

ふりがな氏名	いん でーろん 尹 徳栄
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 883 号
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 6 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 mussel adhesive protein coating on osteogenesis in vitro and osteointegration in vivo to alkali-treated titanium with nanonetwork structures （イガイ接着タンパク質のコーティングがナノ構造析出純チタンへの生体外骨形成と生体内オッセオインテグレーションに与える影響）
学位論文掲載誌	International Journal of Nanomedicine 第 2019 巻 第 14 号 令和元年 5 月 23 日
論文調査委員	主査 岡崎 定司 教授 副査 松本 尚之 教授 副査 高橋 一也 教授

論文内容要旨

インプラントには、埋入後の安定性が重要であり、そのためには早期と長期的なオッセオインテグレーションおよび骨形成誘導能が重要である。本研究では、ナノ構造析出純チタン(TNS)へのイガイ接着タンパク質(MAP)のコーティングした高い骨形成能を促す新規インプラント材料の創製を目指した。

実験材料として、JIS2 種純チタン板と金属スクリューを使用し、10M の水酸化ナトリウム水溶液に浸漬し、TNS を対照群、対照群と同じ材料に MAP をコーティングし、実験群として使用した。試料表面の表面構造を SEM、SPM、FTIR にて観察、表面の元素分析を XPS にて行った。生後 8 週齢の SD 雄性ラット両側大腿骨から骨髓間葉細胞を単離し、継代培養し、3 代目を各種試料上に播種した。培養後 28 日後のオステオカルシンの産生量およびカルシウムの析出量を測定し、培養開始 7、21 日後の培養細胞より逆転写後得られた mRNA より ALP mRNA、RUNX2 mRNA、Bglap mRNA、BMP-2 mRNA の遺伝子発現について比較・検討した。また、動物実験には 8 週齢の SD 系雄性ラット 20 匹を使用し、ラット 10 匹に TNS インプラント体を埋入させたものを対照群とし、10 匹に TNS-MAP インプラント体を埋入させたものを実験群とした。埋入後 8 週にラットを安楽死させ、大腿骨を採取し、マイクロ CT 撮影および組織学的観察を行った。

SPM 及び SEM による観察結果では、対照群でナノメートルレベルのノジュール構造が観察され、実験群で、その構造上に MAP コーティングされている画像が観察された。XPS 解析の結果による、実験群

では、TNS 析出純チタン金属表面にタンパク質を示す N のピークを示した。FTIR 解析の結果においても、実験群の純チタン金属表面ではアミド基の存在を示すピークを示し、実験群の材料表面に MAP がコーティングされていることが明らかとなった。接触角の結果において、ともに接触角は低いものの、MAP がコーティングした TNS 析出純チタン金属板では親水性を示した。各種計測時間で MAP コーティングナノ構造析出純チタン金属表面上のラット骨髄細胞の初期接着能が向上することが明らかとなった。培養 6 時間後の染色画像では実験群でラット骨髄細胞の形態の伸張があきらかとなった。各種計測時間で骨髄細胞の硬組織分化誘導能の向上に寄与することが明らかとなった。

ラット大腿骨に埋入した各種純チタン金属スクリュー周囲の硬組織形成をマイクロ CT 解析および病理組織像、蛍光染色像解析から行った。実験群で高い硬組織形成能が示されることが明らかとなった。

以上の結果により、この材料は新たなインプラント材料の可能性を有している。

論文審査結果要旨

イガイ接着タンパク質 (MAP) のコーティングがナノ構造析出純チタン (TNS) への生体外骨形成と体内オッセオインテグレーションに与える影響について検討したものである。

MAP をコーティングしたナノ構造析出純チタン (TNS) を実験群、ナノ構造析出純チタン (TNS) を対照群として使用した。試料の表面観察を行った。試料の表面観察を行った。培養後細胞のオステオカルシンの産生量、カルシウムの析出量、遺伝子発現について比較・検討した。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。Micro-CT を用いて検討した。組織学的に観察を行った。SEM, SPM, XPS, FTIR などの材料表面解析結果から、TNS 構造を析出させた純チタン金属表面に、MAP がコーティングされていることが示された。TNS の存在と、MAP における Mefp-1 および mefp-2 に含まれる DOPA の効能により、TNS-MAP 上のラット骨髄細胞の早期付着、増殖、硬組織分化誘導能が向上することが示された。ラット大腿骨に埋入した各種純チタン金属スクリュー周囲の硬組織形成を、マイクロ CT 解析および組織像解析から行った結果、実験群で高い硬組織形成能が示された。

以上、ナノ構造析出純チタン (TNS) へのイガイ接着タンパク質 (MAP) のコーティングした新規インプラント材料が、*in vitro* と *in vivo* レベルで硬組織分化誘導を促し、オッセオインテグレーションの期間を短縮させることの可能性の一端が示された点において、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。