

学 位 論 文 題 名

原子間力顕微鏡による光硬化型ガラスアイオノマーセメント

－象牙質接着界面の形状解析

学位論文内容の要旨

現在、接着界面の観察では SEM や TEM が用いられているが、これらの観察法では、試料が乾燥、蒸着あるいは包埋、染色等の前処理や観察時の真空環境の影響を受ける。特にガラスアイオノマーセメントの場合には乾燥等による収縮や亀裂の発生が問題となる。近年開発された原子間力顕微鏡 (AFM) は試料の前処理が不要で、大気中ばかりでなく水中での「その場観察」が可能である。さらに、三次元分析やライン分析による形状解析が容易に行うことができ、界面の定量的な解析が期待できる。そこで本研究では、新材料、光硬化型ガラスアイオノマーセメントと象牙質との接着機構を検索するために、AFM による界面の形状解析を行い、従来型ガラスアイオノマーセメントおよびコンポジットレジン接着界面と比較検討した。

【材料と方法】ヒト新鮮抜去大白歯の頬側面および舌側面に、直径、深さとも約 2 mm の円柱窩洞を形成し、光硬化型ガラスアイオノマーセメント (FUJI IONOMER TYPE II LC:LC 群、Vitremar: VT 群)、従来型ガラスアイオノマーセメント (Fuji Ionomer TYPE II: FJ 群) およびコンポジットレジン (CLEARFIL AP-X: LB 群) をそれぞれメーカーの指示に従って充填した。水中浸漬 1 週間後、充填物を通る歯軸と平行な切片を作成し、片面を 10% リン酸水溶液で 20 秒間処理、60 秒間水洗したものを観察面とした。窩底象牙質－充填物間の界面を AFM 観察し、三次元分析およびライン分析を行った。ライン分析では断面プロファイルを表示するとともに充填物－象牙質間の段差を測定し、セメント面、レジン面および象牙質面の平均粗さ (Ra) をあわせて測定した。有意差の検定には ANOVA と Scheffé test ($p < 0.05$) を用いた。AFM 観察後、同一試料を臨界点乾燥、Pt－Pd 蒸着し SEM 観察を行った。

【結果および考察】AFM 像では、いずれの群においても象牙質はリン酸処理によって脱灰され、充填物と象牙質との間に段差が観察された。FJ 群の AFM 像では、セメントと象牙質との間に界面に沿って間隙があるように観察された。また、三次元像では象牙質の界面側前縁には堤状の層が

認められ、この部では下部象牙質から続く細管の連続性が途絶えていた。断面プロファイルで解析すると、セメントと象牙質との間に $1.31(\text{SD}:0.16)\mu\text{m}$ の段差を示し、また、セメント面では平均粗さ R_a が $0.86(\text{SD}:0.02)\mu\text{m}$ と他の3群に比較して有意に大きく、これはセメントのマトリックス部が酸処理によって溶解したためと考えられた。象牙質の界面側前縁は下部象牙質に比較して $1.28(\text{SD}:0.26)\mu\text{m}$ 高い堤状を呈しており、この層では他の部位に比較して耐酸性が高いことが確認された。界面の識別は、堤状部やそれに接する間隙様の部位の存在、あるいはセメント面の激しい起伏のために困難であった。SEM 像では試料の乾燥によって生じたと思われる亀裂がセメント内部に生じており、セメント内の凝集破壊を示した。AFM 像で界面に間隙が存在するように観察された部位は、SEM 像では象牙質に接してセメント層が存在し、また、AFM 像で観察された堤状の層が観察された。この堤状の層は、セメント中のフッ素あるいはマトリックス成分の浸透によって象牙質前縁が耐酸性を獲得して形成されたものと考えられた。

LC 群の AFM 像では、セメントの前縁が明瞭であり、FJ 群とは異なって象牙細管の走行は界面まで連続して見られた。三次元像では FJ 群で観察されたような堤状の層は認められず、また、セメントと象牙質は移行的であった。断面プロファイルでは、セメントと象牙質との段差は $1.13(\text{SD}:0.15)\mu\text{m}$ を示した。FJ 群と異なり界面の識別は容易であり、界面のプロファイルはセメントから象牙質へとほぼ直線的に下降していた。セメント面、象牙質面の R_a はそれぞれ $0.57(\text{SD}:0.04)\mu\text{m}$ 、 $0.41(\text{SD}:0.08)\mu\text{m}$ であった。SEM 像では 界面に間隙は認められず、セメントマトリックス層と考えられるコアの少ない $1\text{--}2\mu\text{m}$ の層が観察された。セメントと象牙質との境界は明確でなく、連続的に移行していた。

