

## 論文の内容の要旨

氏名：柳 澤 直 毅

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：チタンディスクの研磨条件がヒト歯肉線維芽細胞接着に及ぼす影響

細菌感染を主因とするインプラント周囲炎は、オッセオインテグレーションを破壊するため、歯科インプラント治療における主要な問題の一つとされ、軟組織の退縮や骨吸収を起こすことでインプラント体が露出し、審美的問題を惹起するが、インプラントネック部周囲の軟組織による強固な封鎖を獲得することで、インプラント周囲炎予防に有利に働くと考えられる。これまでのチタン製インプラント表面性状の研究は、強固な細胞接着と早期の細胞分化、さらに機械的な嵌合力の向上を目指し、粗面に関する研究が主体となっている一方、インプラントネック部等、粘膜と接する部位は平滑面であり、インプラント周囲炎への防御機構としての重要な役割を担っているにもかかわらず、詳細な検討は行われていない。上述したように、インプラント周囲炎予防の観点から、インプラントネック部と粘膜の接触面は、細菌の付着を防ぎつつ、周囲軟組織によって強固な封鎖を獲得する必要がある。しかし、細菌の付着を防ぐためには平滑面が必要であり、細胞接着を促進するためには、細胞接着に有利な粗面が必要であるという相反する状況にある。

そこで本研究では、インプラント周囲炎予防の観点から、インプラントの粘膜接触部に焦点を当て、インプラントネック部表面の表面粗さが、周囲軟組織に与える影響の解明を目的とし、異なる研磨条件のチタンディスクが、ヒト歯肉線維芽細胞の接着および増殖に及ぼす影響について検討した。

チタンディスクは研磨条件の異なる、電解複合研磨 (electrolytic composite polishing, ECP)、バフ研磨 (sisal buffing, SB)、ヘアライン研磨 (hairline polishing, HP)、レーザー切断 (laser cutting, LC) の 4 種類を用いた。各チタンディスクの表面粗さは Ra (算術平均粗さ)、Rp (最大山高さ)、Rv (最大谷深さ)、Sa (三次元的算術平均粗さ)、Wsk (ひずみ度)、Rku (とがり度)、Str (表面性状のアスペクト比) の 7 項目について、カラー 3D レーザー走査型顕微鏡を用いて測定した。濡れ性は、各チタンディスク上に 10  $\mu$ L の DDH<sub>2</sub>O を滴下し、接触角および、水滴の拡がり面積を用いて測定した。各チタンディスク上の表面元素の解析は、エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 (EDX) を用いて行った。各チタンディスクへのヒト歯肉線維芽細胞接着に及ぼす影響は、24 時間および 48 時間培養後、各チタンディスク上の細胞接着および増殖を、WST-8 を用いて測定した。評価は、ELISA リーダーを用いて 420 nm の波長で吸光度を測定した。

実験の結果、表面粗さ Ra, Rp, Rv, Sa では各パラメータの値は、ECP, SB, HP, LC の順で大きくなり、全ての群間で有意差を認めた。Wsk は、ECP と SB の場合、 $Wsk > 0$  であり、凹凸の数値を平均した平均線に対してうねりが下方に偏っている一方、HP と LC は  $Wsk < 0$  であり、平均線に対してうねりが上方に偏っている。Rku は ECP のみ  $Rku < 3$  の条件を満たすため、表面に存在する微細な突起の先端も平坦であった。Str は 1 に近い値を示す ECP, LC で等方性の表面性状を認め、0 に近い値を示す SB で異方性の表面性状を認めた。また、HP は等方性と異方性の中間的性質を認めた。接触角および水滴の拡散面積で求めた濡れ性は、各チタンディスクすべてにおいて疎水性を示し、接触角は、最も小さい ECP で  $63^\circ$ 、最も大きな LC で  $80^\circ$  であり、LC の接触角と面積は他のディスク群と比較して有意差を認めた。また、ECP の接触角と面積は HP と LC と比較して有意差を認めた。EDX を用いて行った ECP, SB, HP, LC 上の表面元素の解析結果は、TiO<sub>2</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>のみが検出され、細胞接着に影響を与える可能性のある表面元素の検出は認められなかった。チタンディスクの表面上におけるヒト歯肉線維芽細胞の細胞接着と細胞増殖の結果は、24 時間および 48 時間培養後では、各群間に有意差は認められなかった。また、表面粗さ (Ra, Rp, Rv, Sa) と細胞接着の相関関係を把握するため、相関分析により検討した結果、24 時間培養後の表面粗さパラメータと初期細胞接着量との間に弱い正の相関が観察された (Ra :  $r = 0.326$ , Rp :  $r = 0.334$ , Rv :  $r = 0.324$ , Sa :  $r = 0.303$ )。しかし、48 時間培養後では相関が認められなかった (Ra :  $r = 0.086$ , Rp :  $r = 0.016$ , Rv :  $r = 0.028$ , Sa :  $r = 0.034$ )。

チタンの研磨条件がヒト歯肉線維芽細胞接着に及ぼす影響を検討した結果、以下の結論を得た。

1. ECPは凹凸が少なく、表面の微細な突起の先端も平坦であり、等方的な超平滑面を示し、さらに親水性が最も高かった。
2. 24時間培養後のヒト歯肉線維芽細胞における、表面粗さと細胞付着数は弱い正の相関を示したが、48時間培養後では相関は消失した。