



Title	歯根外部吸収想定モデルにおける 各種根管洗浄法の水酸化カルシウム貼薬効果に及ぼす影響
Author(s)	久田, 明奈
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11707号
Issue Date	2015-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11707
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59017
Type	doctoral thesis
File Information	Akina_Hisada.pdf



博士論文

歯根外部吸収想定モデルにおける 各種根管洗浄法の水酸化カルシウム貼薬効果に及ぼす影響

平成27年3月申請

北海道大学
大学院歯学研究科口腔医学専攻

久田明奈

抄録

歯根外部吸収に対する治療として、根管清掃および水酸化カルシウム製剤の貼薬が行われているが、機械的根管清掃により形成されたスミヤー層が象牙細管を閉塞し、貼薬剤の歯質への浸透を阻害することが報告されている。本研究は、北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科専門外来で根管治療に使用している薬剤を用いて、スミヤー層を効果的に除去し、有効な水酸化カルシウム貼薬効果を得るための化学的根管処理条件の比較検討を目的とした。

本実験には、52本のヒト永久歯の歯根を試料として用いた。根管拡大・形成後、洗浄法により4グループ(G1～G4)に分類した。洗浄法は、G1：生理食塩水、G2：10% NaOCl超音波洗浄、G3：14% EDTA超音波洗浄、G4：14% EDTA超音波洗浄→10% NaOCl超音波洗浄で、G2～G4は、洗浄剤を根管内に満たし、歯科用超音波多目的治療器(Osada ENAC 10W)を使用して45秒間の超音波洗浄を行い、生理食塩水で最終洗浄を行った。実験1として、走査型電子顕微鏡(SEM：HITACHI S-4000)にて根管内壁を観察し、得られたSEM写真から象牙細管の開口率を求めた。実験2として、水酸化カルシウム糊剤を根管貼薬した後、根管口と根尖孔を即時重合レジンで封鎖して、歯根外表面に人工的に吸収窩を付与した試料を水道水に浸漬し、pHメーター(HORIBA LAQUA)を用いて浸漬液の経時的なpH変化を計測した。実験3として、実験2と同様に作製した試料の外部吸収窩以外を

ネイルバーニッシュで被覆して、脱イオン水に浸漬し、ICP 発光分光分析装置（ICP-AES, P-4010, HITACHI）を用いて浸漬液の経時的なカルシウムイオン濃度を計測した。実験 1～3 で得られたデータに対し、統計処理を行った。

その結果、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行う方法が最もスミヤー層を除去することが示された。また、歯根外の pH の上昇やカルシウムイオンの拡散を促すには、スミヤー層除去効果の高い EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行う方法が最も効果的であることが示唆された。

キーワード：根管洗浄，スミヤー層，水酸化カルシウム，歯根外部吸収

緒言

水酸化カルシウムは、根管貼薬剤として長年広く使用されており、抗菌性¹⁻³⁾、硬組織の誘導⁴⁾、生体親和性⁵⁾など、様々な生物学的性質が特定されている。以上のような特性を持つ水酸化カルシウムは、外傷や歯列矯正など、歯根に対する侵襲により引き起こされる歯根の炎症性外部吸収を抑制する根管貼薬剤として推奨されている⁶⁾。これは、水酸化カルシウムによる歯根周囲の pH 上昇による破歯細胞由来の酸の中和^{7,8)}や、カルシウムイオン拡散による石灰化誘導⁹⁾などにより、歯根吸収の抑制に役立つと考えられているからである。

しかし、リーミングやファイリングなどの根管拡大により根管内壁にスミヤー層が形成され、象牙細管が閉塞し、根管貼薬剤の歯質への浸透を阻害する¹⁰⁻¹³⁾。そこで、化学的根管清掃によりスミヤー層を効果的に除去し、貼薬剤の歯質への浸透、歯根外表面への拡散を促進させることが、歯根の外部吸収に対する治療効果の向上に必要であると考えられる。

これまで、様々な根管洗浄法の比較検討が行われている¹³⁻²¹⁾。現在、無機質と有機質で構成されたスミヤー層の除去には、EDTA などのキレート剤と NaOCl を併用する方法が有効であるとされ^{13, 17, 18, 20)}、根管洗浄法として広く用いられている。しかし、その有効な濃度や使用量、作用時間などについては多様な意見がある。また、水酸化カルシウムからのイオン拡散についても多くの実験^{13, 22-35)}が行

われてきたが、その計測方法は様々で、イオンの拡散動態は不明な点が多い。

そこで、本研究では、北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科専門外来で根管治療に使用している薬剤を用いて、根管拡大後に根管内壁に形成されたスミヤー層の除去効果を比較検討した。また、人工的に外部吸収窩を付与した試料を用いて、歯根外の経時的な pH 変化と、カルシウムイオン濃度の変化を計測し、比較検討を行った。

方法

1. 倫理審査

本実験は、北海道大学大学院歯学研究科臨床・疫学研究倫理審査委員会の承認を得て行った（承認番号 2012 第 1 号）。

2. 試料の作製

(1) 抜去歯

本実験では、ヒト永久歯 52 本を使用した。いずれも重度の歯周疾患や、外傷などにより抜去されたものであり、単根・1 根管で歯根彎曲度が小さく、歯根歯質に亀裂、齲蝕、著しい歯石沈着が認められず、根管治療が行われていないものを選別した。抜去、研究への使用に関しては、患者の同意を得た。歯は、抜去後から実験開始までの期間（7 日～1 か月）、4 °C の水中に保存した。

(2) 根管拡大および根管形成

ヒト永久歯に対し、エアータービンにダイヤモンドポイント（スームスカット AR2, GC, 東京）を装着し、注水下にてセメントエナメル境で歯冠を切断し、根管を露出させた。各試料に対して、K ファイル（デンツプライ三金, 東京）を用いて根管の機械的拡大および形成を行った。15 号の K ファイルの先端が根尖から見えるところを根尖側基準点とし、この点から歯冠切断面までの長さを根管長とし、45 号まで根管長で拡大した。根管長から 1 mm 引いた長さを作業長と

