



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	次亜塩素酸ナトリウム処理時間が4-META/MMA-TBBレジンセメント接着に及ぼす影響とCPN及びアクセル処理併用時の影響
Author(s)	鈴木, 一矢
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15006号
Issue Date	2022-03-24
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k15006
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89275
Type	doctoral thesis
File Information	Kazuya_Suzuki.pdf



博士論文

次亜塩素酸ナトリウム処理時間が
4-META/MMA-TBBレジンセメント接着に及ぼす影響と
CPN及びアクセル処理併用時の影響

令和4年3月申請

北海道大学
歯学院口腔医学専攻

鈴木 一 矢

表題

次亜塩素酸ナトリウム処理時間が4-META/MMA-TBBレジンセメント接着に及ぼす影響とCPN及びアクセル処理併用時の影響

抄録

4META/MMA-TBB系レジンセメントは、NaOCl処理により象牙質に対する接着強さが低下することは周知の事実である。しかしながら、歯面処理剤（アクセル、サンメディカル社製）による歯面処理や白金ナノコロイド（CPN、アプト社製）による歯面処理を行う事で、接着強さがNaOCl未処理象牙質と同等またはやや増強される可能性がある事が示唆されている。一般的な根管洗浄における、NaOClの理想的な使用方法には根管内でNaOClの温度を上げる方法や超音波チップを利用して象牙質へのNaOClの浸透を促進させる方法などがあるが、いずれの方法においても数分から数十分の処理時間が推奨されている。

本研究では、化学重合型接着性レジンセメントである4META/MMA-TBB系レジン（スーパーボンドC&B、サンメディカル社）を用い、10%NaOCl（ネオクリーナー『セキネ』（ネオ製薬工業））にて様々な作用時間で象牙質処理を行い象牙質接着強さへの影響を検討した。次いで、10%NaOCl処理の後アクセル及びCPNによる処理をした際の、象牙質とスーパーボンドC&Bとの接着強さも測定した。なお、接着試験は微小引張り試験（ μ -TBS）により行なった。結果として10%NaOCl20分処理後のスーパーボンドの象牙質接着強さはコントロールに比べて有意に接着強さは低下した。この時Accel処理ではスーパーボンドの接着強さはコントロールと同等に回復した。CPN処理では、コントロールより高い接着強さが得られた。

緒言

歯科用材料の進歩の著しい昨今、注目されている科学技術の一つにナノテクノロジーがある。ナノテクノロジーとは、ナノスケール（ 10^{-9} m）に近いサイズの材料に関する技術を指すことが多く、製品に新しい機能や性質を与える有益な技術と考えられており今後の研究が必要な分野であると言われている1) 2) 3)。

近年、ナノテクノロジーは薬品や化粧品をはじめ種々の業界において応用されている。薬学の世界においてはDDS（Drug Delivery System）への応用が盛んに行われ、その進歩を工学が支える形で進化が続いている4)。歯科材料においても、ナノテクノロジーを応用した製品は多数販売されている。代表的にはインプラント表面処理やコンポジットレジンのフィラーに用いられ、根管治療への応用などが模索されている5) 6)。その中でも、宮本らの開発したプラチナナノコロイド（Colloidal Platinum Nanoparticles;CPN）は、粒径約2nmのプラチナ粒子の全周をクエン酸ナトリウムなどでコーティングすることでコロイド化された機能性素材であり、高い還元作用と触媒作用及び活性酸素を抑える働きがあることが報告されている7) 8) 9)。活性酸素とは、人体に取り込まれた酸素が外部刺激を受け、反応性の高い活性酸素に変化することで生じる物質である。活性酸素は、細胞伝達物質や免疫機能として働く一方、過剰な産生は細胞を傷害し、がん、心血管疾患ならびに生活習慣病など様々な疾患をもたらす要因となる12)。歯科治療においても、活性酸素が発生する機会は多く、ホワイトニングに用いられる過酸化尿素と過ホウ酸ナトリウムとの練和や根管治療時の洗浄に用いられる次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素による洗浄においても発生する。また、例に挙げた次亜塩素酸ナトリウムによる処理は、根管治療に

