

Published in final edited form as:

Eur J Oral Sci. 2013 August ; 121(4): 355–362. doi:10.1111/eos.12052.

Evaluation of plasma treatment effects on improving adhesive/dentin bonding by using the same tooth controls and varying cross-sectional surface areas

同じ歯のコントロールとさまざまな断面積を使用した、接着材と象牙質の接着の改善に対するプラズマ治療の効果の評価

Xiaoqing Dong¹, Andy Charles Ritts², Corey Staller¹, Qingsong Yu¹, Meng Chen², and Yong Wang³

¹Center for Surface Science and Plasma Technology, Department of Mechanical and Aerospace Engineering, University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA

²Nanova, Inc., Columbia, MO 65203, USA

³Center for Research on Interfacial Structure & Properties, School of Dentistry, University of Missouri-Kansas City, Kansas City, MO 64108, USA

Abstract 概要

The objective of this study is to evaluate and verify the effectiveness of plasma treatment for improving adhesive/dentin interfacial bonding by performing micro-tensile bond strength (μ TBS) test using the same-tooth controls and varying cross-sectional surface areas. Extracted unerupted human third molars were used by removing the crowns to expose the dentin surface. For each dentin surface, one half of it was treated with a non-thermal argon plasma brush, while another half was shielded with glass slide and used as untreated control. Adper Single Bond Plus adhesive and Filtek Z250 dental composite were then applied as directed. The teeth thus prepared were further cut into micro-bar specimens with cross-sectional size of $1 \times 1 \text{ mm}^2$, $1 \times 2 \text{ mm}^2$ and $1 \times 3 \text{ mm}^2$ for μ TBS test. The test results showed that plasma treated specimens gave substantially stronger adhesive/dentin bonding than their corresponding same tooth controls. As compared with their untreated controls, plasma treatment gave statistically significant higher bonding strength for specimens having cross-sectional area of $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and $1 \times 2 \text{ mm}^2$, with mean increases of 30.8% and 45.1%, respectively. Interface examination using optical and electron microscopy verified that plasma treatment improved the quality of the adhesive/dentin interface by reducing defects/voids and increasing the resin tag length in dentin tubules.

modification of dentin is another effective approach to achieve stronger adhesive/dentin interfacial bonding. In fact, a lot of research work has been done on modification of dentin surface, such as use of collagen cross-linking agents (4), immediate dentin sealing (5), treatment with hydroxyapatite nanorods (6), etc.

この研究の目的は、同じ歯のコントロールとさまざまな断面積を使用してマイクロ引張接着強度 (μ TBS) テストを実行することにより、接着材と象牙質の界面結合を改善するためのプラズマ治療の有効性を評価および検証することです。抽出された未発芽のヒト第三大臼歯を、歯冠を除去して象牙質表面を露出させることによって使用した。各象牙質表面について、その半分を非熱アルゴンプラズマブラシで処理し、もう半分をスライドガラスで保護し、未処理の対照として使用しました。次に、Adper Single Bond Plus adhesiveとFiltek Z250 dental compositeを指示に従って塗布しました。このようにして準備した歯を、 μ TBS試験用にさらに切断して、断面サイズ $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 、 $1 \times 2 \text{ mm}^2$ 、および $1 \times 3 \text{ mm}^2$ のマイクロバー試験片を作成しました。試験結果は、プラズマ処理された標本が、対応する同じ歯の対照よりも実質的に強力な接着材/象牙質結合を与えることを示した。未処理の対照と比較して、プラズマ処理により、断面積が $1 \times 1 \text{ mm}^2$ および $1 \times 2 \text{ mm}^2$ の試験片で統計的に有意に高い接

合強度が得られ、平均増加率はそれぞれ30.8%および45.1%でした。光学顕微鏡および電子顕微鏡を使用した界面検査により、プラズマ処理により、欠損/空隙が減少し、象牙質細管内のレジスタグの長さが増加することにより、接着材/象牙質界面の品質が向上することが確認されました。

象牙質の修飾は、より強力な接着材と象牙質の界面結合を達成するためのもう1つの効果的なアプローチです。実際、コラーゲン架橋剤の使用(4)、象牙質の即時封止(5)、ヒドロキシアパタイトナノロッドによる治療(6)など、象牙質表面の改質に関して多くの研究が行われています。

As an effective surface modification technique, low-temperature or non-thermal plasmas that are usually created at a reduced pressure in a vacuum chamber have been well adopted for surface treatment/preparation of a variety of natural and synthetic materials to improve their performance. The rapid development of non-thermal atmospheric plasma technology in the past two decades has opened the door for the direct use and applications of gas plasmas in both medical and dental field. Our recent research works (7, 8) have demonstrated that plasma treatment using a non-thermal atmospheric plasma brush was very effective in deactivating cavity-causing oral bacteria and changing the surface properties of human dentin. It was found that the a short plasma treatment could change the chemical structure of the exposed collagen fibrils and increase the dentin surface hydrophilicity, which allowed better adhesive penetration into dental collagen fibrils and enhance the bonding strength at adhesive/dentin interface. The treatment of dentin using non-thermal plasma brush has provided about 60 % stronger adhesive/dentin interface bonding than their untreated controls (7, 8).

Micro-tensile bond strength (μ TBS) test has been widely accepted as the most often used testing method for evaluating adhesive/dentin interfacial bonding because it permits the measurement of regional bond strengths within teeth with very few cohesive failures. Sanoetal (9) showed that tensile bond strength was inversely related to bonded surface area, which was also confirmed by PHRUKKANON et al. (10). The bonding strength of adhesive/dentin showed the dramatic decrease with the increase of the interface area of specimens (11). The bonding strength of specimens with 1mm² interface area ranged from 40 to 60 MPa. When the interface area was increased to 2 mm², the bonding strength decreased to 15–30 MPa. This is probably the result of more defects existing in the large bonding surface area specimens (10).

The bonding strength between restorative materials and dentin is also affected by intrinsic dentin characteristics such as the number of tubules per mm² (12), the thickness of dentin (13), water content of dentin (14), tooth conditions, etc. To better assess the plasma treatment effects on dentin for adhesive/dentin bonding improvement, it is necessary to collect and compare the adhesive/dentin bonding strength of plasma treated specimens with their untreated same tooth controls. μ TBS test using small bonding surface areas makes it possible to take multiple treatments within a single tooth (9). Therefore, the aim of this study is to evaluate and verify the effectiveness of plasma treatment of dentin surfaces for improving adhesive/dentin interfacial bonding by performing μ TBS test using the same- tooth controls and varying cross-sectional surface areas.

効果的な表面改質技術として、通常、真空チャンバー内で減圧下で生成される低温または非熱プラズマは、さまざまな天然および合成材料の表面処理/前処理によく採用され、その性能を向上させています。過去20年間における非熱大気プラズマ技術の急速な発展により、医療分野と歯科分野の両方でガスプラズマの直接使用と応用への扉が開かれました。私たちの最近の研究成果(7, 8)は、非熱大気プラズマブラシを使用したプラズマ治療が、むし歯の原因となる口腔細菌を不活性化し、人間の象牙質の表面特性を変化させるのに非常に効果的であることを実証しました。短時間のプラズマ処理により、露出したコラーゲン原線維の化学構造が変化し、象牙質表面の親水性が高まり、歯科用コラーゲン原線維への接着材の浸透が向上し、接着材と象牙質の界面での接着強度が向上することがわかりました。非熱プラズマブラシを使用した象牙質の治療は、未処理の対照よりも約60%強力な接着材と象牙質の界面結合を実現しました(7, 8)。

マイクロ引張接着強度(μ TBS)試験は、凝集破壊がほとんどなく歯内の局所的な接着強度を測定できるため、接着材と象牙質の界面接着を評価するために最もよく使用される試験方法として広く受け入れられています。Sanoetal (9)は、引張接着強度が結合表面積に反比例することを示し、これはPHRUKKANONら(9)によっても確認された。(10)。接着材と象牙質の接着強度は、試験片の界面面積が増加するにつれて劇的な低下を示しました(11)。界面面積1mm²の試験片の接合強度は40~60MPaの

範囲でした。界面面積が2 mm²に増加すると、接合強度は15~30MPaに低下しました。これはおそらく、接合表面積の大きい試験片に存在する欠陥が増加した結果であると考えられます(10)。

修復材料と象牙質の間の結合強度は、mm²あたりの細管の数(12)、象牙質の厚さ(13)、象牙質の含水量(14)、歯の状態などの象牙質固有の特性にも影響されます。接着/象牙質結合の改善のために象牙質に対するプラズマ処理の効果を評価するには、プラズマ処理された標本の接着/象牙質結合強度を収集し、未処理の同じ対照歯と比較する必要があります。小さな接着表面積を使用するμ TBS テストにより、1つの歯内で複数の治療を行うことが可能になります(9)。したがって、本研究の目的は、同じ歯のコントロールとさまざまな断面積を使用してμ TBSテストを実行することにより、接着性/象牙質界面結合を改善するための象牙質表面のプラズマ処理の有効性を評価および検証することです。

Keywords

Plasma treatment; Bonding strength; Resin restoration; Same tooth control

In order to increase the bonding strength and longevity of dental composite restoration, it is essential to modify the physical and chemical properties of dentin surface and get a much compatible adhesive/dentin interface. It has been found that adhesive permeation into dentinal tubules and spaces in collagen fibrils created by etching played an important role in adhesive/dentin bonding strength and durability (1). Addition of hydrophilic monomer into dental adhesives would increase the penetration and improve bonding strength of adhesive to dentin (2). Besides improving the formulation of dental adhesives (3), surface

Prof. Qingsong Yu, E2403D Lafferre Hall, Department of Mechanical and Aerospace Engineering, University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA, yuq@missouri.edu.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Material and methods 材料と方法

Tooth preparation 歯の準備

Twelve unerupted human third molars were collected under a protocol approved by the University of Missouri-Kansas City Adult Health Sciences Institutional Review Board and after obtaining patient consent. All tissue samples were non-patient identified and all samples were handled and disposed according to the protocols suggested by Environmental Health and Safety at University of Missouri. The teeth had no caries and were stored in the PBS (pH7.4) with 0.02% sodium azide to inhibit bacteria growth. Each tooth was cut off the root and enamel using an Isomet 5000 diamond saw (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) to expose the dentin surface. The surface was polished with 600-grit silicon carbide abrasive paper under wet condition. The dentin surface was further demineralized for 15 s using Scotchbond phosphoric acid gel (3M ESPE, St Paul, MN, USA) and then thoroughly washed using a water spray. Excess water was blot dried from the surface with Kimwipes. Half of a tooth was treated with plasma brush by shielding the other side with a glass slide.