し、80 号まで根管拡大・形成を行った。

(3) 根管洗浄

滅菌生食水（生理食塩液，大塚製薬，東京）は 23 ゲージの洗浄針を装着したシリンジ（ニプロ，大阪）を用いて，1 回使用量を 2.0 ml として洗浄した．次亜塩素酸ナトリウム溶液は 10% 次亜塩素酸ナトリウム溶液（ネオクリーナー「セキネ」[®]，ネオ製薬工業，東京）を，EDTA は 14% EDTA 溶液（モルホニン[®]歯科用液，昭和薬品化工，東京）を用いた．これらの薬剤の組み合わせにより，G1：生理食塩水，G2：10% NaOCl 超音波洗浄，G3：14% EDTA 超音波洗浄，G4：14% EDTA 超音波洗浄→10% NaOCl 超音波洗浄の 4 グループに分類した（図 1）．超音波洗浄は，歯科用超音波多目的治療器（Osada ENAC 10W，長田電機工業，愛知）に超音波用チップ（ST49A-0.8tip，長田電機工業，愛知/U-file size #15，茂久田商会，兵庫）を装着し，Power1，無注水下で使用し，薬剤を満たした根管内にチップを作業長から 1 mm 引いた長さまで挿入して行った．その際，15 秒おきに根管内に薬剤を追加し，根管を常に薬剤で満たした状態で計 45 秒間の超音波洗浄を行った．また，G2～G4 は生理食塩水で最終洗浄を行った．

3. 根管内壁の観察

実験 1 として，20 本の歯を無作為に 5 本ずつ 4 グループ（G1～G4）に分類し，各種根管洗浄後，すべての試料を歯軸方向に二分割し，通法に従って浸漬固定

(2.5%グルタルアルデヒド (0.05mol カコジル酸ナトリウム緩衝液含有, pH7.3)), 上昇アルコール系列での脱水 (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%), 置換 (酢酸イソアミル), 臨界点乾燥 (HCP-1 型 日立臨界点乾燥装置, 日立製作所, 東京), イオンスパッター (E-1030, 日立製作所, 東京) を用いて 150 秒間 Pt-Pd 蒸着し, 走査型電子顕微鏡 (HITACHI S-4000, 日立製作所, 東京, 以下 SEM) 用試料を作製した. 加速電圧 10kV で, SEM にて根中央部と根尖部の根管内壁の観察を行った. 根尖部は根尖から 2 mmの範囲で観察を行った. 試料毎に重複しないように根中央部 12 か所と根尖部 6 か所を倍率 1500 倍で写真撮影した. 得られた SEM 写真において, 各象牙細管の半分以上が開口しているものを開口とし, それ以外を閉鎖とした. 開口した象牙細管と閉鎖した象牙細管の中央で線を引き, 開口している部分の面積を A として求めた. SEM 写真に写っている根管象牙質全体の面積を B とし, 象牙細管開口率 ($A/B \times 100$) (%) を算出した.

4. pH の計測

実験 2 として, 12 本の歯を無作為に 3 本ずつ 4 グループ (G1~G4) に分類し, 各種根管洗浄後, 根管内に水酸化カルシウム粉末 (JIS K 8575, purity:min, 96.0%, 関東化学, 東京) と生理食塩水を重量比 1 : 1 の割合で練和して作製した水酸化カルシウム糊剤を, レンツロを用いて貼薬した. 試料は根管内に水酸化カルシウム糊剤を貼薬した後, 根管口と根尖孔を即時重合レジン (UNIFAST III, ジーシー,

東京)によって封鎖した。その後、エアータービンに直径 1.4mm のラウンドタイプのダイヤモンドポイント (スムースカット D4014, GC, 東京) を装着し、注水下にて使用し、歯根中央部の外表面に人工的な吸収窩 (2 mm×3 mm×1 mm) を付与した (図 2)。吸収窩表面を G4 (EDTA 超音波洗浄 45 秒間→NaOCl 超音波洗浄 45 秒間→生理食塩水 2ml) で洗浄し、スミヤー層を除去した。これらをコニカルチューブ (REF 352096, Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA) に入れた 5 ml の水道水に浸漬し、37 °C に設定した保温庫 (ACW-610, アピックス, 大阪) 内に保管した。pH の経時的変化を計測するため、pH メーター (HORIBA LAQUA, 電極: LAQUA ELECTRODE #9618-10D, 堀場製作所, 京都) を用いて浸漬直後、1 日後、1, 2, 3, 4 週後に、浸漬液の pH 計測を行った。また、水道水 5 ml をコニカルチューブに入れ、水道水のみの経時的な pH 変化も計測した。

5. カルシウムイオンの計測

実験 3 として、20 本の歯を無作為に 5 本ずつ 4 グループ (G1~G4) に分類し、上記の pH 計測の試料と同様に、水酸化カルシウム糊剤の貼薬、即時重合レジンでの封鎖、外部吸収窩の付与を行った後、外部吸収窩以外をネイルバーニッシュで被覆し、コニカルチューブに入れた 10 ml の脱イオン水に浸漬して、37 °C で保管した。ICP 発光分光分析装置 (ICP-AES, P-4010, HITACHI, 東京) を用いて 1, 2, 3, 4 週後に、浸漬液のカルシウムイオン濃度を計測した。

6. 統計

得られた結果に対し，SPSS ver. 21（IBM, Armonk, New York, USA）を使用して，統計学的解析を行った．グループ間の比較には One-way ANOVA および Tukey 法を用いた．また，グループ間の経時的変化の比較には Two-way repeated measures ANOVA を使用した．有意水準は $p < 0.05$ とした．

結果

1. 根管内壁の観察

各グループにおける根管内壁の SEM 画像を図 3, 4 に, 象牙細管開口率を表 1 に示す.

(1) 根中央部

G1 では, スミヤー層で覆われており, 象牙細管の輪郭はほとんど観察されなかった (図 3a). G2 では, スミヤー層が残存し, 辛うじて象牙細管の位置は確認できるものの, 象牙細管の輪郭を完全に観察できるものは少なかった (図 3b). G3 では, スミヤー層は除去されており, 多くの象牙細管の開口が認められたが, 細管の輪郭が不明瞭なものも存在した (図 3c). G4 では, スミヤー層はほぼ認められず, 明瞭な輪郭を示す象牙細管の開口が観察された (図 3d). 象牙細管開口率 (平均値 $\pm$ S.E.) は, G1 が $0.11\pm0.05\%$, G2 が $5.01\pm1.36\%$, G3 が $82.17\pm1.50\%$, G4 が $96.72\pm0.48\%$ であり, G4 が最も高い値を示した (表 1). すべてのグループ間で有意差が認められた ($p<0.01$).

