

## 感染歯髄組織に対する MTA 直接覆髄処置後の デンティンブリッジ形成機序の解明

武藤 徳子

神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔統合医療学講座・准教授

Noriko MUTOH

Department of Oral Interdisciplinary Medicine Division of Pulp Biology Graduate School of Dentistry,  
Kanagawa Dental University

### Abstract

This study carried out direct pulp capping with mineral trioxide aggregate (MTA) to clarify the healing mechanisms in the infected dental pulp, and analysed the relation between stem cells and calcification. The experimental infection pulp model exposed to the oral environment after preparing the drilled cavity in the mouse molar and the non-infected model without remaining exposed after operation were sealed with MTA or calcium hydroxide cement (CH) in addition to glass ionomer cement (GI) as a control. Pulpal healing process was analyzed by hematoxylin-eosin staining and immunohistochemistry in the paraffin sections. The MTA group showed good healing process compared with the CH group. These findings showed MTA is useful as a substance for activating biofunction for infected dental pulp. However, the validity of the current experimental design remains to be verified in terms of the infection period, since the infected dental pulp was healed even in the GI group.

### 緒 言

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は、逆根管充填、直接覆髄・断髄、穿孔封鎖など様々な用途に臨床応用され、良好な封鎖性、抗菌性、生体適合性、硬組織誘導能を有することが報告<sup>1)</sup>されており、これまで覆髄材として一般的に使用されている水酸化カルシウム製剤に代わる生体機能性材料として注目されている。しかし、MTA は水酸化カルシウム製剤と比較して抗菌性は低いという報告<sup>2)</sup>もある。一方、MTA 覆髄後のデンティンブリッジ形成機構も未だ不明な点が多い。象牙芽細胞が象牙質をつくる際に、既存象牙質と修復象牙質の境界にオステオポンチン (OPN: 非コラーゲン性タンパク質) が沈着する報告が示されている<sup>3)</sup>。ラットを用いて MTA 直接覆髄後のデンティンブリッジ形成過程を検索した研究<sup>4)</sup>では、術後 1 日後に壊死層直下に OPN の沈着が起こり、術後 5 日

にネスチン陽性の象牙芽細胞様細胞の分化と象牙質形成が起こることが示されているが、デンティンブリッジ形成過程における OPN の機能的な役割は明らかになっていない。また、最近の研究で、MTA が根尖部歯髄幹細胞 (SCAP) の分化能を促進するという報告<sup>5)</sup>があり、すでに根尖性歯周炎を伴う幼弱永久歯に対する新しい治療法として提案されている<sup>6)</sup>が、感染歯髄に対する MTA の治療効果を科学的に検証した研究報告はない。従って、直接覆髄後の感染歯髄治療過程において、MTA の効果を水酸化カルシウム製剤と比較することで、歯髄幹細胞/前駆細胞の分化能促進への影響とデンティンブリッジ形成過程における OPN の機能を明らかにすることが可能になると考えた。さらに、本研究結果は MTA の臨床適応範囲を客観的に評価可能歯髄の治療メカニズムを解明することが可能になる考え、本研究計画の立案に至った。

## 実験材料および方法

### 1. 実験動物

6 週齢 ICR マウス (雌) を用い、セボフレンによる吸入麻酔後、抱水クロラールを腹腔内に投与して全身麻酔を施し、エアタービンにて両側上顎第一臼歯咬合面に 1 級窩洞を形成後、ラウンドバーを使用して可及的に無圧下で髓腔に穿孔した。歯科用実体顕微鏡にて露髄を確認後、24 時間口腔内環境に暴露させ、歯髄感染モデルとし、露髄後即時に覆髄処置を行う歯髄非感染モデルをそれぞれ作製した。歯髄感染モデルでは、上記と同様の全身麻酔下にて、窩洞内の切削片および食片残渣を除去・洗浄後、MTA、水酸化カルシウム製剤を露髄面に貼薬後、グラスアイオノマーセメント (GI) にて仮封した。歯髄非感染モデルは、窩洞形成直後、口腔内環境への暴露は行わず GI にて仮封を行った。対象群は、GI で仮封のみを行った。

