HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	カーボンナノホーンコートチタン上でのマクロファージの挙動［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	木村, 貞仁
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第14521号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81154
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Sadahito_Kimura_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　氏　名　木村　貞仁

審査担当者
主査　教授　横　山　敦　郎
副査　教授　網　塚　憲　生
副査　教授　吉　田　靖　弘

学　位　論　文　題　名
カーボンナノホーンコートチタン上でのマクロファージの挙動

審査は，主査，副査を含めて公聴会として行われ，論文提出者が論文内容の要旨を説明した．その後，内容について審査担当者が質問し，論文提出者が回答する形で進められた．以下に論文内容と審査の要旨を述べる．

カーボンナノホーン（CNHs）は，物理的・生物学的特性から，生体材料への応用が期待されている．我々は，歯科領域における CNHs の生体材料への応用を目的に研究を行ってきた. これまでに CNH を固着したポリテトラフルオロエチレン（PTFE）膜（CNH/PTFE 膜）を骨再生誘導法に応用した場合に骨形成が促進されこと，さらに CNHs を貪食したマクロファージは，間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を促進することなどを報告した．マクロファージは，炎症性サイトカインを分泌する M1 マクロファージ（M1）と，抗炎症・免疫抑制機能を持ち，組織修復に関与する M2 マクロファージ（M2）に分極することが知られている．そこで本研究では，チタンに修飾した CNHs (CNH/Ti)がマクロファージに与える影響を検索することを目的とした.

CNH/Ti ならびに Ti 上でマクロファージ(J774A1)を培養し，走査型電子顕微鏡（SEM）ならびに透過型電子顕微鏡（TEM）で観察するとともに，M1 が分泌する炎症性サイトカインである TNFαおよび IL-6，ならびに M2 が分泌する抗炎症性サイトカインである IL-10 の発現を比較した．また，マイクロアレイにより遺伝子の発現を解析した．さらに CD206（M2 マーカー）の発現を観察した.

培養 1 日後の SEM 観察では，細胞の形態は Ti 上では扁平であるのに対し，CNH/Ti 上では球形のものが多くみられ, 仮足を CNHs に伸展させていた. TEM 観察により細胞膜に接して CNHs が観察され，細胞内にも少数の CNHs が認められた.

培養 3 日後の CNH/Ti における TNF α と IL-6 は, Ti に比較して有意に低く, IL-10 では両者の間に有意差はなかった. マイクロアレイによる Gene Ontology 解析により， CNH/Ti 上のマクロファージでは, Ti 上と比較して DNA の転写・修復・複製に関する遺伝子が下方制御されていることが明らかとなった．蛍光免疫染色では CNH/Ti の CD206 の蛍光強度は，Ti に比較し有意に高かった.

以上の結果から，Ti 表面に修飾した CNHs は，マクロファージの DNA の転写・修復・複製に影響し，組織再生に関与する M2 マクロファージへの分極を誘導する可能性が示された．今後のカーボンナノ物質の生体材料への応用と展開が期待される.

公聴会における質問は以下の通りであった.

１． マクロファージの分極について
２． M1マクロファージならびにM2マクロファージのマーカーについて
３． マクロファージ内のsecondary lysosomeについて
４． カーボンナノ物質に対するマクロファージの反応について
５． マクロファージに貪食されたカーボンナノ物質の体内での分解について
６． カーボンナノ物質の使用用途について

以上の主査ならびに副査からの質問に対して，学位申請者は十分な説明とともに明確な回答を行った．加えて，本研究成果の生体材料への応用の可能性と今後の研究に対する展望も示した.

本研究において，学位申請者は，チタンに表面修飾したカーボンナノホーンは, マクロファージの DNA の転写･修飾･複製に影響し, 組織再生に関与する M2 マクロファージへの分極を誘導する可能性を明らかにし, カーボンナノ物質の生体材料への応用と展開の可能性を示した．その研究内容は高く評価され，よって学位申請者は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した.