原著論文

簡易型イオン導入器による象牙細管封鎖効果について

三島 信好 矢谷 博文 近藤 康弘
横山 智子 山下 敦

Effect of Zinc Iontophoresis on Sealing of Dentinal Tubules by a New Handy Electolytic Applicator

Nobuyoshi Mishima, Hirofumi Yatani, Yasuhiro Kondo,
Tomoko Yokoyama and Atsushi Yamashita

Abstract : The authors devised a new handy apparatus for iontophoresis in order to prevent pulp irritation caused by tooth reduction. This study was intended to observe the ability of the device.

8% zinc chloride solution was iontophoresed in the dentin of extracted human and bovine teeth by the device. Then, the dye and microbial invasion tests were carried out to investigate how effectively it could seal the dentinal tubules.

The following conclusions were drawn :

1. By the zinc iontophoresis, the zinc briefly penetrated into the deep portion of the dentin.
2. The zinc iontophoresis by using the new device showed enough ability to decrease the coloring and bacterial invasion into the dentin, although all of the dentinal tubules were not sealed.
3. The tensile strengths of an adhesive luting resin 'Panavia EX' to the bovine dentin decreased significantly by the zinc iontophoresis. This phenomenon could be partly due to the lack of resin tag formation into the dentinal tubules.

Key words : iontophoresis, ZnCl_2 , pulp protection

I. 緒 言

生活歯に歯冠補綴を施す場合、歯髄は多少なりとも障害を受ける。したがって歯髄の消炎処置はもちろんのこ

と支台歯形成から最終補綴物装着に至るまでの期間、外来刺激を遮断し、歯髄保護に努めなくてはならない。しかし、歯髄保護に細心の注意を払ったにもかかわらず、歯髄が障害され、時として抜髄を余儀なくされる事態に陥ることがある。これまで歯髄損傷の原因として、歯牙切削による機械的刺激あるいは温熱刺激、合着材の化学的刺激、辺縁漏洩に起因する細菌侵入、歯牙切削面の汚染等があげられている¹⁻⁴⁾。このように歯冠補綴や保存修復に付随して起こる歯髄損傷の原因は、必ずしも現在

岡山大学歯学部歯科補綴学第1講座（主任：山下 敦教授）
Okayama University Dental School, Department of Fixed
Prosthodontics (Chief: Prof. Atsushi Yamashita)
昭和63年11月28日受付

図 1 試作簡易型イオン導入器と使用した 8% ZnCl_2 溶液

解明しつくされた訳ではないが、外部からの刺激が象牙細管を通じて歯髄へ伝えられ障害されることも一因であることは疑いの余地はない。

そこで著者らは、従来、象牙質知覚過敏症の知覚鈍麻に用いられていたイオン導入法に着目し、本法によれば支台歯形成直後の形成面に開孔した象牙細管を積極的に封鎖することができないかと考え、電圧 5.4 V、最大電流 50 mA の電流を用いる簡易型イオン導入器を試作した (図 1)。

この試作イオン導入器を用いて象牙細管封鎖効果を有するとされる 8% ZnCl_2 溶液を作用させ⁶⁾、ヒト臼歯象牙細管への亜鉛イオンの侵入度および細管への色素侵入度を観察するとともに、牛歯象牙細管への細菌侵入度について検討した。また、亜鉛イオン導入後の牛歯象牙質に対する接着性レジンの接着強さについてもあわせて検討を加えたので報告する。

II. 実験材料および方法

1. 試作イオン導入器による象牙細管の封鎖効果の検討

1) 実験歯

実験歯としてヒト臼歯および成牛前歯を使用した。ヒト臼歯は、抜歯直後に生理食塩水に浸漬して冷暗所に保存し、一週間以内に実験に供した。牛歯は成牛を屠殺した直後に抜歯し、歯髄組織を除去した後生理食塩水中に浸漬し、一週間以内に実験に供した。

