

ふ り が な 氏 名	そ いくごう 曾 昱豪
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 914 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 5 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	Enhanced Osseointegration and Bio-Decontamination of Nanostructured Titanium Based on Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma （非熱大気圧プラズマによるナノ構造析出純チタン金属上の 強化されたオッセオインテグレーションとバイオ除染）
学 位 論 文 掲 載 誌	International Journal of Molecular Sciences 第 21 巻 第 10 号 令和 2 年 5 月 16 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

オッセオインテグレーションの獲得期間短縮には材料表面の性状ならびに濡れ性が強く関与していることが報告されている。これまでに純チタン金属へ濃アルカリ処理を施すことで材料表面にナノ構造 (TNS)が析出され、ラット骨髄細胞の初期接着および硬組織分化誘導の向上に有用であることを明らかにした。本研究ではナノ構造析出純チタン金属表面に大気圧プラズマ処理を施すことが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。

実験材料として市販の JIS2 級純チタン金属チタン板を使用し、濃アルカリ処理によりナノ構造を析出させピエゾブラッシュ（株式会社アルス社製）にて材料表面に均一に大気圧プラズマ処理を施した。そして、それらを実験群、ナノ構造のみを析出したものを対照群として使用した。ナノ構造の析出には 10M の水酸化ナトリウム水溶液に浸漬し、自然乾燥させ、析出させた。試料の表面構造は SEM、SPM にて観察し、試料表面における元素分析を XPS にて、材料表面の接触角を蒸留水にて解析した。さらに、黄色ブドウ球菌を用いて微生物の除去効果を評価した。

次に、生後 7 週齢の SD 系雄性ラットの両側大腿骨から骨髄間葉細胞を採取後、3 代目を実験に供した。培養開始 1、3、6、24 時間の各群における細胞接着数の比較、培養後 14、21 日後の ALP 活性および 21、28 日後のカルシウムの析出量を測定した。培養開始 14、21 日後の培養細胞より逆転写後得られた mRNA より OCN mRNA, BMP mRNA の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埋入し、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、ビラヌエバ染色の切片を作製し、組織学的に観察を行った。統計学的解析には、各測定値に Student の t 検定を行った。有意水準は 5%とした。

XPS 解析では、実験群で C1s のピークが減少していると共に OH 基（ヒドロキシ基）が増えていることが明らかとなった。実験群の純チタン金属表面は超親水性を示すことが明らかとなった。また、実験群で対照群と比較して良好な細胞接着および細胞伸展を認めた。さらに、全ての計測時間で ALP 活性、カルシウム析出量、OCN mRNA, BMP mRNA の発現が有意に高い値を示した。Micro-CT で硬組織形成量は実験群で対照群と比較して有意に高い値を示した。組織学的解析により、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。さらに、ナノ表面構造に対する、大気圧低温プラズマ照射は短時間で病原微生物とバイオフィルムに殺菌効果が認められた。以上の結果により、ナノ構造析出純チタン金属表面に大気圧プラズマ処理を施すことは生体適合性の向上に有用であることが明らかとなった。

論文審査結果要旨

ナノ構造析出純チタン金属表面における大気圧プラズマ処理することにより、インプラント材料表面の生体適合性をさらに改善することを目的に行った研究である。

実験材料として市販の JIS2 級純チタン金属チタン板を使用し、濃アルカリ処理によりナノ構造を析出させピエゾブラッシュ（株式会社アルス社製）にて材料表面に均一に大気圧プラズマ処理を施した。そして、それらを実験群、ナノ構造のみを析出したものを対照群として使用した。ナノ構造の析出には 10M の水酸化ナトリウム水溶液に浸漬し、自然乾燥させ、析出させた。試料の表面構造は SEM、SPM にて観察し、試料表面における元素分析を XPS にて、材料表面の接触角を蒸留水にて解析した。さらに、黄色ブドウ球菌を用いて微生物の除去効果を評価した。

各群における細胞接着数の比較、ALP 活性およびカルシウムの析出量を測定した。培養細胞より逆転写後得られた mRNA より OCN mRNA, BMP mRNA の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埋入し、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。大腿骨を固定包埋後、ビラヌエバ染色の切片を作製し、組織学的に観察を行った。統計学的解析には、各測定値に Student の t 検定を行った。有意水準は 5%とした。

表面分析結果には、プラズマ処理によるナノメーターレベルのネットワーク構造の破壊を認めなかった。プラズマ処理した表面では超親水性が示された。短期間プラズマ処理により、病原微生物に対する殺菌効果が明らかにした。さらに、硬組織分化誘導実験には、プラズマ処理により TNS 表面の骨髄間葉幹細胞の初期接着、伸展、ALP 活性、カルシウム析出量及び硬組織分化誘導に関わる遺伝子発現は全て促進された。そして、CT 解析像と in vitro 実験と同じく、病理組織像においても実験群において骨形成誘導能とオッセオインテグレーションが高いことが認められた。

大気圧プラズマ処理がナノレベルの表面構造を破壊せず、高精度な材料表面をさらに除染および滅菌できるとともにインプラント表面の生体適合性の向上に有用であることを証明した。今後の臨床応用に発展できるものと考えられる。以上により、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。