

学位論文題名

Tissue Reaction of 4-META/MMA-TBB Resin using
together with Hemostasis Materials

(4-META/MMA-TBB レジンに止血材を併用した場合の組織反応)

学位論文内容の要旨

【緒言】

根管壁や髄床底の穿孔に対する処置には、感染源の除去と緊密な封鎖、さらに生体親和性に優れていることが重要である。穿孔部の封鎖には、水酸化カルシウム製剤、強化型ユージオールセメント、mineral trioxide aggregate (MTA) などの材料が用いられてきた。しかし、これらの非接着性材料で緊密な封鎖を行うためには、充填のための窩洞が必要であり、穿孔部周囲の歯質が薄くなっている場合には、窩洞形成を行なうと穿孔面積が拡大し、緊密な封鎖がより困難になる。

当教室では、象牙質への接着力が強く、歯周組織に親和性が高い 4-META/MMA-TBB レジン (スーパーボンド C&B[®], サンメディカル, 以下スーパーボンド) を、髄床底穿孔の封鎖に応用することを検討してきた。しかし、穿孔部が大きくなると止血も困難となり、水洗、乾燥時に血液が象牙質面に飛散する危険性がある。したがって、穿孔部が大きく、止血が不十分な場合には、まず止血剤を填塞し、さらにその上からスーパーボンドで封鎖する方法が有効ではないかと考えられる。しかし、止血剤によってレジン表面に重合阻害が生じ、止血剤吸収後に炎症が生じる可能性がある。

そこで本研究の目的は、血液が浸漬した止血剤上でスーパーボンドを硬化させ、ラット背部皮下結合組織に移植して病理組織学的に組織反応を検討することである。

【材料および方法】

止血剤にはテルダーミス[®] (単層タイプ, オリンパステルモバイオマテリアル, 以下テルダーミス) とサージセル[®]・アプソール・ヘモスタット (J&J, 以下サージセル) を用い、3×3×1mmの大きさに調整した。実験動物には、Wistar 系雄性ラット (10 週齢) 40 匹を用いた。BT 群は、テルダーミスに被移植ラットの血液を十分に浸漬させ、余剰血液をエアブローし、スーパーボンドを通常に従い筆積み法にて塗布し、10 分後、テルダーミスとスーパーボンドを一塊として背部皮下結合組織に埋入した。T 群は血液に浸漬せずに、乾燥したテルダーミスにスーパーボンドを塗布して硬化させて埋入した。BS 群はサージセルに血液を浸漬させ、S 群は血液を浸漬せずに、それぞれ BT 群、T 群と同様にレジン硬化させて皮下結合組織内に移植を行った。観察期間は 1, 3, 6 週とした。厚さ 6 μ m の連続切片で薄切し、ヘマトキシリン・エオジン重染色 (HE 染色) を行い、病理組織学的観察を行った。止血剤の残存量の計測には画像解析ソフト Scion Image[®] (Scion) を用いた。また、スーパーボンドと止血剤の境界部分を 400 倍で無作為に 5 ヶ所撮影 (250×350 μ m²) し、炎症性細胞浸潤の程度を、堀らの方法を参考にスコア化した。すなわちリンパ球の数によって、Scale 0: リンパ球が認められない、Scale 1: リンパ球の数が 1~100 個、Scale 2: リンパ球の数が 101~200 個、Scale 3: リンパ球の数が 201~300 個、Scale 4: リンパ球の数が 300 個以上、とした。統計処理には、SPSS[®]11.0 J (SPSS) を用い、Kruskal-Wallis 検定および Mann Whitney U 検定を行った。

【結果】

1. 病理組織学的観察

(1) 1 週後

BT 群：テルダーミスとスーパーボンドの境界部では、リンパ球、好中球、好酸球、マクロファージなどの炎症性細胞浸潤が観察された。T 群：テルダーミスとスーパーボンドの境界部では、テルダーミスは網目状の粗な構造を呈し、線維間にはリンパ球を中心とする炎症性細胞浸潤が観察された。BS 群：サージセルとスーパーボンドの境界部では、リンパ球などの炎症性細胞浸潤が観察された。S 群：サージセルとスーパーボンドの境界部では、BS 群と同様の所見であったが、炎症性細胞浸潤はBS 群より多い傾向にあった。

