

ふりがな氏名	たきき ちかみ こ 田崎 智香子
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 969 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 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 atmospheric pressure plasma treatment on titanium surface on the initial behavior of vascular endothelial cells （純チタン金属への大気圧プラズマ処理が血管内皮細胞の初期挙動に与える影響について）
学位論文掲載誌	日本口腔リハビリテーション学会雑誌 第 35 巻 第 1 号 令和 4 年 12 月 25 日
論文調査委員	主査 前川 賢治 教授 副査 高橋 一也 教授 副査 柏木 宏介 教授

論文内容要旨

これまで、純チタン金属表面に大気圧プラズマ処理を施すことで、材料の表面構造を変化させることなく、材料表面に親水性を付与することが可能であることを明らかにした。また、この材料表面にラット骨髄細胞を播種したところ、細胞の初期接着および硬組織分化誘導能が向上することがわかった。埋入されたインプラント体が機能するためには、インプラント周囲に形成された新生骨に対する血液の供給や循環が必要である。つまり、オッセオインテグレーション獲得およびその長期維持のためには早期の骨形成のみならず早期の微小血管構築が重要であるといえる。そこで、本研究ではインプラント埋入周囲の血管新生に大きな役割を果たす血管内皮細胞を使用し、純チタン金属への大気圧プラズマ処理がラット血管内皮細胞の初期挙動に与える影響について比較、検討を行った。

実験材料として JIS2 級の純チタン金属板を使用し、無処理のものを対照群、ピエゾブラッシュ(アルス社製)にて大気圧プラズマを照射したものを実験群として使用した。試料表面における元素分析を XPS にて行った。また、各群表面の蒸留水の接触角を測定した。次に、生後 8 週齢の SD 系雄性ラットの胸部下行大動脈から血管内皮細胞を採取し初代培養を確立し、その 3 代目を実験に供した。実験群および対照群の血管内皮細胞の初期接着数の比較および材料表面上の細胞の染色、培養開始後 2、5 日の血管内皮細胞の初期接着に関する遺伝子発現をリアルタイム PCR 法にて分析した。統計学的分析には、各種測定値に Student の t 検定を用い、有意水準は 5%以下とした。

SEM による観察結果では材料表面の構造変化は認められなかった。XPS の観察において実験群の C のピークの減少および水酸化物の形成を認めた。細胞接着数の比較を行ったところ、すべての計測時

間において、実験群で有意に高い値を示した。また、遺伝子発現解析においても、すべての計測時間において、実験群で有意に高い値を示した。蛍光顕微鏡像は、対照群と比較して実験群で細胞突起が伸張し、幅広く付着した像が観察された。

以上の結果より、純チタン金属への大気圧プラズマ処理は、血管内皮細胞の初期接着能の向上および材料表面への初期接着を示す遺伝子発現亢進に有用であり、早期の血管新生が誘導される可能性が示された。

論文審査結果要旨

本研究では早期の血管新生を誘導するインプラント材料表面の処理方法開発を目的とし、純チタン金属への大気圧プラズマ処理が、インプラント埋入周囲の血管新生に大きな役割を果たす血管内皮細胞の初期挙動に与える影響について検証している。なお、本研究は、大阪歯科大学動物実験委員会の承認(第 22-02019 号)を得て行っている。

実験材料として市販の JIS2 種の純チタン金属板を使用し、無処理のものを対照群、ピエゾブラッシュ(アルス社製)にて研磨した試料に 10mm の間隔をあけて 30 秒間大気圧プラズマを照射したものを実験群として使用した。

まず、試料表面における元素分析を X 線光電子分光法(XPS)にて行った。また、各群表面の蒸留水の接触角を接触角測定装置にて測定した。

次に、生後 8 週齢の SD 系雄性ラットの胸部下行大動脈から血管内皮細胞を採取し、初代培養を確立したうえで、その 3 代目を実験に供した。実験群および対照群の試料表面に対する培養 1, 3, 6, 24 時間後の血管内皮細胞の初期接着数の比較を行った。また、培養 6 時間後の試料表面上の血管内皮細胞を、Alexia Fluor 488-phalloidin と DAPI を使用して染色し、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM700) を用いて細胞接着像を観察した。培養開始後 2, 5 日の血管内皮細胞の初期接着に関する遺伝子発現をリアルタイム PCR 法にて分析した。評価項目は I-CAM-1, Von willebrand 因子, Thorombomodurin とした。統計学的分析には、各種測定値に Student の t 検定を用い、有意水準は 5%とした。

XPS による観察にて、実験群の C のピークの減少および水酸化物の形成を認めた。接触角の測定において、実験群では対照群と比較して接触角の大きな減少が認められ、大気圧プラズマ処理により材料表面に超親水性が与えられたことが明らかとなった。各種純チタン金属表面に対する血管内皮細胞の接着数の比較を行ったところ、すべての計測時間において、実験群で有意に高い値を示した。培養 6 時間後の蛍光顕微鏡像は、対照群と比較して実験群で細胞突起が伸張し、幅広く付着した像が観察された。また、遺伝子発現解析においても、I-CAM-1, von Willebrand 因子, Thorombomodurin の項目のすべての計測時間において、血管内皮細胞の初期接着に関する遺伝子発現量は有意に高い値を示した。

以上より、純チタン金属への大気圧プラズマ処理が血管内皮細胞の初期接着能の向上、および材料表面への初期接着を示す遺伝子発現の向上に有用であり、大気圧プラズマ処理を行った純チタン金属表面上では早期の血管新生が誘導される可能性があることを示し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。