HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	炭酸カルシウムまたはα-TCPを複合化した4-META/MMA-TBBレジン上への新生骨の接触
Author(s)	柳澤, 剛; 菅谷, 勉; 川浪, 雅光
Citation	北海道歯学雑誌, 36(2), 54-62
Issue Date	2016-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60940
Type	journal article
File Information	36-02_03_Yanagisawa.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道歯誌　36：54−62，2016.

原　著

炭酸カルシウムまたはα-TCPを複合化した4-META/MMA-TBBレジン上への新生骨の接触

柳澤　　剛　　菅谷　　勉　　川浪　雅光

抄　録：4-META/MMA-TBBレジンは優れた接着性と生体親和性を有することから，歯根端切除術や垂直歯根破折の接着治療，髄床底穿孔部の封鎖などに応用されてきたが，レジン上への硬組織の形成はできていないのが現状である．一方で，4-META/MMA-TBBレジンに炭酸カルシウムを添加すると，骨との結合を促進させることが示唆されている．そこで，本研究では4-META/MMA-TBBレジンにα-TCPおよび炭酸カルシウムを複合化させ，大腿骨骨髄腔に移植して新生骨との接触状態などを評価した．

4-META/MMA-TBBレジンを硬化させて円柱形試料を作製し，炭酸カルシウムまたはα-TCPをそれぞれ０，40，60wt%で複合化したスーパーボンドポリマー粉末を，モノマー液とキャタリストに混和し，円柱形試料表面に塗布，Wistar系雄性ラットの左右大腿骨骨髄腔に穿孔して埋植した．術後２，８週で大腿骨を採取，脱灰薄切標本を作製してH-E染色し，試料底部と骨との接触率などを計測した．

２週後，すべての群で試料周囲に新生骨が形成されていたが，新生骨と試料が直接接している部分はほとんどなかった．８週後には試料と骨が直接接している部分もみられ，接触率はコントロール群は2.6±0.5%（中央値±四分位偏差），炭酸カルシウム40%群は0±4.8%，炭酸カルシウム60%群は０%，α-TCP40%群は14.0±5.0%，α-TCP 60%群は28.3±14.4%で，α-TCP40%群はコントロール群と炭酸カルシウム60%群に比較して有意に高く，α-TCP60%群はコントロール群と炭酸カルシウム40%および60%群より有意に高かった．

以上より，4-META/MMA-TBBレジンにα-TCPを複合化すると，レジンと骨との直接接触が高まることが示唆された．

キーワード：4-META/MMA-TBBレジン，炭酸カルシウム，α-TCP，骨-レジン接触

緒　　言

4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride/methyl methacrylate-tri-n-butyl borane（4-META/MMA-TBB）レジンは歯質に対する優れた接着性を有し[1, 2]，矯正用ブラケットの接着や動揺歯の固定，修復物の接着[3, 4]などに広く用いられている．さらに生体親和性も高いこと[5, 6]が明らかにされ，直接覆髄[7, 8]や歯根端切除術や再植術時のroot-end sealing[9–12]，垂直歯根破折の接着治療[13–17]，髄床底穿孔部の封鎖[18, 19]にも応用されている．これらの治療では，炎症が生じることはなく良好な臨床成績も報告されているが，レジン上へのセメント質の形成は認められておらず，歯頸部に大きな穿孔や幅の広い破折間隙がある場合には，レジンに沿って上皮が根尖側移動して歯周ポケットを形成しやすくなる危険性が指摘されている[20]．したがって，適応症例を拡大して治療成績をさらに向上させるには，封鎖性と生体親和性に加えてレジン上へのセメント質様硬組織形成が必要と考えられる．

これまで4-META/MMA-TBBレジン上への硬組織形成を報告した研究として，直接覆髄に用いてデンチンブリッジの形成を認めた実験があるが，水酸化カルシウムを用いた場合より治癒は遅く[21]，デンチンブリッジの形成がみられたのは約半数のみであったとされている[22]．また，4-META/MMA-TBBレジンを骨に接着させた研究[23, 24]では，硬化したレジン上に周囲の母床骨から骨が増生し，光学顕微鏡ではレジンと骨との間に結合組織の介在は認められなかったが，骨形成はきわめて遅く，その量もわずかであったと報告されている．レジン上への硬組織形成を向上させる試みとして，骨形成タンパク（BMP）を4-META/MMA-TBBレジンに複合化させて筋に移植した実験では[25]，

〒060−8586 札幌市北区13条西７丁目
北海道大学大学院歯学研究科　口腔健康科学講座　歯周・歯内療法学教室（主任：川浪　雅光 教授）

レジン上への硬組織形成は認められていない．また，カルシウムを含む化合物を4-META/MMA-TBBレジンに複合化して，カルシウムイオンを放出させる方法が行われている．Mineral trioxide aggregate（MTA）は逆根管充填に広く用いられて，セメント質様硬組織の形成が認められているが[26, 27]，4-META/MMA-TBBレジンに複合化した研究では，カルシウムイオンの溶出はあるものの[28, 29]，レジン上への硬組織形成は認められていない[29]．一方，炭酸カルシウムを複合化してラット大腿骨骨髄腔に埋植した研究[30]では，レジン上に骨形成が生じ，細胞や結合組織を介在せずに直接新生骨がレジンに接触している部位が，光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察されており，カルシウムイオンを溶出させることは有効な方法と考えられた．しかし，レジン上に形成された骨とレジンが直接接触していた割合は十分ではなく，カルシウムイオンの溶出量をさらに高めることで効果を向上できる可能性が考えられる．レジンに複合化させる炭酸カルシウムの濃度を上げると，重合率の低下，重合時間の遷延，レジン強度の低下などのデメリットが大きくなることから，溶解性の高いカルシウム化合物を用いる方法が有効ではないかと考えられる．