University of Missouri-Kansas City Adult Health Sciences Institutionalによって承認されたプロトコールに従い、患者の同意を得た後、12本の未発育ヒト第三大臼歯を収集した。すべての組織サンプルは非患者であることが特定され、すべてのサンプルはUniversity of Missouri-Kansasの環境衛生と安全性が推奨するプロトコールに従って処理および廃棄されました。歯には虫歯がなく、細菌の増殖を抑制するために0.02%アジ化ナトリウムを含むPBS (pH7.4) 中で保管した。Isomet 5000ダイヤモンドソー (Buehler, 米国イリノイ州レイクブラフ) を使用して各歯の根とエナメル質を切断し、象牙質表面を露出させました。表面を湿式状態で600グリットの炭化ケイ素研磨紙で研磨した。象牙質表面は、スコッチボンドリン酸ゲル (3M

ESPE、セントポール、ミネソタ州、米国) を使用して15秒間さらに脱灰され、その後、水スプレーを使用して徹底的に洗浄された。過剰な水分をキムワイプで表面から吸い取り乾燥させた。歯の半分をスライドガラスで反対側を保護し、プラズマブラシで治療しました。

The plasma treatment method using a plasma brush has been described in our previous work (8). The plasma brush was operated at a current level of 6 mA (equivalent to a power level of 2–3 W) using Spellman HV power supply SL60 (Spellman, New York, USA) and an argon flow rate of 3,000 standard cubic centimeters per minute (scm). Based on our previous work (8), plasma treatment time was set for 30 s to achieve the highest adhesive/dentin interface bonding. After plasma treatment, the dentin surface was rewetted to be visibly moist before applying dental adhesive (Adaper Single Bond Plus, 3M ESPE). The applied dental adhesive was then light-cured for 10 s using Spectrum 800 (Dentsply, Milford, DE, USA). Then a dental composite (Filtek Z250, 3M ESPE) was applied on top of adhesive for three to four times and light cured for 20 s for each application. The tooth-composite bonded sample was stored in distilled water at 37 °C for 24 h before preparing micro-bar specimens for micro-tensile bond strength (μ TBS) test. The prepared teeth were sectioned with a diamond saw under water cooling to produce micro-bar specimens with cross-section dimension of $\sim 1 \times 1$ mm², $\sim 1 \times 2$ mm² and $\sim 1 \times 3$ mm². 4 teeth were used for each cross-sectional dimension and the numbers of the microbars obtained from each tooth were summarized in Table 1. The exact dimension of prepared micro-bar specimens were measured using a digital caliper.

プラズマブラシを使用したプラズマ処理方法については、以前の研究で説明しました。

(8). プラズマブラシは、Spellman HV 電源 SL60 (Spellman、ニューヨーク、米国) を使用し、アルゴン流量3,000標準立方センチメートル/分を使用して、電流レベル6 mA(電力レベル2~3Wに相当)で動作させました。(scm)。我々の以前の研究(8)に基づいて、最高の接着材/象牙質界面接着を達成するために、プラズマ処理時間を30秒に設定しました。プラズマ処理後、歯科用接着材(Adaper Single Bond Plus、3M ESPE)を塗布する前に、象牙質表面を再度湿らせて目に見えて湿らせました。次に、塗布された歯科用接着材を、Spectrum 800 (Dentsply、ミルフォード、デラウェア州、米国) を使用して10秒間光硬化させました。次に、歯科用複合材 (Filtek Z250、3M ESPE) を接着剤の上に3~4回塗布し、塗布ごとに20秒間光硬化させました。歯と複合材が接着したサンプルは、マイクロ引張接着強度(μ TBS)試験用のマイクロバー試験片を調製する前に、37 °C の蒸留水中に24時間保管されました。準備した歯を水冷下でダイヤモンドソーで切断し、断面寸法が約 1×1 mm²、 1×2 mm²、および 1×3 mm²のマイクロバー試験片を作製しました。各断面寸法に4つの歯を使用し、各歯から得られたマイクロバーの数を表1にまとめました。準備したマイクロバー試験片の正確な寸法は、デジタルノギスを使用して測定しました。

Micro-tensile bond strength (μ TBS) test 微小引張接着強度 (μ TBS) 試験

The micro-bar specimens were examined and screened using an optical microscope (AMscope, City, California, CA, USA) for possible defects existing at the adhesive/dentin interface. The specimens that passed the screening were adhered to micro tensile tester (BISCO, Schaumburg, IL, USA) using a cyanoacrylate adhesive (Zapit, Corona, CA, USA) and tested at a 0.5 mm/min strain rate. マイクロバー標本は、接着材と象牙質の界面に存在する可能性のある欠陥について、光学顕微鏡 (AMscope、City、California、CA、USA) を使用して検査およびスクリーニングされました。スクリーニングに合格した試験片は、シアノアクリレート接着材(Zapit、米国カリフォルニア州コロナ)を使用してマイクロ引張試験機 (BISCO、米国イリノイ州シャンバーグ) に接着され、0.5 mm/分のひずみ速度で試験されました。

Characterization of fractured surfaces 破断面の特性評価

After the μ TBS test, optical microscopy was used to examine the fractured surface for failure locations. The mode of failure location was defined as following: Interface failure - fracture occurred in adhesive with no fractured

dentin on the resin and no remnants of resin on the dentin surfaces; Cohesive failure - fracture is completely located in dentin, resin or Zapit; Mixed failure - test specimen shows both interface and cohesive failures (15).

μ TBS テスト後、光学顕微鏡を使用して破断面の破損箇所を検査しました。破壊箇所のモードは次のように定義されました。界面破壊-レジン上に破壊された象牙質がなく、象牙質表面にレジンの残存がない状態で接着剤に破壊が発生しました。凝集破壊-破壊は完全に象牙質、レジン、またはZapitに位置します。混合破壊-試験片は界面破壊と凝集破壊の両方を示します(15)。

The morphology of the fractured surfaces was examined using a scanning electron microscopy (SEM) (Quanta 600, FEI, City, OR, USA). The fractured bars were fixed on aluminum stubs with the fracture surfaces facing upward. All samples were imaged using the environmental and/or backscatter modes of the microscope. Specimens with cohesive failure of dentin or composite were selected for interface quality observation. In order to see hybrid layer and resin tags, acid-bleach treatment was used by following the procedures reported in previous work (16–19). In brief, 5 M HCl was used to treat the plasma treated and untreated specimens for 60 s and 30 s, respectively. After thoroughly washed with distilled water, the specimens were immersed in a NaOCl solution (chlorine 4.00–4.99%) for 30 min. After rinsing with distilled water, the specimens were dehydrated in ethanol/water mixture with ascending concentrations starting with 50%, 70% and 85% for 15 min each, followed by 95%, 100% and 100% for 30 min each. After drying, the prepared specimens were mounted on aluminum stubs and coated with 5 nm of platinum for SEM examination.

破面の形態は、走査電子顕微鏡 (SEM) (Quanta 600, FEI, City, OR, USA) を使用して検査されました。破断した棒を、破断面を上に向けてアルミニウムのスタブに固定した。すべてのサンプルは、顕微鏡の環境モードおよび/または後方散乱モードを使用して画像化されました。象牙質または複合材の凝集破壊のある標本が界面品質観察用に選択されました。ハイブリッド層と樹脂タグを確認するために、以前の研究で報告された手順に従って酸漂白処理が使用されました(16-19)。簡単に言うと、5MHClを使用して、プラズマ処理した標本と未処理の標本をそれぞれ60秒と30秒間処理しました。蒸留水で十分に洗浄した後、試験片をNaOCl溶液(塩素4.00~4.99%)に30分間浸漬しました。蒸留水ですすいだ後、標本をエタノール/水混合液中で、50%、70%、85%の濃度から始めて各15分間脱水し、続いて95%、100%、および100%で各30分間脱水しました。乾燥後、準備された標本はアルミニウムのスタブに取り付けられ、SEM検査のために5 nmのプラチナでコーティングされました。

Data analysis データ分析

The numbers of micro-bar specimens obtained for each cross-section sizes test were detailed in Table 2. The tensile stress data obtained from μ TBS test were used to evaluate the plasma treatment effects on adhesive/dentin bonding strength. The tensile stress data obtained from all test specimens that have the same cross-section size from different teeth was combined and analyzed using Welch's t-test to account for the possibility of unequal variances after verifying the data distribution normality. Ten sites of the hybrid layer and fifty resin tags shown in SEM images were analyzed using Image J software to calculate the means and standard deviations of the thickness of hybrid layer and the length of the resin tags.

各断面サイズ試験で得られたマイクロバー試験片の数をTable2に詳しく示します。 μ TBS 試験から得られた引張応力データを使用して、接着材と象牙質の接着強度に対するプラズマ処理の効果を評価しました。異なる歯の同じ断面サイズを持つすべての試験片から得られた引張応力データは、データ分布の正規性を確認した後、不等分散の可能性を考慮してウェルチのt検定を使用して結合および分析されました。SEM画像に示されたハイブリッド層の10部位と50個の樹脂タグをImage Jソフトウェアを使用して分析し、ハイブリッド層の厚さと樹脂タグの長さの平均と標準偏差を計算しました。

Results 結果

Figs. 1 and 2 show the mean bonding strength of the micro-bar specimens with cross-sectional size of $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and $1 \times 2 \text{ mm}^2$, respectively. As shown in Figs. 1 and 2, the plasma-treated specimens with cross-sectional area of $1 \times 1 \text{ mm}^2$, and $1 \times 2 \text{ mm}^2$, had much higher mean bonding strength than their corresponding untreated same tooth controls. When the specimen cross-sectional area was increased to $1 \times 3 \text{ mm}^2$, as shown in Fig. 3, the mean bonding

strength of plasma treated specimens was still higher than their corresponding same tooth controls, although the difference became less significant than that of the smaller specimen sizes shown in Figs. 1 and 2. It should be pointed out that, with plasma treatment, the adhesive/dentin bonding strength was improved for all the teeth tested as compared with the same tooth controls. The results shown in Figs. 1–3 also clearly indicate the effects of individual tooth on the measured adhesive/dentin bonding strength for both plasma treated specimens and their untreated controls. It can be seen that individual tooth did have significant effect on the bonding strength of the resulted adhesive/dentin interface for both plasma treated specimens and the untreated controls.

