

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	濱 拓弥
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 澁谷 俊昭 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 玉置 幸道 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 柏俣 正典
論文題目 チタンおよびジルコニアへの UV 照射が培養ヒト歯肉上皮前駆細胞に及ぼす影響	
論文内容の要旨 【目 的】 欠損部の補綴治療にインプラント治療が有用であり、頻繁に用いられるようになってきている。しかしインプラント治療においては、インプラント周囲炎やインプラント周囲粘膜炎を起こしていることが報告されており、問題となっている。インプラント周囲炎の予防には天然歯と同様に、インプラント体と上皮の接合部での防御が重要であることが指摘されている。本研究の目的は、エキシマ UV 照射の有無でチタンディスクとジルコニアディスクに対するヒト歯肉上皮前駆細胞の初期付着状態を比較検討することである。	
【材料および方法】 1. 試料 チタンディスク、ジルコニアディスク Zpex の 2 種を用いた。2 試料は未研磨状態で表面粗さが大きく異なっていたため、研磨した。各ディスクは実験前にオートクレーブにて滅菌した。各試料の表面粗さの測定は、ナノスケールハイブリッド顕微鏡を用いて測定を行った。その後一部の研磨後の試料を、エキシマランプを用いて、照射距離 1.0 cm, $\lambda = 172 \text{ nm}$ にて 20 分間エキシマ UV 照射した。	
2. 細胞培養 ヒト歯肉上皮前駆細胞 (HGEPp) を専用培地を用いて培養を行った。直径 100 mm ディッシュ上に $4 \times 10^3 \text{ cells/cm}^2$ になるように HGEPp を播種し、CO ₂ インキュベーター内にて湿潤下で培養を始め、播種翌日に浮遊細胞を除去するために培地交換を行った。その後 2 日ごとに 10 ml ずつ培地交換を行い、3 継代目まで培養した。90%コンフルエント状態にまで培養した細胞を、PBS(-)液にて洗浄したのち、Trypsin / EDTA 液で 3 ~ 6 分間処理して細胞を遊離させた。遊離させた後にディッシュにトリプシン中和液を加え浮遊細胞液をコニカルチューブに移し、ディッシュに PBS(-)液を加え残った細胞もコニカルチューブに回収した。コニカルチューブに回収した細胞を $200 \times g$ で 5 分間遠心して遠心上清の除去を行い、 $1 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ になるように調整した細胞を、試料を置いたディッシュ内に播種した。	

3. 測定

接触角の測定は、それぞれディスク上に $1.0\ \mu\text{L}$ の蒸留水を滴下し、表面接触角計を用いて測定、着液の撮影をした。

付着細胞は 1, 3, 12, 24 時間培養し、固定後にエタノール上昇系にて脱水を行い、凍結乾燥した。乾燥後の試料は、オスmiumコーターにて OsO_4 を電離させ皮膜を作り、走査型電子顕微鏡にてディスク上に残った付着細胞を観察した。各培養時間ごとに試料上にて固定した付着細胞は、無作為に 10 箇所決定し、倍率 250 倍にて走査型電子顕微鏡視野内を撮影し、撮影した画像をもとに付着細胞数をカウントした。10 箇所にてカウントした細胞数は平均値を算出し結果とした。有意差検定は Student's *t*-test により解析し、 $p < 0.05$ を統計的に有意であるとした。

【結果】

接触角は、研磨後のチタンディスクは $83.4 \pm 3.0^\circ$ 、ジルコニアディスクは $83.3 \pm 2.3^\circ$ で、研磨後の試料にエキシマ UV 照射した表面では、チタンディスクは $11.4 \pm 3.0^\circ$ 、ジルコニアは $11.0 \pm 2.3^\circ$ であり、それぞれの試料とも有意に親水性に変化した。走査型電子顕微鏡にて撮影した画像において、チタンディスク、ジルコニアディスクともに 1～24 時間にて時間の経過とともに細胞が付着、進展、分裂増殖していく様子が観察された。細胞数においては、培養開始直後の 1 時間から 24 時間経過後まで、研磨のみに比べて、エキシマ UV 照射後において有意に付着細胞数が多かった。

【考察】

エキシマ UV を照射することにより親水性となり、各ディスク上に、より早期に多くの細胞が付着し、速やかに伸展、扁平化しインプラント体周囲の上皮の初期付着に有利であることが示唆された。また照射時間も 20 分と短時間であった。チタンがジルコニアに比べ細胞付着に有利な結果が出たが、表面粗さ、接触角ともに差はなく、材料本来の表面特性で付着性の違いが生じたと考えられる。

【結論】

チタンディスクおよびジルコニアディスク表面をエキシマ UV 照射することで、より早期にヒト歯肉上皮前駆細胞が付着し、上皮の初期付着に有効であることが示唆された。