VT 群の AFM 像は LC 群と類似しており、セメント前縁が明瞭で、細管の走行は界面まで連続して見られた。三次元像では、堤状の層は観察されなかった。界面には間隙は無くセメントと象牙質は連続的に移行していた。断面プロファイルでは、LC 群同様、界面の識別は容易であり、セメントと象牙質との間に $1.15(\text{SD}:0.26)\mu\text{m}$ の段差が認められた。界面のプロファイルはセメントから象牙質へとほぼ直線的に下降していた。セメント面、象牙質面の R_a はそれぞれ $0.48(\text{SD}:0.02)\mu\text{m}$ 、 $0.43(\text{SD}:0.08)\mu\text{m}$ であった。AFM 像と同一部位の SEM 像では界面に $2\text{--}3\mu\text{m}$ の幅の間隙が認められた。AFM 像では間隙が認められなかったことから、この間隙は試料の乾燥によって生じたものと思われる。また象牙質側にはセメント層が確認できなかった。界面の間隙は象牙質窩底全周にあるのではなく、間隙が認められなかった部位では、セメントの界面側前縁にマトリックス層あるいはプライマーとマトリックスの混合した層と考えられるコアを含まない層が明瞭に観察され、この層から象牙質側に連続的に移行していた。

LB 群の AFM 像では、レジン側の前縁は明瞭であり、また象牙質の界面側では細管の走行が観察されず無構造な部分が認められた。三次元像では界面に間隙は認められず、レジン側から象牙質にかけて連続的に移行し、無構造に観察された部位に一致して界面は傾斜していた。断面プロファイルでは、レジンと象牙質との段差は $2.28(\text{SD}:0.37)\mu\text{m}$ と他の 3 群に比較して有意に大きく、これはレジン面では酸処理による影響が少なかったためと考えられた。また、界面のプロファイルはレジン側から象牙質側へとなだらかな移行型を示した。この移行型は、象牙質表層と表層下へのレジン成分の浸透度の相違によって生じた耐酸性の勾配を表しているものと考えられた。レジン面、象牙質面の Ra はそれぞれ $0.51(\text{SD}:0.05)\mu\text{m}$ 、 $0.57(\text{SD}:0.09)\mu\text{m}$ であった。SEM 像では、ボンディング材側で界面に沿った亀裂が観察された部位もあったが、界面は連続的に移行していた。AFM 像で無構造に観察された象牙質の界面側では、比較的起伏が少なく無構造として観察された。

以上の結果から、AFM のライン分析をもとに今回用いた 4 種材料の界面の形状をプロファイルによって 1. FJ 群、2. LC 群および VT 群、3. LB 群の 3 種にパターン化することができた。すなわち、

1. FJ 群：セメント面から界面付近で下降し、その後、象牙質の前縁で立ち上がって堤状を呈してから象牙質面へと続く。

2. LC 群, VT 群：セメント面から象牙質面へと両者の段差に沿ってほぼ直線的に下降する。

3. LB 群：レジン面から象牙質面へとなだらかな傾斜をもって下降する。

【結論】AFM のライン分析を応用することによって界面の形状がパターン化され、LC, VT すなわち光硬化型ガラスアイオノマーセメントの界面の形状が FJ あるいは LB とは異なっていることが明らかとなり、この相違には接着様式の違いが関与しているものと考えられた。今後 AFM を用いた形状解析による界面のパターン化を行い、各層を詳細に解析することによって接着機序の解明に大いに貢献するものと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 下河邊 宏 功
副 査 教 授 加 藤 熙
副 査 教 授 亘 理 文 夫

学 位 論 文 題 名

原子間力顕微鏡による光硬化型ガラスアイオノマーセメント －象牙質接着界面の形状解析

現在、接着界面の観察では SEM や TEM が用いられているが、これらの観察法では、試料が乾燥、蒸着あるいは包埋、染色等の前処理や観察時の真空環境の影響を受ける。特にガラスアイオノマーセメントの場合には乾燥等による収縮や亀裂の発生が問題となる。原子間力顕微鏡 (AFM) は試料の前処理が不要で、しかも大気中、水中での「その場観察」が可能である。さらに、三次元分析やライン分析による形状解析によって界面の定量的な解析が期待できる。そこで本研究では、新材料、光硬化型ガラスアイオノマーセメントと象牙質との接着機構を検索するために、AFM による界面の形状解析を行い、従来型ガラスアイオノマーセメントおよびコンポジットレジンの接着界面と比較検討した。