2) イオン導入用薬剤

本研究では、冷暗所に保存した 8% ZnCl_2 溶液 (昭和薬品化工社) を使用した⁶⁾。

3) 象牙細管への亜鉛イオン導入および侵入距離の測

図 2 試作イオン導入器による亜鉛イオン導入

定

まず、ヒト臼歯の頬側および舌側軸面に $3 \times 3 \text{ mm}$ の面積で深さが約 2 mm となり、窩底が象牙質で終わる窩洞を形成した。ついで 8% ZnCl_2 溶液を含ませた試作イオン導入器の筆を窩底に接触させ、象牙細管を通じて歯髄方向に 15, 30 ならびに 60 秒間通電し、亜鉛イオンを導入した (図 2)。通電せずに同時間薬剤塗布のみを行ったものを対照とした。イオン導入後あるいは塗布終了後窩洞を水洗し、窩洞を含んだ頬舌側方向に実験歯を切断した後、0.2% ジチゾンアンモニウム溶液中に浸漬し、象牙細管内の亜鉛を検出した。亜鉛の侵入距離は、ニコン F3 (日本光学社) を用いて歯牙断面を撮影し、これを 7.3 倍に拡大したカラープリント上で 10 名がノギスを用いて象牙細管に侵入した亜鉛の窩底からの距離を $1/10 \text{ mm}$ まで計測することにより求め、その平均値を代表値とした。

4) 象牙細管への色素侵入距離の測定

3) と同様に形成した窩洞に、試作イオン導入器を用いて 8% ZnCl_2 溶液を 15, 30, 60, ならびに 90 秒間作用させた後、窩洞以外の歯質表面にネイルエナメル (マックスファクター社) を塗布し、0.2% 塩基性フクシン水溶液中に 24 時間浸漬して実験資料とした。色素の侵入距離は 3) と同様の方法で測定した。

5) 象牙細管への細菌侵入の抑制効果の検討

図 3 左に示すように、牛歯象牙質片に直径 3 mm の円形窩洞を窩底象牙質の厚さが 1 mm となるように形成し、この窩洞を内部に包括する形で内径 6 mm、高さ 90 mm のガラス管をエポキシ系接着材を用いて接着し、まずこれを 24 時間室温で硬化させた。歯牙処理は、試作イオン導入器を用いて形成窩洞内に 8% ZnCl_2 溶液を 30 秒間あるいは 60 秒間作用させた場合と、無処理の場合の 3 種とした。つぎに、BHI 培地 (DIFCO 社製) を 5 cc 入れた試験管内に前述した資料を図 3 右に示す

図 3 細菌通過実験模式図

深さまで浸漬し、プラスチックキャップとガラス管の間隙をエポキシ接着材で封鎖した。なお実験に先立ち、実験器材および牛歯はエチレンオキサイドガスで 24 時間滅菌し、培地はオートクレーブにて 120°C で 15 分間の滅菌処理を施した。

被験菌は、象牙細管の通過が可能な大きさや形状であることを考慮して、球菌である *St. mutans* と桿菌である *E. coli* の 2 種類の菌を選択した。*St. mutans* は直径 0.5~0.8 μm 、*E. coli* は幅 1.1~1.5 μm 長さ 2.0~6.0 μm で、今回使用した牛歯の象牙細管の断面は直径 3.0~5.0 μm の円形であった。2 種の菌を 10 ml の BHI 培地に各々 1 エーズずつ釣菌し、37°C 恒温槽内で 24 時間培養したものを 1,000 倍希釈し、混濁度計 (日立社製 Model 100-10) による計測で混濁度 0.5 に達するまで培養した。培養した菌 1 cc を図 3 右の上部ガラス管に注入し、上部を滅菌したゴム管とクリップで封鎖した後、37°C 恒温槽内で培養し、細菌が象牙細管を通過して下部試験管内の BHI 培地で増殖する経過を混濁度計を用いて経時的に観察した。なお、2 種の細菌の growth curve もあわせて観察した。