(2) 3 週後

BT 群：テルダーミスはほぼ吸収されており、スーパーボンド表面では、リンパ球などの炎症性細胞はBT 群 1 週後より少なく、好中球やマクロファージなどもほとんど観察されなかった。T 群：テルダーミスはほとんど吸収されており、スーパーボンドの間に結合組織が網目状に侵入していた。このような部分では、リンパ球、マクロファージなどが観察された。BS 群：サージセルはほとんど吸収されており、スーパーボンド表面では、リンパ球を中心とする炎症性細胞浸潤と異物巨細胞が観察された。S 群：BS 群とほぼ同様の所見で、スーパーボンド表面にはリンパ球を中心とする炎症性細胞浸潤と異物巨細胞が観察された。

(3) 6 週後

BT 群：テルダーミスはほぼ完全に消失し、スーパーボンド表面に炎症性細胞浸潤は観察されなかった。T 群：テルダーミスはほぼ完全に消失し、スーパーボンド表面はリンパ球を中心とする炎症性細胞浸潤と異物巨細胞、マクロファージが観察された。BS 群：サージセルの残存はきわめてわずかで、スーパーボンド表面にはリンパ球やマクロファージ、異物巨細胞が観察された。S 群：BS 群とほぼ同様の所見であったが、スーパーボンド表面のリンパ球などはBS 群よりやや多かった。

2. 病理組織学的計測

(1) 止血剤の残存面積

テルダーミス及びサージセルの残存面積は、4 群とも経時的に吸収されて小さくなり、1, 3, 6 週の間には有意差 ($p < 0.05$) が認められた。4 群間で比較すると、いずれの観察期間でも有意差はなかった。

(2) 炎症性細胞浸潤のスコア

炎症性細胞浸潤のスコアは4 群とも経時的に減少した。4 群間の比較では、1, 3 週後は有意差がなかったが、6 週後はBT 群が他の3 群に比較して有意 ($p < 0.05$) に少なかった。

【考察】

本実験では、テルダーミスとサージセルでは残存面積に有意差はなく、吸収性に差はないと考えられたが、各材料周囲の炎症状態を比較すると、1, 3 週ともサージセルの方が炎症性細胞浸潤は広範囲に生じており、リンパ球の密度も高かった。したがって、止血材の生体親和性はテルダーミスの方が高いと考えられた。これは、テルダーミスが抗原性の高いテロペプチドを除去したアテロコラーゲンから作られているのに対し、サージセルは酸化セルロースを主体としており、組織内で pH を低下させ、異物反応も強いことなどが理由として考えられる。止血剤が吸収された6 週後、BT 群がT 群より炎症性細胞浸潤が有意に少なかったのは、T 群はテルダーミスの繊維間に含まれる空気に接した状態でスーパーボンドが重合したのに対し、BT 群は血液に接した状態で重合したため、血液中の Fe^{3+} によってスーパーボンドの重合率が上昇したと考えられた。6 週後のBT 群がBS 群より炎症性細胞浸潤が有意に少なかったのは、コラーゲンがスーパーボンドの重合率をわずかに上昇させると報告されていることから、スーパーボンドはテルダーミスに接して重合した方が、サージセルに接して重合した場合より、重

合率が高くなったと考えられた

【結論】

テルダーミス及びサージセルと、スーパーボンドの併用では、テルダーミスに血液を含浸させた場合が、止血材吸収後のレジメン面に対する炎症は最も少ない。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 浪 雅 光

副 査 教 授 佐 野 英 彦

副 査 教 授 網 塚 憲 生

学 位 論 文 題 名

Tissue Reaction of 4-META/MMA-TBB Resin using together with Hemostasis Materials

(4-META/MMA-TBB レジンに止血材を併用した場合の組織反応)

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。

根管壁や髄床底の穿孔に対する処置に 4-META/MMA-TBB レジン(スーパーボンド C&B[®], 以下スーパーボンド)を応用することが検討されてきた。穿孔部が大きくなると止血も困難となるため、そのような場合には、まず止血剤を填塞し、その上からスーパーボンドで封鎖する方法が有効ではないかと考えられる。しかし、止血剤がスーパーボンドの重合率を低下させたりすると、止血剤吸収後に炎症が生じる可能性がある。そこで本研究の目的は、血液が浸漬した止血剤上でスーパーボンドを硬化させ、ラット背部皮下結合組織に移植して病理組織学的に組織反応を検討することである。