(2) 根尖部

G1, G2 では, スミヤー層に覆われ, 象牙細管の輪郭はほとんど観察されなかった (図 4a, b). G3 では, スミヤー層が残存し, 辛うじて象牙細管の位置は確認できるものの, 象牙細管を完全に観察できるものは少なかった (図 4c). G4 で

は、少数の象牙細管の開口が観察されたが、スミヤー層が残存し、輪郭は不明瞭なものが多かった。(図 4d)。象牙細管開口率(平均値±S.E.)は、G1 が 0.06 ± 0.03 %, G2 が 0.43 ± 0.16 %, G3 が 4.41 ± 0.65 %, G4 が 12.70 ± 2.37 %であった(表 1)。G4 の開口率は、G1, G2, G3 と比較して有意に高い値を示した($p < 0.01$)。根尖部は根中央部と比較して、G1~G4 すべてのグループにおいて開口率は低い値を示した。

2. pH の計測

水酸化カルシウム糊剤を貼薬した試料の浸漬液の経時的な pH 変化を図 5 に示す。比較として、水道水のための経時的な pH 変化を点線で示す。水道水の pH は時間経過とともに低下した。一方、すべての実験グループでは、pH は一度低下するものの、経時的に pH の上昇が認められた。G4 は、G1~G3 と比較して 1~4 週で有意に高い pH を示し($p < 0.05$)、2 週以降、開始時よりも高い pH を示した。G1~3 の 3 グループ間で、統計学的有意差は認められなかった。

3. カルシウムイオンの計測

水酸化カルシウム糊剤を貼薬した試料の浸漬液の経時的なカルシウム濃度の変化を図 6 に示す。図 6 より、最もカルシウムイオン濃度が高かったのは G4 であり、他の 3 グループと比較して高い値を示し、すべての期間で有意差が認められた($p < 0.05$)。ついで G3, G2, G1 の順であったが、3 グループ間では統計

学的有意差は認められなかった。また、4 グループとも 0～1 週目で最も多くのカルシウムイオンが拡散していることが示された。

考察

本研究は、北海道大学病院歯科診療センター小児・障害者歯科専門外来で根管治療に使用している薬剤を用いて、根管内壁に形成されたスミヤー層を効果的に除去し、有効な水酸化カルシウム貼薬効果を得るための化学的根管処理条件の比較検討を目的として、*in vitro*にて実験を行った。その結果、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を用いた方法が効果的に根管内壁のスミヤー層を除去し、さらに、歯根外の pH の上昇やカルシウムイオンの拡散を促進させることが示された。

本研究では、豊田らの先行研究¹³⁾を踏まえて、45 号まで根管長での根管拡大後、作業長で 80 号まで根管拡大・形成を行った。作業長での根管拡大・形成は、根管長での拡大号数から 3 段階拡大するのが一般的である。つまり、45 号まで根管長で拡大を行った場合、60 号まで作業長での拡大・形成を行うが、今回、洗浄に使用した薬剤と超音波の洗浄効果のみを観察するため、超音波洗浄で用いた U-file が根管内壁に接触しないよう、80 号までの十分な拡大を行った。

実験 1 において、根管内壁を SEM で観察し、得られた SEM 写真から象牙細管の開口率を算出し、各根管洗浄法の比較検討を行った。今回の実験では、最終洗浄を生理食塩水としたが、最終洗浄を交互洗浄とした豊田らの先行研究¹³⁾と比較するため、予備実験を行なった。彼らは、洗浄剤として 5% EDTA と 5% NaOCl

を用い、最終洗浄を交互洗浄（5% NaOCl, 31 %H₂O₂）としていた。予備実験では、豊田らの洗浄法との比較を行うため、EDTA と NaOCl は同じ濃度のものを使用し、最終洗浄を生理食塩水とした。象牙細管の開口率を比較したところ、最終洗浄の違いによる統計学的有意差は認められなかった。このことから、薬剤のみの洗浄効果を比較検討するために、本研究では最終洗浄を生理食塩水とした。また、EDTA と NaOCl の併用について、彼らは EDTA 超音波洗浄後に NaOCl 超音波洗浄を行うグループに加えて、EDTA と NaOCl の順番を逆にした実験グループを設けている。その結果、根中央部において EDTA→NaOCl のグループが最も高い象牙細管開口率を示した。本実験では、人工的外部吸収窩を設ける根中央部において、より象牙細管開口率の高かった EDTA→NaOCl の順で行う洗浄法を採用した。

これまで、根管洗浄薬剤の種類やその組み合わせや、濃度、量、作用時間、補助器具の有無など、様々な根管洗浄法の比較、検討が行われてきた¹³⁻²¹⁾。現在、無機質と有機質で構成されたスミヤー層の除去には、EDTA などのキレート剤と NaOCl を組み合わせる方法が有効であるとされ^{13, 17, 18, 20)}、根管洗浄法として広く用いられている。本研究においても、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行った根管洗浄方法が、根中央部および根尖部ともに多くの根管内壁表面の象牙細管を開口させ、管間象牙質の性状も滑らかであり、スミヤー層の除去に有効であることが示唆された。

根中央部と比較して、根尖部の象牙細管開口率は 4 グループともに低い値を示した。この結果は、豊田ら¹³⁾の結果と一致する。この結果の理由として、彼らは根尖狭窄部の複雑な解剖学的特徴による機械的、化学的根管清掃の限界と、根尖部象牙細管の組織学的特徴を挙げている。組織学的特徴として、歯頸部から根尖部にいくにつれて、単位面積あたりの象牙細管の数、直径は減少し、歯根象牙質の石灰化度は上昇していることが報告されている³⁶⁻³⁸⁾。また、根尖部の SEM 観察、撮影は、U-file の先端位置に設定した根尖から 2mm の範囲で行っており、この根尖部領域では根中央部と比較して超音波による影響が少なかったのではないかと推測される。これらの理由から、根尖部は根中央部と比較して根管洗浄の効果が得られにくいと考えられた。

