

学 位 論 文 題 名

4-META/MMA-TBB レジンと骨との接着の長期安定性

学位論文内容の要旨

【緒言】

4-META/MMA-TBB レジンは象牙質への長期にわたる優れた接着性を有することが広く知られており、セメント質についても象牙質と同様の表面処理で象牙質と類似の樹脂含浸層が形成され、高い接着性が得られることが明らかにされている。さらに結合組織に対しても優れた生体親和性を示すことが多数報告されており、根管充填、直接覆髄、破折歯根の接着、穿孔部の封鎖、root-end sealing などにも使用されている。これらの歯周組織に応用する際には骨に付着する可能性も考えられるが、レジンが付着した骨の生体内での反応は明らかにされていない。骨は象牙質やセメント質と同様にコラーゲンとハイドロキシアパタイトを主成分とし、セメント質に類似した構造であることから、4-META/MMA-TBB レジンは象牙質やセメント質と同様に骨にも接着し、良好な接着性が得られる可能性が報告されている。しかし、骨は温度変化や化学的刺激による影響を受けやすいこと、象牙質は生物学的変化を起こさない組織であるのに対し、骨は常にリモデリングが行われていることから、レジンが接着した骨、レジンと骨の界面を長期的に評価することが必要と思われる。

そこで本研究では、4-META/MMA-TBB レジンを骨に接着させ、レジンと骨との接着界面、また、骨および周囲組織の反応を病理組織学的、形態学的に長期間観察を行った。

【材料および方法】

1. 接着方法

実験動物には、11 週齢の Wistar 系雄性ラット 48 匹を使用した。頭部皮膚を切開、骨膜を剥離し、頭蓋骨面を 10%クエン酸 3%塩化第二鉄溶液（表面処理剤グリーン®、サンメディカル）で 5 秒間処理した。水洗、エアードライして、筆積み法にて 4-META/MMA-TBB レジン（スーパーボンド C&B®、クリア、サンメディカル：以下 SB）を骨面に塗布し、皮弁を復位縫合した。

2. LM 観察および計測

1 日 (n=9)、6 ヶ月 (n=9)、9 ヶ月 (n=8)、12 ヶ月 (n=8) 後、被験部位を採取し、通法に従って脱灰薄切標本を作製、HE 染色し、観察を行った。計測は、標本の中央部の切片を選択し、① SB と骨の界面への結合組織侵入率、接着した SB 直下の骨から②骨細胞が萎縮または消失している骨の深さ、さらに SB 直下 90 μ m 以内の骨、SB から 450 μ m 以上はなれた深部の骨、SB から 1000 μ m 以上側方の表層の骨の 3 ヶ所において③骨細胞が存在している骨小腔の割合を求めた。

3. SEM 観察

1 日、9 ヶ月、12 ヶ月後、被験部位を採取し、SB の中央部で割断して断面をアルミナバフ研磨した。6N 塩酸 35 秒、1%次亜塩素酸ナトリウム 12 分の処理を経て、脱水、乾燥して白金蒸着し、SB

と骨の界面を観察した。

4. TEM 観察

12 ヶ月後、被験部位を採取し、厚さ 1 mm の試料片を作製した。エポキシレジン包埋し、超薄切片を作製、カーボン蒸着して、SB と骨との界面の構造を観察した。

【結果】

1. 骨と SB の界面について

SEM 観察において、術後 1 日では、SB と骨との界面に間隙は認められず、塩酸にも次亜塩素酸ナトリウムにも溶解しない厚さ 10 μ m 程度の層が観察された。術後 9、12 ヶ月でも、SB と骨との界面に間隙は認められず、塩酸にも次亜塩素酸ナトリウムにも溶解しない層やその直下の骨では、1 日後と比較して構造に変化はみられなかった。術後 12 ヶ月の TEM 観察では、骨と SB の界面には、無構造な部分とコラーゲン線維の横紋構造、ハイドロキシアパタイトの結晶が認められた。LM 観察では、結合組織などの侵入は全ての観察期間においてほとんどみられず、ヘマトキシリンに淡染する層を介して SB と骨は直接接していた。

