

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：32667

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462971

研究課題名(和文)石灰化促進作用を有する機能性フィラー配合レジン系覆髄材の開発と直接覆髄への応用

研究課題名(英文) Development of an experimental resinous pulp-capping material containing dentin-promoting functional fillers and application for direct-pulp-capping

研究代表者

新海 航一 (SHINKAI, Koichi)

日本歯科大学・新潟生命歯学部・教授

研究者番号：90147843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：S-PRGフィラーは石灰化促進作用をもつため、このフィラーを配合した接着性レジン系直接覆髄材(歯髄表面を覆う材料)として開発し、ラット露髄面に及ぼす影響について検討した。14日間あるいは28日間後の病理組織学的評価(歯髄組織の変化、炎症性細胞浸潤、象牙質橋の形成)を評価した。試作レジン系覆髄材を用いた実験群では、歯髄組織に炎症性変化を認めず、ほとんどの試料で修復象牙質と象牙質橋(露髄面を覆う象牙質)の形成を認めた。しかし、象牙質橋の形成状態は多様で、象牙質橋が認められない試料も存在した。28日間の観察結果では、S-PRGフィラー含有量が象牙質橋の形成に及ぼす影響は明確には認められなかった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to evaluate pulpal healing and reparative dentin formation after 14 days and 28 days in exposed rat pulp directly capped with an experimentally developed all-in-one adhesive containing surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) filler. The four experimental groups and the control group were compared using the Kruskal Wallis test, followed by the Steel Dwass post-hoc test to compare the histopathological score. The Mann Whitney U test was used to compare the histopathological score at 14 days and 28 days for each observation item. All experimental adhesives containing S-PRG fillers developed for direct pulp capping showed no pulpal inflammation. After 14 days, the experimental adhesives containing S-PRG fillers and the control group formed tertiary dentin around the exposed pulp. After 28 days, the experimental adhesives containing 13 and 27 wt% of S-PRG fillers formed dentin bridge equal to the control.

研究分野：保存修復学

キーワード：S-PRGフィラー 石灰化促進作用 レジン系覆髄材 歯髄の創傷治癒 象牙質橋

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 露髄部においてデンティンブリッジの生成に最も有効で多用されているのは水酸化カルシウムである。しかし、水酸化カルシウムは覆髄面に壊死層を生成し、歯質との接着性が欠如していることから、デンティンブリッジ形成後に残存した壊死層がデッドスペースとなる危険性があり、長期的にはこの部へのマイクロリーケージにより歯髄感染のリスクが高まることが指摘されている。理想的な直接覆髄剤は露髄部周囲の窩壁歯質と密着して細菌侵入を防ぐこと、操作が簡便であることならびにデンティンブリッジの形成を促進することが要求される。接着性レジンには操作性が簡便であり歯質と接着するため、接着性レジン直接覆髄材として応用するための研究が国内外を問わず広く実施されてきたが、デンティンブリッジの形成速度は水酸化カルシウム製剤と比較して遅いことが明らかとなっている。完全なデンティンブリッジはできるだけ早期に生成されることが望ましいが、デンティンブリッジを早期に形成するレジン系直接覆髄材はいまだ開発されていない。そこで、これまで我々は修復性象牙質形成促進作用を有する多機能性接着システムを種々開発し、直接覆髄法への応用を検討してきた。

(2) 我々の一連の研究から、硬組織形成(石灰化)促進剤を添加されたレジン系材料は、硬化後も石灰化に必要なイオンを放出して修復性象牙質の形成促進に寄与することが確認されている。しかしながら、ヒドロキシアパタイト、ブルッシュャイトなどリン酸カルシウム塩は、直接覆髄直前にボンディング材と混和してから使用しなければならないこと、混和により粘稠度が増して操作性が悪いこと、さらにボンディング層の劣化による接着性の低下が危惧された。近年松風社が開発した S-PRG フィラーは、 $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{F}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$ ならびに  $\text{SiO}_3^{2-}$  など種々のイオン

