

ポリプロピレン製ポイントの安全性に関する研究

— ガッタパーチャポイントとの比較 —

佐藤 穂子

A Study on the Safety of Polypropylene Points

— Comparison with Gutta-percha Points —

Yasuko SATOU

The purpose of this study was to examine the safety of polypropylene points in comparison with gutta-percha points by implantation test, cytotoxicity test and mineral elution test. A Flex Point® NEO (FP) and a gutta-percha point (Zipperer®)(GP) were implanted into dorsal connective tissues of 12 male Wistar strain rats for 1, 3, 7, and 14 days. After fixation and embedding into paraffin, the paraffin blocks were sectioned, and each slice was scored by microscopy with regard to bleeding, inflammatory reaction, and capsule formation of fibrous connective tissue. Murine skin fibroblasts were used as cultured cells in the cytotoxicity test. FPs and GPs were immersed in the Dulbecco's modified eagle medium containing 10% fetal bovine serum for 1, 2, and 3 days, the absorbance of 450 nm into the vital cells was measured with Cell Counting Kit. The test solutions in the mineral elution test was 48 ml of sterile distilled water in which 12 FPs and 12 GPs had been immersed for 1, 2, and 4 weeks. Amount of Ba^{2+} , Bi^{2+} , Fe^{2+} or Mg^{2+} elution was measured by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Statistical analyses were performed using Mann-Whitney *U*-test or Student's *t*-test and the significance level was set to 5%. In the results of the implantation test, the scores of inflammatory reaction by FPs were significantly lower in all periods and those of capsule formation by FPs were also significantly lower than by GPs after 7 and 14 days. In the cytotoxicity test, there were no significant differences in cell proliferation between FP-immersed culture medium and the control under all conditions. There was no detection of Zn^{2+} in elution test of FPs, and amount of Ba^{2+} elution from FPs was a half of that from GPs and that of Bi^{2+} , Fe^{2+} or Mg^{2+} elution was at almost same level. Amount of Zn^{2+} or Ba^{2+} elution from GPs was larger than that of FPs. Results of this study suggest that FPs could be safer root canal filling materials than GPs.

Key words : polypropylene points, gutta-percha points, safety

緒 言

根管治療の最終目的は抜髄をすることにより空

間になった根管を根管充填材で緊密に封鎖して根尖孔や根管口からの細菌感染を防ぎ、根尖歯周組織を健全に保つことである。

受付：平成21年9月14日，受理：平成21年10月21日
奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野
(指導：木村 裕一教授)

Division of Endodontics, Department of Conservative
Dentistry, Ohu University School of Dentistry
(Director : Prof. Yuichi KIMURA)

根管充填材の所要性質として複雑な形態の根管に適合しやすいこと（適合性）、根管充填後、収縮や変形をしないこと（不変性）、根管壁に密着し、根管封鎖性が高いこと（密着性）などいくつかの条件が述べられているが、そのなかでも特に重要と考えられるものに根尖歯周組織に異常な刺激を与えないこと（無刺激性）、すなわち根尖歯周組織への安全性が挙げられる^{1,2)}。

半固形根管充填材として現在まで100年以上もの長い間、ガッタパーチャポイントが一般的に広く使用されてきているが³⁻⁵⁾、細い根管や彎曲根管への追従性に劣るため、その弾性を補うものとしてポリプロピレン製ポイントが開発された。現在では新しい固型ポイントとしてこのポリプロピレン製ポイントが市販され臨床でも使用され始めている⁶⁾。医療用製品、特に手術用メッシュや縫合糸など外科用材料として数多くのポリプロピレン製品が使用されており、その有用性は広く認められている⁷⁻¹⁰⁾。しかし根管充填材としてはまだ歴史が浅く、その使用頻度も低い。

これまでにガッタパーチャポイントや糊剤およびシーラーなど多くの根管充填材の *in vitro* における細胞毒性試験が数多く行われており、その有害性が報告されている¹¹⁻¹⁴⁾。一方、ポリプロピレン製ポイントについては根管への適合性や消毒・滅菌による製品の劣化などについての検討は行われてきた¹⁵⁻¹⁸⁾ が、安全性に関する研究はあまり報告されていない。

そこで本研究では、このポリプロピレン製ポイントの安全性を調べるためにラットの皮下結合組織への埋入試験、細胞毒性試験、また根管充填材からの無機成分溶出試験を行い、ガッタパーチャポイントと比較検討した。

材料と方法

1. 実験動物

動物実験は奥羽大学動物実験規定に従って行った。皮下結合組織への埋入試験には体重200～220gの6週齢ウィスター系雄性ラット（日本クレア、東京）を12匹用いた。なお、ラットは2週間飼育し、環境に十分馴染ませてから実験に供した。ラットには実験期間中、水道水と固形飼料

（日本クレア、東京）を自由に摂取させた。

2. 根管充填材

実験に使用したポイントはポリプロピレン製ポイントとしてフレックスポイント®「ネオ」（ネオ製薬、東京）（以下、FPと略す）とガッタパーチャポイント（ジッペラー、ドイツ）（以下、GPと略す）の#70を用いた。実験に際して各ポイントには低温ガス滅菌（37℃、エチレンオキシドガス）を行った。