リン酸カルシウムは優れた骨伝導性を持つ[31, 32]材料として利用されているが，類似した化学組成であっても生体内での性質は大きく異なる．とくにリン酸三カルシウム（TCP）は生体不活性であるが生体内で吸収され，自家骨と置換する生体吸収性セラミックスで，α-TCPの純水への溶解性はハイドロキシアパタイトやβ-TCPと比較して高いことが示されている[33-35]．

そこで本研究では，炭酸カルシウムおよびα-TCPの濃度を変えて4-META/MMA-TBBレジンに複合化させ，大腿骨骨髄腔に移植して骨造成への影響や新生骨とレジンとの接触状態などを評価した．

材料と方法

1）試料作製方法

4-META/MMA-TBBレジン（スーパーボンド，クリア，サンメディカル）のポリマー粉末3/4カップ，モノマー液4滴，キャタリスト1滴の割合で混和し，内径1mmのポリプロピレンチューブに填入，24時間硬化させた後にチューブから取り出し，長さ5mmに破断して円柱形試料を作製した．（図1）

2）埋植方法

10週齢のWistar系雄性ラット20匹をジエチルエーテルおよびペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル注射液®，共立製薬）を用いて全身麻酔を施した後，左右の大腿部皮膚を切開，大腿骨中央部の骨膜を剥離して，直径1mmのフィッシャーバー（メルファースチールバー®，デンツプライ三金）を用い，生理食塩水の注水下で大腿骨骨髄腔に2か所穿孔した（図1）．炭酸カルシウムまたはα-TCPを0，40，60wt%で複合化したスーパーボンドポリマー粉末を，モノマー液4滴，キャタリスト1滴に混和し，円柱形試料表面に塗布し，それぞれ0%群，40%群，60%群として直ちに埋植した．埋植は各試料の底面が骨髄腔内に位置するようにして，試料を骨表面にスーパーボンドで固定し，切開部を縫合した．

動物実験は，国立大学法人北海道大学動物実験委員会の承認を受け，同指針に従って行った（承認番号：11-0145）．

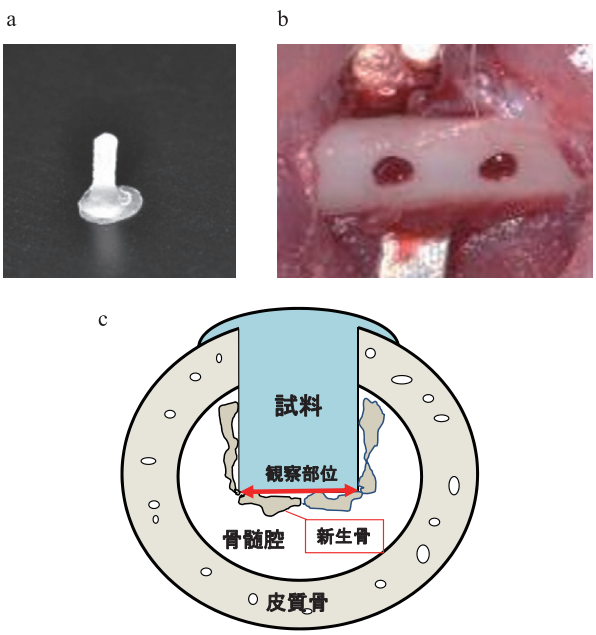


図1　試料埋植方法
a：円柱形試料　b：骨髄腔穿孔時　c：骨髄腔への埋植状態

3）光学顕微鏡観察および計測

観察期間は2，8週とし，観察期間終了後，ジエチルエーテル吸引にて安楽死させ，大腿骨を採取，10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液にて浸漬固定を行った．アセトンでスーパーボンドを溶解させた後，5%ギ酸で脱灰し，通法に従ってパラフィン包埋して，厚さ5μmの薄切標本を作製した．その後ヘマトキシリン・エオジン重染色（HE染色）し，光学顕微鏡観察および組織学的計測を行った．

計測は標本中央部の切片を選択し，画像解析ソフト（Image J 1. 41, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA）を用いて，試料底部を対象に行った．計測項目は，試料底部の長さ（L）（μm），新生骨基質の長さ（BL）（μm），試料と新生骨基質の間の面積（ST）（μm^2），試料と新生骨基質が直接接している長さ（C）（μm）とし，骨基質形成率（BL/L×100）（%），試料と骨基質との距離（ST/BL）（μm），試料と骨基質の接触率（C/L×100）（%）を求めた（図2）．