を放出することからバイオアクティブな機能性フィラーであると報告されている。そこで、この S-PRG フィラーから多く放出される  $\text{Sr}^{2+}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$  および  $\text{SiO}_3^{2-}$  が有する硬組織石灰化促進作用に注目し、松風社の協力を得て S-PRG フィラーを配合した新規レジン系直接覆髄材を開発し、ラット歯髄を用いて直接覆髄効果を検証することとした。

## 2. 研究の目的

イオン徐放性を有するバイオアクティブな機能性フィラー (S-PRG フィラー) の配合により、コンポジットレジンに抗菌作用、石灰化促進作用ならびに中和・緩衝作用が与えられている。そこで本研究はデンチンプロモーターとして S-PRG フィラーの石灰化促進作用に注目した。このフィラーの配合により石灰化促進機能を有する新規レジン系直接覆髄材を開発し、このシステムの材料学的性能、歯質接着性能ならびに硬組織誘導能を確認して臨床への応用を展開していくことが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) 新規レジン系直接覆髄材の試作

松風社に委託し、1ステップ光重合型セルフエッチングアドヒーシブを開発し、アドヒーシブ中に S-PRG フィラー (平均粒径  $0.04\mu\text{m}$ ) を各々0、13、27 および 40wt%配合したものを4種類をレジン系覆髄材として試作した。

### (2) ヒト抜去歯健全象牙質に対する試作覆髄材の接着強さ測定

①健全なヒト抜去大白歯の咬合面に平坦な象牙質面を形成した。

②各試作覆髄材を象牙質平坦面に塗布し、20秒間放置してから LED 照射器を用いて10秒間光照射を行った。次に約 3mm の厚さでフロアブルレジン (ビューティフィルフロープラス F00) を積層して十分に光重

合させた。

③硬組織自動精密切断機（アイソメット）を用いて微小引張り試験用ビーム状試片（1×1mm）を作製した。

④小型卓上試験機（EZTest 500N）を用いて我々がこれまで実施してきた接着試験法（新海ら、DMJ、2009）に順じた微小引張り接着試験により、接着試料を蒸留水中に 24 時間保管した後の接着強さを測定した。

⑤走査型電子顕微鏡（S-800）を用いて接着破断面を観察し接着破壊様式を判定した。

⑥ANOVA と Tukey post hoc test を用いて各ライナーの微小引張り接着強さ値の有意差について検定した。

(3) 試作覆髄材のラットを用いた直接覆髄実験

①実験動物として8～9週齢の雄性SD系ラット 25 匹（S-PRG フィラーを各々0、13、27 および 40wt%配合した試作覆髄材応用群とコントロールを含めて合計 5 群、1 匹あたり左右上顎第一臼歯 2 本を使用、n=6）を用いた。

②マイクロスコープを用いて窩洞形成を行い、上顎第一臼歯近心咬頭頂部付近で露髄させた（露髄径：0.2～0.4mm）。6%NaClO と 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を用いた交互洗浄により窩洞内を清掃した後、10%次亜塩素酸ナトリウムゲル（AD Gel）を用いて露髄面を完全に止血した。

③各試作覆髄材を用いて窩洞の接着処理を兼ねた直接覆髄を行った。すなわち、各試作覆髄材を窩洞内に塗布し、20 秒間放置後、LED 照射器（ペンキキュア）を用いて 10 秒間光照射を行った。

④直接覆髄処置後の窩洞にフロアブルレジジン（ビューティフィルフロープラス F00）を充填し、ペンキキュアを用いて 30 秒間光重合を行った。

⑤Control として Pro root MTA を用いた。すなわち、Pro root MTA をメーカー指示通りに練和して露髄面に薄く塗布した。覆髄材硬化

後に 1 ステップ光重合型セルフエッチンググアドヒーシブ（フルオロボンドシェイクワン）を窩洞内に塗布し、20 秒間放置後、ペンキキュアを用いて 10 秒間光照射を行った。次に窩洞内にビューティフィルフロープラス F00 を充填し、ペンキキュアを用いて 30 秒間光重合を行った。

