

## 試作 $\alpha$ -TCP/Te-CP セメントの生活歯髄切断への応用

多賀谷 正 俊<sup>1)</sup> 飯 沼 光 生<sup>1)</sup> 亀 水 秀 男<sup>2)</sup>  
足 立 正 徳<sup>2)</sup> 土 井 豊<sup>2)</sup> 田 村 康 夫<sup>1)</sup>

### $\alpha$ -TCP/Te-CP Cement Application in Pulpotomy

TAGAYA MASATOSHI<sup>1)</sup>, IINUMA MITSUO<sup>1)</sup>, KAMEMIZU HIDEO<sup>2)</sup>,  
ADACHI MASANORI<sup>2)</sup>, DOI YUTAKA<sup>2)</sup> and TAMURA YASUO<sup>1)</sup>

$\alpha$ -リン酸三カルシウムとリン酸四カルシウムを基材とした  $\alpha$ -TCP/Te-CP セメントを試作し、生活歯髄切断法における貼薬剤としての評価を行った。

$\alpha$ -TCP/Te-CP のモル比が1と1/8のものにハイドロキシアパタイトを5wt%添加したものを1CPおよび8CPとした。練和液には1Mリン酸二水素ナトリウム水溶液を用いて0.6ml/gの粉液比で練和した。蒸留水中では1CPおよび8CPは水酸化カルシウムほどの強いアルカリ性を示さず、 $\alpha$ -TCP量の多い1CPは8CPに比べ弱アルカリを示し、 $\alpha$ -TCPの含有量によりセメントのpHを調整できることができた。

犬の犬歯に本セメントで生活歯髄切断を実施したところ1CP、8CPセメントともに極めて優れた封鎖性を示すことが $\mu$ -CTで立証できた。一方、水酸化カルシウムでは、セメントと象牙質の間、ガラスイオンマーとセメント間に明確な間隙が認められた。ラット臼歯に適用したところ、切断部直下において硬組織様構造物が認められた。術下の歯髄において免疫組織学的検索を行ったところ硬組織様構造物直下にDMP-1の存在が認められ、象牙基質の分泌を行っている象牙芽細胞であることが示唆された。

キーワード：リン酸四カルシウム、 $\alpha$ -リン酸三カルシウム、生活歯髄切断、セメント

*The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of  $\alpha$ -tricalcium phosphate and tetracalcium phosphate  $\alpha$ -TCP/Te-CP cements in pulpotomy. The two kinds of cement used were 1CP and 8CP, which consisted of  $\alpha$ -TCP and Te-CP at the  $\alpha$ -TCP/Te-CP ratio of 1 and 1/8, respectively and contained 5wt% synthetic hydroxyapatite. The alkalinity of the paste, when mixed with a solution of 1 mol/L sodium hydrogen phosphate at a liquid and powder ratio of 0.6 (g/ml) in distilled water never exceeded that of calcium hydroxide, which was mixed with saline solution at a ratio of 1.0 (g/ml), with 1CP being much less alkaline than 8CP.*

*When applied to the open pulp tissue of dogs for one month, both 1CP and 8CP cements showed adequate sealing as clearly demonstrated by micro-focus X-ray computed tomography ( $\mu$ -CT). With calcium hydroxide, however, clearly visible gaps were observed by  $\mu$ -CT between the material and dentine, and between the material and glass ionomer cement used as temporary filling. Nevertheless, with calcium hydroxide, a structure similar to the hard tissue beneath the material was more evident than with 1CP and 8CP. When 8CP cement was applied to rat molars for one month, DMP-1 positive cells were immunohistochemically identified in the pulp chamber, suggesting that restoration dentin was formed with 8CP.*

Keywords: tetracalcium phosphate,  $\alpha$ -tricalcium phosphate, pulpotomy, cement

### 緒 言

水酸化カルシウムは切断された歯髄創傷面に直接貼

薬することにより硬組織を誘導する材料として小児歯科領域をはじめ広く臨床で応用<sup>1)</sup>されている。歯髄創傷面に貼付した場合、強アルカリの作用により貼付面

<sup>1)</sup>朝日大学口腔構造機能発育学講座小児歯科学分野

<sup>2)</sup>朝日大学口腔機能修復学講座歯科理工学分野

<sup>1)</sup>Department of Pediatric Dentistry, Division of Oral Structure, Function and Development

<sup>2)</sup>Department of Dental Materials Science, Division of Oral Functional Sci-

ence

Asahi University School of Dentistry

Hozumi 1851, Mizuho, Gifu 501-0296, Japan

(平成17年12月20日受理)

の組織が壊死し、この壊死組織が保護層として働く。そして、この壊死による刺激が歯髄細胞の分裂、増殖を促進して未分化間葉細胞から象牙芽細胞への分化を助長し、デンチンブリッジの形成に深く関与している<sup>2)</sup>と云われている。一方、ラットを無菌状態で飼育すると歯髄がデンチンブリッジを形成するとの報告<sup>3)</sup>もあるが、切断部を死腔状態にすると、デンチンブリッジを形成せずに線維性の治癒を示すとの報告<sup>4)</sup>、また生物学的活性のない物質、例えばテフロンのようなものでは硬組織形成は少ないとの報告<sup>5)</sup>もあり、未だ歯髄組織がデンチンブリッジを形成する機序は不明である。

水酸化カルシウムは覆髄剤としても優れた成績を残している。しかし、現在市販されている水酸化カルシウム製剤は、低強度で、材料自体には接着性<sup>6)</sup>がないため、修復材や象牙質との間に機械的な封鎖は望めない。このことより水酸化カルシウムの抗菌性は一時的なものであり、辺縁漏洩による歯髄感染が起こる可能性も示唆されている<sup>7)</sup>。

一方、覆髄剤としての水酸化カルシウムの代替材として、象牙質片<sup>8)</sup>、 $\alpha$ -リン酸三カルシウム<sup>9)</sup>、 $\beta$ -リン酸三カルシウム<sup>10)</sup>、リン酸八カルシウム<sup>10)</sup>、ハイドロキシアパタイト<sup>11)</sup>、BMP<sup>12)</sup>、バイオガラス<sup>13)</sup>、テフロン<sup>5)</sup>などが試みられてきた。中でも、リン酸カルシウム系基材は生体親和性に優れているものの、水酸化カルシウムほどの硬組織誘導性が認められておらず、さらに多くの場合、材料自体は粉末で、硬化性はなく、水酸化カルシウムと同様に封鎖性についての問題が提示されている。

本研究では、自硬性および、アルカリ性を示すリン酸4カルシウム(Te-CP)に着目した<sup>14)</sup>。このTe-CP基材にアルカリ性を調整するために $\alpha$ -リン酸三カルシウム( $\alpha$ -TCP)を添加したセメント、すなわち $\alpha$ -TCP/Te-CPセメントを試作し、このセメントの生活歯髄切断法における貼薬剤としての評価を行った。

## 材料および方法

### $\alpha$ -TCP/Te-CP セメント

炭酸カルシウム( $\text{CaCO}_3$ )とリン酸カルシウム二水和物( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )をカルシウムとリン酸モル比が1.5から2.0となるように機械混合したものを1,500°Cで5時間加熱して $\alpha$ -TCP/Te-CPのモル比が異なる焼成体を得た<sup>15,16)</sup>。本研究では $\alpha$ -TCP/Te-CPが1と1/8となるよう炭酸カルシウムとリン酸カルシウム二水和物を機械混合後、焼成した。得られた各々の焼成体を粉碎し、40°Cで作製したハイドロキシアパタイト(40-HAp)を硬化促進剤として5wt%添加したものを

セメント粉末とした。以下、 $\alpha$ -TCP/Te-CPのモル比が1と1/8のものに40-HApを5wt%添加したものを1CPおよび8CPセメントとした。練和液には、1Mリン酸二水素ナトリウム水溶液<sup>17)</sup>を用い、粉液比(0.6 ml/g)で練和した。

比較対照として使用した水酸化カルシウムは練和液に生理食塩水を用い、1 ml/gの粉液比で練和した。

### セメント浸漬蒸留水のpHの経時変化

セメントを練和し、円柱形割型(直径6 mm, 厚さ3 mm)を用い、各々のセメントを練和したものを填入し、1分後に割型から取り出し、10mlの蒸留水をいれたバイアル瓶に浸漬し密封した。その後、試料の入ったバイアル瓶を37°Cの恒温槽に静置し、1, 3, 7, 14, 28日後に各バイアル中の蒸留水のpH(model 350, Orion)を測定した。

### 貼薬剤としての封鎖性

犬の犬歯歯髄切断面に試作セメントを貼薬し、封鎖性を評価した。北山ラベス生産のHBD犬10か月齢6匹を用い、被験歯は上下顎左右犬歯24歯とし、ペントバルビタールナトリウム注射液(NEMBUTAL<sup>®</sup>, 大日本製薬)0.5ml/kgにて静脈注射による全身麻酔を行った。各犬歯側面よりポータブルユニット(ポータブルユニットN1, ヨシダ)のタービンにダイヤモンドポイント(#1301, SHOFU)を装着して髓室開拡を行い、同ユニットのエンジンに#2の円形スチールバーを用いて歯髄切断を行った。その後、10%次亜塩素酸ナトリウムと3%過酸化水素水で交互洗浄したのち、生理食塩水にて水洗し、滅菌綿球で窩洞内の水分を除去し止血した。1CPと8CPセメントおよび水酸化カルシウムを歯髄切断面に貼薬し、グラスアイオノマー系セメント(BASECEMENT<sup>®</sup> (PINK), SHOFU)にて仮封した。

術後4週間飼育したHBD犬を前述と同様の全身麻酔下にて頸部灌流固定を行い、被験歯の摘出を行った。アルコール上昇系列にて脱水後、スチレンモノマーに浸漬し、浸透後ポリエチレン樹脂にて包埋した。その後、微小焦点X線断層撮影装置( $\mu$ -CT VENLO X-Tek)にて10 $\mu$ m間隔で100枚の断層像を得た。この断層像を用い、本セメント及び、水酸化カルシウムの封鎖性について検討を行った。

なお、本実験は朝日大学動物実験指針に基づいて、実施した。

### 硬組織誘導性

Wister系ラット7週齢6匹を用い、被験歯は上顎左右第一臼歯12歯を用いた。ペントバルビタールナトリウム注射液0.5ml/kgにて腹腔内注射による全身麻酔を行った。各第一臼歯咬合面または、近心隣接面より

ポータブルユニットのタービンにダイヤモンドポイント (BAMBINO<sup>®</sup>, 井上アタッチメント) を装着して髄室開拓を行った。その後、10%次亜塩素酸ナトリウムと3%過酸化水素水で交互洗浄したのち、生理食塩水にて水洗し、滅菌綿球で窩洞内の水分を除去し止血した。

生活歯髄切断の貼薬剤として使用されている水酸化カルシウムや今回試作したセメントでアルカリによる刺激が一番強い8CPを直接覆髄し、ガラスイオンマー系セメントにて仮封した。術後4週間飼育したラットを同様の全身麻酔下にて灌流固定を行い、被験歯の摘出を行った。その後、4%パラホルムアルデヒドにて固定後、K-CX 脱灰液にて脱灰、4%硫酸ナトリウム水溶液で洗浄した。アルコール上昇系列で脱水後、通法に従いパラフィン包埋した。厚さ5 $\mu$ mの連続切片を作製し Hematoxylin-Eosin 染色を行った。

また、歯髄の修復性象牙質形成の有無を見るために抗 dentin matrix protein-1 (DMP-1) を用いた免疫染色<sup>18)</sup>を行った。免疫染色は一次抗体に抗 DMP-1 ウサギポリクローナル抗体 (TAKARA BIO) を設定し、ペルオキシダーゼ標識2次抗体を用いて酵素を標識し、3,3'-Diaminobenzidine (DAB) 発色した。なお、ラット組織に対するマウスモノクローナル抗体の動物種間交差は、予め2次抗体をマウス正常血清にて吸収したもの (ヒストファインシンプルステインラット MAX-PO MULTI (Nichirei)) を用い、対照は1次抗体を除いて以降の操作を同様に行った。なお、本実験は朝日大学動物実験指針に基づいて、実施した。

### 結 果

試作した1CPおよび8CPのセメントの原料粉末 (5wt%の40HApを含まない) のX線回折図を図1に示した。この回折図におけるピークはJCPDSカードにより  $\alpha$ -TCP と Te-CP のピークのみからなり (図1B)、他の不純物がないことを確認後に実験に使用した。図1Aが示すように8CPの場合、Te-CP由来のピークが相対的に強く、逆に  $\alpha$ -TCP由来のピークが相対的に弱い事が理解できる。

図2は2種類の円柱状セメント試料を蒸留水に浸漬した時の蒸留水 pH の経時変化である。同様に作製した水酸化カルシウムの場合、蒸留水浸漬直後に pH 12を示し、それ以降この値を維持した。8CPでも pH の上昇傾向は同様であったが、値は水酸化カルシウムに比べて若干低く (~pH11.0)、それ以降14日までは微妙ながら増加し、14日以後では若干減少する傾向を示した。1CPでは浸漬1日目 pH は8.8程度で、それ以降経時的に上昇し、28日目では約 pH10.5を示し、

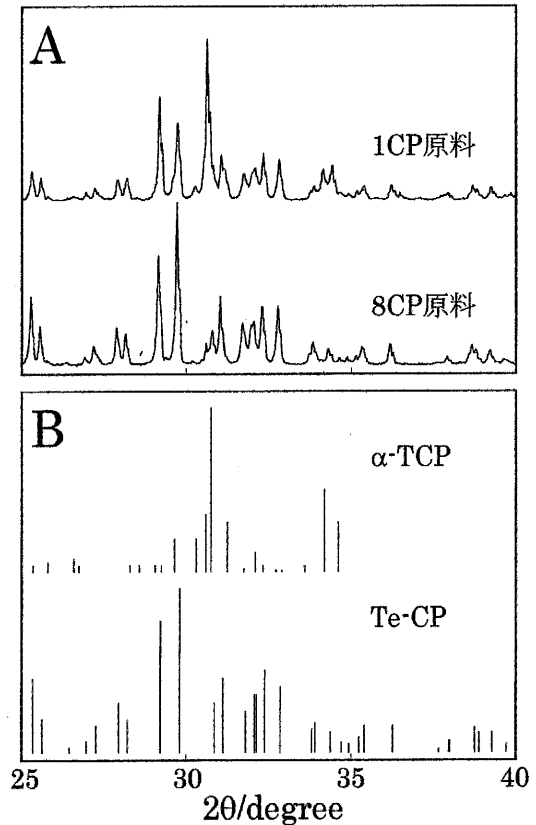


図1 セメント原料のX線回折図  
A: 乾式合成した1CPと8CP原料  
B:  $\alpha$ -TCPとTe-CP回折線のスティックダイアグラム

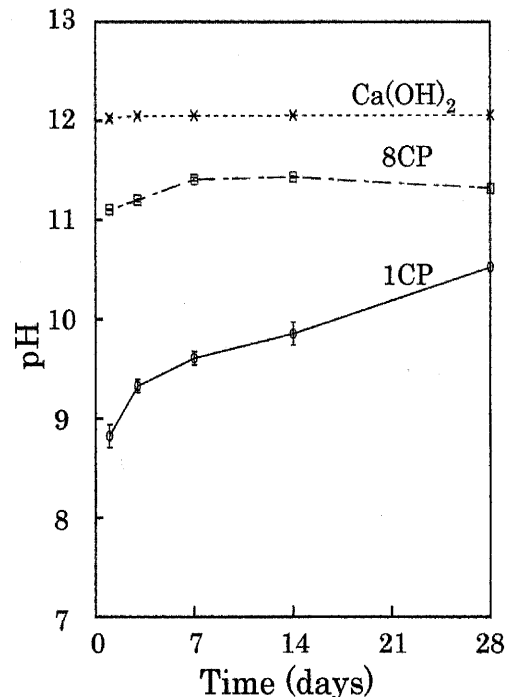


図2 1CP, 8CPセメントと水酸化カルシウム試料の蒸留水 pH の経時変化

試料間では一番低い pH を示すことがわかった。

図3に生活歯髄切断を1 CP (A), 8 CP (B), および水酸化カルシウム (C) で行った場合の $\mu$ -CT像を示す。1 CPではガラスアイオノマーセメントと本セメントおよび象牙質と本セメントの境界部では間隙がほとんど認められず、緊密に封鎖されていることが理解できる。また、セメント直下に横矢印で示したようにデンチンブリッジ様の構造物が認められた。

8 CPの場合、左側上部部に若干の間隙が認められるものの、象牙質と本セメントおよびガラスアイオノマーセメントと本セメントの境界部分では間隙が認められず、良好な封鎖性が維持されていた。また、8 CPでも1 CPと同様にセメント直下に石灰化度の異なるデンチンブリッジ様の構造物がわずかに認められた。比較として用いた水酸化カルシウム (図3C) では矢印で示した様にデンチンブリッジ様の構造物が認められるものの、デンチンブリッジの形成位置は貼薬部から0.3mm以上離れており、不規則な構造を示していることがわかった。また、象牙質と貼薬剤およびガラス

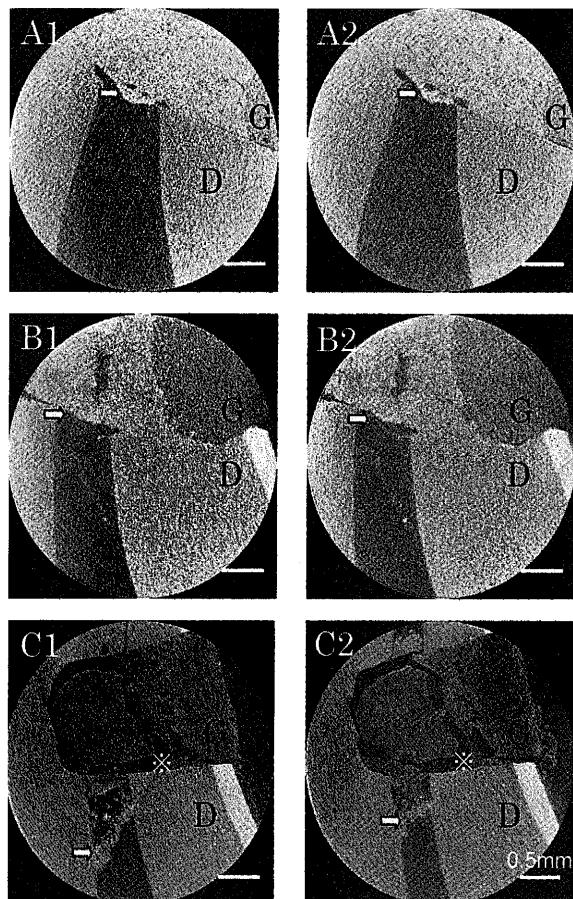


図3 X線 $\mu$ -CT像

A: 1 CP, B: 8 CP, C: 水酸化カルシウム  
(各数字1と2は対応する $\mu$ -CT像が50 $\mu$ m離れている。  
矢印: デンチンブリッジ様構造物, ※間隙,  
G: グラスアイオノマーセメント, D: 象牙質)

アイオノマーセメントと貼薬剤の境界部で間隙が認められた。

8 CPをラットの歯に直接覆髄した時の水平断を図4Aに示す。セメント直下の歯髄組織には炎症性細胞

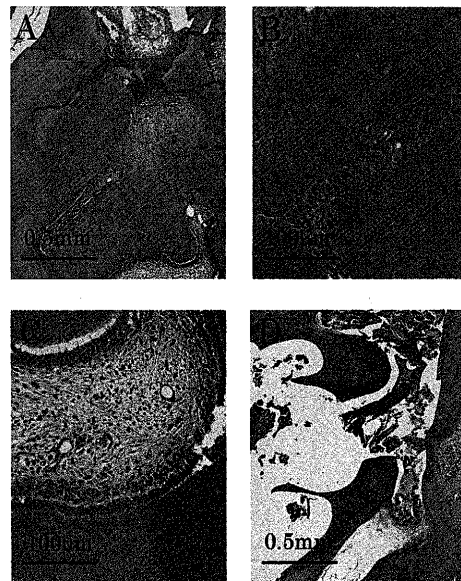


図4 ラット臼歯における直接覆髄4週間後のH-E染色像

(A: 8 CP (水平断), B: 8 CP覆髄下における象牙質様構造物形成部, C: 8 CP覆髄下における正常部, D: 水酸化カルシウム (矢状断))

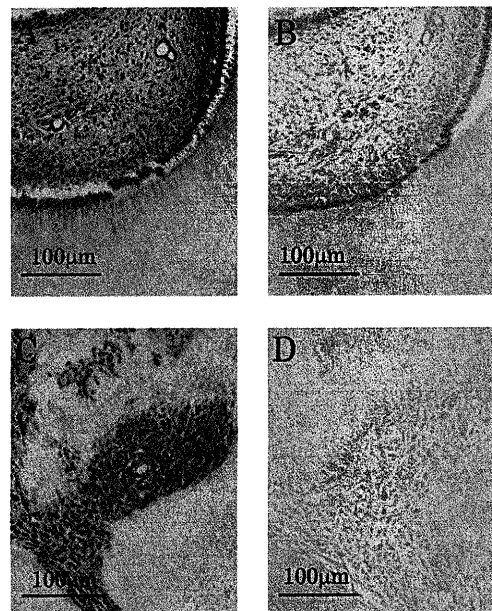


図5 ラット臼歯における8 CP直接覆髄4週間後のDMP-1の免疫染色像

(A: 8 CP覆髄下における正常部, B: 正常部のコントロール, C: 8 CP覆髄下における象牙質様構造物形成部, D: 象牙質様構造物形成部のコントロール)

の浸潤が認められ、線維化が進んでいた。その組織の側壁に象牙質様の構造物が形成され、その端部が側壁の象牙質と癒合していた (図 4 B)。それ以下の組織では一部に血管の拡張が認められるも正常な歯髄構造が認められた (図 4 C)。図 4 D に示すように水酸化カルシウムをラットの歯に直接覆髓した場合、歯髄は壊死しており、残存した歯髄にはパルプシスト様の空洞が認められ、エオジン好性の膜状構造で覆われていた。

8 CP 覆髓正常部では図 5 A に示したように象牙芽細胞、象牙質と象牙細管にも DMP-1 の染色性を示した。図 4 C の実験部ではデンチンブリッジと思われる象牙質様構造物自体には DMP-1 の染色性は認めず、その中に封入された細胞とその周囲に配列する類円形ないし紡錘形の細胞に強陽性が認められた。図 5 A および 5 C に対照として 1 次抗体を除いた図 5 の B, D では DMP-1 の染色性は認められなかった。

## 考 察

生活歯髄切断法は乳歯のう蝕治療において、軽度の炎症あるいは退行性変性を起こした歯冠部歯髄を除去する方法である。歯根歯髄を保存することにより、より生理的な歯根吸収を期待し、正常な乳歯の交換を促す目的として広く臨床で用いられている。その貼薬剤として水酸化カルシウムが用いられた場合、その直下に壊死層が形成される<sup>17)</sup>。その後、壊死層に接する歯髄に象牙芽細胞様の細胞が増殖し、象牙質様の石灰化が生じる。このように水酸化カルシウムは硬組織誘導性を持つこと<sup>1,2)</sup>から、歯髄への貼薬剤として古くから臨床応用されている。しかしながら、貼薬剤として水酸化カルシウム程の高 pH が必要であるとする考えには懸念を示す研究者も多い<sup>18)</sup>。

一方、生活歯髄切断法の貼薬剤、または、覆髓材としての水酸化カルシウムに代わる材料として種々の基材が開発および研究されている<sup>8-14)</sup>。中でもリン酸カルシウム基材は生体親和性にも優れ歯髄に対する貼薬剤として一部臨床応用もされている。しかし、歯髄組織での硬組織誘導性には水酸基 (OH<sup>-</sup>) の関与が少なからずあるものと推察できことから、本研究では水酸基の寄与を積極的に取り入れるため、アルカリ塩のリン酸カルシウム基材としてリン酸四カルシウム (Te-CP) 基材に注目した。

Te-CP は自硬性を有するものの、単独で用いると水酸化カルシウムに匹敵する高い pH を示す。上述したように、貼薬剤として水酸化カルシウムと同程度の高い pH は必ずしも必要でなく、本研究では Te-CP の高アルカリ性を調整するために自硬性を有し、弱酸性を

示す  $\alpha$ -リン酸三カルシウムを加えたセメント、すなわち、1 CP, 8 CP ( $\alpha$ -TCP/Te-CP=1 および 1/8) セメントを開発した。図 2 に示すように、セメント成分中の  $\alpha$ -TCP 量が多い 1 CP では、8 CP に比べ弱アルカリ性を示し  $\alpha$ -TCP 含有量によりセメントの pH を調整できることが実証できた。

