



Title	レジン系材料が骨芽細胞の増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響
Author(s)	堀川, 大輔
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45563">https://hdl.handle.net/11094/45563</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	堀川大輔
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 19399 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学位論文名	レジン系材料が骨芽細胞の増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響
論文審査委員	(主査) 教授 恵比須繁之 (副査) 教授 高橋 純造 助教授 島袋 善夫 講師 平賀 徹

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

レジン系材料は、すぐれた歯質接着性を有していることから、歯冠修復治療のみならず、歯根端切除後の逆根管充填や歯根破折歯の接着再建・再植法、穿孔部の封鎖などへとその用途が拡大されつつある。これらの用法においては、適用したレジン系材料が上皮下の創傷部において使用されることとなり、歯根周囲組織の治癒に及ぼす影響という観点からその有用性を検索する必要があるが、この点については、病理組織学的検討がいくつかあるのみで、細胞レベルでのレジン系材料の影響についてはほとんど解明されていない。そこで、本研究では、三種の異なる組成のレジン系修復材料を用いて、それらが骨芽細胞系細胞の付着・増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響を *in vitro* にて解析した。

#### 【方法ならびに成績】

Bis-GMA/TEGDMA 系コンポジットレジンである Clearfil APX (APX)、MMA/PMMA 系レジンセメントである Super-Bond C&B (SB)、およびレジンモディファイドグラスアイオノマーセメントである Fuji Ionomer Type II LC (LC) を被験材料とした。

まず、直径 10 mm、厚さ 2 mm の硬化試料上で MC3T3-E1 細胞または C2C12 細胞を 3-21 日間培養後、走査型電子顕微鏡 (SEM) により細胞の付着・増殖状態を観察するとともに、試料上の細胞を回収し、MTT アッセイによる細胞増殖活性の測定ならびに Alkaline phosphatase (ALP) 活性の測定を行った。その結果、APX および SB では、両細胞とも良好な付着と増殖が観察され、細胞増殖活性や ALP 活性の抑制作用も小さかったのに対し、LC では、ポジティブコントロールとして用いた酸化亜鉛ユージオールセメントと同程度の細胞の付着・増殖阻害と、細胞増殖活性ならびに ALP 活性の強い抑制が認められた。また、各試料を蒸留水に浸漬し、高速液体クロマトグラフィーを用いて硬化体から溶出する未重合モノマーの同定と定量を行ったところ、3 日間の浸漬により、APX、SB、LC から、それぞれ、約 95  $\mu$ g/mL の TEGDMA、約 10  $\mu$ g/mL の MMA、約 400  $\mu$ g/mL の HEMA の溶出が検出された。さらに、各試料を浸漬した培地の pH 変化を経時的に測定した結果、APX と SB の浸漬では培地の pH 変化は生じなかったが、LC では、3 日間の浸漬後には pH 値が 5.6 に低下することが分かった。

つづいて、硬化試料からの溶出が確認された TEGDMA、MMA、HEMA を添加した分化誘導培地を用いて MC3T3-E1 細胞を 3-28 日間培養し、SEM にて増殖状態を観察した。また、7-28 日間培養後、type I collagen、

osteonectin、osteopontin、bone-sialoprotein、osteocalcin の mRNA の発現を RT-PCR 法により検索するとともに、Dahl 法により石灰化物の形成を評価した。硬化試料から溶出する濃度の TEGDMA あるいは MMA の存在下では、良好な細胞の増殖が観察され、分化マーカーの発現や石灰化物形成に影響は認められなかった。しかし、HEMA を添加した場合、200  $\mu$ g/mL 以上の濃度では MC3T3-E1 細胞の増殖が阻害され、osteocalcin の発現と石灰化物形成の抑制が確認された。

さらに、ポリアクリル酸を添加して pH 値を 5.0、5.6、あるいは 6.0 に調整した培地を用いて MC3T3-E1 細胞を 3 日間培養後、SEM により観察したところ、pH5.6 以下の酸性環境下では細胞の増殖抑制が認められた。

#### 【総括】

APX と SB は、骨芽細胞系細胞の付着・増殖に適しており、その分化や石灰化能に及ぼす抑制作用も小さいことが明らかとなった。これに対して LC では、高濃度の未重合 HEMA の溶出と培地の pH 低下により、細胞の付着・増殖と分化が抑制され、石灰化が阻害されることが分かった。すなわち、APX と SB は、LC に比べて骨芽細胞系細胞に対する為害性が少なく、逆根管充填や歯根破折歯の接着再建・再植法などに応用した場合、歯根周囲組織の治癒に及ぼす悪影響が小さい材料である可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、三種の異なる組成のレジン系修復材料が骨芽細胞系細胞の付着・増殖、分化ならびに石灰化に及ぼす影響を *in vitro* で検討したものである。

その結果、Bis-GMA/TEGDMA 系コンポジットレジンおよび MMA/PMMA 系レジンセメントは、レジンモディファイドガラスアイオノマーセメントに比べて、MC3T3-E1 細胞や C2C12 細胞の付着・増殖が良好で、それらの代謝や分化、石灰化に及ぼす抑制作用も小さく、骨芽細胞系細胞に対する為害性が小さい材料であることが明らかとなった。

以上の研究結果は、歯根周囲組織の治癒に対する影響という点でのレジン系修復材料の有用性について貴重な知見を提供するものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。