統計処理は，医学統計ソフトSPSS10.0J®（日本アイ・

ビー・エム）を用い，Kruskal-Wallis検定およびMann-whitney U検定を行った．危険率は0.05とした．

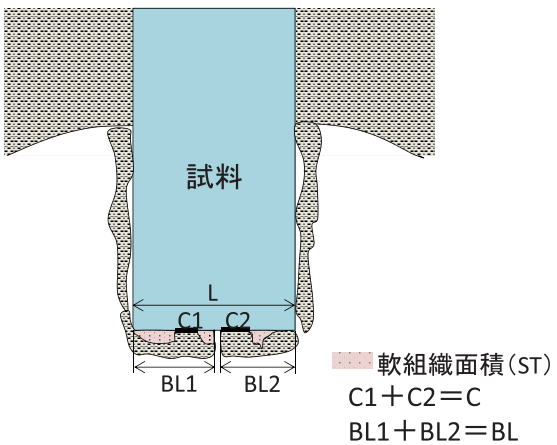


図２　組織計測方法
L　：試料底面の長さ
BL　：新生骨基質の長さ
ST　：試料と新生骨基質の間の面積
C　：試料と新生骨基質が直接接している長さ

結　　果

１．光学顕微鏡観察

術後２週では，５群とも明らかな炎症性細胞浸潤は見られなかった．試料周囲には新生骨の形成が認められ，試料全周に及んでいる標本も見られた．０％群では，試料は軟組織に被包され，軟組織の外側には新生骨の形成が見られた．新生骨は梁状で類骨を含んだ幼弱な骨であり，骨小腔内には類円形の骨細胞が局在していた．試料と新生骨との間には数層の扁平あるいは類円形の細胞が認められた（図３）．炭酸カルシウム40%群では０％群と同様に幼弱な新生骨が形成されており，骨小腔内には類円形の骨細胞が局在していた．試料と骨との間の軟組織の厚みは０％群より薄かったが，類円形の細胞と扁平な細胞が同様に認められた（図４）．炭酸カルシウム60%群では，０％群，炭酸カルシウム40%群と同様に，厚さが不均一で幼弱な新生骨が認められ，試料と新生骨との距離は０％群に比較するとやや近接しており，類円形の細胞および数層の扁平な細胞が認められた（図５）．α-TCP40%群では，梁状で類骨を含んだ厚さが不均一で幼弱な新生骨が形成されていたが，試料と新生骨との距離は０％群や炭酸カルシウム群と比較して近接しており，１～数層の扁平な細胞が認められた．（図６）α-TCP60%群では，新生骨は梁状で，骨小腔内には類円形の骨細胞が局在していた．その構造は０％群や炭酸カルシウム群と比較してやや緻密で，新生骨と試料との間にはα-TCP40%群と同様に近接しており，１～数層の扁平な細胞が認められた．（図７）

術後８週では，０％群は，術後２週と比較すると新生骨はより緻密化しており，層板構造がみられ，類円形よりも扁平な骨細胞が多く認められた．新生骨と試料との距

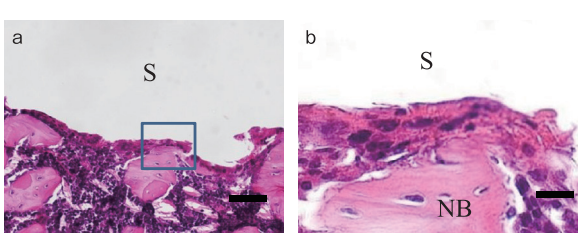


図３　２週０％群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar10μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨）
試料全周に梁状で類骨を含んだ幼弱な新生骨が形成されている．試料と新生骨との間には数層の扁平あるいは類円形の細胞がみられる．

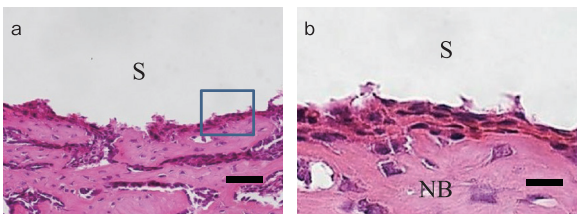


図４　２週炭酸カルシウム40%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar10μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨）
試料全周に梁状で幼弱な新生骨が形成されている．試料と骨との間の軟組織には類円形の細胞と扁平な細胞がみられる．

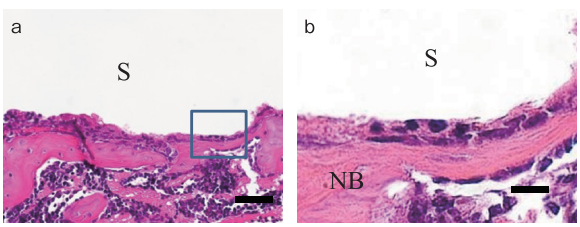


図５　２週炭酸カルシウム60%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar10μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨）
厚さが不均一で幼弱な新生骨が試料全周に認められる．試料と新生骨はやや近接しており，類円形の細胞と扁平な細胞がみられる．

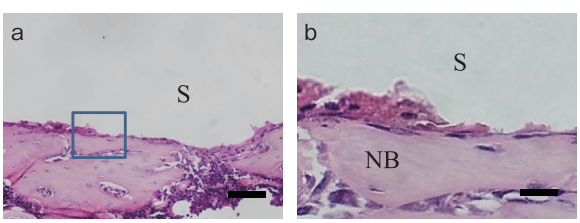


図６　２週α-TCP40%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar10μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨）
梁状で類骨を含んだ幼弱な新生骨が形成されている．新生骨は試料とやや近接しており，１～数層の扁平な細胞がみられる．