Figs.1 およびFigs.2は、それぞれ断面サイズ $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 、 $1 \times 2 \text{ mm}^2$ のマイクロバー試験片の平均接合強度を示しています。Figs.1およびFigs.2に示すように、断面積 $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 、および $1 \times 2 \text{ mm}^2$ 、のプラズマ処理された標本は、対応する未処理の同じ歯の対照よりもはるかに高い平均結合強度を有していた。Figs.3に示すように、試験片の断面積が $1 \times 3 \text{ mm}^2$ に増加した場合、プラズマ処理した試験片の平均結合強度は、対応する同じ歯の対照よりも依然として高かったが、その差は、差ほど顕著ではなくなりました。より小さな試験片サイズをFigs.1およびFigs.2に示します。プラズマ治療では、同じ対照歯と比較して、試験したすべての歯の接着力と象牙質の接着強度が向上したことを指摘しておく必要があります。結果をFigs.1から3に示す。また、Figs.1から3は、プラズマ処理された標本と未処理の対照の両方について測定された接着力/象牙質結合強度に対する個々の歯の影響を明確に示しています。個々の歯が、プラズマ処理された標本と未処理の対照の両方について、得られた接着剤/象牙質界面の接着強度に重大な影響を及ぼしたことがわかります。

Besides bonding strength, the fracture location of the tested specimens provides information for further evaluation of adhesive/dentin interface quality. The fractured surface of all the tested specimens including both plasma treated specimens and the untreated controls was carefully examined and analyzed under an optical microscope. Table 1 summarizes the number of micro-bar specimens from each individual tooth and the fractured location percentage after the μ TBS test for the micro-bar test specimens from each individual tooth. It can be seen from the Table 1 that interface failure was observed more frequently in the specimens obtained from the untreated controls than that in the plasma-treated specimens. The large percentage of cohesive failure was found with tested specimens that have larger cross-sectional size of $1 \times 3 \text{ mm}^2$ for both the untreated controls and the plasma-treated ones.

接着強度に加えて、試験片の破断位置は、接着材と象牙質の界面の品質をさらに評価するための情報を提供します。プラズマ処理した標本と未処理の対照の両方を含むすべての試験標本の破面を光学顕微鏡で注意深く検査し、分析しました。Table 1は、各個別の歯からのマイクロバー試験片の数と、各個別の歯からのマイクロバー試験片の μ TBS試験後の破損位置の割合をまとめたものです。Table 1から、界面破壊は、プラズマ処理された試料よりも未処理の対照から得られた試料においてより頻繁に観察されたことがわかる。未処理の対照とプラズマ処理した試験片の両方で、 $1 \times 3 \text{ mm}^2$ 、というより大きな断面サイズを有する試験片で凝集破壊の大きな割合が見られました。

Fig. 4a shows the statistical comparison of μ TBS test data obtained from all the test specimens from different teeth with cross-sectional size of $1 \times 1 \text{ mm}^2$, $1 \times 2 \text{ mm}^2$ and $1 \times 3 \text{ mm}^2$. It was noted that the adhesive/dentin bonding strength of plasma treated specimens with both $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and $1 \times 2 \text{ mm}^2$ interface area was significantly higher than that of respective untreated controls ($p < 0.01$). When the interface area was increased to $1 \times 3 \text{ mm}^2$, the mean value of the μ TBS tensile strength for plasma treated specimens was higher than the corresponding untreated controls, but significant difference was not observed between them. To further show the plasma treatment effect, the percentage increase in μ TBS test data due to plasma treatment is presented in Fig. 4b. Regardless of the individual tooth effect and different cross-sectional area, plasma treatment substantially enhanced the adhesive/dentin bonding strength with an average of 15–45 % increase as compared with the untreated controls. It should be noted from Table 1 that only 1–4 specimens with cross-sectional area of $1 \times 3 \text{ mm}^2$ could be prepared from a single tooth because of the limited dentin area. Table 2 summarizes the sample sizes used for the statistical analysis and the predicted sample size required to get an accurate estimate of the mean bonding strength at a confidence level 90% using QI Macros. As seen in Table 2, the numbers of the test specimens with both $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and $1 \times 2 \text{ mm}^2$ interface area used in this study were larger than the predicted sample sizes. However, the number of the test

specimens with $1 \times 3 \text{ mm}^2$ needs to be increased in order to improve the analysis reliability.

Figs. 4aは、断面サイズ $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 、 $1 \times 2 \text{ mm}^2$ 、 $1 \times 3 \text{ mm}^2$ の異なる歯のすべての試験片から得られた μTBS 試験データの統計的比較を示しています。界面面積が $1 \times 1 \text{ mm}^2$ および $1 \times 2 \text{ mm}^2$ の両方を有するプラズマ処理された標本の接着/象牙質結合強度は、それぞれの未処理対照のそれよりも有意に高かったことが注目されました($p < 0.01$)。界面面積が $1 \times 3 \text{ mm}^2$ に増加すると、プラズマ処理試験片の μTBS 引張強さの平均値は、対応する未処理対照よりも高くなりましたが、それらの間に有意差は観察されませんでした。プラズマ処理の効果をさらに示すために、プラズマ処理による μTBS 試験データの増加率をFigs. 4bに示します。個々の歯の効果や断面積の違いに関係なく、プラズマ処理により接着剤と象牙質の接着強度が大幅に向上し、未処理の対照と比較して平均15~45%増加しました。Figs. 1から、象牙質面積が限られているため、1本の歯から断面積 $1 \times 3 \text{ mm}^2$ の標本が1~4個しか調製できなかったことに注意してください。Figs. 2は、統計分析に使用したサンプル サイズと、QIマクロを使用して信頼水準90%で平均結合強度の正確な推定値を取得するために必要な予測サンプル サイズをまとめたものです。Figs. 2に見られるように、この研究で使用された $1 \times 1 \text{ mm}^2$ および $1 \times 2 \text{ mm}^2$ の界面領域を持つ試験片の数は、予測されたサンプル サイズよりも多かった。ただし、解析の信頼性を向上させるためには、 $1 \times 3 \text{ mm}^2$ の試験片の数を増やす必要があります。

The adhesive/dentin interface of the plasma treated specimens and their untreated controls as examined by using an optical microscope. It was noted that the plasma treated specimens had less defects or voids existing at the dentin/adhesive/composite interface than the untreated same tooth controls. Moreover, the size of the voids at the interface was also smaller for the plasma treated specimens.

光学顕微鏡を使用して検査した、プラズマ処理した標本とその未処理の対照の接着材/象牙質界面。プラズマ処理された標本は、未処理の同じ歯の対照よりも、象牙質/接着剤/複合材料の界面に存在する欠陥または空隙が少ないことが注目された。さらに、界面の空隙のサイズも、プラズマ処理された試験片の方が小さくなりました。

In the backscatter mode SEM images, high atomic number elements backscatter electrons more strongly and appear brighter than low atomic number elements. Fig. 5 shows the representative backscattered images of fracture surfaces of the plasma treated specimens and their untreated same tooth controls after μTBS test. As seen from the images, the composite appeared brighter because of containing Ba and Si elements, while the adhesive and the etched dentin looked darker because they contain only C and O elements. The images of the fractured surfaces revealed that the untreated control specimens mainly failed at the adhesive/dentin interface with dentin exposed, while the plasma treated specimens showed a mixed failure with more cohesive failure of composite and Zapit. Through the SEM images with higher magnifications shown in Fig. 5, the dental tubules can be clearly seen on the exposed dentin surface due to adhesive pull out, while only composite was observed on the fractured surface for plasma treated specimens due to cohesive failure of the composite.

後方散乱モードのSEM画像では、原子番号の高い元素は電子をより強く後方散乱し、原子番号の低い元素よりも明るく見えます。Figs. 5は、 μTBS 試験後のプラズマ処理された標本と未処理の同じ歯の対照の破面の代表的な後方散乱画像を示しています。画像からわかるように、複合材料はBaとSi元素を含むためより明るく見えますが、接着材とエッチングされた象牙質はCとO元素のみを含むため暗く見えます。破面の画像から、未処理の対照標本は主に接着材と象牙質の界面で破壊し、象牙質が露出しているのに対し、プラズマ処理した標本は複合材とZapitのより凝集破壊を伴う混合破壊を示したことが明らかになりました。Figs. 5に示す高倍率のSEM画像では、接着剤の引き抜きにより露出した象牙質表面に歯細管がはっきりと確認できますが、プラズマ処理した標本の破面には凝集破壊により複合物のみが観察されます。

The quality of hybrid layer and resin tag were examined using SEM with the microbar test specimens prepared by the acid-bleach technique (16–19). As seen from the typical SEM images shown in Fig. 6 for plasma treated specimens and the untreated same tooth controls, the adhesive/collagen fibril hybrid layer and adhesive resin tags penetrated into tubules were clearly observed. Through Image J software the thickness of hybrid layer for plasma treated specimens was $1.92 \pm 0.15 \mu\text{m}$, which was apparently much thicker than that of $1.13 \pm 0.15 \mu\text{m}$ for untreated specimens. It was also noted the length of resin tags in plasma treated specimens was $38.47 \pm 10.80 \mu\text{m}$, which was much longer than the length of $20.17 \pm 5.50 \mu\text{m}$ in the untreated specimens.

ハイブリッド層と樹脂タグの品質は、酸漂白法で調製されたマイクロバー試験片を使用した SEM を使用して検査されました (16-19)。Figs.6に示すプラズマ処理標本と未処理の同じ対照歯の典型的なSEM画像からわかるように、細管に浸透した接着材/コラーゲンフィブリルハイブリッド層および接着性樹脂タグが明確に観察された。Image J ソフトウェアによると、プラズマ処理した標本のハイブリッド層の厚さは $1.92 \pm 0.15 \mu\text{m}$ で、未処理の標本の $1.13 \pm 0.15 \mu\text{m}$ よりも明らかに厚かったです。また、プラズマ処理した標本の樹脂タグの長さは $38.47 \pm 10.80 \mu\text{m}$ であり、未処理の標本の長さ $20.17 \pm 5.50 \mu\text{m}$ よりも明らかに長かったことにも注目しました。

Discussion 議論

Plasma treatment using inert gas argon has been widely used to modify biomaterial surface (19, 20). When electronically activated into plasma state, argon plasmas consist of many energetic and chemically reactive species including high energy electrons, ionic species, electronically excited neutrals, and free radicals, etc. These active species in argon plasmas can react with the treated surface and thus modify the surface chemistry and properties without affecting the bulk material properties (21, 22). It has been reported that, after treated with argon plasma, the water contact angle of collagen surface was significantly decreased (23, 24). Dentin surface contains a fibrous collagen network after removing drilling debris and some surface minerals by acid etching. Our recent results (7, 8) showed that, after argon plasma treatment, the hydrophilicity of the dentin surface was increased and an increased number of carbonyl groups were found on the surface. Surface hydrophilicity increase will improve the penetration of hydrophilic monomer components (e.g. hydroxyethylmethacrylate, HEMA) of dental adhesive into collagen fibrils and dentin tubules. After light curing, the penetrated monomers polymerize and provide micromechanical retention of resin to the dentin surface (1). Another reason for enhancing the adhesive/dentin bonding strength is that plasma treatment could introduce activated sites, such as free radicals or peroxides, to the dentin surface, which would initiate polymerization of adhesive monomers and graft resin onto the collagen fibrils through covalent chemical bonding. Our previous FT-IR result has shown that plasma treated dentin surface could induce HEMA graft polymerization on dentin collagen fibrils (7). It is indubitable that the covalent bond formation between HEMA and dentin collagen fibrils would lead to stronger adhesive/dentin bonding strength.

