

| | |
|---------|--|
| ふりがな氏名 | なかい まりこ 中井 真理子 |
| 学位の種類 | 博士（歯学） |
| 学位記番号 | 甲 第 928 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 | Cell viability of fine powders in hybrid resins and ceramic materials for CAD/CAM (CAD/CAM 用ハイブリッドレジンやセラミック材料の微粉末における細胞生存率について) |
| 学位論文掲載誌 | Dental Materials Journal 第 41 巻 第 3 号 令和 4 年 6 月 |
| 論文調査委員 | 主査 橋本 典也 教授 副査 山本 一世 教授 副査 本田 義知 教授 |

論文内容要旨

歯科診療時に発生する粉塵の健康への影響が懸念されている。歯科材料の生物学的安全性評価には様々な方法があり、CAD/CAM 冠用材料のブロック体状態での直接接触試験や、抽出試験など生体安全性試験は行われているが、これらがブロック体以外の形態、例えば微粉末状となった場合の研究報告はほとんど見当たらない。細胞毒性は粒子形状の違いによっても差が発現し、使用する細胞種によっても細胞毒性が異なるという報告がある。そこで齧歯類由来の 2 種類の細胞を用いて評価を試み、切削加工した微粉末の CAD/CAM 冠用レジン材料およびセラミック材料を、両種の細胞にそれぞれ曝露し微粉末粒子の細胞貪食の観察、微粉末粒子の大きさが酸化ストレスや細胞生存率にどのように影響するか検討した。

細胞はマウス由来線維芽細胞 Balb/c 3T3 細胞（3T3 細胞）とラット胎仔皮膚由来のケラチノサイトである FRSK 細胞を用いた。培養液は 10%FBS 添加 Dulbecco' s Modified Eagle' s Medium を用いた。試料は CAD/CAM 冠用の 3 種類のレジン材料と 2 種類のセラミック材料を用いた。各試料は滅菌済みダイヤモンドディスクを用いて粉碎した。レジン材料の含有モノマーは FT-IR にて分析した。粒子の観察は SEM にて行い、SEM 像から粒径分布を求めた。各試料を 3 つの粒子径（40 μ m 以上、5~40 μ m、5 μ m 以下）に分離し、培養液にそれぞれ添加して 15 種類の試験液を作製した。試験液に 3T3 細胞と FRSK 細胞を曝露し、ROS 試験による酸化ストレスの測定、MTT 試験による細胞生存率の測定、FACS によりアポトーシス、ネクローシスの測定を行った。細胞の観察は、SEM および HE 染色にて行った。

MTT 試験、ROS 試験、FACS より、レジン材料はセラミック材料より細胞に対する影響がやや大き

い傾向があったが、2つの細胞種で粒径との関係では異なる結果を得た。SEMによる微粉末粒子の細胞貪食の観察では、3T3細胞では5 μm以下の粒子、FRSK細胞では、5~40 μmの粒子が細胞内に取り込まれる様子が数多く確認され、細胞種によって細胞に取り込まれやすい粉塵の粒径が異なる可能性が示唆された。HE染色から、試料添加により核および細胞自体にダメージを受けたとみられる組織像が確認された。今回、CAD/CAM冠用材料が微粉末状になった場合の細胞への影響を生体安全性の基礎データの検証した結果、粒子の大きさや細胞の種類により、酸化ストレス、細胞生存率が異なって現れることが判明した。

論文審査結果要旨

ナノ材料やサブミクロン材料の生体安全性については十分な安全性が確立されていない現状がある。ナノ材料は体積に対する表面積が非常に大きいため反応性が高く、また、材料の形状により生体への取り込まれ方が異なる可能性があり、従来では考えられなかった生物学的な問題点が指摘されている。よって歯科診療中に飛散するナノおよびサブミクロン径となった様々な材料の生体への影響も近年注視されている。

ナノおよびサブミクロン径の試料は、日本国内に一般に流通するCAD/CAM用ブロックを5種類入手し、滅菌済みダイヤモンドディスクを用いて粉砕して作製している。各粉末試料は培養液に1 mg/mLで懸濁し、2種類のcell strainerを通過させることで、細胞よりも明らかに大きい粒子径(40 μm)、細胞と同程度の大きさの粒子径(5~40 μm)、細胞よりも明らかに小さい粒子(5 μm以下)の3種類に分離し、試験液の作製をしている。この試験液を用いて、15個の実験群を設けて、2種類の細胞を用いて各試験を行っている。

その結果、MTT試験より、試験液曝露24時間後にはレジ系材料において細胞生存率が低下する傾向がみられ、ROS試験では特に3T3細胞で粒子径が小さいほどROS値が高く現れている。FACSでは3T3細胞で試料曝露によりネクロシス細胞の割合が増え、FRSK細胞ではアポトーシス細胞の割合が増えている。細胞貪食の観察では、2種の細胞で貪食されやすい粒子の大きさが異なる様子が確認され、HE染色では核および細胞の試料添加による種々の異常像が確認されている。

以上の結果より、ナノおよびサブミクロン径となったCAD/CAM用材料は、粒子径や細胞種により、異なる影響を細胞に及ぼすことを検討し、患者および歯科医療従事者の防塵の必要性について明らかとした点において、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。