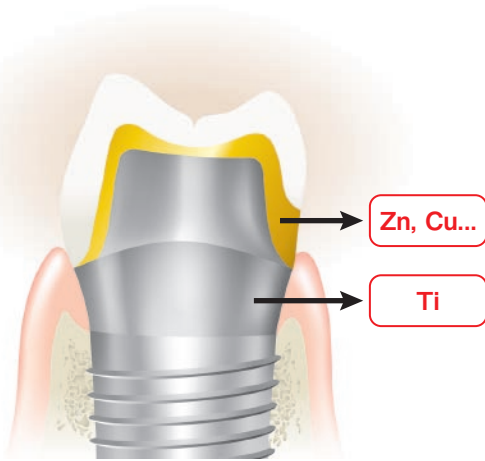


「金属塩の細胞毒性に及ぼすTiCl₄の影響」

本研究レポートは、高知大学医学部歯科口腔外科学講座と共同研究を行い、第59、60*および62回歯科理工学会学術講演会において発表した内容の一部を加筆・修正している。なお、各試験結果は基礎研究によるものであることをあらかじめお断りさせていただく。

※第60回日本歯科理工学会学術講演会発表優秀賞を受賞



■ 図1 金属イオンの溶出 ■

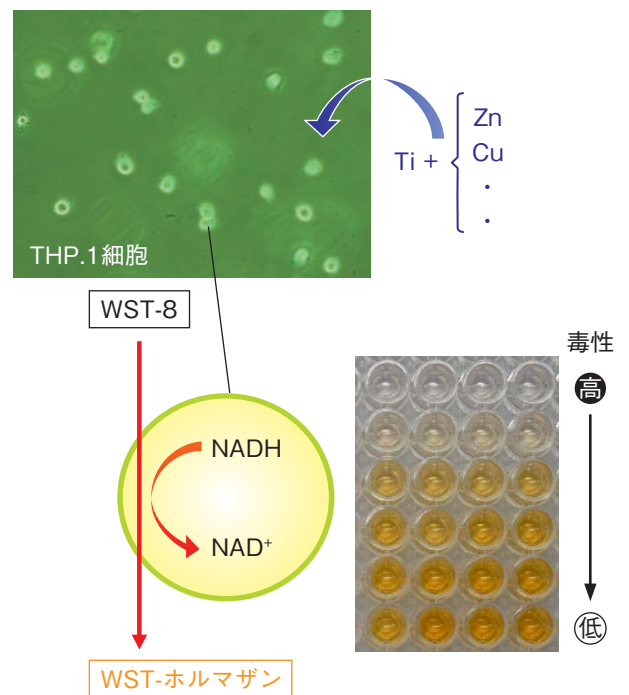
歯科用インプラントは、術式や症例によりフィクスチャー、アバットメント、上部構造など複数の構造物で構成される。

上部構造に歯科用合金を用いた場合、口腔内にはインプラントから溶出するチタンイオンと、歯科用合金から溶出する種々の金属イオンとが共存することとなる。

チタンあるいはその他の金属の細胞毒性については、これまでに歯科用合金の溶出金属を中心に、個々の金属単独での毒性評価が行われているものの、複数の金属を組み合わせた場合の毒性を評価した研究は少ない。仮に、チタンと組み合わせることで細胞毒性が増加するような金属が存在するならば、そのような金属を多量に溶出する歯科用合金はインプラントの上部構造として不適切である可能性も考えられる。そこで本研究では「金属塩の細胞毒性に及ぼすTiCl₄の影響」と題して、歯科用合金を構成する種々の金属とチタンを組み合わせ、ヒト急性単球性白血病細胞株 THP.1 細胞に対する細胞毒性の変化を分析した。

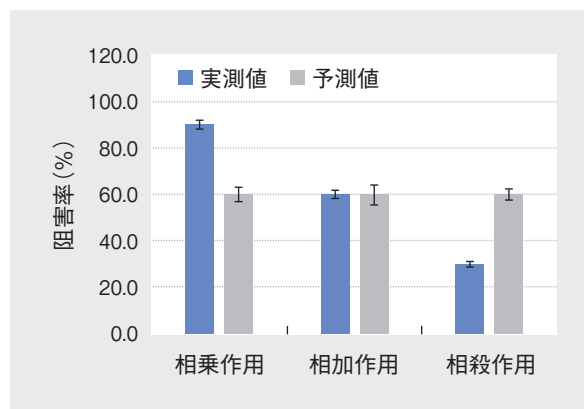
細胞毒性の評価には WST-8 法を用いた。生細胞の持つ脱水素酵素(NAD⁺, NAD(P)⁺ デヒドロゲナーゼ)によって、指示薬である WST-8 は WST-8 ホルマザン(橙色)へと還元される。本法はこの原理を利用し、橙色の濃淡を測定することにより試料の細胞への影響を分析するものである。すなわち、試料の細胞毒性が低い場合、細胞の脱水素酵素の活性が維持されるため、濃い橙色を呈する。一方、試料の細胞毒性が高い場合、脱水素酵素の活性は損なわれ、橙色の濃度は減ることとなる。