不活性ガスであるアルゴンを使用したプラズマ処理は、生体材料の表面を改質するために広く使用されています(19, 20)。電子的に活性化されてプラズマ状態になると、アルゴンプラズマは、高エネルギー電子、イオン種、電子的に励起された中性子、フリーラジカルなどを含む、多くのエネルギーと化学反応性の種で構成されます。アルゴンプラズマ中のこれらの活性種は、処理された表面と反応して、表面を改質する可能性があります。バルク材料の特性に影響を与えることなく、表面の化学的性質と特性を向上させることができます(21, 22)。アルゴンプラズマで処理した後、コラーゲン表面の水接触角が著しく減少したことが報告されている(23, 24)。象牙質の表面には、酸エッチングによって掘削破片と一部の表面ミネラルを除去した後、線維状のコラーゲンネットワークが含まれています。我々の最近の結果(7, 8)は、アルゴンプラズマ処理後、象牙質表面の親水性が増加し、表面にカルボニル基の数が増加したことを示しました。表面の親水性が高まると、歯科用接着剤の親水性モノマー成分(ヒドロキシエチルメタクリレート、HEMA など)のコラーゲン原線維や象牙質細管への浸透が向上します。光硬化後、浸透したモノマーが重合し、象牙質表面に樹脂を微細機械的に保持します(1)。接着材と象牙質の接着強度を高めるもう一つの理由は、プラズマ処理によりフリーラジカルや過酸化化物などの活性化部位が象牙質表面に導入され、共有結合による化学結合を介してコラーゲン原線維上で接着性モノマーとグラフト樹脂の重合が開始される可能性があることです。我々の以前のFT-IR結果は、プラズマ処理された象牙質表面が象牙質コラーゲン原線維上でHEMAグラフト重合を誘発する可能性があることを示しました(7)。HEMAと象牙質コラーゲン原線維間の共有結合の形成により、より強力な接着力/象牙質結合強度が得られることは疑いの余地がありません。

Our results shown in Figs. 1, 2 and 4 have evidently indicated that argon plasma treatment has significantly increased the bonding strength measured using micro-bar test specimens with cross-sectional area of both $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and $1 \times 2 \text{ mm}^2$. The mean bonding strength of plasma treated specimens with $1 \times 2 \text{ mm}^2$ interface area has been found showing 45% increase as compared with untreated specimens. It was also noted that (Table 1) the percentage of interface failure in the plasma treated specimens was less than that in the untreated specimens,

indicating the adhesive/dentin bonding strength of the plasma treated specimens was even stronger than the measured data by μ TBS test. Examination of the fractured surfaces using an optical microscope and SEM showed that (Table 1, Fig. 5) plasma treated specimens had more cohesive failure than the untreated controls. The SEM images shown in Fig. 6 also revealed that plasma treatment made the adhesive wet the dentin surface better and penetrate deeper into the tubules with longer resin tags when compared with the untreated controls.

我々の結果をFigs.2、3に示す。Figs.1、2および4は、断面積が $1 \times 1 \text{ mm}^2$ および $1 \times 2 \text{ mm}^2$ の両方のマイクロバー試験片を使用して測定した接合強度が、アルゴンプラズマ処理によって大幅に増加したことを明らかに示している。界面面積が $1 \times 2 \text{ mm}^2$ のプラズマ処理された試験片の平均結合強度は、未処理の試験片と比較して45%増加することがわかりました。また、プラズマ処理した標本における界面破損の割合 (Figs.1) は、未処理の標本よりも少なかったことにも注目してください。これは、プラズマ処理した標本の接着/象牙質接着強度が、 μ TBS テストによる測定データよりもさらに強かったことを示しています。光学顕微鏡とSEMを使用した破面の検査により、プラズマ処理された試験片は未処理の対照よりも凝集破壊が多いことがわかりました(Figs.1、Figs.5)。Figs.6に示すSEM画像は、未処理の対照と比較して、プラズマ処理により接着材が象牙質表面をよりよく濡らし、より長い樹脂タグを有する細管に深く浸透することも明らかにしました。

Examination of the micro-bar test specimens using an optical microscope indicated plasma treatment led to less voids or defects at the adhesive/dentin interface than the untreated controls. The voids or defects at the interface, which have also been observed in the previous work (25), would affect the bond strength measured data by μ TBS test. Finite-element analyses have shown the voids or defects in the adhesive/dentin interface induced the propagation of fracture (26, 27). A large number of voids at interface were associated with low bond strength. The voids also would expose collagen fibrils and result in an increased risk for collagen degradation and dentine sensitivity. In contrast, the increased surface hydrophilicity of dentin due to plasma treatment enhanced the diffusion and penetration of adhesive monomers into the collagen fibril network and tubules on dentin surface, which reduce the number of defects and voids at the adhesive/dentin interface and thus improve interface quality. 光学顕微鏡を使用したマイクロバー試験片の検査では、プラズマ処理により、未処理の対照よりも接着剤と象牙質の界面における空隙または欠陥が減少することが示されました。以前の研究(25)でも観察された界面のポイドまたは欠陥は、 μ TBSテストによる接着強度の測定データに影響を与える可能性があります。有限要素解析では、接着剤/象牙質界面の空隙または欠陥が破壊の伝播を引き起こすことが示されています(26、27)。界面に多数の空隙があると、接着強度が低くなります。また、空隙によりコラーゲン原線維が露出し、コラーゲンの分解と象牙質の知覚過敏のリスクが増加します。対照的に、プラズマ処理による象牙質の表面親水性の増加は、接着性モノマーの象牙質表面のコラーゲン原線維ネットワークと細管への拡散と浸透を促進し、接着材と象牙質の界面での欠損と空隙の数を減らし、界面を改善します。

As noticed in Figs. 3 and 4, for test specimens with an interface area of $1 \times 3 \text{ mm}^2$, the mean values of the measured bonding strength are clearly higher for the plasma treated specimens than those for the untreated controls, although statistically significant difference was not found between the plasma treated and untreated specimens. As shown in Fig. 6, however, examination of the adhesive/dentin interface with SEM showed that the plasma treated specimens had a thicker hybrid layer and longer resin tags than the untreated controls. This result indicates that plasma treatment provides an improved adhesive/dentin interface quality, which attributes to enhanced interfacial bonding strength (28).

Figs.2からわかるように。 Figs.3とFigs.4に示すように、界面面積 $1 \times 3 \text{ mm}^2$ の試験片の場合、測定された接合強度の平均値は、プラズマ処理した試験片の方が未処理の対照のものよりも明らかに高くなっていますが、プラズマとプラズマの間には統計的に有意な差は見つかりませんでした。処理済みの標本と未処理の標本。しかし、Figs.6に示すように、接着材/象牙質界面をSEMで検査すると、プラズマ処理した標本は未処理の対照よりも厚いハイブリッド層と長い樹脂タグを有することが示されました。この結果は、プラズマ処理により接着材/象牙質界面の品質が向上し、これが界面結合強度の向上に寄与することを示しています(28)。

There might be two reasons for no significant difference found within the specimens having $1 \times 3 \text{ mm}^2$ interface area.

First, it is probably due to the less number of test specimens. As shown in Tables 1 and 2, because of the larger cross-section area, only ~ 6 specimens, i.e. ~ 3 plasma treated and ~ 3 untreated, can be prepared from one single tooth, while there are 13–20 specimens with 1×2 mm² interface area and 13–25 specimens with 1×1 mm² interface area. With 4 teeth used for micro-bars with 1×3 mm² surface area, only 10 plasma treated test specimens were obtained along with 10 test specimens as their untreated controls. To achieve statistical significance, a larger sample size is necessary and more teeth will be needed. According to the analysis using the Sample Size function of QI Macros shown in Table 2, the number of samples with 1×1 mm² or 1×2 mm² interface area used in this study resulted in an accurate bonding strength with 90% confidence level and 4 MPa margin of error. To get the same confidence level analysis result, 8 more plasma treated and 12 more untreated specimens, equal to 4 – 5 more teeth, would be needed for 1×3 mm² interface area for the given standard deviation. Second, it is hard to measure the true ultimate bonding strength because of a large number of cohesive failures in composite, denting, and/or Zapit as summarized in Table 1. PASHLEY et al. reported that large bonded surface areas would produce cohesive failure at relatively low bond strengths (11). SANO et al. also found that when the cross-sectional area of bonded specimens is reduced, the number of cohesive failures fell down (9). Therefore, use of specimens with 1×3 mm² interface area might not be suitable for evaluating plasma treatment effects.

界面面積が 1×3 mm²の試験片内で有意な差が見つからない理由は2つ考えられます。まず、試験片の数が少ないことが原因です。Figs.1およびFigs.2に示すように、断面積が大きいと、1本の歯からは最大6個の標本しか準備できません。つまり、血漿処理済みの標本が最大3つ、未処理の標本が最大3つです。1本の歯から作製できますが、1×2 mm²の界面領域を持つ試験片は13~20個、界面領域が 1×1 mm²の試験片は13~25個あります。表面積1×3 mm²のマイクロバーに4つの歯を使用した場合、未処理の対照として10個の試験片とともに、プラズマ処理された試験片が10個しか得られませんでした。統計的有意性を達成するには、より大きなサンプルサイズが必要であり、より多くの歯が必要になります。Figs.2に示すQI マクロのサンプルサイズ関数を使用した分析によると、この研究で使用した1×1 mm²または1×2mm²の界面領域を持つサンプルの数により、90%の信頼水準と4Mpaの正確な接着強度が得られました。MPaは誤差の範囲です。同じ信頼水準の分析結果を得るには、所定の標準偏差の1×3 mm²界面面積に対して、さらに8個のプラズマ処理済みの標本とさらに12個の未処理の標本が必要になります。これは歯の4~5本に相当します。第2に、Figs.1にまとめられているように、複合材、へこみ、および/またはZapitには多数の凝集破壊が発生するため、真の極限接着強度を測定するのは困難です。大きな接着表面積が比較的低い接着強度で凝集破壊を引き起こすことを報告しました(11)。Sanoetalまた、接着された試験片の断面積が減少すると、凝集破壊の数が減少することも発見しました(9)。したがって、界面面積が 1×3 mm²の試験片の使用は、プラズマ処理の効果を評価するには適さない可能性があります。

In this study, we were able to evaluate plasma treatment effects using the same tooth controls. It is known that tubule size, orientation and water content of dentin vary widely from tooth to tooth (29), which significantly influence the adhesive/dentin bonding strength. Different tubule size and orientation will lead to difference in adhesive permeability (1). Water content of dentin is another factor that affects interface bonding because dental adhesive systems are very sensitive to the water content on dentin surface (30). An under-wet surface will lead to the collapse of collagen fibrils. On the other hand, an over-wet surface will lead to adhesive phase separation (31). As shown in Figs. 1–3, even with the untreated controls, the adhesive/dentin bonding strength varied from tooth to tooth. By using the same tooth controls, in this study, we were able to evaluate the plasma treatment effectiveness in improving adhesive/dentin interface quality and the resultant interfacial bonding strength by eliminating the effects of individual teeth that usually have the huge difference in composition, tubule size and orientation, etc.