3. 皮下結合組織への埋入試験

埋入した根管充填材は先端から5mmの部分で切断したものを用いた。ラットへのポイントの埋入はペントバルビタールナトリウム（Nembutal、大日本製薬、大阪）を4mg/100gの割合にて腹腔内麻酔を施行し、埋入の方法は高瀬らの方法¹⁹⁾に準じて図1に示すように背部に2か所、脊柱を中心として左右対称に剃毛してヨードチンキで消毒した後、背部皮下を鈍的に剥離し、FPとGPを皮下結合組織内に無菌的に埋入した。観察期間は土倉らの報告²⁰⁾を参考にして被験材埋入後1, 3, 7および14日とし、各実験期間について3匹ずつ供した。

埋入1, 3, 7および14日後にラットにエーテル麻酔を施行した後、灌流固定を行い、ポイントとその周囲の皮下組織とともに一塊として摘出した。摘出した組織はポイントを除去し、10%中性緩衝ホルマリン溶液中にて室温で24時間浸漬し固定を行った。その後、通法に従ってパラフィン包埋を行った後、厚さ10 μ mの連続切片を各パラフィンブロックから10枚ずつ作製してヘマトキシリン-エオジン重染色（H-E染色）を施し、ポイント埋入部周囲の組織反応について光学顕微鏡Axio Cam MR5（カールツァイス、ドイツ）を用いて組織学的に観察（低倍×50, 高倍×200）し、炎症性反応を判定してFPとGPとで比較した。

組織学的所見の判定は、菅谷ら²¹⁾の報告を改変した表1の基準により、各ポイントに対する出血、炎症性反応（炎症性細胞浸潤）および線維性結合組織による被包化についてそれぞれ4段階でスコアをつけ、各観察期間ごとに30枚の標本を評価し、平均値±標準偏差で表した。出血、炎症性反応（炎症性細胞浸潤）および線維性結合組織によ

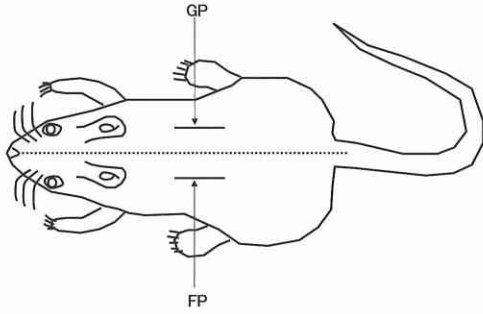


図1 ラット背部へのポイントの埋入位置
 背部に2ヶ所、脊柱を中心として左右対称でほぼ中央にFPとGPを埋入した。

る被包化について、埋入したポイント全周の組織を検索し、それぞれの項目について程度の高い部分をその標本のスコアとした。

4. 細胞培養

実験に用いた細胞はラット皮膚線維芽細胞由来株 FR09-1213 (大日本製薬, 大阪) で0.25% トリプシン溶液 (和光純薬工業, 大阪) を用いて細胞を分散し、組織培養用培地として10% fetal bovine serum (以下 FBS と略す) 含有 Dulbecco's modified eagle medium (大日本製薬, 大阪) (以下 DMEM と略す) を用い、37℃, 5% CO₂気相下、湿潤条件下で継代培養した。培地の交換は3日ごとに行った。

5. 培地の調整

ポイントの表面積を同じにするため先端から10mmの部分で切断した FP および GP の各25本ずつを100ml の組織培養用培地 (DMEM) に浸漬し、1, 2 および 4 週間37℃で静置したものを使用した。

6. 細胞毒性試験

組織培養用培地 (10%FBS 含有 DMEM) を用いて 5 × 10³細胞 / ウェル (100 μl) になるように調整して96穴プレートマルチウェルプレート (日本ベクトン・ディッキンソン, 東京) に細胞を播種し37℃で 5% CO₂気相下、湿潤条件下で24時間、前培養を行った。

ポイントをそれぞれの期間浸漬した培地に10%FBS を添加して交換し、さらに 1, 2 および 3 日間培養を継続した。Cell Counting Kit (同

表1 皮下結合組織反応の基準

1. 出血	0: 認められず 1: 軽度 2: 中等度 3: 著明
2. 炎症性細胞浸潤	0: 認められず 1: 軽度 2: 中等度 3: 著明
3. 結合組織による被包化	0: 認められず 1: 軽度 2: 中等度 3: 著明

菅谷らの基準を参考に改変

仁化学, 東京) を用い、波長450nm における吸光度を培養終了から 1 時間後に吸光マイクロプレートリーダー MULTISCAN JX (サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社, 神奈川) により測定した。ポイントを浸漬した期間別にそれぞれ16ウェルとし、また、コントロールとしてポイントを浸漬していない培地を使用して同様に培養し、吸光度を測定した。

7. 根管充填材からの無機成分溶出試験

実験に用いた FP と GP は表面積を同じくするため先端から16mmに切りそろえ、滅菌蒸留水 (大塚製薬, 東京) 48ml に12本ずつ投入し、密封後37℃, 湿度95%で 1, 2 および 4 週間静置したものを試験液とし、静置した期間ごとに 3 本ずつ用意した。試験液中に溶出するバリウム, 亜鉛, ビスマス, 鉄, マグネシウムの無機成分溶出量を誘導結合プラズマ発光分光分析装置 JY 238 ULTRACE (堀場製作所, 京都) にて測定した²²⁾。測定条件は以下の通りである。

