

| | |
|---------|---|
| ふりがな氏名 | ふじの ともこ 藤野 智子 |
| 学位の種類 | 博士（歯学） |
| 学位記番号 | 甲 第 729 号 |
| 学位授与の日付 | 平成 26 年 3 月 7 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 Differentiation on Nanoscale Features of a Titanium Surface: Effects of Deposition Time in NaOH Solution (水酸化ナトリウム溶液への浸漬時間変化がナノ構造を析出させたチタン表面上の細胞分化に与える影響について) |
| 学位論文掲載誌 | Journal of Hard Tissue Biology 第 23 巻 第 1 号 平成 26 年 1 月 |
| 論文調査委員 | 主査 田中 昌博 教授 副査 岡崎 定司 教授 副査 梅田 誠 教授 |

論文内容要旨

本研究では、純チタン金属の濃アルカリ溶液への浸漬時間の変化が未分化間葉細胞の一種であるラット骨髄細胞の硬組織分化誘導能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 #2000 まで研磨した市販の純チタン金属を使用し、実験群として 10M の水酸化ナトリウム水溶液に同チタンを 5 分、1、3、9、24 時間浸漬し攪拌・反応させたものを、対照群として無処理の純チタンを使用した。反応後、試料を取り出し、イオン交換水にて導電率が 5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 以下になるまで洗浄を行った後、自然乾燥にてチタン金属表面に TNS を析出させた。各々の純チタン金属表面は走査型電子顕微鏡 (SEM)、走査型プローブ顕微鏡 (SPM) にて観察を行った。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、初代培養を確立しその 3 代目を実験に供した。その後、細胞を両群に 1 穴あたり 4×10^4 個ずつ各試料上に播種し、培地に 10 mM β -グリセロン酸ナトリウムと 82 $\mu\text{g}/\text{ml}$ アスコルビン酸、 10^{-8}M デキサメタゾン含有の分化誘導培地を用い培養 14 日後の ALP 活性および 21 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た。統計学的解析には、各測定値に一元配置分散分析を行った後、有意差を認めた場合 Tukey の多重比較検定を行った。有意水準は 5 %とした。

SEM の所見では、対照群の純チタンで平坦な画像が観察されるのに対し、浸漬後 5 分で表面が粗造な画像を示し、浸漬 1 時間よりナノメートルレベルでのネットワーク構造を形成し始め、浸漬後 9 時間で TNS 構造と思われるネットワーク構造は構築された。SPM の観察では、浸漬時間の経過とともに SEM 像でのナノシート構造に相当するノジュール構造が観察されノジュールの Ra は 1 時間で 46 nm を示した後、時間の経過とともにノジュールサイズは小さくなり浸漬 9 時間と 24 時間でほぼ同等の Ra を示

した。浸漬後 3 時間と浸漬後 9 時間の試料間に有意差は認められたが浸漬後 24 時間の試料には有意差は認められなかった。ALP 活性、オステオカルシン量および Ca 量は全ての計測時間において、実験群で対照群と比較して有意差が認められたが、浸漬後 9 時間と浸漬後 24 時間の間には有意差は認められなかった。この結果から、純チタン金属への浸漬後 9 時間の濃アルカリ水溶液への浸漬が以前の報告で示された浸漬 24 時間の結果と同様の結果を示すことが明らかとなった。

以上のことから、純チタン金属の濃アルカリ水溶液への浸漬はより短時間で、骨髄細胞の硬組織分化誘導能を向上させる可能性があるという結論を得た。

論文審査結果要旨

本論文は、純チタン金属の濃アルカリ溶液への浸漬時間の変化が未分化間葉細胞の一種であるラット骨髄細胞の硬組織分化誘導能に与える影響について比較、検討することを目的とし研究を行ったものである。

実験材料として #2000 まで研磨した市販の純チタン金属を使用し、実験群として 10M の水酸化ナトリウム水溶液に同チタンを 5 分、1、3、9、24 時間浸漬し攪拌・反応後、TNS を析出させたものを、対照群として無処理の純チタンを使用した。各々の純チタン金属表面は走査型電子顕微鏡 (SEM)、走査型プローブ顕微鏡 (SPM) にて観察を行った。次に、生後 7 週齢の SD 系雄性ラットの両側大腿骨から採取した骨髄間葉細胞を、両群に 1 穴あたり 4×10^4 個ずつ各試料上に播種し、培養 14 日後の ALP 活性および 21 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た。統計学的解析には、各測定値に一元配置分散分析を行った後、有意差を認めた場合 Tukey の多重比較検定を行った。有意水準は 5 %とした。

SEM の所見では、対照群の純チタンで平坦な画像が観察されるのに対し、浸漬後 9 時間で TNS 構造と思われるネットワーク構造は構築された。SPM の観察では、時間の経過とともにノジュールサイズは小さくなり浸漬 9 時間と 24 時間でほぼ同等の Ra を示した。ALP 活性、オステオカルシン量および Ca 量はすべての計測時間において、実験群と対照群とを比較して有意差が認められたが、浸漬後 9 時間と浸漬後 24 時間の間には有意差は認められなかった。この結果から、純チタン金属への浸漬後 9 時間の濃アルカリ水溶液への浸漬が以前の報告で示された浸漬 24 時間の結果と同様の結果を示すことが明らかとなった。

以上のことから、純チタン金属の濃アルカリ水溶液への浸漬は、より短時間で骨髄細胞の硬組織分化誘導能を向上させることが示唆された点において、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。