この研究では、同じ歯の対照を使用してプラズマ治療の効果を評価することができました。象牙質の細管のサイズ、配向、含水量は歯ごとに大きく異なり(29)、接着材と象牙質の接着強度に大きな影響を与えることが知られています。細管のサイズと向きが異なると、接着材の透過性が異なります(1)。

歯科用接着材システムは象牙質表面の水分に非常に敏感であるため、象牙質の水分含有量は界面結合に影響を与えるもう1つの要因です(30)。表面が濡れていないと、コラーゲン原線維が崩壊します。一方、表面が過度に濡れていると、接着剤相の分離が生じます(31)。Figs.1、2に示すように。Figs.1から3に示すように、未治療の対照であっても、接着材と象牙質の接着強度は歯ごとに異なります。この研究では、同じ歯のコントロールを使用することで、組成や細管に大きな違いがある個々の歯の

影響を排除することで、接着材/象牙質界面の品質と、その結果として生じる界面結合強度の改善におけるプラズマ治療の有効性を評価することができました。

Our experimental study evidently demonstrated the effects and effectiveness of plasma treatment on improving adhesive/dentin interface bonding by using the same tooth controls and varying the interface area of the microbar test specimens. The experimental results showed that, using micro-bar test specimens with interface areas of $1 \times 1 \text{ mm}^2$ and $1 \times 2 \text{ mm}^2$, the adhesive/dentin bonding strengths were significantly enhanced by non-thermal argon plasma treatment. Microscopic examination of the fractured surfaces using both optical microscopy and SEM revealed that plasma treatment could reduce the interface defects/voids and thus improve the interface quality, which could be attributed to the increased hydrophilicity on dentin surface by plasma treatment. On the other hand, microbar test specimens with an interface area of $1 \times 3 \text{ mm}^2$ were found not being suitable for evaluating plasma treatment effects using the same tooth controls because of a small quantity of specimens from each single tooth and a large number of cohesive failures of the test specimens. In conclusion, the experimental results from this study further demonstrate that non-thermal argon plasma treatment is very effective in improving adhesive/dentin interface bonding strength, which is crucial for increasing longevity of dental composite restorations.

私たちの実験研究は、同じ歯のコントロールを使用し、マイクロバー試験片の界面領域を変えることにより、接着材と象牙質の界面結合を改善するプラズマ処理の効果と有効性を明らかに実証しました。実験結果は、界面面積が $1 \times 1 \text{ mm}^2$ および $1 \times 2 \text{ mm}^2$ のマイクロバー試験片を使用した場合、非熱的アルゴンプラズマ処理により接着材と象牙質の接着強度が大幅に向上することを示しました。光学顕微鏡とSEMの両方を使用した破面の顕微鏡検査により、プラズマ処理により界面の欠陥/空隙が減少し、界面の品質が向上することが明らかになりました。これは、プラズマ処理によって象牙質表面の親水性が増加したことに起因すると考えられます。一方、界面面積 $1 \times 3 \text{ mm}^2$ のマイクロバー試験片は、各単一歯からの試料の量が少なく、多数の凝集破壊が発生するため、同じ歯の対照を使用してプラズマ治療効果を評価するには適していないことがわかりました。結論として、この研究の実験結果は、非熱的アルゴンプラズマ治療が接着材と象牙質界面の接着強度を向上させるのに非常に効果的であることをさらに実証しており、これは歯科用複合修復物の寿命を延ばすために重要である。

Acknowledgments 謝辞

This study was supported, in part, by the US National Institute of Health (NIH) under grant numbers of 5R01DE021431 and 5R44DE019041. The authors would thank Drs. Thomas E. Coyle D.D.S., John A. Johnson D.D.S., and Timothy T. Coyle, D.D.S., M.D. from Coyle & Johnson Oral and Maxillofacial Surgery for providing the extracted human teeth.

References 参考文献

1. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J. Dent.* 1997; 25:355–372. [PubMed: 9241954]
2. Eick J, Robinson S, Cobb C, Chappell R, SPENCER P. The dentinal surface: its influence on dentinal adhesion. 2. *Quintessence Int.* (Berlin, Germany; 1985). 1992; 23:43.
3. Kunio I, Yoshinori K, Takeshi E. A review of the developments of self-etching primers and adhesives —Effects of acidic adhesive monomers and polymerization initiators on bonding to ground, smear layer-covered teeth. *Dent. Mater. J.* 2011; 30:769–789.
4. Fang M, Liu R, Xiao Y, Li F, Wang D, Hou R, Chen J. Biomodification to dentin by a natural crosslinker improved the resin–dentin bonds. *J. Dent.* 2012; 40:458–466. [PubMed: 22366684]
5. Magne P, So WS, Cascione D. Immediate dentin sealing supports delayed restoration placement. *J. Prosthet. Dent.* 2007; 98:166–174. [PubMed: 17854617]
6. Sadat-Shojai M, Atai M, Nodehi A, Khanlar LN. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application. *Dent. Mater.* 2010; 26:471–482. [PubMed: 20153516]
7. Yu, QS.; Li, H.; Ritts, AC.; Yang, B.; Chen, M.; Hong, L.; Wang, Y. Non-thermal atmospheric plasma treatment for deactivation of oral bacteria and improvement of dental composite restoration. In: Machala, Z.; Hensel, K.; Akishev, Y., editors. *Plasma for Bio-Decontamination, Medicine and Food Security.* Netherlands: Springer; 2012. p. 215–228.
8. Ritts AC, Li H, Yu Q, Xu C, Yao X, Hong L. Dentin surface treatment using a non-thermal argon plasma brush for interfacial bonding

- improvement in composite restoration. *Eur. J. Oral Sci.* 2010; 118:510–516. [PubMed: 20831586]
- 9.Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength — Evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent. Mater.* 1994; 10:236–240. [PubMed: 7664990]
- 10.Phrukkanon S, Burrow MF, TYAS MJ. The influence of cross-sectional shape and surface area on the microtensile bond test. *Dent. Mater.* 1998; 14:212–221. [PubMed: 10196798]
- 11.Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent. Mater.* 1995; 11:117–125. [PubMed: 8621032]
- 12.Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J. Dent.* 1997; 25:441–458. [PubMed: 9604576]
- 13.Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. *Dent. Mater.* 1990; 6:45–50. [PubMed: 2198182]
- 14.Pereira PNR, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strength. *Dent. Mater.* 1999; 15:46–53. [PubMed: 10483395]
- 15.Wang Y, Spencer P, Hager C, Bohaty B. Comparison of interfacial characteristics of adhesive bonding to superficial versus deep dentine using SEM and staining techniques. *J. Dent.* 2006; 34:26–34. [PubMed: 15907359]
- 16.Shin TP, Yao X, Huenergardt R, Walker MP, Wang Y. Morphological and chemical characterization of bonding hydrophobic adhesive to dentin using ethanol wet bonding technique. *Dent. Mater.* 2009; 25:1050–1057. [PubMed: 19371945]
- 17.Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent. Mater.* 1992; 8:125–130. [PubMed: 1521692]
- 18.Guo X, Spencer P, Wang Y, Ye Q, Yao X, Williams K. Effects of a solubility enhancer on penetration of hydrophobic component in model adhesives into wet demineralized dentin. *Dent. Mater.* 2007; 23:1473–1481. [PubMed: 17316781]
- 19.Huang N, Yang P, Leng Y, Wang J, Sun H, Chen J. Surface modification of biomaterials by plasma immersion ion implantation. *Surf. Coat. Tech.* 2004; 186:218–226.
- 20.Chu PK, Chen J, Wang L, Huang N. Plasma-surface modification of biomaterials. *Mat. Sci. Eng. R.* 2002; 36:143–206.
- 21.Milinchuk V. Photoradiation chemistry of polymers. *Nucl. Instrum. Meth. B.* 1995; 105:24–29.
- 22.Prat R, Shi MK, Clouet F. Interactions of Cold Plasmas with Polymers and Their Model Molecules: Degradation vs. Functionalization. *J. Macromol. Sci. A.* 1997; 34:471–488.
- 23.García JL, Asadinezhad A, Pachernik J, Lehocký M, Junkar I, Humpolíček P. Cell proliferation of HaCaT keratinocytes on collagen films modified by argon plasma treatment. *Molecules.* 2010; 15:2845–2856. [PubMed: 20428083]
- 24.Rafat M, Griffith M, Hakim M, Muzakare L, Li F, Khulbe KC. Plasma surface modification and characterization of collagen-based artificial cornea for enhanced epithelialization. *J. Appl. Polym. Sci.* 2007; 106:2056–2064.
- 25.Mollica F, De Santis R, Ambrosio L, Nicolais L, Prisco D, Rengo S. Mechanical and leakage behaviour of the dentin–adhesive interface. *J. Mater. Sci.-Mater. M.* 2004; 15:485–492. [PubMed: 15332622]
- 26.Van Noort R, Noroozi S, Howard I, Cardew G. A critique of bond strength measurements. *J. Dent.* 1989; 17:61–67. [PubMed: 2659632]
- 27.Van Noort R, Cardew G, Howard I, Noroozi S. The effect of local interfacial geometry on the measurement of the tensile bond strength to dentin. *J. Dent. Res.* 1991; 70:889–893. [PubMed: 1827133]
- 28.Hashimoto M, Ohno H, Endo K, Kaga M, Sano H, Oguchi H. The effect of hybrid layer thickness on bond strength: demineralized dentin zone of the hybrid layer. *Dent. Mater.* 2000; 16:406–411. [PubMed: 10967189]
- 29.Schilke R, Lisson Ja, Bau O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. *Arch. Oral Biol.* 2000; 45:355–361. [PubMed: 10739856]
- 30.da Silveira Pereira GD, Paulillo L, De Goes MF, Dos Santos Dias CT. How wet should dentin be? Comparison of methods to remove excess water during moist bonding. *J. Adhes. Dent.* 2001; 3:257–264. [PubMed: 11803713]
- 31.Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002; 62:447–456. [PubMed: 12209931]

