学位論文題名

4-META/MMA-TBB レジンの
硬化条件が組織反応に及ぼす影響

学位論文内容の要旨

緒言

4-META/MMA-TBB レジンは良好な接着性と生体親和性を有すると考えられていることから、歯根端切除時の root-end sealing や垂直歯根破折の接着治療への応用が検討されている。しかし、臨床に応用する場合には、様々な条件で硬化することが想定されるが、硬化条件が組織反応に及ぼす影響の詳細は明らかではない。

4-META/MMA - TBB レジンは空气中で硬化させたレジン表面と硬化後に表層を一層研磨した面に歯根膜細胞を播種培養すると、研磨した面の方が歯根膜細胞の付着増殖が多いことが報告されており、硬化条件によってその生体親和性が変化する可能性が考えられる。また臨床では、レジンが空气中で硬化してから生体組織に接する場合のほか、直接骨や結合組織に接した状態で硬化する場合があります。これらの場合に組織に対する親和性がどのように異なるかも明らかではない。そこで本研究では、生体外で硬化条件を変えて硬化させて埋植したレジンと組織の反応および生体内で軟組織および硬組織に接して硬化した場合の経時的な組織の反応を検索した。

材料と方法

実験動物には 11 週齢の Wistar 系雄性ラット 40 匹、実験材料には 4-META/MMA-TBB レジン (スーパーボンド C&B[®]、以下 SB) を用いた。生体外で硬化させてから埋植した場合の検討として、SB をメーカー指示の粉液比で混和してセルロイドストリップス上に滴下、室温、空气中で硬化させ、直径

3.0mm、厚さ 0.5mmの試験片を作製した。硬化体の上面を非研磨群、下面を圧接群、両面を砥石で一層研磨したものを研磨群として、ラット背部皮下結合組織内に移植した。また、生体内で硬化させた場合の検討として、ラット頭部皮膚および背部皮膚に切開し、10%クエン酸 3%塩化第二鉄溶液（表面処理液グリーン®）で処理後、水洗、乾燥して混和したSBをラット背部皮下結合組織あるいは、頭蓋骨表面に直接滴下したものをそれぞれ結合組織内群、および骨面群とした。非研磨群、圧接群、研磨群は1, 2, 4週後に、結合組織群と骨面群は1, 4, 12週後に、試験片周囲結合組織を一塊として採取し、10%中性ホルマリン固定、アセトンにてSBを溶解後に、通法に従ってパラフィン包埋して厚さ5 μ mの薄切標本を作製した。その後ヘマトキシリン・エオジン重染色し、光学顕微鏡下で組織学的観察および計測を行った。

標本画像をコンピューターに取り込み、画像解析ソフトを用いて試験片周囲の炎症性細胞浸潤面積、試験片の長さを計測し、その割合を炎症性細胞浸潤距離として求めた。また、SB周囲の多核巨細胞数、SBの外周を計測し、単位長さあたりの多核巨細胞数を求めた。

統計学的分析は、Mann-Whitney *U*検定を用いて行った。

結果

1. 生体外で硬化させてから埋植した場合の反応

非研磨群は1週後にリンパ球を中心とした炎症がSB周囲に広範囲に認められ、経時的に軽減したが4週後にもわずかに認められた。圧接群は実験期間中ほとんど炎症がなかった。研磨群は1週後わずかに炎症が見られ、経時的に減少して4週後にはほとんど消失した。非研磨群、圧接群、研磨群の炎症性細胞浸潤距離は、1週後は1602.5 $\pm$ 352.8、89.4 $\pm$ 18.6、295.6 $\pm$ 118.9 μ m、2週後は632.6 $\pm$ 373.2、29.1 $\pm$ 11.9、168.8 $\pm$ 129.5 μ m、4週後は301.7 $\pm$ 74.4、12.3 $\pm$ 11.9、59.1 $\pm$ 29.5 μ mで、非研磨群は圧接群、研磨群に比較して実験期間中有意に大きく、研磨群は圧接