頻回に使用されるにも関わらず、象牙質接着に対しても悪影響を及ぼす事がわかっており、4-META/MMA-TBB系レジンセメントであるスーパーボンドC&B（以下SBと表記する）の添付文書にも15秒以上の使用は控えるよう記載がある10) 11)。一般的な根管洗浄における、NaOClの理想的な使用方法には根管内でNaOClの温度を上げる方法や超音波チップを利用して象牙質へのNaOClの浸透を促進させる方法などがあるが、いずれの方法においても数分から数十分の処理時間が推奨されている。それにも関わらず、歯内療法に関わる文献では根管内の洗浄に用いる次亜塩素酸ナトリウムは15-20分使用下における成績が良好とされている13) 14)。上記の事を踏まえると、適切に根管治療を行った場合に適切な接着性を有したSBによる支台築造や合着が困難になってしまう事が考えられる15) 16)。

そこで今回の研究中では、まず10%NaOClの作用時間とSBの接着強さに及ぼす影響を検討し、次いでと生じた影響を抗酸化作用を有するアクセルとCPNを用い10%NaOClによる接着への影響を軽減できないか検討した。

材料および方法

本研究では北海道大学大学院歯学研究院臨床・疫学研究倫理審査委員会の承認（2018第9号）に基づいて集められたヒト抜去臼歯を用い、接着剤としてはSB、根管洗浄剤としては10%NaOCl、抗酸化作用を有する歯面処理材としてアクセル及びCPNを用いた（表1）。なお、ヒト抜去臼歯は抜歯後無処理で即時冷凍し2週間から半年以内に使用した。

試料作成の手順を図1に示す。

まず、ヒト抜去臼歯40本を無作為に10グループに分けた。次に、全ての群において、咬合面からモデルトリマーを用いて注水下にて歯冠中央象牙質を露出させ、#600の耐水研磨紙で注水下にて1分間研磨し接着面とした。次に、歯質を表面処理剤グリーン（サンメディカル）で10秒間エッチングし、流水で20秒水洗後、エアーで乾燥した。

まずコントロール群として、混合法にてスーパーボンドで直径10mm、高さ5mmのアクリルロッドに接着した。

次いでグリーン処理・水洗乾燥後、10%NaOClでそれぞれ15秒、5分、10分、15分、20分間処理した。流水での20秒水洗、エアーでの乾燥の後コントロール群同様に接着した群をそれぞれ10%NaOCl15秒群、10%NaOCl5分群、10%NaOCl10分群、10%NaOCl15分群、10%NaOCl20分群の5群とした。

更に、グリーン処理・水洗乾燥後、10%NaOClで15秒または20分処理し、流水で20秒水洗、エアーでの乾燥後、CPNで30秒処理した。これをエアーで乾燥後、同様にアクリルロッドを接着した群をそれぞれ10%NaOCl15秒-CPN群、10%NaOCl20分-CPN群の2群とした。

最後に、グリーン処理・水洗乾燥後、10%NaOClで15秒または20分処理の後、アクセルで10秒間処理・エアー乾燥した。その後同様に、アクリルロッドを接着した群をそれぞれ10%NaOCl15秒-Accel群、10%NaOCl20分-Accel群の2群とした。

いずれの群においてもSBの硬化を6分待ち、硬化後は37.0℃の水中で24時間保存した。

微小引張り試験を行うために、各群の試料を低速切断装置（Isomet, Buehler）を使用し被着面積が約1mm²のビーム型試料を切り出した。小型卓上試験機（EZ-TEST, 島津製作所製）を用いて、クロスヘッドスピード1.0mm/分でそれぞれ微小引張り試験を行った。その数値に分散分析（one-way ANOVA及びtwo-way ANOVA）の後、Tukey HSD検定にて統計処理を行い接着強さを比較した。

微小引張り試験後の破断面はイオンスパッター装置 (E-1030, 日立製) にて120秒Pt-Pd蒸着し, 走査型電子顕微鏡 (S-4000, 日立製) で加速電圧10Kvにて観察した。

