

水酸化カルシウム系糊剤根管充填材に対する組織反応

落合 隆永¹, 清水 貴子^{1,2}, 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 calcium hydroxide pastes for root canal filling

TAKANAGA OCHIAI¹, TAKAKO SHIMIZU^{1,2}, 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

We injected five kinds of calcium hydroxide pastes subcutaneously into the dorsal area of 6-week-old anesthetized male ddY mice. Two days, 1 week and 3 weeks after injection, the removed tissue surrounding the injection site was examined histopathologically from mice in each group. The following results were observed : necrotic tissue with calcification in some parts, and granulation tissue proliferation including macrophages and foreign body giant cells, in each group. These changes were restricted to the injection sites in all groups, and there was no damage around the tissue. The tissue reactions to the five kinds of examined pastes were nearly the same.

緒 言

水酸化カルシウムは古くから根管充填材として応用されており、その臨床上の有用性が確認されている。近年根管充填、根管貼薬を目的とするプレミックスタイプの糊剤根管充填材が広く使用されているが、これらの水酸化カルシウム含量や基材および添加材等の成分はさまざまである。諸外

国では Metin[®]によって複数の糊剤根管充填材についての比較研究が為されている。しかし、本邦で用いられている糊剤根管充填材については、個々の研究発表は橋口¹⁾、川上²⁾や山崎³⁾によって為されているが、同一条件で複数の糊剤根管充填材の組織反応を調べたものはない。そこで今回一般歯科臨床において広く用いられている既存根管充填材の5種をマウスの皮下組織内に埋入

し、水酸化カルシウム含量や配合成分の違いなどによる組織反応の差を病理組織学的に比較検討した。

材料と方法

被検材料は表1に示した5種である。実験動物としては、ddY系マウス(5週齢, ♂)を日本エスエルシーより購入し、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(埋入時:6週齢)を使用した。これをプラスチック製の飼育容器に10匹ずつを収容し飼育した。飼料はマウス・ラット用の固形飼料ピコラボローデント ダイエット20(日本エスエルシー)を与え、飲料水は水道水を自由に摂取出来るようにした。埋入期間および期間別の例数を表2に示す。埋入に先立ち、エーテルの吸入麻酔による全身麻酔を施し、術台に固定した。背部の手術野を

電気バリカンで剃毛、酒精綿で拭掃した後、正中をはさみ左右2ヶ所の埋入部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。埋入には、10 μ lずつの注入が可能な25Gの注射針を装着したマイクロシリンジを用いた。目印より10mm離れた部位より針を挿入し、目印部直下の皮下組織内に注入した。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。各期間経過後の、実験動物にエーテル吸入による全身麻酔を施した。同マウスから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した。以後は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、病理組織学的に観察した。なお、本研究は、ISO 10993-6:1994 (Biological evaluation of medical devices; Part 6. Test for local effects after implantation)に準拠した皮下埋入試験で、かつ松本歯科大学動物実験指針に則って行われた。

表1:被検材料と成分

検体名	成分
①水酸化カルシウム/水 練和物	水酸化カルシウム 精製水
②カルシベックス® (日本歯科薬品)	水酸化カルシウム 硫酸バリウム プロピレングリコール 精製水
③カルシベックスプレーン® (日本歯科薬品)	水酸化カルシウム プロピレングリコール 精製水
④ビタベックス® (ネオ製薬工業)	水酸化カルシウム ヨードホルム ジメチルポリシロキサン その他
⑤ティーフィックス® (昭和薬品化工)	水酸化カルシウム ヨードホルム ジメチルポリシロキサン その他

表2:期間別の例数

検体材料	実験期間			
	2日	1週	3週	計
①水酸化カルシウム/水 練和物	5	5	5	15
②カルシベックス	5	5	5	15
③カルシベックスプレーン	5	5	5	15
④ビタベックス	5	5	5	15
⑤ティーフィックス	5	5	5	15

結果

① 水酸化カルシウム/水 練和物群:

埋入2日例の標本では、大きな空隙として観察されその周辺部に顆粒状構造を呈する比較的厚い壊死層の帯状の配列があった(図1)。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。その埋入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(図2)。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(図3)、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4)。

② カルシベックス群:

埋入2日例において、当該部にはヘマトキシリンに対する染色性の若干異なる顆粒状ないし無構造物があり、その構造物の概観は不整であった(図5)。その外周部は疎な肉芽組織からなっていた。埋入1週例では、細胞成分の豊富な肉芽組織の増殖によってヘマトキシリンに濃染した不定形物質が小塊状になっていた。同部の肉芽組織の毛細血管は充血しており、炎症性変化も強く認められた。しかし、埋入3週例になると、増殖した肉芽組織内の炎症性変化は穏やかなものになり、

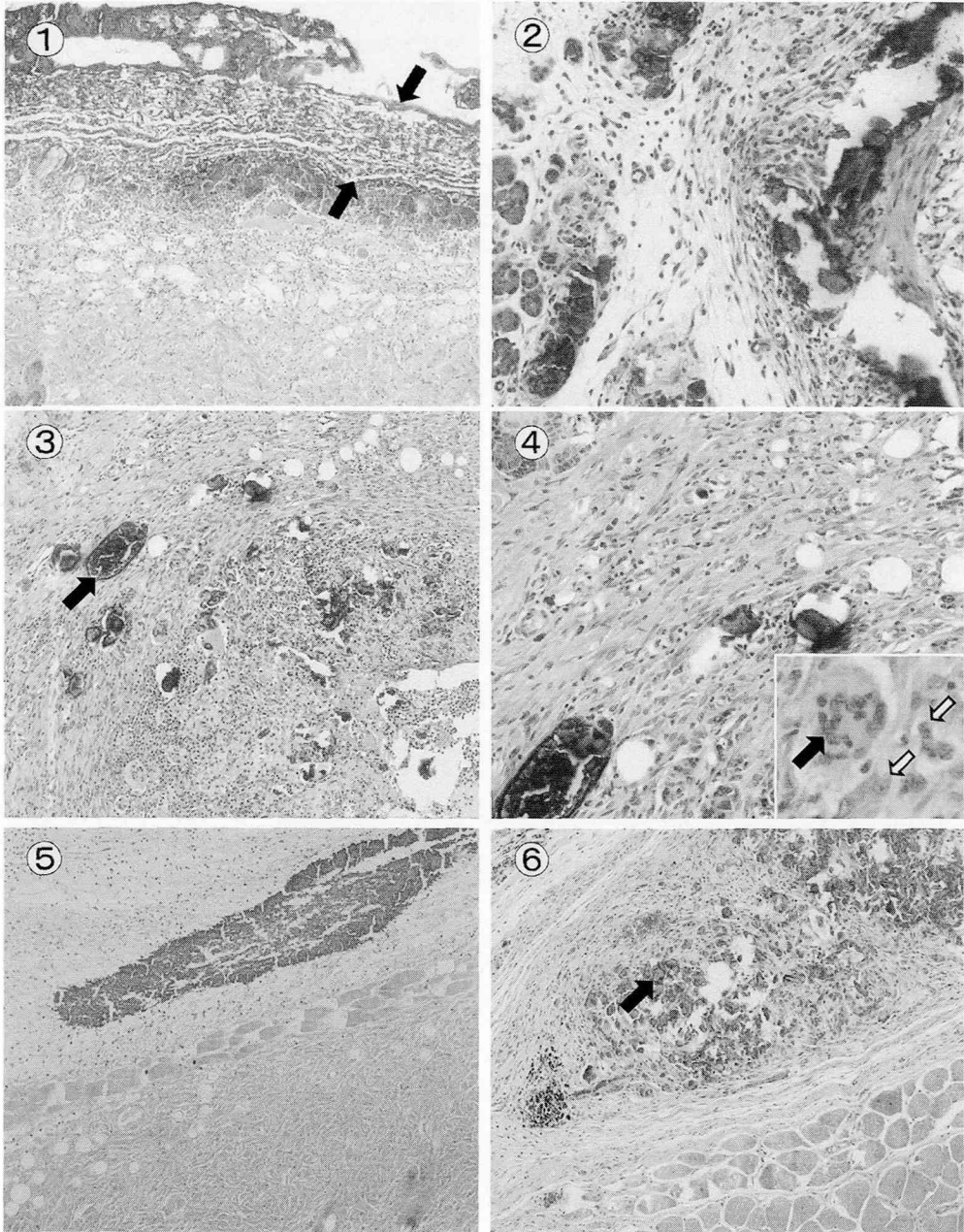


図1：埋入部は大きな空隙となり周囲に顆粒状の比較的厚い壊死層（矢印部），その外周に炎症性細胞の多い肉芽組織の帯状配列がある（①，2日，×50）。

図2：顆粒状構造物の周囲に増殖した肉芽組織（①，1週，×50）。

図3：肉芽組織の増殖とマクロファージ，多核の異物巨細胞の浸潤による石灰化物（矢印）の分割（①，3週，×50）。

図4：図3の一部拡大像．マクロファージ，多核の異物巨細胞の浸潤（①，3週，×100）．右下挿入図：マクロファージ（白矢印），異物巨細胞（矢印）（×200）。

図5：顆粒状ないし無構造物の外周部は疎な肉芽組織により成っている（②，2日，×50）。

図6：異物巨細胞の出現とマクロファージによる貪食による石灰化物（矢印）の分割（②，3週，×50）。

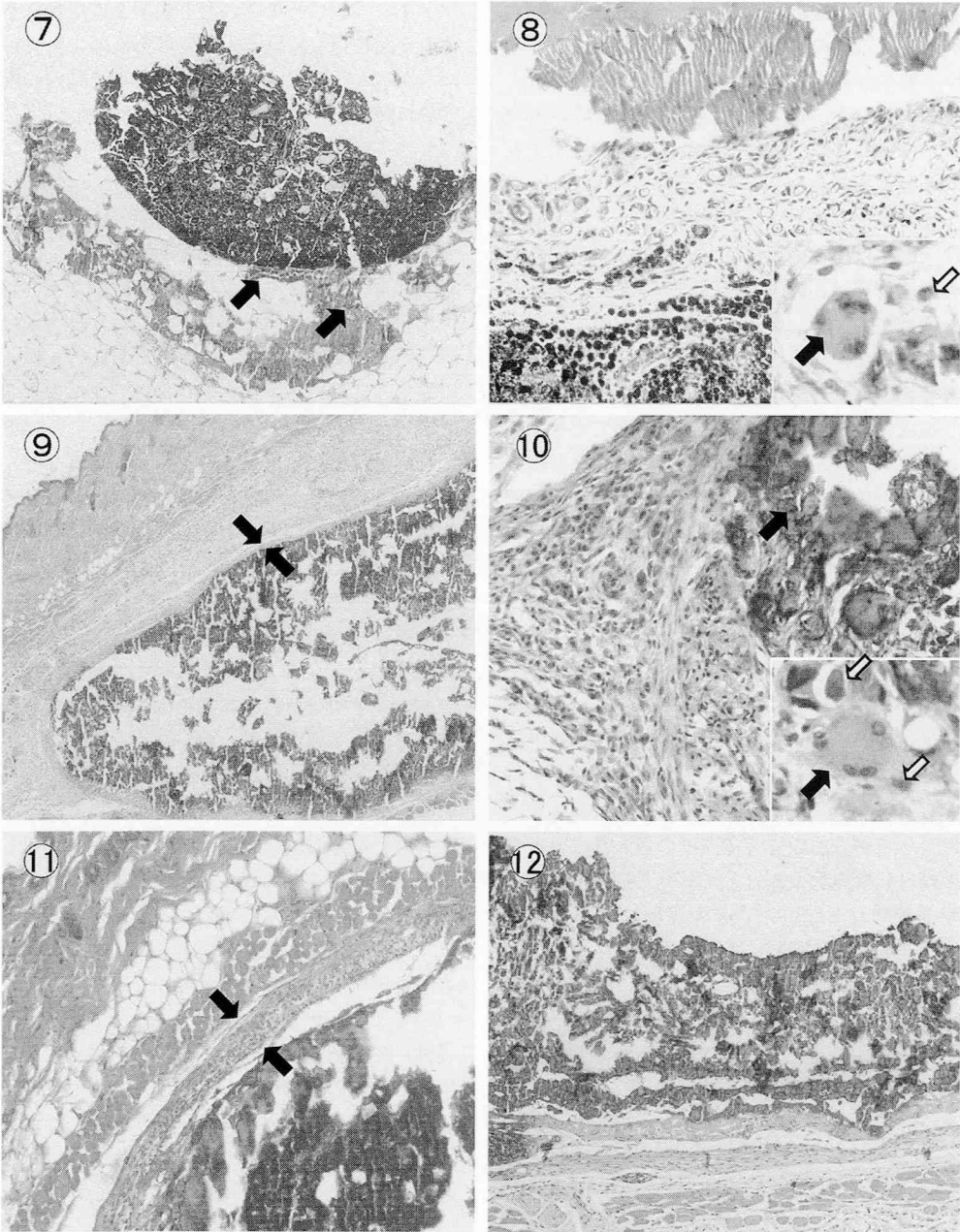