群に比較して1、2週後は有意に大きかったが、4週後は有意差がなかった。

2. 生体内で硬化させた場合の組織反応

結合組織内群では結合組織とSBの界面にヘマトキシリンに淡染する不定形な層が観察され、その周囲には1週後はリンパ球を中心とした炎症性細胞浸潤が認められた。4週後に炎症性細胞浸潤はほとんど消退したが、多核巨細胞は1週から12週まで観察された。結合組織内群の多核巨細胞数は、1、4、12週後にそれぞれ 9.3 ± 0.3 、 10.8 ± 2.4 、 14.5 ± 5.3 cells/mm で観察期間により有意差はなかった。

骨面群では、骨とSBの界面に骨やSBと異なる構造でヘマトキシリンに淡染する層が見られ、骨面とSBの間に結合組織は介在せず、炎症性細胞浸潤や多核巨細胞などは観察されなかった。骨面群の所見は1週から12週までほとんど変化なかった。

考察

本研究では条件を変えて硬化させた、4-META/MMA-TBB レジン表面の生体親和性を比較検討した。非研磨群では広範囲に炎症性細胞浸潤が認められ、圧接群、研磨群に対して有意に高い炎症性細胞浸潤距離であった。このことから、SB表層では空気により重合阻害が起こって未重合層が形成され、未重合モノマーが、炎症性細胞浸潤を惹起した可能性が高いと思われる。

また研磨群の1、2週後の炎症性細胞浸潤は非研磨群に比較すると少ないものの、圧接群に比較すると大きかった。これは、研磨群では試験片の表面研磨を行った際に、微小な凹面などに研磨が不十分な部分が残存して、未重合層が完全に除去できなかった部分があったためと考えられた。

非研磨群、圧接群、研磨群ともに経時的に炎症が消退し、特に非研磨群の炎症は1週後に比較して4週後には大きく減少した。このことから表面の未重合層のモノマーが生体中に拡散して減少した可能性が考えられる。またTBBを重合促進剤としてMMA-PMMAレジンを圧接重合させると、レジンの重合率が4週まで徐々に上がると報告されており、移植後も経時的に重合率が上昇して、炎症が消退した可能性も考え

られる。

結合組織内群では、結合組織やSBの界面にヘマトキシリンに淡染する不定形な層が観察され、結合組織やSBと構造が異なることから、ハイブリッド層を形成していると考えられた。この層の周囲には炎症性細胞浸潤は少なく、多核巨細胞は見られたが、経時的に有意な変化は認められなかった。また歯髄とSBのハイブリッド層表面に多核巨細胞が見られた後にも長期の観察で修復象牙質が形成されることが報告されていることから、ハイブリッド層周囲に多核巨細胞が長期間残存しても、組織への悪影響は少ない可能性も考えられた。

骨面を表面処理してSBを塗布した骨面群において、骨とSBは結合組織が介在することなく接しており、炎症はほとんどみられなかった。さらに骨とSBの界面には骨ともSBとも異なる構造で、ヘマトキシリンに淡染する層が見られ、骨とSBがハイブリッドして接着しているものと思われた。また、骨とSBの界面付近に多核巨細胞などは観察されず、両者間に分離する傾向はなく、12週ではほとんど組織所見に差は認められず、骨とSBの接着は安定している可能性が高いと思われた。

本研究結果から、SBを root-end sealing や破折歯根の接着に用いる際の注意点として臨床応用する場合には、空気に触れた状態でSBが硬化した場合は表面を一層研磨した方が初期の炎症を軽減できること、歯根膜にSBが付着した場合はハイブリッド層が形成されて多核巨細胞が長期間残存する可能性があるため、取り除いた方がよいこと、骨に付着した場合は骨と接着する可能性があり、根と骨に付着している場合は両者が固定され、咬合力が加わった時に歯質とSBの界面で破壊が生じて漏洩の原因になる可能性があるため、骨面から除去しておくことが必要と思われた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 川浪雅光
副査 教授 向後隆男
副査 教授 佐野英彦