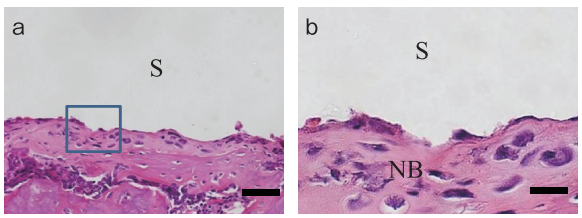


図７　２週α-TCP60%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar10μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨）
梁状で，やや緻密な新生骨が形成されていた．新生骨と試料との間は近接しており，１～数層の扁平な細胞が認められる．

離は近接していたが，直接接している部分はほとんど見られず，数層の扁平な細胞が認められた（図８）．炭酸カルシウム40%群も術後２週後と比較すると新生骨は緻密化し，その構造は層板状で，類円形，または扁平な骨細胞が認められた．骨基質と試料が直接接している部分がわずかに認められ，直接接していない部分の軟組織の厚みも術後２週後と比較すると薄く，数層の細胞が配列していた（図９）．炭酸カルシウム60%群も新生骨は層板状に緻密化していた．新生骨と試料は近接しており，骨基質と試料が直接接している部分がわずかに認められた．接していない部分では１～数層の扁平な細胞が認められた（図10）．α-TCP40%群では，新生骨は緻密化しており，層板構造が

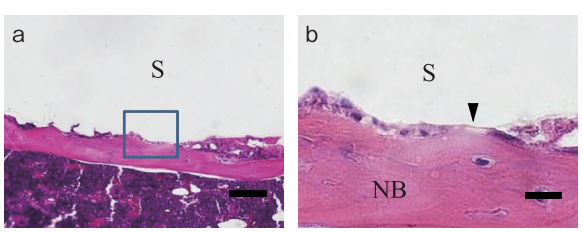


図８　８週０%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar10μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨▼：試料と新生骨基質が直接接している）
新生骨は緻密化し層板状の構造がみられる．直接接している部分はほとんど見られず，数層の扁平な細胞が認められる．

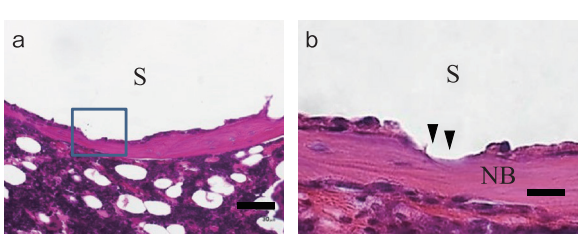


図９　８週炭酸カルシウム40%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar20μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨▼：試料と新生骨基質が直接接している）
新生骨は緻密化し，骨基質と試料が直接接している部分がわずかに認められる．接していない部分では薄く，数層の細胞が配列している．

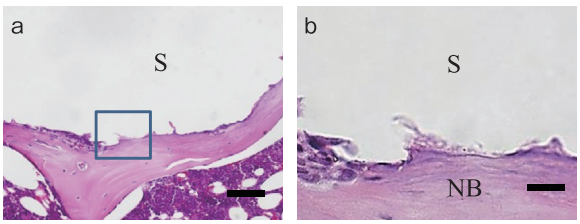


図10　８週炭酸カルシウム60%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar20μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨▼：試料と新生骨基質が直接接している）
新生骨は層板状で試料と近接している．骨基質と試料が直接接している部分がわずかに認められ，接していない部分では１～数層の扁平な細胞が認められる．

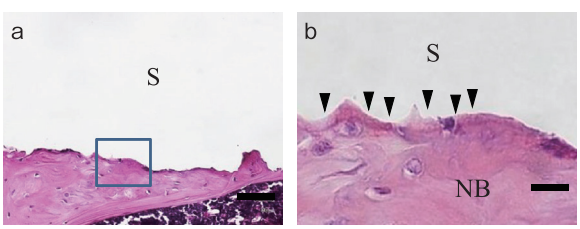


図11　８週α-TCP40%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar20μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨▼：試料と新生骨基質が直接接している）
新生骨は緻密化しており，層板構造がみられる．骨基質が試料と接している部分が多く認められ，接していない部分では１層の扁平な細胞が観察される．

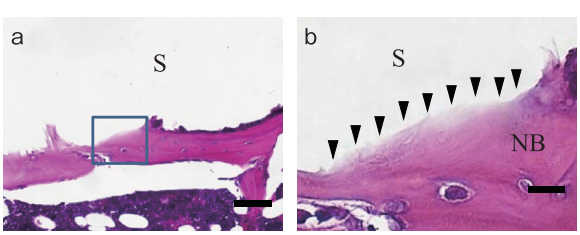


図12　８週α-TCP60%群のHE染色像
a：弱拡像（bar40μm）　b：aの拡大像（bar20μm）
（S：埋植試料　NB：新生骨▼：試料と新生骨基質が直接接している）
緻密化した新生骨と試料との距離は近接し，骨基質が試料と接している部分が多く観察される．接していない部分ではわずかに細胞が散在しているのみである．

みられた．０%群，炭酸カルシウム群と比較して新生骨と試料は近接し，骨基質が試料と接している部分は多く観察された．接していない部分では１層の扁平な細胞が認められた（図11）．α-TCP60%群も新生骨は緻密化し，新生骨と試料との距離は近接しており，０%群，炭酸カルシウム群，α-TCP40%群と比較して骨基質が試料と接している部分が多く観察され，接していない部分ではわずかに細胞が散在していた（図12）．

