博 士（歯 学） 堀 川 元

学 位 論 文 題 名

TAD-Albumin glueによる象牙質と軟組織との接着

学位論文内容の要旨

【緒言】

これまで多くの接着剤が医療分野に応用されてきたが、歯質と歯肉を接着する医療用接着剤は未だないのが現状である。そこで今回我々は、物質・材料研究機構　田口哲志氏らとtartaric acid derivative (TAD)と human serum albumin (HSA)を成分として新しい接着剤（TAD-Albumin glue）を開発した。TAD-Albumin glueはHSAとTADが、アミド結合して硬化する接着剤である。これは歯根表面に露出したコラーゲン線維と歯肉のコラーゲンなどのタンパク質とアミド結合により接着すると考えられる。本研究の目的は、このTAD-Albumin glueによる象牙質と軟組織との接着、および生体内における親和性について検索することである。

【材料および方法】

1.ヒト象牙質への接着に対する歯面処理の影響の引張り試験による評価

歯面処理によって接着力に影響が生じるかを検索するため、ヒト象牙質片に飽和クエン酸、あるいは10%EDTAにて1、3、5分間歯面処理したもの、もしくは未処理のものにTAD-Albumin glueを塗布して、円柱状樹脂に固定されているコラーゲンシートと接着し、引張り試験を行った。さらに比較対照としてシアノアクリレート系接着剤（ダーマボンド®）とフィブリン系接着剤（ボルヒール®）で接着強度を測定した。

2. 生体内での接着の持続性および生体親和性の皮下埋入試験による評価

TAD-Albumin glueの生体内での接着と親和性を評価するため、ヒト象牙質片を飽和クエン酸にて3分間歯面処理した後、TAD-Albumin glueを塗布してウィスター系ラット（オス10週齢）の背部皮下に埋植した。また、比較対照としてダーマボンド®、ボルヒール®を塗布したもの、または象牙質片のみを埋植した。埋植直後、3、7、21あるいは42日後に屠殺し、標本はH-E染色して観察した。

【結果】

1.ヒト象牙質への接着に対する歯面処理の影響の引張り試験による評価

接着強度は、クエン酸3分・5分処理群のみで未処理群より有意に強かった($p<0.01$)。ダーマボンド®群は、TAD-Albumin glueを用いたいずれの群よりも有意に強かった($p<0.01$)。また、ボルヒール®群は歯質とは接着しなかったため、除外した。

2. 生体内での接着の持続性および生体親和性の皮下埋入試験による評価

接着の持続性： 未塗布群、ダーマボンド®群、ボルヒール®群のいずれにおいても、術直後から42日目まで、象牙質と皮下組織との間には離開が生じていた。TAD-Albumin glue群では、術直後から7日目まで、全標本で象牙質と皮下組織の間に離開は認められなかった。21日目では一部のみ接着剤が部分的に残

存しているものがあったが、42 日目では全標本で離開が認められた。

接着剤の生体親和性： 術直後は全群とも炎症性細胞浸潤は認められなかった。3 日目においては、未塗布群では好中球を中心とする強い細胞浸潤が認められた。ダーマボンド®群では未塗布群と比較してより多くの好中球が認められ、破壊された細胞の断片と思われる小顆粒も多数認められた。ボルヒール®群でも好中球の細胞浸潤が認められた。TAD-Albumin glue 群では、炎症性細胞の浸潤はほとんど認められず、多層の線維芽細胞が接着剤表面を覆っていた。これらの線維芽細胞は術直後よりも密な集団を形成していた。7 日目においては、未塗布群、ダーマボンド®群では炎症性細胞の浸潤は依然として認められるものの、その程度および範囲は 3 日目よりも減少していた。ボルヒール®群でも好中球の浸潤が認められた。TAD-Albumin glue 群では、線維芽細胞とコラーゲン線維が密に配列し、接着剤を被覆していた。その組織上には好中球の浸潤はほとんど認めらなかった。21 日目においては、未塗布群、ボルヒール®群では好中球がわずかに認められる程度であり、炎症はほぼ消失した。ダーマボンド®群では数は減少したものの、依然として炎症性細胞の浸潤が認められた。TAD-Albumin glue 群では、いずれの場合においても、好中球は全く認められなかった。42 日目においては、炎症性細胞の浸潤はダーマボンド®群では部分的に残存したものの、他の群ではほとんど認められなかった。

