

試作水酸化カルシウム系糊剤根管充填材に対する組織反応

清水 貴子^{1,2}, 落合 隆永¹, 栗原 三郎², 長谷川博雅^{1,3}, 川上 敏行^{1,4}

¹松本歯科大学大学院 硬組織疾患病態解析学

²松本歯科大学 歯科矯正学講座

³松本歯科大学 口腔病理学講座

⁴松本歯科大学 総合歯科医学研究所 硬組織疾患病態解析学

Tissue reaction to a calcium hydroxide paste developed for root canal filling

TAKAKO SHIMIZU^{1,2}, TAKANAGA OCHIAI¹, SABURO KURIHARA²,
HIROMASA HASEGAWA^{1,3} and TOSHIYUKI KAWAKAMI^{1,4}

¹Hard Tissue Pathology Unit, Matsumoto Dental University Graduate School

²Department of Orthodontics, Matsumoto Dental University School of Dentistry

³Department of Oral Pathology, Matsumoto Dental University School of Dentistry

⁴Hard Tissue Pathology Unit, Matsumoto Dental University Institute for Oral Science

Summary

The aim of this study was the histopathological evaluation of the subcutaneous tissue reaction to a newly developed root canal filling material (HP paste). We injected HP paste and a control paste using a calcium hydroxide/water mixed paste as a control subcutaneously into the dorsal area of 6-week-old anesthetized male ddY mice. Two days, 1 week, 3 and 12 weeks after injection, the tissue surrounding the injection sites was removed from mice in each group and examined. We found necrotic and degeneration changes due to the pastes, as well as foreign body reactions or granulation tissue proliferation in each group, until 3 weeks after injection. No inflammatory cell infiltration was observed in the experimental group, although there was some in the control group in the 12-week specimens. In conclusion, our data leads us to believe the HP paste is safely usable as a root canal filling material.

緒 言

著者らは先に、既存の水酸化カルシウム系糊剤根管充填材5種をマウスの背部皮下組織内に埋入し、その後の埋入局所における組織反応について病理組織学検討を行い報告した⁶⁾。すなわち検索

した何れもほぼ同様の組織反応を示していることを再確認した。そこで今回は、根管充填材として開発された試作糊剤につき、同様にマウスを用いて皮下組織内埋入後の局所での組織反応を病理組織学的に検討した。

材料と方法

被検材料は、ネオ製薬工業株式会社より提供された試作根管充填材 HP で、対照としては古くから使用されている水酸化カルシウム/水練和物を用いた。なお両者の処方を表1に示す。

実験方法は先の報告とほぼ同様である。すなわち、実験動物は、ddY系マウス(5週齢, ♂)で、1週間の観察飼育を行った後、健康状態に異常のないことを確認したものである。埋入期間は2日、1週、3週、および12週とした。各群、各期間別の例数を表2に示す。エーテルの吸入による全身麻酔下に正中をはさみ、左右の背部の2ヶ所皮膚にピクリン酸飽和エタノールで目印(大きな×印)を付けた。各検体は埋入部から約10mm離れた部より25Gの注射針により、目印部の直下皮下組織内に夫々10μlを注入した。なお傷口は外科用瞬間接着剤(三共社製「アロンアルファ」)を塗布処理した。ピクリン酸によるマーキングは、その経時的な消失を防ぐ為に約2週毎に繰り返して行った。各実験期間経過後、埋入部を周囲組織と共に一塊として摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定、通法に従いパラフィン包埋切片を作製し、ヘマトキシリン-エオシン(HE)染色を施し、病理組織学的に評価した。なお本実験は、松本歯科大学動物実験指針に則って行われた。