2．組織学的計測

1）試料底面の長さ（表1）

2週後の0％群（n=10）が773.4±94.1μm，炭酸カルシウム40%群（n=6）が825.1±42.1μm，炭酸カルシウム60%群（n=6）が815.4±65.6μm，α-TCP40%群（n=7）が781.8±31.4μm，α-TCP 60%群（n=9）が778.1±35.4μm，8週後はそれぞれ818.7±29.9μm（n=6），797.4±45.2μm（n=7），767.3±46.5μm（n=7），809.8±126.7μm（n=7），818.3±35.3μm（n=9），で，いずれも5群間に有意差は認められなかった．2，8週後の同じ群を比較すると，5群とも有意差は認められなかった．

2）骨基質形成率（表2）

2週後は，0％群は試料底面の長さに対して78.5±8.9（中央値±四分位偏差）％，炭酸カルシウム40%群は89.3±4.5%，炭酸カルシウム60%群は86.9±2.5%，α-TCP40%群は68.1±5.9%，α-TCP 60%群は80.8±3.4%の新生骨が観察された．5群間に有意差は認められなかった．8週後は，それぞれ74.5±9.5%，75.9±15.1%，74.1±9.4%，82.5±6.2%，91.9±9.1%，で5群間に有意差は認められなかった．2，8週後の同じ群を比較すると，5群とも有意差は認められなかった．

表1 試料底部の長さ 中央値±四分位偏差（μm）

	0％	炭酸カルシウム 40%	炭酸カルシウム 60%	α-TCP40%	α-TCP 60%
2週	773.4±94.1 (n=10)	825.1±42.1 (n=6)	815.4±65.6 (n=6)	781.8±31.4 (n=7)	778.1±35.4 (n=9)
8週	818.7±29.9 (n=6)	797.4±45.2 (n=7)	767.3±46.5 (n=7)	809.8±126.7 (n=7)	818.3±35.3 (n=9)

2週，8週とも5群間に有意差なし
各群の2週，8週間に有意差なし

表2 新生骨形成率 中央値±四分位偏差（%）

	0％	炭酸カルシウム 40%	炭酸カルシウム 60%	α-TCP40%	α-TCP 60%
2週	78.5±8.9	89.3±4.5	86.9±2.5	68.1±5.9	80.8±3.4
8週	74.5±9.5	75.9±15.1	74.1±9.4	82.5±6.2	91.9±9.1

2週，8週とも5群間に有意差なし
各群の2週，8週間に有意差なし

表3 試料と新生骨基質間の距離 中央値±四分位偏差（%）

	0％	炭酸カルシウム 40%	炭酸カルシウム 60%	α-TCP40%	α-TCP 60%
2週	23.8±7.4	22.9±2.7	23.2±3.2	27.2±4.0	20.1±2.0
8週	19.2±2.3	21.5±2.9	22.7±1.6	17.0±3.1*	12.0±1.3*

2週，8週とも5群間に有意差なし
＊：2週の同群間との比較で有意差あり（P<0.05）

表4 表4 試料と新生骨基質との接触率 中央値±四分位偏差（%）

	0％	炭酸カルシウム 40%	炭酸カルシウム 60%	α-TCP40%	α-TCP 60%
2週	0±2.0	2.7±1.5	0±0	0±1.2	3.5±2.4
8週	2.6±0.5	0±4.8	0±0	14.0±5.0*§‡	28.3±14.4*†§‡

2週では5群間に有意差なし
＊：8週で0％群との比較で有意差あり（P<0.05）
†：8週で炭酸カルシウム40%群との比較で有意差あり（P<0.05）
§：8週で炭酸カルシウム60%群との比較で有意差あり（P<0.05）
‡：2週の同群間との比較で有意差あり（P<0.05）

3）試料と骨基質間の距離（表3）

2週後，0％群は23.8±7.4μm，炭酸カルシウム40%群は22.9±2.7μm，炭酸カルシウム60%群は23.2±3.2μm，α-TCP40%群は27.2±4.0μm，α-TCP 60%群は20.1±2.0μmで5群間に有意差は認められなかった．8週後は，それぞれ19.2±2.3μm，21.5±2.9μm，22.7±1.6μm，17.0±3.1μm，12.0±1.3μmで，5群間に有意差は認められなかった．2，8週後の同じ群を比較すると，α-TCP40%および60%群では2週後より8週後の方が有意に高かった．

4）試料と骨基質との接触率（表4）

2週後，0％群は0±2.0%，炭酸カルシウム40%群は2.7±1.5%，炭酸カルシウム60%群は0％，α-TCP40%群は0±1.2%，α-TCP 60%群は3.5±2.4%で，5群間に有意差は認められなかった．8週後は，0％群は2.6±0.5%，炭酸カルシウム40%群は0±4.8%，炭酸カルシウム60%群は0％，α-TCP40%群は14.0±5.0%，α-TCP 60%群は28.3±14.4%で，α-TCP40%群は0％群と炭酸カルシウム60%群に比較して有意に高く，α-TCP60%群は0％群と炭酸カルシウム40%および60%群より有意に高かった．2，8週後の同じ群を比較すると，α-TCP40%および60%群では2週後より8週後の方が有意に高かった．

考　　察

本研究は，4-META/MMA-TBBレジンにα-TCPを複合化することによって，レジン表面に硬組織が形成されることを目的に，ラット大腿骨骨髄腔に試料を埋植して骨造成への影響や骨との接触状態を検討した．

