

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18791559
 研究課題名（和文） 急速アパタイト転換型リン酸カルシウムセメントの生活歯髄切断法への応用に関する研究
 研究課題名（英文） Study on application of rapid apatite conversion type calcium phosphate cement for pulpotomy
 研究代表者
 木村 奈津子（KIMURA NATSUKO）
 徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教
 研究者番号：70335800

研究成果の概要（和文）： 新しく開発された急速アパタイト転換型リン酸カルシウムセメントは、硬化時 pH 値が上昇するが、硬化後 hidroキシアパタイトに転換し中性となる特徴を有する。そこで、本材が歯髄切断面に硬組織を誘導させるのに必要な pH 刺激を及ぼす可能性があるか否かをラット皮下結合組織を用いて検討し、さらに病理組織学的に生活歯髄切断法への応用の可能性を検討することとした。

結果、歯髄刺激性の点からは生活歯髄切断への応用に対して有効であるが、硬組織形成の点からは今後一層の改良が必要であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）： The rapid apatite conversion type calcium phosphate cement (RAC-CPC) becomes high alkalinity when stiffening, and it becomes neutral and shows no stimulation when it changes to hydroxyapatite. The purpose of this study was : 1. To evaluate the influence of RAC-CPC for the dorsal subcutaneous tissue and to evaluate the pH changes of RAC-CPC. 2. To evaluate pathologically on application of RAC-CPC for pulpotomy.

It was suggested that RAC-CPC have the ability to the dental pulp stimulates for pulpotomy, but not enough to induce the hard tissue formation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	2,100,000	0	2,100,000
2007 年度	800,000	0	800,000
2009 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	150,000	3,550,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 歯学・矯正・小児系歯学

キーワード： 歯学、再生医学、細胞・組織

1. 研究開始当初の背景

近年、歯髄の侵害受容機能、防御・修

復機能などが再認識されて、安易な歯髄除去療法を避け、可能な限り歯髄を残す

治療法が見直されている。歯髄保存療法の1つである生活歯髄切断法は、感染した歯髄のみを除去して炎症や損傷が波及していない歯髄を保存することが出来るもので、乳歯および永久歯の処置として今後さらに有用性が増して来ると考えられる。生活歯髄切断法の長所は、露髄部を新生底蓋硬組織（象牙質橋）により閉鎖出来る点であるが、象牙質橋は多孔性であるため細菌やその他の刺激物の浸入を阻止できないことが明らかとなっている。従って、従来生活歯髄切断後の貼付薬剤として用いられている水酸化カルシウムは、かなり長期にわたり強アルカリの刺激があり、また、象牙質橋の上に多量の壊死組織の層ができて死腔を形成し、そこが歯の亀裂や辺縁漏洩により細菌繁殖の場となるため、刺激がなく、壊死層の形成が少なくて象牙質橋を形成する材料の開発が望まれる。

リン酸カルシウムセメント(CPC)は、生体材料であり骨補填材や根管充填材として研究され、一部で実用化されている。生活歯髄切断へのCPCの応用に関する研究も多くの研究者が行っているが、CPCの無刺激性により十分な象牙質橋形成が形成されないことが明らかとなり、CPCは現時点では生活歯髄切断には適していない材料と考えられていた。ところが、 α 型リン酸三カルシウム(α -TCP)粉末は水で練和することにより硬化するが、溶解性が高いためこれまで生体材料として使用されなかったが、最近、生体内での活性が高い材料として注目されつつある。また、その α -TCPの欠点の改良を手掛け、24時間でほとんどハイドロキシアパタイト(HAP)に変換する急速アパタイト転換型CPCが開発され、 α -TCPは溶解初期に著しいpHの上昇がみられた。研究代表者の研究で、切断歯髄から象牙質橋を誘導するには、短期間(1時間から数日程度)強アルカリ性の刺激を与えることが有効であることを明らかにした。急速アパタイト転換型CPCは、作成方法を工夫することでpHの上昇を中性から強アルカリまで自由にコントロールでき、pHの上昇の上昇する期間も調整可能であることが判明した。したがって、一定期間刺激性を持てせることができ、しかもその後HAPに変換し無刺激になるため、硬化時強アルカリを発生する急速アパタイト転換型CPCを開発できれば、壊死層の形

