



Title	リン酸化プルランを用いた新しいインプラント表面改質の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	長本, 香菜子
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15024号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85996
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Nagamoto_kanako_review.pdf, 審査の要旨



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 長本 香菜子

審査担当者	主査	教授	田村 正人
	副査	教授	吉田 靖弘
	副査	教授	北川 善政

学位論文題名

リン酸化プルランを用いた新しいインプラント表面改質の検討

審査は、主査、副査を含めて Web 形式の公聴会として行われ、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

インプラント治療において十分な骨接合を得られない症例が未だ存在する。また、インプラント表面のコーティング技術においても材料の剥離などによる問題がある。そのため、十分な骨接合を獲得でき、チタンと骨との高い接着性、生体親和性、早期に骨置換される性質があるインプラント表面性状の改良が求められている。そこで、動物実験で優れた骨接合を示したリン酸化プルラン（PPL）に着目した。

本研究では PPL を用いた新しいインプラント表面処理法の開発を目的に、PPL 存在下での骨関連細胞の動態と PPL の担持機能について評価した。

PPL で処理した Ti disk (PPL Ti disk) を XPS にて測定し、PPL の Ti disk への接着を評価した。細胞増殖試験では、MC3T3-E1 細胞を培養皿にて 1 日培養後、PPL を 0.01%、0.1%、0.5%、1%、3% の濃度で添加した培地へと交換し 2 日増殖させた。また、PPL Ti disk 上では 2 日増殖させた。両者ともに WST8 を用いて評価した。石灰化誘導試験では、Saos-2 細胞を培養皿にて 5 日培養後、1% の濃度で PPL を添加した石灰化誘導培地にて 1 週間培養した。また、PPL Ti disk 上では 3 日培養後、2 週間石灰化誘導した。両者ともアリザリンレッド溶液で染色し石灰化物を評価した。次に、担持機能の評価として、Ti disk を 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ BMP-2+1%PPL 溶液に 24 時間浸漬し、得られた disk 上で Saos-2 細胞を 3 日培養後、石灰化誘導し石灰化物を評価した。破骨細胞様細胞の形成に与える影響については、RAW264.7 細胞を培養皿にて数日培養後、RANKL 50 ng/mL と PPL を 0.1%、1%、3% の割合で混合した培地へと交換し 6 日間培養した。TRAP 染色し破骨細胞様細胞を評価した。

XPS 測定結果より PPL が Ti disk 表面に接着したことが確認された。細胞増殖試験では、PPL を培地に添加すると濃度依存的に MC3T3-E1 細胞の増殖が抑制されたが、

PPL Ti disk 上では増殖傾向がみられた。一方、石灰化誘導試験では PPL を培地に添加した場合、石灰化物の形成が抑制されたが、PPL Ti disk 上では石灰化の促進が認められた。さらに、PPL の BMP-2 担持機能については、BMP-2+1%PPL 溶液に浸漬した Ti disk では、石灰化物の形成が増加した。また、破骨細胞様細胞に関しては、培地に PPL を添加すると、破骨細胞様細胞数は濃度依存的に有意に減少した。

Ti disk に接着した PPL は、培養液中における細胞に作用する分子や石灰化に必要な物質などを吸着し、Ti disk に付着した細胞へと継続的に高濃度で供給したことにより、細胞増殖や石灰化が促進されたと考えられる。一方で、PPL を培地に添加すると、上述した培養液中の細胞に作用する分子が浮遊する PPL へと吸着されたため、培養皿底面に付着した細胞への供給量が低減し、細胞増殖が減少したと考えられる。BMP-2+1%PPL 溶液で処理した Ti disk 上では、BMP-2 が機能を失うことなく PPL に担持された可能性が考えられる。

以上より、PPL をインプラントにコーティングすることでオッセオインテグレーション向上に寄与できることが示され、PPL はインプラント表面処理法の開発に有用であることが示された。

各審査担当者からの主な質問項目は、以下である。

- 1) PPL の構造が石灰化に及ぼす影響について
- 2) PPL の分子量について
- 3) Ti disk の表面粗さと研磨方法について
- 4) XPS による PPL Ti disk のリン元素の検出量について
- 5) 浸漬の読み方について
- 6) PPL Ti disk 表面への細胞接着について
- 7) PPL の培地への添加と PPL Ti disk とで、石灰化の傾向が異なる理由
- 8) PPL とアリザリンレッドが吸着する可能性について
- 9) BMP-2 担持 PPL Ti disk 上の石灰化誘導について
- 10) Ti と PPL の接着様式について
- 11) 破骨細胞の形成について
- 12) 破骨細胞様細胞の形成を PPL が抑制した理由
- 13) 破骨細胞様細胞の核数が減少したことについて
- 14) Ti disk の洗浄方法について
- 15) インプラントの洗浄方法
- 16) 実験に用いたピンセットの素材について

これらの質問に対して、申請者から明快な説明と回答が得られた。申請者は本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な知識を有しており、本研究のさらなる発展が期待された。本研究は、歯科医学の発展に寄与するものであり、審査担当者全員は申請者が博士(歯学)の学位を授与されるに相応しいと認めた。