Te-CP および  $\alpha$ -TCP は両者とも自硬性を有する為、本研究で開発した  $\alpha$ -TCP/Te-CP セメントも当然自硬性を有する。図 2 に示した結果は蒸留水に円柱状試料を浸漬して求めたものであるが、約 1 か月間各セメント試料は崩壊しなかった事実は、本セメントが自硬性を示す事を確証するもので、先に報告した結果<sup>19)</sup>とも一致する。

水酸化カルシウムが硬組織を誘導する因子として様々なものが考えられているが、主なものとして水酸基およびその pH の作用、カルシウムの作用などが挙げられる。水酸化カルシウムにおける pH とカルシウム濃度の関連性についての研究では水酸化カルシウムの効果は主に pH 依存性であるとしている<sup>20)</sup>。このことから、本セメントは水酸基を遊離しながら硬化するため、適度な刺激と封鎖性を兼ね備えた貼薬剤として応用できる可能性がある。

犬歯に適用した  $\mu$ -CT 像により 1 CP および 8 CP セメントとも象牙質、および修復物との間に空隙が認められず緊密に充填され、それが維持されることがわかった。また、各セメント直下には硬組織様構造物が認められ、さらに壊死層が極めて少ないことが示唆された。これに対して比較として用いた水酸化カルシウムの場合、象牙質およびガラスイオノマーセメントの間には明確な空隙が確認され、貼薬後水酸化カルシウムが溶解したために空隙ができたものと考えられた。空隙ができれば封鎖性は論外となり、その空隙からの細菌の侵入、それに続く細菌感染も懸念される。水酸化カルシウムの場合、このような空隙ができるため、デンチンブリッジが形成された後においてさえ緊密な最終修復が必要になるものと考えられる。

同様な所見はラット白歯に 8 CP を直接覆髓剤として適用した場合にも認められた。術後 4 週で 8 CP 直下の歯髄組織には若干の炎症細胞の浸潤が認められたが、デンチンブリッジ様の構造物も確認され、このデンチンブリッジ様内の細胞は DMP-1 染色陽性を示し、象牙芽細胞がこのデンチンブリッジ様構造物の生成に深く関与していることが示唆された。これに対し水酸化カルシウムの場合 (図 4 D) では、材料直下の組織は壊死し、デンチンブリッジは確認できなかった。

このように本セメントの場合、硬組織による閉鎖が遅れたとしても材料自身の封鎖性が高く、細菌感染に

関する問題は少ないように思われた。また、水酸化カルシウムほどの化学刺激性や細胞毒性がないため、これらにより引き起こされる歯髄壊死、内部吸収や歯根の異常吸収が起こる可能性も低いことが示唆された。しかしながら、臨床応用に当たっては本セメントがその pH の値から水酸化カルシウムほどの抗菌性を有していないことは検討しなければならない今後の課題の一つである。封鎖性に優れた材料を使用することにより術後の感染は阻止できるが、処置時の感染に対しては無効で、抗菌性の付与なども今後の課題となる。

## 結 論

本研究で開発した  $\alpha$ -TCP/Te-CP セメントは 1 M リン酸二水素ナトリウム溶液で練和すると、適度な強度を有し硬化することが示された。このセメントを生活歯髄切断法における貼薬剤として応用すると、水酸化カルシウムに比べて極めて優れた封鎖性を示すことが非破壊検査装置  $\mu$ -CT で立証できた。

また、本セメントをラットの臼歯に適用すると術後 1 か月後に切断部直下に硬組織様構造物が認められ、術下の歯髄において DMP-1 の存在が認められ修復象牙質が形成されていることが示唆された。

