

Title	Influence of thin carbonate-containing apatite coating with molecular precursor method to zirconia on osteoblast-like cell response
Author(s)	金子, 創
Journal	歯科学報, 114(6): 612-613
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/3526">http://hdl.handle.net/10130/3526</a>
Right	

氏名(本籍)	かね 金 子 創 (長野県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2005 号(甲第 1246 号)
学位授与の日付	平成25年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Influence of thin carbonate-containing apatite coating with molecular precursor method to zirconia on osteoblast-like cell response doi : 10. 4012/dmj. 2013-122 JOI JST. JSTAGE/dmj/2013-122
掲載雑誌名	Dental Materials Journal 第33巻 1号 39-47頁 2014年
論文審査委員	(主査) 佐藤 亨教授 (副査) 井上 孝教授 矢島 安朝教授 小田 豊教授 吉成 正雄教授

## 論文内容の要旨

### 1. 研究目的

正方晶ジルコニア多結晶体(TZP)は、その機械的強度、生体適合性、審美性が高いことから、インプラントに使用されている。また、変色や過敏反応の危険性が存在しない点でチタン(Ti)よりも優れていると言われている。TZPインプラントの骨結合能と耐久性は動物実験でTiと同等の結果が報告されているが、組織形態計測では骨接触率がわずかに劣るという報告もなされている。ハイドロキシアパタイト(HA)をはじめとしたリン酸カルシウム(CaP)は骨伝導性を有する。しかし、今までの厚膜CaPコーティングインプラントは埋入後、コーティング層の脱離、崩壊が生じ、炎症を惹起する危険性があった。そのため、コーティング膜はオッセオインテグレーションを達成した後は完全に吸収され、骨組織に置換されることが望ましいと考えられる。また、炭酸基含有HA(CA)の組成は、より骨に近く、HAと比較して破骨細胞による吸収が早いと報告されている。最近、分子プレカーサー法と呼ばれる方法により、結晶性のCA薄膜をTi上に堆積する方法が発見され、動物実験では骨形成に優れると報告されている。しかし、TZPに対する本コーティング膜の有効性に関しては未だ報告がなされていない。そこで本研究では、TZPにCA薄膜コーティングを施し骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の初期接着、細胞形態、増殖、分化に及ぼす影響について検討した。

### 2. 研究方法

TZPに150 $\mu$ mのアルミナサンドブラスト+47%フッ化水素酸による15分間のエッチングを施した試料を対照群(TZP)とし、さらに分子プレカーサー法によるCA薄膜コーティングを施した試料を実験群(TZP-CA)とした。作製した試料表面を接触式プロフィロメーターにて計測、3D-SEMにて観察・解析した。その後、接触角計にて試料表面の濡れ性を計測した。MC3T3-E1を試料上に播種し、初期接着、細胞形態、増殖、分化(ALP活性及び、オステオカルシンの発現)を評価した。SEMにより石灰化球様の存在を確認し、EPMAおよびFT-IRにより試料上に形成された石灰化球様物質の解析及びコラーゲンの有無を確認した。

### 3. 研究成績および結論

高倍率の3D-SEM観察の結果、TZP、TZP-CA共にうねりの中に粒子状のナノ構造が認められた。Ra、Sa値(算術平均粗さ)、Sdr値(表面の展開面積と公称面積の比)に両者の差は認められなかった。また、TZP-CAはTZPと比較して接触角が小さく、親水性を示した。

MC3T3-E1の初期接着は、TZPと比較してTZP-CAが有意に高く、TZP-CAでは発達したアクチンフィラメントが観察された。細胞増殖は、TZPと比較してTZP-CAが有意に高い値を示した。細胞増殖は7日の時点では両者ともプラトーに達しておらず、増殖傾向にあった。ALP活性は、7日目ではTZPと比較してTZP-CAが僅かに劣ったが、その後差は認められなかった。OCNの分泌量はTZP、TZP-CA間で差が認められなかった。SEMで観察された石灰化球様物質は、EPMAによりCaおよびPが検出され、その周囲に存在した線維状物質はFT-IRにより、コラーゲンである事が確認された。

以上より、分子プレカーサー法によるTZPへのCA薄膜コーティングは、MC3T3-E1の細胞応答、特に初期接着と増殖に有効な方法である事が明らかとなった。

### 論文審査の要旨

本研究の目的は、正方晶ジルコニア多結晶体(TZP)に炭酸基含有ハイドロキシアパタイト(CA)薄膜コーティングを施しマウス骨芽細胞様細胞MC3T3-E1の初期接着、細胞形態、増殖、分化に及ぼす影響について検討することである。

TZPディスクおよび分子プレカーサー法によるCA薄膜コーティングを施したTZP-CAディスクにMC3T3-E1を播種し、初期細胞接着、細胞形態、細胞増殖、細胞分化(ALP及びOCN発現)を計測した。初期細胞接着、細胞形態、細胞増殖といった初期の細胞応答ではTZP-CAでの細胞応答が全体的に亢進されたが、細胞分化に与えた影響は本研究では認められなかった。

本審査委員会では、1) コントロールの設定(細胞培養プレート、チタン等)について、2) TZPディスク及びCAコーティングを用いた理由について、3) 今回調べた分化マーカーの妥当性について、4) CAが骨芽細胞様細胞の分化に与える影響について、5) 本研究の結果から考えられる今後の展望について質問があった。これらの質問に対する回答として、1) 本実験は、ジルコニア製インプラントを想定し、より早期でのオッセオインテグレーションを達成するための基礎的研究であるので、細胞培養プレートおよびチタンはコントロールに用いなかった。2) チタンで起こりうる金属アレルギー、審美障害、従来のHAコーティング法であるプラズマスプレー法によるコーティング層剥離が惹起しうるインプラント周囲の炎症を回避するという意味から用いられた。3) 今回は口科研のインプラント研究における一連の流れとして行なっているため、過去の研究と同様の分化マーカーを設定した。4) HAよりも溶解性の高いCAから微量放出されるCaイオン、Pイオンの影響により分化が促進されると考えられる。5) ジルコニアインプラントはin vivoにおいてチタンと同等の結果が報告されているが、骨接触率が僅かに劣るとの報告もあるため、そこを補う事によりメタルフリーかつオッセオインテグレーションが良好である理想的なインプラントが開発できる等の説明があり、概ね妥当な回答が得られた。また、英文の表現、図の表記、統計処理について修正すべき点が指摘され、訂正が行われた。

本研究で得られた結果は、今後の歯科医学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。