【考察】

引張り試験では最大の接着強度が、飽和クエン酸 3 分処理群にみられた。これは、クエン酸の脱灰作用は EDTA より高いため、確実にスメアー層を除去し、コラーゲン線維の露出が多く生じたことによると思われる。また多くのコラーゲンとハイドロキシアパタイトの混在する層の形成を促し、露出したコラーゲン線維間やアパタイト結晶間に TAD-Albumin glue が浸透し硬化後、嵌合抗力が発生し、これが接着力の増大に寄与する可能性も考えられた。

皮下埋入試験では、未塗布群、ダーマボンド®群、ボルヒール®群では象牙質と皮下組織との間に離開が認められたが、TAD-Albumin glue 群では 7 日目まで全例とも象牙質と皮下組織との間に離開は見られず、両者は接着剤を介して連続しており、接着していたと思われた。21 日目ではごくわずかの接着剤の残存が 1 例に見られたが、その他では材料成分は完全に消失していた。したがって、接着剤が吸収される目安が 7 日目から 21 日目の間にあることが示唆された。未塗布群とボルヒール®群では炎症性細胞の浸潤は 3 日目から 7 日目に認められるものの、それ以降では減少する傾向にあり、ボルヒール®の生体親和性は高いと考えられた。ダーマボンド®群では未塗布群と比較して、3 日目から 42 日目まで一貫して炎症性細胞の浸潤が続き、ダーマボンド®は生体為害性が強いと考えられた。TAD-Albumin glue に関しては、コントロール群とほぼ同じ傾向を示すことから、接着剤自体の生体親和性は高いと考えられた。

これまで歯周外科治療に適した接着剤は無かったが、歯根表面と歯周組織との接着が可能となれば、歯周外科治療時に一度剥離した歯肉弁が容易に歯根表面と接着して、創面の安定が得られ、歯根表面における上皮の深部増殖を防ぐ可能性がある。接着強度がより高まれば、縫合せずに歯周外科治療が行え、縫合糸に起因する術後の感染予防、また抜糸が不要になることが考えられる。また縫合が困難な歯肉弁移動術や遊離歯肉の移植などの症例にも応用でき、さらに歯肉の退縮を抑制する可能性もあることより、術後の治癒の予知性が高まるものと期待される。本実験において TAD-Albumin glue は、軟組織と歯質を接着し、かつ極めて生体親和性が高い接着剤であることが明らかとなった。過去に作られた接着剤でこのような物性を示すものはなく、本実験で使用された TAD-Albumin glue が初めてである。

【結論】

TAD-Albumin glueは、象牙質をクエン酸で3分間処理することにより、象牙質と結合組織を強く接着することが明らかとなり、生体内においてその接着は少なくとも7日間維持され、生体親和性が高いことが示唆された。

学位論文審査の要旨

主　査　教　授　川　浪　雅　光
副　査　教　授　亘　理　文　夫
副　査　准教授　山　本　恒　之

学位論文題名

TAD-Albumin glueによる象牙質と軟組織との接着

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。

これまで多くの接着剤が医療分野に応用されてきたが、歯質と歯肉を接着する医療用接着剤は未だないのが現状である。そこで今回、物質・材料研究機構　田口哲志氏らとtartaric acid derivative(TAD)とhuman serum albumin (HSA)を成分として新しい接着剤(TAD-Albumin glue)を開発した。TAD-Albumin glueはHSAとTADが、アミド結合して硬化する接着剤である。これは歯根表面に露出したコラーゲン線維と歯肉のコラーゲンなどのタンパク質とアミド結合により接着すると考えられる。本研究では、このTAD-Albumin glueによる象牙質と軟組織との接着、および生体内における親和性について検索した。

歯面処理によって接着力に影響が生じるかを検索するため、ヒト象牙質片に飽和クエン酸、あるいは10% EDTAにて1、3、5分間歯面処理したもの、もしくは未処理のものにTAD-Albumin glueを塗布して、円柱状樹脂に固定されているコラーゲンシートと接着し、引張り試験を行った。さらに比較対照としてシアノアクリレート系接着剤(ダーマボンド®)とフィブリン系接着剤(ボルヒール®)で接着強度を測定した。また、TAD-Albumin glueの生体内での接着と親和性を評価するため、ヒト象牙質片を飽和クエン酸にて3分間歯面処理した後、TAD-Albumin glueを塗布してウィスター系ラット(オス10週齢)へ皮下埋入試験を行った。また、比較対照としてダーマボンド®、ボルヒール®を塗布したもの、または象牙質片のみを埋植した。埋植直後、3、7、21あるいは42日後に屠殺し、標本はH-E染色して観察した。