2. SB 周囲の骨および結合組織への影響について

SB が接している直下の骨、および SB が接していない側方の骨では、骨小腔内の骨細胞の萎縮、消失が多く認められ、術後 1 日から術後 12 ヶ月まで同様であった。深部の骨では、骨細胞の萎縮・消失はすべての観察期間でほとんど認められなかった。骨細胞の萎縮、消失した骨を、周囲の骨から分離するような結合組織の介在は術後 12 ヶ月でもみられなかった。この骨細胞の消失した骨の深さは、経時的な減少が認められ、母床骨との境界面で部分的な吸収と新生骨の添加が観察された。術後 1 日では、SB 上面の結合組織に赤血球とわずかなリンパ球が認められたが、術後 6 ヶ月では、SB 上面の結合組織に炎症性細胞は認められず、SB と結合組織の間に母床骨から薄い骨が SB 表面に沿って増生しているのが観察された。術後 9、12 ヶ月でも、術後 6 ヶ月と同様に SB 上面の皮下結合組織に炎症性細胞浸潤は認められず、母床骨からの薄い骨が SB 表面に沿って増生し、その範囲は術後 6 ヶ月より拡大していた。

【考察】

SEM、TEM 観察の結果より、SB と骨の界面の構造は、象牙質の樹脂含浸層と同様であり、SB と骨は樹脂含浸層を形成して接着していると考えられた。また、その構造は術後 12 ヶ月と術後 1 日でほとんど差がなく、骨と SB の界面に結合組織の侵入や骨吸収もほとんどなかったことから、骨と SB の接着は長期間維持されていると思われた。

骨組織の状態は、SB 深部の骨に比べて SB 直下の骨、側方の骨では骨細胞が萎縮しているものが多く、一部は消失していた。しかし、経時的に変化がなかったこと、SB 直下の骨と側方の骨の間には差がなかったことから、この骨細胞の萎縮、消失は、外科的侵襲や 10% クエン酸 3% 塩化第二鉄溶液による表面処理、エアードライによる乾燥が原因と考えられ、SB の成分や重合時の温度上昇によるものではないと思われた。また、骨細胞が萎縮、消失した骨は、12 ヶ月後も周囲の骨から分離せず、経時的にわずかな減少が認められ、母床骨との境界面で部分的な吸収と新生骨の添加が観察されたことから、母床骨側からきわめて遅い速度で新生骨に置換していると考えられた。術後 1 日にレジン上面に認められたわずかな炎症性細胞浸潤は、レジン上面だけでなく周囲組織にも広く観察されたことから、外科的侵襲によるものと考えられ、重合直後に未重合のレジン成分が溶出して炎症が生じたのではないと思われた。さらに、術後 6 ヶ月では周囲組織に炎症性細胞は観察されず、12 ヶ

月後も同様であったことから、長期的にも SB の成分が溶出して炎症が生じる可能性はきわめて低いと思われた。本研究では、LM および SEM で SB と皮下結合組織間に母床骨からの薄い骨の増生が観察され、SB と増生した骨との間には SEM では間隙が見られたものの、結合組織の介在はなく、さらに SB 表面が骨で大きく被覆されているものも認められた。このことから、SB は骨に対して長期にわたり高い親和性を有していると考えられた。

【結論】

1. 骨面を表面処理し、SB を直接塗布して硬化させると、骨とレジンが樹脂含浸層を形成して接着し、12 ヶ月後も界面にはほとんど変化がなかった。
2. SB が接着した骨は、表面処理時の脱灰、乾燥の影響によると思われる骨細胞の萎縮、消失が認められたが、母床骨から分離されることなく徐々に新生骨に置換された。
3. SB と皮下組織の間に母床骨からレジンを被覆するように骨の増生が認められ、SB は骨に対してきわめて高い親和性を有することが示された。

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 教 授 土 門 卓 文

学 位 論 文 題 名

4-META/MMA-TBB レジンと骨との接着の長期安定性

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概要の説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

【目的】 4-META/MMA-TBB レジンは象牙質やセメント質への長期にわたる優れた接着性を有することが広く知られている。さらに結合組織に対しても優れた生体親和性を示すことが報告されており、破折歯根の接着、穿孔部の封鎖、root-end sealing などにも使用されている。これらの歯周組織に応用する際には骨に付着する可能性も考えられるが、レジンが付着した骨の生体内での反応は明らかにされていない。骨は象牙質やセメント質と同様にコラーゲンとハイドロキシアパタイトを主成分とし、セメント質に類似した構造であることから、4-META/MMA-TBB レジンは象牙質やセメント質と同様に骨にも接着し、良好な接着性が得られる可能性が考えられる。しかし、象牙質は生物学的変化を起こさない組織であるのに対し、骨は常にリモデリングが行われていることから、レジンが接着した骨、レジンと骨の界面を長期的に評価することが必要と思われる。そこで本研究では、4-META/MMA-TBB レジンを骨に接着させ、レジンと骨との接着界面、また、骨および周囲組織の反応を病理組織学的、形態学的に長期間観察を行った。