図7：一層の壊死層（矢印）の外周にある脂肪組織には大きな変化はみられない（③，2日，×50）。
 図8：検体材料を食食するマクロファージ（③，3週，×100）。右下挿図：マクロファージ（白矢印），異物巨細胞（矢印）（×200）。
 図9：検体材料の周囲は滑らかで，一層の薄い壊死層（矢印部）により境界されている（④，2日，×10）。
 図10：肉芽組織の増殖と石灰化物（矢印）の分割（④，3週，×100）。右下挿図：マクロファージ（白矢印），異物巨細胞（矢印）（×200）。
 図11：埋入部周囲に一層の薄い壊死層（矢印部）があり，その周囲の増殖した肉芽組織には炎症性細胞が少ない（⑤，2日，×50）。
 図12：肉芽組織内の細胞成分は，減少し線維化している（⑤，3週，×50）。

異物巨細胞も多数出現していた。無定形なヘマトキシリン好染性のあるいは黒褐色顆粒状の構造物はマクロファージ主体の塊状組織内に散在するようになっていた(図6)。さらに浸潤しているマクロファージの胞体内にはこれらの貪食を示すものも多数認められた。

③ カルシベックスブレン群：

埋入部には黒色細顆粒状の構造物の集積がありその周囲外観は比較的不規則であり、それを取り囲む組織があった。埋入2日例では一層の壊死層に続いて疎な肉芽組織の増殖からなっていた。この肉芽組織には若干の炎症性細胞浸潤があった。脂肪組織に接して埋入された部において直接接している部は若干の壊死部(不定形の構造として観察)や著しい炎症性細胞浸潤があるものの、周囲の脂肪組織においては大きな退行性の組織変化がみられなかった(図7)。