- 周波数: 40.68MHz
- 高周波出力: 1.2kW
- 高周波反射波出力: 5 W 以下
- アルゴンガス流量
- 冷却ガス: 11.5 l/min
- 補助ガス: 0.2 l/min
- キャリアーガス: 0.3 l/min
- プラズマ観測高さ: 15mm
- 信号積分時間: 0.1秒 (繰り返し3回)
- 波長 (分析線)
- バリウム 223.061nm

亜鉛 213.856nm
 ビスマス 223.061nm
 鉄 259.940nm
 マグネシウム 279.553nm

なお、コントロールとしてポイントを浸漬していない滅菌蒸留水を用いた。

8. 統計処理

データは平均値±標準偏差で表記した。埋入試験における各スコアの統計処理には Mann-Whitney *U*-test を用い、また、細胞毒性試験および無機成分溶出試験については Student's *t*-test を用い、両側 $p < 0.05$ をもって統計学的有意差があると判定した。統計処理ソフトは ystat2008²³⁾ を用いた。

結 果

1. ラット皮下結合組織への埋入試験

出血、炎症性反応（炎症性細胞浸潤）および線維性結合組織による被包化の程度における各実験期間の組織像を図2～9に示す。また、出血、炎症性反応および被包化の各スコアの結果を表2～4に示す。

出血：FPでは埋入1, 3および7日後にごく軽度に認められたが、埋入14日後はなかった。GPでは埋入1, 7日後で認められたが、3, 14日後はなかった。3日後以降は両ポイントで1日後よりもスコアは低かった。すべての観察期間において有意差はなかった（表2）。

炎症性反応：埋入1日後にFPでごく軽度な炎症性細胞浸潤が、GPでもポイント周囲の組織に炎症性細胞浸潤がFPよりも有意に強く認められた。埋入3日後では両方のポイントにおいてより進行した炎症性細胞の浸潤が認められ、そのスコアは埋入1日後よりも増加した。埋入7日後からFPの炎症性反応はごく軽度であったが、GPではFPと比較すると強い炎症であり、有意にスコアは高かった。すべての期間においてFPとGPとではスコアにおいて有意差が認められた（表3）。

線維性結合組織による被包化：埋入1日後ではFP, GPともにポイント周囲に線維性結合組織による被包化は認められなかった。埋入3日後になると両方のポイント周囲では線維化の進行を伴う

軽度な被包形成が認められたが有意差はなかった。埋入7日後になると3日後よりもさらに厚く被包形成が認められ、GPのほうが有意にスコアは高かった。埋入14日後ではさらに線維性細胞に富んだ結合組織による被包形成が明瞭となり、FPよりもGPのほうがその厚さが増加しており、有意にGPのスコアが高かった（表4）。

2. 細胞毒性試験

コントロール群の吸光度を1として各条件の数値を相対的に表し、比較した結果を表5に示す。1w, 2w, 4wはそれぞれ使用した培養用培地にポイントを浸漬した期間を示す。また、1d, 2d, 3dは吸光度を測定した観察時期を示す。

FPを浸漬したすべての培地においてコントロール群と比較して有意差は認められなかった。GPを1および2週間浸漬した培地とコントロール群では有意差はなかったが、4週間浸漬した培地はコントロール群と比較して有意に高い数値を示した（ $p = 0.006$ ）。

また、培養時間が長いほど吸光度は徐々に高くなった。両方のポイントを1, 2および4週間浸漬したすべての培地を用いて培養した場合、1日後と2日後、1日後と3日後を比較しても有意差は認められなかった（ $p = 0.550$ ）。

3. 根管充填材からの無機成分溶出試験

表6～10に各ポイントから溶出したバリウム、亜鉛、ビスマス、鉄およびマグネシウム量の測定結果を示す。

FPを浸漬した試験液から亜鉛を除くすべての金属が検出された。溶出したバリウム量と比較するとマグネシウム量は1/100以下、鉄は1/20以下だった。また、GPを浸漬した試験液からはすべての金属が検出された。GPからの亜鉛溶出量と比較してバリウムでは2/3以下、ビスマス、鉄およびマグネシウムでは1/100以下の溶出量であった。コントロールからはビスマス、鉄およびマグネシウムが検出されたが各ポイントからの溶出量と比較すると同量から1/100ほどの溶出量だった。

1, 2および4週間各ポイントを浸漬した試験液を比較するとバリウムの溶出量は有意にGPのほうが多かった。溶出量は両方のポイントにおいても浸漬した時間とともに徐々に増加傾向を示し

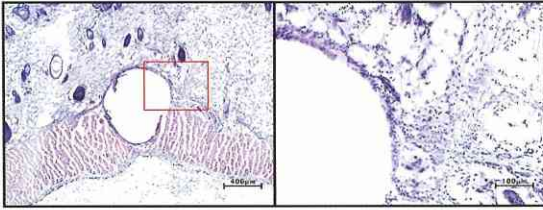


図2 埋入1日後の組織像

FPをラット背部皮下組織へ埋入した1日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：1 被包化：0 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

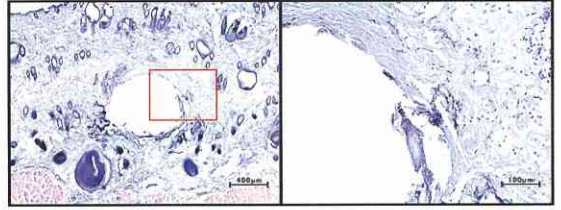


図3 埋入1日後の組織像

GPをラット背部皮下組織へ埋入した1日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：2 被包化：0 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