このことより、本研究で開発した  $\alpha$ -TCP/Te-CP セメントが生活歯髄切断法の貼薬剤として有用なものであることが示唆された。

## 引用文献

- 1) Yamamura T. Differentiation of pulpal cells and inductive influences of various matrices with reference to pulpal wound healing. *J Dent Res.* 1985; 64 (Special Issue): 530-540.
- 2) 山村武夫, 下野正基, 井上 孝, 辻 考憲. 歯髄創傷治療における歯髄細胞の分化と誘導. 歯基礎誌. 1985; 27: 395-408.
- 3) 青木豊明. 覆髄剤に対する無菌飼育ラット臼歯露出歯髄の反応. 口腔病誌. 1983; 50: 636-650.
- 4) Cox CF, Bergholtz G, Heys DR, Syed SA, Fitzgerald M and Heys RJ. Pulp capping of dental pulp mechanically exposed to oral microflora. A 1-2 year observation of wound healing in the monkey. *J Oral Pathol.* 1985; 14: 156-168.
- 5) Oguntebi BR, Heaven T, Clark AE and Pink FE. Quantitative assessment of dentin bridge formation following pulp-capping in miniature swine. *J Endod.* 1995; 21: 79-82.
- 6) Goracci G and Mori G. Scanning electron micrographic evaluation of resin-dentin and calcium hydroxide-dentin interface with resin composite retraction. *Quintessence Int.* 1996; 27: 129-135.
- 7) Fischer FJ. The effect of three proprietary lining materials on micro-organisms in carious dentine. *Br Dent J.* 1977; 143: 231-235.
- 8) 横須賀孝史, 川崎孝一. 接着性レジン系材料, HAP,  $\alpha$ -TCP および象牙質片のサル歯髄直接応用に関する組織学的研究. 日歯保存誌. 1996; 39: 807-832.
- 9) 丸尾謙二. 歯髄切断に対する Hap および  $\alpha$ -TCP の応用に関する病理組織学的研究. 岐歯学誌. 1990; 17: 223-244.
- 10) Alain J, Bertrand K, Lise-Marie K and Legeros RZ. Effects of various calcium phosphate biomaterials on reparative dentin bridge formation. *J Endod.* 1988; 14: 83-87.
- 11) 成瀬まり子, 東 富恵, 川西文子, 萩原一宏, 加藤理恵, 岡本 莫. リン酸カルシウム系 ceramics の生活断髄法への応用. I. Hydroxyapatite 40 の硬組織庇蓋形成能について. 広大歯誌. 1984; 16: 325-330.
- 12) Tomie H and Hiroshi O. Influence of particle size of hydroxyapatite as a capping agent on cell proliferation of cultured fibroblasts. *J Endod.* 1996; 22: 236-239.
- 13) Decup S, Six N, Palmer B, Buch D, Lasfargues JJ, Salih E and Goldberg M. Bone sialoprotein-induced reparative dentinogenesis in the pulp of rats molar. *Clin Oral Investing.* 2000; 4: 110-119.
- 14) Doi Y, Takezawa Y, Shibata S, Moriwaki Y, Wakamatsu N, Horiguchi T, Kamemizu H, Uno K and Yamamoto K. Self-setting apatite cement. -New materials as canal filling and bone substitute-. *Proceeding of the MRS International Meeting on Advanced Materials.* 1988; Volume 1: 415-420.
- 15) Doi Y, Shimizu Y, Moriwaki Y, Aga M, Iwanaga H, Shibutani T, Yamamoto K and Iwayama Y. Development of a new calcium phosphate cement that contains sodium phosphate. *Biomaterials.* 2001; 22: 847-854.
- 16) 河野 哲. 根管充填材としての  $\alpha$ -TCP/Te-CP 系セメントの開発. 日歯保存誌. 2003; 46: 638-653.
- 17) Feng JQ, Huang H, Lu Y, Ye L, Xie Y, Tsutsui TW, Kunieda T, Castranio T, Scott G, Bonewald LB and Mishina Y. The Dentin matrix protein 1 (DMP-1) is specifically expressed in mineralized, but not soft, tissues during development. *J Dent Res.* 2003; 82: 776-80.
- 18) 山田健蔵, 西川郁夫. 断髄処置後の新生硬組織へのカルシウムの移行. 日歯保存誌. 1995; 38: 580-591.
- 19) Tagaya M, Goto H, Iinuma M, Wakamatsu N, Adachi M, Doi Y, Tamura Y. Development of self-setting Te-CP/ $\alpha$ -TCP cement for pulpotomy. *Dent Mater J.* 2005; 24: 555-561.
- 20) Gordon TM, Ranly DM and Boyan BD. The effect of calcium hydroxide on bovine pulp tissue. Variation in pH and calcium concentrations. *J Endod.* 1985; 11: 156-160.
- 21) 塚越 慎. 生活断髄への  $\alpha$ -TCP, HAP の応用に関する実験的研究. 日歯保存誌. 1990; 33: 1717-1730.