2. 亜鉛イオン導入が象牙質面の接着強さに及ぼす影響

牛歯唇側のエナメル質を削除して象牙質を露出させ、耐水エメリーペーパーで #600 まで平滑研磨し被着面とした。この被着面に試作イオン導入器を用いて 8%

図 4 亜鉛の侵入距離の経時的变化

ZnCl₂ 溶液を 30 秒間作用させ、水洗乾燥後、40% リン酸で 60 秒間エッチングを行った。ついで平均粒径 50 μm の Al₂O₃ で 5 秒間サンドブラスト処理した直径 7 mm のステンレス SUS 304 円柱棒をパナビア EX (クラレ社) を用いて牛歯被着面に自重で接着した。装着の完了した資料を 37°C 恒温槽中に 24 時間放置した後、島津製作所製オートグラフ DCS-2000 を用いてクロスヘッドスピード 2.0 mm/min で引張り、破折時の破壊応力を接着強さとして求めた。また、エッチング後 SUS 304 円柱棒を接着した資料を 2 N の HCl で脱灰し、象牙細管内に形成されたレジntagを観察した。

a. 窩洞直下

b. 象牙質中層部

図 5 象牙細管への亜鉛の侵入

図 6 象牙細管への色素の侵入状態

表 1 色素侵入試験の結果

	—	+	+
Control	0	1	13
ZnCl ₂ 15 sec	0	2	14
ZnCl ₂ 30 sec	4	2	10
ZnCl ₂ 60 sec	7	2	7
ZnCl ₂ 90 sec	6	3	7
ZnCl ₂ 30 sec × 3	6	4	6

— 侵入せず

+ 中層まで侵入

+ 歯髄まで侵入

III. 結 果

1. 象牙細管における亜鉛イオンの検出

図 4 に亜鉛の侵入距離を示す。試作イオン導入器を使用した場合、作用時間が 15 秒では塗布のみの約 2.3 倍、30 秒間では塗布のみの約 2 倍の距離まで亜鉛が侵入したが、60 秒間ではほぼ同じ侵入距離となった。図 5 は、試作イオン導入器を用いて 8% ZnCl₂ 溶液を 15 秒間作用させた歯牙断面を実体顕微鏡イグザメット（ユニオン

社）により拡大撮影した亜鉛の染色状態を示している。

2. 象牙細管への色素侵入

図 6 に色素の侵入状態、表 1 に色素侵入の判定結果を示す。

塗布のみの場合と 15 秒間イオン導入を行った場合は、ともに歯髄まで著しい色素の侵入が観察された。30 秒間と 60 秒間イオン導入を行った場合は、色素が歯髄まで侵入した窩洞は減少し、色素が侵入しない窩洞が増加した。さらに 90 秒間イオン導入を行った場合と 30 秒間ずつ 3 回行った場合も検索したが、60 秒間の場合と差は認

図 7 2種の細菌の growth curve と generation time

められなかった。

3. 象牙細管への細菌侵入

図 7 に 37°C 恒温槽内の BHI 培地で培養した場合の 2 種の菌の growth curve と generation time を示す。Generation time は, *St. mutans* が 60 秒, *E. coli* が 33 秒であった。Growth curve は, BHI 培地で増殖する細菌の数を混濁計を用いて計測した数値の経時変化を表し, この直線部分より細菌の増殖する速度, すなわち generation time が得られる。

図 8 は, 象牙細管を通過し下部試験管で増殖した細菌の混濁度を一定時間ごとに計測して得られた growth curve で, generation time に従って接線を引き, 細菌が最初に象牙細管を通過した時間を推察した。

St. mutans は, 亜鉛イオン導入を 30 秒間および 60 秒間行った場合, 対照と比較して細菌の growth curve が右方に移動しており, 細菌が象牙細管を通過するのに要する時間が長くなっていることが確認された。一方, *E. coli* では, 亜鉛イオン導入を行うと象牙細管を通過して下部試験管内で増殖した試料が減少した。60 時間後までに下部試験管内で増殖のみられなかった試料は, 歯面処理しなかった場合 29%, 試作イオン導入器で 30 秒間亜鉛イオン導入を行った場合 58%, 60 秒間行った場合 60% であった。

4. 亜鉛イオン導入が接着強さに及ぼす影響

図 9 は象牙質に形成されたレジンタグの SEM 像を示す。イオン導入を行わなかった場合は著明にレジンタグ

図 8-a 細菌の通過状態 (リン酸エッチングのみ)

の形成が認められるが, 8% ZnCl_2 溶液を試作イオン導入器を使用して 30 秒間作用させた場合では, レジンタグの形成はほとんど認められなかった。図 10 に引張り接着強さ試験の結果を示す。エッチングのみの場合, 平均