接着界面の試料はIsometを用いて接着界面に垂直に切断し, 耐水研磨紙で # 600, # 800, # 1000の順に研磨した。更に6 μm , 3 μm , 1 μm のダイヤモンドペースト (DP-ペースト, ストルアス社) で順に研磨した。超音波洗浄の後, 1 mol/L塩酸で30秒処理・5 %NaOCl 5分浸漬し蒸留水で洗浄した。24時間乾燥後に120秒Pt-Pd蒸着し, 走査型電子顕微鏡 (SEM) で加速電圧5 Kvにて観察した。

結果

接着試験の結果を図2, 3に示す。

図2からControl群, 10%NaOCl15秒群, 10%NaOCl5分群, 10%NaOCl10分群間でそれぞれ有意差が認められず, 10%NaOCl15分群, 10%NaOCl20分群間でも有意差が認められなかった ($P>0.05$)。それに対してControl群, 10%NaOCl15秒群, 10%NaOCl5分群, 10%NaOCl10分群の4群と10%NaOCl15分群, 10%NaOCl20分群の2群の間で有意差が認められた ($P<0.05$)。

図3から10%NaOCl20分処理した群においてはいずれの群と比べても有意に低い接着強さを示した ($P<0.05$)。また, 10%NaOCl15秒群, 10%NaOCl15秒-Accel群, 10%NaOCl15秒-CPN群, 10%NaOCl20分-Accel群ではそれぞれ有意差は認められなかった ($P>0.05$)。10%NaOCl20分-CPN群においては全ての群に対して有意に高い接着強さを示した ($P<0.05$)。

接着界面のSEM像を図4に示す。

コントロール群では, 硬化したレジン層の下に厚さおよそ3 μm の樹脂含浸層が観察された。樹脂含浸層の直下に直径1.5 μm 程の側枝を有するレジントグが認められた。10%NaOCl15秒群では, 2.5 μm 程の樹脂含浸層が見られ, 所々の硬化したレジンとの間のギャップが認められた。1.5から2.0 μm 程のレジントグが見られ側枝は観察されなかった。10%NaOCl15秒-CPN群では, 1 μm 程の樹脂含浸層が観察され, 硬化したレジンとの間のギャップは認められなかった。1.5 μm 程のレジントグが認められた。10%NaOCl15秒-Accel群では, 1.5 μm 程の樹脂含浸層が認められ, 硬化したレジンとの間のギャップは認められなかった。10%NaOCl20分群では1.5 μm 以下の樹脂含浸層と思われる層があるが硬化したレジンとの間のギャップは認められなかった。レジントグの基部は3 μm 程の直径を示しており, 全体にタグの長さは短かった。10%NaOCl20分-Accel群では1.5 μm 程の樹脂含浸層が認められ, 硬化したレジンとの間にギャップは認められなかった。形成されたレジントグは短く, その基部は0.5 μm 程であった。10%NaOCl20分-CPN群では樹脂含浸層の形成は不明瞭であった。レジントグは長く形成され, その太さは1.5 μm 程度であり, その基部は直径3 μm 程であった。10%NaOCl5分群では2 μm 程の樹脂含浸層が形成されその上部にギャップはないものの若干のくぼみが形成され硬化したレジンに繋がっていた。レジントグの直径は1から1.5 μm 程で滑沢な表面性状を示し, その基部は4 μm 程であった。10%NaOCl10分群では, 2 μm 程の樹脂含浸層が形成されその上部にギャップはないものの若干の窪みが形成されていた。この窪みは10%NaOCl5分群に比べて深く広く見えた。レジントグの直径は1から1.5 μm 程でやや粗造な表面性状を呈し, その基部は4 μm 程であった。10%NaOCl15分群では, 2 μm 弱の樹脂含浸層が形成されその上部にギャップはないものの10%NaOCl10分群と比べて更に広く深い窪みが形成されていた。レジントグの直径は1から1.5 μm 程で10%NaOCl10分群に比べ更に粗造な表面性状を呈し, その基部はその長さは短く観察された。

