博士（歯学）　洲崎真希

学位論文題名

4-META/MMA-TBBレジンの硬化条件がレジン表面への骨形成に及ぼす影響

学位論文内容の要旨

（緒言）

4-META/MMA-TBB レジン（スーパーボンド）は歯質に対する優れた接着性を有し，生体親和性も高いことから，歯根端切除術や再植術時の root-end sealing，垂直歯根破折の接着治療，髄床底穿孔部の封鎖に応用されている．これらの治療では，術後に炎症が生じることはなく良好な歯周組織の治癒が得られているが，硬化したレジン上にセメント質の形成は認められていない．そのため，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，上皮が根尖側移動して歯周ポケットを形成しやすくなり，適応症例の拡大やさらに良好な予後を得るためには，硬化したレジン上にセメント質が形成されることが必要と考えられる．一方，硬化したスーパーボンド表面への硬組織形成として，ラット頭蓋骨や大腿骨に移植した場合に，スーパーボンド上に増生した骨が，結合組織を介さずに直接レジンと接することが報告されており，硬化したスーパーボンド上に硬組織の形成が可能なことが示されている．

また，スーパーボンドの硬化条件を変化させてラット背部皮下結合組織に埋植し，組織反応を比較した研究で，空気を遮断して硬化させたレジンは空気中で硬化させたレジンと比較して炎症は少なく，血液で被覆した状態で硬化させた場合にはさらに炎症が減少することが報告されている．このことから，スーパーボンドの硬化条件を変えるとレジン表面への骨形成にも違いが生じると考えられる．そこで，硬化条件を変えたスーパーボンドをラット大腿骨骨髄腔に埋植し，骨形成に及ぼす影響と表面性状の違いについて検討を行った．

（材料と方法）

実験 1．硬化条件を変えたレジンを骨髄腔に埋植した場合の組織反応

スーパーボンドを内径 1mm のポリプロピレンチューブに吸引して空気遮断条件下で硬化させ，直径 1mm 長さ 5mm の円柱形試料を作製し，10 週齢ラットの大腿骨を穿孔して次の 3 条件で骨髄腔中に埋植を行った．①骨髄液中硬化群：試料表面にスーパーボンドを塗布し直ちに埋植．②空気中硬化群：試料表面にスーパーボンドを塗布し 24 時間空気中で硬化後に埋植．③空気遮断硬化群：試料をそのまま埋植．

術後 2，8 週で脱灰薄切標本を作製して H-E 重染色し，光学顕微鏡下で骨基質形成率，試料と骨基質との距離，試料と骨基質の接触率を計測した．

実験 2.　硬化条件を変えたレジンの表面性状の評価

スーパーボンドをセルロイドストリップスで圧接して硬化させ 1×5×5 ㎜の板状試料を作製した．ラットの大腿骨から骨髄液を採取し，実験 1 と同じ 3 つの条件下で 10 分間骨髄液に浸漬した．その後 20 分間超音波洗浄し，自然乾燥，金蒸着して試料表面及び縦断面の走査型電子顕微鏡（SEM）観察を行った．また，上記 3 群に対照群として骨髄液に浸漬しない試料を加えた 4 群に対して，1 回反射 ATR 法により波数 4000～650cm^{-1} の領域でフーリエ変換赤外分光（FT-IR）分析を行った．

（結果）

実験 1．硬化条件を変えたレジンを骨髄腔に埋植した場合の組織反応

術後 2 週では，3 群とも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．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，また多核の巨細胞が認められた．8 週後には 3 群とも試料と骨は近接しており，新生骨は緻密化し層板構造がみられた．

骨基質形成率は 2，8 週後とも 3 群間に有意差が認められなかった．試料と骨基質間の距離は，2 週後には 3 群間に有意差がなかったが，8 週後には骨髄液中硬化群が空気中硬化群に比較し有意に小さい値となった．試料と骨基質の接触率は，2 週後には 3 群間に有意差がなかったが，8 週後には骨髄液中硬化群が他の 2 群に比較して有意に高い値を示した．

