

HOXA10 及び KDM5A の吸着は No. 2 で顕著に認められ、その他の化学処理プレートへの吸着量は対照と比較して大きく変動しないことが確認された。No. 2 と No. 4 プレートには、その他の HOX 関連蛋白質も吸着するが、No. 3、No. 5 及び No. 6 への吸着パターンはプレート毎に異なっていた。

2-9. ヘッジホッグ関連蛋白質 (表 9)

ユビキチン化による Gli2 分解を阻害する Zinc Finger Protein である GLI2 が No. 2 と No. 4 プレートに顕著に吸着した。同蛋白質は No. 3 と No. 5 プレートにも吸着するが、No. 6 への吸着量は対照と比較して大きく変動しないことが確認された。

2-10. 細胞外マトリクス (表 10)

コラーゲン、コンドロイチン硫酸、インテグリン、タリン、ビンクリン、テンシン、ヒアルロン酸結合蛋白質、テナスチン、フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、グリピカンのほか、コラーゲン合成に必須である PLOD2 及び PCOLCE を初めとしたその他の関連蛋白質が検出された。No. 2 プレートには、これらの全ての細胞外マトリクスが結合するが、No. 4>No. 3>No. 5>No. 6 の順序に従って、吸着する蛋白質の種類が減少した。

2-11. HSP・アラキドン酸関連蛋白質 (表 11)

PITPNM2 及び PLCB4 を除き、No. 2 及び No. 4 プレートへの吸着パターンには相同性が認められた。No. 3 及び No. 5 プレートへの蛋白質吸着挙動にも類似性があるが、PLCB1 及び MAPKAPK5 の吸着パターンが異なっていた。一方、No. 6 プレートの場合、PIK3C2G、ECEL1、PIK3C2A、PIKFYVE 及び

MARPKAPK5 の吸着量は有意に増加するが、その他の蛋白質群の吸着量は対照と比較して大きく変動しないことが確認された。

2-12. Ephrin 関連蛋白質 (表 12)

対照と比較して、骨吸収に関与する EPHA10 の吸着量が全ての化学処理プレートで増加した。

2-13. GABA 関連蛋白質 (表 13)

骨形成を抑制する GABARAPL2 のほか、GABRR1 及び GABBR2 が同定された。これらの蛋白質の吸着パターンには No. 2/No. 4 間及び No. 3/No. 5 間に類似性が認められたが、No. 6 プレートへの吸着挙動は、その他の化学処理群と異なっていた。

2-14. 転写因子関連蛋白質

BMP 誘導性の転写を活性化する ZBTB24 を初めとした Zinc Finger Protein 関連因子及び Ras 蛋白質の多変量解析結果を表 14, 15 に示した。Zinc Finger Protein 関連因子の吸着パターンはプレート毎に異なっており、No. 2>No. 4>No. 3>No. 5>No. 6 の順序に従って吸着する蛋白質数が減少した。Ras 関連蛋白質の吸着挙動は No. 2/No. 4 間及び No. 3/No. 5 間に類似性が認められたが、No. 6 への吸着量は対照と比較して大きく変動しないことが確認された。

骨分化に関与する CHD9 やエナメル形成に関与する FAM83H を初めとしたその他の転写因子が同定された (表 16)。No. 2 プレートには、これら全ての蛋白質が吸着した。No. 4 プレートへの吸着パターンは No. 2 プレートと類似していたが、幾つかの蛋白質の吸着量に大きな差異が認められた。No. 3/No. 5 プレート間にも相同性が

認められたが、No. 6 プレートに吸着する蛋白質群は限られており、その他の化学処理プレートと異なる吸着パターンを示した。

D. 考 察

骨代謝は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収により制御されている。骨芽細胞は未分化間葉系細胞を起源として、その分化、成熟及び機能は BMP、TGF β 、IGF 等の成長因子や様々なサイトカインにより制御されている²⁾。一方、骨吸収は主に RANK/RANKL により調節されていることが知られているが、この他にも骨代謝に関与する種々の因子が存在する。研究結果の項目に列記した骨形成と骨吸収に関与する一連の蛋白因子については、その機能と作用機序の概要を考察の一環として表 17 に取りまとめたので参照して頂きたい。

チタン材料の生体適合性を高めるために化学処理を初めとした種々の方法が考案されているが、化学処理自体が同材料の骨親和性の向上に直接的な影響を及ぼしているとは考え難い。現在までに、硫酸化多糖類は BMPs、FGFs、antithrombin III や GM-CSF 等と相互作用することにより細胞機能を増進させることが示唆されていると共に³⁻⁷⁾、本研究においても、化学処理したチタン材料表面には骨形成に深く関与すると思われる種々の蛋白質が顕著に吸着することが明らかになった。これらの知見から、化学処理を施したチタン材料が示す高い骨親和性はバイオインターフェースに介在する蛋白質により制御されていることが容易に推察できる。

蛋白質の吸着挙動はプレート毎に相違するが、No. 2/No. 4 間、No. 3/No. 5 間には

類似性が認められた。一例として、成長因子・サイトカイン類関連蛋白質 (表 1) の吸着パターン解析結果を図 11 に示した。横軸は蛋白質の種類、縦軸は吸着量比 (化学処理群/対照: 対数表示) に相当する。結果の項目に示した各表は No. 2 プレートに基づいて吸着量の多い蛋白質順にソートしているため、図 11 における No. 2 プレートの多変量解析結果は綺麗な右肩下がりとなる。No. 4 プレートへの蛋白質吸着挙動は No. 2 の上下に分散しているが、No. 6 プレートへの吸着パターンは No. 2 及び No. 4 とは大きく異なることが分かる。一方、No. 3 及び No. 5 プレートでは、No. 2 及び No. 4 と比較して蛋白質吸着量が 1 桁程度低いと共に、分散する傾向が認められた。

本研究で実施した多変量解析はバイオマーカー探索の第一歩である。現在、本研究班に所属する別グループが本研究において使用したチタン材料上で培養したヒト細胞の挙動変化を生化学的及び分子生物学的に追跡している。今後、これらの成績を参考として、本研究において検出された種々の蛋白質の中から、チタン材料の化学処理に伴う骨親和性の向上に深く関与すると思われる機能性蛋白質を選別する。また、同候補蛋白質の材料表面への吸着量を正確に測定するため、絶対定量解析を行い、チタン材料の生体適合性を判断する *in vitro* 評価法の確立を目指す。

E. 結 論

本研究において作製した化学処理チタンプレートは、いずれも HAp 形成能を有していたが、その形成速度に差異が認められた。各プレート表面への血清蛋白質の吸着挙動

を解析した結果、未処理プレートに比較して、化学処理プレート上、特にNo. 2及びNo. 4プレートには骨結合性に深く関与すると思われる蛋白質群が有意に結合することが明らかになった。また、これらの蛋白質の吸着挙動は化学処理の違いにより変動することも確認されたことから、チタン材料の骨親和性は蛋白質の吸着パターンから予測可能であることが示唆された。

F. 研究発表

- 1) 藪島由二, 長谷川千恵, 伊佐間和郎, 和田計也, 松岡厚子. 表面処理を施したチタンプレートに吸着する蛋白質の網羅的比較定量解析. 第32回日本バイオマテリアル学会大会(2010年11月・広島).

参照資料

- 1) Ito R, Seshimo F, Haishima Y, Hasegawa C, Isama K, Yagami T, Nakahashi K, Yamazaki H, Inoue K, Yoshimura Y, Saito K, Tsuchiya T, Nakazawa H. Reducing the migration of di-2-ethylhexyl phthalate from polyvinyl chloride medical devices. *Int J Pharm*, 303(1-2):104-112 (2005).
- 2) Huang Z, Nelson ER, Smith RL, Goodman SB. The sequential expression profiles of growth factors from osteoprogenitors to osteoblasts in vitro. *Tissue Eng.*, 13:2311-2320 (2007).
- 3) Takada T, Katagiri T, Ifuku M, Morimura N, Kobayashi M, Hasegawa K, et al. Sulfated polysaccharides enhance the biological activities of bone morphogenetic proteins. *J Biol Chem*, 278:43229-43235 (2003).
- 4) Barrowcliffe TW, Johnson EA, Thomas D. Antithrombin III and heparin. *Br Med Bull*, 34(2):143-150 (1978).
- 5) Yayon A, Klagsbrun M, Esko JD, Leder P, Ornitz DM. Cell surface, heparin-like molecules are required for binding of basic fibroblast growth factor to its high affinity receptor. *Cell*, 64(4):841-848 (1991).
- 6) Rapraeger AC, Krufka A, Olwin BB. Requirement of heparan sulfate for bFGF-mediated fibroblast growth and myoblast differentiation. *Science*, 252(5013):1705-1708 (1991).
- 7) Yang R, Yan Z, Chen F, Hansson GK, Kiessling R. Hyaluronic acid and chondroitin sulphate A rapidly promote differentiation of immature DC with upregulation of costimulatory and antigen-presenting molecules, and enhancement of NF- κ B and protein kinase activity. *Scand J Immunol*, 55:2-13 (2002).

