译文

提高两步法自酸蚀粘接粘结剂单体转化率对牙本质粘接粘结耐久性的影响

Dentin Bonding Durability of Two-step Self-etch Adhesives with Improved of Degree of Conversion of Adhesive Resins

Kento Sato, Keiichi Hosaka, Masahiro Takahashi, Masaomi Ikeda, Fucong Tian, Wataru Komada, Masatoshi Nakajima, Richard Foxton, Yoshihiro Nishitani, David H. Pashley, Junji Tagami

原载　J Adhes Dent, 2017, 19(1):31-37.（英文）

于　鹏　译　　王晓燕　审

摘　要

目的：评价（1）不同单体转化率的两步法自酸蚀粘结剂初始和长期微拉伸粘结强度；（2）粘结剂弹性模量；（3）粘结剂吸水率。**材料和方法：**选用两种两步法自酸蚀粘结系统 Clearfil SE Bond（CSE）和 Clearfil SE Bond 2（CSE2）。使用衰减全反射／傅里叶红外光谱仪（ATR/FT-IR）测定单体转化率。收集 24 颗人离体磨牙，用 600 目 SiC 砂纸制备冠中部牙本质平面，用于微拉伸粘结强度测试。CSE 和 CSE2 均根据使用说明书处理牙本质表面，然后堆塑复合树脂。试样分别在水浸泡后 24 小时，6 个月和 1 年后进行微拉伸粘结强度测试。采用三点弯曲试验测试弹性模量（水浸泡 1 个月前、后），采用吸水试验测定吸水率。**结果：**CSE2 的单体转化率显著高于 CSE。水浸泡不同时间后，CSE2 组微拉伸粘结强度均显著高于 CSE 组。CSE 组微拉伸粘结强度在水浸泡 1 年后出现降低，而 CSE2 组无降低。粘结树脂聚合后，CSE2 的弹性模量在水浸泡前后均显著高于 CSE（$P<0.001$），CSE 的吸水率显著高于 CSE2。**结论：**提高两步法自酸蚀粘结剂粘结树脂的单体转化率，可以抵抗水老化，提高树脂－牙本质粘结的初始粘结强度和耐久性。

译者单位　北京大学口腔医院
北京市海淀区中关村南大街 22 号　100081

1 引言

目前，自酸蚀粘结系统在临床中被广泛使用。自酸蚀粘结系统中的酸性功能单体既可使牙本质脱矿（demineralize）又可以预处理（prime）牙本质。自酸蚀粘结系统省去了酸蚀后冲洗的步骤，这不仅缩短了临床操作时间，而且降低了技术敏感性和操作失误的风险。自酸蚀粘结系统可以分为两步法和一步法。既往体外研究显示，两步法粘结系统与牙体组织粘结力较一步法粘结系统更强。一步法自酸蚀粘结系统含有亲水性单体、水和挥发性溶剂，而两步法自酸蚀粘结系统在此基础上多使用一层疏水性树脂，可以获得更强的粘结层。

然而，两步法粘结系统中相对疏水的粘结树脂，也吸收水分。由于分子量小以及摩尔浓度高，水分子可以渗透到聚合物长链或团簇之间的纳米空隙中，与周围的极性功能团形成氢键，进而降低粘结剂的机械性能。外源性和内源性水扩散至粘结剂层和树脂－牙本质界面，加速了混合层和／或粘结剂层中树脂成分的水解降解，进一步导致粘结剂增塑、粘结剂－牙本质界面粘结强度下降和树脂－牙本质界面水解降解。特别是，当两步法自酸蚀粘结剂层较厚时，可能更易吸收外源性水分。粘结剂层覆盖在混合层上方，可以阻挡水分并吸收应力，从而维持牙本质混合层的完整性。随着时间延长，复合树脂和牙本质混合层之间的粘结层吸收水，强度降低，可能对粘结界面的应力分布产生不良影响，从而发生循环载荷下的塑性形变或脱粘结，导致复合树脂－牙本质粘结耐久性差。由于两步法自酸蚀粘结剂长期暴露于水后其机械性能受到影响，有必要通过提高粘结剂层的机械性能来延长复合树脂－牙本质粘结的寿命。

