

ふ り が な 氏 名	てらだ ちさと 寺田 知里
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 853 号
学位授与の日付	平成 31 年 3 月 8 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	Effect of Amelogenin Coating of a Nano-Modified Titanium Surface on Bioactivity (ナノ構造析出純チタンへのアメロジェニンのコーティングが生体適合性に与える効果)
学 位 論 文 掲 載 誌	International Journal of Molecular Sciences 第 19 巻 第 5 号 平成 30 年 4 月
論 文 調 査 委 員	主 査 岡崎 定司 教授 副 査 田中 昌博 教授 副 査 今井 弘一 教授

## 論文内容要旨

近年、インプラント埋入後の初期安定性の獲得には、従来のオッセオインテグレーションのみではなく周囲軟組織との結合が重要視されている。本研究では、インプラント埋入周囲組織の歯周組織の再生方法として、エムドゲインの主要タンパク質の一つであるアメロジェニンをコーティングすることで、更なる硬組織分化誘導を促す新規インプラント材料の創製を目的として、*in vitro* および *in vivo* の解析を行った。

実験材料として市販の JIS2 級純チタン金属板およびスクリューを使用し、表面に濃アルカリ処理によりナノ構造を析出させアメロジェニンをコーティングしたものを実験群、ナノ構造のみ析出させたものを対照群として使用した。試料の表面解析を SEM, SPM, XPS, FTIR にて行った。次に、SD 系ラットの大腿骨より播種した骨髄間葉系の幹細胞ならびに歯根膜線維芽細胞を使用し *in vitro* 評価を行った。検討項目は ALP 活性、OC 産生量、Ca 析出量および逆転写後得られた mRNA からの硬組織形成およびセメント質形成に関する遺伝子発現とした。また、生後 8 週齢の SD 雄性ラットの右大腿骨に試料を埋入した。埋入後 1、4、8 週に蛍光染色剤を注射した。埋入 4、8 週後のラットを安楽死させ、大腿骨を採取し、micro-CT を用いて検討した。8 週の大腿骨を固定包埋後、切片を作製し、組織学的に観察を行った。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った。

SEM および SPM による観察結果では、実験群ではアメロジェニンと推察される構造が示された。XPS および FTIR では、実験群で TNS 構造にタンパク質のコーティングを認めアメロジェニンがコーティングされていることが明らかとなった。各種細胞を使用した *in vitro* 評価における解析結果では、

全ての検討項目において実験群で対照群と比較して有意に高い値を示した。また **micro-CT** の結果、実験群で **BV/TV**, **Tb.N**, **Tb.Th** の結果が実験群で有意に高い結果を示し、硬組織の形成量が高いという結果を示した。病理組織学的評価においても、実験群の画像では新生骨の著明な形成が認められた。また、**BA**, **BIC** および **LBA** の解析値は 1, 4, 8 週のすべての計測データにおいて実験群で対照群と比較して統計学的に有意に高い値を示した。

以上の結果により、濃アルカリ処理を施した純チタン金属表面へのアメロジェニンのコーティングが **in vitro** および **in vivo** レベルでインプラント埋入周囲組織の硬組織分化誘導に大きな影響を与えることを明らかにした。また、この硬組織はセメント質である可能性が遺伝子解析から明らかでこの新規材料は硬組織および軟組織を同時再生できる材料として期待できる。

### 論文審査結果要旨

本研究はインプラント埋入周囲組織の歯周組織の再生方法として、エムドゲインの主要タンパク質の一つであるアメロジェニンをコーティングすることで、更なる硬組織分化誘導を促す新規インプラント材料の創製を目的に行った研究である。

実験材料として表面に濃アルカリ処理によりナノ構造を析出させアメロジェニンをコーティングした純チタン金属及び純チタンスクリューを実験群、ナノ構造のみ析出させたものを対照群として使用した。試料の表面解析を行った。次に、**SD** 系ラットの大腿骨より播種した骨髓間葉系の幹細胞ならびに歯根膜線維芽細胞を使用し **in vitro** 評価を行った。検討項目は各種硬組織分化誘導に関するマーカーおよびセメント質形成に関する遺伝子発現とした。また、生後 8 週齢の **SD** 雄性ラットの右大腿骨に試料を埋入した。埋入後、蛍光染色剤を注射した。ラットを安楽死させ、大腿骨を採取し、**micro-CT** を用いて検討した。組織学的に観察を行った。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った。

各種表面解析による結果では、実験群で **TNS** 構造にタンパク質のコーティングを認めアメロジェニンがコーティングされていることが明らかとなった。各種細胞を使用した **in vitro** 評価における解析結果では、全ての検討項目において実験群で対照群と比較して有意に高い値を示した。また **micro-CT** の結果、実験群で骨形成量の結果が実験群で有意に高い結果を示した。病理組織学的評価においても、実験群の画像では新生骨の著明な形成が認められた。また、硬組織の形成量はすべての計測データにおいて実験群で対照群と比較して統計学的に有意に高い値を示した。

以上の結果により、濃アルカリ処理を施した純チタン金属表面へのアメロジェニンのコーティングが **in vitro** および **in vivo** レベルでインプラント埋入周囲組織の硬組織分化誘導に大きな影響を与えることを明らかにした。また、この硬組織はセメント質である可能性が遺伝子解析から明らかでこの新規材料は硬組織および軟組織を同時再生できる材料として期待できる。

以上により、本論文は博士（歯学）の学位を授与に値すると判定した。