実験 2.　硬化条件を変えたレジンの表面性状の評価

SEM 観察では，空気中硬化群は数～数十 μm の比較的大きな凹凸は見られたが，表面は概ね平滑で無構造であった．空気遮断硬化群はほとんど凹凸がなく，表面は空気中効果群と同様に平滑であった．一方，骨髄液中硬化群は空気中効果群と同様に大きな凹凸がみられたが，表面は 0.2~0.3μm の微小な凹凸が認められ粗造な構造であった．骨髄液中硬化群の縦断面試料ではレジンの表層に厚さ 2～3μm の層が観察され，レジンとの境界は一部で不明瞭になっていた．

FT-IR 分析では空気遮断硬化群，空気中硬化群は対照群と同様のスペクトルを示した．一方，骨髄液中硬化群も対照群と同様の波数でピークが認められたが，さらに 3280cm^{-1}，1645cm^{-1}，1540cm^{-1} 付近にピークが認められた．

（考察）

実験 1 の結果，骨基質形成率は 2，8 週とも 3 群間に有意差はなく，経時的な新生骨の緻密化や，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も同様であったことから，スーパーボンドの硬化条件は試料周囲への骨形成量や成熟にはほとんど影響しないものと思われた．

一方，骨基質と試料との距離は，8 週後には骨髄液中硬化群が空気中硬化群より有意に小さい値であった．さらに，骨基質と試料との接触率は，8 週後には骨髄液中硬化群が他の 2 群に比べて有意に高い値を示した．したがって，骨髄液中で硬化させることは，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思われた．

また，実験 2 の SEM 観察で，骨髄液中硬化群の試料表面に厚さ 2~3μm のレジンとは異なる構造が認められ，一部で境界不明瞭な部分が見られたことから，レジン表面が骨髄液成分でコーティングされ，一部は混合して硬化していると考えられた．さらに，FT-IR 分析で，空気遮断硬化群と空気中硬化群は骨髄液に浸漬していない対照群と同様のスペクトルを示したのに対し，骨髄液中硬化群ではレジンのスペクトルに加え，特性アミド吸収帯である 3280cm^{-1}，1645cm^{-1}，1540cm^{-1} のアミド A，アミドⅠ，アミドⅡのピークが認められた．この結果から，SEM で認められたレジン表面の層はタンパク質を含む骨髄液中の成分と推測された．

以上の結果より，スーパーボンドを骨髄液中で硬化させると，レジン表面がタンパク質を含む骨髄成分と混合して硬化することで，新生骨に対する親和性が高まるものと考えられた．

（結論）

スーパーボンドの硬化条件を変え，大腿骨骨髄腔に埋植して骨形成に及ぼす影響を病理組織学的に評価するとともに，レジン表面性状の違いを検討した．その結果，以下の結論を得た．

1. スーパーボンドを骨髄液中で硬化させると，レジンと骨を近接させ接触率を高める効果が認められた．
2. スーパーボンドを骨髄液中で硬化させると，レジン表面にタンパク質を含む骨髄成分の付着が生じた．

学位論文審査の要旨

主　査　　教　授　　川　浪　雅　光
副　査　　特任教授　　亘　理　文　夫
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レジン表面への骨形成に及ぼす影響

審査は主査，副査全員が口頭で行った．はじめに申請者に対して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．

4-META/MMA-TBB レジンは優れた接着性と生体親和性を有するが，硬化条件により炎症反応など，生体親和性が異なる可能性が指摘されている．本研究では，実験 1 で硬化条件を変えた 4-META/MMA-TBB レジンを骨髄腔内に移植し，レジン表面への骨の形成に及ぼす影響を評価した．実験 2 では，硬化条件を変えた 4-META/MMA-TBB レジンを骨髄液に浸漬し，試料の表面性状について評価した．