更高的单体－聚合物转化比例可以使树脂基材料获得更好的机械性能，因此单体转化率（固化前后 C=C 双键转化为聚合物中 C−C 键所占的比例）在牙本质粘结的强度及稳定性中也非常重要。此外，粘结剂层的不完全聚合导致水在其中的渗透性增强，并加速粘结剂层水解，导致粘结退化。因此，粘结剂的高单体转化率预期可获得长期的令人满意的粘结界面负荷传导，和优异的树脂－牙本质粘结耐久性。为了提高聚合效率和提高粘结剂的单体转化率，以往研究关注了直接／间接光照强度、光固化距离、光照时间和光固化灯类型等的影响。另一方面，由于粘结剂的单体转化率依赖于光固化引发剂、溶剂、填料量、功能性单体和甲基丙烯酸单体（如 bis−GMA/TEG−DMA）等，优化粘结剂的配方也是一种选择。

关于单体转化率对树脂－牙本质粘结耐久性的影响，对 5 种一步法自酸蚀粘结系统和 1 种酸蚀－冲洗粘结系统进行 5000 次温度循环后，其微拉伸粘结强度 μTBS 降低量和单体转化率之间呈中等程度相关性。与此同时，一步法自酸蚀粘结系统延长光照时间后，其单体转化率提高，纳米渗漏增加，树脂－牙本质粘结耐久性却降低。据笔者所知，当使用同种预处理剂时，两步法自酸蚀粘结系统的粘结剂（粘结树脂）单体转化率对粘结耐久性的影响未见报道。因此，本研究的目的是评价两步法自酸蚀粘结剂的单体转化率对牙本质初始和长期粘结效力，弹性模量和吸水率的影响。零假设是两步法自酸蚀粘结剂的单体转化率对牙本质初始和长期微拉伸粘结强度无影响。

2 材料和方法

实验使用两种自酸蚀粘结系统，分别是 Clearfil SE Bond(CSE，可乐丽则武，东京，日本）和 Clearfil SE Bond 2(CSE2，可乐丽则武，东京，日本）。成分见表 1。CSE 和 CSE2 均使用樟脑醌作为光固化引发剂，CSE2 还添加了另外一种光引发剂，以加强催化系统并提高粘结树脂的单体转化率。两种粘结剂除此之外的其他成分均相同。

2.1 单体转化率（DC）测量

使用傅里叶红外光谱仪（FTIR－ATR）检测 CSE 和 CSE2 粘结剂（粘结树脂）的聚合过程，分辨率为 $8cm^{-1}$，扫描范围 650 ～ $4000cm^{-1}$。预处理剂未进行检测。分别将一滴 CSE 和 CSE2 粘结剂（粘结树脂)滴在衰减全反射装置的金刚石晶体上。LED 光固化灯（Pencure 2000，Morita，日本）光照 10s 进行光引发。光固化灯头与金刚石晶体表面之间的距离是 10mm（图 1）。使用光谱获取软件（Spectrum Time Base，Perkin−Elmer，美国）以 0.2s/ 帧的速度自动连续收集聚合过程中的光谱。光引发开始后连续实时记录红外光谱 40s。每种粘结剂（粘结树脂）进行 3 次独立测量。光固化灯使用前确认光强为 $600mW/cm^2$。通过光固化前后 $1637cm^{-1}$（甲基丙烯酸酯 C=C 双键伸缩振动）和 $1608cm^{-1}$（苯基 C=C 双键伸缩振动）吸收峰的吸光度比值变化计算 DC。基于吸收峰高度确定吸