その結果、引張り試験では、ボルヒール®群は歯質とは接着しなかったため除外した。ダーマボンド®群は、TAD-Albumin glueを用いたいずれの群よりも有意に強かった。クエン酸3分・5分処理しTAD-Albumin glueを用いた群のみで未処理群より有意に強かった。これは、クエン酸の脱灰作用はEDTAより高いため、確実にスメアー層を除去し、コラーゲン線維の露出が多く生じたことによると思われる。また多くのコラーゲンとハイドロキシアパタイトの混在する層の形成を促し、露出したコラーゲン線維間やアパタイト結晶間にTAD-Albumin glueが浸透し硬化後、嵌合抗力が発生し、これが接着力の増大に寄与する可能性も考えられた。

皮下埋入試験では未塗布群、ダーマボンド®群、ボルヒール®群のいずれにおいても、術直後から42日目まで、象牙質と皮下組織との間には離開が生じていた。TAD-Albumin glue群では、術直後から7日目まで、全標本で象牙質と皮下組織の間にTAD-Albumin glueが密集して介在し、離開は認められなかった。21日目で

は一部のみ接着剤が部分的に残存しているものがあったが、42 日目では全標本で離開が認められた。よって、TAD-Albumin glue 群は 7 日目まで全例とも象牙質と皮下組織とは接着剤により、接着していたと思われた。また、炎症に関しては、術直後は全群とも認められなかった。7 日目までは、未塗布群では好中球を中心とする強い炎症性細胞の浸潤が認められた。ダーマボンド®群では未塗布群と比較してより多くの好中球が認められた。ボルヒール®群でも好中球の細胞浸潤が認められた。TAD-Albumin glue 群では、炎症性細胞の浸潤はほとんど認められず、多層の線維芽細胞が接着剤表面を覆っていた。これらの線維芽細胞は術直後よりも密な集団を形成し、好中球の浸潤はほとんど認められなかった。21 日目においては、未塗布群、ボルヒール®群では好中球がわずかに認められる程度であり、炎症はほぼ消失した。ダーマボンド®群では数は減少したものの、依然として炎症性細胞の浸潤が認められた。TAD-Albumin glue 群では、接着剤の有無に関わらず好中球は全く認められなかった。42 日目においては、炎症性細胞の浸潤はダーマボンド®群では部分的に残存したが、他の群では認められなかった。これらの結果より、未塗布群とボルヒール®群では炎症性細胞の浸潤は 7 日目まで認められるものの、それ以降では減少する傾向にあり、ボルヒール®の生体親和性は高いと考えられた。ダーマボンド®群では未塗布群と比較して、3 日目から 42 日目まで一貫して炎症性細胞の浸潤が続き、ダーマボンド®は生体為害性が強いと考えられた。TAD-Albumin glue に関しては、コントロール群とほぼ同じ傾向を示すことから、接着剤自体の生体親和性は高いと考えられた。

これまで歯周外科治療に適した接着剤は無かったが、歯根表面と歯周組織との接着が可能となれば、歯周外科治療時に一度剥離した歯肉弁が容易に歯根表面と接着して、創面の安定が得られ、歯根表面における上皮の深部増殖を防ぐ可能性がある。接着強度がより高まれば、縫合せずに歯周外科治療が行え、縫合糸に起因する術後の感染を予防し、また抜糸が不要になることが考えられる。

以上より、TAD-Albumin glue は、象牙質をクエン酸で 3 分間処理することにより、象牙質と結合組織を強く接着することが明らかとなり、生体内においてその接着は少なくとも 7 日間維持され、生体親和性が高いことが示唆された。

引き続き審査担当者と申請者の間で、論文内容及び関連事項について質疑応答がなされた。主な質問事項として、

1) TAD-Albumin glue の操作法及び染色性について。
2) 比較用接着剤の染色性について。
3) 目標とする TAD-Albumin glue の接着力保持期間について。
4) 歯周外科治療時に、どのように TAD-Albumin glue を用いるかについて。
5) 今後の展望について。

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について十分な理解と学識を有していることが確認された。本研究において TAD-Albumin glue は、軟組織と歯質を接着し、かつ極めて生体親和性が高い接着剤であることが明らかとなり、今後の臨床研究へもつながる重要な指針を与えたことが評価された。

以上のことから本研究の内容は、歯科医学の発展に十分貢献するものであり、審査担当者全員は、学位申請者が博士(歯学)の学位を授与するのに値するものと認めた。