評価部位は試料底面のみで行った．これは，埋植の際に，試料側面に塗布したレジンが，大腿骨穿孔部の骨に接触して剥離する可能性があること，また，大腿骨を穿孔した際，穿孔部の直径が十分に規格化できず，骨と試料側面との距離にばらつきが見られ，試料側面部では組織の治癒や新生骨の形成に影響を及ぼして，炭酸カルシウムおよびα-TCPの影響を十分に評価できなくなる可能性が考えられたためである．

一般にレジンモノマーは硬化体に比較すると毒性が高いことが知られており[36]，未重合モノマーの溶出が炎症の主な原因とされている．本実験では炭酸カルシウムとα-TCPの濃度を最大60%としたが，これ以上濃度を高くすると硬化時間が長くなるとともに強度が低下して実用が難しくなり，さらにレジンの重合が阻害されて炎症が生じる危険性が考えられたためである．本実験の結果，2，8週ともすべての群で試料周囲に炎症性細胞浸潤は認められなかったことから，炭酸カルシウムやα-TCPを60%複合化しても，十分な重合率が得られていたと思われた．また，本実験では，炭酸カルシウムやα-TCPを複合化したポリマー粉末とモノマー液，キャタリストを混和して円柱形試料に塗布後，直ちに骨髄腔に移植して，骨髄液中で重合させた．この方法は，空気中で硬化させた場合より骨髄液中で硬化させた方が親和性は向上し，骨との接触が増加したという洲崎らの報告[37]をもとに行った．

本実験における試料周囲の新生骨形成は，5群とも2週後には軟組織を介してほぼ試料全体を取り囲んでおり，骨基質形成率は高い値を示した．2，8週とも各群間に有意差はなく，また，各群の2週後と8週後を比較しても有意差はなかった．さらに，2週後と8週後を比較した観察所見では，8週後では新生骨の緻密化や，層板骨の増加，骨細胞の扁平化，骨表面の細胞の扁平化などの骨の成熟[38]が5群ともに認められた．炭酸カルシウムやα-TCPは試料周囲への骨形成量に大きな影響はないものと考えられた．一方，5群とも新生骨は皮質骨から連続して試料表面に接しながら造成するのではなく，軟組織を介して新生骨が早期に試料を取り囲んだ．α-TCPを複合化した群では，時間の経過とともに軟組織量が減少して骨基質が試料に近接していった．このような骨形成は，骨髄腔に炭酸カルシウムを混和したスーパーボンドを埋植して骨形成状態を調べた逸見らの研究[30]，硬化条件を変えたスーパーボンドを埋植して骨形成に及ぼす影響を調べた洲崎らの研究[37]でも報告されている．骨基質と試料との直接的な接触率は，2週後には5群間では有意差は認められなかったが，8週後にはα-TCPを複合化した群は，他の群に比べて有意に高い値を示した．したがって，α-TCPの含有量を多くすることは，骨基質と試料との距離を近接させ，骨基質と試料が直接接する面積を増加させるのに有効であると考えられた．各試料から骨髄液中へのカルシウムやリンの溶出量は計測していないが，α-TCPはカルシウムだけでなくリンも溶出していたと考えられ，このことも炭酸カルシウムよりα-TCPの方が良好な成績であった理由の一つと考えられた．また，術後2週ではレジンと骨との間に1～数層の類円形あるいは扁平な細胞が認められたが，術後8週ではこれらの細胞は減少または消失して，骨基質が試料に近接あるいは直接接している部分が多く観察された．このことから，術後2週で新生骨表面およびレジン表面に存在した細胞の多くは，骨芽細胞や骨芽細胞に分化し得る間葉系幹細胞で，骨基質の形成とともに骨細胞となった可能性が考えられる．しかし，骨基質の形成は骨面側からのみ連続して生じており，レジン表面側から骨基質が形成される所見はなかった．このことから，試料から溶出されるカルシウムやリンは，近隣の骨基質に接した細胞が骨基質や骨細胞との相互作用[39]によって骨芽細胞へ分化するのを促進し，レジン表面に向かって骨基質形成したと考えられる．

本研究により，4-META/MMA-TBBレジンにα-TCPを複合化させると，レジン表面に新生骨が形成されて直接接するのに有効であった．このことは，4-META/MMA-TBBレジンを穿孔部の封鎖や破折歯根の接着に用いる際に，レジン上にセメント質が形成されることでポケットの

形成を阻止し，破折によって喪失した部分の歯根膜機能の回復が可能になり，適応症の拡大やより良好な予後が得られる治療法として発展することが期待される．

結　　論

4-META/MMA-TBBレジンに炭酸カルシウムおよびα-TCPの含有量を変えて複合化させ，大腿骨骨髄腔に移植して骨増生への影響や新生骨との接触状態を評価した．その結果，α-TCPを複合化することにより，レジンと骨の直接接触率が高まった．

謝　　辞

本稿を終えるにあたり，本研究の遂行にご協力をいただきました工藤愛博士，佐藤賢人氏，猪股慶久氏をはじめとする北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯周・歯内療法学教室の教室員各位ならびに炭酸カルシウムおよびα-TCP複合化レジンの作製にご協力いただいた株式会社サンメディカルに心より御礼申し上げます．