### 2. 免疫組織化学的染色

術後 1, 2 週間後にセボフレンによる吸入麻酔後、抱水クロラールを腹腔内に投与してさらに全身麻酔を施し、4%パラホルムアルデヒド液を用いて、灌流固定した。その後、被験歯を顎骨ごと摘出して同様の固定液にて 4℃で 24 時間浸漬固定し、さらに 4% EDTA にて脱灰後、通法に従って、厚さ 4 $\mu$ m のパラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色による組織学的観察を行った。さらに、象牙芽細胞のマーカーとして抗 Nestin 抗体、抗 OPN 抗体を、細胞増殖活性を示す抗 Ki67 抗体による免疫組織化学、さらに TUNEL 法にて歯髄組織内の細胞のアポトーシスを解析した。

## 結 果

### 1. 歯髄感染モデル

MTA では、露髄面直下歯髄組織の炎症が軽度であるが、水酸化カルシウム製剤群、GI 群では歯冠部歯髄の強い炎症性細胞浸潤が認められた。Nestin 染色においては MTA 群では術後 1 週間後より髓床底から歯根において陽性所見が認められ、術後 2 週間後も同様の所見が認められた。水酸化カルシウム群、GI 群では術後 1 週間で歯根下部 1/2 に Nestin 陽性細胞を認めた。TUNEL 染色においては MTA 群では術後 1 週間において歯髄組織内に陽性細胞が認められたが、術後 2 週間後では陽性所見は認められなかった。水酸化カルシウム製剤群では術後 1 週間において露髄面周囲歯髄組織に多くの陽性細胞が認められ、術後 2 週間後には歯冠から歯根にその範囲が拡大していた。GI 群は術後 1 週、2 週間ともに歯冠部歯根部歯髄組織

内に多数の陽性所見が認められた。上記の結果より、MTA 群では水酸化カルシウム製剤群に比べ歯髄へのダメージが限定的で歯冠部歯髄組織が治癒するのに対し、水酸化カルシウム製剤、GI 群では歯冠部歯髄の広範囲に壊死層が認められた。

### 2. 歯髄非感染モデル

術後 1 週間後、MTA 群は、露髄面直下から歯冠部歯髄腔の範囲に限局して炎症性細胞浸潤が認められた。水酸化カルシウム製剤群では、歯冠部歯髄組織にやや強い炎症性細胞浸潤が認められた。GI 群では、炎症性細胞の浸潤及び血管の拡張が見られた。Nestin 陽性細胞は、MTA 群には窩洞直下に近接した髓床底にすでに局在しているが、水酸化カルシウム製剤、GI 両群による覆髄では、歯根部で陽性所見が見られた。

術後 2 週間後においては MTA 群で歯冠部に Nestin 陽性細胞が認められ、歯髄治癒傾向が認められたが、水酸化カルシウム製剤、GI 群では、Nestin 陽性細胞の局在が歯冠部に認められず、Nestin 陽性所見は歯根尖 1/2 に認められ、術後 1 週間後より後退していることから治癒遅延傾向が認められた。

## まとめと展望

MTA は、セメント芽細胞<sup>7)</sup>、象牙芽細胞<sup>8)</sup>、および骨芽細胞<sup>9)</sup> に対して石灰化促進作用を有することがそれぞれ報告されている。MTA による直接覆髄が感染歯髄に対しても有効か、感染歯髄への MTA 直接覆髄実験を行い、幹細胞の局在と動態を解析した結果、水酸化カルシウム製剤群、対照群は、歯髄の炎症は持続傾向であったが、MTA 覆髄時の感染歯髄は炎症消退傾向を示し、さらに硬組織形成傾向が認められた。MTA 硬化体は水中に浸漬するとカルシウムイオンが溶出し、溶液中 pH が 12 程度にて維持されることから、安定した水酸化カルシウムの徐放効果が報告されている<sup>10)</sup>。