表 1　试验材料的化学成分和应用方式

材料		成分		操作流程
粘结剂	Clearfil SE Bond（CSE，可乐丽则武） Clearfil SE Bond 2（CSE2，可乐丽则武）	预处理剂	10-MDP，HEMA，亲水性脂肪族二甲基丙烯酸酯，dl- 樟脑醌，水，加速剂，染料。	涂布预处理剂，等待 20s，然后使用中等气流吹干水分。
		粘结树脂	CSE：10-MDP，HEMA，bis-GMA，亲水性脂肪族二甲基丙烯酸酯，硅胶，dl- 樟脑醌，光引发剂，加速剂。 CSE2：10-MDP，HEMA，bis-GMA，硅胶，亲水性脂肪族二甲基丙烯酸酯，dl- 樟脑醌，新型光引发剂，加速剂。	涂布粘结剂，轻轻吹匀。光照 10s。
复合树脂	Clearfil AP-X（可乐丽则武）	Bis-GMA，TEG-DMA，樟脑醌光引发剂，色素，硅钡玻璃，硅酸盐．		光固化 40s。

10-MDP：10- 甲基丙烯腈二氢磷酸；HEMA：甲基丙烯酸 -2- 羟乙酯；bis-GMA：双酚 A- 甲基丙烯酸缩水甘油酯；TEG-DMA：二甲基丙烯酸三乙二醇酯。

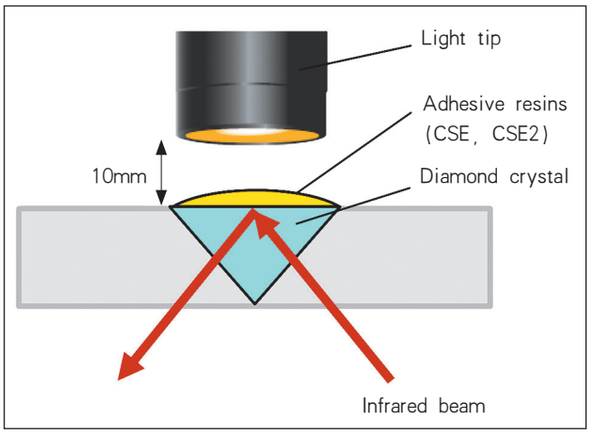

图 1　ATR-FTIR 测量粘结树脂聚合单体转化率示意图

收峰强度。对 $1637cm^{-1}/1608cm^{-1}$ 吸收峰比值变化进行记录。单体转化率通过下列公式计算：

$$DC(\%)=[1-(\text{吸收峰}_{\text{固化后}}1637cm^{-1}/\text{吸收峰}_{\text{固化后}}1608cm^{-1})/(\text{吸收峰}_{\text{固化前}}1637cm-1/\text{吸收峰}_{\text{固化前}}1608cm^{-1})]\times 100$$

2.2　微拉伸粘结强度（μTBS）测试

本研究经日本东京医科齿科大学人类研究伦理委员会审批（编号 No.725），选用了 24 颗新鲜拔除的无龋人磨牙。用模型修整机在流水下沿与牙长轴垂直方向磨除殆面牙釉质以暴露冠中部牙本质。在流水下使用 600 目 SiC 砂纸打磨牙本质表面获得标准化的玷污层。制备完成的离体牙随机分成 2 组。分别使用两种自酸蚀粘结系统（CSE、CSE2）的预处理剂处理两组牙本质表面 20s，使用温和气流吹干。然后分别涂抹 CSE 和 CSE2 的粘结剂（粘结树脂）并将其轻轻吹匀，使用光强 $>600mW/cm^2$ 的光固化灯（Pencure 2000，Morita）光照 10s。粘结剂固化后使用复合树脂 AP-X（Shade-A2，可乐丽则武）分层堆塑至 5.0mm，以确保能够进行微拉伸粘结强度测试。每层光固化 20s。粘结后的离体牙样本在 37℃ 水中保存 24 小时后，使用低速金刚砂切片机（Isomet，Buehler，美国）在水冷却下进行切割，从中央部分选取 10 个样条（横截面积 0.7×0.7mm）。10 个样条再随机分成 3 组。每组样条（3 或 4 个）分别在 37℃ 自来水中保存 24 小时，6 个月以及 1 年后，使用氰基丙烯酸胶（Zapit，Dental Ventures of America，美国）在台式微拉伸测试仪（EZ Test，Shimadzu，日本）样本台上固定样本，以 1.0mm/min 的加载速度进行微拉伸粘结强度试验。计算微拉伸粘结强度平均值（样本量 n=12），同一颗牙取 3 或 4 个样条。微拉伸测试后，所有的断裂样条使用扫描电子显微镜（SEM，JSM-5310，日本）观察断裂类型。断裂类型的分类是：（1）C-D，牙本质层内聚断裂；（2）C-A，粘结剂（粘结树脂）层内聚断裂；（3）C-R，复合树脂层内聚断裂；（4）I-F，界面断裂。使用 SemAfore software（Insinööritoimisto，芬兰）对牙本质侧断面 SEM 图像进行数字化定量分析，用百分比表示每种断裂类型占整个断裂面的面积比。