表1: 被検材料とその成分

検体名	成分
試作糊剤 HP	水酸化カルシウム50% マクロゴール400 その他
対照糊剤	水酸化カルシウム50% 精製水

表2: 期間別の例数

実験期間	2日	1週	3週	12週	計
試作糊剤 HP	5	5	5	4	19
対照糊剤	5	5	5	4	19

結 果

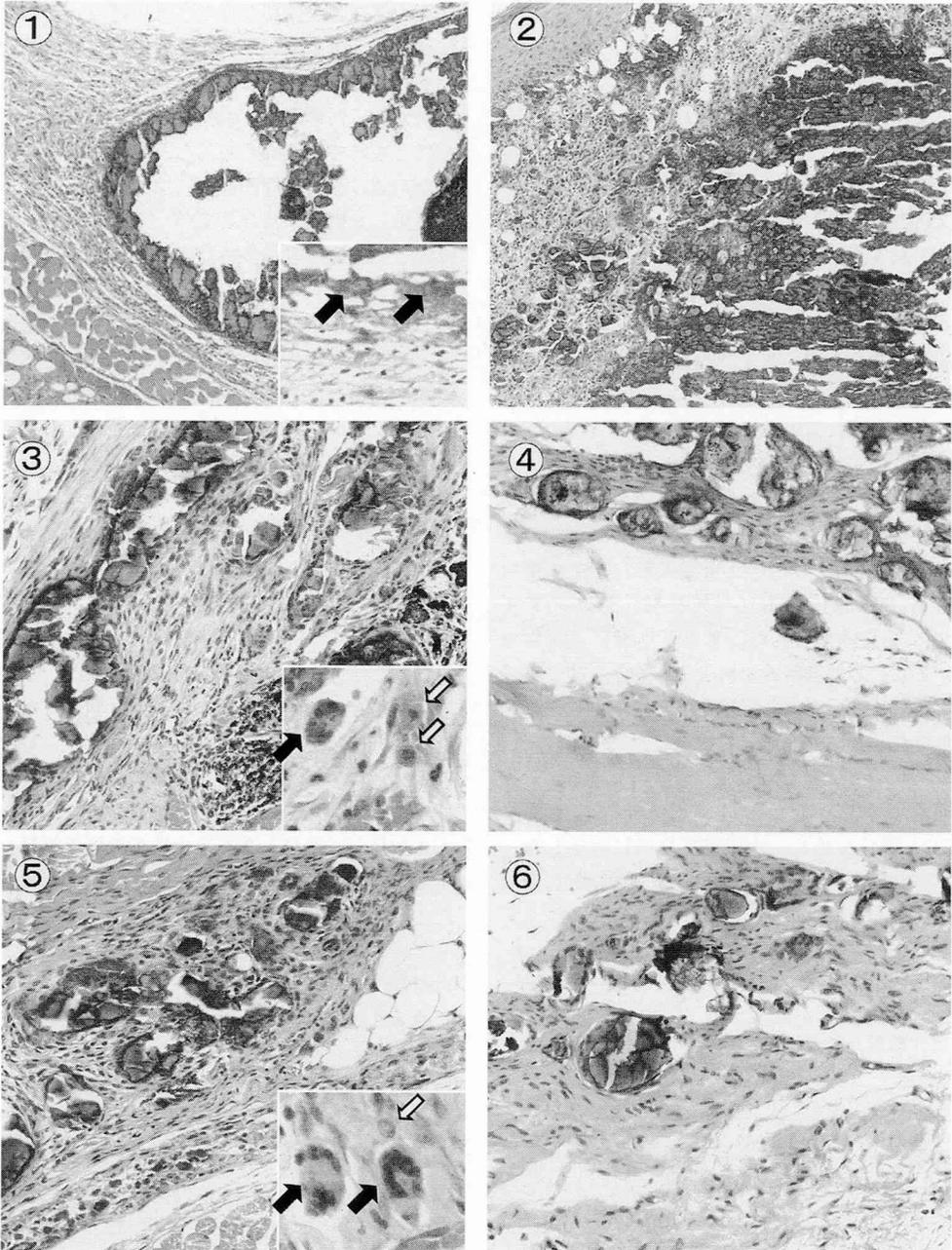
実験群:

背部皮下組織内の埋入部には、2日例ではほぼ

一塊の構造物が確認された。塊状物の一部は標本作製時に流失していたが、残存部分では比較的ヘマトキシリンに濃染した小塊状構造の集合として観察され、同構造物には褐色の微細顆粒状物が均一に含まれている部もあった。標本作製時に失われた空隙に面した周囲部分には、帯状にエオシンに濃染した構造物が集合していた。その周囲組織には若干の細胞成分の豊富な肉芽組織が被膜状に形成されていた。しかし、同部には著しい炎症性変化は認められなかった(図1)。埋入後1週では、塊状構造物周囲は細胞成分の多い肉芽組織の増殖からなり、その境界部はその帯状構造が乱れると共に被薄化しかつ不規則化している部もみられた(図2)。同部には多くのマクロファージがあり、多核の巨細胞も出現していた。埋入3週後では、当該部の増殖した肉芽組織によって塊状構造物は分断化され、一部では小塊状となっていた(図3)。同部に散在する状態となった塊状構造物はヘマトキシリンに濃染する小塊状の構造物や黒褐色を呈する細顆粒状の構造物などとして観察された。なお、この時期には多核巨細胞はわずかになっており、炎症性細胞浸潤も減少していた。埋入12週後では、増殖した肉芽組織から完全に炎症細胞は消退していた(図4)。すなわち、ヘマトキシリンに濃染した不定形塊状の構造物は小塊状に分断され、その周囲は線維性組織となっていた。

対照群:

埋入2日例では、埋入部は大きな空隙として観察されその周辺部にエオシンに染色された顆粒状構造の帯状の配列があった。同部の外周部には炎症性細胞浸潤の多い肉芽組織が帯状に増殖していた。その1週例のものでもほぼ同様な所見であった。すなわち、ヘマトキシリンに濃染した構造物を取り囲み細胞成分の多い肉芽組織の増生があった。埋入3週例では、埋入部は細胞成分の極めて多い肉芽組織の増殖となっており炎症性変化が認められ、さらにはマクロファージや多核の異物巨細胞が多数浸潤していた(図5)。埋入12週後ではヘマトキシリン濃染の塊状構造物はさらに小塊状になり、その周囲は炎症性変化に乏しい線維化した肉芽組織であった(図6)。



- 図1：塊状物の周囲組織には細胞成分の豊富な肉芽組織が被膜状に形成されている（実験群，2日：×50）．右下の挿図に壊死層（矢印）の拡大像を示す（×100）．
- 図2：塊状構造物周囲には細胞成分の多い肉芽組織の増殖がみられ，多核巨細胞の浸潤もある（実験群，1週：×50）．
- 図3：増殖した肉芽組織によって塊状構造物は分断化され，炎症性細胞浸潤は減少している（実験群，3週：×100）．右下の挿図に異物巨細胞（矢印）とマクロファージ（白矢印）の拡大像を示す（×200）．
- 図4：肉芽組織から完全に炎症細胞は消退している（実験群，12週：×100）．
- 図5：埋入部には，肉芽組織の増殖が認められる（対照群，3週：×100）．右下の挿図に異物巨細胞（矢印）とマクロファージ（白矢印）の拡大像を示す（×200）．
- 図6：炎症性変化に乏しい肉芽組織の間にある塊状構造物はさらに小塊状になっている（対照群，12週：×100）．

考 察

今回著者らは、ネオ製薬工業株式会社が新しくプレミックスタイプの糊剤根管充填材として開発した、水酸化カルシウム系糊剤根管充填材 HP を検体として、マウスの皮下組織内に埋入した場合の組織反応を検討した。本論の考察に入る前に、まず試験系について検証する。対照検体の選定に先立ち、本検体の臨床上の使用目的を考慮し、同様に水酸化カルシウム系の糊剤根管充填材料として使用されているもの5種について、マウスを用いての3週までの短期間の皮下組織内埋入試験を行い報告した⁹⁾。その結果、埋入部には一層の壊死層が形成され、その周囲にはマクロファージなどの細胞成分に富む肉芽組織の増殖が起こるが、周囲組織に対しては大きな為害作用を及ぼさない事が再確認された。この結果により、今回の皮下埋入試験においては、これら5種のうち、最も古くから使われている“水酸化カルシウム/水練和物”を対照糊剤として用いた。この選択は、本実験の趣旨に鑑み射たものと考えられる。なお、設定した実験期間の2日、1週、3週、および12週、また検体埋入部位を周囲組織と共に一塊として摘出しての病理組織学的観察方法などを含めて、本実験は、ISO 10993-6:1994 (Biological Evaluation of Medical Devices; Part 6. Test for Local Effects after Implantation) の短期埋入試験に準拠しており極めて当を得た実験系と考えられる。