図 8-b 細菌の通過状態 (亜鉛イオン導入 30 秒)

図 8-c 細菌の通過状態 (亜鉛イオン導入 60 秒)

a: リン酸エッチングのみ (60 秒)

b: リン酸エッチング (60 秒) 後, 亜鉛イオン導入 (30 秒)

図 9 牛歯象牙質に形成されたレジンタグ

25.6 kgf/cm², 亜鉛イオン導入後にエッチングを行った場合, 平均 12.7 kgf/cm² であり, レジンタグの減少に対応して引張り強さも減少した。

IV. 考 察

保存補綴修復時に時として歯髄損傷を引き起こすこと

は古くから知られている。この歯髄損傷が起こる原因については現在でも議論の余地を多く残しているが、大別すると3つの原因説があるようである。すなわち、1つは窩洞形成時の刺激であり、1つは修復材料による刺激、さらにもう1つは辺縁漏洩による刺激である¹⁻⁴⁾。

これらの原因のうち1971年に Brännström ら³⁾が歯髄刺激を生じた修復物の窩底に多くの細菌を発見したの

図 10 象牙質に対する引張り接着強さ

を機に、辺縁漏洩により侵入した細菌の毒素により歯髄損傷が起こるとする説が重要視されるに至った。最近になって、この歯髄損傷の原因のすべてが細菌によるものだとする説には反論が出されており⁵⁾、結論を得るにはまだ時間が必要である。しかし、歯髄刺激の原因がいずれにあるにせよ、刺激は象牙細管を通じて歯髄に達することには議論の余地がない。したがって象牙細管の封鎖を図ることによって、歯髄損傷を防ぐことは修復の基本原則であると考えられる。

この細管封鎖は、齲窩に対する保存修復処置においてはカルボキシレートセメントやアイオノマーセメント等による裏層という形で行われている。しかし、これらの材料と象牙質との接着力はきわめて弱いため⁷⁾、コンポジットレジンと重合収縮により裏層材が窩底象牙質から浮き上がって間隙ができる欠点指摘されている⁵⁾。これに対し、近年象牙質に高い親和性をもつ接着材やボンディング材の開発が進められているが、これとても象牙質との接着力はエナメル質に対するそれと比較してまだ十分でなく、特に耐久性には問題がある⁸⁾。

したがって現時点においては支台歯形成した生活歯の歯髄を確実に保護する方法として、物理的に象牙細管の封鎖を図るイオン導入法は優れた方法の一つであると考えられる。

1. 試作簡易型イオン導入器について

イオン導入法はイオン化した薬剤中の荷電粒子を電場の力を借りて積極的に拡散移動させる術式で、基本的原理は電気泳動法と同じである。本法は歯科においては感染根管治療や象牙質知覚過敏の治療に広く利用されており、従来より種々のイオン導入器が市販されている。本研究で試作した試作簡易型イオン導入器は従来の機器に比べて小型で、操作も簡単である。本器の使用にあつ

てはまず筆状の関電導子に薬液を十分に浸して患部に接触させ、術者が指で患者の頬粘膜に触れると両者の間に回路が形成され、ランプが点灯してイオン導入が開始される。本器は電源として KANTOP-ACE (昭和薬品化工製) を使用しており、この電池の向きを変えるだけで陽イオン導入にも陰イオン導入にも利用できるという特徴をもつ。

2. イオン導入による亜鉛イオンの象牙質への浸透状態について

イオン導入に利用される主な薬剤には 2% フッ化ナトリウム溶液と 8% 塩化亜鉛溶液がある。特に前者によるフッ素イオン導入法については、多くの研究者により臨床成績が報告されており⁹⁻¹¹⁾、歯科においては最も一般的な方法であるが、本研究においては染色法によりイオンの象牙質内への浸透状態を観察するため、金属イオンである亜鉛イオン導入を選択した。