実験 1：スーパーボンドを空気遮断条件下で硬化させ，直径 1mm，長さ 5mm の円柱形試料を作製し，10 週齢ラットの大腿骨を穿孔，次の 3 条件で埋植を行った．骨髄液中硬化群：試料表面にスーパーボンドを塗布し，直ちに埋植．空気中硬化群：試料表面にスーパーボンドを塗布し，24 時間空気中で硬化後に埋植．空気遮断硬化群：試料をそのまま埋植．術後 2，8 週で脱灰薄切標本を作製して H-E 重染色し，光学顕微鏡下で骨基質形成率，試料と骨基質との距離，試料と骨基質の接触率を計測した．
実験 2:スーパーボンドをセルロイドストリップスで圧接して硬化させ 1×5×5 ㎜の板状試料を作製した．ラットの大腿骨から骨髄液を採取し，上記と同じ 3 つの条件下で 10 分間骨髄液に浸漬し，観察試料として 20 分間超音波洗浄し，乾燥後，金蒸着し，試料表面及び縦断面の SEM 観察を行った．また，1 回反射 ATR 法により波数 4000～650cm^{-1} の領域で FT-IR 分析を行った．上記 3 群に対照群として骨髄液に浸漬しない試料を加え 4 群とした．
実験 1 では，骨基質形成率は 2 週後，8 週後ともに 3 群間に有意差が認められなかった．試料と骨基質間の距離は 2 週後では 3 群間に有意差が認められなかったが，8 週後では骨髄液中硬化群が空気中硬化群に比較し有意に小さい値となった．試料と骨基質の接触率は，2 週後は 3 群とも低く 3 群間に有意差はなかった．8 週後は骨髄液中硬化群が 15.4％で最も高く，他の 2 群に比較して有意差が認められた．
実験 2 では，SEM 観察で，空気中硬化群では，弱拡大ではやや大きな隆起が認められたが，強拡大では大部分において平滑で無構造であった．空気遮断硬化群は，弱拡大，強拡大ともに表面は概ね平滑で無構造であった．骨髄液中硬化群の試料表面は空気中硬化群と類似の凹凸がみられたが，強拡大では 0.2~0.3μm の微小な凹凸が認められ粗造な表面形態であった．試料縦断面ではレジンの表層に厚さ 2～3μm の凹凸の

ある粗造な層が観察され，レジンと粗造な層との界面は，境界が不明瞭な部位が一部に認められた．

FT-IR 分析では空気遮断硬化群，空気中硬化群は対照群と同様のスペクトルを示した．骨髄液中硬化群も対照群と同様の波数でピークが認められたが，さらにタンパク質に特異的な吸収領域にピークが認められた．

2 週，8 週ともに 3 群間で骨の成熟に大きな差はなく，硬化条件は試料周囲への骨形成量にほとんど影響しないものと思われた．骨基質が試料に近接する速度は，スーパーボンドを骨髄腔中で硬化させた場合が最も早く，骨髄液中で硬化させることは，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思われた．

また，硬化条件が新生骨形成に影響を及ぼす要因として，SEM 観察では，骨髄液中硬化群は試料表面が粗造であり，試料断面の観察では，レジン上に厚さ 2~3μm の骨髄液成分からなる層が存在する可能性が考えられた．

さらに，FT-IR 分析から，SEM で認められたレジン表面の層はタンパク質を含む骨髄液中の成分と推測された．本研究においては試料を骨髄液に浸漬後，20 分間の超音波洗浄を行っているが，骨髄液中硬化群では試料表面の骨髄成分が超音波洗浄で除去できない強さで付着していると考えられた．

本研究により， 4-META/MMA-TBB レジンを骨髄液中で硬化させると，新生骨に対する親和性が高まる可能性が示された．

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なされた．

主な質問事項は，

（1）組織標本に認められたレジン上の多核巨細胞の出現について

（2）臨床応用する際のレジン上に形成される組織について

（3）試料縦断面のタンパク質の局在に関するさらに詳細な分析について

（4）その他の表面分析の有用性について

（5）今後のスーパーボンドの臨床への応用，展望について

これらの質問に対して，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 4-META/MMA-TBB レジンを骨髄液中で硬化させると，新生骨に対する親和性が高まる可能性を示し，臨床での歯の保存治療法を今後さらに発展させる知見を得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に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）の学位を授与するに値するものと認めた．