図5に接着試験後の象牙質側破断面のSEM像を示す。コントロール群は、レジン内の凝集破壊の像を示していた。象牙細管に連なる気泡状の構造物あるいは気泡が破断したような構造物が見られた。10%NaOCl15秒群は象牙質面上でのレジンの凝集破壊と樹脂含浸層上部と思われる部分での破壊が認められた。コントロール群と比べて、気泡状の構造物は少なかった。10%NaOCl15秒-CPNでは樹脂含浸層上部と思われる部分での破壊が主体であった。象牙細管に連なり気泡状の破壊像が認められた。10%NaOCl15秒-Accelでは、象牙質面上でのレジンの凝集破壊と樹脂含浸層上部と思われる部分での破壊が認められた。10%NaOCl15秒-CPN群と比べると、樹脂含浸層の更に上部での破壊であるように観察された。コントロールと比べると気泡状の構造物は少なかった。10%NaOCl20分群では、象牙細管構造が見えず薄片状のレジンの凝集破壊の像であった。また気泡状の構造物も見られなかった。10%NaOCl20分-CPN群では、樹脂含浸層上部で破断したような像が認められた。一部にレジんでコーティングされた繊維状の構造物が認められた。象牙細管は、レジntagで完全に封鎖されていた。10%NaOCl20分-Accel群では、ほとんどの部分でレジン内部での破壊が認められた。所々で象牙細管の構造が観察され、その細管に連なって気泡状の構造物が形成されていた。10%NaOCl5分群では、樹脂含浸層上部の破壊とレジンの凝集破壊が混在しているがレジンの凝集破壊が優位であった。象牙細管状構造物は所々で散見された。10%NaOCl10分群では、樹脂含浸層上部とレジンの凝集破壊を伴う混合破壊であった。10%NaOCl5分群と比較すると象牙細管がはっきりと観察されレジntagも観察された。10%NaOCl15分群では樹脂含浸層上部の破壊が主体であって、象牙細管構造は10%NaOCl10分群と比較してかなりはっきりしていて、菅間象牙質部には切削条痕が認められた。

考察

今回の結果から10%NaOCl処理は10分までは接着強さに関して有意差がなく、15分以上のNaOCl処理を行う事で影響が出るものと考えられる。

10%NaOCl15秒の短時間処理ではコントロールとの有意差がなく、したがってアクセセルとCPNの影響もないものと考えられる。

10%NaOCl20分の長時間処理に対するアクセセル及びCPNは、アクセセル処理でコントロールと同程度の接着強さに回復した。CPN処理では優位に高い接着強さを示した。

10%NaOCl単独で処理時間を変えた群においては、処理時間15秒から10分まではSEM像においてレジンの凝集破壊が多かった。このことから、レジン硬化体の強さ硬さに関しても10%NaOClが及ぼす影響が少ない可能性がある。将来的には重合度や硬さを調べる必要がある。処理時間15分、20分と時間が伸びるにつれ界面破壊が増加する傾向があり、15分では薄片状の凝集破壊も認められた。このことから界面の物性・機械的強度が低い可能性があるため、追加実験にて新たな情報が得られると思われる。

アクセセルを使用した2群とCPNを使用した2群の接着界面のSEMを見ると、 μ -TBSで大きな差はないがアクセセル使用群はレジン凝集破壊が多いことから、アクセセルはレジンの重合促進に作用している可能性がある。CPN使用群は樹脂含浸層上部での破壊が多いことから、樹脂含浸層に対する浸透性を高める事で作用している可能性がある。

アクセセルを使用した2群とCPNを使用した2群の破断面のSEMを見ると、アクセセルを使用した群ではレジンの凝集破壊が主体であるため、接着界面同様レジンの重合度をあげるように作用している可能性が考えられる。CPNを使用した群ではレジン象牙細管内に多く残存し複合的に破壊しているように見られる。引張り強さにおいても10%NaOCl20分-CPN群は有意に高いことから、CPNは10%NaOClの影響を結果的にほぼ無くしたとも考えられる。その要因としては、抗酸