埋入1週例においては、肉芽組織の増殖があったが、炎症性細胞の浸潤は弱く、線維芽細胞とマクロファージが主体になっていた。埋入3週例では、増殖した肉芽組織内のマクロファージの胞体内には黒褐色の微細顆粒状構造物があり、被検材料の貪食が広い範囲において確認された(図8)。

④ ビタベックス群：

埋入2日例において背部皮下の埋入部には茶褐色の顆粒状構造物が集合しており、一部ではその間隙が疎になっていた。その周囲は滑らかであり、一層の薄い壊死層により境界されていた(図9)。埋入1週例においては、同部に肉芽組織の増殖が始まっていたが、炎症性変化は比較的乏しかった。さらに埋入3週例になると、細胞成分に富んだ肉芽組織の増殖が活発に行われており、顆粒状ないし不定形のヘマトキシリン好染性の構造物を分割していた(図10)。同部の肉芽組織内にはマクロファージが多く出現していた。

⑤ ティーフックス群：

埋入2日例においては、埋入部には黒褐色からヘマトキシリンないしエオシンに染色された不定形の構造物の集塊がありその外形は円滑であった。外周を囲むように一層の薄い壊死層があった。周囲には細胞成分の多い肉芽組織の増殖があった(図11)。肉芽組織内には炎症性細胞浸潤は多くなく、周囲組織には顕著な組織学的な変化はみられなかった。埋入1週例では、主としてヘ

マトキシリンに好染された不規則な構造物とそれを取り囲む肉芽組織との境界は不規則化している部もあった。埋入3週例では、肉芽組織内の細胞成分は減少し、器質化していた(図12)。

