

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20445

研究課題名(和文)より強固なインプラント-生体インターフェイスを獲得するための新規表面処理法の開発

研究課題名(英文) Nobel surface treatment for better implant-ECM interface

研究代表者

古橋 明大 (Furuhashi, Akihiro)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：60608975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：生体内の細胞は細胞同士で接着をする場合、細胞外基質と細胞とが接着する場合の2種類に大別される。歯科インプラントは細胞にとっては細胞外基質の一種として機能していると考えられる。そこで本研究では、細胞間接着、および細胞と細胞外基質との接着の両面に着目し解析を行った。細胞を種々のコーティングを施した培養ディッシュ上で培養し、反応を探ることとした。また、生体内で細胞は3次元的に分布しているため、3次元培養を行ってその挙動を探ることとした。その結果、細胞は1)、ディッシュのコーティングによってその接着様相を変化させること、2)、3次元培養によって3次元的な構造をもった形態を呈すること、が明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The cell adhesion is divided into two types; cell-cell contact and cell-extracellular matrix (ECM) contact. Dental implants are one of the ECM environments for the surrounding cells. In this study, cell-cell contact and cell-ECM contact are evaluated. Cells were seeded onto various kinds of coated dishes. And 3 dimensional (3D) cultures were also performed. Cells showed different adhesion pattern onto various coating. When cultured in 3-D condition, the cells showed 3-D branching-like morphology.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：細胞外マトリックス

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラントは顎骨内に埋入され、軟組織を貫通して口腔内に露出するという特徴をもつ。インプラントの長期維持のためには周囲組織との親和性が非常に重要であると考えられる。

生体内の細胞レベルの観点で考えると、各々の細胞は細胞同士で接着をする場合、細胞外基質と細胞とが接着する場合の2種類に大別される。歯科インプラントも細胞にとっては細胞外基質の一種として機能していると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、細胞間接着、および細胞と細胞外基質との接着の両面に着目し、その関係性について解析を行うこととした。

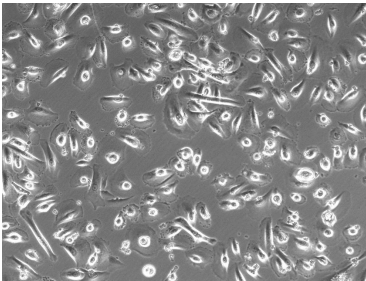
3. 研究の方法

第一段階として、研究に用いる細胞の単離を行うこととした。今回はヒト歯小嚢由来の細胞を用いることとした。

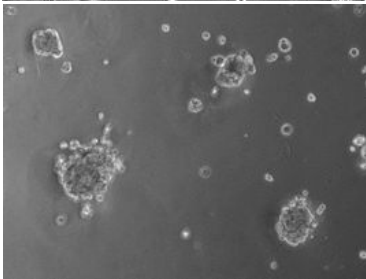
次に得られた細胞を種々のコーティングを施した培養ディッシュ上で培養し、その反応を探ることとした。

また、生体内で細胞は3次元的に分布しているため、3次元培養を行ってその挙動を探ることとした。

4. 研究成果



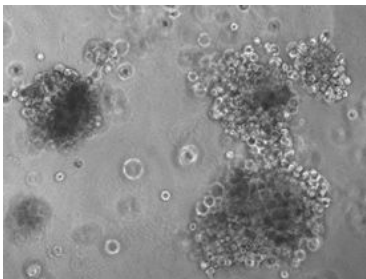
ヒト歯小嚢より、上皮系の細胞を単離することに成功した(左図参照)



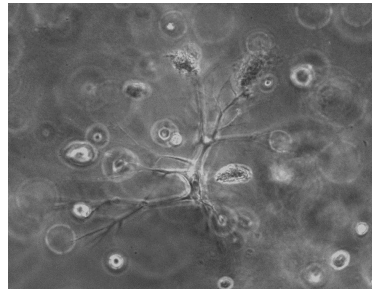
得られた細胞をマトリゲルでコーティングしたディッシュ上に播種すると、細胞同士が接着し、球状の形態を呈することが分かった(培養2日目、上図参照)。

しかし、長期間培養を行うと細胞塊は形態を維持できず、自壊することが分かった。

(培養28日目、左図参照)

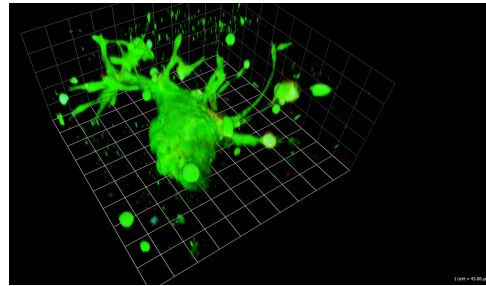


しかし、長期間培養を行うと細胞塊は形態を維持できず、自壊することが分かった。(培養28日目、左図参照)