化作用で重合阻害が減少した可能性, 10%NaOClの影響をクリアーしたためレジン硬化体の機械的強度が高かった可能性が考えられる。加えて、CPNを使用する事でレジンの象牙細管内への浸透能力が上がる可能性, 重合度を向上させる可能性, 界面強度をあげる可能性が考えられる。

以上のことから, 今後アクセルやCPN使用時の重合度や機械的特性, レジンの浸透を検証する必要があると考えられる。

結論

ヒト象牙質に対して, 15分以上の10%NaOCl処理を行う事で接着強さは有意に低下し, 20分間の10%NaOCl処理後にアクセルを使用する事で接着強さはControl群と有意差の認められない程度まで回復し, CPNを使用する事で有意差の認められる程度まで回復する事が示唆された。

文献

- 1) 文部科学省 ナノテクノロジープラットフォーム事業 : https://www.nanonet.go.jp/pages/about_nanotech/about.html
- 2) 農林水産省消費安全政策課 : <https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/training/pdf/081225d.pdf> 最終更新日2008年12月25日.
- 3) 文部科学省 : https://www.mext.go.jp/kids/find/kagaku/mext_0010.html 最終訪問日2021年11月5日
- 4) 井藤彰 <ドラッグデリバリーの体外からのコントロール>交流磁場照射による磁性ナノ粒子の発熱を引き金とした遺伝子発現システムの開発. Drug Delivery System 2021;36-3:175-18
- 5) 會田英樹, 河野舞, 豊下祥史, 小川隆広, 越野寿 : ナノ表面制御によるチタンインプラントの最適化. 北医大歯学誌 2011;30:1-8
- 6) 岩村秀 監修, 廣瀬千秋翻訳 : ナノ粒子科学—基本原理から応用まで—. 181-194, NTS, 東京, 2007.
- 7) Lin, C.S., Khan, M, R., Lin S.D.: The preparation of Pt nanoparticles by methanol and citrate. J colloid Interface Sci. 299 : 678-685, 2006.
- 8) Kajita, M., Hikosaka, K., Iitsuka, M., Kanayama, A., Toshima, N., Miyamoto, Y. : Platinum nanoparticle is a useful scavenger of superoxide anion and hydrogen peroxide. Free radic Res., 41:615-626, 2007.
- 9) Kim, J., Takahashi, M, . Shimizu, T, .Shirasawa, T., Kajita, M., Kanayama, A., Miyamoto, Y.: Effect of a potent antioxidant, platinum nanoparticle, on the lifespan of Caenorhabditis elegant. Mech Aging Dev., 129:322-331, 2008.
- 10) サンメディカル : <https://www.sunmedical.co.jp/support/catalog/pdf/superbond.pdf> : 最終更新日2017年8月29日
- 11) ネオ製薬工業株式会社 : <https://www.neo-dental.com/prd/pdf/NC.pdf>
- 12) 厚生労働省 <https://www.e-healthnet.mhlw.go.jp>
- 13) 長谷川篤司, 木下潤一郎 : 根管洗浄の現状—根管治療の成功率を上げるために—. Dental Medicine Research 29 (2) :169-175, 2009
- 14) 一般社団法人日本歯内療法学会 訳 : AAEガイドライン2017, 治療スタンダード : <http://www.jea.gr.jp/guide/image/AAEGuideline2017/24.pdf>
- 15) 柏田聰明. 接着技法を応用した新しい歯科治療の展開. 補綴誌41: 747-762, 1994.

1 6) Kashiwada T. In vivo bond strength of a new dental adhesive to dentin. J Dent Res 72 (Special issue) : IADR Abstract No.2222, 1993.

