

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20423

研究課題名(和文) バイオフィーム代謝活性評価と表面腐食評価によるチタンの生物学的腐食モデルの構築

研究課題名(英文) Construction of biological titanium corrosion model by evaluations of biofilm metabolic activity and surface corrosion

研究代表者

福島 梓 (FUKUSHIMA, Azusa)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：50733565

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：チタン表面にStreptococcus mutansの人工バイオフィームを形成し、バイオフィーム-チタン腐食モデルを構築した。フッ化物の作用によりバイオフィーム直下のpH低下抑制が確認され、バイオフィーム存在下ではフッ化物の有無による腐食傾向の増加は認められなかった。低pHフッ化物溶液への浸漬では、腐食傾向増加、色調変化、光沢度低下、チタン溶出が認められたが、中性環境下ではフッ化物による変化は認められなかった。

本研究成果より、口腔内における中性フッ化物の使用はチタン腐食に影響を与えないと考えられることから、チタン製歯科材料使用患者においても残存歯う蝕予防のためフッ化物使用を推奨する根拠となる。

研究成果の概要(英文)：Streptococcus mutans cells were used as the artificial biofilm, and pH at the bacteria-titanium interface was monitored after the addition of glucose with NaF at 37 °C for 90 min. In an immersion test, the titanium samples were immersed in the NaF solution for 30 or 90 min. After incubation with biofilm, pH was maintained at around 6.5 in the presence of NaF. There was no significant change in titanium surface and elution, regardless of the concentration of NaF. After immersion in 900 ppm NaF solution at pH 4.2, corrosive electrochemical change was induced on the surface, titanium elution and discoloration were detected, and gloss was decreased. NaF induce titanium corrosion in acidic environment in vitro, while NaF does not induce titanium corrosion under the biofilm because fluoride inhibits bacterial acid production. Neutral pH fluoridated agents may still be used to protect the remaining teeth, even when titanium-based prostheses are worn.

研究分野：歯科補綴学、口腔生化学

キーワード：チタン バイオフィーム フッ化物 腐食

1. 研究開始当初の背景

歯科用インプラント材料や義歯床用材料としてチタン・チタン合金が広く用いられているが、近年、チタンの生体内における微量溶出に起因すると考えられるアレルギーの発症や腐食・変色などの問題が懸念されている。さらに、口腔内においては、チタン表面に形成されたバイオフィーム構成細菌の代謝活性によって、チタンの腐食が起こることが予測される。

また、高濃度かつ低 pH のフッ化物溶液への浸漬によってチタンの腐食・変色が生じるとの報告があることから、効果的な腐食予防剤として使用されるフッ化物によってチタン腐食することが予測され、チタン製インプラントや義歯装着患者におけるフッ化物配合歯磨剤の使用を避けるべきと推奨されている。

しかし、これまでのチタンの腐食研究では細菌非存在下における浸漬実験が主であり、チタン表面に形成されるバイオフィームによるチタンへの影響は不明である。さらに、フッ化物存在下ではフッ化物によるバイオフィーム構成細菌の代謝活性抑制作用により、pH 低下が抑制されると予測されることから、実際の口腔内を想定した科学的根拠が求められる。

2. 研究の目的

(1) バイオフィーム - チタンモデルの構築

チタン表面に代表的な口腔細菌である *Streptococcus mutans* の人工バイオフィームを形成し、バイオフィーム - チタン腐食モデルを構築する。

(2) バイオフィーム代謝活性評価

フッ化物存在下におけるバイオフィーム直下の pH 変化をモニターし、バイオフィームの代謝活性を評価するとともに、フッ化物による酸産生抑制作用への影響を評価する。

(3) バイオフィーム存在下におけるチタン表面腐食性評価

バイオフィーム代謝前後におけるポテンシオスタットによるチタン表面の電気化学的変化測定、分光測色計によるチタン表面の変色・光沢度変化測定、高周波誘導結合プラズマ分析装置によるバイオフィームへのチタン溶出量測定を行い、バイオフィームによるチタンの腐食評価およびフッ化物のチタン腐食への影響を検討する。