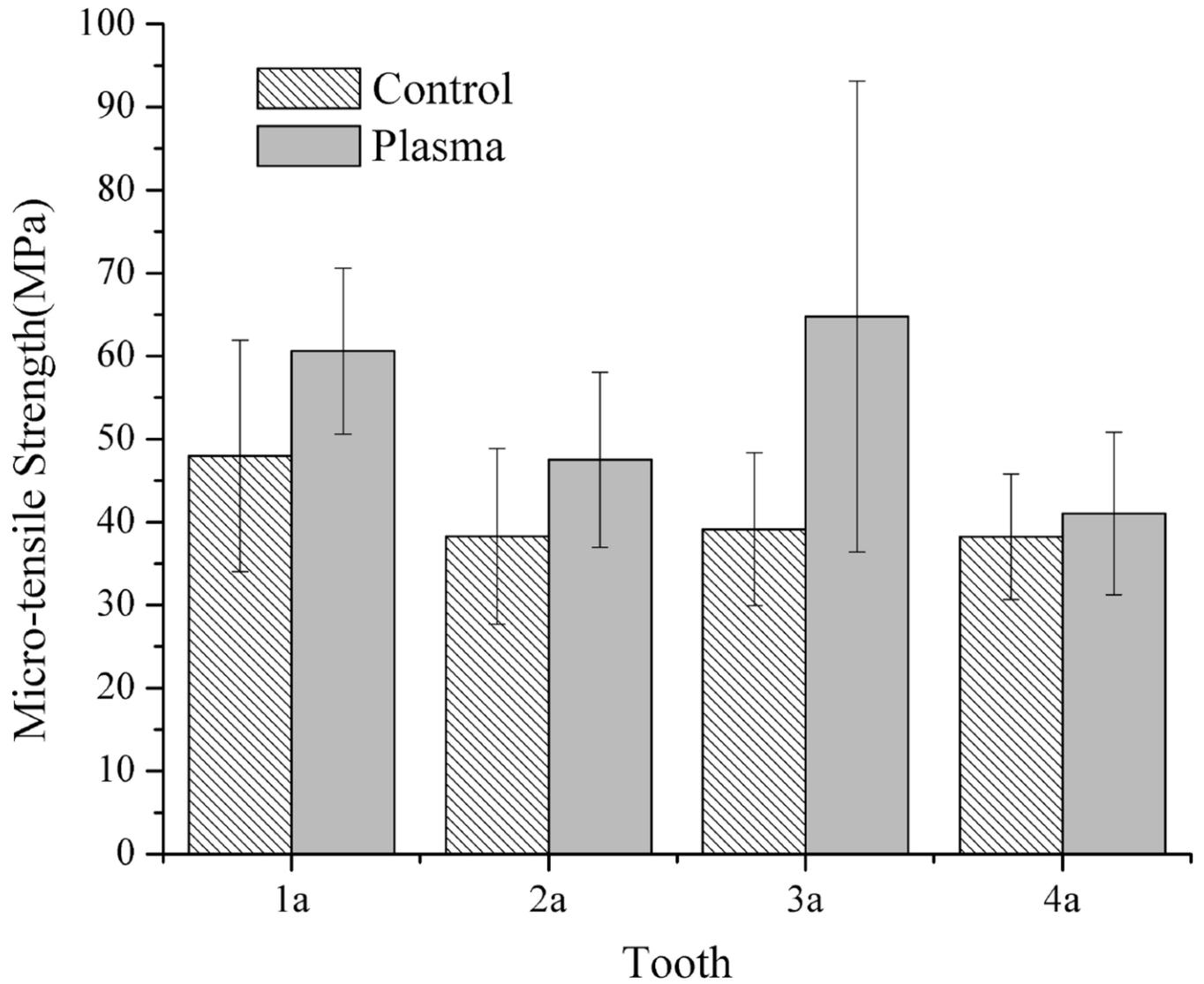


Figure 1.
Comparison of micro-tensile strength of $1 \times 1 \text{ mm}^2$ specimens treated with plasma and the untreated same tooth controls

プラズマで処理した $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 試験片と未処理の同じ歯の対照の微小引張強度の比較

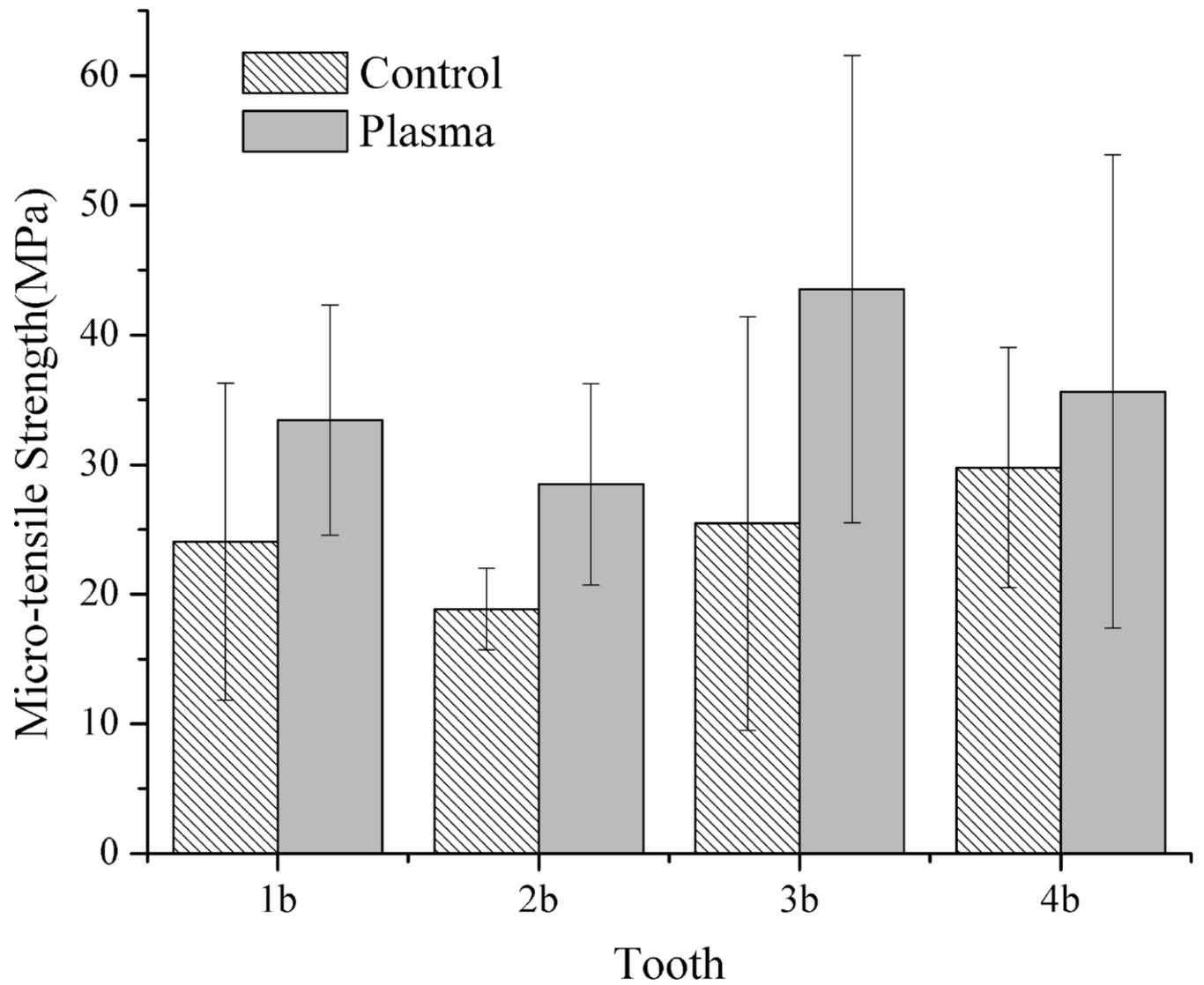


Figure 2.
Comparison of micro-tensile strength of $1 \times 2 \text{ mm}^2$ specimens treated with plasma and the untreated same tooth controls
プラズマで処理した $1 \times 2 \text{ mm}^2$ 試験片と未処理の同じ歯の対照の微小引張強度の比較

