

ふ り が な 氏 名	よう げんげん 楊 元元
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 917 号
学位授与の日付	令和 4 年 3 月 4 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	UV/ozone irradiation manipulates immune response for antibacterial activity and bone regeneration on titanium (UV/オゾン処理した純チタン金属の免疫調節機能が抗菌性及 び骨形成に与える影響)
学 位 論 文 掲 載 誌	Materials Science and Engineering: C 第 129 巻 令和 3 年 8 月 14 日
論 文 調 査 委 員	主 査 岡崎 定司 教授 副 査 高橋 一也 教授 副 査 橋本 典也 教授

論文内容要旨

超高齢社会に向かうにつれ、寿命の延伸に伴って全身疾患の増加及び長年の慢性的な炎症に罹患している患者に対するインプラント治療の骨形成効果と長期安定性が求められるようになってきている。純チタン金属は歯科および整形外科用インプラント材料として広く使用されているものの、インプラントと骨の間に繊維層の形成や異物反応を頻繁に引き起こし、優れた骨形成効果はほど遠いと考えられている。過去の研究では純チタン金属へ UV 処理を付与することで硬組織分化誘導能を向上させる可能性を示唆した。本研究では UV/オゾン処理した純チタン金属表面の免疫調節に着目し、抗菌性および骨形成能力について検討した。

実験材料として純チタン金属を使用し、実験群として UV/オゾン照射した純チタン金属を、対照群として無処理純チタン金属を使用した。表面評価は実験群及び対照群を走査型電子顕微鏡（SEM）および X 線光電子分光法（XPS）にて解析した。各群表面における蒸留水の接触角を測定した。

In vitro 評価はマウスマクロファージ(RAW 264.7)を用い、細胞の初期接着、M1 型の分極、炎症および骨形成関連遺伝子を解析した。免疫細胞と細菌共同培養実験では黄色ブドウ球菌を用い、細胞優先、黄色ブドウ球菌優先、および同時共培養システム 3 つの共培養システムを行った。細菌への食作用および殺菌評価は SEM、Live/Dead 染色および活性酸素染色にて解析した。また、ラットの骨髄間葉細胞(rBMMSCs)と共同培養し、ALP 活性、カルシウム形成量並びに遺伝子レベルを測定した。In vivo 評価は実験群および対照群の純チタン金属スクリューをラットの大腿骨に埋入した。埋入 8 週間後 Micro-CT により撮影し、BV/TV、Tb.N、Tb.Sp、Tb.Th を算出した。

表面評価について、SEM の所見では、実験群の変化は認めなかった。XPS の結果では実験群では C 1 s ピークが下がった。接触角では実験群では超親水性を示した。In vitro 評価について、実験群では RAW264.7 細胞を M1 型の分極に抑制し、細胞初期接着、抗炎症及び骨形成関連遺伝子の発現量が有意に高い値を示した。

RAW264.7 細胞と黄色ブドウ球菌共同培養の結果により、実験群では長い紡錘形細胞および拡張された細胞仮足を示し、対照群では丸い細胞を示した。Live/Dead 染色結果により、実験群表面のマクロファージが対照群より多くの黄色ブドウ球菌を貪食したことを明らかに示した。次に、マクロファージの殺菌活性に関する ROS 形成の結果により、実験群では高いレベルの ROS 形成量が観察された。また、骨髓間葉細胞の共同培養に対する評価の結果により、実験群で ALP 活性、カルシウム形成量及び骨形成関連遺伝子発現が有意に高い値を認めた。動物実験の結果により、CT 画像の観察をしたところ、8 週間に実験群で海綿骨内の新生骨の著しい形成を認めた。ソフトウェアによる解析結果では、埋入後 8 週ではすべての指標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。以上の結果により、純チタン金属表面へ UV/オゾン処理することで優れた免疫調節特性を備え、抗菌性および硬組織分化誘導能を向上させることが明らかになった。

論文審査結果要旨

本研究では UV/オゾン処理した純チタン金属表面の免疫調節に着目し、抗菌性および骨形成能力について検討することを目的としている。

純チタン金属を使用し、実験群として UV/オゾン照射した純チタン金属を、対照群として無処理純チタン金属を使用した。試料表面解析を行い、次にマウスマクロファージ(RAW 264.7) ならびにラット骨髓間葉系幹細胞を使用し in vitro 評価を行い、免疫細胞と細菌共同培養実験では黄色ブドウ球菌を用い、抗菌性を解析した。また in vivo 実験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。

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、各種細胞を使用した in vitro 評価における観察結果では有意に高い値が示された。細菌実験の結果では実験群において高い抗菌性を示した。また in vivo 評価においても高い硬組織の形成量が得られるという結果が示された。

以上、純チタン金属表面へ UV/オゾン処理することで優れた免疫調節特性を備え、抗菌性および硬組織分化誘導能を向上させたという点において、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。