2.3 吸水率测定

仅将 CSE 和 CSE2 的粘结剂（粘结树脂）（无预处理剂）灌注进直径 8mm，厚度 1.5mm 的圆形硅橡胶模具内，表面覆盖一层薄的透明聚酯薄膜。用光强 >600mW/cm^2 的 LED 光固化灯（Pencure 2000，Morita）光照 180s，制备聚合后的树脂盘（n=8）。使用数字游标卡尺进行测量样本厚度和直径，四舍五入到百分位。测量结果用于计算样本体积（V）。此外，按照 ISO 4049（2000）标准测定吸水率。样本置于无水硅胶容器中干燥保存 24h，然后重复称重直到获得稳定的重量（M1）。

测量初始干燥重量（M1）后，样本分别浸泡在 37℃自来水中 24 小时。取出样本，轻轻地用吸水纸擦干，称重，再放入自来水中。重复以上操作直至获得恒定的潮湿重量（M2）。吸水率（WS）通过以下公式计算：

$$WS=(M2-M1)/V$$

其中，M1 是泡水前的初始干燥重量（μg），M2 是泡水后恒定的潮湿重量（μg），V 是样本的体积（mm^3）。吸水率值用 g/mm^3 表示。

2.4 三点弯曲试验

将 CSE 和 CSE2 的粘结剂（粘结树脂）（不含预处理剂）注入硅橡胶模具（尺寸：5×18×2mm），并用透明的聚酯薄膜覆盖表面。用光强 >600mW/cm^2 的 LED 光固化灯（Pencure 2000，Morita）光照 180s，制备 16 个树脂条。树脂条固化完成，在无水硅胶容器中干燥 24 小时，然后随机分成 2 组。一半样本（干燥组）进行三点弯曲试验测量弹性模量（E）（n=8）。基于在吸水率试验中样本重量稳定所需时间为 1 个月，另一半样本（潮湿组）在水中保存 1 个月后再进行三点弯曲试验。使用万能试验机（Autograph AGS-H，Shimadzu）进行三点弯曲试验，位移速率为 1mm/min 以足够发生 3% 应变。测量记录样条产生 3% 应变时需要的压缩应力值。将载荷位移数值转换成应力和应变。弹性模量通过应力－应变曲线中线性部分的斜率计算获得，公式如下：

$$E = FL^3/4Dbh^3$$

其中，F 是力（N），L 是跨距（10mm），b 是样本宽度（5.0mm±0.1mm），D 是样本垂直向挠曲距离（mm），h 是样本厚度（2.0mm）。弹性模量以 MPa 表示。三点弯曲试验产生的应变（ε）通过以下公式计算：

$$\varepsilon=6hd/L$$

其中，h 是样本厚度（mm），d 是样本挠曲距离（mm），L 是样本在支点间的跨距（5.0mm）。

样本浸水前后弹性模量的变化用弹性模量的降低率（%ΔE）表示，计算公式如下：

$$ZE=-\{(E_{wet}-E_{dry})/E_{dry}\}\times 100$$

其中，E_{wet} 是潮湿组弹性模量，E_{dry} 是干燥组弹性模量。

3 统计分析

最大单体转化率和吸水率数据使用 Student's t-test 进行分析（α=0.05）。Shapiro-Wilk test（$P>0.05$）显示弹性模量和微拉伸粘结强度（μTBS）符合正态分布。弹性模量使用 Two-way ANOVA(α=0.05) 分析。微拉伸粘结强度（μTBS）使用 Two-way ANOVA 和 Bonferroni 校正的 t-test 进行多重比较以检验粘结剂和水浸泡时间的影响（α=0.05）。