考 察

今回の実験における組織学的評価は材料と方法の項で記載した通りISOの基準すなわち炎症の程度、マクロファージ及び異物巨細胞などの炎症性細胞の分布、壊死の存在などにより総合的に評価したものである。今回の実験において、埋入部組織にみられたヘマトキシリンないしエオシンに好染した不定形の無構造物について、これは埋入した被検材料の主成分であるカルシウムなど、また黒褐色ないし茶褐色の微細顆粒状構造物はその他の被検材料の一成分が病理組織学的にこのように観察されたものであろう。なお、一部のとくに組織に接する部に認められた不定形の無構造物は、被検材料の含有主成分である水酸化カルシウムの強アルカリによって引き起こされた壊死組織である。その染色性は、始めはエオシンに好染していたが、1週例以降においてヘマトキシリンに好染する部が現れていたのは、単なる壊死組織であるのが、時間の経過と共にカルシウムの沈着した、いわゆる石灰化物と化したものかによるものであろう。さて、これらに接する組織について病理組織学的には、水酸化カルシウムが極めて強いアルカリなのにも拘わらず著しい広範囲に及ぶ傷害的な組織所見は惹起されていなかった。これについて、水酸化カルシウムを主成分とする覆髄剤(材)や根管充填材(剤)を歯髄組織に直接応用すると一層の壊死層が形成され、その直下もしくは生活歯髄との境界部に石灰化が起こることは衆知の事実である。ラットやマウスなどの動物を用いた実験的研究は多くの研究者によって為されている^{1,4,6)}。すなわち、水酸化カルシウムをその皮下組織内に埋入すると、これに接した組織が水酸化カルシウムの強アルカリによる壊死層の形成と石灰化が惹起される。そしてこの壊死層が形成されるため埋入された水酸化カルシウムの刺激(組織為害性)がそれ以上の広範囲に及ばないと考えられている。同様に水酸化カルシウムの組織内埋入による組織変化、とくに埋入部に惹起される石灰化については病理組織学的並びに電子顕微鏡的

レベルの多くの研究が為されている^{2,3,7)}。さらに、今回と同様の組織反応についての検討も為されているが^{1,4,5,6)}、いずれもほぼ同様で大きな有害作用はないとされている。今回の実験においてもこれは確認された訳である。またこの壊死層には、基材の違いによる厚さの違いが認められた。最も厚かったのは、精製水を基材にした①水酸化カルシウム/水練和物であり、次いでプロピレングリコールを基材とする②カルシベックス、③カルシベックスプレーン、最も薄いのは、ジメチルポリシロキサンを基材とする④ビタベックス、⑤ティーフィックスであった。なお、今回の実験において2日例の所見で、埋入部が極めて類円形を呈した比較的滑らかな概観から、不規則な概観を呈したものの2者があった。これは1週例の標本において、何れも肉芽組織によって分断化、貪食処理が為されている訳であるが、これについても2日例において概観が不規則であったものは分断化が進んでいたように見受けられた。この差は水酸化カルシウムの含有量などではなく、その基材の性質に依存しているものと考えられる。すなわちこれが水溶性(精製水・プロピレングリコール; ①, ②, ③)なのか否か(ジメチルポリシロキサン; ④, ⑤)に依存していると考えられた。水溶性の場合には組織内に埋入した時点で組織内に染み込むようになり、病理組織標本上においてその境界が不規則な概観を呈するようになる。これに対し、ジメチルポリシロキサンは非水溶性であるから、組織内に埋入された被検材料は類円形のまま同部に止まっているものと思われる。しかし、これらの病理組織学的な変化は極めて小さなもので、これを根管充填材として応用する場合に

おいてはどちらが有利であるとの結論は出るものではない。以上より、既存根管充填材5種は、組織反応において若干の相違はあったもののほぼ同様の傾向を示すことが確認された。

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材カルシベックスの組織親和性に関する研究. 日歯保誌 41(春期特別): 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-とくにパスタによる石灰化について-. 歯科学報 84: 1563-93.
- 3) Kawakami T, Nakamura C, Hasegawa H, Akahane S and Eda S (1987) Ultrastructural study of initial calcification in the rat subcutaneous tissues elicited by a root canal filling material. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 63: 360-5.
- 4) 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.
- 5) Metin A, Aktoren O and Olgac V (2003) Histopathological evaluation of root canal filling materials. J Dent Res 82(S): B-299.
- 6) 山崎泰志, 高橋剛太, 土屋敦子, 土田眞美, 滝沢 久, 中村治郎(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.
- 7) 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.