そこで、細胞をマトリゲルの上ではなく、マトリゲルの中に播種することで3次元的に培養することとした。

すると、細胞はブランチング様の形態を呈することが分かった(培養28日目、上図参照)。



ゲル中の細胞を固定後、免疫染色を行い、コンフォーカル画像を撮影した。細胞は3次元的な構造を形成し、細胞塊から枝を伸ばすような形状を呈するブランチング様構造を詳細に確認することができた(上図参照、培養28日目)。

これらの結果より、細胞は

- 1)、ディッシュのコーティングによってその接着様相を変化させること
- 2)、3次元培養によって3次元的な構造をもった形態を呈することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7件)

Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Jinno Y, Furuhashi A, Koyano K. Micro computed tomography analysis of early stage bone healing using micro-porous titanium mesh for guided bone regeneration: Preliminary experiment in a canine model. *Odontology*, 2017 Apr 7. doi: 10.1007/s10266-017-0298-1

Zhang Q, Nguyen P, Xu Q, Park W, Lee S, Furuhashi A, Le A, Neural Progenitor-Like Cells Induced From Human Gingiva-Derived Mesenchymal

Stem Cells Regulate Myelination of Schwann Cells in Rat Sciatic Nerve Regeneration, stem cell translational medicine, 2016, 5, 1-13,

Atsuta I, Ayukawa Y, Kondo R, Matsuura Y, Ohshiro W, Furuhashi A, Tsukiyama Y, Koyano K. Soft tissue management for the stability of dental implants by histological interpretation. J Prosthodont Res. 2016, 60, 3-11.

古橋明大 上下無歯顎患者に対しフレンジテクニックを用いて総義歯を製作した症例 *Ann Jpn Prosthodont Soc* 8 : 98-101, 2016

Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Furuhashi A, Atsuta I, Koyano K. Fibroblast attachment onto novel titanium mesh membranes for guided bone regeneration. *Odontology*. 103 (2): 218-226. May. 2015. doi: 10.1007/s10266-014-0151-8.

Oshiro W, Ayukawa Y, Atsuta I, Furuhashi A, Yamazoe J, Kondo R, Sakaguchi M, Matsuura Y, Tsukiyama Y, Koyano K. Effects of CaCl₂ hydrothermal treatment of titanium implant surfaces on early epithelial sealing. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 1 (131): 141-147. Jul. 2015. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.04.025.

Yasunami N, Ayukawa Y, Furuhashi A, Atsuta I, Rakhmatia YD, Moriyama Y, Masuzaki T, Koyano K. Acceleration of hard and soft tissue healing in the oral cavity by a single transmucosal injection of fluvastatin-impregnated poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres. An in vitro and rodent in vivo study. *Biomedical Materials*. 2015 Dec 23;11(1):015001. doi: 10.1088/1748-6041/11/1/015001.

{学会発表}(計 6 件)

1) Haraguchi T, Ayukawa Y, Furuhashi

A, Atsuta I, Ogino Y, Oshiro W, Yasunami N, Koyano K. Ca²⁺-modification of Titanium Alters Protein, Cellular and Bacterial Adhesion Properties. 95th General Session of the International Association for Dental Research. San Francisco. Mar 22-25 .2017. Poster presentation

2) Zhang Q, Nguyen P, Xu Q, Park W, Lee S, Furuhashi A, Le A . INDUCED NEURAL PROGENITOR-LIKE CELLS FROM HUMAN GINGIVA-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS REGULATE MYELINATION OF SCHWANN CELLS IN RAT SCIATIC NERVE REGENERATION, American Cleft Palate-Craniofacial association 74th annual meeting, 2017 March 13-18, USA, CO oral presentation

3) 原口拓也, 鮎川保則, 荻野洋一郎, 熱田生, 安波礼之, 古橋明大, 大城和可奈, 古谷野潔. チタンの塩化カルシウム水熱処理がタンパク質, 細胞および細菌の付着に与える影響, 第46回日本口腔インプラント学会学術大会. 名古屋, 9月16-18日, 2016, 課題口演

4) 熱田生, 鮎川保則, 古橋明大, 成松生枝, 古谷野潔. ジルコニア製インプラントにおける軟組織封鎖性の検討, 日本歯科理工学会. 九州地方会夏期セミナー, 小倉, 8月18-19, 2016, 一般口演

5) Xu Q[#], Furuhashi A[#], Zhang Q, Jiang C, Le A . [#] Both authors contribute equally to this study. Potential Application of Human Adult Stem Cells from the Dental Follicle Tissues for Salivary Gland Regeneration, Penn Dental Medicine Research Day, 2016 May 12, USA, Philadelphia. Poster presentation

6) 安波礼之, 鮎川保則, 古橋明大, 熱田生, 古谷野潔, PLGA-スタチン複合体局所単回投与による抜歯窩およびインプラント周囲組織に対する治癒促進効果の検討, 第 45 回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会, 岡山, 2015 年 9 月 21-23 日, 課題口演

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

古橋 明大 (FURUHASHI, Akihiro)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：

60608975