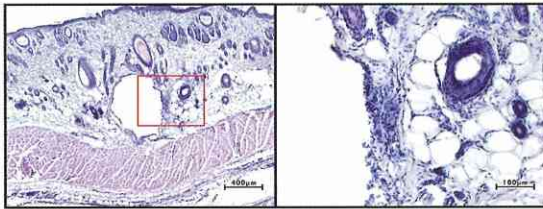


図4 埋入3日後の組織像

FPをラット背部皮下組織へ埋入した3日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：2 被包化：0 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

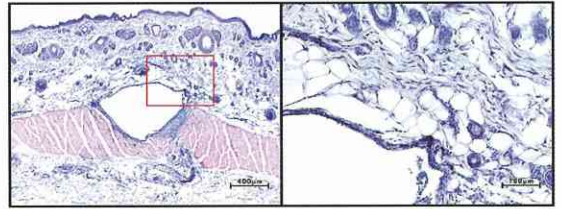


図5 埋入3日後の組織像

GPをラット背部皮下組織へ埋入した3日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：2 被包化：1 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

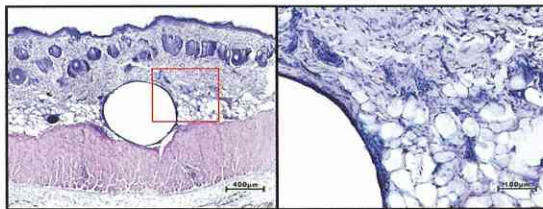


図6 埋入7日後の組織像

FPをラット背部皮下組織へ埋入した7日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：1 被包化：1 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

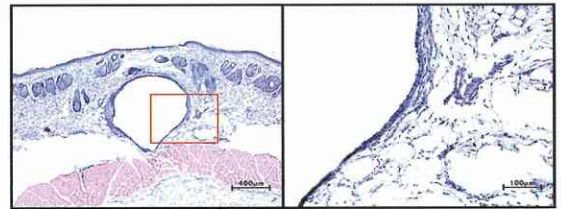


図7 埋入7日後の組織像

GPをラット背部皮下組織へ埋入した7日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：1 被包化：2 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

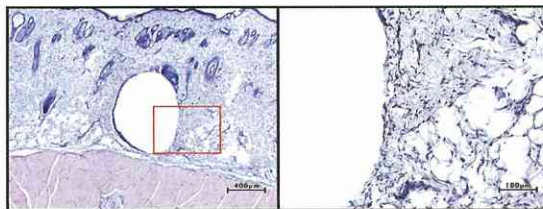


図8 埋入14日後の組織像

FPをラット背部皮下組織へ埋入した14日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：1 被包化：1 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

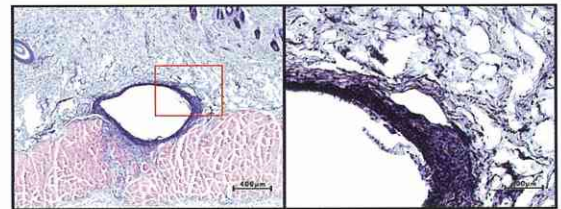


図9 埋入14日後の組織像

GPをラット背部皮下組織へ埋入した14日後の代表的な組織像で右図は左図の枠内を拡大した像を示す。スコアは出血：0 炎症性細胞浸潤：2 被包化：3 とした。左×50, 右×200 (H-E染色)

表2 各観察期間における出血のスコア

	1d	3d	7d	14d
FP	0.154±0.367	0.07±0.258	0.061±0.242	0
GP	0.286±0.488	0	0.056±0.236	0

表3 各観察期間における炎症細胞浸潤のスコア

	1d	3d	7d	14d
FP	0.385±0.506	0.953±0.653	0.12±0.328	0.1±0.308
GP	1±0	1.625±0.518	0.722±0.575	0.666±0.308

* : p < 0.05

表4 各観察期間における被包化のスコア

	1d	3d	7d	14d
FP	0	0.698±0.468	1.2±0.404	1.2±0.410
GP	0	1±0	2.0±0.767	2.222±0.441

* : p < 0.05

表5 細胞毒性試験の結果

	1d	2d	3d
1w FP	0.972±0.091	0.977±0.093	0.985±0.055
1w GP	0.972±0.093	0.977±0.093	1.016±0.035
cont.	1	1	1
2w FP	1.010±0.129	0.945±0.278	1.009±0.098
2w GP	1.053±0.149	1.036±0.107	1.039±0.059
cont.	1	1	1
4w FP	1.052±0.124	1.043±0.083	1.056±0.067
4w GP	1.196±0.151	1.155±0.104	1.209±0.083
cont.	1	1	1

* : p < 0.05

表6 ポイントから溶出したバリウム量 (mg/l)

	1w	2w	4w
FP	0.741±0.186	0.982±0.212	1.371±0.129
GP	1.596±0.049	2.713±0.637	2.760±0.186
cont.	0	0	0

* : p < 0.05

表7 ポイントから溶出した亜鉛量 (mg/l)

	1w	2w	4w
FP	0	0	0
GP	1.294±0.310	3.752±2.954	9.957±2.632
cont.	0	0	0

* : p < 0.05

表8 ポイントから溶出したビスマス量 (mg/l)

	1w	2w	4w
FP	0.009±4.0×10 ⁻³	0.008±5.0×10 ⁻⁴	0.008±3.0×10 ⁻³
GP	0.013±5.7×10 ⁻³	0.009±3.8×10 ⁻³	0.006±3.0×10 ⁻³
cont.	5.9×10 ⁻³	2.07×10 ⁻²	1.62×10 ⁻²

