

原子間力顕微鏡による歯質エッチングプロセスの定量解析

学位論文内容の要旨

緒言

接着修復において酸処理は不可欠の操作である。従来の酸処理の研究は接着界面のSEMによる観察が多く、この方法では脱水、蒸着などの前処理による形態変化の可能性や、酸処理の連続的な観察が不可能などの欠点がある。したがって経時的変化を観察するためには各処理時間ごとに試料を作製せねばならない。この場合、部位による試料間の差を考慮する必要がある。原子間力顕微鏡(以下AFM)は従来の顕微鏡では不可能であった無処理試料の液中観察が可能であり、著者は酸処理液中における歯面の形態変化をAFMで連続的に観察し、その可能性を示唆した。更に脱灰過程を定量的に解析することができれば、接着における酸処理の最適条件を求め、接着の解明に寄与すると考えられる。本研究ではAFMを用いて各種酸処理液による形態変化、その過程の定量解析を同一試料、同一部位について比較、検討を行った。

材料と方法

試料としてヒト抜去歯および焼結ハイドロキシアパタイト(以下HAP)を使用した。観察面はエナメル質では上顎中切歯唇面を、象牙質では大臼歯を歯軸と垂直に切断し、耐水ペーパーで#2000まで荒研磨、次いでアルミナ懸濁液で0.05 μm まで鏡面研磨した。研磨後、3×3mmの観察試料4個を得た。酸処理液としては10%クエン酸、2%リン酸、10%ポリアクリル酸を用いた。観察は以下のように行い、各条件につき5試料ずつ行った。

1. 観察1-処理液中連続観察-

AFMはTMX-2000型Explorer(TopoMetrix社)を用いた。処理前に大気中、水中で観察し、次いで特定部位の断面プロファイルの経時的変化を観察する連続プロファイルで酸処理後3分まで連続観察した。処理後、再び水中でAFM観察した。

2. 観察2-水中・処理液中連続観察-

処理前後の観察は観察1と同様である。連続プロファイルは水中で開始し、1分後、走査を継続したまま水から酸処理液に交換し、処理後2分まで行った。試料はエナメル質を用い、試料の仕上げ研磨状態の比較のためクエン酸処理については鏡面研磨と#2000までの荒研磨の2種の試料を用いた。

観察1、2で得られた連続プロファイル像より脱灰深さ、Ra、脱灰速度を求めた。

結果および考察

1. 観察1-処理液中連続観察-

10%クエン酸処理エナメル質ではエナメル小柱体部で変化が大きいが周辺部は少なく、処理前に21nmであったRaは3分後には66nmとなった。2%リン酸では1分30秒後までは小柱体部の変化が大きく周辺部は少なかったが、その後は周辺部、体部共に脱灰された。10%ポリアクリル酸による変化は僅かだった。

象牙質は管周象牙質で速やかに変化し象牙細管が拡大した。しかし象牙細管の

ように細く深い部位ではAFMのチップが届かず本来の形態を表しているかは不明であり、脱灰深さは管間象牙質のみを測定している。

各条件における脱灰深さはエナメル質、HAPでは直線状に変化した。象牙質では時間と共に変化が小さくなった。3分間の変化が最も大きい2%リン酸処理エナメル質の脱灰深さは814nmであった。処理液が同一の場合、脱灰深さは大きい順からエナメル質、HAP、象牙質であり、10%クエン酸処理における脱灰速度はエナメル質で156nm/min、HAPで96nm/min、象牙質では平均68nm/minであった。同一試料の脱灰深さは大きい順に2%リン酸、10%クエン酸、10%ポリアクリル酸であり、エナメル質の脱灰速度はリン酸で265nm/min、クエン酸で156nm/min、ポリアクリル酸で51nm/minであった。

2. 観察2-水中・処理液中連続観察-

連続プロファイル像の最初の1分は水中で、その間に変化は無い。水から処理液に交換後、一様な段差が生じ、その後は観察1と同様に形状変化が生じた。10%ポリアクリル酸では液交換後のノイズが終息せず、観察は不可能であった。

試料の仕上げ研磨状態の比較では、処理前のRaは鏡面研磨では20nmであったが荒研磨では216nmと大きかった。処理3分後では鏡面研磨で176nm、荒研磨で322nmとなった。

脱灰深さ変化は全ての試料について処理後30秒までは大きく変化し、その後は直線状になった。処理後30秒までの変化が大きいのはスメア層の溶出と考えられる。試料の脱灰変化を一定とした場合、深さ変化の直線部分を0分に内挿した点がスメア層の厚さと推定され、クエン酸処理した荒研磨試料では271nmと鏡面研磨試料の43nmと比べて大きかった。

脱灰速度はリン酸で420nm/minと大きい。クエン酸処理では鏡面研磨試料は262nm、荒研磨試料では245nmであり同程度であった。

結論

本研究により以下の結論が導かれた。

1. 同一試料、同一視野における液中観察を連続的にを行い、その変化過程を定量的に評価することを可能とした。
2. 連続プロファイルにより、各処理時間における深さの関係を明らかにした。
3. 脱灰の進行を脱灰深さ、脱灰速度、表面あらさ、スメア層の厚さ等の数値で評価した。
4. 脱灰速度は処理液では大きい順から2%リン酸、10%クエン酸、10%ポリアクリル酸で、試料ではエナメル質、HAP、象牙質の順であった。また仕上げ研磨状態の違いによる差はなかった。
5. スメア層の厚さは鏡面研磨試料と比較して荒研磨試料では大きかった。
6. AFMにより数 μm ~nmのミクロな領域における形態変化観察と定量解析より、最適な酸処理条件と接着の解明の一助となることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 下河邊 宏 功
副 査 教 授 亘 理 文 夫
副 査 教 授 内 山 洋 一

