

令和元年5月24日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11141

研究課題名(和文) 生体活性ガラス、TCPおよびポリグルタミン酸からなる歯内治療用セメントの創製

研究課題名(英文) Development of cement for endodontic therapy consisting of bioactive glass, alpha-TCP, and poly-glutamic acid

研究代表者

泉 利雄 (Izumi, Toshio)

福岡歯科大学・口腔歯学部・准教授

研究者番号：40248547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：生体活性ガラス(以下BAG)にStrontium(以下Sr)を含有させた粒子状BAGは、骨欠損部の硬組織形成を促進するが、骨欠損部の出血による粒子の流失・溶解により硬組織形成がない部位が生じやすい。また、TCPのないセメントの方がより吸収性が増加し置換性が増加することが明らかになったため、ポリグルタミン酸(以下-PGA)とBAG粒子との練和物からdisc状硬化体を作製した。このdiscは、実験期間中硬組織欠損部に留まっており、discから放出されるSrが欠損部の硬組織形成を促進する可能性があることが示唆された。今後この硬化体の歯内治療での応用を検討する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BAGを歯内治療に応用したものとして、根管充填材の成分の一つとして使用した報告はあるが、その他の応用例はほとんどない。また、Sr-BAGを歯内治療に応用した報告はない。ガラス粒子のみを封鎖材として使用する場合、粒子径が大きいと粒子間の隙間が死腔になり感染を起こしやすく硬組織形成を阻害することになり、逆に小さすぎると大食細胞による異物反応が生じ炎症を引き起こす。粒子間の死腔をなくすため、および、組織液と接触した粒子が拡散しないためにも結合材を用いる必要がでてきた。結合材として-PGAとリン酸溶液を初めて応用した。

研究成果の概要(英文)：In order to avoid washing away or dissolution of the particles during the bleeding at the bone defects, we made the hardened material that consists of Bioactive glass (BAG) particles and -poly-glutamic acid (PGA). BAG without Sr(Sr0), and BAG (Sr100) containing 20SrO (wt %) were prepared. Then we mixed the powders and 5% -PGA, and got the discs. At 3 months after the operation, new bone formation was not observed around the Sr0 discs and at the center of the defects. New bone formation was observed at the surfaces of the Sr100 discs, and on the dura mater. New bone formation of Sr100 disc group increased than that of Sr0 disc group significantly. The present study suggested that Sr-containing BAG discs should be maintained in the bone defects, and that Sr released from the disc should enhance osteogenesis at rat calvarial defects. The endodontic application of the disc should be further considered.

研究分野：歯内療法学

キーワード：生体活性ガラス ストロンチウム ポリグルタミン酸 骨形成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

BAG は、骨伝導能を有し骨の形成を促す。臨床的には骨の補填材として、使用されている。Sr には前骨芽細胞から骨芽細胞への分化を促進し、破骨細胞の分化を抑制し、その働きを阻害する効果がある。私達は BAG 中の Ca を一部置換して Sr-BAG を作製し、生体内に応用した際 BAG 表層が溶解し Sr が放出される事で、Sr の骨形成促進効果を BAG に導入することができた。 α -TCP はリン酸カルシウムセメントの主成分の一つで、その優れた生体親和性と硬組織誘導能が注目されてきた。水系硬化液 Na_2HPO_4 と練和すると自己硬化し、ハイドロキシアパタイトに相変換することが知られている。しかし練和後セメントペーストは組織液との接触により分散し、硬化遅延もしくは硬化不全が生じ機械的性質が劣化する問題点がある。

PGA は 納豆のネバネバの主成分であり、生体親和性と生分解性を持つ粘稠なポリマーである。 α -TCP と Na_2HPO_4 との反応系に PGA を混入すると練和直後の分散が抑制され、水和硬化を促進することができた。PGA と BAG 粒子から、より効果的に硬化体を生じさせるため、PGA と α -TCP との硬化反応を利用しようと考えた。

2. 研究の目的

Sr を含有する BAG、水和すると自己硬化する α -TCP、および粘稠なポリマーである PGA からなる新たな歯内治療用セメントの創製を目指す。

3. 研究の方法

(1) BAG (SiO_2 53% CaO 20% Na_2O 23% P_2O_5 4%) 中 CaO をすべて SrO に置換したもの・Sr100 を溶融法で合成、粉碎し、ふるいを通して粒子径40 μm 以下の粉末を得た。

(2) α TCP : Sr100 を重量比1:1、2:1、4:1で混和した粉末を作製し、5% γ PGA + 0.25mol/l Na_2HPO_4 と粉液比2で練和しディスク状の硬化体を作製した。Sr100の硬化体は重量比1:1の硬化体が生理食塩水中で崩壊しなかった。 α TCP : Sr100 を重量比1:1で混和した粉末に、重量比1:1となるように硫酸カルシウムを混和し、精製水で連和し硬化体を得た。 α TCPとSr100との比率で α TCPを減少させると硬化体の強度には変化がなく硬化体は経時的に吸収され、骨置換性が増加することが明らかになった。