表9 ポイントから溶出した鉄量 (mg/l)

	1w	2w	4w
FP	4.0×10 ⁻³ ±0	0.053±7.0×10 ⁻⁴	0.053±3.0×10 ⁻⁴
GP	4.0×10 ⁻³ ±0	0.053±4.0×10 ⁻⁴	0.053±3.0×10 ⁻⁴
cont.	4.0×10 ⁻³	5.26×10 ⁻²	5.25×10 ⁻²

表10 ポイントから溶出したマグネシウム量 (mg/l)

	1w	2w	4w
FP	0.007±4.0×10 ⁻⁴	0.006±2.9×10 ⁻³	0.007±3.1×10 ⁻³
GP	0.008±7.3×10 ⁻³	0.007±2.3×10 ⁻³	0.01±1.2×10 ⁻³
cont.	1.2×10 ⁻³	6.0×10 ⁻⁴	1.2×10 ⁻³

* : p < 0.05

た(表6)。

亜鉛の溶出はFPからは全く検出されず、すべての実験期間において有意差が認められた。浸漬した時間が長いほどGPから亜鉛の溶出量は増加した(表7)。

ビスマスの溶出量はすべての期間でFPとGP間で有意差は認められなかった(表8)。

鉄の溶出量は1週間ポイントを浸漬した試験液ではコントロールも含めてごく微量、検出された。2および4週間浸漬した試験液におけるFP、GPからの溶出量はコントロール群と近似しており有意差もなかった(表9)。

マグネシウムの場合、コントロールに比較するとFP、GPともに溶出量は有意に多かったが(FPでp=0.017、GPでp=0.004)、FPとGPからの溶出量はほぼ同じで有意差は認められなかった(p=0.153)(表10)。

考 察

今回の皮下結合組織への埋入試験結果において出血に関しては両ポイント間に有意差はなく、スコアも低い値で埋入14日後には両方とも出血は消退しており、比較的良好な結果を示した。これはGPの埋入試験に対する以前の報告と類似した結果であった²⁰⁾。FP、GPともに埋入1日後から3日後にかけて炎症性反応が認められ、7日後にはスコアの減少が認められたが、このような反応は物理的刺激に対する組織の正常な反応であると考えられる²⁴⁾。しかし、すべての実験期間において炎症性細胞浸潤のスコアではFPがGPと比較して有意に低い値であったことより生体への親和性が良いことが示唆された。また、埋入3日後から軽度ながら被包形成が認められた。組織における異物処理の一つとして器質化が起こるが、この処理が難しい場合、周囲の肉芽組織の線維化が進行し、異物の被包化が起こる^{20,25)}。本研究においてもGPでは埋入3日後から生体の異物排除機能によるものと考えられる被包形成が認められ、経時的に増加する傾向であった。これは以前の報告と一致した²⁰⁾。一方、FPの被包化は3日後から7日後にかけて厚みが増加し、その後は一定であり、GPと比較すると7日後と14日後に有意差が

認められたことから FP に対する異物排除機能は GP より低い歯科材料と考えられる。FP に関しては過去に同様の研究がなされていないため比較することは難しいが、海外で使用されているプラスチック製根管充填材の生体適合性を研究した報告では生体組織反応はガッタパーチャポイントと比較して有意差は認められないという報告がある²⁶⁾。

本研究では細胞毒性試験において細胞生存率を WST-1 法により測定した。これはミトコンドリア内酵素活性を指標として細胞数を測定する方法で、標準的に用いられる MTT 法の変法である²⁷⁾。使用した Cell Counting Kit はメーカーによると他の水溶性タイプのテトラゾリウム塩 (XTT, MTS) より高感度で、波長 450nm における吸光度を直接測定することによって生細胞数を計測することができ、その吸光度は細胞数に比例する。つまり吸光度が高いほどそれに比例して生細胞数も多いということになる。

根管充填材として日常臨床において古くから使用されているガッタパーチャポイントは研究の初期段階では培養細胞または実験動物において細胞毒性がない、もしくは弱いと報告されていることが多かったが²⁸⁻³³⁾、その後、培養細胞に対して毒性があることが多数、報告されている^{11,12,14,34-38)}。

練和後に硬化するセメントやシーラーのような材料はその過程で成分の溶出が認められるが³⁹⁾、GP のように最初から半固形の生体材料はそれに比較して成分の溶出は少ないと考えられていた。しかし製品によりかなり相違していることが示されており、本研究で使用した GP はガッタパーチャポイントの中では比較的、為害性が強く現れることが報告されている^{14,40)}。しかし、今回の実験における細胞毒性試験の結果ではポイントを 1 および 2 週間浸漬した培地では FP と GP の間に有意差は認められず、コントロール群と比較しても有意差は認められなかった。しかし、4 週間 GP を浸漬した培地では、細胞の増殖をコントロール群と比較すると有意に高い結果となった。この働きに対する明確な理由は現在のところ得られていないが、亜鉛イオンが細胞を増殖させるとい報告⁴¹⁾もあり、今回の増殖の要因の一つにはこの亜鉛イオンの作用があるものと考えられる。