(4) 細菌非存在下におけるフッ化物溶液への浸漬実験

チタンサンプルをフッ化物溶液へ浸漬し、浸漬前後におけるチタン表面の電気化学的変化、変色・光沢度変化、浸漬液へのチタン溶出量測定を行う。

さらに、バイオフィーム存在下における結果と比較検討することで、バイオフィーム性腐食のメカニズムの解明およびフッ化物のチタン腐食への影響を明らかにする。

(5) フッ化物の臨床指針の提言

口腔内におけるフッ化物のチタン腐食への影響を明らかにし、腐食の臨床指標確立およびチタン製歯科材料使用患者におけるフッ化物使用の臨床指針の提言を目指す。

3. 研究の方法

(1) バイオフィーム - チタンモデルの構築

チタン表面に代表的な口腔細菌である *Streptococcus mutans* によるバイオフィームを形成し、バイオフィーム - チタン腐食モデルを構築する。

(2) フッ化物存在下におけるバイオフィーム代謝活性評価

フッ化ナトリウム (0,225,900ppm F) と代謝基質であるグルコースを加えて ISFET 微小 pH 電極を用いてバイオフィーム直下の pH 変化を 90 分間モニタリングする。

(3) バイオフィーム存在下におけるチタン表面腐食性評価

バイオフィーム形成前後におけるチタン表面変化を ~ により評価する。

ポテンシオスタットによる電気化学的測定

チタン上にアクリル製の 3 電極式電気化学セルを作製し、腐食性の評価として、開回路電位、腐食電流値、不動態保持電流値、および分極抵抗値を算出する。

バイオフィームへの溶出チタン量測定

チタン上から回収した菌懸濁液中のチタン量を高周波誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) を用いて検出し、バイオフィーム中へ溶出したチタン量を測定する。

分光測色計によるチタン表面の色差・光沢度変化測定

(4) 細菌非存在下におけるフッ化物溶液への浸漬実験

フッ化物溶液 (0, 225, 900ppm F, pH 4.2, 6.5) へチタンサンプルを 37、30・90 分間浸漬し、浸漬前後におけるチタン表面変化を ~ により評価する。

ポテンシオスタットによる電気化学的測定

浸漬液中への溶出チタン量測定

分光測色計によるチタン表面の変色・光沢度変化測定

4. 研究成果

(1) フッ化物存在下におけるバイオフィーム直下の pH 変化

フッ化物の作用によりバイオフィーム直下の pH 低下抑制効果が認められた(図1)。

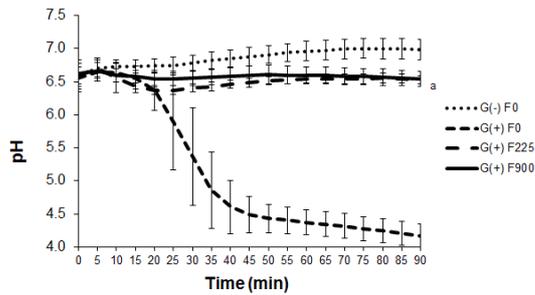


図1 バイオフィーム直下 pH

(2) バイオフィーム存在下におけるチタン表面電気化学的变化

バイオフィーム存在下では、腐食電流値(A)、不導態保持電流値(B)が増加するとともに、分極抵抗値(C)が低下したことから、腐食傾向の増加が認められたが、フッ化物の有無による変化は認められなかった(図2)。

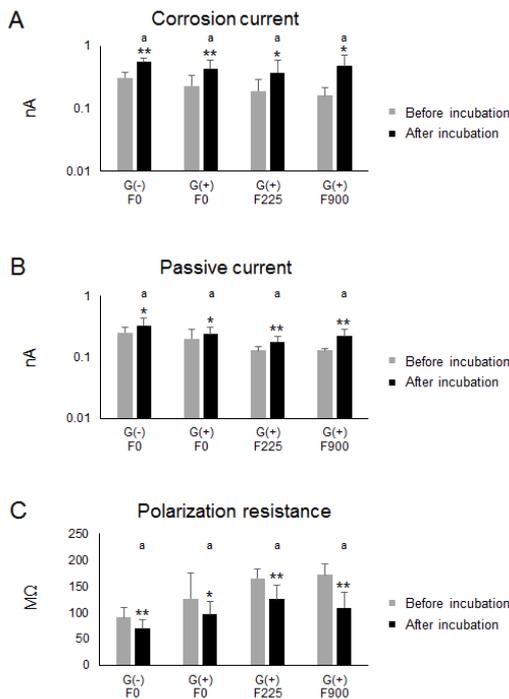


図2 バイオフィーム代謝前後におけるチタン表面の電気化学的变化

(3) 細菌非存在下におけるフッ化物溶液への浸漬時のチタン表面電気化学的变化

低 pH のフッ化物溶液への浸漬によって、腐食電流値(A)、不導態保持電流値(B)が大きく増加するとともに、分極抵抗値(C)が大きく低下したことから明らかな腐食傾向の増加が認められたが、中性環境下ではフッ化物による変化は認められなかった(図3)。