次に、実験 2 として、pH の経時的変化を計測した。これまで、根管内の糊剤の pH を計測する方法^{22, 26, 31, 33)}、糊剤を貼薬した歯を浸漬した溶液の pH を計測する方法^{23, 25, 28, 32, 34, 35)}、糊剤を貼薬した歯を pH 指示薬含有の寒天に埋入して色の変化をスコア化する方法^{13, 24, 29)}など、様々な実験方法が用いられてきた。本研究では、歯を浸漬させた溶液の pH を、pH メーターを用いて計測する方法で実験を行った。

予備実験において、浸漬液として脱イオン水、水道水を用い、両者の比較を行った。脱イオン水では pH が不安定で、計測値が表示されないことも多かった。

一方、水道水では、脱イオン水と比較すると pH が安定していたため、今回の実験では、浸漬液として水道水を採用した。また、実験 3 と同様にネイルバーニッシュで被覆した試料を用いた予備実験を行ったところ、ネイルバーニッシュの影響で pH が大幅に低下（1 日後に pH4.5～5.5）したため、今回の pH 計測は、試料を即時重合レジンのみで封鎖して実験を行った。予備実験では、その封鎖状態を確認するため、フェノールフタレイン含有寒天に埋入し、人工的外部吸収窩以外の部位で色の変化がないことを確認し、さらに人工的外部吸収窩を付与しない試料（水酸化カルシウム貼薬あり）での pH 計測を行ったところ、pH の上昇が認められないことを確認した。

今回の結果から、水道水のみの pH 変化を観察すると、経時的な pH の低下が認められた。これは、計測の際に空気中の二酸化炭素が取り込まれて水が酸化し、さらに、水中に微生物が繁殖し、産生された酸により pH が低下したのではないかと推測される。一方、すべての実験グループにおいて、経時的な pH の上昇が見られた。なかでも、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行った G4 は、1 週以降、他の 3 グループと比較して有意に高い pH を示した。豊田ら¹³⁾は、水酸化カルシウムを貼薬した歯を 1% フェノールフタレイン含有の寒天中に埋入し、外部吸収窩周囲の pH 変化による寒天の色の変化を観察、スコア化した。彼らは、5% EDTA と 5% NaOCl を併用して超音波洗浄を行ったグループで最も高いスコア

を示した、と報告している。また、Saif et al.³⁴⁾は、本研究と同じく、水酸化カルシウム貼薬を行った歯を浸漬した溶液のイオン計測を行い、17% EDTA と 6% NaOCl を併用した根管洗浄において、EDTA の使用量を 1 ml と 3 ml で比較し、3 ml の EDTA を使用した場合の pH が高かったと報告している。これらの報告と本研究の結果から、根管内壁に形成されたスミヤー層をより効果的に除去する根管洗浄法を用いると、象牙細管が多く開口し、水酸化物イオンの根管内から歯根外への拡散を促進することが示唆された。

さらに本研究では、実験 3 として各種根管洗浄法によるカルシウムイオンの拡散の比較検討を行った。過去の研究において、水酸化カルシウム糊剤を貼薬した歯を浸漬した溶液のカルシウムイオン濃度を計測する方法^{23, 25, 27, 28, 30, 32, 35)}が用いられてきており、本研究でも同様の方法で実験を行った。

得られた結果から、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行った G4 は、他の 3 グループと比較して、浸漬液のカルシウムイオン濃度がすべての期間で有意に高い値を示した。Guigand et al.²⁷⁾は、backscattered electron image scanning electron microscopy を用いて、カルシウムイオンが象牙細管を通過し、根表面に拡散することを示した。また、Foster et al.²³⁾は、本研究と同じく水酸化カルシウム貼薬を行った歯を浸漬した溶液のイオン計測を行い、17% EDTA と 5.25% NaOCl を用いた根管洗浄を行ったグループでは、NaOCl 単独で洗浄したグループ

と比較して根管内から根周囲へのカルシウムイオンの拡散が促されたと報告している。これらの報告と本研究の結果から、EDTA と NaOCl を用いた超音波洗浄によって根管内壁のスミヤー層が除去され、象牙細管が開口することにより歯根象牙質の透過性が上昇し、カルシウムイオンの根管内から歯根外表面への拡散を促進することが示唆された。

実験 1 において、高い象牙細管開口率を示した G3 だが、実験 2, 3 では、象牙細管開口率の低かった G1, G2 と比較して、統計学的有意差は認められなかった。

Deardorf et al.³⁹⁾は、EDTA はアパタイト基質中のカルシウムをキレート化し、NaOCl 単独で洗浄した場合よりも周囲環境をリン酸イオンに富んだ状態にする と報告している。彼らによると、EDTA 洗浄後に根管内に水酸化カルシウムを貼薬すると、リン酸カルシウムが形成され、その結晶の沈着が物理的にイオン拡散の妨げとなる。さらに、根管内に残った EDTA やリン酸塩に富んだ環境ではカルシウムイオンが消費され、拡散できるカルシウムイオン濃度を減少させると推測される。本研究では、G4 でも EDTA を使用したが、その後 NaOCl による洗浄を行っているため、G3 と比較して、EDTA による影響は少なかったと考えられた。

また、本研究では、根管内壁表面に堆積したスミヤー層の有無、象牙細管の開口を観察した。その際、根中央部の SEM 観察において、象牙細管開口部を観察すると、G3 ではスミヤー層が象牙細管内に侵入したスミヤープラグと思われる像

が G4 と比較して多く観察された。このスミヤープラグの存在も、高い象牙細管開口率を示した G3 が、実験 2, 3 において G1, G2 との統計学的有意差が認められなかった理由の一つと推測される。しかし、今回、スミヤープラグの象牙細管内への侵入状態を確認するための観察は行っていないため、今後は縦断切片を作製し、各根管洗浄法によるスミヤープラグの有無やその侵入状態を観察することも課題となる。

実験 2, 3 を比較すると、pH の上昇率は 2～3 週が最も大きく（図 5）、カルシウムイオン濃度の上昇率は 0～1 週が最も大きかった（図 6）。大竹⁴⁰⁾によると、ヒト象牙質を介して電気浸透を行うと、陰イオンと比較して陽イオンが早く浸透する。さらに、陰イオンは pH が酸性に、陽イオンはアルカリ性に傾くほど、象牙質内を速やかに輸送される。このことから、水酸化カルシウム糊剤を貼薬し、アルカリ性に傾いた象牙質では、陰イオンである水酸化物イオンの方が、陽イオンであるカルシウムイオンよりも象牙細管内の移動、根外表面への拡散に時間を要することが推測された。

