

論文の内容の要旨

氏名：鈴木 裕 介

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：*In vitro* and *in vivo* characteristics of fluorapatite-forming calcium phosphate cement with calcium silicate for endodontic applications

（歯内療法への応用を考えたケイ酸カルシウム添加フルオロアパタイト形成性リン酸カルシウムセメントの *in vitro* および *in vivo* 評価）

歯内療法領域で使用されるセメント材料の所要性質として、辺縁封鎖性、生体親和性、構造的安定性および操作性などが挙げられる。これまでに酸化亜鉛ユージノールセメント、水酸化カルシウム製剤、ガラスイオノマーセメントおよび接着性コンポジットレジンなどが、症例によって適宜選択使用されてきた。しかしながら、これらの材料はすべての所要性質を満たすとはいえないのが現状である。

近年、カルシウムを含む無機質複合物の mineral trioxide aggregate (MTA) が歯内治療用セメントとして有用であると報告されている。MTA は、色素浸透試験や細菌漏洩試験において、これまでの材料と比較して封鎖性が有意に高く、近接した組織の炎症反応も顕著に低いことが示されており、硬組織形成を促す生物学的作用も確認されている。その適応範囲も逆根管充填、穿孔封鎖、直接覆髄および根未完成歯の根管充填など多岐にわたっている。しかしながら、硬化時間が3~4時間と長いため充填初期段階での封鎖性や根管への充填操作などの問題が指摘されており、さらなる理想的な材料の開発が望まれている。

リン酸カルシウムセメント (calcium phosphate cement ; CPC) は、無水リン酸二カルシウム (dicalcium phosphate anhydrous ; DCPA) とリン酸四カルシウム (tetracalcium phosphate ; TTCP) や炭酸カルシウム (calcium carbonate ; CaCO₃) などの組合せで構成され、水分の介在により最終産物がハイドロキシアパタイトになる自己硬化性リン酸カルシウムである。CPC は高い生体親和性と骨伝導性を有し、骨補填材として形成外科領域ではすでに臨床応用されており、成分の配合を変化させると結晶構造も変化するという特徴を有している。

そこで著者は、MTA に代わる歯内療法用セメントとしての CPC の可能性に着目し、新たな成分の配合から成る歯内療法用 CPC を試作した。すなわち、フッ化ナトリウム (sodium fluoride ; NaF) を CPC に加えて最終産物が非吸収性、生体親和性および化学的安定性を有したフルオロアパタイト (fluorapatite ; FA) になる FA-forming CPC に MTA の主成分で硬組織形成に重要なアルカリ環境の維持や封鎖性に関与するケイ酸カルシウム (tricalcium silicate ; TCS) を加えた FA-forming CPC with TCS を調製した。本研究では、FA-forming CPC with TCS の理工学的特性および生体親和性について *in vitro* および *in vivo* レベルで検討した。

本研究の第1章では、DCPA, CaCO₃, NaF から成る FA-forming CPC に TCS を 10 mass% 添加した FA-forming CPC with TCS を試作し、1.5 M リン酸ナトリウム溶液 (pH 5.6) で練和して理工学的特性を評価した。評価項目は硬化時間 (setting time ; ST), ダイアメトラル引張強さ (diametral tensile strength ; DTS), X線回折法 (X-ray diffraction ; XRD) による成分分析およびセメント浸漬溶液の pH 測定とした。ST はギルモア針 (453.5 g) を用いて、試験片に針跡がつかなくなるまでの時間とした。DTS は直径 6 mm, 厚さ 3 mm の円板状試料を用い、クロスヘッド速度 10 mm/min で測定した。XRD では、DTS に使用した試料を細かく粉砕し、垂直マウントのディフラクションシステム (DMAX 2000, Rigaku) を用い、40 kV, 40 mA で照射した CuK_α線によって得られる XRD パターンを計測した。pH 測定は粉砕した試料を 30 mM KCl 溶液に浸漬し、攪拌中の溶液 pH を測定した。さらに、ラット背部皮下組織内に FA-forming CPC with TCS を填入したポリエチレンチューブを埋入し、*in vivo* における生体親和性についてチューブ断端の組織反応を病理組織学的に MTA と比較検討した。

その結果、FA-forming CPC with TCS の ST および DTS は、それぞれ 10.3 ± 0.6 分、 3.89 ± 0.76 MPa であり、TCS を添加しなかった FA-forming CPC と比較して有意な ST の短縮と DTS の向上が認められた。また、FA-forming CPC with TCS 硬化後の XRD では、高い結晶性を有する FA の形成が示された。FA-forming CPC with TCS の pH は MTA よりも低かったが、pH 11.0 の高いアルカリ性であり、TCS を添加しなかった FA-forming CPC と比較して高い値であった。ラット皮下組織を用いた生体親和性試験では、FA-forming CPC with TCS の組織反応は MTA と有意差は認められず、高い生体親和性を確認した。これらのことから、FA-forming CPC with TCS は歯内療法用セメントとして望ましい理工学的特性および MTA と同程度の生体親和性を示すことが明らかになった。

そこで第 2 章では、FA-forming CPC with TCS の骨芽細胞に対する影響を MTA と比較検討した。骨芽細胞は、ラット骨肉腫由来の株化骨芽細胞 (ROS 17/2.8 細胞) を用い、24 穴の cell culture insert plate の lower chamber に ROS 17/2.8 細胞 (2.0×10^4 cells), upper chamber に直径 3 mm, 厚さ 0.5 mm の形状で硬化させた FA-forming CPC with TCS または MTA を静置して 9 日間培養した。一定期間培養後、細胞数の測定および光学顕微鏡下で細胞形態の観察を行った。さらに、基質としてパラニトロフェニルリン酸を利用した比色法によってアルカリホスファターゼ (ALPase) 活性を測定した。

その結果、細胞増殖、細胞形態および ALPase 活性において、FA-forming CPC with TCS と MTA 間に有意差は認められず、FA-forming CPC with TCS の骨芽細胞に対する影響は、MTA と同程度であることが明らかとなった。

第 1 章および第 2 章の結果から、FA-forming CPC with TCS は MTA と比較して硬化時間が短く、その他の理工学的特性も TCS の添加によって歯内療法用セメントとして望ましい方向へ変化したものと考えられた。さらに、*in vivo* の動物実験および *in vitro* の細胞培養実験でも MTA と同程度の高い生体親和性を有するものと推察された。以上のことから FA-forming CPC with TCS は、新たな歯内療法用セメントとしての有用性が示唆された。