4 结果

图 2 显示了光固化开始后 40s 内两种粘结剂（粘结树脂）的单体转化率的变化。Student's t-test 显示 CSE2 粘结树脂的单体转化率最大值显著高于 CSE（$P<0.001$）（表 2）。表 2 显示两种两步法自酸蚀粘结剂与牙本质的平均微拉伸粘结强度均随水浸泡时间发生变化。在制样过程中无粘结失败发生。Two-way ANOVA 显示微拉伸粘结强度受粘结剂种类 ($P<0.001$) 和水浸泡时间 ($P<0.001$) 的影响。此外，粘结剂种类和水浸泡时间之间存在显著的相互作用 ($P<0.001$)。水浸泡时间为 24 小时，6 个月和 1 年时，CSE2 组的微拉伸粘结强度均显著高于 CSE 组。CSE 样本中，水浸泡 1 年组微拉伸粘结强度明显低于水浸泡 24 小时组 ($P<0.001$)。然而，CSE2 样本浸泡 24 小时，6 个月和 1 年组间微拉伸粘结强度无显著差异 (P 值分别为 0.25，0.94，and 1.00)。断裂类型百分比见图 3。C-A 断裂只出现在 CSE 组样本，且随着时间有增加趋势；与此同时 CSE2 组在任何时间均无 C-A 断裂。在各时间段，CSE2 组样本均呈现相似的断裂类型分布。表 3 为两种两步法自酸蚀粘结剂聚合后的吸水率和弹性模量（干燥组和潮湿组）。Student's t-test 显示 CSE2 组吸水率显著低于 CSE 组 ($P<0.05$)。Two-way ANOVA 显示弹性模量受粘结剂 ($P<0.001$) 和保存条件 ($P<0.001$) 影