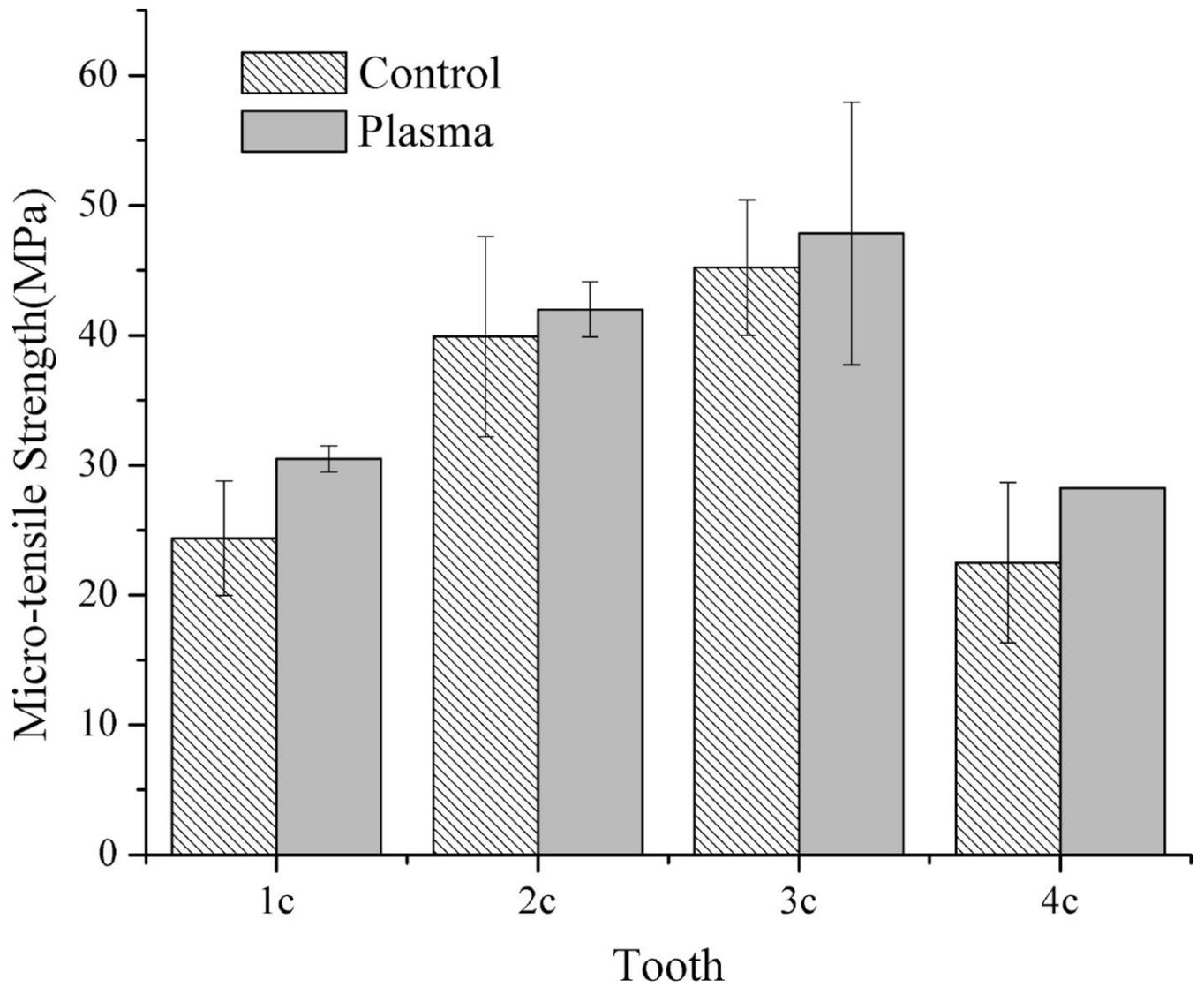
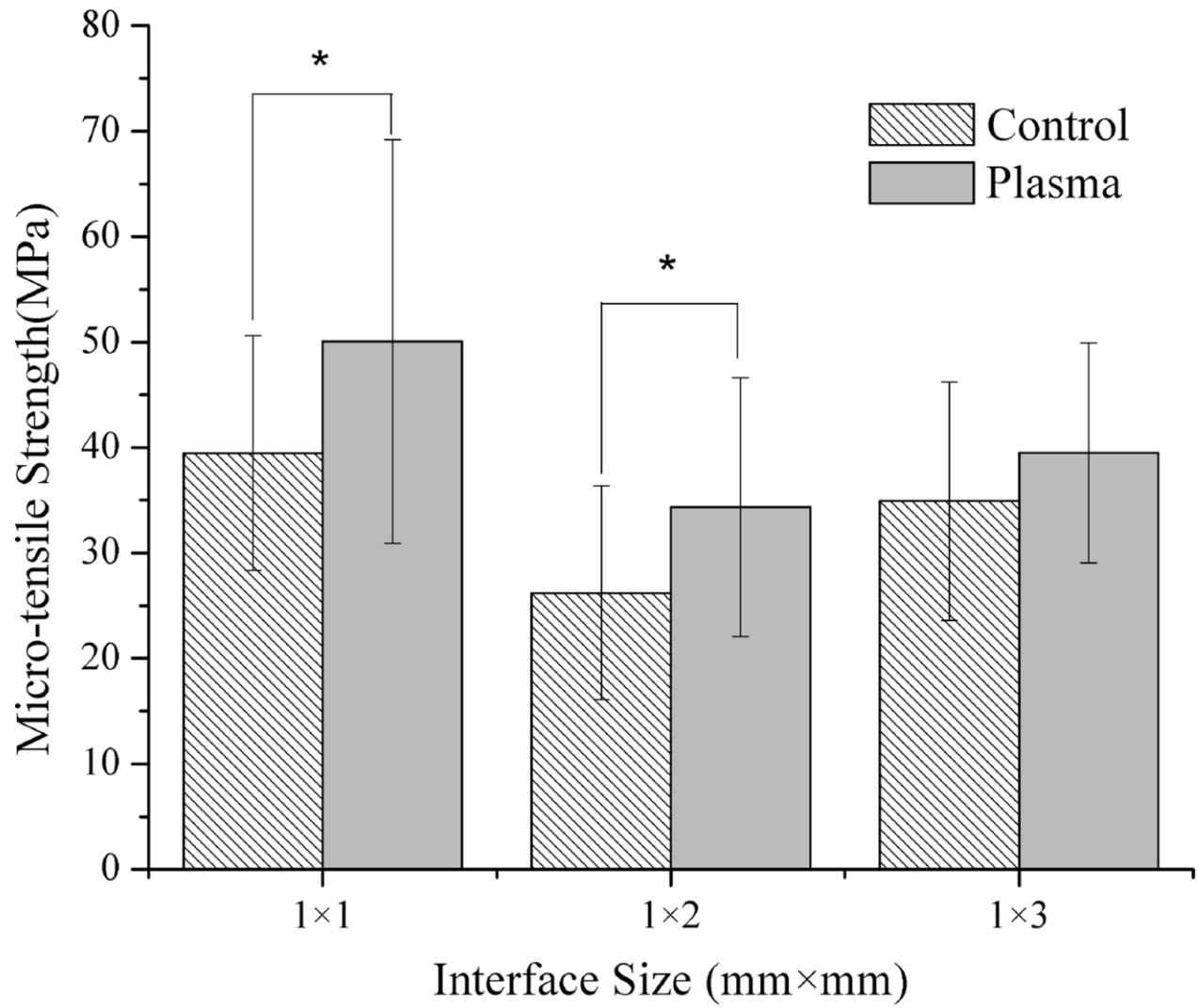


Figure 3.
Comparison of micro-tensile strength of $1 \times 3 \text{ mm}^2$ specimens treated with plasma and the untreated same tooth controls
プラズマ処理した $1 \times 3 \text{ mm}^2$ 試験片と未処理の同じ対照歯の微小引張強度の比較



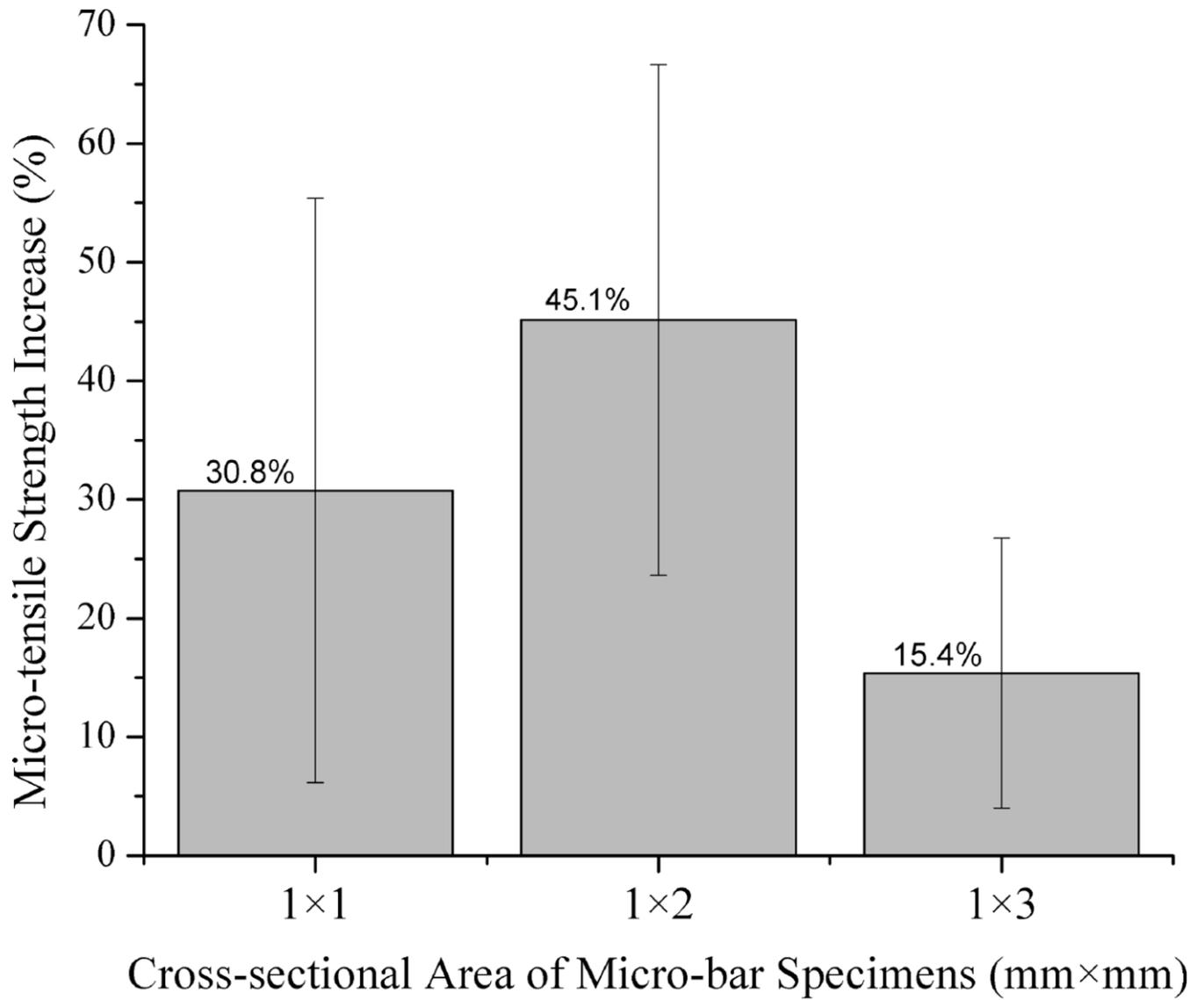


Figure 4.

Comprehensive comparison of micro-tensile strength of specimens of different interface size treated with plasma and the untreated controls of all teeth. * represents the significant difference ($p < 0.01$).

