

新規接着性モノマーを配合したグラスアイオノマーセメントの暫間的間接覆髄材への応用

著者	佐藤 幸平
学位名	博士（歯学）
学位授与機関	北海道医療大学
学位授与年度	令和3年度
学位授与番号	30110乙第121号
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00065055/

論 文 要 旨

新規接着性モノマーを配合したガラスアイオノマーセメントの
暫間の間接覆髄材への応用

令和 3 年 度
北海道医療大学歯学部 高度先進保存学分野

佐藤 幸平

【緒 言】

歯科診療において、う蝕が歯髄に達した際に抜髄が必要となることがある。しかし、無髄歯は破折を招き抜歯に至る場合が多いため、歯髄の保存は歯の延命を図る上で重要である。暫間的間接覆髄法は歯髄温存療法の一つであり、用いる覆髄剤として水酸化カルシウム製剤などが推奨されているが、これらは歯質接着性に乏しく、経過観察期間中はコンポジットレジン (CR) やガラスアイオノマーセメント (GIC) を用いた暫間修復が必要となるなどの課題がある。

近年、新規接着性モノマーとして、4-MET-Ca (calcium 4-Methacryloxyethyl trimellitate, CMET) が開発され、ボンディング材へ配合することで象牙質への初期接着性、長期耐久性の向上や石灰化誘導能などが報告されている。

一方 GIC は CR に対し、審美性や接着性の観点から使用頻度が低い材料であったが、近年の根面う蝕の増加に伴い、抗う蝕性や耐酸性などを有する材料として再び注目されている。

本研究では、従来型 GIC に CMET を添加することで、優れた封鎖性と石灰化誘導能を有する覆髄材の開発を目指し、材料学および生物学的特性について検討を行なった。

【材料および方法】

1. 材料学的検討

1) 実験に用いた材料

実験には、従来型 GIC としてフジVII, 接着性モノマーとして CMET および 4-MET を用いた。C-GIC は、GIC に CMET を 10, 20% (w/w) 添加し、4M-GIC は、GIC に 4-MET を 10, 20% (w/w) 添加した。コントロールは GIC とした。

2) pH およびイオン徐放量の測定

各種ディスク状試料を製作し、超純水に 1 日浸漬後、溶出液の pH とイオン徐放量 (Si, Al, Sr, Ca, F) を測定した (n=5)。

3) 圧縮強さの測定

各種円柱状試料を製作し、蒸留水中に 1, 7, 28 日間浸漬させた後、圧縮強さを測定した (n=6)。

4) せん断強さの測定と破断面の観察

う蝕のないヒト抜去大白歯 (n=75) の歯冠中央部を歯軸方向に切断し、各種セメント硬化体を歯面に植立した。蒸留水中に 1, 7, 28 日間浸漬後、せん断試験を行い (n=10)、破断面は SEM にて観察した。

5) 抗菌性試験

S. aureus, *S. mutans*, *A. viscosus*, *C. albicans* の 4 菌種に対して、各種セメント溶出

液を用いた抗菌性試験を行い、生菌数を算定した。

2. 生物学的検討

1) 溶出液の作製

20% C-GIC, 18% 4M-GIC, GIC の硬化体を超純水に 1 日浸漬し、滅菌ろ過後の各種溶出液を実験に供した。なお GIC をコントロールとした。

2) 細胞培養

ヒト歯髄幹細胞 (hDPSCs) は、10% FBS 含有の DMEM にて 37°C, 5% CO₂ および 95% Air 下で培養し、実験には第 4 継代の細胞を供した。分化誘導培地では、細胞がコンフルエント時に β -グリセロリン酸 (10 mM) およびアスコルビン酸 (50 μ g/mL) を 10% FBS 含有の DMEM に添加し、3 日毎に交換した。

3) 細胞形態の観察

各種溶出液を 10, 20, 30, 40, 50% (v/v) とし、播種 3 日目に観察した。

4) 細胞増殖能の測定

細胞毒性試験は、各種溶出液を 10, 20, 30, 40, 50% (v/v) とし、播種 3 日目に測定した (n=6)。細胞増殖試験では、同溶出液を 1, 2, 5, 10, 15, 20% (v/v) とし、播種 5 日目に測定した (n=6)。

5) ALP 活性の測定

各種溶出液を 2.5, 5.0, 10% (v/v) とし、播種 9, 12, 15 日目に測定した (n=3)。

6) アリザリンレッド染色

ALP 活性と同濃度にて、播種 21, 28 日後に染色および Ca 定量解析を行った (n=3)。

7) 統計処理

圧縮強さ、せん断強さは二元配置分散分析後に Tukey 法、抗菌性試験は一元配置分散分析後に Games-Howell 法、その他は一元配置分散分析後に Tukey 法にて有意水準 5% の条件で統計分析を行った。

【結果】

1. 材料学的検討

C-GIC 群, 4M-GIC 群の pH は濃度依存的に低下し、4M-GIC 群が有意に低い値を示した。C-GIC 群は、20% 添加量ですべてのイオン徐放量が有意に高く、4M-GIC 群は、20% 添加量で Ca, F 以外が有意に高い値を示した。Ca イオンの徐放は、C-GIC 群にのみ認められた。

圧縮強さの測定では、C-GIC 群, 4M-GIC 群で濃度依存的に低下した。

せん断強さの測定においては、4M-GIC 群に対し C-GIC 群が有意に高く、コントロールと同等の接着強さを示した。SEM 観察では浸漬 1, 7 日は凝集破壊が、28 日は混合破壊と界面破壊が多かった。4M-GIC 群では浸漬 1 日は界面破壊が、7, 28 日は混合破壊と凝集破壊が多かった。

抗菌性試験の結果、*C. albicans* に対しては、抗菌性を示さなかったが、他の 3 菌種に対しては、無添加群に対し有意に抗菌性を示した。3 種のセメント群間に有意差は認めなかったが、4M-GIC 群、C-GIC 群、コントロール群の順に生菌数の減少傾向を認めた。

2. 生物学的検討

細胞形態は、全群で濃度依存的に細胞の萎縮傾向を示し、4M-GIC 群でその傾向が強かった。細胞毒性試験では、全群で濃度依存的に毒性を示したが、C-GIC 群で低く、10% C-GIC では有意に低かった。細胞増殖試験では、C-GIC 群が他群より有意な増殖性を示した。

ALP 活性は、すべての群で経時的に上昇傾向を認め 15 日目の ALP 活性は、C-GIC 群、コントロール群で有意に高活性を維持した。

アリザリンレッド染色の結果、Ca の沈着は経時的に増加傾向を認め、28 日目では 10% C-GIC 群が有意な Ca 沈着量の亢進を認めた。

【考 察】

材料学的検討では、C-GIC 群、4M-GIC 群の pH は濃度依存的に低下を認めた。これは、粉液比 (P/L) の低下によって未反応のポリアクリル酸が溶出したためと考えられた。これまでの報告では、CMET、4-MET 単体の溶出液 pH は、それぞれ 7.02、2.16 とされており、4-MET の酸性が 4M-GIC 群の pH 低下に影響していると考えられた。また、硬化中のセメント泥が酸性の際、粉末粒子が侵食され C-GIC 群、4M-GIC 群の各種イオン徐放量が上昇したと考えられた。加えて P/L 低下の影響により、圧縮強さは C-GIC 群、4M-GIC 群ともに濃度依存的に低下した。ガラスコアの量が減少し、マトリックスの量が多くなったためと考えられた。また、せん断強さは 4M-GIC 群より C-GIC 群が有意に高く、コントロール群と同等だった。これは、C-GIC 群は、C-MET 由来の Ca イオンが架橋反応に関与して新たな接着力が獲得された可能性や、4M-GIC 群は、ポリアクリル酸によってガラスから溶出した Al の一部が 4-MET と反応し、通常の硬化反応が阻害された可能性が考えられた。C-GIC 群の抗菌活性は、*S. mutans*, *A. viscosus* において無添加群に対し有意に高かった。コントロール群、4M-GIC 群とは有意差は認めなかったが、CMET の添加によって、溶出液の pH の低下や、各種徐放イオン量の増加が生じたために、F や Al イオン、レジンモノマーの 4-MET などが細菌の発育阻害に関与した可能性が考えられた。

生物学的検討では、4M-GIC 群は、濃度依存的に細胞増殖の抑制、ALP 活性および Ca 沈着量の停滞傾向を示したが、至適濃度に調整された C-GIC 群では、細胞増殖の促進や ALP 活性の高維持および Ca 沈着量の亢進傾向を示した。細胞毒性や増殖性、分化などの生物学的機能は、様々なイオンや化合物の影響を受けることが知られている。本研究における細胞毒性の発現には、徐放イオンの影響よりも、レジンモノマーである 4-MET の影響を強く受けた可能性が考えられた。また、C-GIC 群は CMET 由来の Ca イオンを唯一保有し、その関与が C-GIC 群の低い細胞毒性と高い増殖性、Ca 沈着量の亢進に影響したと考えら

れた.

【結 論】

C-GIC は、Ca 徐放性を有する生体活性材料として、象牙質の再石灰化が期待され、従来型 GIC と同等の象牙質接着性と、優れた生体親和性を有し、歯髄保護を兼ね備えた暫間の間接覆髄材として応用できる可能性が示唆された。