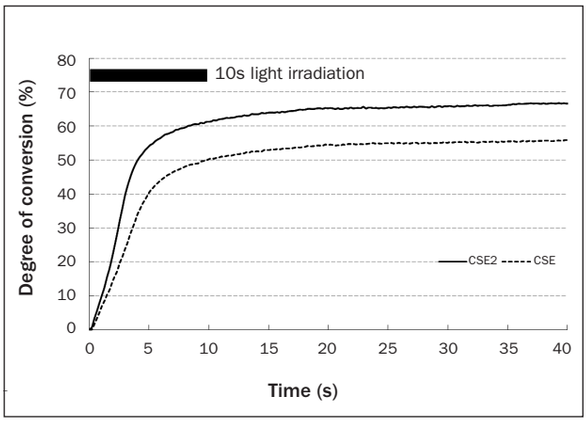

图 2　单体转化率（%）随时间（s）变化。黑条显示光照时间，单位是 s。CSE：Clearfil SE Bond；CSE2：Clearfil SE Bond 2

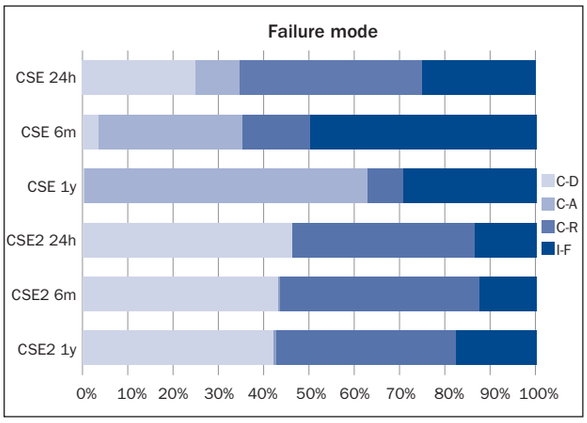

图 3　两种两步法自酸蚀粘结剂各种断裂类型百分比。C–D：牙本质层内聚断裂，C–A：粘结剂层内聚断裂，C–R：树脂层内聚断裂，I–F：界面断裂

表 2　两种两步法自酸蚀粘结剂的单体转化率（DC）和微拉伸粘结强度（μTBS）

材料	单体转化率 DC(%)，n=3	微拉伸粘结强度 μTBS(MPa)，n=12		
		24 小时	6 个月	1 年
CSE	56.0 ± 0.1^{A}	71.5 ± 7.2^{Aa}	66.6 ± 2.6^{Aab}	53.1 ± 4.2^{Ab}
CSE2	66.8 ± 0.2^{B}	80.6 ± 5.1^{Ba}	78.7 ± 5.5^{Ba}	76.2 ± 4.7^{Ba}

数值以平均值 ± 标准差表示。不同的上标字母表示有统计学差异，小写字母表示同一行，大写字母表示同一列。(P<0.05)。CSE：Clearfil SE Bond；CSE2：Clearfil SE Bond 2。

表 3　两种两步法自酸蚀粘结剂的吸水率，弹性模量和弹性模量变化率

材料	吸水率（μg/mm^3）(n=8)	弹性模量（MPa），n=8		弹性模量变化率（%）
		干燥组	潮湿组	
CSE	72.8 ± 1.7^{A}	1345 ± 93^{Aa}	1058 ± 98^{Ab}	21.4
CSE2	65.0 ± 3.1^{B}	1568 ± 191^{Ba}	1330 ± 212^{Bb}	15.2

数值以平均值 ± 标准差表示。每列（大写）和每行（小写）的上标的不同字母表示有统计学差异 (P<0.05)。弹性模量变化率（%）：[{ 弹性模量（潮湿组）– 弹性模量（干燥组）}/ 弹性模量（干燥组）] x100。CSE：Clearfil SE Bond；CSE2：Clearfil SE Bond 2。

响。另外，粘结剂和保存条件之间无显著相互作用 (P=0.67)。在各保存条件下，CSE2 组弹性模量均显著高于 CSE 组。两种粘结剂的弹性模量水浸泡后均下降 (P<0.001)。弹性模量降低的百分比分别是 21.4%（CSE 组）和 15.2%（CSE2 组）。

5　讨论

在本研究中，CSE2 粘结剂（粘结树脂）的单体转化率显著高于 CSE。对于粘结强度而言，影响因素间存在显著相互作用(材料种类 × 水浸泡时间) (P < 0.001)，CSE2 组样本在 24 小时，6 个月和 1 年 (P 值分别为 0.25，0.94，and 1.00) 水浸泡时间的粘结强度无显著差异，但是在 CSE 组水浸泡 1 年后的微拉伸粘结强度显著低于水浸泡 24 小时（P < 0.001）。因此，两步法自酸蚀粘结剂中的粘结树脂单体转化率对初始和长期牙本质微拉伸粘结强度无影响的零假设不成立。回顾文献发现，有些研究发现自酸蚀粘结剂和酸蚀 – 冲洗粘结剂的单体转化率和粘结强度间均存在相关关系，但是也有研究没有发现这样的相关关系。这提示由于粘结强

度是受多因素影响的，不同种类粘结剂的不同成分对研究结果有重要影响。

单体转化率的结果显示 CSE2 的单体转化率显著高于 CSE（$P < 0.001$）。由于临床医生越来越多选择 LED 光固化灯，在本研究中也使用了 LED 光固化灯。当使用三种不同的 LED 光固化灯代替卤素灯时，CSE 的单体转化率显著降低，这是由于 LED 涵盖的粘结剂中光固化引发剂的吸收波长范围的光谱更窄。（卤素灯：74.1%；LEDs：约 64.7% ~ 65.5%）。本研究中 CSE 的单体转化率（56.0%）较低，原因可能是光照时间不同。CSE 和 CSE2 粘结剂均含有樟脑醌，这是牙科修复树脂中应用最广也是最成功的光固化引发剂。此外，CSE2 中还添加了一种新发明的光固化引发剂。与 CSE 相比，CSE2 在水浸泡不同时间后均有较高的粘结强度和高单体转化率，这可能得益于添加的新型光固化引发剂。另一方面，牙本质表面残留的预处理剂成分也可能影响粘结树脂的单体转化率，这点需要进一步研究。