また、使用した細胞の種類やその方法なども影響していると考えられる。

これまでにガッタパーチャポイントやセメントなど種々の歯科用材料においてその成分が溶出することで細胞に為害性を与えることが確認されているが^{14,37,40)}、プラスチックポイントから溶出する成分についての報告は確認されていない。そこで今回、FP からどのような成分が溶出するか GP と比較検討した。

物質に含有される無機成分の分析にはさまざまな分析法が利用されているが本研究では高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) を用いた。これは発光分光分析法の一つであり、同様の目的で使用される原子吸光法と比較して多元素同時分析が可能でしかも高感度であり、測定可能な元素が多いなどの特徴を有する⁴²⁻⁴⁴⁾。

ガッタパーチャポイントの組成はそのほとんどが酸化亜鉛であり、ガッタパーチャの含有率はメーカーによって若干の差はあるが 2 割前後で、その他に重金属硫酸塩とワックスまたはレジンが含まれている²⁾。今回、使用した GP はメーカーによる詳しい成分表示は公表されていないが平嶺⁴⁵⁾によるとガッタパーチャ 17.2±0.6%、酸化亜鉛 64.3±0.2%、ワックスまたはレジン 3.3±0.5%、重金属硫酸塩 15.4±0.2% となっている。一方、FP の成分はポリプロピレン 70%、硫酸バリウム 30% となっている¹⁷⁾。この報告と一致して溶出試験の結果では FP から亜鉛の溶出は認められなかった。

セメントやシーラーのように粉末と液を練和する生体材料の細胞毒性試験では酸化亜鉛ユージノールによる細胞増殖抑制作用が強いことが報告されている⁴⁶⁾。しかし、FP は固型根管充填材であり、酸化亜鉛ユージノールを含有していないため細胞増殖抑制作用はなかったと考えられる。本研究において GP からの亜鉛の溶出量は最大でも約 10mg/ℓ であったが、この溶出量は細胞増殖を抑制する量ではないことが確認されており^{47,48)}、今回の細胞毒性試験において細胞の増殖が認められた要因の一つではないかと考えられる。

バリウムは体重 1 kg あたり 0.2~0.5mg でヒトに毒性作用を与えることが報告されており⁴⁹⁾、これ

は水溶性の塩化バリウムの摂取により起こるとされている。しかし、歯科用材料にバリウムが添加される場合、通常、硫酸バリウムとして加えられ、この物質は水に難溶性であるため生体への取り込みはごく微量であり、安全性に関して問題はないと考えられる。

本研究では無機成分溶出試験でどちらのポイントからもビスマス、鉄、マグネシウムが微量ではあるが検出された。コントロールより少ないか、同程度の溶出量であったことから含有量が少ないか、溶出しなかったと考えられる。これらの微量元素は不純物として混入していた可能性があり、また、エックス線造影性を持たせるために添加された可能性も考えられる²⁾。

今後さらに詳しく調べるため、埋入試験では炎症性細胞の種類や壊死細胞の存在などの検索も併用することが良いと考えられる。また、細胞毒性試験では生細胞数の計測を行ったが、今後、血球計算盤を用いた細胞数の算定や細胞の形態変化なども調べていく必要がある。さらに今回の実験ではGPを浸漬した培地で培養した細胞がコントロール群と比較して有意に高く増殖したが、この原因としてポイントから溶出したその他の物質によることも考えられるので、今後さらなる研究を重ねていく予定である。

結 論

FPの安全性をGPと比較検討したところ、以下の結論を得た。

1. ラット背部皮下結合組織への埋入試験において炎症性反応ではFPのスコアは有意にGPより低く、また、7日後以降の被包形成においてもFPのスコアは有意に低かった。このことよりFPはGPよりも組織への親和性の高い歯科材料であることが示唆された。

2. 細胞毒性試験においてFPはコントロールと比較して有意差は認められなかったことから細胞増殖を阻害する成分がポイントから溶出していなかったと考えられる。

3. 無機質溶出試験ではFPから亜鉛の溶出は認められず、バリウムの溶出は認められたがGPと比較して有意に少なく、また、ビスマス、鉄お

よびマグネシウムも溶出が認められたが非常に微量であったことを総合して考えるとFPから溶出する無機質の量はGPより少なかったことが示された。

以上の結果からFPはGPと比較して生体に対してより組織親和性のある安全な根管充填材であることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究に関して終始懇篤なる御指導および御校閲を賜りました歯科保存学講座歯内療学分野木村裕一教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究を遂行するにあたり多方面からご協力をいただきました本学歯学部生体構造学講座ならびに口腔病態解析制御学講座の諸先生方に深く感謝いたします。また、ICP-AES分析におきましてご助力を頂きました福島県ハイテクプラザ技術開発部工業材料科中山誠一様に深謝いたします。

最後に終始温かい励ましをいただきました天野義和教授ならびに種々御協力をいただきました当分野教室員の皆様に深謝いたします。

本論文の要旨は第47回奥羽大学歯学会（平成21年6月13日 郡山）において発表した。

文 献

- 1) Grossman, L. I. : Obturation of the canal. Endodontic Practice. (Grossman, L. I.) 10th Ed. ; 277-282 Lea & Febiger Philadelphia 1981.
- 2) 勝海一郎, 前田宗宏: 根管充填. 歯内治療学 (戸田忠夫, 中村 洋, 須田英明, 勝海一郎編) 第3版; 189-216 医歯薬出版 東京 2007.
- 3) Gutmann, J. L. : History. Pathways of the pulp (Ed., Cohen, S., Burns, R. C.) 4th Ed. ; 756-782 The C. V. Mosby Company St. Louis 1987.
- 4) Miserendino, L. J. : Instruments, materials, and devices. Pathways of the pulp (Ed., Cohen, S., Burns, R. C.) 5th Ed. ; 388-433 Mosby-Year Book St. Louis 1991.
- 5) 中村恭政: 歯内療法の変遷. 歯学 78 ; 191-207 1990.
- 6) 戸田忠夫, 畠銀一郎, 村上伸也, 島袋善夫, 天野義和, 五十畑正憲, 久保田稔, 川嶋敏宏, 土倉 康, 伊藤彰人, 中川寛一, 龍崎直仁, 平井義人: ポリプロピレン製ポイントを用いる根管充填法の臨床経過. 日歯保存誌 48 ; 681-686 2005.