【材料および方法】 ラット頭蓋骨面を 10%クエン酸3%塩化第二鉄溶液(表面処理剤グリーン®、サンメディカル)で 5 秒間処理し、水洗、乾燥後、4-META/MMA-TBB レジン(スーパーボンド C&B®、クリア、サンメディカル、以下SB)を骨面に塗布して、皮弁を復位縫合した。1 日、6、9、12 ヶ月後、LM、SEM、TEM にて観察および計測を行った。計測項目は、①SB と骨の界面への結合組織侵入率、接着した SB 直下の骨から、②骨細胞が萎縮または消失している骨の深さ、さらに SB 直下の骨、深部の骨、側方の骨の3ヶ所において、③骨細胞が存在している骨小腔の割合を求めた。統計学的分析には、Mann-Whitney *U* 検定を用いた。

【結果】

1. 骨とSBの界面について

SEM 観察では、SB と骨の間に塩酸にも次亜塩素酸ナトリウムにも溶解しない層が観察され、この構造は 12 ヶ月間変化がなかった。TEM 観察では、無構造な部分とコラーゲン線維の横紋構造、ハイドロキシアパタイトの結晶が観察された。LM 観察では、結合組織などの侵入は 12 ヶ月間ほとんどみられず、ヘマトキシリンに淡染する層を介してSBと骨は直接接していた。

2. SB周囲の骨および結合組織について

SB が接している直下の骨および SB が接していない側方の骨では、骨細胞の萎縮や消失が多く認められ、術後 1 日から術後 12 ヶ月まではほぼ同様であった。骨細胞が萎縮、消失した骨の深さは、経時的にわずかな減少が認められ、母床骨との境界面で部分的な吸収と新生骨の添加が観察された。6 ヶ月以後の標本では、SB 上面の皮下結合組織に炎症は認められず、SB 表面を被覆するように SB と皮下結合組織の間に母床骨から薄い骨が増生していた。

【考察】 SEM、TEM 観察の結果より、SB と骨の界面の構造は、象牙質の樹脂含浸層と同様であり、SB と骨は樹脂含浸層を形成して接着していると考えられた。また、その構造は術後 12 ヶ月と術後 1 日で差がなく、骨と SB の界面に結合組織の侵入や骨吸収もほとんどなかったことから、骨と SB の接着は長期間維持されていると思われた。骨組織の状態は、SB 深部の骨に比べて SB 直下の骨、側方の骨では骨細胞が萎縮しているものが多く、一部は消失していた。しかし、経時的に変化がなかったこと、SB 直下の骨と SB から離れた側方の骨との間には差がなかったことから、この骨細胞の萎縮、消失は、外科的侵襲やエアードライによる乾燥が原因と考えられ、SB の成分や重合時の温度上昇によるものではないと思われた。また、骨細胞が萎縮、消失した骨は、12 ヶ月後も周囲の骨から分離せず、経時的にわずかな減少が認められ、母床骨との境界面で部分的な吸収と新生骨の添加が観察されたことから、母床骨側からきわめて遅い速度で新生骨に置換していると考えられた。術後 1 日にレジン上面には外科的侵襲によるものと考えられるわずかな炎症性細胞浸潤が認められたが、術後 6 ヶ月では周囲組織に炎症性細胞は観察されず、12 ヶ月後も同様であったことから、長期的にも SB の成分が溶出して炎症が生じる可能性はきわめて低いと思われた。本研究では、LM および SEM で SB と皮下結合組織間に母床骨からの薄い骨の増生が観察され、SB と増生した骨の間には SEM では間隙が見られたものの、結合組織の介在はなく、さらに SB 表面が骨で大きく被覆されているものも認められた。このことから、SB は骨に対して長期にわたり高い親和性を有していると考えられた。

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) 他の接着性レジンと比較した、4-META/MMA-TBB レジンの細胞毒性について。
 - (2) 骨細管にレジンタグの形成がおりうるのかについて。
 - (3) 骨細胞が消失した骨のリモデリングについて。
 - (4) 4-META/MMA-TBB レジンを骨に接着させると、その過程で骨細胞が消失してしまうのであれば、この方法は適当ではないのではないか、という意見に対する見解。
 - (5) 4-META/MMA-TBB レジンの骨セメントとしての適用の可能性、現在の骨セメントとの比較、適した部位や症例について。
 - (6) SEM 像で観察された SB 表面に増生した骨と SB との間隙が生じた理由。
- 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、骨と 4-META/MMA-TBB レジンが樹脂含浸層を形成して接着し、骨や周囲組織への生体親和性にも優れていることを長期的に評価しており、臨床における骨セメントへの応用にも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、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。