井上⁶⁾は鍍金法により亜鉛の象牙質への浸透状態を観察し、イオン導入を行うと亜鉛が細管にそってほとんど歯髄に達するまで侵入するが、塩化亜鉛溶液を塗布しただけでは亜鉛はほとんど象牙質内へ浸透しなかったと報告した。また、藤正¹²⁾は亜鉛イオン導入した歯の象牙質を X 線マイクロアナライザーにより分析した結果、亜鉛はほとんど象牙細管内で検出され、その浸透深度は導入時間に依存することを示した。さらに象牙細管の閉塞によると思われる亜鉛イオン導入後の象牙質の電気抵抗値の増大を明らかにしたが、塗布のみでは抵抗値にほとんど変化を認めず、亜鉛はほとんど浸透しないことを示唆した。

このように亜鉛イオンは塩化亜鉛溶液を塗布しただけでは象牙細管にはほとんど浸透せず、イオン導入を行って初めて象牙細管内深くまで浸透するものと思われる。

本研究においても通電時間 15 秒と 30 秒においては、亜鉛イオンの浸透状態は同時間溶液を塗布した場合と比較して有意に大きい侵入距離を示した。しかし、塗布のみの場合でも 60 秒経過後にはイオン導入を行った場合とほぼ同様の侵入距離を示した。この理由については必ずしも明らかではないが、本研究においては実験歯を切断してから亜鉛を染色したため、切断時に亜鉛が歯髄方向へ移動した可能性が考えられる。このことはイオン導入時に亜鉛は早期に深くまで侵入しており、その侵入距離は導入時間にほとんど影響を受けていないことから推察できる。

また、鍍金法による観察は単に金属の存在の有無を検

出するもので、象牙細管の封鎖あるいは閉塞の程度に関する情報は得られない。そこで、試作簡易型イオン導入器を用いた亜鉛イオン導入による象牙細管の封鎖効果をより正確に検討するため、色素侵入試験および細菌通過試験を行った。

3. 亜鉛イオン導入による象牙細管の封鎖効果について

亜鉛イオン導入によるヒト象牙質に対する色素侵入の抑制効果は、通電時間の増加とともに向上した。しかし、通電時間が60秒間と90秒間ではその抑制効果にほとんど差が認められなかった。実験で使用した試作簡易型イオン導入器のように定電流を通電する方法では、通電時に分極が起こって電流値が低下する現象が知られている。電流値が低下すれば当然イオンの象牙質内への輸送量は減少する。そこで、色素侵入の抑制効果の頭打ちがこの分極現象によるものかどうかを確認するため、通電時間を30秒ずつ3回にわけてイオン導入を行い、色素侵入の抑制効果を観察したが、やはり60秒間および90秒間の通電における抑制効果と変化は認められなかった。このことは約60秒間の通電により、象牙細管内にすでに飽和に近い量の亜鉛イオンが取込まれることを示唆している。

その一方で、イオン導入後も歯髄まで色素が侵入した実験歯が約半数に認められたが、この結果がそのままイオン導入による歯髄保護の効率の悪さを物語るものではない。というのは、亜鉛イオンにより象牙細管が狭窄しても閉鎖されなければ色素は侵入するが、生物学的には狭窄するだけで象牙細管内の組織液の移動が抑制され、歯髄障害が起こる可能性は減少すると考えられるからである。

亜鉛イオン導入による象牙細管の狭窄は、大きさの異なる2種の細菌を用いた細菌通過実験により確認することができた。*St. mutans* よりも大きい *E. coli* は60秒間の亜鉛イオン導入を行った実験歯の60%で全く細管を通過しなかった。これに対し、*St. mutans* は、通過時間は延長するものの細管を通過しない実験歯の数は対照と差が認められなかった。このことは窩洞内に開口した象牙細管は、亜鉛イオン導入により完全封鎖されることがほとんどないことを示しており、イオン導入された象牙細管中の金属の分布は一様ではなく、まったく金属が検出されない細管も認められたとする藤正の報告¹²⁾とも一致する。いずれにせよ、イオン導入によって象牙細管に浸透した亜鉛イオンは歯質蛋白を凝固させるととも

に、歯質無機質中のカルシウムと置換してリン酸亜鉛を形成し、象牙細管を填塞するものと思われる^{6,13)}。したがって形成歯に対する試作簡易型イオン導入器による亜鉛イオン導入は有効な歯髄保護対策の1つであると考えられる。