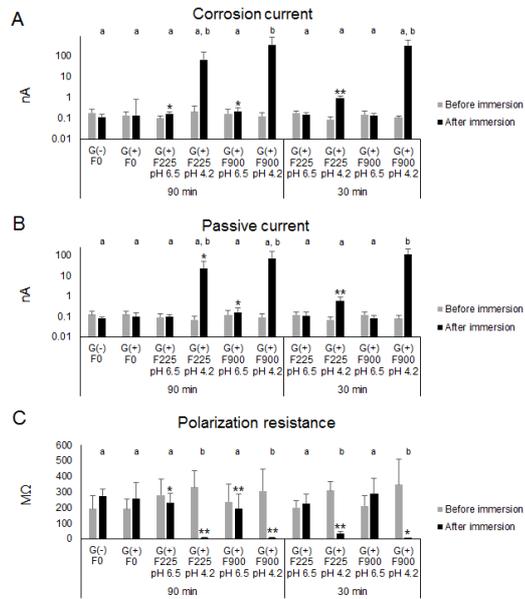


図3 フッ化物溶液への浸漬前後におけるチタン表面の電気化学的变化

(4) バイオフィーム存在下およびフッ化物溶液への浸漬前後におけるチタン溶出量およびチタン表面変色・光沢度変化

低 pH のフッ化物溶液への浸漬によって、チタン溶出、色調変化、光沢度低下が認められたが、バイオフィーム存在下および、中性環境下ではフッ化物による変化は認められなかった(表1、2)。

表1 バイオフィームおよび浸漬液への溶出チタン量

	Amount of eluted titanium	
	ppb (µg/L)	
After incubation	G(-) F0	39.2 ± 5.7 *
	G(+) F0	33.2 ± 9.6 *
	G(+) F225	25.0 ± 4.0 *
	G(+) F900	37.6 ± 4.5 *
After immersion	G(-) F0 pH 6.5 90 min	33.3 ± 3.5 *
	G(-) F0 pH 4.2 90 min	55.9 ± 3.9 *
	G(+) F0 pH 6.5 90 min	31.5 ± 3.2 *
	G(+) F0 pH 4.2 90 min	32.6 ± 3.3 *
	G(+) F225 pH 6.5 90 min	49.5 ± 6.7 *
	G(+) F225 pH 4.2 90 min	834.6 ± 199.9 *
	G(+) F900 pH 6.5 90 min	116.9 ± 16.9 *
	G(+) F900 pH 4.2 90 min	125628.2 ± 113590.3 *
	G(+) F225 pH 6.5 30 min	45.8 ± 4.4 *
	G(+) F225 pH 4.2 30 min	398.5 ± 15.7 *
	G(+) F900 pH 6.5 30 min	85.7 ± 8.8 *
	G(+) F900 pH 4.2 30 min	90265.3 ± 3532.1 *

G(-) F0, deionized water without NaF; G(+) F0, 1% glucose without NaF; G(+) F225, 1% glucose with 225 ppm F (NaF); G(+) F900, 1% glucose with 900 ppm F (NaF).

The data are the means of three independent experiments ± standard deviations.

The same small letters indicate a non-significant difference according to ANOVA and Tukey's multiple comparison.

