

論文名 : Investigation of titanium-adhesive proteins using a nano-smooth titanium substrate (要約)

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 竹内 陽香

【緒言】

オッセオインテグレーションの成立はインプラント治療の成功の要因の一つと考えられているが、その成立機序には未解明な部分が多い。オッセオインテグレーションは骨とインプラントの密着であるが、埋入直後のチタン表面には骨などの組織分化に先んじて、インプラント窩洞に満たされた血液中のタンパク質が付着すると考えられる。インプラント埋入後の極めて早い時期に表面に接着するタンパク質は、それに続く細胞との相互作用、骨形成に重要と考えられるが、チタン製インプラントの表面に特異的に接着するタンパク質とその機能の探索は十分に行われていない。これまでの研究では、粗面構造の凹凸に非特異的に付着するタンパク質とチタン特異的に接着するタンパク質とを区別できず、そのいずれがオッセオインテグレーション成立にとって重要な役割を果たしているのかは不明である。本研究では、構造的な影響を排除できると考えられる表面粗さ 0.6 nm の超平滑チタン基板を用いて、チタンそのものに特異的に接着するタンパク質を同定し、ラット血液中に存在する該当タンパク質の機能評価を行ったので報告する。

【方法】

表面粗さ 0.6 nm の超平滑チタン基板上にラット血液を播種、洗浄し、基板上に接着するタンパク質を回収し、タンパク質量分析を実施した。得られたタンパク質群から、チタンに接着し、細胞接着促進に関連すると思われるタンパク質を候補タンパク質として選別した。ウエスタンブロット解析にて候補タンパク質の血液中の存在を確認した。候補タンパク質の、骨髄由来細胞接着促進機能解析、石灰化促進機能解析を行った。

【結果】

候補タンパク質のうち **Vitronectin** は、ウエスタンブロット解析からラットの血漿成分中に存在することが確認された。**Vitronectin** を超平滑チタン基板表面にコーティングすることで、**Control** と比較して骨髄由来の接着性細胞の接着を有意に促進した。一方で遺伝子発現と石灰化能の検討結果から、**Vitronectin** に骨芽細胞分化促進機能は認められなかった。

【考察】

本研究では超平滑チタン基板を用いて血液中に存在するチタン接着タンパク質の分析を行なった。チタンやデンタルインプラントに接着するタンパク質を解析した研究は過去にも存在するが、実験には機械研磨、または粗面構造処理されたチタンインプラントを使用しており、粗面構造による非特異的タンパク質付着とチタン特異的な接着タンパク質を区別した解析には至っていない。本研究で用いた表面粗さ 0.6 nm の超平滑チタン基板は、SEM 画像分析で基板上に凹凸が確認できず、非特異的にタンパク質を付着させる可能性は

【別紙2】

極めて低いと考えられる。オッセオインテグレーションにおいて血液中のタンパク質接着はそれに続く細胞接着や各種細胞と相互作用を促進すると考えられるので、タンパク質量分析で得られたタンパク質群より R G D 配列を持つタンパク質をスクリーニングし、候補タンパク質の血液中の局在をウエスタンブロット解析によって確認した。今回のスクリーニングでは **Vitronectin** が細胞接着促進機能を持つチタン接着タンパク質として同定された。機能解析から **Vitronectin** は骨芽細胞の分化促進機能はないが、細胞接着を促進することでオッセオインテグレーションを促進する可能性が示された。今後は **Vitronectin** をより効果的に吸着させるインプラント表面の構造を探索し、デンタルインプラント治療の臨床成績を向上させることの可能性が示唆された。

【結論】

超平滑チタン基板を使用して血液より回収したタンパク質を分析することで、チタン接着タンパク質を同定することが可能になった。本研究ではチタン接着タンパク質の中から細胞接着を促進すると考えられるタンパク質として **Vitronectin** を同定した。**Vitronectin** はラット血漿成分に存在し、骨芽細胞分化促進機能は確認されなかったが、骨髄由来細胞接着を促進することが確認された。