止血剤にはテルダーミス[®] (以下テルダーミス)とサージセル[®]・アブソーバブル・ヘモスタット(以下サージセル)を用いた。実験動物には、Wistar 系雄性ラット(10 週齢)40 匹を用いた。BT 群は、テルダーミスに被移植ラットの血液を浸漬させ、余剰血液をエアブローし、スーパーボンドを通法に従い塗布し、10 分後、テルダーミスと硬化したスーパーボンドを一塊として背部皮下結合組織に埋入した。T 群は血液に浸漬せず、BS 群はサージセルに血液を浸漬させ、S 群は血液を浸漬せずに、レジン硬化後移植した。観察期間は 1, 3, 6 週とし、HE 重染色して病理組織学的観察を行った。止血剤の残存量の計測には画像解析ソフト Scion Image[®]を用いた。また、スーパーボンドと止血剤の境界部分を 400 倍で無作為に 5 ヶ所撮影(250x350 μ m²)し、浸潤した細胞によって Scale 0 から Scale 4 に分類してスコア化した。統計処理には、Kruskal-Wallis 検定および Mann Whitney U 検定を行った。

1 週後の BT 群において、テルダーミスとスーパーボンドの境界部では、浸潤した細胞が観察された。T 群では、テルダーミスが網目状の粗な構造を呈し、線維間には浸潤した細胞が観察された。BS 群では浸潤した細胞が数多く観察されたが、S 群より少ない傾向にあった。3 週後では、4 群とも止血剤はほぼ吸収され、浸潤した細胞は 1 週後より減少傾向にあった。6 週後の BT 群では、浸潤した細胞は観察されなかったが、T 群ではわずかに観察された。BS 群では、リンパ球やマクロファージ、異物巨細胞が観察された。S 群では BS 群とほぼ同様の所見であったが、浸潤した細胞は BS 群よりやや多かった。止血剤の残存面積は、4群とも経時的に減少し、1、

3, 6週の間には有意差($p < 0.05$)が認められた。4群間で比較すると、いずれの観察期間でも有意差はなかった。浸潤した細胞のスコアは4群とも経時的に減少した。4群間の比較では、1, 3週後は有意差がなかったが、6週後はBT群が他の3群に比較して有意($p < 0.05$)に少なかった。

本実験では、止血剤が完全に吸収された6週後、BT群がT群より浸潤した細胞が有意に少なかった。これは、BT群のスーパーボンド表層の起炎性がT群より少ないことを示している。血液中の Fe^{3+} はスーパーボンドの重合率を上昇させるという報告があること、さらに重合率が低いレジンは残留モノマーの影響で起炎性が高いということが知られていることから、BT群は血液に接して重合したため、T群より起炎性が低下したと考えられた。また、6週後のBT群はBS群より浸潤した細胞が有意に少なかった。このことは、スーパーボンドがコラーゲン(テルダーミス)と接して重合した部分は、酸化セルロース(サージセル)と接して重合した部分よりも起炎性が少ないことを示しており、コラーゲンと酸化セルロースの分子構造の違いがスーパーボンドの重合に影響を与えた可能性が考えられた。

以上の結果から、テルダーミス及びサージセルと、スーパーボンドの併用では、テルダーミスに血液を含浸させた場合、止血材吸収後のレジン面に対する炎症は最も少ないと考えられた。

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。

主な質問事項は、

- (1) ヘマトキシリンに淡染する無構造な層とスーパーボンドの含浸領域との関係。
- (2) リンパ球や異物巨細胞などの炎症性細胞および線維芽細胞の同定における形態学的根拠。
- (3) 組織所見に基づいた統計解析評価の意義。
- (4) スーパーボンドが空気に接することで重合の程度が低くなる根拠。
などについてであった。

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。本研究は止血剤吸収後の治癒状態を評価しており、臨床における穿孔部の封鎖への応用に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。