表2 分光測色計によるチタン表面の色差・光沢度変化

		ΔE^*ab (D65)	8° gloss
After incubation	G(-) F0	0.7 ± 0.2 ^a	1105.5 ± 3.6 ^a
	G(+) F0	0.8 ± 0.2 ^a	1097.3 ± 5.0 ^a
	G(+) F225	0.7 ± 0.3 ^a	1098.3 ± 11.0 ^a
	G(+) F900	0.7 ± 0.0 ^a	1104.0 ± 2.6 ^a
After immersion	G(-) F0 pH 6.5 90 min	0.3 ± 0.1 ^a	1112.3 ± 1.7 ^a
	G(-) F0 pH 4.2 90 min	0.3 ± 0.1 ^a	1119.0 ± 5.3 ^a
	G(+) F0 pH 6.5 90 min	0.3 ± 0.1 ^a	1123.0 ± 6.9 ^a
	G(+) F0 pH 4.2 90 min	0.2 ± 0.1 ^a	1118.3 ± 2.1 ^a
	G(+) F225 pH 6.5 90 min	0.3 ± 0.1 ^a	1115.0 ± 1.4 ^a
	G(+) F225 pH 4.2 90 min	0.3 ± 0.1 ^a	1120.7 ± 5.2 ^a
	G(+) F900 pH 6.5 90 min	0.3 ± 0.2 ^a	1114.7 ± 7.9 ^a
	G(+) F900 pH 4.2 90 min	15.1 ± 5.4 ^b	216.7 ± 268.5 ^b
	G(+) F225 pH 6.5 30 min	0.1 ± 0.1 ^a	1112.3 ± 3.1 ^a
	G(+) F225 pH 4.2 30 min	1.0 ± 0.1 ^a	1131.7 ± 2.1 ^a
	G(+) F900 pH 6.5 30 min	0.3 ± 0.0 ^a	1117.7 ± 1.7 ^a
	G(+) F900 pH 4.2 30 min	33.7 ± 0.6 ^b	17.7 ± 2.1 ^b

G(-) F0, deionized water without NaF; G(+) F0, 1% glucose without NaF; G(+) F225, 1% glucose with 225 ppm F (NaF); G(+) F900, 1% glucose with 900 ppm F (NaF).
The data are the means of three independent experiments ± standard deviations.
The same small letters indicate a non-significant difference; different letters indicate significant differences among groups ($p < 0.05$) according to ANOVA and Tukey's multiple comparison.

(5) 本研究成果より、中性 900ppm F 以下のフッ化物配合歯磨剤の使用はチタン腐食への影響を与えないと考えられる。これにより、チタン製歯科材料使用患者においても、残存歯う蝕予防のためフッ化物使用を推奨する根拠となるといえる。

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1件)

Fukushima A, Mayanagi G, Sasaki K, Takahashi N: Corrosive Effects of Fluoride on Titanium under Artificial Biofilm. Journal of Prosthodontic Research. 62:104-109. 査読有
doi: 10.1016/j.jpor.2017.08.004.201

[学会発表](計3件)

1. Fukushima A, Mayanagi G, Sasaki K, Takahashi N: Corrosive Effects of Fluoride on Titanium under Artificial Biofilm of Streptococcus mutans. The 11th International Workshop on Biomaterials in Interface Science. 2016/8/30-31, Tohoku University Graduate School of Dentistry, Sendai, Japan
2. Fukushima A, Mayanagi G, Sasaki K, Takahashi N: Effect of Fluoride on Titanium Discoloration and Elution under Biofilm. The 45th Annual Meeting of the American Association for Dental Research (AADR). 2016/3/16-19, Los Angeles Convention Center, Los Angeles, Calif., USA

3. Fukushima A, Mayanagi G, Sasaki K, Takahashi N: Effect of Fluoride on Titanium Corrosion under *Streptococcus mutans* Biofilm. 63rd Annual Meeting of the Japanese Association for Dental Research (JADR), 2015/10/30-31, Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan

[図書](計1件)

福島 梓、埴総司、柴本彩、佐々木啓一. 第3部メンテナンス編 Maintenance Edition 8 診療室でラインが対応できる症例とは～ラインの適応症、禁忌と直接法～. 山下秀一郎、佐々木啓一、鱒見進一、谷田部優、馬場一美、服部佳功 編著、パーシャルデンチャー治療 失敗回避のためのポイント 47 - 診断・前処置・印象・設計・応急処置と術後管理の問題解決法 -、第1版、クインテッセンス出版株式会社、2017: 220 - 223.
(ISBNコード: 978-4-7812-0585-4)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福島 梓 (FUKUSHIMA, Azusa)
東北大学・大学病院・助教
研究者番号: 50733565

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし

(4) 研究協力者

該当なし