参 考 文 献

1） 竹山守男，橿淵信郎，中林宣夫，増原英一：歯科用即硬性レジンに関する研究（第17報）歯質および歯科用合金に接着するレジン．歯理工誌, 19 : 179-184, 1978.
2） 中林宣夫：接着界面の象牙質側に生成した樹脂含浸象牙質について．歯材器, 1 : 78-81, 1982.
3） Miura F, Nakagawa K, Masuhara E : New direct bonding system for plastic brackets. Am J Orthod 59 : 350-361, 1971.
4） Chang JC, Hurst TL, Hart DA, Estey AW : 4-META use in dentistry : A literature review. J Prosthet Dent 87 : 216-224, 2002.
5） 諸星裕夫，井上　孝，下野正基，市村賢二，真坂信夫：歯髄保存療法に有効な4-META/MMA-TBB系接着性レジン　その２　細胞反応に関する実験的検索．接着歯学, 10 : 235-239, 1992.
6） 野口裕之，菅谷　勉，加藤　熙：縦破折した歯根の接着による治療法　第１報　培養歯根膜を用いた接着性レジンセメントの毒性の検討．日歯保存誌, 40 : 1445-1452, 1997.
7） 細谷由美子，一瀬暢宏，井上　孝，福本　敏，後藤譲治：4-META/MMA-TBBレジンによる直接歯髄覆罩後の歯髄の病理組織学的変化（第１報）．小児歯誌, 35 : 401-409, 1997.
8） Morohoshi Y, Inoue T, Shimono M : Influences of 4-META /MMA-TBB adhesive resin on osteodentinogenesis. Rabbit dental pulp in vivo immunohistochemical and electronmicroscopic studies. Bull Tokyo dent Coll 40 : 129-138, 1999.
9） 菅谷　勉，野口裕史，長谷川有紀子，田中裕子，川浪雅光：歯根端切除時の4META/MMA-TBBレジンによるroot-end-sealingの有効性．日歯保存誌, 45 : 62-67, 2004.
10） 長谷川有紀子，菅谷　勉，川浪雅光：根尖性歯周炎の治癒に対する4META/MMA-TBBレジンによるroot-end-sealingの有効性．日歯保存誌, 47 : 622-632, 2004.
11） 大谷香織，菅谷　勉，川浪雅光：根尖切除術における切除面の封鎖法の違いが実験的根尖性歯周炎の長期治癒に及ぼす影響．日歯保存誌, 51 : 648-658, 2008.
12） Ohtani K, Sugaya T, Miyaji H, Tomita M, Hasegawa Y, Motoki Y, Takanawa Y, Tanaka S, Kawanami M : Healing of experimental apical periodontitis after apicoectomy using different sealing methods on resected root end. Dent Mater J 30 : 485-492, 2011.
13） 野口裕之，菅谷　勉，加藤　熙：縦破折した歯根の接着による治療法　第２報　接着性レジンセメントで接着・再植した場合の組織学的検討．日歯保存誌, 40 : 1453-1460, 1997.
14） 眞坂信夫，小幡宏一：破折歯への対応（その１）．垂直破折歯に対する接着保存法．日歯医師会誌, 50 : 6-13, 1998.
15） Sugaya T, Kawanami M, Noguchi H, Kato H, Masaka N : Periodontal healing after bonding treatment of vertical root fracture, Dent Traumatol 17 : 174-179, 2001.
16） 富田真仁，菅谷　勉，川浪雅光：垂直歯根破折に口腔内接着と口腔外接着・再植を行った場合の歯周組織の治癒．日歯保存誌, 45 : 787-796, 2002.
17） Hayashi M, Kinomoto Y, Takeshige F, Ebisu S : Prognosis of intentional replantation of vertically fractured roots reconstructed with dentin-bonded resin. J Endod 30 : 145-148, 2004.
18） 山本俊樹，菅谷　勉，加藤　熙：髄床底穿孔の処置に4META/MMA-TBBレジンを応用した場合の歯周組織反応に関する病理学的検討．日歯保存誌, 43 : 1239-1248, 2000.
19） 山本俊樹，菅谷　勉，川浪雅光：髄床底穿孔の処置に4META/MMA-TBBレジンを応用した場合の臨床成績．日歯保存誌, 47 : 733-742, 2005.
20） 元木洋史，菅谷　勉，川浪雅光：垂直歯根破折の治療後に歯周組織に接するレジンの幅が上皮の根尖側移動に及ぼす影響．日歯保存誌, 48 : 733-742, 2005.
21） Nakamura M, Inoue T, Shimono M : Immunohistochemical study of dental pulp applied with 4-META/MMA-TBB adhesive resin after pulpotomy. J Biomed Mater Res 51 : 241-248, 2000.
22） 井上　孝，下野正基，市村賢二，真坂信夫，宮越照一