MTA は、感染を伴う直接覆髄に用いる生体機能的材料としても有用であることが示唆され、水酸化カルシウム製剤群と比較し治癒経過は良好であった。MTA と水酸化カルシウムは、抗菌効果等においても同様の特徴を有している<sup>11)</sup>。両覆髄材料の硬組織形成能に差は認められないが、機械的特性は異なっている。すなわち、MTA は水酸化カルシウムと比較して溶解性が低く、機械的強度が高く、象牙質への辺縁封鎖性に優れている<sup>12)</sup>。さらに MTA は、水硬性で吸湿性材料のため、血液や組織液が存在すれば、硬化促進効果により機械的安定性を増強することが可能である<sup>10)</sup>。可逆性(漿液性)歯髄炎の組織中は浸出液が多く、pH の変化を誘導することで、炎症の消退と硬組織形

成の促進の両方が期待出来ると考えられる。

以上の結果より、感染歯髄組織に対する直接覆髄にMTAを使用することは、極めて有用であることが示された。

### 結 論

MTAは、感染歯髄においても直接覆髄材料として臨床的に有用であることが示された。

### 謝 辞

本研究の一部は、平成27-29年度科学研究費補助金基盤研究(C)ならびに神奈川歯科大学学会平成30年度宿題報告の補助により行われた。

### 文 献

1. Torabinejad M, Chivian N Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* **25**(3): 197-205, 1999.
2. Estrela C1, Bammann LL, Estrela CR, *et al.* Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. *Braz Dent J* **11**(1): 3-9, 2000.
3. Saito K1, Nakatomi M, Ida-Yonemochi H, *et al.* The expression of GM-CSF and osteopontin in immunocompetent cells precedes the odontoblast differentiation following allogenic toothtransplantation in mice. *J Histochem Cytochem* **59**(5): 518-29, 2011.
4. Kuratate M, Yoshiba K, Shigetani Y, *et al.* Immunohistochemical analysis of nestin, osteopontin, and proliferating cells in the reparative process of exposed dental pulp capped with mineral trioxide aggregate. *J Endod* **34**(8): 970-974, 2008.
5. Yan M, Wu J, Yu Y, *et al.* Mineral trioxide aggregate promotes the odonto/osteogenic differentiation and dentinogenesis of stem cells from apical papilla via nuclear factor kappa B signaling pathway. *J Endod* **40**(5): 640-647, 2014.
6. Banchs F1, Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J Endod* **30**(4): 196-200, 2004.
7. Oviir T, Pagoria D, Ibarra G, *et al.* Effects of gray and white mineral trioxide aggregate on the proliferation of oral keratinocytes and cementoblasts. *J Endod* **32**(3): 210-3, 2006.
8. Nakayama A1, Ogiso B, Tanabe N, *et al.* Behaviour of bone marrow osteoblast-like cells on mineral trioxide aggregate: morphology and expression of type I collagen and bone-related protein mRNAs. *Int Endo J* **38**(4): 203-10, 2005.
9. Tani-Ishii N, Hamada N, Watanabe K, *et al.* Expression of bone extracellular matrix proteins on osteoblast cells in the presence of mineral trioxide. *J Endod* **33**(7): 836-9, 2007.
10. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, *et al.* Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* **21**(7): 349-53 1995.
11. Al-Hezaimi K, Al-Hamdan K, Naghshbandi J, *et al.* Effect of White-colored mineral trioxide aggregate in different concentrations on *Candida albicans* in vitro. *J Endod* **31**(9): 684-6, 2005.
12. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, *et al.* Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* **31**(2): 97-100, 2005.