(3) Sr100と硫酸カルシウムを重量比1:1で混和した粉末と生理食塩水を粉液比2で混和し硬化することを確認した。18匹のSD系ラットの上顎左右第一臼歯の咬合面に窩洞形成し露髄させ幹部歯髄を除去した後、1/2スチールバーで髄床底を穿孔し交互洗浄にて止血。穿孔部および歯髄腔を試作セメントあるいはMTAセメントで充填した。何も充填しないものを陰性対照とした。窩洞を強化型ガラスアイオノマーセメントで仮封し、1カ月後に屠殺した。ギ酸で脱灰後、通法にしたがいパラフィン切片を作製しHE染色を施した。

(4) -PGA と BAG 粒子との練和物から disc 状硬化体を作製した。disc をラットの骨欠損部に埋入して、その生体内安定性を検証すること、および Sr を含まない disc と Sr を含有する disc の骨形成能を比較し disc から放出される Sr の骨形成促進作用を明らかにすることが研究目的である。12 週齢の SD 系ラット頭頂骨に直径 6mm の骨欠損を作製し、Sr0 あるいは Sr100 の disc を欠損部に埋入し、何も埋入しないものを対照群とした。処置の 1 か月、2 か月および 3 か月後にマイクロ CT 撮影を行い、3 か月後のマイクロ CT 撮影後屠殺し、ギ酸で脱灰後、通法にしたがいパラフィン切片を作製し HE 染色を施した。光学顕微鏡で新生骨量を定量分析した。

4. 研究成果

(1) 髄床底穿孔部閉鎖；陰性対照群では硬組織の形成を認めず、Sr100 と硫酸カルシウム群では 6 例中 5 例で穿孔部の閉鎖を認め、穿孔部の BAG は溶解吸収されセメント表層が骨様硬組織に置換していた。MTA 群では、6 例中 5 例で穿孔部の閉鎖を認めセメントと歯根膜の境界

部に一層の硬組織形成を認めたが、MTA セメント自体は溶解吸収されず残存していた。

(2) BAG disc 作製とその硬組織誘導能； マイクロ CT 画像 対照群 右側頭頂骨に境界明瞭な透過像が認められ、術後 1 か月の面積は $30.8 \pm 2.4 \text{ mm}^2$ 、術後 2 か月 $28.10 \pm 1.8 \text{ mm}^2$ 、および術後 3 か月 $25.30 \pm 1.6 \text{ mm}^2$ （平均±標準誤差；n=5）となり有意差はないが減少傾向にあった（図.1a-c）。骨欠損部にほとんど新生骨を認めなかった（図.1a-c, 1j-l）。