表1:使用材料とその成分

材料名		成分	製造業者
表面処理材グリーン		クエン酸, 塩化第二鉄, 水, 他	サンメディカル
スーパーボンドC&B (SB)	モノマー カタリストV ポリマー	MMA, 4-META, 他 トリ-n-ブチルホウ素部分酸化物, 他 PMMA, 他	サンメディカル
ネオクリーナー		10%NaOCl	ネオ製薬工業
アクセル		エタノール, 水, 芳香族スルフィン酸塩	サンメディカル
CPN		白金, 水, 他	アプト

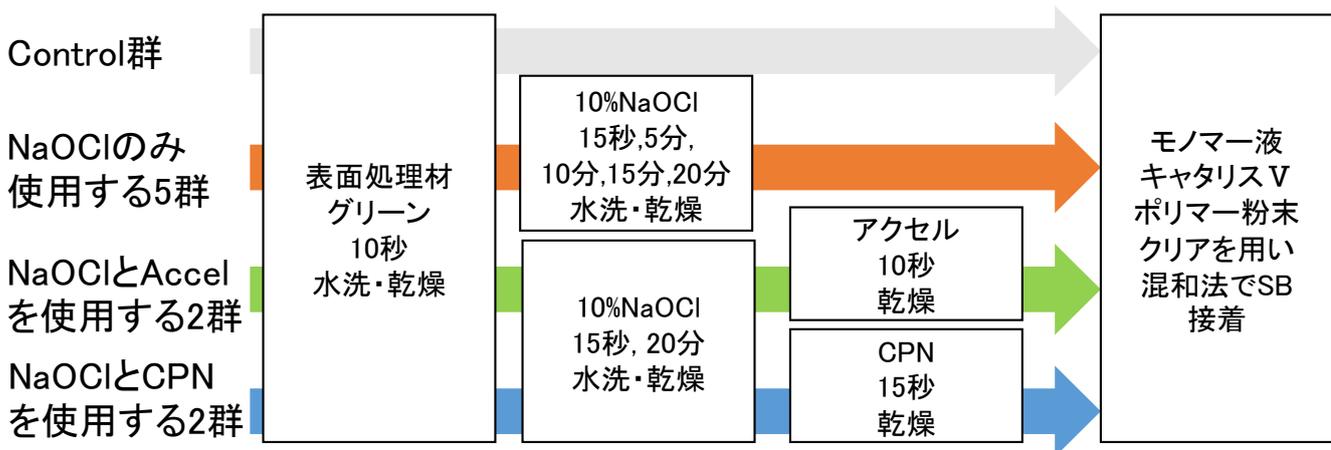


図1:各群の処理手順

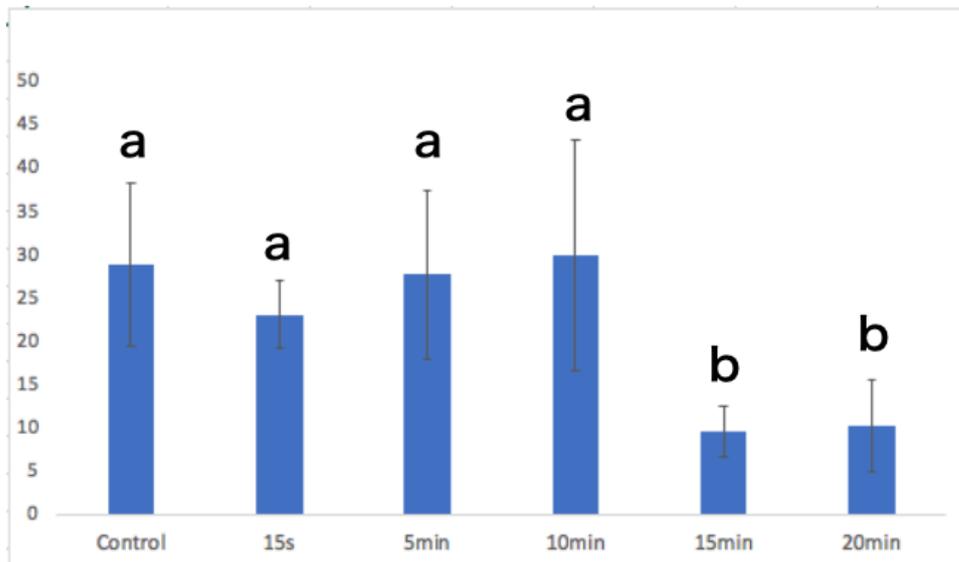