成量は少なく象牙質橋を形成し、しかも短期間に無刺激なHAPとなって象牙質橋を裏層できる生活歯髄切断の貼付材として理想的な材料となることが期待できるものである。

そこで、本材が歯髄切断面に硬組織を誘導させるに必要なpH刺激を及ぼす可能性があるか否かの検討および、ラット歯髄に用いて病理組織学的に検討し、急速アパタイト転換型CPCの生活歯髄切断法への応用の可能性を検討することとした。

2. 研究の目的

本研究の主目的は、試作した急速アパタイト転換型CPCが切断歯髄に硬組織を誘発する能力を有しているか否かを検討し、さらに硬組織を再生させるのに最適な組成を決定し、生活歯髄切断法への応用可能な急速アパタイト転換型CPCを作製することである。

3. 研究の方法

(1) pH11.5以上の持続時間の測定

試作した急速アパタイト転換型CPCの強アルカリ性を示す持続時間を測定し、持続時間が1日間、3日間、5日間の試料を作製する。

(2) 試作急速アパタイト転換型CPCのpH測定およびラット皮下組織表面のpH測定

① 被験セメントは、所定のP/L比で1分間練和した後、練和開始10分、30分、1時間、6時間、12時間、2日後、3日後、4日後、5日後および6日後の各種急速アパタイト転換型CPC表面のpHをpHメータにROSS電極をつけて測定する。分類・選択した上で、被験材料を決定する。

② 被験セメントの組織に及ぼすpHの影響を検討する目的で、生後8週齢のSprague-Deweyラットの雄を実験動物として用いる。全身麻酔下に背部皮膚を剥離し、内径1.4cmのリング内に一定量練和した2種類の被験急速アパタイト転換型CPCおよび最高pH7.5程度の対照セメント(α -TCP)を貼付し、練和開始1分、15分、30分後および2日後にリング内の皮下組織のpHをROSS電極で測定する(図1)。



図1 ラット皮下組織を用いたpH測定法

(3) ラット臼歯の生活歯髄切断部への試作急速アパタイト転換型CPCの貼付実験

実験動物は生後8週齢のSprague-Dewly ラットの雄を用いる。実験歯は左右下顎第一臼歯で、全身麻酔下に No. 1/2 の円形スチールバーにて天蓋除去し、5分間ケミカル・サージェリーを行って根管口部にて拡大鏡下に歯髄切断し、各試作急速アパタイト転換型CPCを貼付した後、ガラスアイオノマーセメントで仮封する。対照群には α -TCP貼付群および $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 貼付群とを設ける。28日後にそれぞれ屠殺し、顎骨を取り出してホルマリン固定する。

(4) 病理組織学的観察および統計学的検索

固定された試料は、Plank Ryelo 溶液で脱灰し、脱水後、パラフィン包埋し、 $5\mu\text{m}$ 連続切片標本を作製する。切片はヘマトキシリン・エオジン染色を施し、光学顕微鏡によって各根管毎に象牙質橋等の観察項目を観察・評価し、各被験急速アパタイト転換型CPCの硬組織誘導能を統計学的検定を用いて検索する。

4. 研究成果

(1) 試作急速アパタイト転換型CPCのpH測定およびラット皮下組織表面のpH測定

pH11.5以上の持続時間の測定について検討した結果、Ca/P比が1.7と2.0の急速アパタイト転換型CPCを用いることにした。したがって、被験試料として、Ca/P比の異なる2種の急速アパタイト転換型CPC (Ca/P比1.7と2.0)を試作し、従来型CPCの α -TCPおよび

$\text{Ca}(\text{OH})_2$ を対照群として用いた(表1)。被験試料自体のpH(試料pH)値の経時的变化を図2に、被験試料を作用させたラットの皮下結合組織表面のpH(組織pH)値の経時的变化を表2に示した。