本研究の結果から、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を用いた方法が効果的に根管内壁のスミヤー層を除去し、さらに、歯根外の pH 上昇、カルシウムイオンの拡散を促進させることが示された。今後は、永久歯に加えて乳歯を試料として用いて、洗浄液の種類や濃度、根管貼薬剤として使用した水酸化カルシウム

の種類を変更し，また，根管貼薬期間を延長してイオン動態の観察を行うなど，
更なる検討が必要であると考えられた．

結論

本研究は、機械的清掃後の根管壁に形成されたスミヤー層を効果的に除去し、水酸化カルシウム糊剤貼薬後のイオン拡散を促進する根管洗浄法の比較・検討を目的とした。

その結果、EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行う方法が最もスミヤー層を除去することが示された。また、歯根周囲の pH の上昇やカルシウムイオンの拡散を促すには、スミヤー層除去効果の高い EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行う方法が最も効果的であることが示唆された。

謝辞

稿を終えるにあたり，御指導頂きました八若保孝教授，中村光一先生，豊田有希先生に心よりの感謝を申し上げますとともに，口腔機能学講座小児・障害者歯科学教室の諸先生方に深く御礼申し上げます．

本研究の一部は，科学研究費補助金，基盤研究(C)（一般）（課題番号 22592276，2546316403）の補助により行った．

参考文献

- 1) Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL: In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium-hydroxide. J Endod 24:15-17, 1998.
- 2) Han GY, Park SH, Yoon TC: Antimicrobial activity of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ containing pastes with *Enterococcus faecalis* in vitro. J Endod 27:328-332, 2001.
- 3) Behnen MJ, West LA, Liewehr FR, Buxton TB, McPherson JC: Antimicrobial activity of several calcium-hydroxide preparations in root canal dentin. J Endod 27:765-767, 2001.
- 4) Holland R, de Souza V: Ability of new calcium hydroxide root canal filling material to induce hard tissue formation. J Endod 11:535-543, 1985.
- 5) Andolfatto C, da Silva GF, Cornélio AL, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Faria G, Bonetti-Filho I, Cerri PS: Biocompatibility of intracanal medications based on calcium hydroxide. ISRN Dent 10:1-6, 2012.
- 6) Fuss Z, Tsesis I, Lin S: Root resorption—diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. Dent Traumatol

19:175–182, 2003.

- 7) Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I: pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 7:17–21, 1981.
- 8) Heward S, Sedgley CM: Effects of intracanal mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide during four weeks on pH changes in simulated root surface resorption defects: an in vitro study using matched Pairs of human teeth. *J Endod* 37:40–44, 2011.
- 9) Narita H, Itoh S, Imazato S, Yoshitake F, Ebisu S: An explanation of the mineralization mechanism in osteoblasts induced by calcium hydroxide. *Acta Biomater* 6:586–590, 2010.
- 10) McComb D, Smith DC: A preliminary scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. *J Endod* 1:238–242, 1975.
- 11) Mader CL, Baumgartner JC, Peters DD: Scanning electron microscopic investigation of the smeared layer on root canal walls. *J Endod* 10:477–483, 1984.
- 12) Fogel HM, Pashley DH: Dentin permeability: Effects of endodontic procedures on root slabs. *J Endod* 16:442–445, 1990.

- 13) 豊田有希, 吉原俊博, 八若保孝: 各根管洗浄法の洗浄効果と水酸化カルシウム製剤による水酸化物イオンの拡散. 北海道歯誌, 34:53-64, 2014.
- 14) Yamada RS, Armas A, Goldman M, Lin PS: A scanning electron microscopic comparison of high volume final flush with several irrigating solutions: Part 3. J Endod 9:137-142, 1983.
- 15) Baumgartner JC, Mader CL: A scanning electron microscopic evaluation of four root canal irrigation regimens. J Endod 13:147-157, 1987.
- 16) Calt S, Serper A: Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. J Endod 28:17-19, 2002.
- 17) Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon A: Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. Int Endod J 36:810-830, 2003.
- 18) Zehnder M: Root canal irrigants. J Endod 32:389-398, 2006.
- 19) Lui JN, Kuah HG, Chen NN: Effect of EDTA with and without surfactants or ultrasonics on removal of smear layer. J Endod 33:472-475, 2007.
- 20) Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y: Irrigation in endodontics. Dent Clin North Am 54:291-312, 2010.
- 21) Prado M, Gusman H, Gomes BP, Simao RA: Scanning electron microscopic

investigation of the effectiveness of phosphoric acid in smear layer removal when compared with EDTA and citric acid. J Endod 37:255-258, 2011.

22) Nerwich A, Figdor D, Messer HH: pH changes root dentin over a four week period following root canal dressing with calcium hydroxide. J Endod 10:302-306, 1993.

23) Foster KH, Kulild JC, Weller RN: Effect of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. J Endod 19:136-140, 1993.

24) 八巻恵子 : 水酸化カルシウム貼薬による歯根周囲の pH 変化と臨床応用に関する研究. 日歯保存誌, 36:147-157, 1993.

25) Simon ST, Bhat KS, Francis R: Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and the release of calcium ion. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 80:459-464, 1995.

26) Fuss Z, Rafaeloff R, Tagger M, Szajkis S: Intracanal pH changes of calcium hydroxide pastes exposed to carbon dioxide in vitro. J Endod 22:362-364, 1996.

27) Guigand M, Vulcain JM, Dautel-Morazin A, Bonnaure-Mallet M: In vitro

study of intradentinal calcium diffusion induced by two endodontic biomaterials. J Endod 23:387-390, 1997.

28) Calt S, Serper A, Ozcelik B, Dalat MD: pH changes and calcium ion diffusion from calcium hydroxide dressing materials through root dentin. J Endod 25:329-331, 1999.

29) 和達礼子, 菊池和泉, 荒木孝二, 須田英明: 根管貼薬した各種水酸化カルシウム剤中の水酸化物イオンの拡散動態について. 歯薬療法, 21:20-27, 2002.