- 7) Kurihara, Y., Yamakawa, T., Yoshino, M., Ogata, M., Watanabe, M., Tokunaga, A. and Tajiri, T.: Experience with direct Kugel patch method for repair of adult inguinal hernia. *J. Nippon Med. Sch.* **75**; 28-31 2008.
- 8) Kuo, H-C.: Comparison of video urodynamic results after the pubovaginal sling procedure using rectus fascia and polypropylene mesh for stress urinary incontinence. *J. Urol.* **165**; 163-168 2001.
- 9) Saleh, F., Palmieri, B., Lodi, D. and Al-Sebeih, K.: An innovative method to evaluate the suture compliance in sealing the surgical wound lips. *Int. J. Med. Sci.* **5**; 354-360 2008.
- 10) Palanivelu, C., Rangarajan, M., Rajapandian, S., Amar, V. and Parthasarathi, R.: Laparoscopic repair of adult diaphragmatic hernias and eventration with primary sutured closure and prosthetic reinforcement: a retrospective study. *Surg. Endosc.* **23**; 978-985 2009.
- 11) Pascon, E. A. and Spångberg, L. S. W.: *In vitro* cytotoxicity of root canal filling materials: I. Gutta-percha. *J. Endod.* **16**; 429-433 1990.
- 12) 藤島達次郎, 今井庸二: 新しい根管充填用試作シーラーおよび各種市販根管充填材料の細胞毒性試験. *日歯保存誌* **35**; 1251-1257 1992.
- 13) 高原克彦, 井上幸一, 松本光吉: 根管充填剤の細胞毒性について. *日歯内療誌* **11**; 8-22 1990.
- 14) 中村秀己: 根管充填材(剤)の細胞毒性に関する研究 第1報 Preduits Dentaires ガッタパーチャポイント, 而至歯科工業ガッタパーチャポイント, Vereinigte Dentalwerke (Zipperer) ガッタパーチャポイント, ユーカパーチャ, 酸化亜鉛ユーージノール系シーラー (キャナルス), 酸化亜鉛ユーージノール系シーラー (ツプリシール) について. *歯学* **73**; 1295-1314 1985.
- 15) Amano, Y., Yamada, Y., Satou, Y. and Sasaki, S.: Study on canal preparation for s-shaped root canal. *Dent. Jpn.* **41**; 47-50 2005.
- 16) 佐藤穂子, 橋本幸扶, 森下浩江, 佐々木重夫, 天野義和: フレックスポイント®「ネオ」の湾曲根管に対する適合性. *日歯保存誌* **45**; 330-334 2002.
- 17) Ohne, M. and Yamazaki, Y.: Effects of autoclaving on dimensional qualities and physical properties (flexural rigidity and brittleness) of newly developed root canal filling point made of polypropylene (FLEX POINT NEO®). *Bull. Tokyo Dent. Coll.* **46**; 27-32 2005.
- 18) 東 泉, 大住伴子, 古賀裕紀子, 宗洋一郎, 黒木賀代子: 根管充填用ポイントの消毒・滅菌に関する検討. *日歯保存誌* **47**; 314-318 2004.
- 19) 高瀬俊彦, 中沼邦欣, 和田守康, 山崎宗与, 早川 徹, 根本君也, 山本浩嗣: 試作 α -TCP セメントの基礎的研究—ラット皮下組織反応について—. *日歯保存誌* **37**; 1037-1043 1994.
- 20) 土倉 康, 山田 考, 土屋 通, 福山賀子, 齋藤健介, 中川寛一: 強酸性電解水に浸漬したガッタパーチャポイントのラット皮下埋入試験. *日歯保存誌* **48**; 320-325 2005.
- 21) 菅谷一彦, 武山和夫, 塚越 慎, 滝沢 久, 新井 高, 中村治郎: 試作したリン酸カルシウム系根管充填材に関する基礎的研究 (第3報) pH およびラットの皮下結合組織刺激性について. *日歯保存誌* **34**; 1585-1594 1991.
- 22) 西宮秀子, 勝海一郎, 中村恭政: 根管充填用ガッタパーチャの組成と物性に関する研究. *日歯保存誌* **39**; 1456-1473 1996.
- 23) 山崎信也: 汎用比較統計 (いわゆる有意差検定) なるほど統計学とおどろき Excel® 統計処理 (山崎信也) 第4版; 2-13 医学図書出版 東京 2008.
- 24) Wang, X. Y., Baba, A., Taniguchi, K., Hagio, M. and Miyazaki, K.: Study on rat subcutaneous reaction to experimental polyurethane elastomers. *Dent. Mater. J.* **23**; 512-516 2004.
- 25) 堀 良之, 馬場忠彦, 戸田忠夫: 4-META/MMA-TBB レジンを基材とする試作逆根管充填材の生体親和性. *日歯保存誌* **46**; 860-877 2003.
- 26) Onay, E. O., Ungor, M. and Ozdemir, B. H.: *In vivo* evaluation of the biocompatibility of a new resin-based obturation system. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **104**; 60-66 2007.
- 27) 木葉敬子, 川原正博: 亜鉛によって引き起こされる培養神経細胞のアポトーシスメカニズムの検討. 九州保健福祉大研紀 **5**; 247-251 2004.
- 28) Wenger, J. S., Tsaknis, P. J., del Rio, C. E. and Ayer, W. A.: The effects of partially filled polyethylene tube intraosseous implants in rats. *Oral Surg.* **46**; 88-100 1978.
- 29) Kawahara, H., Yamagami, A. and Nakamura, M.: Biological testing of dental materials by means of tissue culture. *Int. Dent. J.* **18**; 443-467 1968.
- 30) 曾我直夫: 根管充填に関する研究, とくに過剰根管充填が歯周組織にあたる影響に関する実験的研究. *歯科医学* **38**; 615-632 1975.
- 31) 陳 健男: 各種根管充填剤の組織反応に関する生物学的研究. *歯科医学* **38**; 574-598 1975.
- 32) 片岡寿平: 各種根充剤の組織刺激量に関する実験的研究 (*in vitro*). *歯科医学* **34**; 961-976 1971.
- 33) Schwarze, T., Leyhausen, G. and Geurtsen, W.: Long-term cytocompatibility of various endodontic sealers using a new root canal model. *J. Endod.* **28**; 749-753 2002.
- 34) Munaco, F. S., Miller, W. A. and Everett, M. M.: A study of long-term toxicity of endodontic ma-