表1. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (成長因子・サイトカイン類)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[CDH15] Cadherin-15	19.6	0.0	0.4	0.0	0.6	1.1	0.7	NF-κB関連
[IGF2BP3] Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3	23.9	1.0	19518.5	1597.6	17053.0	601.7	0.0	
[BMP2] Bone morphogenetic protein 2	27.9	1.0	17065.6	47.4	1240.4	15.8	10.5	
[IFNB1] Interferon beta	24.5	1.0	16826.3	2855.0	18893.3	2223.3	1300.3	
[CXCR3] C-X-C chemokine receptor type 3	27.1	1.0	7581.4	404.9	2631.5	107.8	24.6	インテグリン活性化
[FAT1] Protocadherin Fat 1	28.2	1.0	4316.0	251.5	1562.7	81.7	1.9	
[FGF2] Heparin-binding growth factor 2	25.0	1.0	4181.3	173.6	1393.0	61.9	26.4	
[TNIP2] TNFAIP3-interacting protein 2	14.2	1.0	1847.5	522.3	3019.8	980.3	568.4	TNF阻害
[IRF7] Interferon regulatory factor 7	35.7	1.0	1591.2	92.6	998.2	39.7	12.1	
[CDH4] Cadherin-4	18.2	1.0	1288.9	154.6	754.5	24.3	22.1	NF-κB関連
[IGFBP4] Insulin-like growth factor-binding protein 4	59.6	1.0	1171.7	127.0	743.9	66.3	12.2	
[WLS] Protein wntless homolog	34.2	1.0	1125.3	57.8	587.5	156.6	1.7	
[PCDH14] Protocadherin beta-14	32.7	1.0	930.2	0.0	424.0	47.9	0.5	NF-κB関連
[TTNP3] 5'-tyrosyl-DNA phosphodiesterase	17.2	1.0	608.3	36.2	672.1	67.9	18.6	NF-κB抑制
[MEGF8] Multiple epidermal growth factor-like domains protein 8	24.4	1.0	601.3	51.2	428.8	232.9	52.8	
[IL18RAP] Interleukin-18 receptor accessory protein	30.2	1.0	465.4	106.1	351.0	55.8	29.9	破骨細胞増殖・分化抑制、 INFγ誘導
[HIVEP3] Transcription factor HIVEP3	26.6	1.0	431.1	426.6	2045.3	361.4	48.6	TNF/NF-κB抑制、成人骨形成に必須
[GIGYF2] PERQ amino acid-rich with GYF domain-containing protein 2	16.7	1.0	397.5	26.9	359.7	10.6	2.4	Growth factor binding protein 10
[HGFA] Hepatocyte growth factor activator	23.8	1.0	351.8	128.6	793.7	35.5	6.9	
[MST1] Hepatocyte growth factor-like protein	169.4	1.0	335.3	48.4	139.6	15.9	9.0	
[MED13L] Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 13-like	25.7	1.0	317.7	79.9	117.3	96.1	1.1	Wnt & SHHシグナル関連
[CDH1] Cadherin-1	33.6	1.0	313.8	25.3	161.3	19.6	13.1	NF-κB関連
[OAS3] 2'-5'-oligoadenylate synthase 3	24.0	1.0	302.7	11.0	924.2	14.7	6.2	INF関連
[SHISA2] Protein shisa-2 homolog	21.5	1.0	269.3	32.1	183.5	10.3	19.1	FGF, Wntシグナルに関与
[CTNNB1] Catenin beta-1	31.0	1.0	253.3	15.1	123.9	8.8	3.7	Cadherin, NF-κB関連
[IRS1] Insulin receptor substrate 1	22.1	1.0	248.5	39.7	0.0	0.0	0.4	
[FETUB] Fetuin-B	72.8	1.0	229.4	28.2	180.4	13.0	4.0	HGF制御(骨形成・吸収関与)
[IGFBP2] Insulin-like growth factor-binding protein 2	101.3	1.0	212.6	75.5	526.6	102.1	11.7	
[IGF2] Insulin-like growth factor II	69.4	1.0	208.7	36.3	428.1	48.1	17.2	
[RGNEF] Rho-guanine nucleotide exchange factor	40.3	1.0	201.7	52.6	849.9	27.7	7.5	インテグリン、成長因子シグナルの下流に存在
[JUNB] Transcription factor jun-B	24.2	1.0	186.3	2.3	583.2	1.6	0.8	初期の成長因子応答
[WNT1] Proto-oncogene Wnt-1	26.0	1.0	185.5	119.2	645.9	29.0	10.5	
[IGFBP3] Insulin-like growth factor-binding protein 3	102.9	1.0	163.0	55.4	185.9	30.5	9.1	
[CXXC4] CXXC-type zinc finger protein 4	26.6	1.0	158.0	7.2	200.2	10.5	3.6	Wntシグナル抑制
[FLNB] Filamin-B	28.6	1.0	121.9	75.7	383.9	92.4	14.4	
[HTRA1] Serine protease HTRA1	31.5	1.0	118.1	5.1	51.2	5.1	3.1	IGF, TGFβ抑制
[IGF1] Insulin-like growth factor IB	103.2	1.0	104.6	44.5	888.7	32.1	17.7	
[IGF1] Insulin-like growth factor IA	103.2	1.0	104.6	44.5	888.7	32.1	17.7	
[IGF2R] Cation-independent mannose-6-phosphate receptor	28.4	1.0	81.2	18.2	117.2	21.3	5.4	
[FAT4] Protocadherin Fat 4	47.8	1.0	75.6	11.8	178.1	9.7	5.7	
[VASN] Vasorin	38.1	1.0	68.6	14.3	110.4	20.7	8.9	TGFβシグナル阻害
[TOM1L2] TOM1-like protein 2	28.3	1.0	66.2	25.9	419.2	7.8	1.1	Growth factor 関連
[BMP2K] BMP-2-inducible protein kinase	15.1	1.0	64.0	0.1	26.4	1.9	2.9	
[CXXC5] CXXC-type zinc finger protein 5	23.3	1.0	55.0	25.4	29.4	2.6	2.2	BMP4/Wntシグナル活性化
[TGFBI] Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3	73.3	1.0	51.0	14.7	63.4	4.2	9.2	
[MSTN] Growth/differentiation factor 8	28.6	1.0	46.3	2.2	11.6	3.6	0.7	TGFβファミリー
[NUMB1] Numb-like protein	25.7	1.0	37.3	17.1	74.6	9.7	3.0	NF-κB抑制
[PCDHGB1] Protocadherin gamma-B1	20.3	1.0	32.2	9.3	46.6	4.9	2.9	
[CDH28] Cadherin-like protein 28	31.9	1.0	31.3	10.1	51.2	0.2	1.7	
[IGFALS] Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit	272.3	1.0	30.4	15.9	53.8	7.6	3.4	
[IGFBP5] Insulin-like growth factor-binding protein 5	45.9	1.0	26.5	4.9	48.7	4.6	2.0	
[EPS8L2] Epidermal growth factor receptor kinase substrate 8-like protein 2	21.9	1.0	26.4	169.7	26.2	46.1	6.0	
[IGFBP1] Insulin-like growth factor-binding protein 1	36.7	1.0	21.2	25.2	67.5	15.2	3.3	
[CDH23] Cadherin-23	26.7	1.0	18.9	1.8	3.3	2.0	0.8	
[HGS] Hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate	33.5	1.0	18.3	9.8	38.5	5.4	1.7	
[WWP1] NEDD4-like E3 ubiquitin-protein ligase WWP1	21.4	1.0	15.1	9.5	27.4	4.0	3.2	TGFβ1分解
[IFNGR1] Interferon gamma receptor 1	25.0	1.0	10.0	3.5	23.7	3.2	1.9	NF-κB活性化
[TAX1BP1] Tax1-binding protein 1	28.4	1.0	7.6	6.8	12.7	14.8	5.0	TNF誘導性アポトーシス抑制
[AIMP1] Aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 1	23.8	1.0	7.1	10.9	19.9	4.6	2.7	TGFβシグナル抑制
[DACT1] Dapper homolog 1	33.9	1.0	5.9	4.8	10.1	2.1	1.2	Wntシグナル転写促進
[FAT2] Protocadherin Fat 2	28.2	1.0	4.3	13.5	8.3	5.4	4.6	
[S100A9] Protein S100-A9	84.7	1.0	4.3	3.1	11.4	2.6	1.9	NF-κB制御下で転写促進
[IL12RB2] Interleukin-12 receptor subunit beta-2	35.5	1.0	3.9	5.5	9.4	2.1	1.6	
[PCDHAC2] Protocadherin alpha-C2	27.0	1.0	1.9	195.5	508.7	8.0	1282.8	
[CSNK1A1L] Casein kinase I isoform alpha-like	22.2	1.0	0.9	4.6	4.2	0.8	2.0	Wnt関連
[CELSR3] Cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptor 3	26.0	1.0	0.3	24.2	9.3	0.1	2.1	
[CDH3] Cadherin-3	23.2	1.0	0.2	9.5	0.4	12.3	5.8	

表2. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果（ホルモン・ステロイド類）

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[NRIP1] Nuclear receptor-interacting protein 1	25.9	1.0	977.8	395.1	1310.6	78.1	20.2	ステロイド受容体転写活性促進
[ESR1] Estrogen receptor	26.2	1.0	758.8	78.5	773.0	53.5	32.0	
[TMF1] TATA element modulatory factor	29.7	1.0	401.2	72.7	314.7	61.8	19.4	アンドロゲン受容体 coactivator
[SH2D4A] SH2 domain-containing protein 4A	25.4	1.0	243.1	16.1	327.7	16.5	5.6	エストロゲン誘導性細胞増殖抑制
[NCOA6] Nuclear receptor coactivator 6	38.6	1.0	156.9	30.2	149.0	21.0	16.3	Steroid coactivator
[SAFB2] Scaffold attachment factor B2	20.6	1.0	106.8	21.4	104.2	12.9	5.4	エストロゲン受容体抑制
[PBXIP1] Pre-B-cell leukemia transcription factor-interacting protein 1	26.4	1.0	44.7	14.1	53.2	2.2	11.3	エストロゲン関連
[PIBF1] Progesterone-induced-blocking factor 1	34.9	1.0	29.7	36.0	227.2	14.8	4.9	
[HIP1] Huntingtin-interacting protein 1 - Homo sapiens	28.2	1.0	27.6	44.7	23.5	0.5	10.5	アンドロゲン受容体シグナル伝達増強、NMDA依存 AMPA受容体制御
[SERPINA6] Corticosteroid-binding globulin	258.2	1.0	22.9	11.3	42.9	4.5	3.0	
[GRLF1] Glucocorticoid receptor DNA-binding factor 1	43.4	1.0	21.8	5.2	39.9	9.4	1.5	
[GH2] Growth hormone variant	23.8	1.0	14.2	5.3	56.5	5.2	3.0	
[AKR1C1] Aldo-keto reductase family 1 member C1 - Homo sapiens	27.1	1.0	3.1	4.9	6.0	1.2	2.2	プロゲステロン不活化
[AKR1C2] Aldo-keto reductase family 1 member C2 - Homo sapiens	27.1	1.0	3.1	4.9	6.0	1.2	2.2	アンドロゲン不活化
[AKR1C3] Aldo-keto reductase family 1 member C3 - Homo sapiens	27.1	1.0	3.1	4.9	6.0	1.2	2.2	
[AKR1C4] Aldo-keto reductase family 1 member C4 - Homo sapiens	27.1	1.0	3.1	4.9	6.0	1.2	2.2	アンドロゲン不活化
[AIG1] Androgen-induced gene 1 protein	28.2	1.0	0.0	1364.3	584.6	1.9	485.7	

表3. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果（骨系蛋白質）

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[CLEC3B] Tetraneectin	505.7	1.0	197.9	37.7	530.1	63.7	40.1	
[OGN] Mimosin	60.9	1.0	160.0	12.1	110.9	8.7	3.9	
[LUM] Lumican	267.5	1.0	87.6	40.5	123.6	14.7	4.8	Leucine-rich proteoglycan (decorin, osteoglycin等)
[AHSQ] Alpha-2-HS-glycoprotein	791.9	1.0	58.5	37.0	890.5	66.8	42.1	骨形成 (Ca ²⁺ /リン酸水溶性複合体を形成する Fetuin-A と結合)
[CHAD] Chondroadherin	76.6	1.0	37.0	4.9	111.6	11.5	8.5	インテグリン関連、軟骨細胞増殖・分化
[PRG4] Proteoglycan 4	125.4	1.0	36.3	24.0	72.4	25.2	10.1	

表4. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果（グルタミン酸関連蛋白質）

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[KMO] Kynurenine 3-monooxygenase	26.3	1.0	3847.5	50.0	1297.4	10.8	1.9	
[GRM6] Metabotropic glutamate receptor 6	21.9	1.0	1588.7	813.5	6579.3	355.2	67.7	
[GRIA2] Glutamate receptor 2	26.2	1.0	398.5	0.1	0.0	0.4	0.1	
[GRIN1] Glutamate [NMDA] receptor subunit zeta-1	26.3	1.0	365.6	10.6	205.5	19.0	14.7	
[SLC1A2] Excitatory amino acid transporter 2	18.7	1.0	353.3	49.1	233.5	16.2	3.4	
[GRM7] Metabotropic glutamate receptor 7	25.8	1.0	190.2	8.7	637.5	24.8	6.0	
[GGT3P] Putative gamma-glutamyltranspeptidase 3	36.9	1.0	173.5	12.8	376.7	1.4	0.0	
[QARS] Glutamyl-tRNA synthetase	17.3	1.0	70.6	30.6	107.6	0.5	0.2	
[GMPS] GMP synthase [glutamine-hydrolyzing]	18.6	1.0	68.3	6.3	47.3	6.0	0.0	
[GLS2] Glutaminase liver isoform, mitochondrial	32.1	1.0	54.5	21.5	182.7	11.2	4.9	
[GRIA3] Glutamate receptor 3	25.7	1.0	39.5	42.3	247.0	34.8	386.1	
[GRIN3B] Glutamate [NMDA] receptor subunit 3B	17.0	1.0	29.5	25.9	3.7	22.8	4.2	
[GGH] Gamma-glutamyl hydrolase	42.6	1.0	19.5	3.5	36.9	12.6	3.9	
[GLUD1] Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	40.6	1.0	15.6	3.4	23.5	23.3	1.8	
[GLUD2] Glutamate dehydrogenase 2, mitochondrial	40.6	1.0	15.6	3.4	23.5	23.3	1.8	
[GRIK4] Glutamate receptor, ionotropic kainate 4	15.6	1.0	3.2	2.2	6.1	0.7	0.0	
[GRIA4] Glutamate receptor 4	22.7	0.0	2.3	0.0	5.2	0.4	0.1	

