

学位研究紹介

ケイ酸カルシウム系覆髄材のラット皮下への移植による生体活性とバイオミネラルリゼーション能力の評価

Bioactivity and biomineralization ability of calcium silicate-based pulp-capping materials as evaluated with subcutaneous implantation into rats

新潟大学大学院医歯学総合研究科
口腔健康科学講座 歯学分野

日向 剛

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics,
Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate
School of Medical and Dental Sciences

Go Hinata

【緒 言】

近年、Mineral Trioxide Aggregate (MTA) をはじめとするケイ酸カルシウム系歯内療法用材料は、硬化体からの Ca^{2+} 、 OH^- などのイオン放出に基づく生体機能性を示すことが知られており、直接覆髄法で従来の水酸化カルシウム製剤と同等以上の臨床成績を示すとの報告もなされている^{1,2)}。また、現在では様々なケイ酸カルシウム系歯内療法用材料が開発、市販されているが、これらの材料の生体内での挙動に関する知見は未だ十分とはいえない。そこで、本研究では材型の異なるケイ酸カルシウム系覆髄材をラット背部皮下組織に埋入し、結合組織と接する材料表面における析出物の微細構造学的観察ならびに組成分析を行った。さらに、結合組織と材料

界面におけるカルシウムとリンの分布分析を行い、ケイ酸カルシウム系覆髄材の生体活性ならびにバイオミネラルリゼーション能力について検討した。

【材料と方法】

ケイ酸カルシウム系覆髄材として、White ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental), TheraCal LC (光硬化型ケイ酸カルシウム系覆髄材: Bisco), および試作覆髄材 (日本歯科薬品) の3種を使用した (表1)。滅菌 PTFE チューブ (内径 2 mm, 外形 3 mm, 長さ 5 mm) にメーカーの指示に従って練和した材料を填入し、初期硬化後あるいは光重合による硬化後、直ちに4週齢 Wistar 系雄性ラット背部皮下組織内に埋入、縫合した。1, 2, 4週後に移植体を周囲結合組織とともに摘出し、カコジル酸緩衝 2.5% グルタルアルデヒド固定液で24時間浸漬固定した。その後、10%次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬することで周囲結合組織を除去し、被験材表面における析出物の微細構造を走査電子顕微鏡 (SEM: S2300, 日立) にて観察するとともに、波長分散型マイクロアナライザー (EPMA: EPMA1610, 島津) による組成分析を行った。さらに、結合組織と材料の界面における元素分布分析のために、結合組織と材料を一塊にして取り出し、臨界点乾燥、樹脂包埋後、組織-材料界面部のカルシウムとリンの分布について EPMA によるマッピング分析を行った。なお、本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施された (承認番号: 207号3)。

【結果と考察】

SEM 観察において、各種実験材料表面に類球形の析出物が生成された。析出物の径は経時的に増大する傾向

表1 本研究で用いた材料の成分表

材料	製造業者	成分
ProRoot MTA	Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA	粉: ケイ酸カルシウム (C3S, C2S), アルミン酸三カルシウム, 酸化ビスマス, 硫酸カルシウム 液: 精製水
TheraCal LC	Bisco, Schaumburg, IL, USA	ペースト: 酸化カルシウム, III型ポルトランドセメント粉末, ストロンチウムガラス, フェームドシリカ, 硫酸バリウム, 酸化バリウムジルコニウム, レジン (Bis-GMA, PEGDMA)
試作ケイ酸カルシウムセメント	日本歯科薬品, 下関	粉: ケイ酸三カルシウム, 酸化ジルコニウム, 硫化カルシウム 液: 純水, メチルセルロース類

を示し、4週後で White ProRoot MTA 群では約 $10\mu\text{m}$ 程度であったが、試作覆髄材群では約 $5\mu\text{m}$ 、TheraCal LC 群では約 $3\mu\text{m}$ であり、White ProRoot MTA 群に比べ、試作覆髄材群および TheraCal LC 群では析出物の径が小さくなる傾向が認められた。また、EPMA 分析によりこれら析出物がカルシウムおよびリンを主たる構成元素とすることが確認された (図1)。また、結合組織と材料の界面部の EPMA によるマッピング分析においても、カルシウムおよびリンの高濃度領域がほぼ一致して観察された (図2)。

