

論 文 題 目

球状微粒子添加による MTA セメントの操作性改善と
その象牙質誘導能

平成 27 年度

北海道医療大学大学院歯学研究科

榊原 さや夏

【緒言】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は、ポルトランドセメント (PC) の粉末に酸化ビスマスなどを添加しており、強アルカリ性を示すため抗菌作用があり (Okiji & Yoshida, 2009), かつ高い象牙質誘導能をもつことから、穿孔部の閉鎖や直接覆髄に使用される (Mente et al., 2013). しかし、MTA は適度な稠度のセメント泥に練り上げるのが難しく、硬化時間も著しく長い欠点がある (Parirokh & Torabinejad, 2010).

本研究では、白色ポルトランドセメント (WPC) (太平洋セメント) 粉末に球状シリカ微粒子 (SiO_2) およびジルコニア微粒子 (ZrO_2) を添加し、稠度、硬化時間、圧縮強さ、X線造影性を測定し、その操作性、物性から最適な組成を決定した新規セメント (改良型 MTA) を作製した. その後、改良型 MTA の pH の変化、溶出イオンの測定、細胞毒性および象牙質誘導能について、既存 MTA、水酸化カルシウム製剤と比較検討することを目的とした.

【材料及び方法】

(1) セメント組成の決定

WPC の粉末に SiO_2 および ZrO_2 (ともに平均粒径 $0.5 \mu\text{m}$) をそれぞれ $10\sim 30 \text{ mass}\%$ 添加した. 各セメントの稠度は、練和泥をガラス板で挟み振動を与え、広がった練和泥の面積を測定した. 硬化時間、圧縮強さ、X線造影性の測定は JIS 規定に従い計測した. 混水比は 0.25 とした.

(2) セメント溶出液の pH 測定

改良型 MTA, WPC および ProRootMTA[®] (デンツプライ三金) (ProRoot) をそれぞれ直径 6 mm , 厚さ 1 mm の試験片を作製し、 37°C 湿度 90% 以上の恒温器内で 24 時間硬化した. その後、 10 ml の超純水に浸漬し、 $1, 3, 6$ 時間後および $1, 3, 7$ 日後に pH を計測した.

(3) セメント溶出液の溶出イオンの分析

上記と同様に作製した改良型 MTA, WPC および ProRoot の試験片は、 10 ml の超純水に浸漬して、 37°C にて静置し、 $1, 3, 7$ 日後に取り出し、溶出液を Millex-GV (MERCK MILLIPORE) にて濾過した. 溶出液中のイオン濃度は、ICP 発光分析装置 Optima 5300DV (株式会社 Perkin Elmer Japan) を用いて分析した.

(4) 細胞毒性評価

細胞は、骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1, 理研) を用い、細胞培養液は、 10% FBS および 200 mM L-glutamine (gibco) を添加した α -MEM (SIGMA) を使用した. 上記

と同様の改良型 MTA と ProRoot の試験片は、培養液 10 ml に 3 日間浸漬した後取り出し、培養液として使用した。増殖能の測定には、MC3T3-E1 を 24 well plate に 1×10^4 /well 播種し、24 時間後に試験片を浸漬した培養液で培養した。24, 48, 72 時間後、細胞の DNA 量を測定した。

(5) ラット臼歯の歯髄切断

Wistar 系ラット 8 週齢の雄を使用した。歯髄切断は、16%ペントバルビタールを腹腔内投与し全身麻酔下にて行った。貼薬剤は、改良型 MTA, ProRoot およびカルビタール®(ネオ製薬工業)とし、光硬化型ガラスイオノマーセメントにて仮封した。歯髄切断 7 日後に屠殺し、上顎を 4%パラホルムアルデヒド含有 PBS にて 24 時間固定した。試料を、脱脂および脱灰をして切片を作製した後、Hematoxylin-Eosin 染色を行い観察した。

