

**岩手医科大学  
学位審査報告**

氏名 中里好宏  
 学位の種類 博士（歯学）  
 学位授与番号 岩医大院歯博第215号  
 学位授与の日付 平成18年3月25日  
 学位論文題目 Analysis of Thin Hydroxyapatite Layers Formed on Anodic Oxide Titanium after Hydrothermal Treatment in Rat Bone Marrow Cell Culture  
 （陽極酸化と水熱処理によりチタン表面に形成された HA 皮膜のラット骨髓由来骨芽細胞下での分析）

### 論文内容の要旨

#### I. 研究目的

純チタンは生体適合性が高いことから、口腔インプラント材料として広く用いられている。口腔インプラント埋入後のオッセオインテグレーションを獲得するために、種々の表面性状・形状が検討されてきた。その一つとして、純チタン表面を放電陽極酸化処理し、さらに水熱処理を行うことで陽極酸化膜上にハイドロキシアパタイト（HA）結晶を析出させる表面処理法（SA 処理）の有用性が報告されている。

しかし、SA 処理インプラントを骨組織内に埋入後、オッセオインテグレーションを獲得し恒常に維持・機能する場合、純チタン表面上に析出した HA 結晶は骨形成を担う骨芽細胞の初期石灰化によって、どのような影響を受けるのかは明確でない。

そこで本研究では、SA 処理チタン上にて培養したラット骨髓由来骨芽細胞の分化にともなう初期石灰化過程での HA 結晶の変化を解析した。

#### II. 研究方法

実験材料として SA 処理を施した純チタンディスクを用いた。Wistar 系ラット（雄性、6 週齢）の大脛骨より骨髓細胞を採取後、 $\alpha$ -MEM 培養液（50g/ml ascorbic acid, 10mM  $\beta$ -glycerophosphate,  $10^{-8}$ M dexamethasone を添加）にて 7 日間培養後、SA 処理チタンディスク上に播種（ $5 \times 10^4$  cells/ml）し、5, 7, 10, 14 日間培養した。骨芽細胞の石灰化の程度を観察するために、電子プローブ X 線微小部分析装置（EPMA）による表面分析を行った。その後、細胞・材料界面を観察するため、カーボンテープの接着性を利用し積層している細胞の一部を試料面から剥離し、走査型電子顕微鏡（SEM）による HA 皮膜の形態観察、X 線回折（XRD）による HA 皮膜の構造の分析、光電子分光分析装置（XPS）による HA 結晶の P と Ca の結合エネルギーの分析を行った。

#### III. 研究成績

EPMA 分析より P と Ca 元素の検出レベルは、培養前では HA 皮膜上の HA 結晶による分布が認められ、培養 7 日目以降から培養前の SA 処理チタンよりレベルは相対的に高まり、石灰化形成は経日的に中心部から広範囲に拡大していく分布が認められた。SEM 像より、培養前後において HA 結晶形態の概形に変化は認められず、その表面や周囲に骨芽細胞分化にともなう石灰化物形成と骨基質生成が認められた。XRD 分析では、培養前および 5, 7, 10, 14 日間培養後の全てにおいて  $TiO_2$  (anatase),  $TiO_2$  (rutile), HA が認められた。XPS 解析の結果、ワイドスキャン測定では培養前および 5, 7, 10, 14 日間培養後の全てにおいて P 2 p, C 1 s, Ca 2 p, Ti 2 p, O 1 s のピークが認められた。さらにナロースキャン測定では培養前の P 2 p, Ca 2 p 3/2 のピークの結合エネルギーは 133.32eV, 347.32eV であり、5, 7, 10, 14 日間培養後の全てにおいて培養前の SA 処理チタンと比較する

と一元配置分散分析により有意差はないことから、HA 結晶の P 2 p, Ca 2 p 3 / 2 のピークの結合エネルギーは培養前後で変化がないことが認められた。

#### IV. 考察及び結論

SA 処理チタン上での培養によって骨芽細胞の分化にともなう石灰化形成ならびに骨基質形成過程においては、 HA 結晶上の石灰化形成、 HA 結晶の形態、 HA 結晶の P と Ca の結合エネルギー、 HA 皮膜の構造には変化がないことが認められた。これらのことから、 HA 結晶の形状、性状などが SA 処理チタンインプラント表面での骨形成能を高める要因の一つになっていることが推察された。

#### 論文審査の結果の要旨

##### 論文審査担当者

主査 教授 石 橋 寛二 (歯科補綴学第二講座)

副査 教授 野 坂 洋一郎 (口腔解剖学第一講座)

副査 教授 荒 木 吉 馬 (歯科理工学講座)

純チタン表面を放電陽極酸化処理し、さらに水熱処理を行うことで陽極酸化膜上にハイドロキシアパタイト (HA) 結晶を析出させる表面処理法 (SA 処理) の有用性が報告されている。しかし、SA 処理インプラントを骨組織内に埋入後、オッセオインテグレーションを獲得し恒常的に維持・機能する場合、純チタン表面上に析出した HA 結晶は骨形成を担う骨芽細胞の初期石灰化によって、どのような影響を受けるのかは明確でない。

本研究では、SA 処理チタン上にて培養したラット骨髄由来骨芽細胞の分化にともなう初期石灰化過程での HA 結晶の変化を電子プローブ X 線微小部分析装置 (EPMA)、走査型電子顕微鏡 (SEM)、X 線回折 (XRD)、X 線光電子分光分析 (XPS) により解析した。本研究の意義は、SA 処理チタン上での培養によって骨芽細胞の分化にともなう石灰化形成ならびに骨基質形成過程においては、 HA 結晶上の石灰化形成、 HA 結晶の形態、 HA 結晶の P と Ca の結合エネルギー、 HA 皮膜の構造には変化がないことを解明したことにある。

これは、適応範囲が広く生体内で早期に安定する SA 処理チタンインプラントのメカニズムを材料側から明らかにしたものとして評価されるものである。

#### 試験・試問の結果の要旨

本論文の臨床における意義、実験方法ならびに HA 結晶に関する基礎的な事項を試問したところ適切な解答が得られた。また、歯科補綴学に関する知識も認められ、十分な学識と研究能力を有することから合格と判定した。