⑥14 日および 28 日後に屠殺し、各々の摘出試料は 4%PFA 溶液で固定した。

⑦摘出試料は 10%EDTA 溶液にて脱灰、通法にてパラフィン連続薄切切片を作製し、H-E 染色、Hucker-Conn 組織細菌染色および免疫染色を行った。

⑧光学顕微鏡にて歯髄組織の形態変化、炎症性細胞浸潤、修復性象牙質の形成および細菌侵入の 4 項目に関して観察し、露髄面の創傷治癒態度を病理組織学的評価した。

⑨評価結果をコントロール（MTA セメント応用群）と比較しながら試作覆髄材の直接覆髄効果を判定した。

#### 4. 研究成果

(1) ヒト抜去歯健全象牙質に対する試作覆髄材の接着強さ

各実験群における微小引張り接着強さの測定結果を下表に示す。試作した接着性レジジンのなかでは、S-PRG フィラー含有量が最も多い Group 4 が最も高い接着強さを示した。ANOVA では実験群間に有意差が認められ、Tukey post hoc test の結果、Group 2 のみがコントロールより有意に低い象牙質接着強さ（ $p=0.012$ ）を示したが、Group 2 以外の実験群の間には有意差を認めなかった（ $p>0.05$ ）。

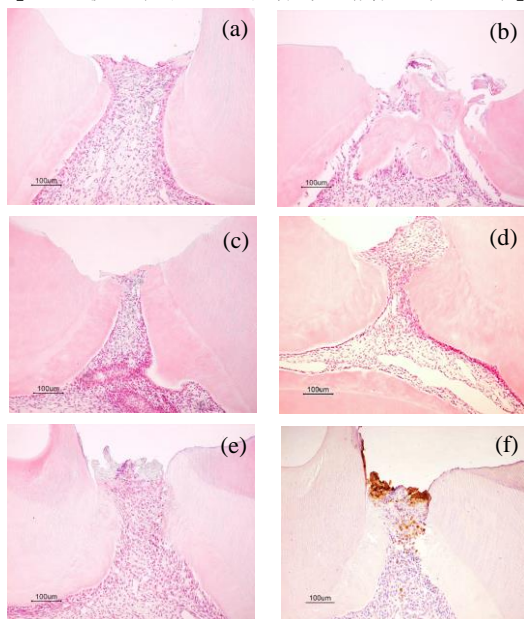
実験群	接着システム	MPa
Group 1	S-00 (S-PRG : 0%)	13.5±5.0 <sup>ab</sup>
Group 2	S-13 (S-PRG : 13%)	12.8±3.7 <sup>a</sup>
Group 3	S-27 (S-PRG : 27%)	14.2±4.0 <sup>ab</sup>
Group 4	S-40 (S-PRG : 40%)	15.1±6.1 <sup>ab</sup>
Control	シェイクワンボンド	17.6±3.5 <sup>b</sup>

同一文字は有意差なし( $p>0.05$ )

(2) ラット露髄面に応用した試作覆髄材の歯髄反応

いずれの実験群においても歯髄組織に炎症性変化を認めず、ほとんどの試料で修復象牙質の形成を認めたが、形成された修復象牙質の量や形状は実験群によって様々であった。Kruskal-Wallis testの結果、観察期間14日ではRDFの評価項目でGroup 1とControl、観察期間28日ではRDFの評価項目でGroup 1と2、Group 1とControl、Group 2と4、Group 4とControlの間に有意差を認めた。また、Mann-Whitney U testの結果、RDFの評価項目でGroup 2の観察期間14日と28日の間に有意差を認めた。観察期間28日においてGroup 2と3は、Controlと有意差なく完全象牙質橋を認めたが、その厚みは薄くてControlには及ばなかった。その他の評価項目では、いずれの観察期間においても実験群間に統計学的有意差は認められなかった。また、すべての実験群でシリカフィラーや象牙質切削片が歯髄組織内部へ迷入している試料が認められ、とくにGroup 1は他の実験群と比較してシリカフィラーの迷入量が多い傾向を示した。

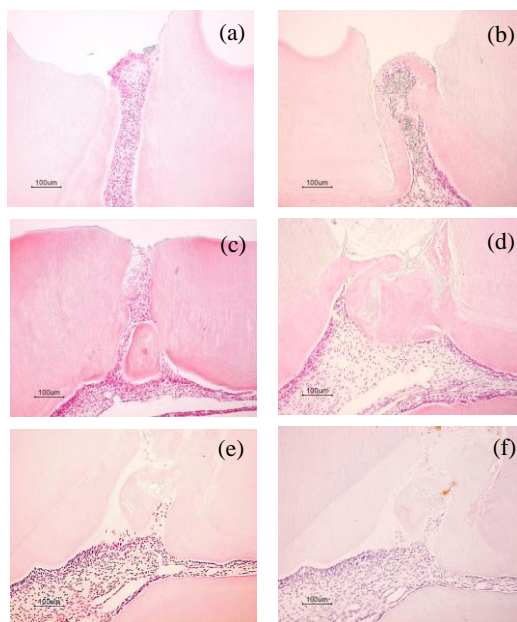
【14日後の代表的な組織学的所見 (×100)】



(a) Group 1 (H&E)、(b) Group 2 (H&E)

(c) Group 3 (H&E)、(d) Control (H&E)  
(e) Group 4 (H&E)、(f) Group 4 (HSP25)

【28日後の代表的な組織学的所見 (×100)】



(a) Group 1 (H&E)、(b) Group 2 (H&E)  
(c) Group 3 (H&E)、(d) Control (H&E)  
(e) Group 4 (H&E)、(f) Group 4 (HSP25)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

① Satoki Kawashima, Koichi Shinkai And Masaya Suzuki, Effect of an experimental adhesive resin containing multi-ion releasing fillers on direct pulp-capping, Dental Materials Journal 2016; 35 (3): 479-489, doi: 10.4012/dmj.2015-381 (査読あり)

② Satoki Kawashima, Koichi Shinkai and Masaya Suzuki, The effect of multi-ion releasing filler contents on the dentin bond strength of an adhesive resin developed for direct pulp-capping, Dental Materials Journal 2015; 34 (6): 841-846, doi: 10.4012/dmj.2015-057 (査読あり)

〔学会発表〕(計3件)

①川嶋里貴、鈴木雅也、新海航一：多種イオン徐放性フィラー含有試作アドヒーズブ

レジンをを用いた直接覆髄法に関する免疫組織化学的研究、日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会（第 143 回）、2015 年 11 月 13 日、文京シビックホール（東京都）

②川嶋里貴、鈴木雅也、新海航一、羽下-辻村麻衣子：多種イオン徐放性フィラー含有試作アドヒーシブレジンをを用いた直接覆髄法に関する研究、日本歯科保存学会 2015 年度春季学術大会（第 142 回）、2015 年 6 月 25 日、北九州国際会議場（北九州市）

③川嶋里貴、鈴木雅也、有田洋子、高田真代、加藤千景、平 賢久、新海航一：石灰化促進作用を有する機能性フィラー含有レジん系覆髄材の開発 機能性フィラー含有量がレジん系覆髄材の象牙質接着強さに及ぼす影響、日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会（第 138 回）、2013 年 6 月 27 日、福岡国際会議場（福岡市）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

新海 航一 (SHINKAI, Koichi)  
日本歯科大学・新潟生命歯学部・教授  
研究者番号：90147843

### (2) 研究分担者

鈴木 雅也 (SUZUKI, Masaya)  
日本歯科大学・新潟生命歯学部・准教授  
研究者番号：10409237

平 賢久 (TAIRA, Yoshihisa)  
日本歯科大学・新潟生命歯学部・助教  
研究者番号：10610272

### (3) 研究協力者

川嶋 里貴 (KAWASHIMA, Satoki)