ケイ酸カルシウム系歯内療法用材料をリン酸含有生理食塩水 (PBS) 中に浸漬するとアパタイトを含むリン酸カルシウムが形成されることが報告されている³⁾。本研究の結果から、生体内においても結合組織と接した各種ケイ酸カルシウム系覆髄材の表面にカルシウムとリンを含む結晶様構造物が析出することが観察され、各材料と

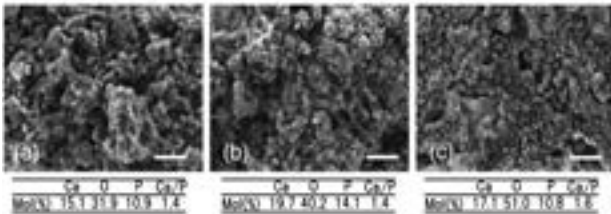


図1. 材料表面の微細構造学的観察と成分分析 (14日経過例)
各被験材表面に類球形の析出物が観察される (a, ProRoot MTA; b, TheraCal LC; c, 試作ケイ酸カルシウムセメント)。成分の定性分析の結果は、これらの析出物がカルシウムとリンを豊富に含む構造物であることを示している。(bar: $10\mu\text{m}$)

もカルシウムイオンの放出に基づく生体機能性を生体内で発揮していることが示唆された。また、析出物の形状の相違は、各材料の組成やカルシウム放出量の相違と関連することが推測された。

【結 論】

ケイ酸カルシウム系覆髄材をラット皮下組織内に移植すると、結合組織と接する材料表面にリン酸カルシウム結晶様構造物が析出することが示された。

【参考文献】

- 1) Okiji T, Yoshida K: Reparative dentinogenesis induced by mineral trioxide aggregate: a review from the biological and physicochemical points of view. *Int J Dent* 2009; 464280, Doi:10.1155/2009/464280, 2009.
- 2) Hilton TJ, Ferracane JL, Mancl L: Comparison of CaOH with MTA for direct pulp capping: a PBRN randomized clinical trial. *J Dent Res*, 92: 16S-22S, 2013.
- 3) Han L, Okiji T: Bioactivity evaluation of three calciumsilicate-based endodontic materials. *Int Endod J*, 46: 808-814, 2013.

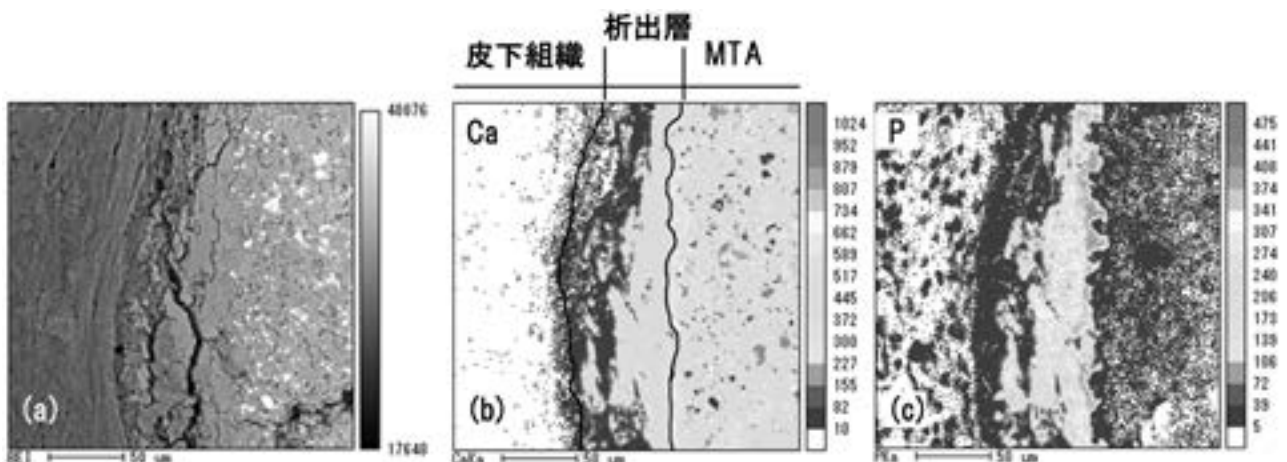


図2. ProRoot MTA と組織界面部における成分分布分析 (14日経過例)

結合組織と材料界面部の SEM 像 (a)。マッピング分析によりカルシウム (b) とリン (c) の高濃度領域が一致して観察される。