学位論文題名

4-META/MMA-TBB レジンの 硬化条件が組織反応に及ぼす影響

審査は主査、副査全員が一同に会して口頭で行った。はじめに申請者に対し本論文の要旨の説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

4-META/MMA-TBB レジンは、歯質への高い接着力に加え生体親和性に優れていることから、root-end sealing や破折歯根の接着治療などへの応用が検討されている。しかし、生体親和性の検討は硬化体やモノマーで検討された研究が多く、空気や組織との接触状態など、硬化条件がどのように影響するかは明らかでない。そこで本研究では硬化条件を変えてラットに移植し、組織反応を病理組織学的に検討した。

実験動物には 11 週齢のウィスター系雄性ラット 40 匹、実験材料には 4-META/MMA-TBB レジン（スーパーボンド C&B[®]、以下 SB）を用いた。SB をメーカー指示の粉液比で混和してセルロイドストリップス上に滴下、室温、空気中で硬化させ、直径 3.0mm 厚さ 0.5mm の試験片を作製した。硬化体の上面を非研磨群、下面を圧接群、両面を砥石で一層研磨したものを研磨群として、ラット背部皮下結合組織内に移植した。また、混和した SB をラット背部皮下結合組織、ラット頭蓋骨表面に直接滴下したものを結合組織内群、骨面群とした。非研磨群、圧接群、研磨群は 1, 2, 4 週後に、結合組織群と骨面群は 1, 4, 12 週後に、試験片周囲の組織反応を病理組織学的に検討した。

非研磨群は 1 週後にリンパ球を中心とした炎症が広範囲に認められ、経時的に軽減したが 4 週後にもわずかに認められた。圧接群は実験期間中ほとんど炎症がなかった。研磨群は 1 週後わずかに炎症が見られ、経時的に減少して 4 週後にはほとんど消失した。炎症性細胞浸潤面積は、非研磨群は圧接群、研磨群に比較して実験期間中有意に大きく、研磨群は圧接群に比較して 1, 2 週は有

意に大きかったが4週後は有意差がなかった。一方、結合組織内群ではレジンと軟組織がハイブリッドしたと思われる層が観察され、1週後にはリンパ球を中心とした炎症性細胞浸潤が認められたが4週後にはほとんど消退した。しかし試験片周囲の多核巨細胞数は12週間変化がなかった。骨面群はSBが骨面と密接に接して炎症はほとんど見られず、骨とレジンが分離する傾向は12週間見られなかった。

以上の結果から、SBは硬化時の空気存在により起炎性が高くなることが明らかとなった。また結合組織内で硬化すると炎症は少ないが多核巨細胞が長期間認められ、骨面上で硬化するとハイブリッド様組織で結合して12週間は変化しないことが明らかとなった。したがって、スーパーボンドC&Bをroot-end sealingや破折歯根の接着などに応用する場合には、これらの特性を十分に理解して用いることが治療成績の向上につながると思われた。

引き続き審査担当者と申請者の間で論文内容および関連事項について質疑応答が行われた。

主な質問事項は

- (1) 軟組織ハイブリッドについて
- (2) 骨とレジンのハイブリッド様組織の吸収、分解
- (3) 多核巨細胞について
- (4) 生体内でのレジンの劣化について
- (5) 他のレジンやレジン表面を処理した場合についての考察

などであった。

これらの質問に対し、申請者は適切な説明によって回答し、本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野についても十分な理解と学識を有していることが確認された。

本研究は、臨床で4-META/MMA-TBBレジン直接性体内に使用した場合の周囲組織の反応を明らかにしたことにより、臨床成績向上に対して重要な指針を与えたことが高く評価された。本研究の内容は、歯科医学の発展に十分貢献するものであり、博士(歯学)の学位を授与するに値するものと審査担当者全員が認めた。