表5. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (Ca チャンネル蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[CACNA2D3] Voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-3	18.1	1.0	1634.5	763.6	2000.4	7.3	0.0	
[STIM1] Stromal interaction molecule 1	24.7	1.0	466.2	426.4	1018.5	208.6	1.4	IP3受容体活性化
[ATP2C1] Calcium-transporting ATPase type 2C member 1	31.5	1.0	211.3	174.6	732.5	126.4	34.1	
[ATP2A3] Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 3	25.0	1.0	90.9	38.8	309.8	73.5	7.7	
[TPCN1] Two pore calcium channel protein 1	38.8	1.0	72.6	34.2	151.7	22.4	3.2	
[CACNA1B] Voltage-dependent N-type calcium channel subunit alpha-1B	28.1	1.0	8.9	92.2	7.3	1.5	2.6	
[CACNG2] Voltage-dependent calcium channel gamma-2 subunit	26.3	1.0	0.2	0.1	0.2	0.1	3.7	

表6. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (ビタミン関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[SMARCE1] SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily E member 1	24.2	1.0	1981.0	212.2	1075.6	190.4	46.8	ビタミンD、エストロゲン関連
[GGCX] Vitamin K-dependent gamma-carboxylase	28.1	1.0	1071.4	40.2	21.0	6.8	0.0	
[CYP2R1] Vitamin D 25-hydroxylase	21.5	1.0	413.8	78.1	643.5	43.1	9.3	
[GC] Vitamin D-binding protein	1027.6	1.0	375.1	28.0	136.6	11.6	4.3	
[SNW1] SNW domain-containing protein 1	26.7	1.0	118.9	5.8	72.7	5.3	0.1	ビタミンD、エストロゲン、糖質コルチコイドシグナル増強
[VDR] Vitamin D3 receptor	25.6	1.0	56.2	26.1	42.9	45.3	7.2	

表7. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (金属関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[CNNM4] Metal transporter CNNM4	24.4	0.0	5.5	0.1	2.4	0.1	0.1	
[SLC39A12] Zinc transporter ZIP12	22.4	0.0	1.2	0.0	7.6	0.3	0.0	
[TF] Serotransferrin	1279.9	1.0	200.4	56.1	195.2	21.6	6.8	
[COX17] Cytochrome c oxidase copper chaperone	34.3	1.0	184.7	112.9	2177.8	134.6	46.2	
[CUTC] Copper homeostasis protein cutC homolog	30.9	1.0	171.5	25.9	419.2	7.8	1.1	
[LTF] Lactotransferrin	31.3	1.0	72.2	31.4	76.5	11.8	4.8	
[MFI2] Melanotransferrin	31.3	1.0	72.2	31.4	76.5	11.8	4.8	Fe、Zn 結合
[ZDHHC13] Probable palmitoyltransferase ZDHHC13	26.2	1.0	29.0	19.4	70.5	8.7	3.2	Mg 輸送

表8. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (HOX 関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[GLI2] Zinc finger protein GLI2	18.4	1.00	121.74	33.33	199.50	19.28	3.96	ユビキチン化による Gli2分解阻害

表9. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (ヘッジホッグ関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[HOXA10] Homeobox protein Hox-A10	26.2	1.0	398.5	0.1	0.0	0.4	0.1	
[MGP] Matrix Gla protein	132.6	1.0	325.3	29.1	416.0	134.6	12.0	血管石灰化抑制
[KDM5A] Lysine-specific demethylase 5A	29.3	1.0	324.9	3.1	3.5	12.2	0.8	
[RBM15] Putative RNA-binding protein 15	24.2	1.0	257.1	121.3	106.3	12.5	9.8	
[PITX2] Pituitary homeobox 2	40.5	1.0	240.1	45.3	292.7	114.5	35.9	
[NKX2-3] Homeobox protein Nkx-2.3	23.9	1.0	227.4	6.5	1933.7	198.0	54.5	
[CUX2] Homeobox protein cut-like 2	27.0	1.0	69.7	16.5	25.1	4.3	0.1	
[EMX2] Homeobox protein EMX2	24.2	1.0	28.1	6.0	43.2	81.1	24.8	

表10. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果（細胞外マトリクス）

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[COL6A3]Collagen alpha-3(VI) chain	20.4	0.0	7.3	0.2	0.8	0.0	0.0	
[PCDHA9]Protocadherin alpha-9	27.8	0.0	6.8	0.0	1.4	0.2	0.0	
[COL29A1]Collagen alpha-5(VI) chain	29.6	0.0	0.8	0.7	2.8	0.7	0.1	
[CSGALNACT1]Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1	27.6	1.0	2838.5	219.5	1698.2	113.9	6.0	
[ITGB8]Integrin beta-8	27.8	1.0	2817.0	215.1	2011.2	4.8	0.0	
[COL24A1]Collagen alpha-1(XXIV) chain	21.5	1.0	983.6	1166.9	1878.3	572.0	378.9	
[POSTN] Periostin	17.2	1.0	814.3	184.9	1063.4	38.1	40.9	ECM mineralization
[COL16A1]Collagen alpha-1(XVI) chain	22.3	1.0	808.7	263.2	20.2	202.7	100.0	
[TLN2]Talin-2	36.5	1.0	534.4	9.9	699.8	76.0	4.5	インテグリン活性化
[ITGAE]Integrin alpha-E	0.0	1.0	413.8	51.6	358.7	276.1	166.1	
[VCL] Vinculin	57.3	1.0	391.0	5.9	232.6	6.4	6.3	インテグリン結合
[TNS1]Tensin-1	20.6	1.0	253.0	552.4	1246.1	551.3	2.6	
[HABP2]Hyaluronan-binding protein 2	708.8	1.0	242.9	12.4	345.7	7.1	6.2	
[COL12A1]Collagen alpha-1(XII) chain	31.0	1.0	204.5	16.0	245.3	25.9	15.0	
[TNXB]Tenascin-X	109.5	1.0	142.1	11.7	72.1	6.3	3.9	
[PLOD2]Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2	30.5	1.0	137.4	40.0	231.5	40.1	10.0	
[ITIH3]Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	597.9	1.0	111.8	28.3	369.8	19.4	6.8	ヒアルロン酸結合
[ITGA4]Integrin alpha-4	15.5	1.0	107.4	270.8	4.1	6559.6	0.8	
[COL10A1]Collagen alpha-1(X) chain	24.6	1.0	92.2	9.6	281.1	22.3	6.2	
[ITIH2]Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	1498.5	1.0	90.6	25.1	231.2	23.7	6.6	ヒアルロン酸結合
[FREM1]FRAS1-related extracellular matrix protein 1	21.3	1.0	82.8	28.5	0.2	8.8	3.7	
[FNI] Fibronectin	1850.8	1.0	67.5	183.3	100.2	13.1	3.2	
[VTN] Vitronectin	570.1	1.0	63.7	17.5	96.1	18.3	3.0	
[ECM1] Extracellular matrix protein 1	84.7	1.0	63.0	208.8	142.6	19.5	5.2	
[COL4A5] Collagen alpha-5(IV) chain	22.3	1.0	61.7	2.8	9.2	14.8	7.0	
[TNC] Tenascin	26.2	1.0	51.3	12.6	46.6	7.9	16.3	
[LAMC3] Laminin subunit gamma-3	28.0	1.0	41.0	13.3	64.6	5.3	2.1	
[PCOLCE] Procollagen C-endopeptidase enhancer 1	150.8	1.0	33.8	5.1	52.5	9.4	2.6	
[LAMC2] Laminin subunit gamma-2	25.2	1.0	28.6	2.5	3.8	1.4	1.0	
[COL6A6] Collagen alpha-6(VI) chain	45.1	1.0	17.6	5.4	18.4	6.0	1.9	
[COL9A1]Collagen alpha-1(IX) chain	19.4	1.0	16.5	20.7	33.5	15.2	4.4	
[MMP19] Matrix metalloproteinase-19	27.7	1.0	11.8	4.2	13.3	2.6	1.4	ECM分解
[ITGAX] Integrin alpha-X	19.1	1.0	9.8	10.8	14.8	3.5	2.6	
[GSPG4] Chondroitin sulfate proteoglycan 4	27.2	1.0	9.7	5.5	25.6	2.5	0.5	
[ITGA1] Integrin alpha-1	23.3	1.0	4.7	5.5	11.3	1.3	1.3	
[LAMA4] Laminin subunit alpha-4	28.1	1.0	4.4	4.9	12.1	2.7	1.8	
[GPC5] Glypican-5	22.0	1.0	3.4	5.2	10.0	2.5	1.6	ヘパラン硫酸関連
[UBR4] E3 ubiquitin-protein ligase UBR4	23.3	0.0	0.5	1.0	1.6	0.5	0.3	インテグリン関連

表11. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果（HSP・アラキドン酸関連蛋白質）

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[PLA2G6] 85 kDa calcium-independent phospholipase A2	19.3	0.0	5.8	0.6	0.7	0.0	0.0	
[PIK3C2G] Phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase C2 domain-containing subunit gamma	16.5	1.0	19046.5	3825.8	147.9	1990.0	291.5	
[ECEL1] Endothelin-converting enzyme-like 1	31.8	1.0	16975.0	263.5	19265.0	401.6	158.4	
[PLCB1] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta-1	25.7	1.0	1753.4	91.7	362.0	8.7	4.3	
[PIK3C2A] Phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase C2 domain-containing subunit alpha	26.2	1.0	400.8	232.2	748.7	185.1	29.8	
[PIKFYVE] 1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase	30.2	1.0	374.8	59.1	294.9	35.7	16.6	
[PITPNM2] Membrane-associated phosphatidylinositol transfer protein 2	19.1	1.0	213.5	6.6	6.9	3.5	3.2	
[MAPKAPK5] MAP kinase-activated protein kinase 5	33.9	1.0	197.3	17.2	727.3	346.0	2380.5	
[PLCH2] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase eta-2	30.9	1.0	181.7	21.8	380.4	35.1	15.3	
[GPLD1] Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	67.5	1.0	73.5	18.9	43.8	12.1	4.5	
[PLCB3] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta-3	21.1	1.0	61.1	20.7	115.0	37.2	5.8	
[PNPLA8] Calcium-independent phospholipase A2-gamma	14.4	1.0	44.9	15.5	160.4	22.4	0.0	
[PREX1] Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-dependent Rac exchanger 1 protein	27.7	1.0	26.3	12.9	47.0	5.6	2.7	
[PLCH1] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase eta-1	27.6	1.0	9.3	8.5	11.4	3.0	4.4	
[PLD5] Inactive phospholipase D5	34.5	1.0	3.8	7.8	9.1	2.3	2.0	
[EDN2] Endothelin-2	20.4	1.0	2.9	2.1	2.8	0.7	0.6	
[PTGFR] Prostaglandin F2-alpha receptor	24.1	1.0	2.9	7.2	9.9	2.3	1.3	
[TPTE2] Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase TPTE2	24.0	1.0	2.6	4.1	5.7	3.7	1.0	
[PIK3R2] Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit beta	23.0	1.0	0.2	3.5	2.2	0.5	1.4	
[PIK3CA] Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform	35.2	1.0	0.0	2.5	5.2	3.5	3.0	
[PLCB4] 1-phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta-4	23.2	1.0	0.0	0.0	20.5	4.1	2.3	