30) Caiced R, Mercante DE, Alongi DJ: Calcium-ion diffusion of four calcium-hydroxide-based materials: Ultracal XS, Vitapex, Roeko Calcium-Hydroxide Plus Points, and pure calcium hydroxide through radicular dentin. Int J Oral-Med Sci 3:75-82, 2004.

31) Pacios MG, de La Casa ML de, Bulacio M de los A, Lopez ME: Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes. J Oral Sci 46:107-111, 2004.

32) Camargo CHR, Bernardineli N, Valera MC, et al: Vehicle influence on calcium hydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. Dent Traumatol 22:302-306, 2006.

33) Yucel AC, Aksoy A, Ertas E, Guvenc D: The pH changes of calcium hydroxide

mixed with six different vehicles. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 103:712-717, 2007.

- 34) Saif S, Carey CM, Tordik PA, McClanahan SB: Effects of irrigants and cementum injury on diffusion of hydroxyl ion through the dentinal tubules. J Endod 34:50-52, 2008.
- 35) Duarte MAH, Balan NV, Zeferino MA, Vivan RR, Morais CAH, Tanomaru-Filho M, Ordinola-Zapata R, Moraes IG: Effect of ultrasonic activation on pH and calcium released by calcium hydroxide pastes in simulated external root resorption. J Endod 38:834-837, 2012.
- 36) Whittaker DK, Kneale MJ: The dentine-predentine interface in human teeth. A scanning electron microscope study. Br Dent J, 146:43-46, 1979.
- 37) Vasiliadis L, Darling AI, Levers BG: The histology of sclerotic human root dentine. Arch Oral Biol 28:693-700, 1983.
- 38) Marion D, Jean A, Hamel H, Kerebel LM, Kerebel B: Scanning electron microscopic study of odontoblasts and circumpulpal dentin in a human tooth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 72:473-478, 1991.
- 39) Deardorf KA, Swartz ML, Newton CW, Brown CE: Effect of root canal treatments on dentin permeability. J Endod 20:1-5, 1994.

- 40) 大竹知世：歯髓炎の保存的療法の基礎的研究（特に歯牙硬組織の電気化学的性質に関連して）。口病誌, 23:223-243, 1956.