含有 10- 甲基丙烯腈二氢磷酸（10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate，10-MDP）的粘结剂可能与牙体硬组织中的羟基磷灰石形成化学粘结，在树脂 - 牙本质界面形成 10-MDP- 钙盐的纳米层，从而获得高机械强度和粘结稳定性。然而，有研究报道纳米层的存在未必促进树脂 - 牙本质整体稳定性。事实上，有体外研究显示含有 10-MDP 的 CSE 与牙本质间的微拉伸粘结强度在长期水浸泡后降低。CSE2 的微拉伸粘结强度在水浸泡 24 小时和 1 年后均显著高于 CSE，而且材料种类和水浸泡时间之间存在显著相互作用（$P < 0.001$），这表明 CSE2 较 CSE 有更高的粘结耐久性。我们推测，与 CSE 相比，CSE2 形成的聚合充分和更坚硬的粘结剂层及混合层具有更高机械性能，可以长期更好地通过粘结界面转移载荷并能在负载下抵抗更高的拉应力。对于已上市的两步法自酸蚀粘结剂，已发现粘结树脂的机械性能和其产生的微拉伸粘结强度存在显著相关关系。粘结剂层内和下方的脱矿牙本质内的树脂单体的聚合在树脂 - 牙本质粘结中发挥着重要作用，这也符合既往研究报道，粘结树脂和混合层的单体转化率和树脂 - 牙本质的微拉伸粘结强度存在相关关系。由此推测粘结树脂的高单体转化率可以同时提高粘结剂层和混合层的质量。

CSE2 的吸水率（$72.8 \pm 1.7\ \mu g/mm^3$）显著低于 CSE 的吸水率（$85.8 \pm 9.9\ \mu g/mm^3$）（P=0.03，表 3）。而且，三点弯曲试验的结果显示 CSE2 的弹性模量在水浸泡前后均显著高于 CSE（$P < 0.001$）。这些结果与以往研究中粘结树脂的高单体转化率与低吸水率和高机械性能相关的结果一致。我们推测，相比于 CSE，CSE2 粘结树脂聚合是形成更多的高分子交联，导致更低的吸水率和更高的弹性模量。CSE2（15.2%）水浸泡后弹性模量降低量小于 CSE（21.4%），可能是由于粘结剂机械性能降低与自身吸水率值有关，而 CSE2 有更强的疏水性。有意思的是，即使在水浸泡后 CSE2 的弹性模量仍然比 CSE 未经水浸泡的弹性模量高，这意味着，CSE2 粘结树脂聚合后单体转化率更高，而 CSE 在各种湿润条件下单体转化率均较低。因此 CSE2 机械性能也更高，有利于树脂 - 牙本质粘结的机械稳定性。

SEM 的断裂类型观察提供了确定断裂发生和进展的重要信息。发生在粘结剂层的内聚破坏只出现在 CSE 组样本，而 CSE2 组样本均无此类型断裂。这也可能也是源于 CSE2 中添加了新型光固化引发剂。

6 结论

提高两步法自酸蚀粘结剂粘结树脂的单体转化率可以抵抗水老化，提高树脂 - 牙本质粘结的初始粘结强度和耐久性。这提示生产商可以在两步法自酸蚀粘结剂中使用纯粘结剂进行封闭，并改进其亲水性 / 疏水性光固化引发剂 / 加速剂。既往研究发现体外老化 5 年的粘结强度和临床更相关，并可用以预测长期临床效果，未来需进一步研究 CSE2 树脂 - 牙本质粘结的 5 年耐久性。