表12. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (Ephrin 関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[EPHA10] Ephrin type-A receptor 10	17.8	1.0	282.4	361.9	421.2	114.2	153.2	骨吸収

表13. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (GABA 関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[GABARAPL2] Gamma-aminobutyric acid receptor-associated protein-like 2	33.9	1.0	180.7	37.9	309.3	33.2	5.5	骨形成抑制
[GABRR1] Gamma-aminobutyric acid receptor subunit rho-1	23.1	1.0	61.3	6.6	23.8	4.7	3.0	
[GABBR2] Gamma-aminobutyric acid type B receptor subunit 2	20.7	1.0	14.9	5.4	22.7	0.8	0.1	

表14. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (Zinc Finger Protein)

[Protein code] Protein name	Protein score	Peptide count	検出量 (ng/plate)						Protein function
			No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[ZNF236] Zinc finger protein 236	28.4	1	0.00	738.09	0.00	2.05	0.00	21.25	
[ZFP64] Zinc finger protein 64 homolog, isoforms 1 and 2	14.3	1	0.00	521.10	43.24	135.26	7.46	4.82	
[IKZF5] Zinc finger protein Pegasus	30.9	1	0.00	468.27	0.00	308.03	29.76	2.48	転写抑制
[ZNF107] Zinc finger protein 107	23.1	1	0.00	411.84	4.35	236.66	14.37	50.85	
[ZNF672] Zinc finger protein 672	23.1	1	0.00	411.84	4.35	236.66	14.37	50.85	
[ZNF862] Zinc finger protein 862	24.0	1	0.00	71.30	34.05	352.03	52.29	71.93	
[ZFYVE27] Zinc finger FYVE domain-containing protein 27	36.1	1	0.00	42.50	48.63	327.09	130.28	8.32	
[ZNF280D] Zinc finger protein 280D	23.5	1	0.00	0.00	250.59	0.00	2.51	1.59	
[ZFX] Zinc finger X-chromosomal protein	23.3	1	0.35	794.04	0.80	0.00	0.76	0.57	
[ZFY] Zinc finger Y-chromosomal protein	23.3	1	0.35	794.04	0.80	0.00	0.76	0.57	
[ZC3H11A] Zinc finger CCHC domain-containing protein 11A	29.8	1	0.12	252.70	19.30	151.09	117.79	28.22	
[ZNF98] Zinc finger protein 98	18.1	1	1.56	509.54	4.85	211.25	8.27	27.23	
[ZNF99] Zinc finger protein 99	18.1	1	1.56	509.54	4.85	211.25	8.27	27.23	
[ZNF397] Zinc finger protein 397 - Homo sapiens	23.4	1	1.95	483.48	15.28	254.68	19.57	2.67	転写抑制
[ZNF142] Zinc finger protein 142	27.5	1	1.47	341.40	30.74	339.13	21.83	9.38	
[ZNF568] Zinc finger protein 568	23.7	1	1.56	266.94	105.46	0.47	82.69	0.00	
[ZSCAN5A] Zinc finger and SCAN domain-containing protein 5A	23.8	1	2.96	495.29	35.88	26.96	65.91	2.10	
[HIVEP1] Zinc finger protein 40	20.2	1	1.02	170.51	92.86	333.69	22.01	2.44	T-cell activation
[PRDM2] PR domain zinc finger protein 2	15.3	1	0.16	21.27	78.17	102.59	149.62	31.62	
[ZBTB12] Zinc finger and BTB domain-containing protein 12	24.5	1	0.96	124.37	39.90	256.89	133.58	6.07	
[ZNF540] Zinc finger protein 540	28.2	1	2.21	267.31	68.02	380.15	0.00	0.00	
[ZNF613] Zinc finger protein 613	19.9	1	0.08	9.68	0.78	952.25	0.44	0.36	
[ZNF573] Zinc finger protein 573	23.4	1	0.16	18.41	128.87	54.16	100.16	31.98	
[ZFP112] Zinc finger protein 112 homolog	29.8	1	3.64	387.35	3.52	452.46	2.39	5.12	
[ZSCAN18] Zinc finger and SCAN domain-containing protein 18	28.3	1	6.74	608.34	0.17	192.18	6.55	0.76	
[ZNF692] Zinc finger protein 692	33.0	1	4.05	307.30	52.11	355.96	10.88	0.00	
[ZBTB1] Zinc finger and BTB domain-containing protein 1	15.9	1	2.24	151.54	82.33	399.45	22.90	0.00	
[ZFPM1] Zinc finger protein ZFPM1	17.0	1	4.50	189.57	58.35	149.03	102.44	17.19	
[ZKSCAN1] Zinc finger protein with KRAB and SCAN domains 1	21.3	1	5.99	228.63	74.90	0.00	1.14	111.25	
[ZNF81] Zinc finger protein 81	35.1	1	4.84	173.03	55.23	380.81	38.07	12.95	
[ZNF696] Zinc finger protein 696	20.4	1	8.47	244.91	1.20	255.04	133.90	0.88	
[ZBTB38] Zinc finger and BTB domain-containing protein 38	22.2	1	3.49	82.61	46.60	214.79	137.79	19.85	
[ZNF790] Zinc finger protein 790	26.5	1	0.02	0.46	0.09	1.04	221.59	94.10	
[ZNF548] Zinc finger protein 548	21.0	1	5.33	107.33	79.16	299.61	49.36	23.12	
[ZNF665] Zinc finger protein 665	23.3	1	10.13	187.89	26.42	574.07	0.00	11.26	
[ZNF362] Zinc finger protein 362	38.5	1	2.41	43.32	29.36	514.07	48.22	41.70	
[ZNF318] Zinc finger protein 318	22.3	1	9.85	176.55	18.16	6.11	199.47	22.06	
[ZKSCAN2] Zinc finger protein with KRAB and SCAN domains 2	23.7	1	2.80	46.50	59.46	131.45	79.60	91.16	
[ZNF331] Zinc finger protein 331	22.3	1	10.83	175.90	14.95	549.81	26.65	12.31	
[ZNF687] Zinc finger protein 687	21.1	1	7.57	122.52	45.60	228.23	109.34	23.58	
[ZSCAN10] Zinc finger and SCAN domain-containing protein 10	25.6	1	11.90	173.08	41.58	400.99	40.20	14.73	
[ZNF638] Zinc finger protein 638	15.2	1	8.36	97.98	101.45	224.92	38.02	30.38	
[ZBTB24] Zinc finger and BTB domain-containing protein 24	29.1	2	9.39	103.40	83.31	184.12	64.77	37.10	BMP-induced transcription
[ZNF662] Zinc finger protein 662	17.1	1	4.65	41.44	72.62	122.11	83.48	76.46	
[ZBTB20] Zinc finger and BTB domain-containing protein 20	18.7	1	14.07	123.52	32.80	513.15	26.80	18.77	
[ZNF12] Zinc finger protein 12	38.2	2	18.17	136.81	69.06	271.69	57.06	15.36	
[ZNF295] Zinc finger protein 295	39.5	1	8.25	28.81	18.87	48.80	270.34	2.82	
[ZFX3] Zinc finger homeobox protein 3	24.4	1	29.86	93.89	113.84	1.81	71.97	37.04	転写抑制
[ZNF710] Zinc finger protein 710	19.8	1	40.05	118.68	14.41	56.08	106.18	85.43	
[ZNF366] Zinc finger protein 366	24.3	2	21.88	31.52	55.47	352.67	74.09	26.55	
[ZNF516] Zinc finger protein 516	17.4	1	5.58	7.58	1.72	820.05	40.66	0.27	
[ZNF354C] Zinc finger protein 354C	30.5	1	81.27	87.95	58.43	229.08	17.43	39.00	Osteogenic effect 抑制
[ZNF292] Zinc finger protein 292	25.0	1	45.88	41.18	100.58	348.96	4.95	13.07	
[ZNF326] Zinc finger protein 326	22.8	1	57.32	45.84	72.68	139.28	43.11	61.55	
[ZNF816A] Zinc finger protein 816A	29.3	1	136.91	59.89	3.54	227.11	3.42	76.95	
[ZNF462] Zinc finger protein 462	18.8	1	12.16	5.31	1.67	618.06	47.77	48.04	
[ZKSCAN5] Zinc finger protein with KRAB and SCAN domains 5	18.0	1	10.96	2.39	69.92	151.52	102.99	63.33	
[ZNF592] Zinc finger protein 592	15.2	1	165.21	34.04	34.45	81.22	14.90	61.88	
[ZNF689] Zinc finger protein 689	23.3	1	24.78	3.20	122.32	3.34	95.29	43.53	
[ZNF644] Zinc finger protein 644	24.1	1	307.53	11.18	1.20	0.00	22.28	10.28	
[ZFX4] Zinc finger homeobox protein 4	20.7	1	279.71	9.30	22.74	33.40	10.97	9.24	
[ZNF518B] Zinc finger protein 518B	21.2	1	10.83	0.16	93.04	348.53	55.33	21.79	

表15. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (Ras 関連蛋白質)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[KSR1] Kinase suppressor of Ras 1	20.7	0.0	2.9	0.0	6.6	0.1	0.0	
[RAB23] Ras-related protein Rab-23	31.7	0.0	0.0	1.8	0.1	0.0	0.4	
[RASSF7] Ras association domain-containing protein 7	23.7	1.0	4771.1	83.5	1777.0	9.9	5.8	
[SYNGAP1] Ras GTPase-activating protein SynGAP	24.6	1.0	4188.5	49.8	9388.4	1387.4	6.5	
[RASGRP1] RAS guanyl-releasing protein 1	31.2	1.0	1183.0	79.1	421.4	38.3	0.0	
[LARP7] La-related protein 7	19.7	1.0	72.4	98.9	2750.0	267.8	0.8	
[RALB] Ras-related protein Ral-B	22.3	1.0	58.2	6335.9	81.0	0.3	2.0	

表16. チタン吸着蛋白質の多変量解析結果 (その他の転写因子)

[Protein code] Protein name	Protein score	検出比						Protein function
		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
[FES] Tyrosine-protein kinase Fes/Fps	19.6	0.0	0.4	0.0	0.6	1.1	0.7	
[SIPA1] Signal-induced proliferation-associated protein 1	18.2	1.0	3062.6	115.9	1320.3	52.0	19.9	
[PANX2] Pannexin-2 - Homo sapiens	17.4	1.0	1335.6	9.1	145.9	30.4	2.7	Gap junction
[CHD1L] Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1-like	19.0	1.0	1261.6	202.1	14.1	91.9	9.3	
[RICH2] Rho GTPase-activating protein RICH2	26.1	1.0	1029.7	69.5	610.8	27.5	14.9	
[CHD9] Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 9	26.6	1.0	626.0	55.5	1022.5	99.4	14.6	骨分化関与
[PAK4] Serine/threonine-protein kinase PAK 4	17.1	1.0	384.5	54.8	329.4	11.8	5.8	
[KAT2B] Histone acetyltransferase KAT2B	28.3	1.0	340.7	0.1	108.8	2.5	0.2	
[ERN2] Serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE2	34.6	1.0	328.5	6.1	1568.9	0.0	1.2	
[CCAR1] Cell division cycle and apoptosis regulator protein 1	21.6	1.0	192.7	8.3	267.6	3.4	0.0	
[AP2M1] AP-2 complex subunit mu	23.3	1.0	178.9	29.3	1.4	10.9	4.4	
[GJA9] Gap junction alpha-9 protein	26.7	1.0	158.0	12.2	218.4	10.5	0.4	
[PPP3CB] Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit beta isoform	17.8	1.0	146.7	0.3	54.3	1.8	6.5	
[PPP3CC] Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit gamma isoform	17.8	1.0	146.7	0.3	54.3	1.8	6.5	
[ODZ2] Teneurin-2	22.8	1.0	125.0	21.2	19.9	3.1	1.4	
[FAM83H] Protein FAM83H	19.3	1.0	98.7	17.2	174.6	21.5	3.0	エナメル形成Calcification
[SH3KBP1] SH3 domain-containing kinase-binding protein 1	22.0	1.0	92.1	27.0	96.9	35.3	15.1	Phosphatidylinositol 関連
[SH3PXD2A] SH3 and PX domain-containing protein 2A	17.4	1.0	85.5	11.8	85.8	231.4	6.5	Phosphatidylinositol 関連
[ASAP1] Arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 1	20.2	1.0	63.6	27.0	81.7	8.9	4.0	Phosphatidylinositol 関連
[SPINK5] Serine protease inhibitor Kazal-type 5	27.7	1.0	21.0	162.5	21.0	15.0	5.6	抗炎症
[STK24] Serine/threonine-protein kinase 24	24.4	1.0	14.4	8.8	20.1	6.4	4.2	
[CHD5] Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 5	26.0	1.0	14.4	9.6	17.6	32.3	0.2	
[NFIL3] Nuclear factor interleukin-3-regulated protein	31.5	1.0	14.1	39.3	643.9	56.2	35.7	骨芽細胞活性抑制
[GIMAP1] GTPase IMAP family member 1	20.7	1.0	2.9	0.8	3.5	0.0	1.1	

表17. 骨形成及び骨吸収に関する各因子の機能と作用機序

骨代謝関連因子	機能及び作用機序
糖質コルチコイド	<p>血管透過性亢進抑制のほか、アラキドン酸代謝及び炎症性サイトカイン産生(免疫)を抑制するステロイド性抗炎症剤である。デキサメタゾンは未分化間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化を促進する。</p> <p>一方、喘息及び炎症疾患等、ステロイド薬剤(デキサメタゾン、プレドニゾン等)の長期投与では骨粗鬆症が誘発される。これは、骨芽細胞でのWntアンタゴニストであるDkk-1(Dickkopf-1)の発現を亢進する結果、Wntシグナルを抑制し、骨形成作用を低下させることに由来すると考えられている。</p>
エストロゲン	<p>骨吸収を抑制する。消化管からのカルシウム吸収や腎尿管からのカルシウム再吸収を促進し、副甲状腺ホルモンによる骨吸収に対しても抑制的に作用する。また、細胞膜上に存在するレセプターを介して骨芽細胞の機能を活性化し、I型コラーゲン、オステオカルシン、オステオポンチン、骨シアロタンパク質等の産生を誘導すると共に、破骨細胞の機能を抑制する。</p>
プロゲステロン	<p>骨成長を促進する。</p>
テストステロン	<p>細胞膜上に存在するレセプターを介して骨芽細胞の活性を低下させるという報告がある一方、骨成長を促進するという報告もある。</p>
副甲状腺ホルモン	<p>破骨細胞を活性化して骨吸収を誘導する。</p>
HGF	<p>HGFは肝細胞に加えて多種の上皮細胞や血管内皮細胞、心筋細胞、骨や軟骨細胞、造血幹細胞、神経細胞等にも作用して多様な生物活性を發揮する。硬組織に対しては、幹細胞から骨芽細胞への分化を促進することにより、骨再生を促進すると考えられている。</p>
IGF	<p>IGF-1は主に肝臓で成長ホルモンによる刺激を受けて分泌される。人体の殆どの細胞、特に筋肉、骨、肝臓、腎臓、神経、皮膚及び肺の細胞はIGF-1の影響を受ける。インスリン様効果に加え、IGF-1は細胞成長と発達、細胞DNA合成を調節する。IGF-2は哺乳類では脳、腎臓、膵臓及び筋肉より分泌される。IGF-1よりも特異的に作用し、大人ではインスリンの600倍の濃度で存在する。血液及び組織中のIGFの大部分はIGFBPに結合している。IGFBPはIGF活性の調節に重要な役割を果たしており、IGFBPがIGFに結合すると、IGFのIGFRへの結合が抑制されて、IGFシグナル伝達を抑制する。一方、IGFBPがIGFの作用を増強する働きも報告されており、これはIGFBPが細胞膜や細胞外マトリクスに結合することで、局所的にIGFの濃度を上昇させて、IGFRへ到達できるIGFを増大させるためであると考えられている。インスリンとIGF-IIはIR及びIGF-1Rに対する親和性を持つ。IGF-IIはIR、IGF-1R及びIGF-2Rに結合する。IGF-2Rは細胞内に酵素活性を持たないため、IGF-II/IGF-2Rの結合はシグナル伝達ではなく、むしろIGF-IIのクリアランスに関与しており、IGFの実際のシグナルはIGF-1RとIRとの結合によって伝えられていると考えられている。</p>
FGF2	<p>FGF2は未分化間葉系幹細胞の増殖を促進し、局所で骨芽細胞に分化する細胞群を増やし、結果として骨形成を促進する作用を持つ。FGFR2シグナリングは軟骨分化と内軟骨性化骨において促進的に作用する。</p>
CTGF/CCN2	<p>CCNファミリーと呼ばれる遺伝子ファミリー産物を代表する蛋白質の1つであり、新しいタイプの細胞間メッセンジャー分子として注目されている。成長板軟骨細胞に対しては増殖から石灰化に至る全ての過程、関節軟骨細胞については増殖から成熟までの過程をそれぞれ促進する。</p>
TGF- β スーパーファミリー	<p>TGF-βスーパーファミリーは、細胞内シグナル伝達分子R-SmadのうちSmad2やSmad3を活性化するTGF-β、アクチビン、Nodal等のグループとSmad1、Smad5、Smad8を活性化するBMPとMISから成るグループに大別される。BMPファミリーは構造の類似性から、BMP2,4を含むグループ、BMP5-8を含むグループ、Growth and differentiation factor (GDF) 5-7を含むグループに細分化される。</p> <p>TGF-βは線維芽細胞等については増殖促進的に働くことがあるが、多くの細胞に対して増殖抑制作用を示すと共に、発生や分化、細胞の種々の機能調節においても多様な作用を持っている。コラーゲン、フィブロネクチン等の細胞外マトリクスの産生を促進すると共に、プロテアーゼ産生を抑制することにより細胞外マトリクスの蓄積を促進する。骨芽細胞を刺激することにより、骨形成を誘導する。TGF-βシグナルはI型及びII型受容体(TβR-I・TβR-II)を介して伝達される。βグリカンIII型受容体として知られているが、I型及びII型受容体にTGFβを呈示しているものと考えられている。また、エンドグリンもTGFβと結合親和性を持つが、その作用は十分解明されていない。</p> <p>BMPは骨・軟骨の発生と維持に深く関与しているが、それ以外にも歯の発生、消化管分化における上皮-間質相互作用、心筋細胞の分化制御等、多彩な機能を有している。骨折発生前に骨折部周辺の未分化間葉系細胞にBMP受容体の遺伝子発現亢進が認められ、その発現亢進は局所で起こる出血凝固作用の中で活性化されるHGFにより促進されることが知られている。その他、GDFもBMPファミリーに属する生理活性物質群であり、骨形成誘導能を持つ。</p>

表17. 骨形成及び骨吸収に関する各因子の機能と作用機序（続き）

骨代謝関連因子	機能及び作用機序
グルタミン酸	<p>グルタミン酸(Glu)は中枢神経において神経伝達物質として機能するが、Glu伝達系シグナル分子は骨・軟骨系細胞にも発現していることが確認されている。Gluは骨芽細胞の細胞膜上に発現するNMDAレセプター等の特定のGluRを介して分化促進作用を示し、逆に破骨細胞に対してはcystine/Glu antiporter (xCT) を介して分化抑制作用を示すことにより、骨形成を促進する。</p> <p>Gluシグナルを受け取る受容体(GluR)はカチオン透過性イオントロピック型(iGluR)と代謝調節型のメタボトロピック型(mGluR)に大別され、iGluRは更にN-methyl-D-aspartic acid (NMDA)感受性・非感受性レセプターに分類される。前者にはNMDAレセプター-1(NR-1)とNR2A-Dが存在し、後者にはAMPA型とKA型が存在する。GluトランスポーターとしてはEAAT(Excitatory amino acid transporter)群とXc系が知られている。Xc系は細胞表面抗原である4F2hcとxCTがヘテロ二量体を形成し、CystineとGluを基質とした交換輸送を行う。</p> <p>骨芽細胞はNR1とNR2Dを発現しており、NMDAレセプターアンタゴニストであるMK-801存在下で培養した際、ALP活性、オステオカルシン産生量、カルシウム蓄積ともに顕著に抑制される。GluはNMDAレセプターを介して骨芽細胞分化のマスターレギュレーターである転写制御因子 Runt-related transcription factor 2 (Runx2) の発現を増加させることにより、骨形成を促進する。また、骨芽細胞は内在性Gluを細胞外に放出するAMPAレセプターのほか、GluTのEAAT1-3も発現している。</p> <p>このように骨芽細胞は、アミノ酸が細胞内情報伝達物質として機能し得るために必要な(1)ベジクル内への興奮性アミノ酸を蓄積し、細胞外へ放出する機構(VGLUT)、(2)放出されたシグナルを受容するための入力系(GluR)、(3)シグナルを停止するための停止系(GluT)の機構の全てを備えている。</p>
サイトカイン	<p>IL-1β、IL-6、TNFαを初めとした炎症性サイトカインは骨吸収を促進する。一方、IL-18はT-cellからのGM-CSF産生を介して破骨細胞の増殖・分化を抑制する。INFβはRANKLのフィードバック因子として骨再構築のバランスを取っている。IL-12及びINFγは破骨細胞の誘導と活性抑制の両方に関与している。</p>
GABA	<p>γアミノ酪酸は中枢神経系において抑制性神経伝達物質として作用するが、GABAレセプターは末梢組織にも存在する。GABAレセプターは骨芽細胞の細胞膜上にも発現しており、作用機序は明らかにはされていないが、骨代謝に関与していることが示唆されている。GABAレセプターはPLA活性化、Caチャンネル不活化等を誘導する。</p>
Zinc Finger 型骨形成	<p>Zinc Fingerはエストロゲン等のステロイドホルモン受容体、GABAファミリー因子等に見られる構造であり、Znを配位することで特定の立体構造を取り、DNAに結合する転写因子である。Osterixは骨組織特異的に発現しているZinc Finger型転写因子であり、骨芽細胞の分化に不可欠な役割を担っている。</p>
M-Ras	<p>Ras蛋白質は細胞内シグナル伝達に関与する低分子GTP結合タンパク質(Small GTPase)であり、転写や細胞増殖、細胞の運動性の獲得のほか、細胞死の抑制など数多くの現象に関与している。Rasファミリーには様々な蛋白質が存在するが、M-Rasは骨にも高く発現しており、骨芽細胞分化の過程で発現が誘導されると共に、BMP-2により活性化される。M-Rasはp38MAPK/JNKの活性化を介して未分化間葉系幹細胞や前骨芽細胞から骨芽細胞への分化を誘導する動きを担うことが報告されている。</p>
NF- κ B	<p>関節リウマチにおける骨破壊や歯周病による歯槽骨吸収は破骨細胞の分化促進と骨吸収の亢進が原因である。破骨細胞の分化に転写因子NF-κBが重要な役割を果たしており、同転写因子を阻害することにより、炎症性骨吸収の予防や治療を行える可能性がある。IL-1やIL-6等は破骨細胞の形成を促進し、一方、IL-4は破骨細胞形成を抑制する。</p>
Wntシグナル	<p>Wntファミリーは進化上広く保存されており、発生、形態形成等、様々な生命現象に重要な役割を果たしている。Wntの関与するシグナル伝達経路には、β-カテニンを介したCanonical経路のほか、Wnt/JNK経路、Wnt/Ca²⁺経路が存在する。Wntシグナル伝達経路はβ-カテニンの分解以外にも様々な制御を受けている。細胞外では、FRP(Frizzled-related protein)、WIF(Wnt-inhibitory factor)、CerberusのようにWntに直接結合して機能を阻害する分泌性インヒビターがWntシグナルを負に制御している。Dkk(Dickkopf)はLRP6(LDL receptor-related protein 6)に結合し、LRP6、Wnt及びFrizzledとの相互作用を阻害することにより、Wntシグナルを遮断する。ICATはβ-カテニンに結合してβ-カテニンとTCF/LEFの相互作用を阻害することにより、Wntシグナル伝達経路を負に制御する。</p>
ヘッジホッグ	<p>インディアンヘッジホッグ(Ihh)は細胞内シグナル伝達分子Gli2の誘導を介して未分化間葉系幹細胞の骨芽細胞分化を促進すると共に、Gli2により誘導されるGli1が骨芽細胞分化誘導作用を示す。また、IhhがβTrep1の上流で機能するGSK-3βの活性を阻害することにより、ユビキチン化によるGli2の分解を抑制し、骨芽細胞分化を増強する。</p>
RANK/RANKL	<p>骨組織は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収を繰り返すが、骨芽細胞はその細胞膜上に存在するRANK/RANKL(Receptor Activation of NF-κB ligand)を介して、破骨細胞の形成・分化を制御・調節し、骨代謝の制御における中心的な役割を担っている。</p>

表17. 骨形成及び骨吸収に関する各因子の機能と作用機序（続き）

骨代謝関連因子	機能及び作用機序
Eph/Ephrin	血管新生誘導因子として知られているが、Eph/Ephrinシグナルは骨代謝を制御している。EphA受容体は骨芽細胞と破骨細胞の細胞膜上に発現しているが、EphB受容体は破骨細胞のみに存在する。クラスAのEph/Ephrinシグナルは骨吸収を促進し、クラスBの同シグナルは骨吸収から骨形成への移行と骨形成を促進する。
Homeobox (Hox蛋白質)	ホメオドメインを持つ蛋白質であり、発生期の骨格パターン形成過程に関与している。血管石灰化は胎生期の骨格形成を反復するプロセスと理解されており、血管壁に存在する間葉系幹細胞が骨芽細胞又は軟骨細胞様の形質を獲得し、骨・軟骨形成を模倣するものである(膜性骨化・内軟骨骨化)。この形質変換にはBMPやWntシグナルが関与し、Runx2 や Msx2 (msh homeobox homolog 2) 等の転写因子が関連している。また、軟骨組織に存在するcondromodulin-1及びcarninerinは内軟骨骨化において重要な役割を果たしている。OPG (オステオプロテグリン)、MGP (matrix Gla protein)、Fetuin-A等の骨関連蛋白質は血管石灰化の抑制因子と考えられている。
アラキドン酸カスケード	<p>IL-1βを初めとした炎症性サイトカインはPEGE₂産生を増強する。炎症性サイトカインやPEGE₂は細胞膜上のレセプターを介して破骨細胞を活性化し、骨吸収を促進させる。PEGE₂のほか、PEGD₂、PEGF_{2α}も骨吸収能を示すことが知られている。</p> <p>ほ乳類の細胞におけるアラキドン酸遊離には、ホスホリパーゼA2の活性化を介する経路、イノシトールリン脂質特異的ホスホリパーゼCの活性化を介する経路(PI-PLC)、コリンリン脂質特異的ホスホリパーゼDの活性化を介する経路(PC-PLD)の3つが存在する。アラキドン酸は一般的に遊離の状態では存在せず、形質細胞膜のリン脂質に貯蔵されている。遊離されたアラキドン酸はシクロオキシゲナーゼ(COX)とリボキシゲナーゼにより速やかに代謝され、アラキドン酸カスケードが活性化される。</p>
HSP27	<p>HSPはストレス応答の際、組織・細胞レベルで誘導される一連の蛋白質の総称であり、ほ乳類においてはその分子量から5群に大別されている。HSP27は骨肉腫患者の生検標本において過剰発現が認められる場合、その予後が不良であることが報告されている。また、女性の閉経前の骨量維持に寄与するエストロゲンが骨芽細胞におけるHSP27誘導を増強し、アポトーシスに対する抵抗性に関与する可能性が示唆されている。</p> <p>HSP27はアラキドン酸カスケードの活性化により誘導される。PKCはアラキドン酸遊離を阻害することにより、HSP27の誘導を抑制する。HSP27の誘導はCOX阻害薬であるインドメタシン、リボキシゲナーゼ阻害薬である nordihydroguaiaretic acid、ホスホリパーゼA₂を活性化するmelittinにより増強される。</p> <p>強力な骨吸収因子であるPGF_{2α}はPI-PLC及びPC-PLDを介してPKC依存的なp44/p42MAPK活性化によりHSP27誘導を促進する。PGD₂、FGF2もPGF_{2α}と同じ機序によりHSP27誘導を促進する。一方、エンドセリン-1、スフィンゴシン-1-リン酸はp38MAPKの活性化を介してHSP27の誘導を促進する。</p>
硫酸化多糖	ヘパリンやヘパラン硫酸等はBMPの骨芽細胞分化誘導活性や異所性骨誘導活性を著しく促進する。この作用機序は、硫酸化多糖が補助受容体としてリガンドと受容体の親和性を高めるのではなく、むしろリガンドの作用時間を延長するためと考えられている。
カルシトニン	破骨細胞の形成と活性化を直接的に抑制する。
細胞外マトリクス	コラーゲンを初めとした細胞外マトリクスは様々な細胞の増殖、分化、機能発現に影響を及ぼすことが知られている。
ビタミンC	<p>アスコルビン酸はコラーゲン/インテグリンを介したシグナル伝達経路のほか、Nrf1を介したZinc Finger型 Osterix発現経路により、骨芽細胞分化を誘導する。</p> <p>アスコルビン酸はコラーゲン形成に必要なヒドロキシプロリンの合成酵素プロリルヒドロキシラーゼのコファクターとして機能しており、I型コラーゲンを初めとするプロコラーゲンの生合成・分泌、細胞外マトリクスの構築に関与している。I型コラーゲンは$\alpha 2\beta 1$インテグリンと相互作用することによりMAPKを活性化し、更にその下流で働く骨芽細胞特異的転写因子Cbfa1を活性化することにより骨芽細胞を分化誘導する。</p> <p>一方、プロリルヒドロキシラーゼ阻害剤である3,4ジヒドロプロリンにより処理した軟骨細胞ではコラーゲン分泌が著しく抑制されるにも拘わらず、アスコルビン酸を同時添加することにより骨形成の指標となる遺伝子発現が認められたことから、コラーゲン/インテグリン経路とは異なる経路が存在することが予測された。</p> <p>前述のとおり、Osterixは骨組織特異的に発現しているZinc Finger型転写因子であり、骨芽細胞の分化に不可欠な役割を担っている。Cbfa1の下流で骨形成を制御しているOsterixのプロモーター上流にはARE (Antioxidant-Responsive Element)が存在し、転写因子Frf1 (Mic;ear Factpr-E2-relatedFactor-1)がAREと相互作用してOsterix発現を制御している。アスコルビン酸はNrf1の活性化、核内移行、AREエレメントへの結合を介してOsterixの発現を増強することにより骨芽細胞分化を促進する。</p>

表17. 骨形成及び骨吸収に関する各因子の機能と作用機序（続き）

骨代謝関連因子	機能及び作用機序
ビタミンD	腸管・腎尿細管からのカルシウム吸収を促進し、血中カルシウム濃度を上昇させることにより、骨からのカルシウム及びリンの溶出を促進するPTH(副甲状腺ホルモン)の分泌を抑制する。骨芽細胞及び副甲状腺にもビタミンD受容体が存在し、骨形成に必須の因子と考えられている。
ビタミンK	骨からのカルシウム溶出を抑制する。
金属イオン	亜鉛は骨芽細胞のコラーゲン産生を促進すると共に、破骨細胞の機能を抑制する。マグネシウムは骨芽細胞に作用して骨に貯蔵するカルシウム量を調節している。銅イオンは骨形成を補助する。鉄イオンについては、骨芽細胞のコラーゲン形成を補助又は抑制するという相反する報告がある。
Mechanical stress	<p>骨量は骨形成と骨吸収のバランスにより維持されているが、メカニカルストレスの減少による骨量減少の原因は主として骨形成の抑制により起こることが知られている。また、メカニカルストレスを負荷すると骨形成が刺激されて骨量が増加する。</p> <p>メカニカルストレスは細胞骨格(アクチン再重合・インテグリン)の変化や細胞膜イオンチャンネルの開閉により受容される。受容されたメカニカルストレスはサイトカインやホルモン等のシグナル伝達分子を介して骨形成を促進する。また、メカニカルストレス負荷によるin vivo骨形成はインドメタシンにより大幅に抑制されることから、プロスタグランジンが関与するシグナル伝達系も関与していることが示唆されている。プロスタグランジンの増加をもたらすPLA(ホスホリパーゼA)の活性は細胞骨格の変化により増強される。骨芽細胞に伸展刺激を加えると、SAチャンネルを介した細胞外Ca流入やPLC(ホスホリパーゼC)の活性化によりIP₃(イノシトール三リン酸受容体:Caチャンネル)が小胞体からのCa放出を活性化することにより、細胞内Ca濃度が増加することが示唆されている。その他、骨形成との関連は不明であるが、メカニカルストレスの負荷により細胞骨格が破壊されると細胞内cAMP濃度が上昇することが知られている。</p>

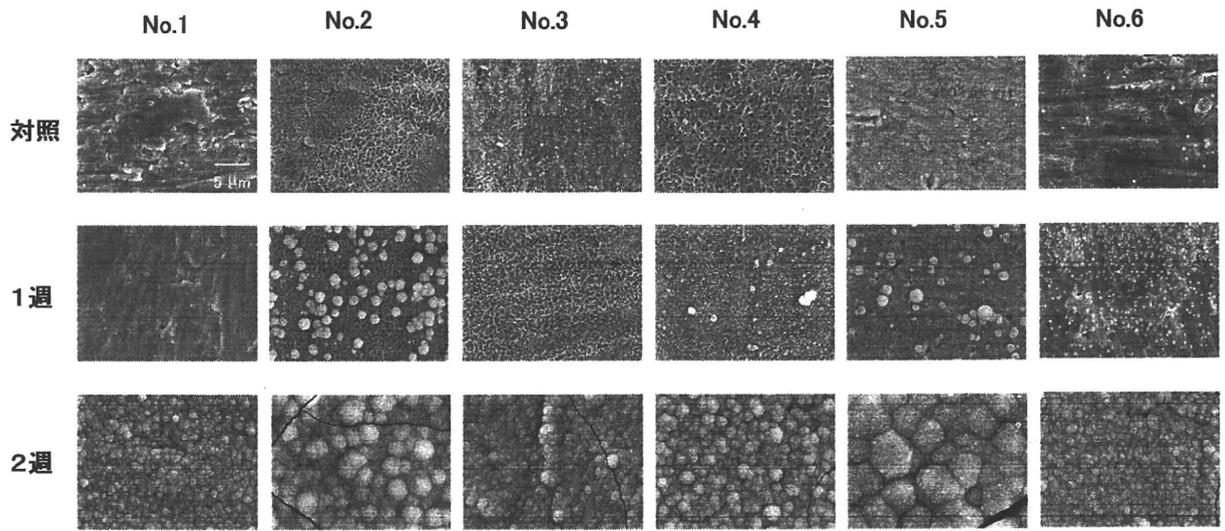


図1. HBSS に浸漬させたチタンプレートの SEM 画像

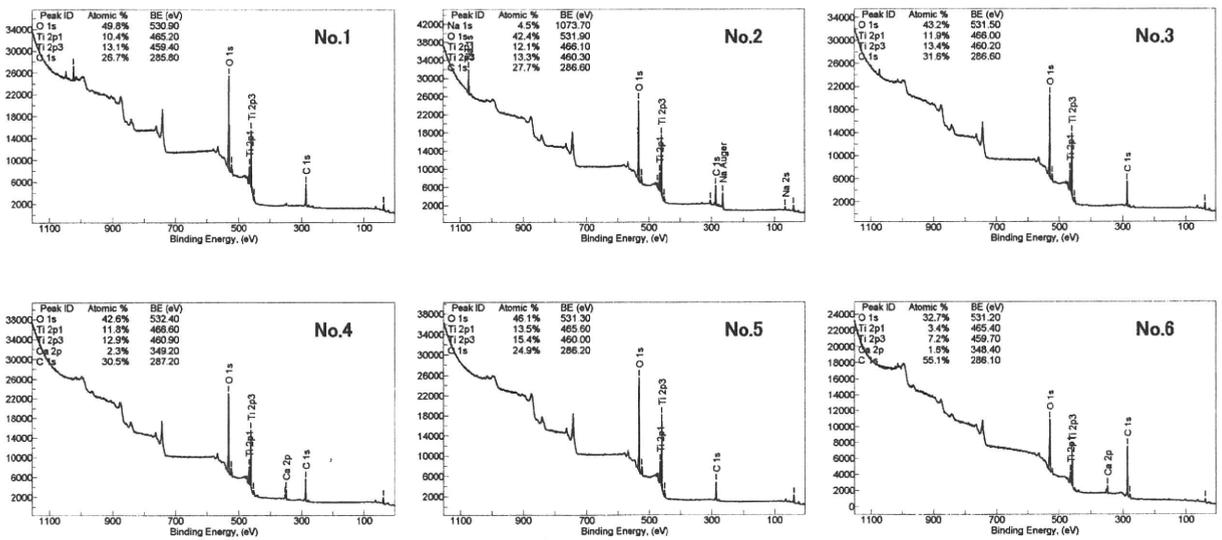


図2. チタンプレートの XPS 解析結果 (溶媒浸漬前)

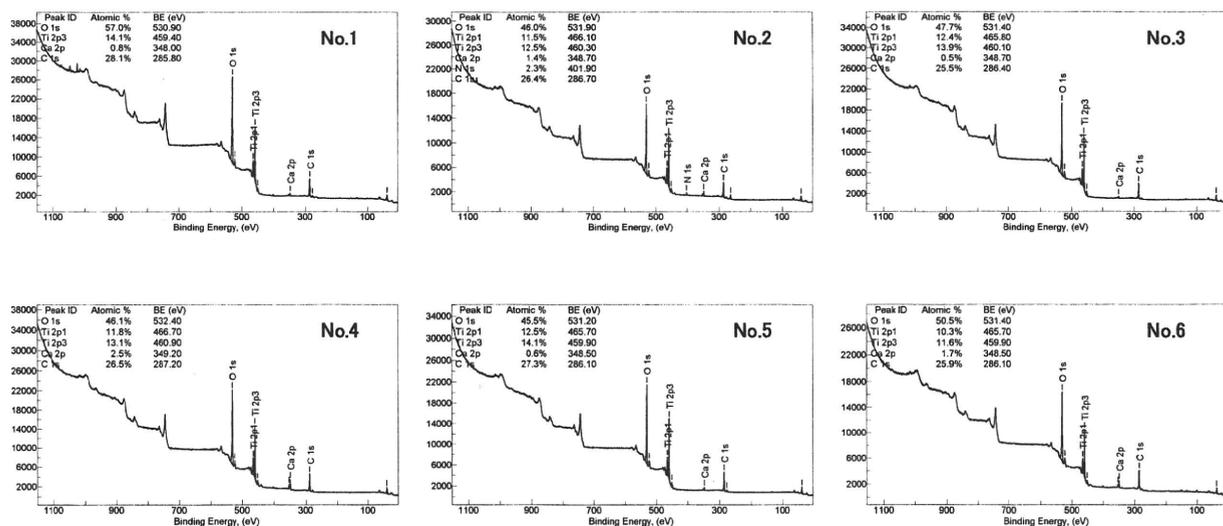


図3. チタンプレートの XPS 解析結果 (HBSS/4 時間浸漬)

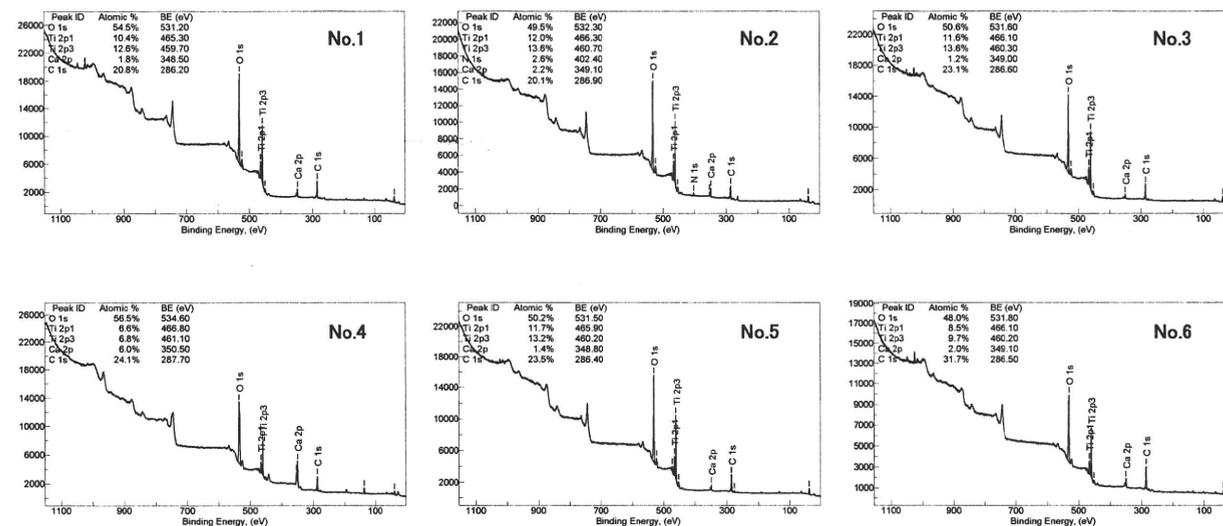


図4. チタンプレートの XPS 解析結果 (HBSS/1 週間浸漬)

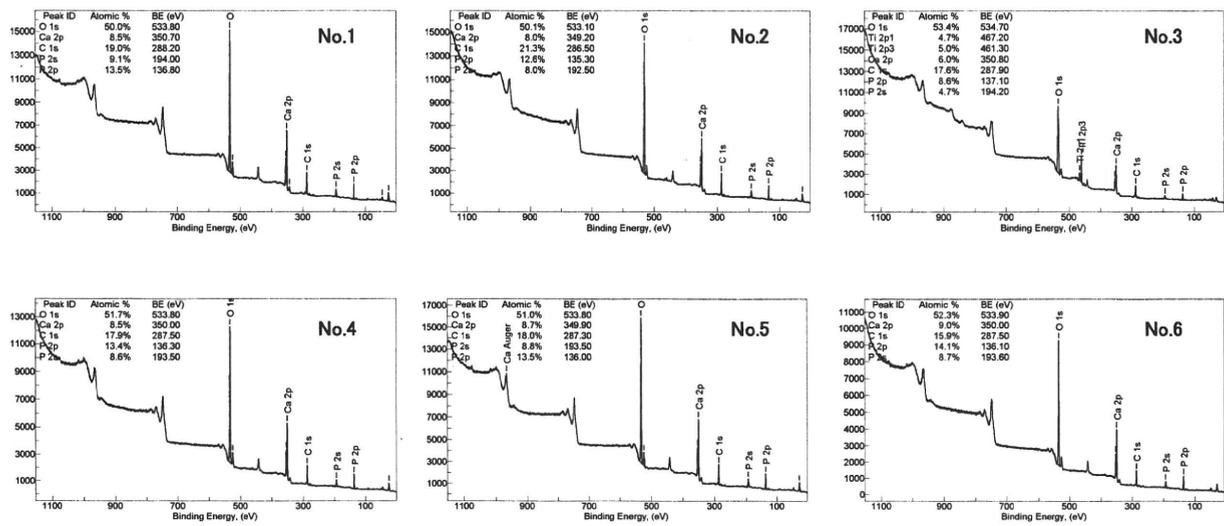


図5. チタンプレートのXPS解析結果 (HBSS/2週間浸漬)

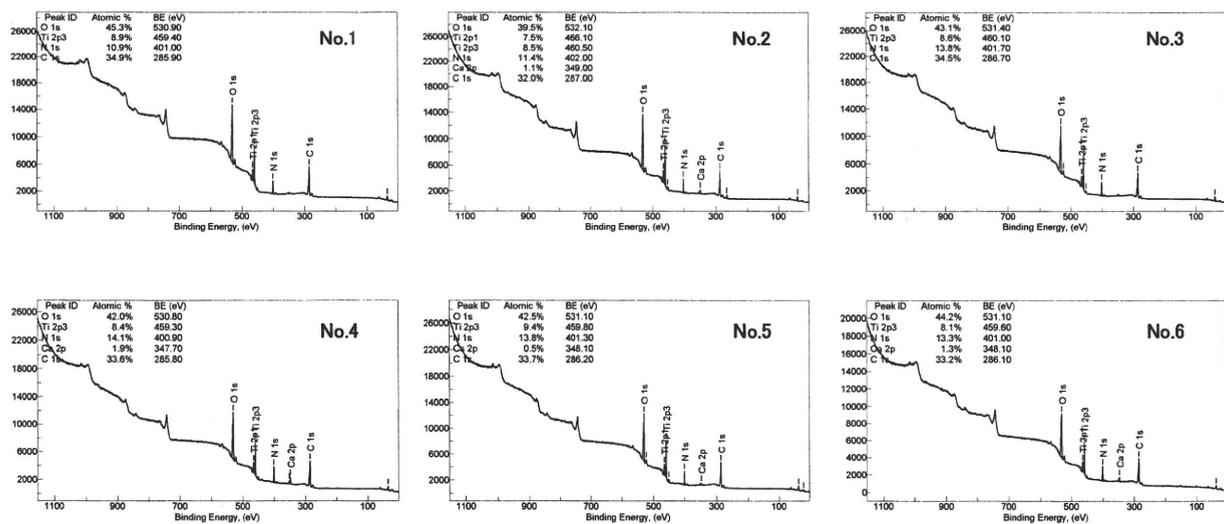


図6. チタンプレートのXPS解析結果 (10% FBS含有 α MEM培地/4時間浸漬)

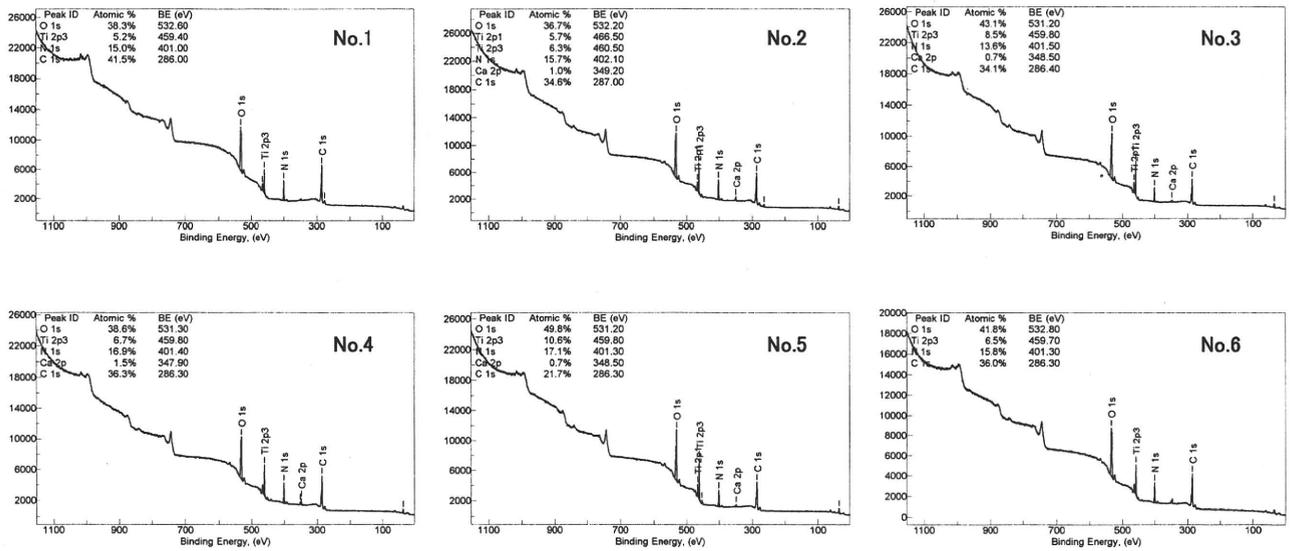


図7. チタンプレートの XPS 解析結果 (FBS/4 時間浸漬)

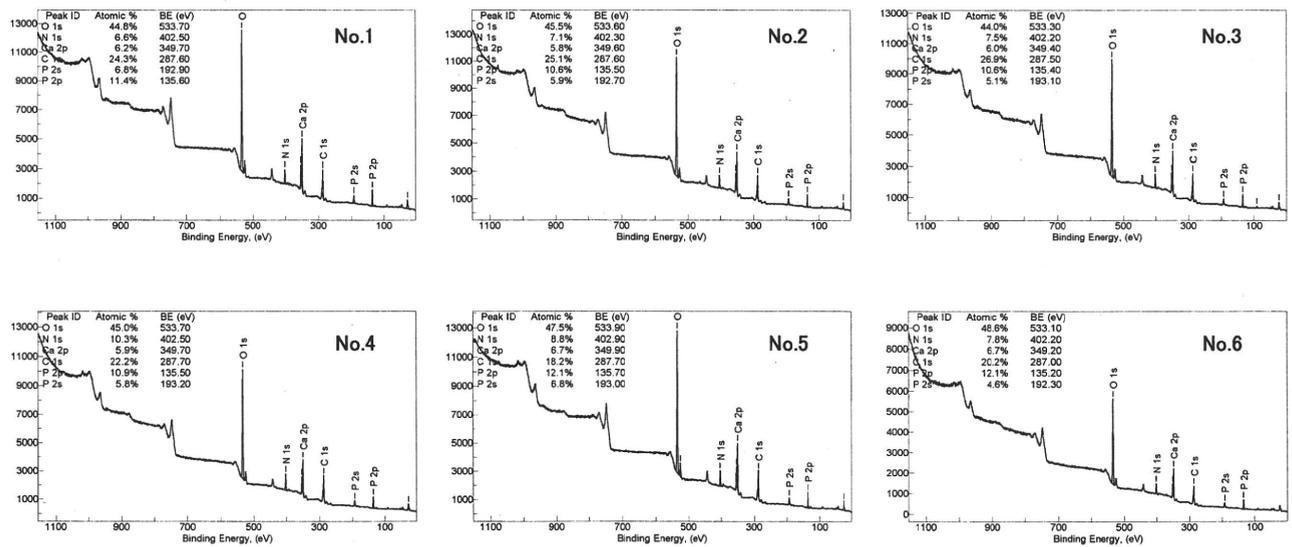


図8. チタンプレートの XPS 解析結果 (10% FBS 含有 α MEM 培地/2 週間浸漬)

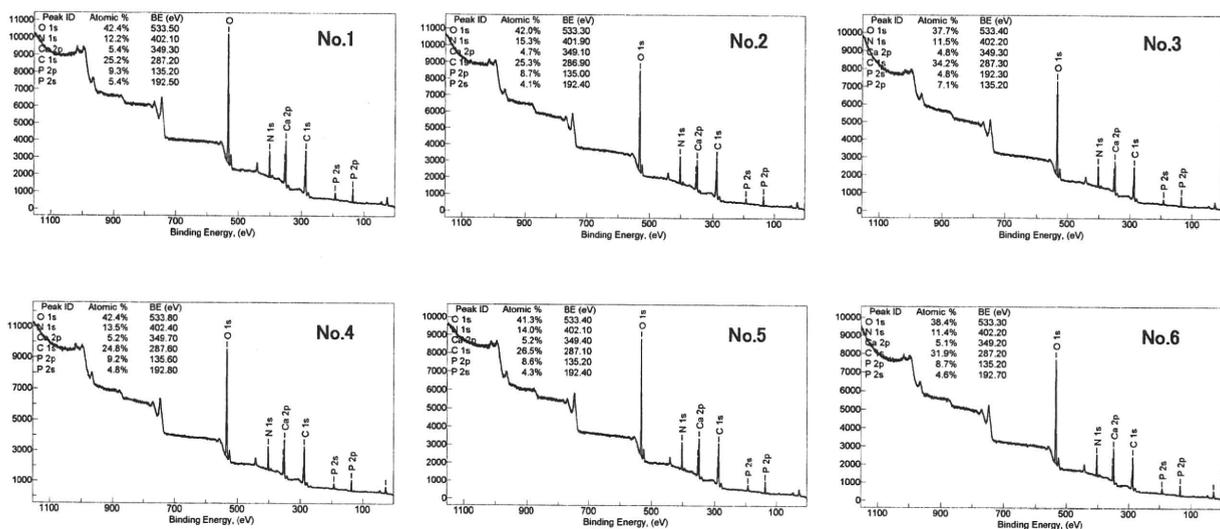


図9. チタンプレートの XPS 解析結果 (FBS/2 週間浸漬)

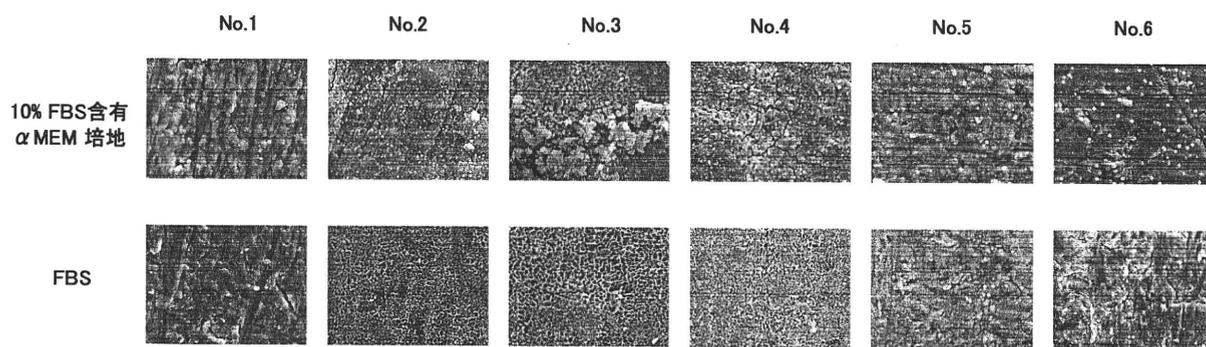


図10. 10% FBS 含有 α MEM 培地及び FBS に浸漬させたチタンプレートの SEM 画像 (2 週間)

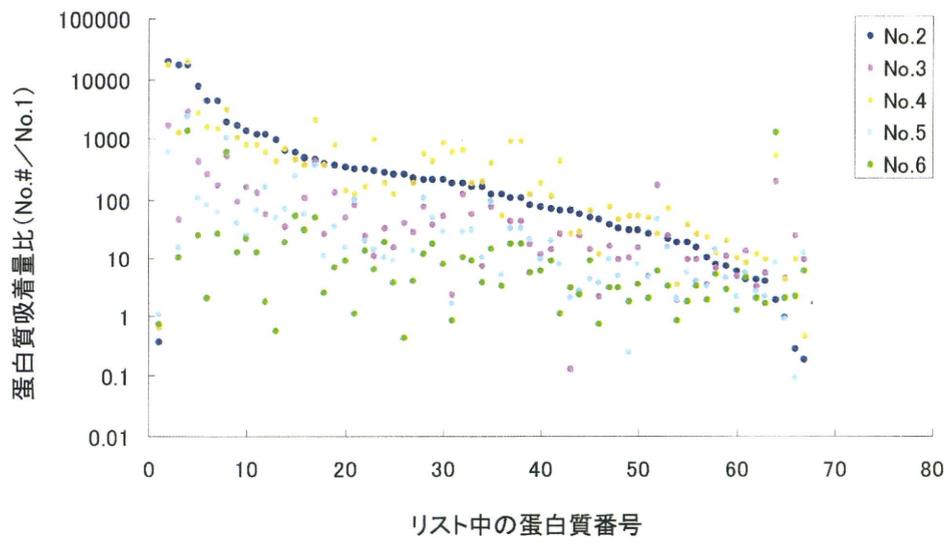


図11. 成長因子・サイトカイン類関連蛋白質の吸着パターン解析

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

「材料／細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究」

分担研究課題名

自己組織化膜を利用したモデル表面材料調製と細胞機能を利用した細胞挙動解析

研究分担者 中岡竜介 国立医薬品食品衛生研究所 医療機器部 室長

研究要旨

医用材料の生体適合性と材料特性との関連性を考察するため、材料表面特性が細胞に与える影響についての検討を *in vitro* での材料／細胞相互作用解析を通して行っている。初年度は、自己組織化単分子膜を利用して調製した2種類の官能基からなるモデル表面を調製し、それらを用いて細胞間連絡機能を指標とした材料／細胞相互作用解析を中心とした検討を行った。

A. 研究目的

医用材料の生体適合性は、種々の溶出物や残留物質等の毒性、微生物汚染に由来する感染因子のほか、材料表面の物理化学的特性に大きく影響される。これは医用材料が、細胞や組織のような生きた生体システムと接触した際、その界面で起こる分子間相互作用を介して生体に何らかの影響を及ぼすためである。医用材料は、生体内に埋植されるとその表面に水やイオンが速やかに吸着し、次いで生体蛋白質の吸着が起こる。その後、細胞が材料表面に接着することになるため、医用材料と細胞は吸着蛋白質層を介して相互作用することになる。よって、同蛋白質は材料の機能発現や生体適合性に大きく関与すると考えられる。また、初期のイオン吸着動態は蛋白質吸着のほか、

アパタイト形成にも影響すると共に、材料表面の水和状態は血液適合性（抗血栓性）の要因である蛋白質吸着能や細胞接着能のほか、人工関節の耐摩耗性にも深く関与することが示唆されている。そこで、本研究では、まず、材料表面における化学的・物理化学的特性と材料／細胞間に生じる相互作用との関連性についての検討を行う。なお、研究を行うにあたり、表面の化学的及び物理化学的特性を制御するため、従来までの汎用性の高い種々の医用材料を使用しておこなわれてきた研究に代わり、自己組織化単分子膜をモデル材料として用いての各種検討を行う。具体的には、過去の研究で調製可能であることを明らかとした種々の比率で2種類の官能基が存在する表面を利用して異なる化学及び物理化学的特性を