4. 亜鉛イオンの導入が接着強さに及ぼす影響

亜鉛イオンを導入した牛歯象牙質に対するパナビア EX の接着強さは、イオン導入を施さない場合と比較して約半分に減少した。接着試験片を脱灰して SEM により観察したところ、亜鉛イオンを導入した牛歯象牙質においては、レジntagがほとんど形成されておらず、接着面積が減少して接着強さが低下したと説明できる。山賀¹³⁾は、亜鉛により歯質中の無機質の耐酸性が向上すると述べており、亜鉛イオン導入を行った象牙質をリン酸によりエッチングしても十分に脱灰が進行せず、レジンは象牙細管に侵入しないものと考えられる。イオン導入により象牙質の接着強さが減少することは、イオン導入による歯髄保護の臨床上の1つの欠点であろう。

V. 結 論

ヒト臼歯象牙質および牛歯象牙質を用いて、試作簡易型イオン導入器による亜鉛イオンの象牙細管への導入度、象牙細管の封鎖効果、さらに亜鉛イオンが接着性レジンの象牙質に対する接着強さに及ぼす影響について検索し、以下の結論を得た。

1. 試作イオン導入器により、短時間のうちに象牙細管深部にまで亜鉛イオンを導入することが可能であった。
2. 亜鉛イオンによる象牙細管の封鎖は完全には行われなかったが、色素侵入および細菌侵入を抑制することが可能であった。
3. 亜鉛イオン導入により、象牙質の耐酸性が向上し、エッチングによる歯髄損傷を減ずることが可能であると推察されたが、パナビア EX との接着強度は低下した。
4. 以上より、生活歯に歯冠補綴を施す場合、支台歯形成直後に形成面に対して亜鉛イオン導入を行うことにより、支台歯形成や装着材による損傷を有効に防ぎ得ることが示唆された。

稿を終るにあたり、細菌通過実験について多くのご助言を頂きました本学歯学部口腔細菌学教室の加藤慶二郎教授、福井和

博助教授、苔口 進助手に深甚なる感謝の意を表します。

本研究の要旨は第 75 回日本補綴歯科学会学術大会にて発表した。

文 献

- 1) 堀江英二：窩洞形成が歯髄に及ぼす影響に関する臨床病理学的研究，日歯保誌，4：1～55，1961.
- 2) Zander, H.A. : Pulp response to restorative materials, J Amer Dent Assoc, 59 : 911～915, 1959.
- 3) Brännström, M. and Nyborg, H. : The presense of bacteria in cavities filled with silicate cement and composite resin materials, Swed Dent J, 64 : 149～155, 1971.
- 4) Mjör, I.A. : Bacteria in experimentally infected cavity preparations, Scand J Dent Res, 85 : 599～605, 1977.
- 5) 総山孝雄：接着性レジン充填による歯髄刺激の因子と予防, the Quintessence, 6 : 95～108, 1987.
- 6) 井上雅臣：象牙質知覚過敏の処置としての亜鉛イオン導入法，日歯保誌，1：1～16，1958.
- 7) Beech, D.R., Solomon, A. and Bernier, R. : Bond strength of polycarboxylic acid cements to treated dentine, Dent Mater, 1 : 154～157, 1985.
- 8) 清水正弥：4-META/MMA-TBB 系レジンのウシ象牙質への接着—長期安定性と水の影響—，歯材器，6：860～872，1987.
- 9) Manning, M.M. : A new approach to desensitization of cervical dentine, Dent Survey, 37 : 731～734, 1961.
- 10) 津田忠政：イオン導入に関する研究 とくに象牙質への通電に伴う最小感知電流および知覚過敏症改善効果について，日歯保誌，23：301～312，1980.
- 11) 長谷 徹：象牙質知覚過敏症へのフッ素イオン導入法の基礎的研究，日歯保誌，28：527～547，1985.
- 12) 藤正敬夫：イオン導入による象牙質内金属イオンの濃度分布について，口病誌，45：74～89，1978.
- 13) 山賀禮一：お歯黒から予防歯科材料へ，日歯会報，5：14～17，1979.