

ふりがな氏名	はやしりな 林 莉菜
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 995 号
学位授与の日付	令和 6 年 3 月 1 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Effects of Argon Gas Plasma Treatment on Biocompatibility of Nanostructured Titanium (ナノ構造処理した純チタン金属へのアルゴンガスプラズマ処理が生体適合性に与える影響)
学位論文掲載誌	International Journal of Molecular Sciences 第 25 巻 第 1 号 令和 6 年 1 月
論文調査委員	主査 前川 賢治 教授 副査 橋本 典也 教授 副査 柏木 宏介 教授

### 論文内容要旨

これまで、純チタン金属表面に濃アルカリ処理を施してナノ構造（TNS）を析出させることで、骨髄細胞が接着しやすい網目構造を形成し、生体適合性が向上することが明らかにされている。また、この網目構造表面に対し、大気圧プラズマ処理により材料表面の親水化を図ることで、TNS の特性を活かしたまま、さらに硬組織分化誘導能を向上させることも明らかにされてきた。そのようななか、アルゴンガスを用いたプラズマ処理は、大気圧プラズマ処理と比較して、硬組織分化誘導能をさらに亢進することが報告された。そこで本研究では、TNS 析出純チタン金属表面に対するアルゴンガスプラズマ処理が材料表面に与える影響、およびインプラント埋入周囲組織に与える影響について検討した。

純チタンスクリーおよび純チタン金属板を使用し、水酸化ナトリウム水溶液に浸漬してナノ構造を析出させた材料を対照条件とした。ナノ構造を析出させた材料に 10 mm の間隔をあけて 30 秒間ピエゾブラッシュ（アルス社製、日本）にて大気圧プラズマを照射させた条件、ナノ構造を析出させた材料に、アルゴンガスプラズマを同距離で照射させた処理条件の 2 つの実験条件を設定した。まず、各条件の材料表面に対して表面観察（SEM, SPM）、接触角および表面エネルギー（接触角計）を測定した。また、表面における元素分析（XPS）を行った。次に、材料表面が骨髄細胞に与える酸化ストレス（ROS）を評価するとともに、硬組織分化誘導能に関するマーカーについて解析した。また、疑似体液（SBF）を作製し、実験条件と対照条件の純チタン金属板を 2 週間浸漬した後のアパタイトの形成量を比較した。さらに、両実験条件及び対照条件で処理した純チタンスクリーを、SD 系雄

性ラットの大腿骨に埋入，蛍光染色液を注射し，8週後に大腿骨を採取してCT解析および組織学的観察を行った．統計学的分析には一元配置分散分析を用い，有意差を認めた場合はTukeyの多重比較に供した．有意水準は5%とした．

表面観察の結果，アルゴンガスプラズマ処理したTNS析出純チタン金属表面は，濃アルカリ処理により析出させた網目状のナノ構造を維持したまま，汚染物質である炭素を除去するとともに，材料表面における活性酸素種および活性窒素種を増加させて表面エネルギーを向上させることが明らかとなった．また，アルゴンガスプラズマ処理したTNS析出純チタン金属板は，骨髄細胞の酸化ストレスを減少させ，細胞の生育にとって良好な環境を形成していた．また，ラット骨髄細胞の初期接着能，硬組織分化誘導能に関するすべての計測項目において最も高い値を示した．さらに，SBFを使用した実験では，アルゴンガスプラズマ処理条件で最も高いアパタイトの形成量が確認された．加えて，ラット大腿骨のCT解析および組織学的解析結果より，インプラント埋入周囲の新生骨の形成量は，アルゴンガスプラズマ処理条件で最も高い値を示すことも明らかとなった．

これらの結果より，アルゴンガスプラズマ処理は，ナノ構造析出純チタン金属表面が持つ硬組織分化誘導能を亢進し，インプラント埋入周囲の新生骨形成にも有用である可能性が考えられた．

#### 論文審査結果要旨

本研究ではTNS析出純チタン金属表面に対するアルゴンガスプラズマ処理が材料表面に与える影響，およびインプラント埋入周囲組織に与える影響について検討することを目的としている．

純チタンスクリューおよび純チタン金属板を使用し，水酸化ナトリウム水溶液に浸漬してナノ構造を析出させた材料を対照条件とした．ナノ構造を析出させた材料に大気圧プラズマを照射させた条件，ナノ構造を析出させた材料にアルゴンガスプラズマを照射させた処理条件の2つの実験条件を設定した．試料表面解析を行い，次にラット骨髄間葉細胞を使用しin vitro評価を行い，またin vivo評価ではラット大腿骨に試料を埋入し，数週間生育後に安楽死させ，大腿骨ごと摘出し各種計測を行っている．なお，本実験は大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得て行われた．(21-05002号)

また，疑似体液(SBF)を作製し，実験条件と対照条件の試料を2週間浸漬した後のアパタイトの形成量を比較した．

表面解析では実験群において表面構造を変化させずに超親水性の付与を示唆する結果が得られ，ラット骨髄間葉細胞を使用したin vitro評価における観察結果ではアルゴンガスプラズマ処理条件で初期接着能，硬組織分化誘導能に関するすべての計測項目において最も高い値を示した．またin vivo評価においても，インプラント埋入周囲の新生骨の形成量は，アルゴンガスプラズマ処理条件で最も高い値を示すことも明らかになった．さらに，SBFを使用した実験では，アルゴンガスプラズマ処理条件で最も高いアパタイトの形成量が確認された．

以上，アルゴンガスプラズマ処理は，ナノ構造析出純チタン金属表面が持つ硬組織分化誘導能を亢進し，インプラント埋入周囲の新生骨形成にも有用である可能性が考えられた点において，本論文は博士(歯学)の学位を授与するに値すると判定した．