

論文の内容の要旨

氏名：西 原 安 那

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：デュアルキュア型覆髄剤におけるデンティンブリッジ形成能および osteocalcin 産生誘導能

Mineral trioxide aggregate (MTA)は、直接覆髄法に用いられる bioactive dental material (BDM)の代表的な材料であり、象牙質形成を誘導するとされている。しかし、硬化に長い時間を要し、そのために十分な封鎖性が得られないなどの欠点が指摘されている。今日までに MTA の問題点を克服するべく、多くの関連材料が開発されてきた。本研究では MTA である ProRoot MTA, TheraCal PT, NEX MTA セメントおよびエンドセム MTA premixed の硬組織形成誘導能の差異について検討した。

Wistar 系雄性ラット（6-7 週齢）上顎第一臼歯近心小窩付近に、直径約 0.7 mm の露髄面を有する窩洞を形成し、各種覆髄剤を貼付後、スーパーボンドで封鎖した。処置後 1 週、2 週および 4 週で灌流固定を行い、第一臼歯を含む上顎骨のパラフィン切片を作製した。ヘマトキシリン・エオジン染色によってデンティンブリッジの形成について組織学的に観察した。また、処置後 4 週の切片を用いて抗 osteocalcin (OC) 抗体による免疫染色を行い観察した。ProRoot MTA と TheraCal PT をマウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞 MC3T3-E1 に 72 時間作用させ、OC 産生について免疫組織学的に検討した。

各種覆髄剤の貼付 1 週後にすべての覆髄剤で、貼付部位に一致して歯髄腔内に石灰化物形成が認められた。貼付 2 週間からは、石灰化物内に線維様の構造物が出現するとともに、石灰化物の量が増加した。貼付 4 週間には、細管構造の明瞭なデンティンブリッジの形成が確認された。これらの変化については、材料間で差は認められなかった。貼付 4 週間におけるデンティンブリッジ周辺の象牙芽細胞様細胞の集積について免疫組織学的に検討した。TheraCal PT では形成されたデンティンブリッジの周囲に抗 OC 抗体に対して陽性反応が認められた。しかし、明瞭な陽性反応を示す細胞構造は確認することができなかった。一方、覆髄剤の貼付を行わなかった露髄面には、抗 OC 抗体の陽性反応は確認されなかった。MC3T3-E1 細胞における OC の産生について検索したところ、コントロールと比較して TheraCal PT では顕著に OC の産生が上昇していることが確認された。一方、ProRoot MTA では、TheraCal PT と比較して OC の産生は微弱であった。

本研究で用いた 4 種類の覆髄剤は、いずれも同程度のデンティンブリッジ形成誘導能を有することが判明した。また MC3T3-E1 細胞を用いた実験から TheraCal PT は ProRoot MTA に比較して OC 産生が顕著に認められた。

本研究においては、硬組織産生誘導の指標として OC を用いた。OC は、骨芽細胞により産生分泌される 5.6 kDa のタンパク質であり、様々な生体活性を有する。象牙芽細胞のマーカー分子としては Lim homeobox protein 6 の存在が知られているが、OC は象牙芽細胞でも強い発現が確認されており、象牙質基質産生を促進するものと考えられる。そこで本研究では OC について免疫組織学的に検討した。その結果、TheraCal PT による 24 時間培養後の培養細胞間質に極めて強い反応が観察され、これは硬組織形成が誘導された結果、基質内に OC が蓄積したためと考えられた。

本研究では、ProRoot MTA に比較して、TheraCal PT でより強い OC 誘導能が確認された。デュアルキュアによって硬化する TheraCal PT は、その組成としてレジンモノマーを含有しており、Ca²⁺などのイオンの持続的な徐放性が ProRoot MTA と比較して低いものと考えられる。本研究の予備実験では、ProRoot MTA を未硬化の状態、また TheraCal PT は光照射直後に MC3T3-E1 細胞に作用させたが、この条件では培養 24 時間後には、ほぼすべての細胞が死滅した。そこで、本研究では完全に硬化させた後に細胞に作用させたことが TheraCal PT からの適度な Ca²⁺イオンなどの徐放につながった可能性が考えられた。OC 遺伝子の発現は転写因子 runt-related transcription factor 2 により調節されているため、TheraCal PT による OC 産生増強が転写レベルで調節されているのかについても今後さらに検討する必要があると考えられた。

以上のことから、本研究で用いた覆髄剤はいずれもほぼ同程度のデンティンブリッジ形成能を有することが明らかとなった。また、in vivo 実験および MC3T3-E1 細胞を用いた実験から TheraCal PT は

ProRoot MTA と比較して OC 産生が顕著であり OC は細胞外基質に蓄積することが明らかとなった。