次に今回の結果について若干の考察を加えた。今回行った実験に類するものは古くから最近に至るまで数多く行われている^{1,3,5,7)}。その結果は、先にも記載した通り水酸化カルシウムを組織内に埋入すると、一層の壊死層が形成されるが、大きな為害作用を起こさないとされる。なお、同部には、これを歯髄に応用すると“Dentin Bridge”の形成が為されることは衆知の事実であるが、同様に軟組織内においても異所性の石灰化が引き起こされるので、それに対する詳細な研究も多く為されている^{2,4,9)}。今回の実験結果もこれらの報告とほぼ同様であった。すなわち、被検糊剤 HP の埋入部周囲には一層の壊死層が形成されると共にマクロファージや異物巨細胞などの細胞成分に富む肉芽組織の増殖により、活発に貪食

処理され、周囲組織に対しては大きな為害作用を及ぼさない事が示された。なお、被検糊材 HP の組織為害性は、同じ目的で広く使用されている対照糊剤として用いた水酸化カルシウム/水練和物との比較において、3週までの比較的短期間における組織反応について顕著な相違はみられなかった。しかし、最大期間の12週においては、対照群には未だ若干の炎症性細胞浸潤が認められたが、実験群では、周囲組織に浸潤していた炎症性細胞が完全に消退していた。今回の実験例数 (N) が小さいので、この所見の妥当性は保証されないが、これは、被検糊剤 HP の組織為害性の低いことを示す一所見であろう。

文 献

- 1) 橋口 勇, 前田英史, 和田尚久, 中野嗣久, 中牟田博敬, 赤峰昭文 (1998) 水酸化カルシウム製剤カルシベックスの組織親和性に関する研究. 日歯保誌 41 (春季特別): 44.
- 2) 川上敏行 (1984) シリコーン・オイル加ヨードホルム・水酸化カルシウムパスタの組織内埋入に関する実験的研究-とくにパスタの吸収とパスタによる石灰化について-. 歯科学報 84: 1563-93.
- 3) 川上敏行, 中村千仁, 林 俊子, 枝 重夫, 赤羽章司 (1979) ヨードホルム・水酸化カルシウムパスタ (糊剤根管充填材ビタベックス) の組織埋入に関する実験的研究 第1報 病理組織学的検索. 松本歯学 5: 35-44.
- 4) Kawakami T, Nakamura C, Hasegawa H, Akahane S and Eda S. (1987) Ultrastructural study of initial calcification in the rat subcutaneous tissue elicited by root canal filling material. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 63: 360-5.
- 5) Metin A, Aktoren O and Olgac V (2003) Histopathological evaluation of root canal filling materials. J Dent Res 82(5): B-299.
- 6) 落合隆永, 清水貴子, 栗原三郎, 長谷川博雅, 川上敏行 (2003) 水酸化カルシウム系糊剤根管充填材に対する組織反応. 松本歯学 29: 258-63.
- 7) 山崎泰志, 高橋剛太, 土屋敦子, 土田真美, 滝澤 久 (1997) 水酸化カルシウムペースト ‘カルシベックス®’ の生体組織への影響に関する基礎的研究. 日歯保誌 40 (春季特別): 139.
- 8) 吉羽邦彦 (1988) 水酸化カルシウムによる実験的異所性石灰化に関する微細構造学的研究. 歯基礎誌 30: 306-33.