: 4-META/MMA-TBBレジンと歯髄反応について. 日歯内療誌, 14 : 34-41, 1993.
23）中塚　愛, 川村直人, 菅谷　勉, 川浪雅光 : 4META/MMA-TBBレジンと骨との長期安定性. 歯材器, 27 : 455-465, 2008.
24）Morishita T, Sugaya T, Nakatsuka M, Sunosaki M, Kawanami M : Connective tissue reaction and bone-cement contact after implantation of PMMA resin cements. J Oral Tissue Engin 10 : 1-12, 2012.
25）井上　孝, 松坂賢一, 村上　聡, 小池吉彦, 宮越照一, 下野正基 : BMP含有4-META/MMA-TBB接着性レジンの骨形成能に関する実験的研究. 日歯保存誌, 45 : 434-440, 2002.
26）Torabinejad M, Pitt Ford TR, McKendry DJ, Abedi HR, Miller DA, Kariyawasam SP : Histologic assessment of mineral trioxide aggregate as a root-end filling in monkeys. J Endod 23 : 225-228, 1997.
27）Katsamakis S, Slot DE, Van der Sluis LW, Van der Weijden F : Histological responses of the periodontium to MTA : a systematic review. J Clin Periodontol. 40 : 334-344, 2013.
28）Chung H, Kim M, Ko H, Yang W : Evaluation of physical and biologic properties of the mixture of mineral trioxide aggregate and 4-META/MMA-TBB resin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 112 : e6-11, 2011.
29）Kaul R, Farooq R, Kaul V, Malik AH, Purra AR, Ahmad : Evaluation of biological, physical and chemical properties of mineral trioxide aggregate mixed with 4-META/MMA-TBB. Indian J Dent Res 24 : 418-22, 2013.
30）逸見　優, 菅谷　勉, 中塚　愛, 川浪雅光 : 炭酸カルシウムが4META/MMA-TBBレジン上への骨形成に与える影響. 北海道歯誌, 32 : 114-123, 2012.
31）Chai YC, Carlier A, Bolander J, Roberts SJ, Geris L, Schrooten J, Van Oosterwyck H, Luyten FP : Current views on calcium phosphate osteogenicity and the translation into effective bone regeneration strategies. Acta Biomater 8 : 3876-887, 2012.
32）Barradas AM, Yuan H, van Blitterswijk CA, Habibovic P : Osteoinductive biomaterials : current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms. Eur Cell Mater 21 : 407-429, 2011.
33）金澤孝文, 梅垣高士, 門間英毅, 山下仁大 : アパタイトの材料科学. 石膏と石灰, 210 : 261-273, 1987.
34）青木秀希 : 驚異の生体物質　アパタイト. 68-86, 医歯薬出版, 東京, 1999.
35）Priya A, Nath S, Biswas K, Basu B : In vitro dissolution of calcium phosphate-mullite composite in simulated body fluid. J Mater Sci Mater Med 21 : 1817-1828, 2010.
36）今井庸二, 渡辺真理子, 李　恵娥, 児島克則, 門磨義則 : 歯科用レジンモノマーの細胞毒性. 医器材研報, 22 : 87-90, 1988.
37）洲崎真希, 菅谷　勉, 川浪雅光 : 4META/MMA-TBBレジンの硬化条件がレジン表面上への骨形成に及ぼす影響. 北海道歯誌, 34 : 65-76, 2014.
38）網塚憲生, Ubaidus S, 小島　拓, Freitas PHL, 李　敏啓, 下村淳子 : 骨細胞・骨細管系の顕微解剖学. 腎と代謝, 21 : 183-190, 2008.
39）網塚憲生, 山本知真也, 佐々木宗輝, 長谷川智香 : 骨細胞 : 骨を制御する司令塔　骨の微細環境における骨細胞. THE BONE, 27 : 263-269, 2013.

Hokkaido J. Dent. Sci., 36 : 54−62, 2016.

ORIGINAL

New bone contact on 4-META/MMA-TBB resin containing calcium carbonate or α-TCP

Go Yanagisawa, Tsutomu Sugaya and Masamitsu Kawanami

ABSTRACT : 4-META/MMA-TBB resin (SuperBond, Sun Medical) has been used for root-end sealing following apicoectomy and the bonding treatment of vertical root fractures as it results in high strength and biocompatible. However hard tissue is rarely formed by the resin. New bone formation was reported to have been observed directly on cured resin containing calcium carbonate. In this study, we evaluated bone formation on the surface of 4-META/MMA-TBB resin containing calcium carbonate or α-TCP.

To create the implantation rods, SuperBond was cured anaerobically in a polypropylene tube that was 1 mm in diameter and broken into segments that were 5 mm in length. The right and left femur of Wistar rats were trephined to create a medullary cavity that was 1 mm in diameter, and the rods were implanted after resin was applied : calcium carbonate or α-TCP were mixed with the polymer powder of SuperBond at 0, 40, and 60 wt%, and then mixed with monomer and an initiator. Histological specimens were prepared at 2 and 8 weeks post-operation and the sections were stained with H-E. Measurements including both the rates of bone formation and the direct contact of new bone with the resin were taken.

Two weeks following implantation, newly-formed bone was observed in the surrounding area of the implanted rods, and few inflammatory cells were found in the five groups. Newly formed bone was not directly in contact with the samples. The soft tissue was thin at eight weeks. The newly formed bone was directly in contact with all samples. The rates of bone-resin contact were 2.6 ± 0.5% (0% group), 0 ± 4.8% (calcium carbonate 40% group), 0% (calcium carbonate 60% group), 14.0 ± 5.0% (α-TCP 40% group), 28.3 ± 14.4 (α-TCP 60% group) respectively. The α-TCP 40% group showed a statistically significant difference compared with the 0% and the calcium carbonate 60% group. The The α-TCP 60% group showed a statistically significant difference compared with the 0%, the calcium carbonate 40% and 60% group.

These results suggested that α-TCP filler in cured 4-META/MMA-TBB resin can facilitate direct contact with bone.

Key Words : 4-META/MMA-TBB resin, Calcium carbonate , α-TCP, Bone-resin contact

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine (Chief Prof. Masamitsu Kawanami), Kita 13 Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060-8586, Japan