表 1 象牙細管開口率

<根中央部>

	開口率(%)	
	Mean	S.E.
G1	0.11	0.05
G2	5.02	1.36
G3	82.17	1.50
G4	96.72	0.48

	G1	G2	G3	G4
G1				
G2	*			
G3	*	*		
G4	*	*	*	

<根尖部>

	開口率(%)	
	Mean	S.E.
G1	0.06	0.03
G2	0.43	0.16
G3	4.41	0.65
G4	12.70	2.37

	G1	G2	G3	G4
G1				
G2	n.s.			
G3	n.s.	n.s.		
G4	*	*	*	

S. E. : 標準誤差

統計分析 : One-way ANOVA および Tukey 法

* : $p < 0.01$, n. s. : 有意差なし

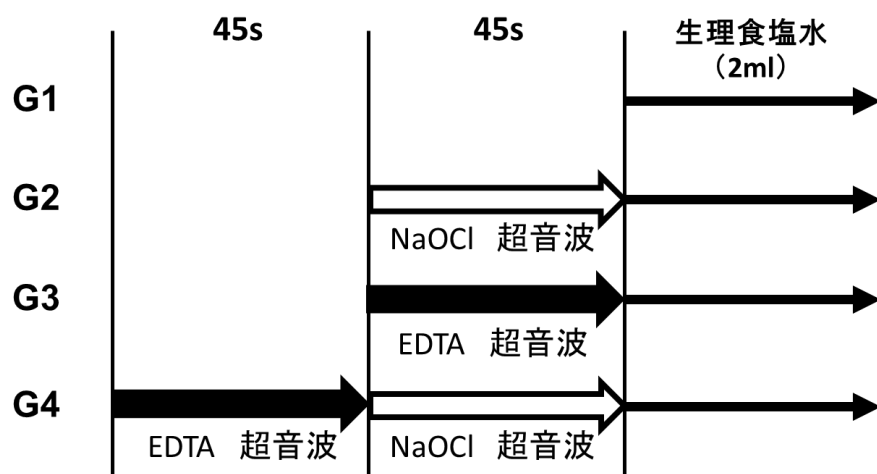


図 1 根管洗浄法によるグループ分け

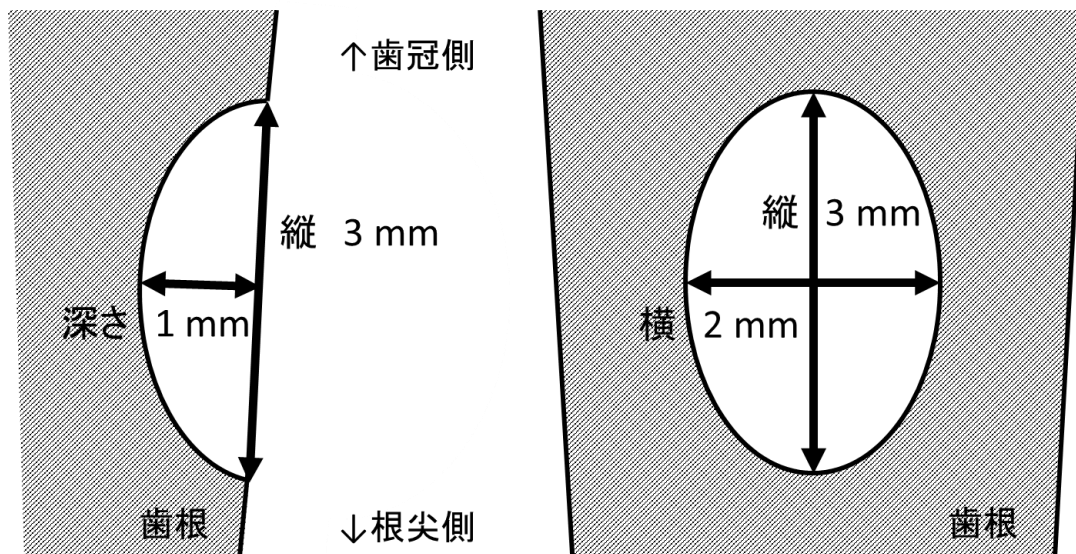


図 2 外部吸収窩 模式図

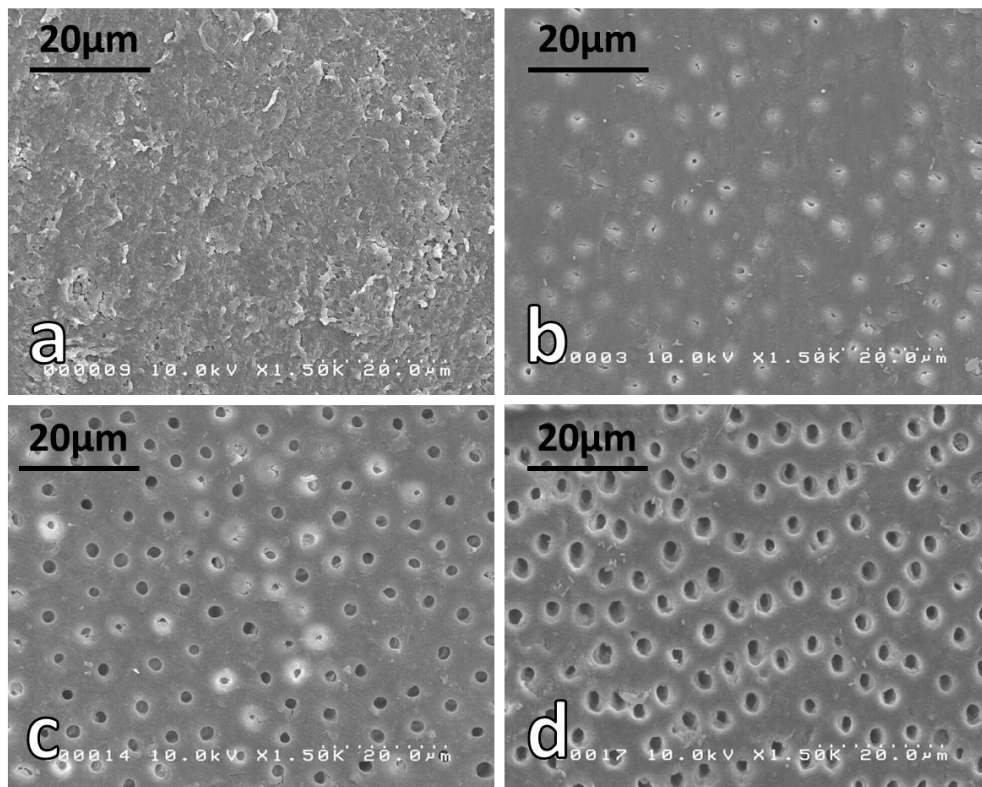


図 3 根管内壁の SEM 画像（根中央部）

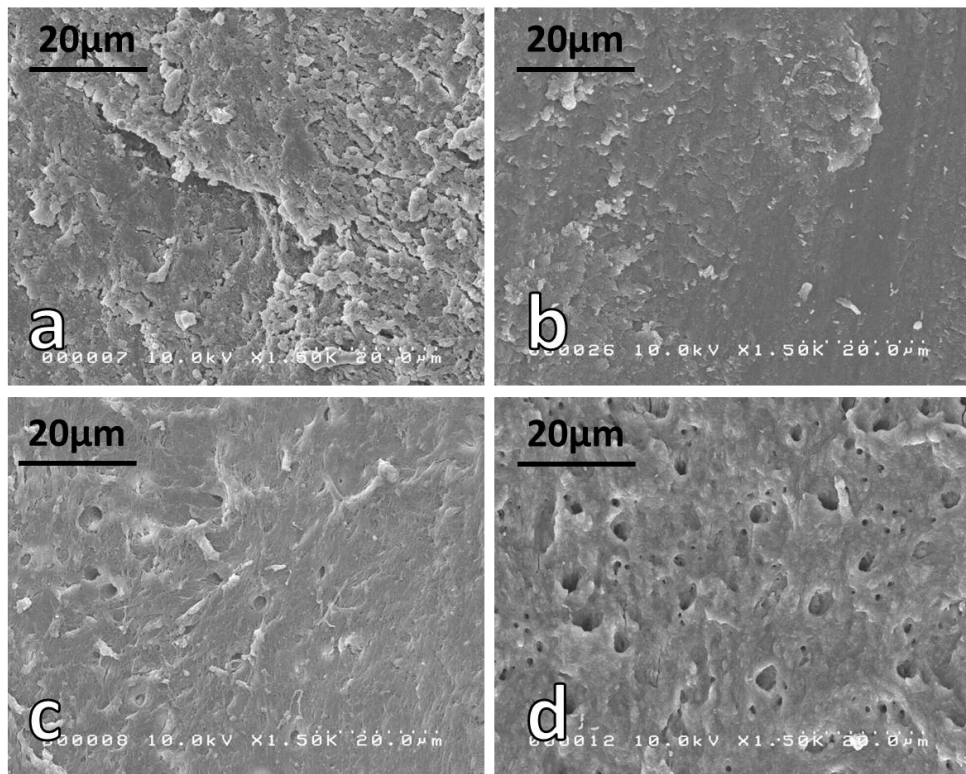


図 4 根管内壁の SEM 画像（根尖部）

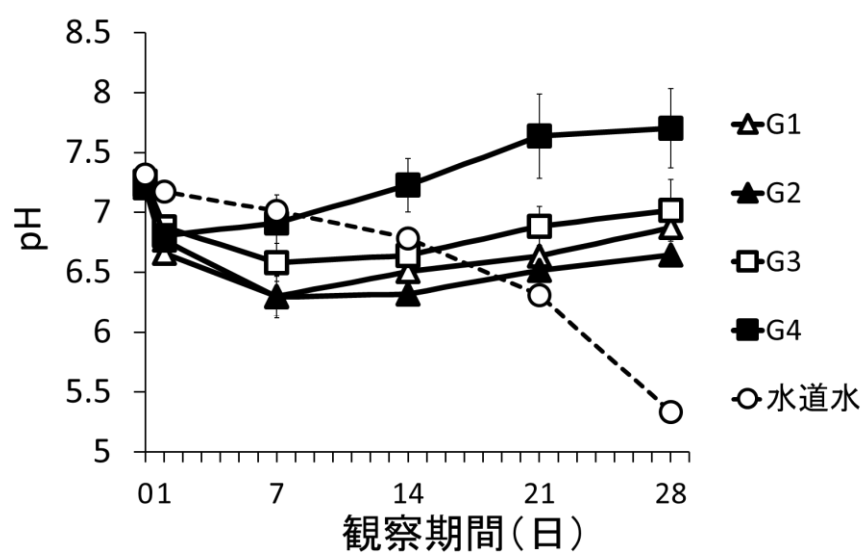


図5 pH 変化

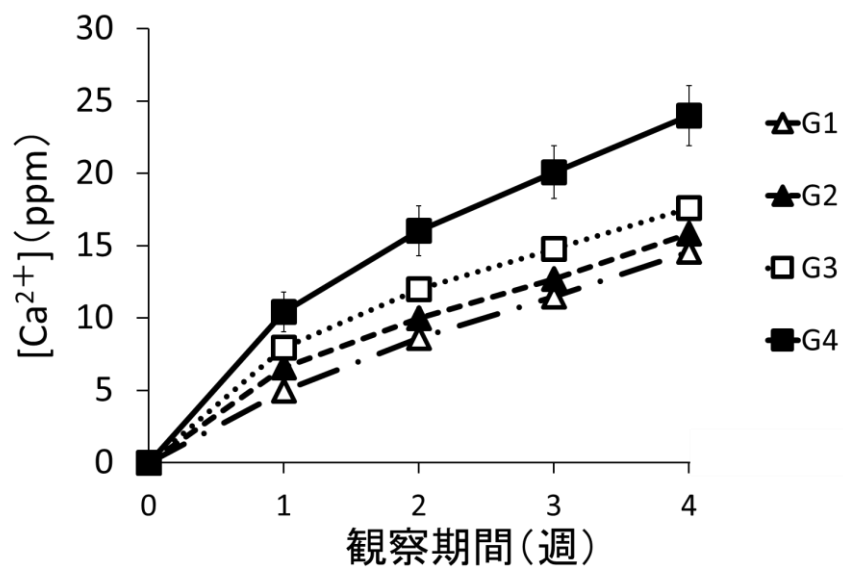


図6 カルシウムイオン濃度の変化

表 1 象牙細管開口率

図 1 根管洗浄法によるグループ分け

図 2 歯根中央部外表面に人工的に形成した吸収窩 模式図

図 3 根管内壁の SEM 画像（根中央部）（1,500 倍）

- a : G1 スミヤー層で覆われており，象牙細管の輪郭はほぼ観察されなかった．
- b : G2 スミヤー層が残存し，象牙細管を完全に観察できるものは少なかった．
- c : G3 スミヤー層はほぼ存在せず，多くの象牙細管が観察されたが，細管の輪郭が不明瞭なものも存在した．
- d : G4 スミヤー層はほぼ存在せず，輪郭が明瞭な多くの象牙細管が観察された．

図 4 根管内壁の SEM 画像（根尖部）（1,500 倍）

- a : G1 多くのスミヤー層が存在し，象牙細管はほぼ観察されなかった．
- b : G2 多くのスミヤー層が存在し，象牙細管はほぼ観察されなかった．
- c : G3 スミヤー層が残存し，象牙細管を観察できるものは少なかった．
- d : G4 一部の象牙細管が観察されたが，スミヤー層が残存し，輪郭は不明瞭なものが多かった．

図 5 pH 変化

4 グループとも 1 日目で pH は一度低下したが, 7~28 日で pH の上昇が認められた. G4 は, G1~G3 と比較して 7~28 日で有意に高い pH を示した ($p < 0.05$). G1~G3 の 3 グループ間では, 統計学的有意差は認められなかった.

平均値 $\pm$ S. E.

統計分析: Two-way repeated measures ANOVA および Tukey 法

図 6 カルシウムイオン濃度の変化

G4 は, すべての期間で, G1~G3 と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$). 4 グループとも, 0~1 週目で最も多くのカルシウムイオンが拡散していることが示された. G1~G3 の 3 グループ間では, 統計学的有意差は認められなかった.

平均値 $\pm$ S. E.

統計分析: Two-way repeated measures ANOVA および Tukey 法

**Effects of Root Canal Irrigations on Intracanal Medication with Calcium Hydroxide
Effects in Root External Resorption Models.**

Akina Hisada, Kouichi Nakamura, Yuki Toyota and Yasutaka Yawaka

Department of Dentistry for Children and Disabled Person, Division of Oral Functional
Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine, Kita 13, Nishi 7,