- terials with use of an *in vitro* model. J. Endod. 4 : 151-157 1978.
- 35) Das, S. : Effect of certain dental materials on human pulp in tissue culture. Oral Surg. 52 : 76-84 1981.
- 36) 西條芳和, 坂井義和, 坪井文隆, 古瀬裕平, 高木憲司, 安藤文夫, 中村 洋 : 根管充填剤の毒性に関する研究 (1) 長期細胞毒性について. 日歯保存誌 24 : 684-690 1981.
- 37) 小池成治 : 各種根管充填剤のヒト歯根膜由来線維芽細胞様細胞の機能におよぼす影響. 日歯保存誌 33 : 1055-1069 1990.
- 38) Szep, S., Grumann, L., Ronge, K., Schriever, A., Schultze, M. and Heidemann, D. : *In vitro* cytotoxicity of medicated and nonmedicated gutta-percha points in cultures of gingival fibroblasts. J. Endod. 29 : 36-40 2003.
- 39) 内山浩平, 橋本修一, 古本啓一, 中村恭政 : ラット下顎切歯に対する ZOE の填塞効果について (第二報) ZOE からのユージノールの遊離動態. 日歯保存誌 31 : 1656-1661 1988.
- 40) 中村秀己 : 根管充填材(剤)の細胞毒性に関する研究 第2報 水酸化カルシウム製剤 (カルピタール), パラホルムアルデヒド製剤 (トリオジンクパスタ), エポキシ樹脂 (AH26), グアヤコールホルムアルデヒド縮合物 (FR), その他2種類の根管充填剤 (N2, ノージノール) について. 歯学 73 : 1619-1656 1986.
- 41) Uchiyama, S. and Yamaguchi, M. : Genistein and zinc synergistically enhance gene expression and mineralization in osteoblastic MC3T3-E1 cells. Int. J. Mol. Med. 19 : 213-220 2007.
- 42) 不破敬一郎 : 1. 序論. ICP 発光分析 (不破敬一郎, 原口絃丞編) 第1版 ; 化学の領域 増刊 127号 ; 3-7 南江堂 東京 1980.
- 43) 広川吉之助 : 2. プラズマの励起機構と分光特性 (不破敬一郎, 原口絃丞編) 第1版 ; 化学の領域 増刊127号 ; 9-19 南江堂 東京 1980.
- 44) 中原武利 : 原子スペクトル分析—プラズマ原子発光分析と原子蛍光分析—. ぶんせき 6 ; 426-436 1991.
- 45) 平嶺勝嗣 : GUTTA-PERCHA POINT の検討—その組成と理工学的性質について—. 日歯保存誌 26 : 741-754 1983.
- 46) 笠井昭彦 : 各種覆髄剤および裏装材の細胞毒性に関する実験的研究(*in vitro*). 日歯保存誌 31 ; 543-564 1988.
- 47) 岡村 徹 : 酸化亜鉛の培養哺乳類細胞に対する毒性について. 歯学 76 ; 11-22 1988.
- 48) 鈴木雄一郎, 勝海一郎, 中村恭政 : 根管充填用ガッタパーチャからの無機成分の溶出とその細胞毒性に関する研究. 日歯保存誌 37 : 254-284 1994.
- 49) 世界保健機関 WHO. “環境保健クライテリア 107 (バリウム)” 国立医薬品食品衛生研究所安全情報部. 1997年1月7日, <http://www.nihs.go.jp/hse/ehc/sum1/ehc107.html>, 2009年6月8日
- 著者への連絡先 : 佐藤穂子, (〒963-8611) 福島県郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野
Reprint requests : Yasuko SATOU, Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry
31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan