



TITLE:

Bioactivity and antibacterial activity of iodine-containing calcium titanate against implant-associated infection(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ikeda, Norimasa

CITATION:

Ikeda, Norimasa. Bioactivity and antibacterial activity of iodine-containing calcium titanate against implant-associated infection. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2023-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k24479>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏名	池田 周正
論文題目	Bioactivity and antibacterial activity of iodine-containing calcium titanate against implant-associated infection (インプラント関連感染症に対するヨウ素含有チタン酸カルシウムの生体活性及び抗菌性)		
(論文内容の要旨) 【序論】 これまでチタン表面には、骨結合性を向上させる改変が導入されており、骨結合性に関して優れた長期臨床成績が報告されている。一方、インプラント関連感染症は依然として公衆衛生上の懸念事項となっている。ヨウ素 (I) は長年の臨床使用による知見から、高い抗菌性を有し、かつ比較的安全性の高い元素である事が知られている。本研究では、NaOH、CaCl ₂ 溶液処理及び加熱処理後に、ICl ₃ 溶液による浸漬処理を行いヨウ素含有チタン酸カルシウム (以下、Ca-I-Ti) を作成し、表面特性評価、 <i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> での生体活性と抗菌性を主に評価した。 【材料と方法】 純チタン(cp-Ti : control)、cp-Ti に NaOH-CaCl ₂ -加熱-温水処理を行った群 (以下、Ca-Ti)、Ca-I-Ti での 3 群比較試験を行った。(1)表面分析：走査電子顕微鏡、原子間力顕微鏡、X 線光電子分光法、エネルギー分散型 X 線分光法、薄膜 X 線回折法、フーリエ変換共焦点レーザーラマン分光法により分析した。(2) <i>in vitro</i> 評価：材料上に MC3T3-E1 細胞を播種し、細胞生存率、細胞接着、alkaline phosphatase (ALP) 活性及び分化関連遺伝子の発現を評価した。また材料上でメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) を培養し、コロニー形成単位(CFU)評価、LIVE/DEAD 及び Crystal violet による染色観察、SEM 評価を行った。(3) <i>in vivo</i> 評価：日本白色家兔の脛骨に埋植、骨結合能を力学試験及び組織学的に評価した。また 6 カ月間、腎機能 (BUN、Cr) 及び甲状腺機能(TSH、FT3、FT4) を採血評価した。最後に、ラット皮下に MSSA に浸漬した材料を埋植し、CFU 評価及び周囲の組織学的評価(H&E 及び Gram 染色)を行った。 【結果】 (1) Ca-I-Ti 上に、微小網目構造を有する約 1µm の厚さの均一な処理層が形成された。同層はヨウ素含有チタン酸カルシウム、ルチル及び少量のアナタースから成り、cp-Ti に比べ、より高い表面粗さを獲得した。Ca-I-Ti はヨウ素を含むことを除いて、Ca-Ti と同様の表面特性を示した。(2) 細胞生存性に関して、培養 7 日間で Ca-I-Ti 群で細胞毒性を認めなかった。培養 24 時間後の材料への細胞接着でも、Ca-I-Ti 群で旺盛な仮足伸長を認めた。ALP 活性及び <i>Alp</i> 発現は Ca-Ti 及び Ca-I-Ti 群で有意に cp-Ti よりも上昇を認めたが、 <i>Ocn</i> 及び <i>Opn</i> に関しては Ca-Ti のみで有意な上昇を認めた。CFU 評価及び染色評価では、培養 24 時間及び 1 週間後において、Ca-I-Ti 群のみで菌接着及び繁殖抑制が確認できた。また SEM 像では、Ca-I-Ti 群のみ菌の破壊像が確認できた。(3)力学試験および組織学的評価では、Ca-I-Ti は移植後 8 週間で cp-Ti と比較して有意に高い骨結合力を示した。また腎機能及び甲状腺機能に関する採血では、cp-Ti 埋入群と比較して明らかな異常値を示すことはなかった。感染インプラントの皮下埋入モデルでは、摘出後の金属表面における MSSA 量は cp-Ti に比べて有意に低減し、周囲の組織評価でも感染が抑制された。いずれの <i>in vivo</i> 試験中においても、局所及び全身的な合併症は確認できなかった。 【結語】 ヨウ素含有チタン酸カルシウムは、優れた生理活性と抗菌性を有する安全なバイオマテリアルの候補であり、インプラント関連感染症の予防につながる可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

インプラント関連の感染症は重大な合併症であり、骨結合能と抗菌性を両立した生体材料の開発が期待される。本研究では、NaOH、CaCl₂ 溶液処理及び加熱処理後にヨウ素を導入したチタン(以下、ヨウ素含有チタン酸カルシウム)の生体活性、抗菌性評価を行った。試験は、純チタン、純チタンに NaOH、CaCl₂ 溶液処理を加えて作製したチタン酸カルシウム、ヨウ素含有チタン酸カルシウムを用いて比較検討した。

表面分析において、ヨウ素含有チタン酸カルシウムは、厚さ約 1µm の表面粗さをもつ処理層を有し、ヨウ素イオンを均一に含有することが確認できた。

In vitro では、骨芽細胞様細胞を用いた試験で細胞毒性を示さず、SEM 及びアクチン染色で細胞接着が確認できた。また、黄色ブドウ球菌を用いたコロニー形成単位評価、染色観察、SEM 評価では、細菌の増殖抑制を確認した。

In vivo では、日本白色家兔を用いて骨結合能を評価し、ヨウ素含有チタン酸カルシウムの良好な骨結合能が力学試験及び組織学的評価により示された。また黄色ブドウ球菌菌液に浸漬した材料をラット皮下に埋植した試験では、コロニー形成単位評価及び組織評価において、細菌感染を抑制することが確認できた。

以上の研究は、純チタンに対する骨結合能及び抗菌作用の付与方法の解明に貢献し、整形外科におけるチタンを使用したインプラント開発に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 12 月 21 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。