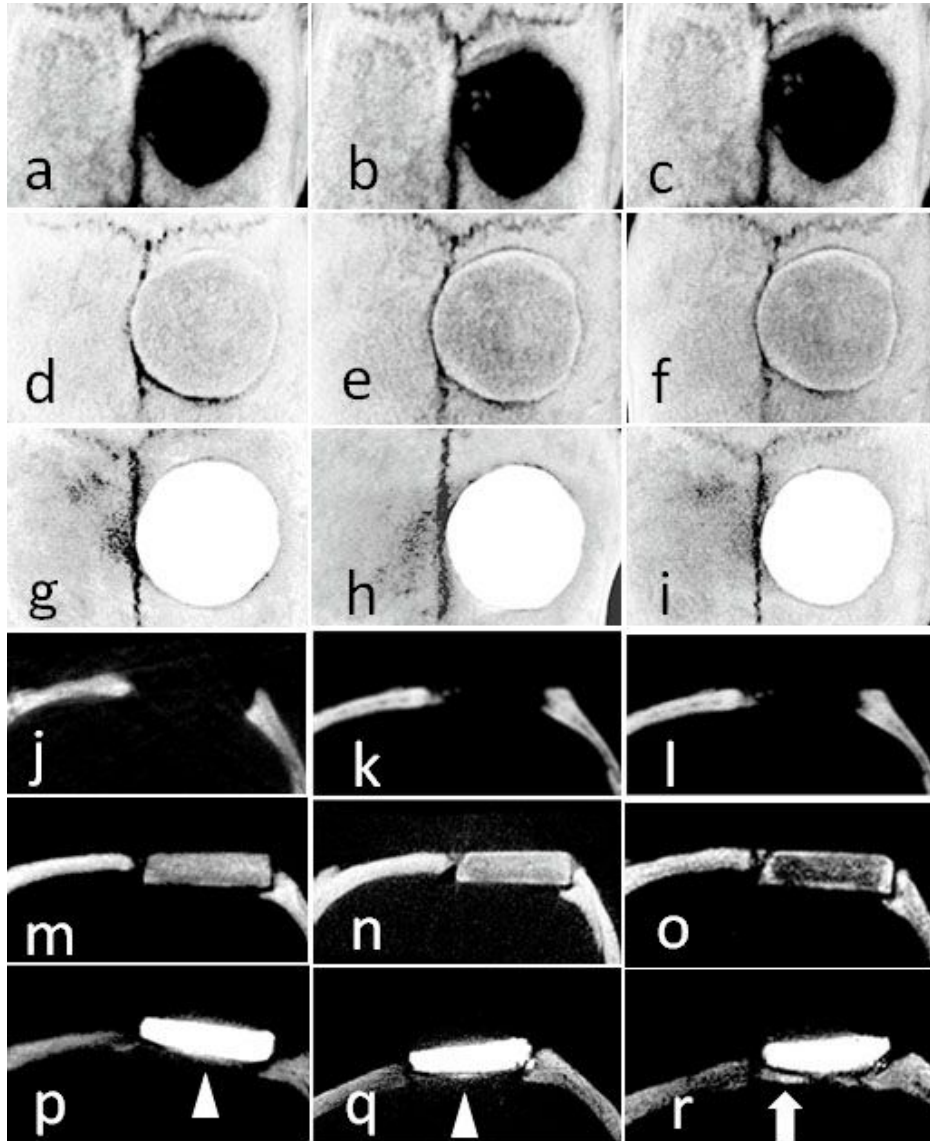


図 1. ラット頭蓋の Micro CT 像(a-i)矢状面の Micro CT 像(j-r) 左から術後 1、2、3 か月後 実験群 Sr0 disc のエックス線不透過性は骨とほぼ同じで、disc の大きな崩壊はなく骨欠損部に留まっていた（図.1d-f）。断面では、周囲骨との境界は術後 3 か月でも明瞭で、術後 3 か月例では disc の不透過性がやや減少した。 disc 周囲にエックス線不透過像の増大は認められなかった（図.1m-o）。 Sr100 disc のエックス線不透過性は骨より高く、disc の大きな崩壊はなく骨欠損部に留まっていた（図.1g-i）。1 か月例 2 か月例では disc 表面に顆粒状のエックス線不透過像を認め、3 か月例では disc と離れた硬膜付近にエックス線不透過像の増大を認めた（図.1p-r）。

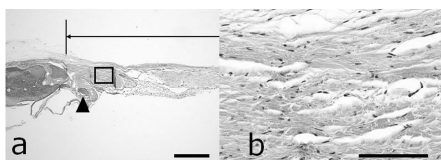


図 2 対照 術後 3 ヶ月

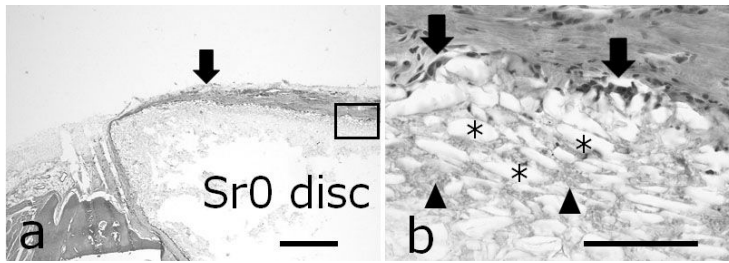


図 3. Sr0disc: 術後 3 カ月

a: 線維性結合組織(). Bar=500μm b: a の強拡大. 立方形の細胞と多核巨細胞() ガラス粒子 (*) Bar=100μm Hematoxylin-eosin (HE) staining.

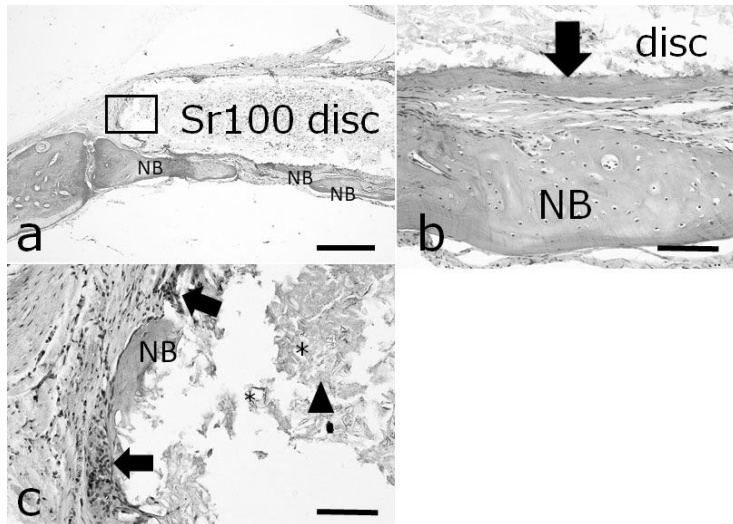


図 4 Sr100disc 術後 3 カ月

a: NB 新生骨 Bar=500μm

b:a の新生骨の拡大 ディスク表面の骨()と硬膜上の骨(NB) Bar=100μm

c:a の部拡大. 新生骨 NB アモルファスな物質 ▲ BAG 粒子 * Bar=100μm

Hematoxylin-eosin (HE) staining.

HE 染色切片標本 (術後 3 か月) 対照群 骨縁部にわずかに新生骨の形成を認めたが欠損部中央での新生骨の形成を認めなかった(図.2a) . 欠損部は比較的密な結合組織で満たされていた(図.2b) . 実験群 Sr0 disc は比較的密な結合組織で周囲を覆われており, disc 周囲および骨欠損部に骨形成を認めなかった(図.3a) . disc 表面は立方体の細胞で囲まれ, 一部に多核巨細胞が認められた. disc 表層は一部崩壊し, BAG 粒子間にわずかな間隙が生じていた. 線維芽細胞とエオジン好性の均一無構造な物質がその間隙に侵入していた(図.3b) . Sr100 disc は比較的密な結合組織で覆われ(図.4a) ,disc 表面の一部および disc から離れた硬膜表面にも新生骨の形成を認めた(図.4a-c) . disc 表面の一部には立方体の細胞と多核巨細胞を認めた(図.4c) . disc の表層は崩壊していたが線維芽細胞の浸潤はなく, BAG 粒子間にはエオジン好性の均一無構造な物質が認められた(図.4c) .

画像解析結果 術後 3 か月での新生骨形成量の比率について, とともに分散分析を行った結果 $p < 0.001$ だった. 新生骨形成量の比率は対照群 $0.47 \pm 0.65\%$, Sr0disc 群 $0.50 \pm 0.69\%$, Sr100disc 群 $5.00 \pm 1.59\%$ (平均 \pm 標準誤差, $n=5$) であった. 対照群および Sr0disc 群と比較して Sr100disc 群の新生骨形成量は有意に増加した ($p < 0.01$) .

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

泉 利雄, 丸田道人, 水上正彦, 松本典祥, 畠山純子, 中山英明, 小嶺文誉, 松崎英津子, 阿南 壽 ストロンチウム含有試作生体活性ガラスディスクの骨形成能 マイクロ CT 画像と病理組織像による検討 日本歯科保存学雑誌, 査読有, 61 巻, 2018, 378-387

DOI : 10.1147/shikahozon.61.378

Junko Hatakeyama, Hisashi Anan, Yuji Hatakeyama, Noriyoshi Matsumoto, Fumiko Takayama, Zhou Wu, Etsuko Matsuzaki, Masahiko Minakami, Toshio Izumi, Hiroshi Nakanishi
Induction of bone repair in rat calvarial defects using a combination of hydroxyapatite with phosphatidylserine liposomes Journal of Oral Science, 査読有 Vol. 61, No. 1, 2019, 111-118,
DOI:10.2334/josnusd/17-0488

〔学会発表〕(計 2 件)

泉利雄、丸田道人、水上正彦、松本典祥、畠山純子、中山英明、小嶺文誉、松崎英津子、阿南壽

ストロンチウム含有試作生体活性ガラスディスクの骨形成能 マイクロ CT 画像と病理組織による検討 150 回日本歯科保存学会 春季学術大会 金沢 2019

Toshio IZUMI, Michito MARUTA, Noriyoshi MATSUMOTO, Junko HATAKEYAMA, Masahiko MINAKAMI, Hideaki NAKAYAMA, Misaki NIKAIDO, Etsuko MATSUZAKI, Shigeki MATSUYA, Hisashi ANAN Reparative dentin bridge formation on rat exposed dental pulp by bioactive glass containing strontium / calcium sulphate composite International Association for Dental Research (IADR) Pulp Biology Regeneration Group (PBRG) Symposium, Nagoya 2016

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 : 丸田 道人

ローマ字氏名 : (MARUTA, michito)

所属研究機関名 : 福岡歯科大学

部局名 : 口腔歯学部

職名 : 講師

研究者番号 (8 桁) : 40507802

(2)研究分担者

研究分担者氏名 : 畠山 純子

ローマ字氏名 : (HATAKEYAMA, junko)

所属研究機関名 : 福岡歯科大学

部局名 : 口腔歯学部

職名 : 助教

研究者番号 (8 桁): 50374947

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。