Kita-ku, Sapporo 060-8586 Japan (Chief: Prof. Yasutaka Yawaka)

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the influence of endodontic irrigation associated with the removal of smear layer and ion diffusion from calcium hydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) through the dentin of extracted human teeth.

Fifty-two single-rooted teeth were instrumented to a size of #80 K file and randomly divided into four groups (G1, G2, G3, G4) according to the difference of irrigation. G1: 2ml of normal saline, G2: 10% NaOCl with ultrasonic, G3: 14% EDTA with ultrasonic, G4: 14% EDTA with ultrasonic followed by 10% NaOCl. Ultrasonic irrigation time periods were 45 seconds and all the roots performed the last irrigating with 2ml of normal saline. As the experiment 1, we observed the root canal wall with the scanning electron

microscope and calculated the ratio of the opened dentinal tubules. As the experiment 2, we evaluated the diffusion of OH^- through dentinal tubules as pH changing. The external defects were created on the root surface as outer resorbed cavities. The root canals were filled with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ powder: normal saline=1:1), their root canal orifice and the apical foramen were sealed with cold curing resin. They were placed in tap water, and pH values of bathing solution were measured with pH meter at 1, 7, 14, 21, 28 days. As the experiment 3, we evaluated the diffusion of Ca^{2+} through dentinal tubules. The specimens produced like the experiment 2 were covered with nail varnish except external defects. They placed in deionized water, and Ca^{2+} concentrations of bathing solution were measured with ICP emission spectro-photometric analysis at 1, 2, 3, 4 weeks. The results were analyzed by ANOVA and Tukey tests ($P < 0.05$).

This study demonstrated that combination of EDTA and NaOCl with ultrasonic was most effective in removing the smear layer and ion diffusing from the root canal to the surrounding media.

Key Word: endodontic irrigation, ultrasonic, smear layer, calcium hydroxide