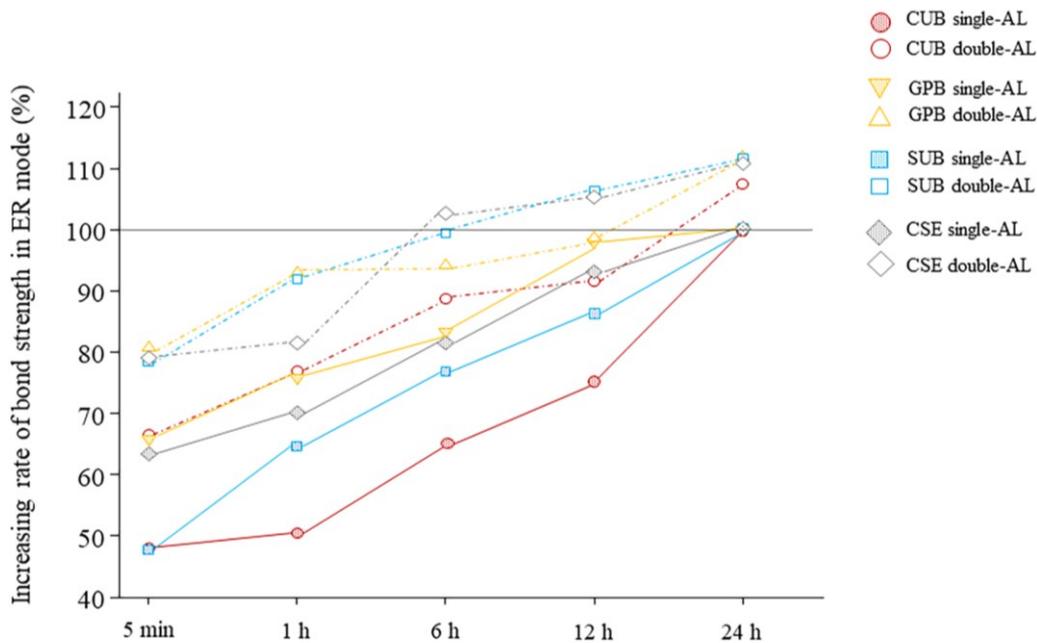


Fig. 2. Changes in shear bond strength (%) in the etch-and-rinse mode (CUB, Clearfil Universal Bond Quick; GPB, G-Premio Bond; SUB, Scotchbond Universal; CSE, Clearfil SE Bond; AL, adhesive layer).

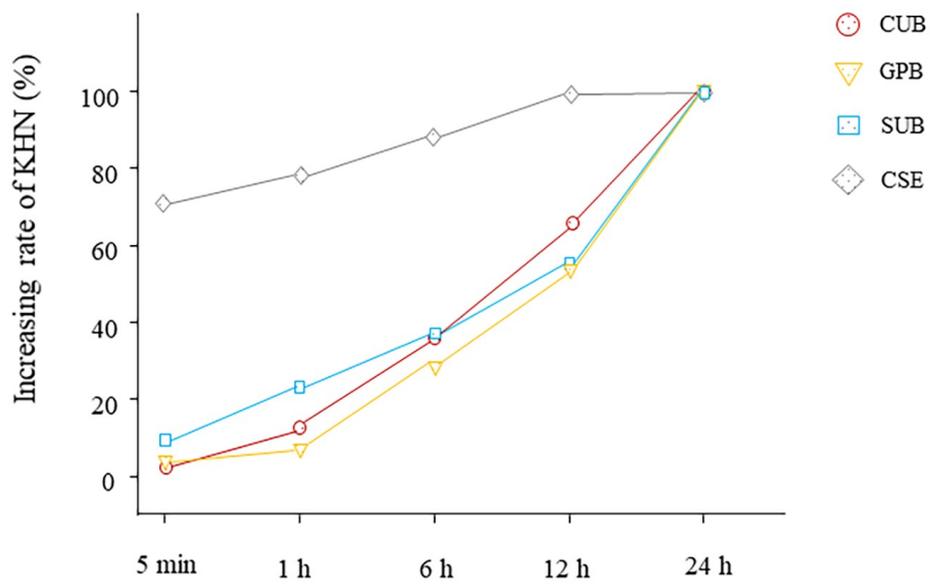


Fig. 3. Changes in KHN (%) of the cured adhesive layer (CUB, Clearfil Universal Bond Quick; GPB, G-Premio Bond; SUB, Scotchbond Universal; CSE, Clearfil SE Bond).

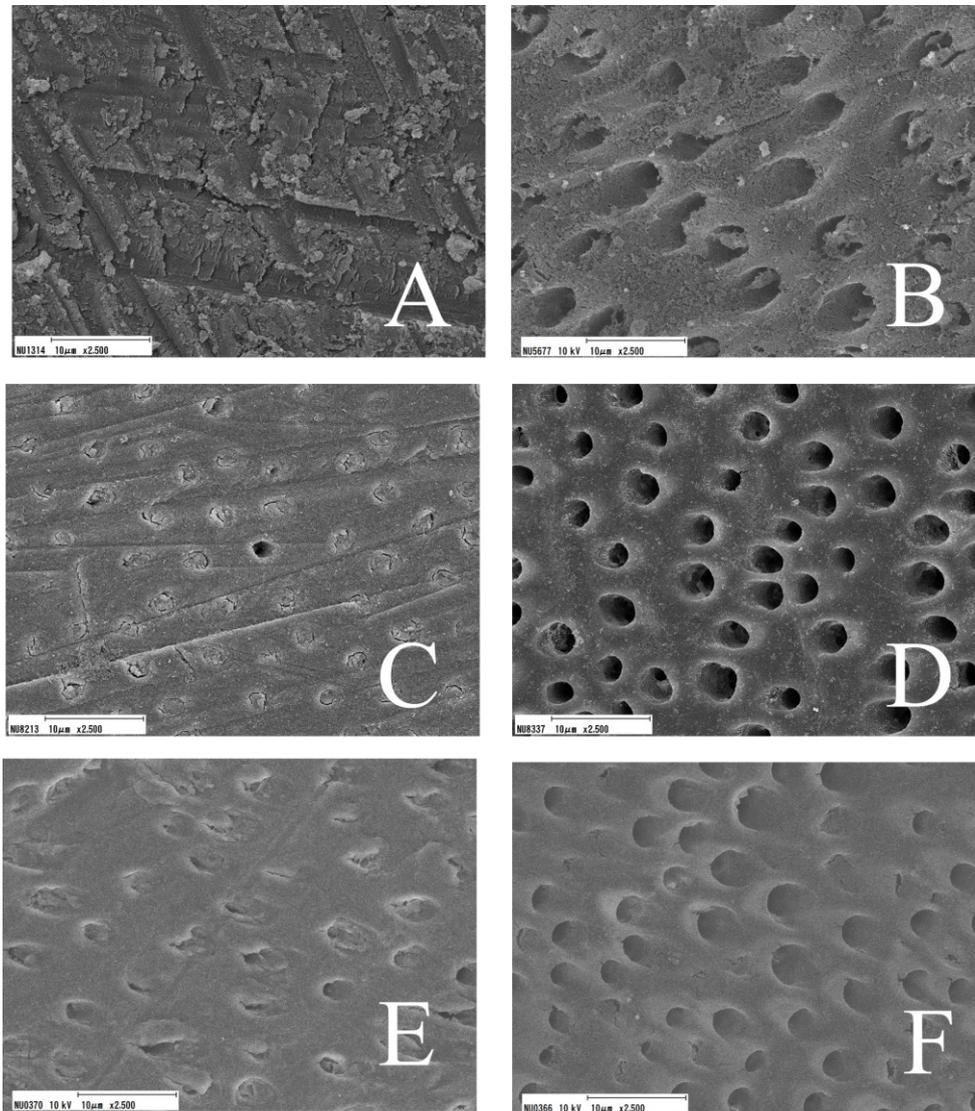


Fig. 4. Representative SEM images of the initial and treated dentin surfaces ($\times 5,000$).
 A: Ground with #320 SiC paper (Baseline).
 B: Phosphoric acid etching for 15 s (Baseline).
 C: SE mode in SUB.
 D: ER mode in SUB.
 E: SE mode in CSE.
 F: ER mode in CSE.

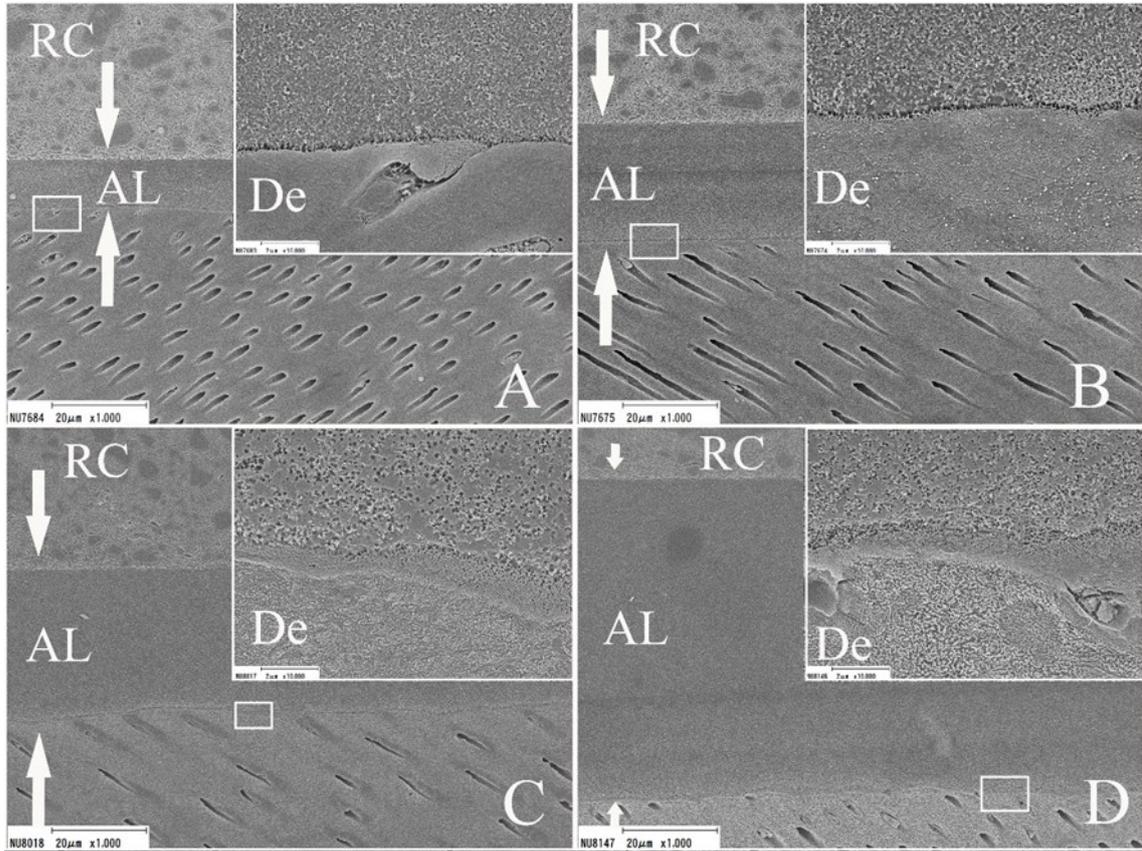


Fig. 5. Representative SEM images of the resin–dentin interface of the SUB and CSE in the SE mode. A. SUB with single-layer application in SE mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. B. SUB with double-layer application in SE mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. C. CSE with single-layer application in SE mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. D. CSE with double-layer application in SE mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. AL, adhesive layer; De, dentin; RC, resin composite. The white lines indicate the adhesive layer.

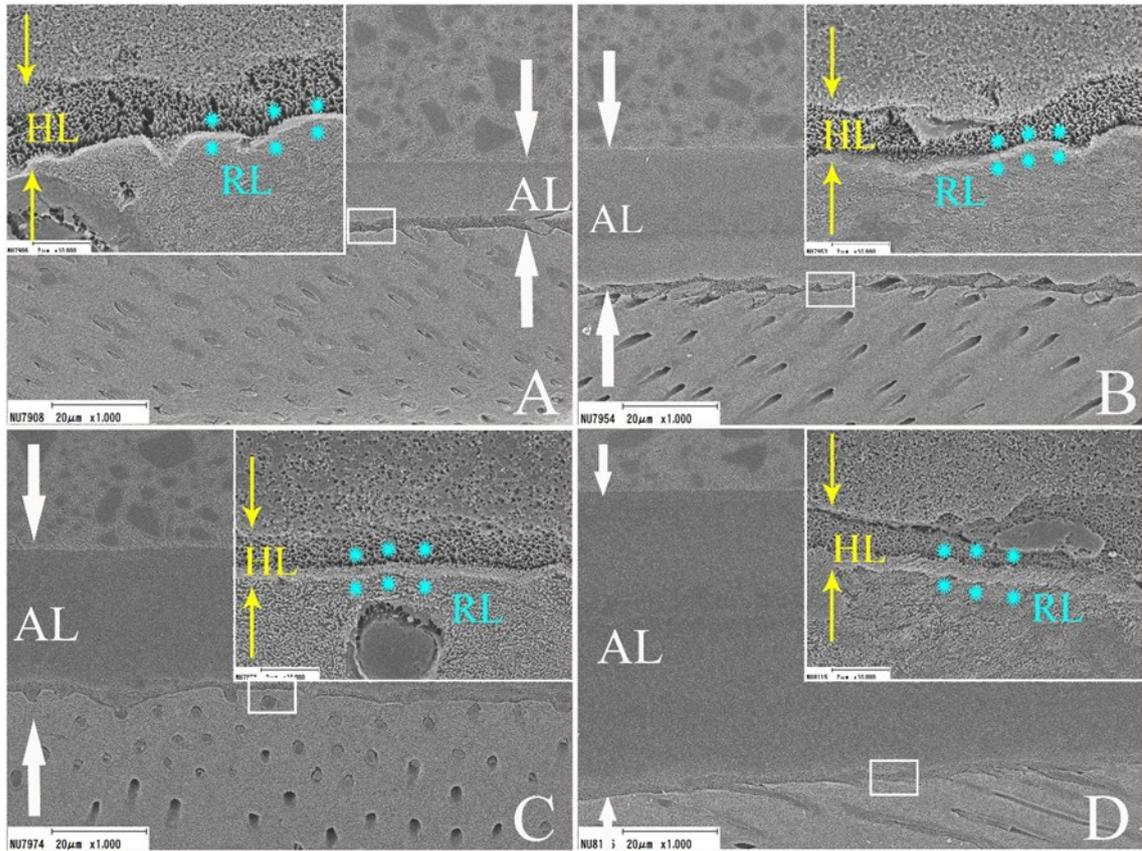


Fig. 6. Representative SEM images of the resin–dentin interface of SUB and CSE in ER mode. A. SUB with single-layer application in ER mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. B. SUB with double-layer application in ER mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. C. CSE with single-layer application in ER mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. D. CSE with double-layer application in ER mode at magnifications of 1,000× and 20,000×. AL, adhesive layer; HL, hybrid layer; RL, reaction layer. The white lines indicate the adhesive layer. The yellow lines indicate the hybrid layer. The blue stars indicate the reaction layer.

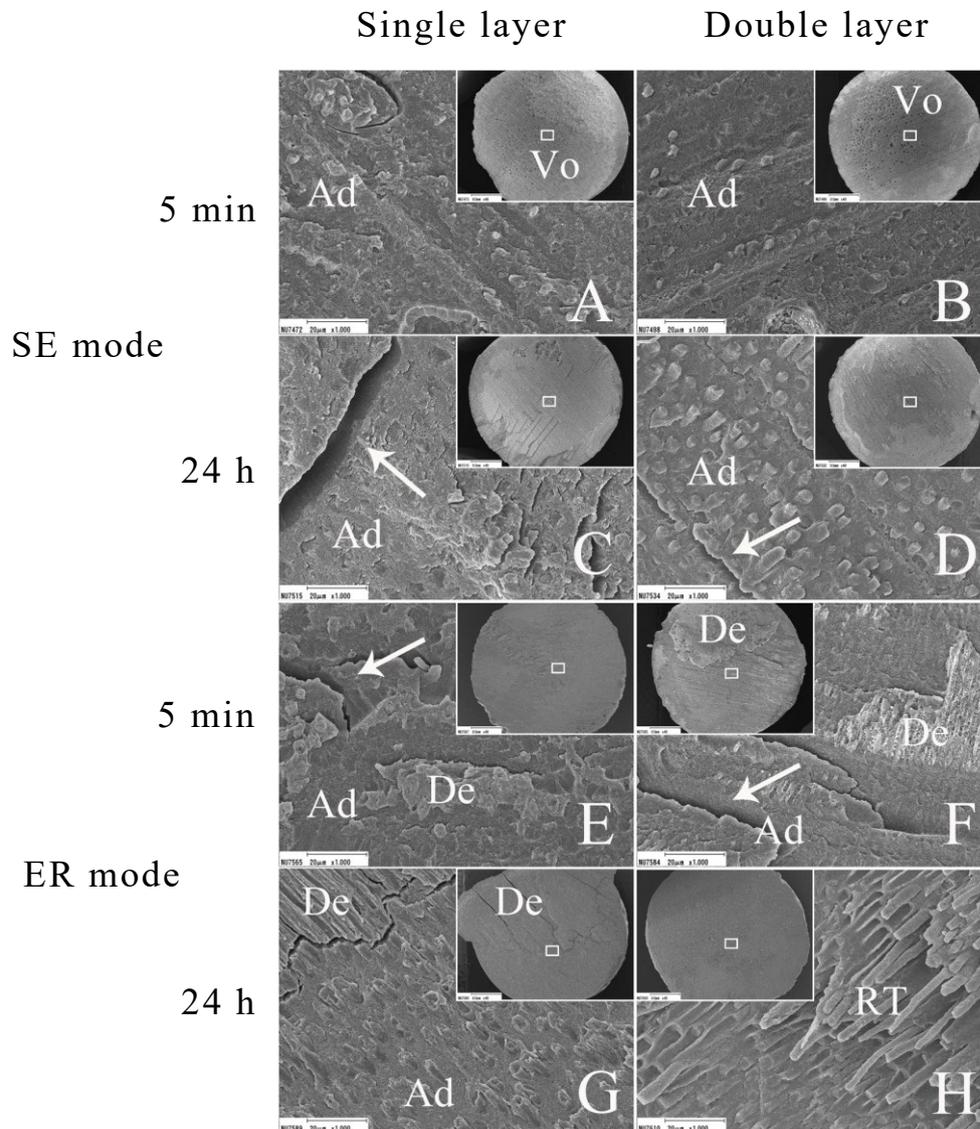


Fig. 7. Representative debonded failure sites in SUB.

A. Single-layer application in SE mode at 5 min (40× and 1,000×).

B. Double-layer application in SE mode at 5 min (40× and 1,000×).

C. Single-layer application in SE mode at 24 h (40× and 1,000×).

D. Double-layer application in SE mode at 24 h (40× and 1,000×).

E. Single-layer application in ER mode at 5 min (40× and 1,000×).

F. Double-layer application in ER mode at 5 min (40× and 1,000×).

G. Single-layer application in ER mode at 24 h (40× and 1,000×).

H. Double-layer application in ER mode at 24 h (40× and 1,000×).

Ad, adhesive; De, dentin; RT, resin tag; Vo, void. The arrows indicate cracks and cleavages.

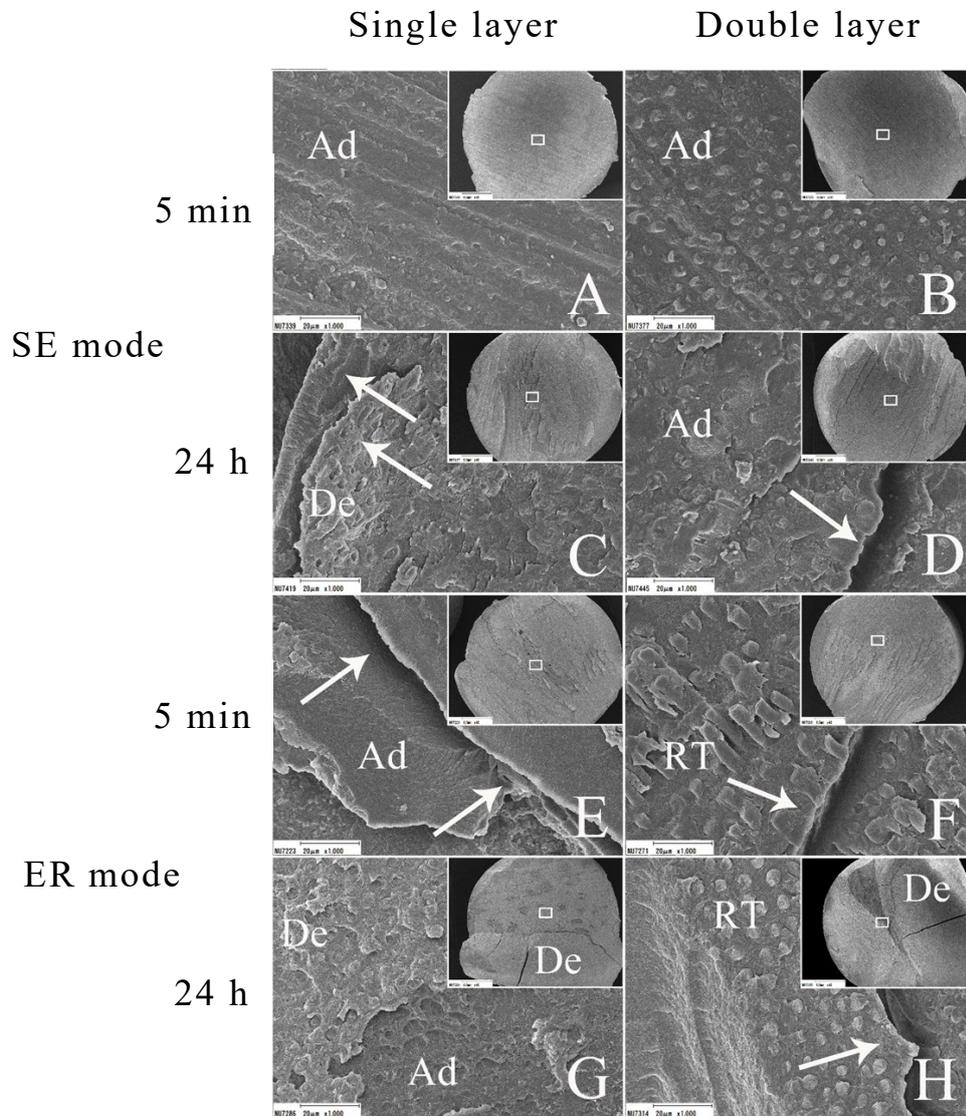


Fig. 8. Representative debonded failure sites in CSE.

A. Single-layer application in SE mode at 5 min (40× and 1,000×).

B. Double-layer application in SE mode at 5 min (40× and 1,000×).

C. Single-layer application in SE mode at 24 h (40× and 1,000×).

D. Double-layer application in SE mode at 24 h (40× and 1,000×).

E. Single-layer application in ER mode at 5 min (40× and 1,000×).

F. Double-layer application in ER mode at 5 min (40× and 1,000×).

G. Single-layer application in ER mode at 24 h (40× and 1,000×).

H. Double-layer application in ER mode at 24 h (40× and 1,000×).

Ad, adhesive; De, dentin; RT, resin tag. The white arrows indicate cracks and cleavages.