【結 果】

(1) セメント組成の決定

WPC に SiO_2 および ZrO_2 を 20%以上添加することで、適度な稠度を有するセメント泥になった。硬化時間は ProRoot と比較し短縮し、圧縮強さは ProRoot と同等となった。X 線造影性を有するには ZrO_2 を 20%以上添加する必要があった。従って、WPC に SiO_2 を 10 mass%, ZrO_2 を 20 mass%添加したものを改良型 MTA とした。

(2) セメント溶出液の pH 測定

いずれの試料も、溶出液の pH は浸漬 1 時間で pH9 以上となり、浸漬 7 日後では pH11 まで上昇した。ProRoot は改良型 MTA に比較し、短時間で pH の急激な上昇がみられた。

(3) セメント溶出液の溶出イオンの分析

Ca^{2+} は、全ての溶出液から検出され、濃度に差はなかった。 H_3SiO_4^- は、改良型 MTA において WPC および ProRoot と比較し溶出量に有意差は確認されなかった。 Al^{3+} は ProRoot で溶出量が少なかった。 Bi^{3+} の溶出は ProRoot のみで確認された。また、全ての溶出液から Zr^{4+} は検出されなかった。

(4) 細胞毒性評価

細胞増殖能を測定した結果、ProRoot と比較して、改良型 MTA の細胞増殖能は同程度であった。

(5) ラット臼歯における歯髄切断

改良型 MTA および ProRoot とともに新生象牙質の形成がみられた。カルビタールは顕著な象牙質の形成はみられなかった。改良型 MTA は、極性を保った紡錘形の

象牙芽細胞様細胞が多く誘導され、象牙質の形成が顕著にみられ、また、炎症性細胞は、セメント直下に限局して認められた。一方、ProRoot およびカルビタールでは、慢性炎症性細胞浸潤および充血像が散見された。

【考 察】

改良型 MTA は球状微粒子のベアリング効果によって適切な稠度を獲得し、さらに、少ない水で練和することが可能となり、硬化時間が短縮したと考えられる。

pH 測定において、改良型 MTA は ProRoot と同様に強アルカリ性が維持されていた。強アルカリ性下では、歯髄切断面の象牙質誘導能が促進されるといわれている。改良型 MTA は、ProRoot と同様に強アルカリ性が維持されていることから、象牙質誘導能を有しているものと考えられる。

セメント溶出液中の溶出イオンを分析した結果、 Ca^{2+} の溶出量はセメント間で有意な差はなかった。象牙質が誘導される際に、必要となる Ca^{2+} は改良型 MTA と ProRoot に差がなかったことから、ともに新生象牙質の形成がみられたと考えられる (Yoshida et al., 2012)。 Bi^{3+} の濃度は、ProRoot のみから溶出されたものの、その濃度は低かった。いずれの試料においても Zr^{4+} の溶出は認めなかったため、 ZrO_2 粒子は、イオン化することなくセメント内で安定に存在していることがわかった。

改良型 MTA は、ProRoot と同等の細胞増殖がみられた。改良型 MTA は、歯髄切断後切断面に貼薬した結果、歯髄象牙境からの象牙質形成が顕著であり、ProRoot と同様に高い象牙質誘導能を有すると考えられる。

以上の結果から、WPC に SiO_2 および ZrO_2 を共添加することによって、操作性の大幅な向上と高い象牙質誘導能を有する改良型 MTA の開発ができることが明らかとなった。

【文 献】

Mente J, Leo M, Panagidis D, Ohle M, Schneider S., Lorenzo Bermejo, J & Pfefferle T. Treatment outcome of mineral trioxide aggregate in open apex teeth. J Endod 39 : 20-26, 2013

Okiji T & Yoshida K. Reparative dentinogenesis induced by mineral trioxide aggregate: a review from the biological and physicochemical points of view. Int J Dent : 1-12, 2009.

Parirokh M & Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod* 36(1) : 16-27, 2010.

Yoshihara N, Yoshihara K, Ohkura N, Shigetani Y, Takei E, Hosoya A, Nakamura H & Okiji T. Immunohistochemical analysis of two stem cell markers of alpha-smooth muscle actin and STRO-1 during wound healing of human dental pulp. *Histochem Cell Biol* 138(4) : 583-92, 2012.