学 位 論 文 題 名

原子間力顕微鏡による歯質エッチングプロセスの定量解析

審査は主査、副査全員によって口頭でなされた。始めに申請者に対し本論文の概要について説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

申請者は従来の顕微鏡では不可能であった無処理試料の液中観察が可能である原子間力顕微鏡（以下AFM）を用いて酸処理液中における歯面の形態変化の連続観察について報告した。その結果さらに脱灰過程を定量的に解析することができれば、接着における酸処理の最適条件を求め、接着機構の解明に寄与すると考えた。そこで本研究ではAFMを用いて各種酸処理液中における経時的形態変化について同一試料、同一部位についての定量解析の可能性を検討した。

試料としてヒトエナメル質、象牙質および焼結ハイドロキシアパタイト（以下HAP）を使用した。観察面を耐水ペーパーで#2000まで荒研磨、次いでアルミナ懸濁液で $0.05\mu\text{m}$ まで鏡面研磨した。研磨後、1歯より $3\times 3\text{mm}$ の観察試料4個を得た。酸処理液として10%クエン酸、2%リン酸、10%ポリアクリル酸を用いた。AFM観察は以下の手順で行い、各条件につき5試料ずつ行った。

1. 観察1 - 処理液中連続観察 -

AFMはTMX-2000型Explorer(TopoMetrix社)を使用した。処理前に大気中、水中で観察し、次いで酸処理液注入後、直ちに特定部位の断面プロファイルの経時的変化を観察する連続プロファイルで酸処理後3分まで連続観察した。処理後、再び水中でAFM観察した。

2. 観察2 - 水中・処理液中連続観察 -

観察法は観察1に準じて行った。連続プロファイルは水中で開始し、走査を継続したまま水から酸処理液に交換し、処理後2分まで行った。試料はエナメル質を用い、試料の仕上げ研磨状態の影響を調べるためクエン酸処理については鏡面研磨と#2000までの荒研磨の2種の試料を用いた。

観察1、2で得られた連続プロファイル像より脱灰深さ、Ra、脱灰速度を求め、以下の結果を得た。

1. 観察1の結果

エナメル質の変化はいずれの酸処理液でもエナメル小柱体部で大きく周辺部では少なかった。エナメルロスは2%リン酸では大きく、10%クエン酸、10%ポリアクリル酸による変化は少なかった。

象牙質では管周象牙質の脱灰が大きく象牙細管が拡大した。しかしAFMの特性上から象牙細管内部の形態に関する情報は得られなかった。

脱灰深さの変化はエナメル質、HAPでは直線状に変化したが象牙質では時間と共に変化が小さくなった。10%クエン酸処理の場合、脱灰速度は大きい順からエナメル質(156nm/min)、HAP(96nm/min)、象牙質(平均68nm/min)で、他の2種の酸でも同様の順であった。エナメル質の脱灰速度は大きい順に2%リン酸

(265nm/min)、10%クエン酸(156nm/min)、10%ポリアク
リル酸(51nm/min)で、他の2種の試料でも同様だった。最も変
化の大きい2%リン酸処理エナメル質の3分後の脱灰深さは814nm
であった。

2. 観察2の結果

観察1ではAFM走査開始までに時間を要し、酸処理開始時点から
の計測は不可能であった。そこで観察2ではAFM走査開始後に水か
ら処理液に交換する方法を工夫することで解決した。

水中における連続プロファイル像には変化が無い。水から処理液
に交換後、一様な段差が生じ、その後は観察1と同様に形状変化が
生じた。10%ポリアクリル酸では液交換後のノイズが終息せず、
観察は不可能であった。

Raは処理前の鏡面研磨では20nmであったが荒研磨では216nmと
大きく、酸処理の経過に伴い、元の起伏に応じて体部と周辺部の変
化が生じていた。

10%クエン酸、2%リン酸ともに処理後30秒までの脱灰深さ変
化が30秒以後と比較して大きかった。これはスメア層の溶出によ
ると考えられる。試料自体の脱灰変化を一定とした場合、直線部分
を0分に内挿した点がスメア層の厚さと推定され、クエン酸処理し
た荒研磨試料では271nmと鏡面研磨試料の43nm、リン酸処理(鏡
面研磨試料)の89nmと比べて大きく、研磨が粗いほどスメア層が
厚いと考えられた。

脱灰速度については鏡面研磨試料のクエン酸処理では
262nm/min、荒研磨試料では245nm/minと試料の仕上げ研磨状
態に関わらず同程度であった。リン酸処理では420nm/minと大き

な値を示した。

以上の論文内容について方法、結果、展望について種々質問がされた。これに対し申請者はよく理解しており明快な解答が得られた。本研究は連続観察と同時に定量解析を可能とし、今後の接着の解明や最適な酸処理条件の設定に寄与すると考えられ、また保存修復領域のみならず様々な研究における応用が示唆された。以上から申請者は博士（歯学）の学位を授与されるに十分値するものと認められた。