プラズマで処理したさまざまな界面サイズの試験片とすべての歯の未処理の対照の微小引張強度の包括的な比較。*は有意差を表します ($p < 0.01$)。

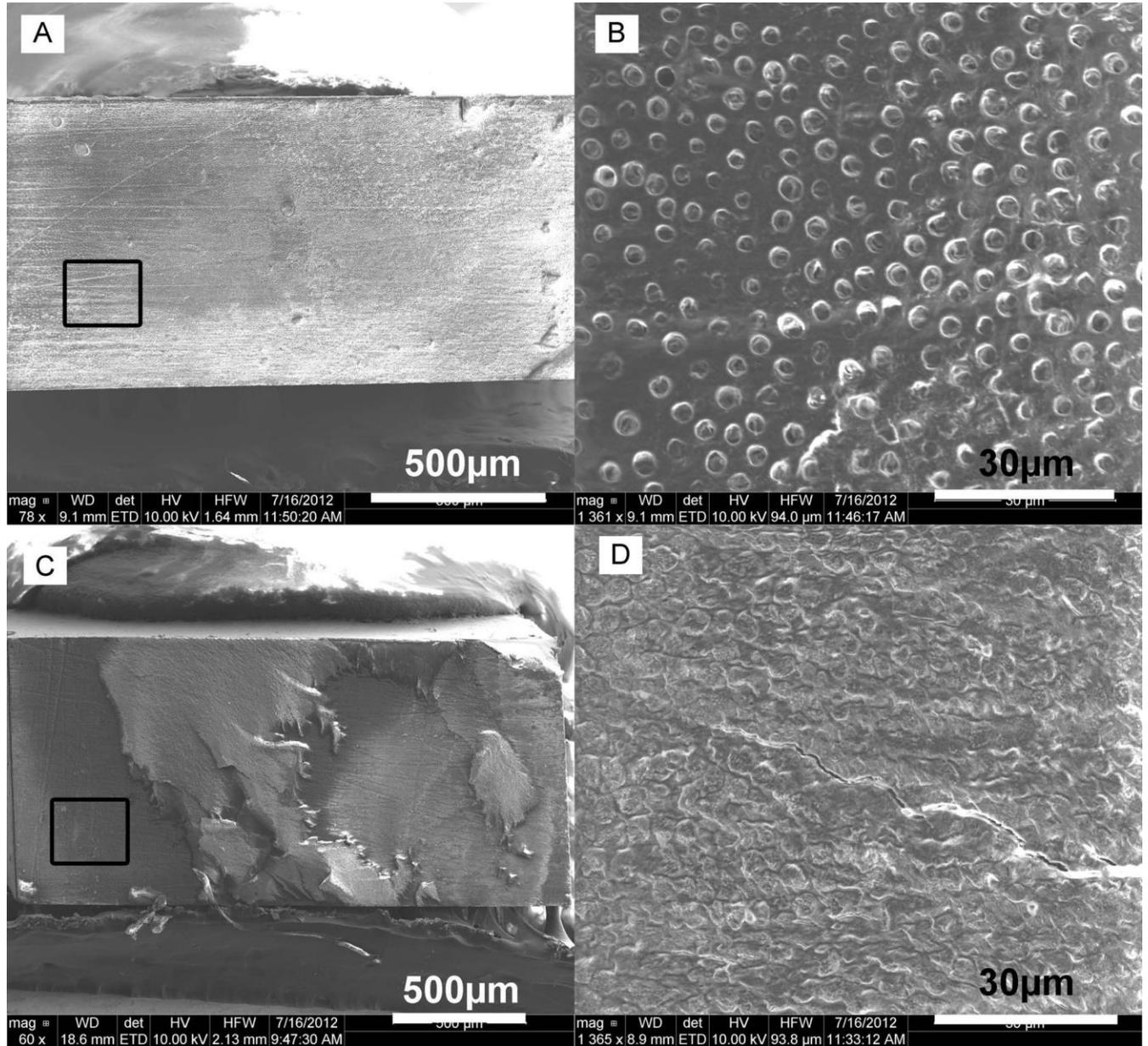


Figure 5. Representative backscattered SEM micrographs of the fractured surfaces of (A, B) untreated specimens, and (C, D) plasma treated specimens form tooth 2b with the $1 \times 2 \text{ mm}^2$ interface area at different magnifications.

(A, B) 未処理試験片、および(C, D) プラズマ処理試験片の破面の代表的な後方散乱 SEM 顕微鏡写真。 $1 \times 2 \text{ mm}^2$ の界面領域を持つ歯2bを形成します。異なる倍率で表示されます。

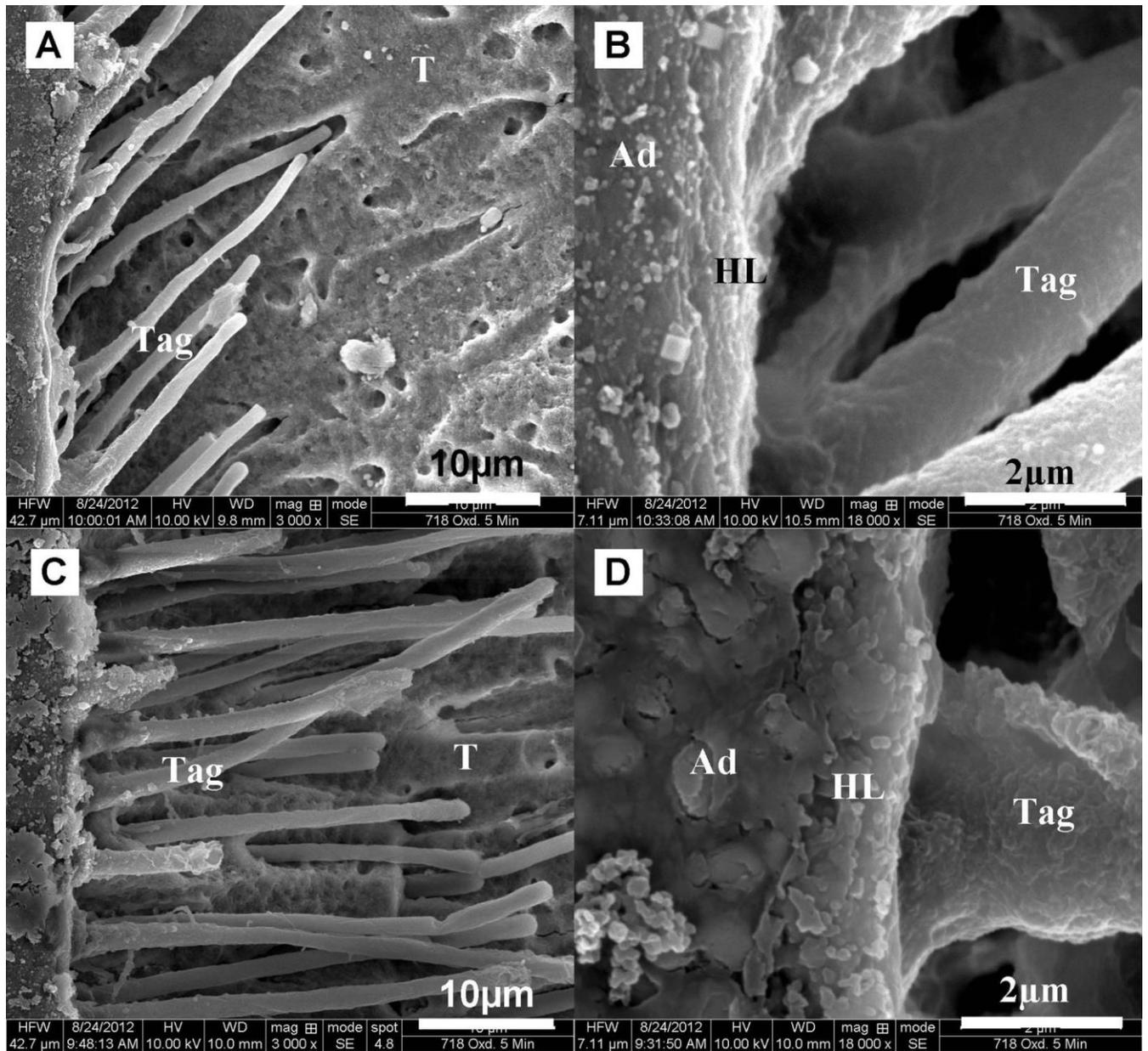


Figure 6.

Representative SEM images of acid-bleach treatment interface of (A, B) untreated specimens, and (C, D) plasma-treated test specimens from tooth 3a with the 1×3 mm² interface area

(A, B) 未処理の試験片、および(C, D) 1×3mm²の界面領域を持つ歯3aのプラズマ処理試験片の酸漂白処理界面の代表的なSEM画像

Table 1

Number of the micro-bars and the percentage of each failure mode of the μ TBS tested specimens obtained from each tooth with cross-section size of $1 \times 1 \text{ mm}^2$, $1 \times 2 \text{ mm}^2$, and $3 \times 3 \text{ mm}^2$.

断面サイズが $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 、 $1 \times 2 \text{ mm}^2$ 、 $3 \times 3 \text{ mm}^2$ の各歯から得られた μ TBS試験片のマイクロバーの数と各破損モードの割合。

Micro-bar cross-section	Tooth	1		2		3		4	
		1.5sma treated	Control						
	c o-bars	9	5	16	9	7	9	8	5
$1 \times 1 \text{ mm}^2$	<i>Interface & mixed failure</i> * (%)	33	60	63	44	29	44	100	100
	<i>Cohesive failure</i> * (%)	67	40	27	56	71	56	0	0
	Number of micro-bars	9	5	8	5	7	8	11	9
$1 \times 2 \text{ mm}^2$	<i>Interface & mixed failure</i> (%)	33	80	100	100	71	100	82	89
	<i>Cohesive failure</i> (%)	67	20	0	0	29	0	18	11
	Number of micro-bars	3	2	2	3	4	3	1	2
$1 \times 3 \text{ mm}^2$	<i>Interface & mixed failure</i> (%)	33	50	0	67	50	33	100	100
	<i>Cohesive failure</i> (%)	67	50	100	33	50	67	0	0

* **Interface failure**: fracture occurred in adhesive with no fractured dentin on the resin and no remnants of resin on the dentin surfaces; **Cohesive failure**: fracture is completely located in dentin, resin or Zapit; **Mixed failure**: test specimen shows both interface and cohesive failures

※接着剤を用いて形成した接着の破壊には、接着剤と被着体の界面破壊**Interface failure** (あるいは接着破壊)と、接着剤層内で破壊が起こる凝集破壊**Cohesive failure**がある。また、接着剤が強く被着体自身が破壊する場合は被着体の凝集破壊**Mixed failure** (被着体破壊)である

Table 2

Total number of the micro-bars for each cross-section size and estimation of sample size at a specified confidence level and error using QI Macros.

QI マクロを使用した、各断面サイズのマイクロバーの総数と、指定された信頼水準でのサンプル サイズの推定値および誤差

Cross-sectional	1×1 mm ²		1×2 mm ²		1×3 mm ²	
	Lasma treated	Control	Lasma treated	Control	Lasma treated	Control
Total number of micro-bars	40	28	35	27	10	10
Predicted sample size	33	21	25	17	18	22
Confidence level (%)	90	90	90	90	90	90
Error (MPa)	± 5	± 4	± 4	± 4	± 4	± 4