表1 被験試料の組成

群	粉末	緩和液
水酸化カルシウム	水酸化カルシウム ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 1.0g	滅菌生理食塩水 1.0ml
α -TCP	α 型リン酸三カルシウム (α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 1.0g (Ca/P=1.5)	滅菌生理食塩水 1.0ml
1.7急速転換型CPC	α 型リン酸三カルシウム+酸化カルシウム (α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaO}$) 1.0g (Ca/P=1.7)	1.0 mol/Lの塩化カルシウム (CaCl_2)水溶液 0.5ml 0.6 mol/Lのリン酸二水素ナトリウム二水和物 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)水溶液 0.5ml
2.0急速転換型CPC	α 型リン酸三カルシウム+酸化カルシウム (α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaO}$) 1.0g (Ca/P=2.0)	1.0 mol/Lの塩化カルシウム (CaCl_2)水溶液 0.5ml 0.6 mol/Lのリン酸二水素ナトリウム二水和物 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)水溶液 0.5ml

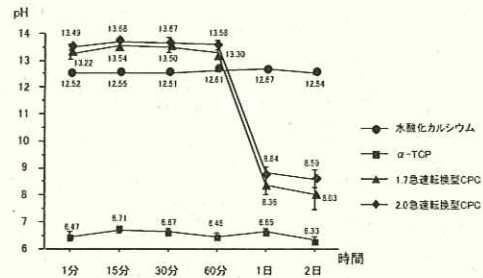


図2 試料pH値の経時的变化

表2 組織pH値の経時的变化

群	1分後	15分後	30分後	2日後
水酸化カルシウム	12.31 ± 0.39	12.37 ± 0.37	12.20 ± 0.16	11.90 ± 0.17
α -TCP	7.30 ± 0.32	7.43 ± 0.79	7.51 ± 0.97	8.40 ± 0.89
1.7急速転換型CPC	12.17 ± 0.21	12.19 ± 0.37	11.13 ± 0.64	7.97 ± 0.83
2.0急速転換型CPC	12.42 ± 0.41	12.42 ± 0.38	12.29 ± 0.31	9.49 ± 1.20
皮下組織	8.11 ± 0.35			

*p<0.01, **p<0.001

試料pH値の経時的变化と組織pH値の経時的变化とを比較した結果、

① α -TCPは試料pH値、組織pH値ともに中性を示した。また、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の試料pH値、組織pH値ともに強アルカリ性を示した。

② 両急速アパタイト転換型CPCの試料pH値は、硬化初期は13以上の値を示したが、1日後には8.4~8.9に低下した。

③ 両急速アパタイト転換型CPCの組織pH値は、硬化初期は11.2~12.3を示し、Ca(OH)₂の組織pH値との間に有意差は認めなかった。2日後には8.0~9.5に低下した。

(2) ラット臼歯の生活歯髄切断部への試作急速アパタイト転換型CPCの貼付実験

ラット歯髄に用いて 28 日後の状態を病理組織学的に検索するため、Ca(OH)₂群、αTCP群(Ca/P比:1.5)、r-αTCP①群(Ca/P比:1.7)およびr-αTCP②群(Ca/P比:2.0)の4群を比較検討した結果を表1に示した。

表1 硬組織の形成

群	Ca(OH) ₂	αTCP	r-αTCP①	r-αTCP②
切断面形成	11	0	4	2
髄壁形成	11	10	6	4
形成なし	1	2	6	8

硬組織の形成は、Ca(OH)₂群は91.7%で、切断面における形成は91.7%、αTCP群は83.3%で、切断面では0%、r-αTCP①群は50.0%で、切断面では33.3%、r-αTCP②群は33.3%で、切断面では16.7%であった。Ca(OH)₂群と両r-αTCP群間(p<0.05)および、αTCP群と両r-αTCP群間(p<0.05)に有意差が認められた。歯髄刺激性はCa(OH)₂群が最も高く、αTCPと両r-αTCP群は低かった。また、αTCP群と両r-αTCP群で硬組織形成量はわずかであった。以上の結果より、r-αTCPは歯髄刺激性の点からは生活歯髄切断への応用に対して有効であるが、硬組織形成の点からは今後一層の改良が必要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 奈津子 (KIMURA NATSUKO)

徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス
研究部・助教

研究者番号: 70335800