図2:還元剤未使用時の接着強さ
異なるアルファベット間において有意差が認められる。

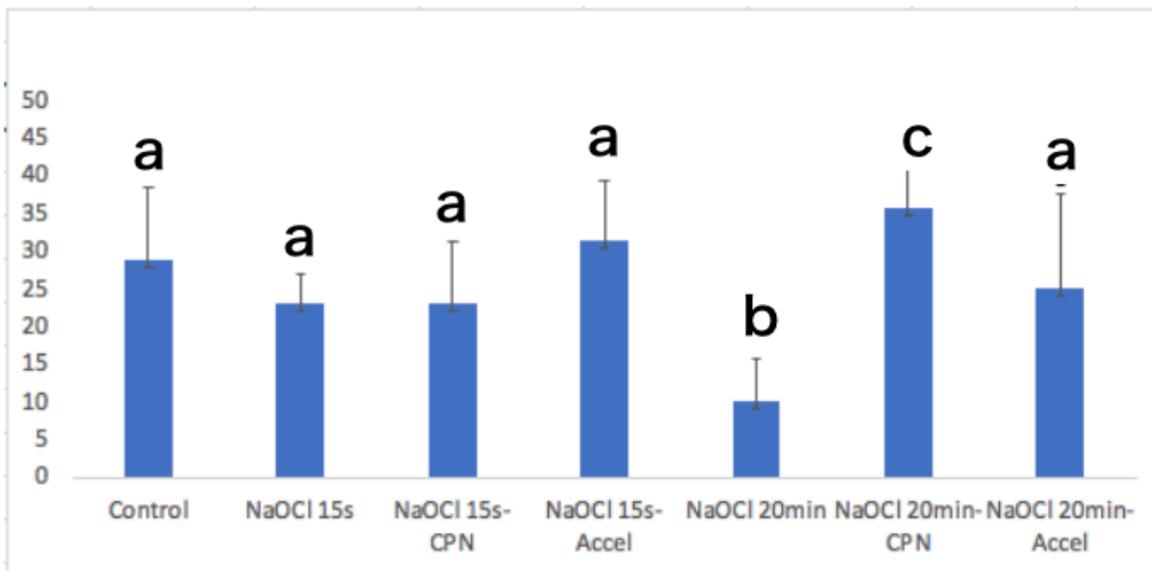


図3:還元剤使用時の接着強さ
異なるアルファベット間において有意差が認められる。

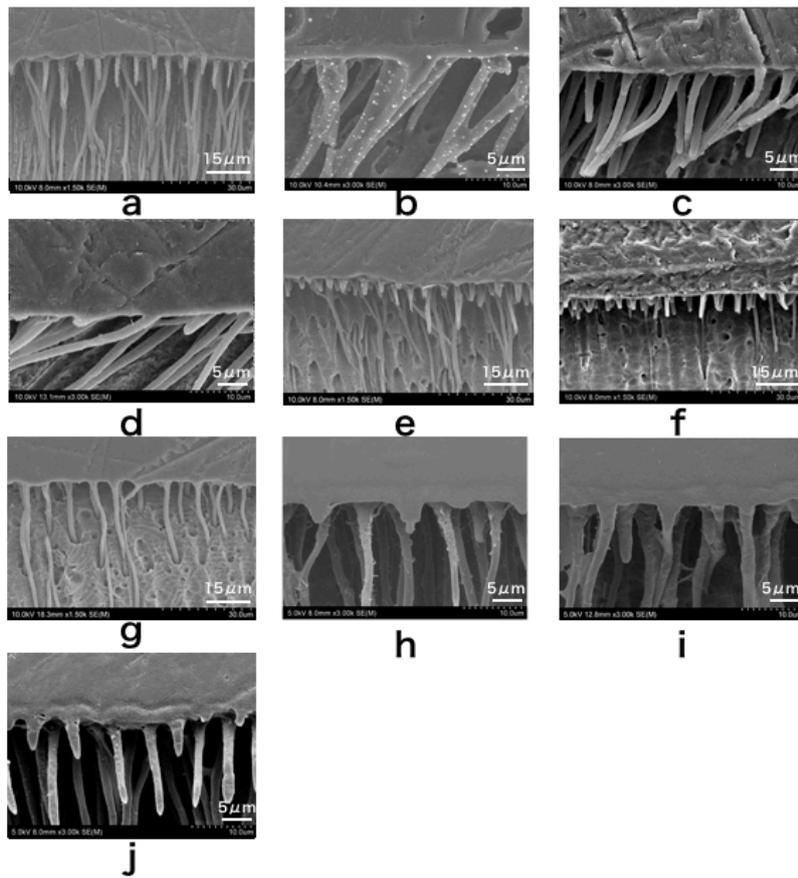


図4:接着界面のSEM像

a.Control b.10%NaOCl15sec c.10%NaOCl15sec-CPN d.10%NaOCl15sec-Accel
 e.10%NaOCl20min f.10%NaOCl20min-CPN g.10%NaOCl20min-Accel
