

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	青柳敦士
論文審査 委員氏名	主査  副査	武部 純  本田雅規  三谷章雄	
論文題名	ナノ構造を有する陽極酸化・水熱処理チタン 表面上における歯髄幹細胞の分化能に関する 検討		

インターネットの利用による公表用

近年では、部分床義歯による補綴歯科治療においては、インプラントを遊離端欠損部の後方に埋入し、義歯の支持作用として機能させる“インプラント支持による部分床義歯補綴治療”の有用性が報告されている。インプラントが長期にわたりその機能を維持・安定させるためには、インプラント体の表面形状と表面性状が重要な役割を担っている。そこで、純チタン (c. p. Ti) に陽極酸化・水熱処理 (SA 処理) を施し、ナノ構造を有する陽極酸化被膜上にハイドロキシアパタイト (HA) を析出させた SA 処理 c. p. Ti が開発され、インプラント表面処理法としての有効性が報告されている。

これらの報告より、新たな治療戦略として補綴歯科・インプラント治療へ歯髄幹細胞 (DPSCs) および SA 処理 c. p. Ti インプラント体を併用することにより、インプラント体表面に早期の骨形成を促進することが可能になると考えられる。本研究は、SA 処理 c. p. Ti インプラントおよび DPSCs を併用した場合、インプラント埋入後の骨創傷治癒における細胞外基質の石灰化が促進され、SA 処理 c. p. Ti 表面上において骨伝導能が高くなるとの仮説を立て、SA 処理 c. p. Ti 表面上での DPSCs における分化能について *in vitro* 実験モデルにて検討した。

実験試料は、c. p. Ti と 0.01M  $\beta$ -グリセロリン酸ナトリウムと 0.15M 酢酸カルシウムからなる電解質溶液中にて c. p. Ti に放電陽極酸化 (AO) 処理を施した AO 処理 c. p. Ti、その後、水熱処理を施した SA 処理 c. p. Ti を用いた。DPSCs は 6 週齢雄性 SD ラットの顎中切歯抜歯後、トリプシンコラゲ

ナーゼを用いた酵素処理によって分離・培養した。フローサイトメトリーにより表面抗原を同定し、脂肪および骨分化誘導、染色を行い、分化能を確認し実験に供した。SA 処理 c. p. Ti 上で骨分化誘導因子非添加培地にて DPSCs を培養し、各種反応を検討した。培養 3、5、7 日後に走査型電子顕微鏡 (SEM) による細胞形態の観察を行った。次に、培養 3、5 日後に細胞増殖活性 (MTT Assay) の測定を行い、リアルタイム PCR を用いて osteopontin、bone sialoprotein、osteocalcin の骨形成関連遺伝子発現を評価した。培養 7、14 日後においては、石灰化基質形成能評価 (アリザリンレッド S 染色) および細胞形態の観察を行った。統計学的解析は、一元配置分散分析を行い比較検討した。有意水準は 5% とした。

これらの実験の結果、以下の所見を得た。

試料表面上における DPSCs の形態は、各培養日数において SEM の観察結果より、SA 処理 c. p. Ti 上の DPSCs は c. p. Ti および A0 処理 c. p. Ti と比較し細胞突起の伸展および HA 結晶、ナノ構造への接着が認められた。細胞増殖活性では、培養 3 日後において、c. p. Ti、A0 処理 c. p. Ti、SA 処理 c. p. Ti およびコントロール間に有意差は認められなかった。培養 5 日後において、A0 処理 c. p. Ti および SA 処理 c. p. Ti は、c. p. Ti と比較して有意差が認められた。リアルタイム PCR の結果より、SA 処理 c. p. Ti 上の DPSCs は各培養日数において、osteopontin、bone sialoprotein、osteocalcin の発現上昇が確認された。アリザリンレッド S 染色および SEM による細胞形態の観察

結果より、培養 14 日後における SA 処理 c. p. Ti 上の DPSCs は顕著な石灰化が認められた。これらの SA 処理 c. p. Ti 表面上での DPSCs の分化については、AO 処理 c. p. Ti の水熱処理後に HA 結晶の形成と同時にナノ構造が形成されることで水酸基が増加してぬれ性が大きくなったこと、親水性の向上によって表面自由エネルギーが大きくなったこと、これらの表面形状と表面性状により Ca イオンおよび P イオンの吸着が促進されること、そして、SA 処理 c. p. Ti 表面上に接着した DPSCs のインテグリンを介した細胞内シグナル伝達経路により細胞の分化調節機構が活性化されたことにより、石灰化基質形成が促進されたと考えられる。

結論として、骨分化誘導因子非添加培地において SA 処理 c. p. Ti 表面上に接着した DPSCs は、骨形成関連遺伝子発現および石灰化基質形成が促進されることが明らかとなった。

本研究より、SA 処理 c. p. Ti を用いた“インプラント支持による部分床義歯補綴治療”への新たな治療戦略として考えた場合には、DPSCs の併用は有効な方法であることが示唆され、歯科補綴学、口腔解剖学、歯科保存学、及び関連諸学科に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。