

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)		氏名	高本 愛
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当			
論 文 題 目				
カルシウム修飾チタンの歯科インプラントへの応用に関する基礎的研究				
論文審査担当者				
主 査	教授	香西 克之	印	
審査委員	教授	加藤 功一		
審査委員	講師	久保 隆靖		
〔論文審査の要旨〕				
<p>歯科インプラントの早期固定に関する研究はインプラント患者の QOL 向上に貢献する。現在、市販のインプラントは主として表面を物理的に粗面化して骨組織との結合を高める手法が採用されているが、材料が周囲の骨組織との積極的な結合を獲得するにはデザインされていない。インプラント表面の骨芽細胞親和性を高めることができれば、歯科インプラントの早期固定に繋がると考えられる。整形外科領域では、骨結合速度が増大するように表面デザインされた製品や表面処理の研究が散見されるが、市販の歯科インプラントに適用するためには、表面粗面構造を損なわない手法が好ましい。さらに、歯槽骨埋入部にも細菌が存在することから、細菌付着性が高まるような表面修飾法は好ましくない。これらの制約に基づいて、九州大学のグループによって報告されたカルシウム修飾チタンに着目した。歯科インプラントの早期固定にカルシウム修飾チタンが有用であるかを検討するために、細胞適合性と細菌付着性を調べ、それらの性質とチタンの表面構造との関係を明らかにすることを目的とした。</p> <p>まず、粗面化したチタン表面へのカルシウム修飾と表面分析を行った。円盤状の純チタンディスク (φ14mm, 厚さ 1mm) を基板として用い、歯科インプラントに適用されている粗面表面を得るために、株式会社ジーシーに依頼して、純チタンディスクの表面を粗面化した。その後、約 17ppm のオゾンが溶存した 100mM 塩化カルシウム水溶液 (25℃) 中に、粗面化した純チタンディスクを 24 時間浸漬することでカルシウム修飾処理を行った (試料名: カルシウムオゾン処理)。対象として、何も処理を施していない粗面チタン</p>				

ディスク（試料名：未処理）、塩化カルシウム水溶液（25℃）中に 24 時間浸漬した試料（試料名：カルシウム単独処理）、カルシウムイオンを含まないオゾン溶存水（25℃）中に 24 時間浸漬した試料（試料名：オゾン単独処理）を用いた。各々の試料は 3D レーザー顕微鏡にて処理前後の表面粗さを測定し、X 線光電子分光法（XPS）にて表面のカルシウムの有無を分析し、自動接触角測定装置にて処理前後の試料表面の濡れ性を評価した。

次にカルシウム修飾した粗面チタンの細胞適合性について実験を行った。骨芽細胞様細胞である MC3T3-E1 を用いて *in vitro* 細胞適合性評価を行った。それぞれの試料を滅菌した後、試料表面に 3.2×10^3 個/cm²（初期細胞接着性評価）あるいは 6.4×10 個/cm²（細胞増殖性評価）の表面密度となるように細胞を播種した。3 時間、1, 3, 5, 7 日培養後、0.05% トリプシン処理によって基板から細胞を剥がした後、血球計算盤にて細胞数をカウントした。3 時間培養後、試料表面に接着した細胞の形態を電子顕微鏡を用いて観察した。

さらにカルシウム修飾した粗面チタンの細菌付着性について以下の実験を行った。細菌はグラム陽性球菌である黄色ブドウ球菌とグラム陰性桿菌である大腸菌を用いた。各菌を Brain Heart Infusion 培地にて 24 時間好気培養した後、 10^7 CFU/ml の濃度に調整し、菌液を各々のチタン試片上に播種した。一定時間培養後、緩く付着した菌を PBS で除去し、チタン試片表面に付着した細菌の ATP 量を測定した。

以上の実験により以下の結果を得た。まず電子顕微鏡で各々の試料表面を観察した結果、処理による構造変化は認められず、表面粗さにおいても処理による粗さの変化は認められなかった。XPS を用いてカルシウム修飾の有無を調べたところ、カルシウムオゾン処理試料にのみカルシウムが検出された。この結果からカルシウム修飾へのオゾンの寄与が明らかとなった。接触角測定の結果、オゾンを用いた処理群の値はほぼ 0° であった。細胞接着性についてはすべての培養時間においてカルシウムオゾン処理試料は、その他の試料と比較して有意に細胞接着数が増加した。細菌付着性については黄色ブドウ球菌、大腸菌共にカルシウムオゾン処理試料表面の細菌付着数は未処理、カルシウム単独処理試料と比較して有意に減少した。

本研究によって、市販されている粗面チタン表面にもカルシウム修飾が可能であること、この処理によってマイクロオーダースケールの構造変化は認められないこと、修飾にはオゾン処理が寄与していること、チタン表面に修飾されたカルシウムは細胞接着性を高め、細菌付着性を促さないことが明らかになった。

以上の結果から、本論文は歯科インプラントの効果的な表面処理法を示すものであり臨床的応用への可能性を強く示唆する成果として重要と考えられる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。