 h.10%NaOCl5min i.10%NaOCl10min j.10%NaOCl15min

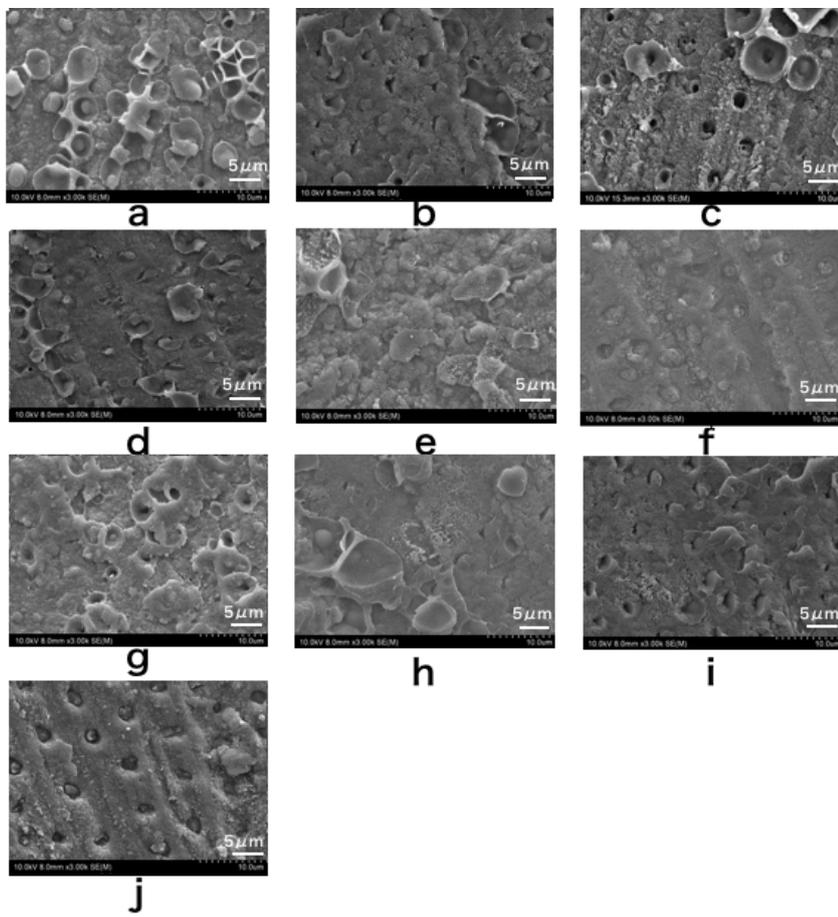


図5:破断面のSEM像

a.Control b.10%NaOCl15sec c.10%NaOCl15sec-CPN d.10%NaOCl15sec-A
e.10%NaOCl20min f.10%NaOCl20min-CPN g.10%NaOCl20min-Accel
h.10%NaOCl5min i.10%NaOCl10min j.10%NaOCl15min