【材料と方法】ヒト新鮮抜去大白歯の頬側面および舌側面に円柱窩洞を形成し、光硬化型ガラスアイオノマーセメント (FUJI IONOMER TYPE II LC : LC 群、Vitremer : VT 群)、従来型ガラスアイオノマーセメント (Fuji Ionomer TYPE II : FJ 群) およびコンポジットレジン (CLEARFIL AP-X : LB 群) を充填した。水中浸漬 1 週後、充填物を通る歯軸と平行な切片を作成し、片面を 10% リン酸水溶液で 20 秒間処理、60 秒間水洗したものを観察面とした。窩底象牙質－充填物の界面を AFM 観察し、三次元分析およびライン分析を行った。AFM 観察後、同一試料を臨界点乾燥、Pt-Pd 蒸着し SEM 観察を行った。

【結果および考察】AFM 像では、いずれの群においても象牙質はリン酸処理によって脱灰され、充填物と象牙質との間に段差が観察された。FJ 群の AFM 像では、セメントと象牙質との間に界面に沿って間隙があるように観察されたが、SEM 像では象牙質に接してセメント層が確認された。AFM の三次元像では象牙質の界面側前縁には堤状の層が認められ、この部では下部象牙質から続

く細管の連続性が途絶えていた。断面プロファイルで解析すると、セメントと象牙質との段差は $1.31(\text{SD}:0.16)\mu\text{m}$ を示し、象牙質の界面側前縁は下部象牙質に比較して $1.28(\text{SD}:0.26)\mu\text{m}$ 高い堤状を呈しており、この層では他の部位に比較して耐酸性が高いことが確認された。

LC 群、VT 群の AFM 像は類似しており、界面に間隙は認められなかった。象牙細管の走行は界面まで連続しており、三次元像では FJ 群とは異なって堤状の層は認められなかった。断面プロファイルを見ると、セメントと象牙質との段差は LC 群では $1.13(\text{SD}:0.15)\mu\text{m}$ 、VT 群では $1.15(\text{SD}:0.26)\mu\text{m}$ を示し、両群とも界面のプロファイルはセメントから象牙質へとほぼ直線的に下降していた。LC 群の SEM 像では $1\text{--}2\mu\text{m}$ のセメントマトリックス層を介しセメントから象牙質へと連続的に移行していた。VT 群において、AFM 像と同一部位の SEM 像では界面に試料の乾燥によって生じたものと思われる $2\text{--}3\mu\text{m}$ の幅の間隙が認められ、象牙質側にはセメント層は確認できなかった。界面に間隙が認められなかった部位もあり、この部位では界面にマトリックス層あるいはプライマーとマトリックスの混合した層と考えられる層が介在していた。

LB 群の AFM 像、SEM 像では、レジン側から象牙質にかけて連続的に移行し、また象牙質の界面側では無構造な部分が認められた。AFM の三次元像では無構造に観察された部位に一致して界面は傾斜していた。断面プロファイルでは、レジンと象牙質との段差は $2.28(\text{SD}:0.37)\mu\text{m}$ と他の 3 群に比較して有意に大きく、また、界面のプロファイルはレジン側から象牙質側へとなだらかな移行型を示した。

以上の結果から、AFM のライン分析をもとに今回用いた 4 種材料の界面の形状をプロファイルによって 1. FJ 群、2. LC 群および VT 群、3. LB 群の 3 種にパターン化することができた。すなわち、

1. FJ 群：セメント面から界面付近で下降し、その後、耐酸性を獲得した象牙質前縁で立ち上がって堤状を呈してから象牙質面へと続く。
2. LC 群、VT 群：セメント面から象牙質面へと両者の段差に沿ってほぼ直線的に下降する。
3. LB 群：レジン面から象牙質面へとレジン成分の浸透度を示す、耐酸性の勾配に応じたなだらかな傾斜をもって下降する。

【結論】AFM のライン分析を応用することによって界面の形状のパターン化が可能となり、界面形状の相違には接着様式の違いが関与しているものと考えられた。今後 AFM を用いた形状解析による界面のパターン化を行い、各層を詳細に解析することによって接着機序の解明に大いに寄与することが示唆された。

審査は審査者全員によって口頭で行われた。最初に学位申請者に論文の概要の説明を求め、続いて実験手法、各群における AFM 像と SEM 像の解釈、接着機構と界面のプロファイルとの関連等

について関連事項と合わせて質疑応答がなされた。これに対して申請者はいずれも適切かつ明快な回答を示した。また本研究結果の臨床における意義を問う質問に対しては、象牙質の耐酸性の獲得と二次齲蝕抑制の観点から回答した。審査の結果、本研究は原子間力顕微鏡による接着界面をパターン化した独創的なものであるとともに、今後、接着機構の解明に大いに寄与し、発展性をもつ研究であると評価された。

以上の結果、審査者全員によって本論文は学位論文として十分値し、学位申請者は専門および関連領域について十分な学識と理解があり、博士（歯学）の授与に値する者と認定された。