細胞毒性の評価には WST-8 法を用いた。生細胞の持つ脱水素酵素(NAD⁺, NAD(P)⁺ デヒドロゲナーゼ)によって、指示薬である WST-8 は WST-8 ホルマザン(橙色)へと還元される。本法はこの原理を利用し、橙色の濃淡を測定することにより試料の細胞への影響を分析するものである。すなわち、試料の細胞毒性が低い場合、細胞の脱水素酵素の活性が維持されるため、濃い橙色を呈する。一方、試料の細胞毒性が高い場合、脱水素酵素の活性は損なわれ、橙色の濃度は減ることとなる。



■ 図2 WST-8法 ■

はじめに、チタン(TiCl_4 , TiCl_3 , $\text{K}_2\text{TiO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2$)および種々の金属(ZnCl_2 , CuCl_2 , CoCl_2 , NiCl_2 , FeCl_3 , AlCl_3 , MnCl_2 , CrCl_3 , GaCl_3 , Ag_2SO_4)を単独で細胞に供した場合の細胞毒性を、阻害率(%)として評価した。次に、チタンと種々の金属の混合溶液の細胞毒性を評価した。単独で評価した場合の阻害率の和を予測値とし、混合溶液の阻害率(実測値)と比較した。金属の細胞毒性に及ぼすチタンの影響は、予測値に対して実測値が増加の場合に相乗効果(++), 同等の場合に相加効果(+), 減少の場合に相殺効果(-)と判定した。例えば、細胞の増殖をチタンが30%阻害、金属が30%阻害する場合、予測値は30+30=60%阻害となる。チタンと金属の混合溶液が細胞の増殖を80%阻害した場合、実測値80%は予測値である60%を上回るため、相乗効果と判定される。



■ 図3 組み合わせの影響の例 ■

■ 表1 金属塩の細胞毒性に及ぼすチタンの影響 ■

	CuCl_2	ZnCl_2	CoCl_2	NiCl_2	FeCl_3	AlCl_3	MnCl_2	CrCl_3	GaCl_3	Ag_2SO_4
TiCl_4	+	-	++	+	+	+	-	+	-	++
TiCl_3	+	-	++	+	-	-	-	-	-	+
$\text{K}_2\text{TiO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2$	+	-	++	-	+	-	-	+	-	++

各金属の細胞毒性に及ぼすチタンの影響は組み合わせた金属によって異なっていた。

TiCl_4 は、 CoCl_2 , Ag_2SO_4 に対しては相乗作用を、 CuCl_2 , NiCl_2 , FeCl_3 , AlCl_3 および CrCl_3 に対しては相加作用を、 ZnCl_2 , MnCl_2 および GaCl_3 に対しては相殺作用を示した。

TiCl_3 は、 CoCl_2 に対しては相乗作用を、 CuCl_2 , NiCl_2 および Ag_2SO_4 に対しては相加作用を、 ZnCl_2 , FeCl_3 , AlCl_3 , MnCl_2 , CrCl_3 および GaCl_3 に対しては相殺作用を示した。

$\text{K}_2\text{TiO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2$ は、 CoCl_2 および Ag_2SO_4 に対しては相乗作用を、 CuCl_2 , FeCl_3 および CrCl_3 に対しては相加作用を、 ZnCl_2 , NiCl_2 , AlCl_3 , MnCl_2 および GaCl_3 に対しては相殺作用を示した。

コバルト(CoCl_2)あるいは銀(Ag_2SO_4)は、チタンと組み合わせることで細胞毒性を増す傾向(相乗効果)が認められた。今後、試験管内だけでなく口腔内においてもこの現象が生じるのか、さらに組み合わせる金属によってチタンの作用が異なる機序について解析を行う必要があるものと考えられた。

山本貴金属地金株式会社
生体科学安全研究室