

令和元年6月19日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11594

研究課題名(和文) 連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンを用いる新規バイオマテリアルの創製

研究課題名(英文) Fabrication of porous titanium with honeycomb structure

研究代表者

森田 晃司 (Morita, Koji)

広島大学・病院(歯)・助教

研究者番号：30555149

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：3種類のポーラスチタンとポーラスアパタイトを使用し作製した材料の圧縮試験を行い、ポーラスチタンはポーラスアパタイトと比較して高い強度を示した。細胞実験では細胞増殖数、mRNAおよび石灰化の測定を定量し、十分な骨再生能をもっていることを示した。動物実験では3種類のポーラスチタンやポーラスアパタイトを埋入し、80%のポーラスチタン群が75%のポーラスアパタイト群と比較して再生骨の面積率と骨接触率において有意に大きかった。一方、圧縮試験においては75%のポーラスアパタイト群は他の群と比較して有意に小さかった。本結果から十分な骨結合と優れた機械的強度をもった連通ハニカム構造の新規骨補填材料が開発された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

連通多孔性アパタイトは強度が弱いことが欠点であり、力学的負担の大きな広範囲骨欠損の環境下ではアパタイト自体が破壊されることがあり臨床応用する上で問題があった。本研究で作製されたポーラスチタンは臨床応用可能な力学的強度をもつこと、チタン内部まで血液や細胞が導入され骨伝導をもつこと、ならびに十分な骨再生を達成することが示された。以上の結果から、本材料は臨床応用が可能であることが示された。

研究成果の概要(英文)：Three kinds of porous titanium and porous apatite were used. Mechanical strength was evaluated from the competition test. This results showed that porous titanium showed higher strength than porous apatite. From the results of MC3T3-E cell experiments, the bone regeneration ability of porous apatite is likely to be sufficient to realize clinical application. In animal experiments, three types of porous titanium or porous apatite were embedded, and 80% of porous titanium group was significantly larger in bone area ratio and bone contact ratio of regenerated bone as compared with 75% of porous apatite group. On the other hand, in the compression test, the 75% porous apatite group was significantly smaller than the other groups. From the above results, a novel bone replacement material of porous titanium had sufficient bone bonding and excellent mechanical strength.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：ポーラスチタン インプラント 骨再生

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究では、連通多孔性アパタイト中にあらかじめチタンを埋入し一体化させたアパタイト・チタン複合体の開発し、ラビット大腿骨に埋入し、骨再生量、ISQ 値および引き抜き値を測定した。アパタイト・チタン複合体は骨形成を促進させる作用があり強固な骨結合が得られたことが明らかとなった。しかしながら、本実験で用いた連通多孔性アパタイトは強度が弱いことが欠点であり、力学的負担の大きな広範囲骨欠損の環境下ではアパタイト自体が破壊されることがあり臨床応用する上で問題があった。そこで、チタン内部まで血液や細胞が導入され骨伝導をもつ連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンを創製しこれを臨床応用することを着想した。

2. 研究の目的

骨形成に最適な多孔率をもった連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンを開発し臨床応用の基盤とすることにある。

3. 研究の方法

【平成28年度】

平成28年度の研究目的は連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンの試作と力学試験の解明とし、材料として担体：ポーラスチタン（大きさ：10×10×2 mm、気孔率：20、40および80%ポーラスアパタイト（大きさ：10×10×2 mm、気孔率：75%）を使用する。方法は以下に記載する。

連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンの試作：3種類の気孔率（20、40および80%）の連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンおよび気孔率75%のポーラスアパタイトを試作する。その後、アセトン中に30分以上浸漬し超音波洗浄、蒸留水で洗浄、乾燥する。このことから、3種類のポーラスチタンを作製する。また、コントロールとしてポーラスアパタイトも同時に用意する。

力学試験の評価：作製したポーラスチタンおよびポーラスアパタイトの圧縮試験を行い、力学的強度の評価を行う。

【平成29年度】

平成29年度の研究目的は連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンのin vitro における骨再生能の解明とし、材料として担体：ポーラスチタン（大きさ：10×10×2 mm、気孔率：20、40および80%）ポーラスアパタイト（大きさ：10×10×2 mm、気孔率：75%）、細胞にはマウス頭蓋骨由来前骨芽細胞（MC3T3-E1）、培地にはDM培地あるいは骨分化誘導培地を使用する。

方法は以下に記載する。

細胞増殖数の計測：3種類のポーラスチタンとポーラスアパタイトにMC3T3-E1を10000/チタン播種し、0、1、3、7、10日後の細胞増殖数を計測する。

mRNAの測定：3種類のポーラスチタンとポーラスアパタイトにMC3T3-E1を10000/チタン播種した後、0、3、6、9および12日後にI型コラーゲン、ALP、OPNおよびOCNのmRNAをqPCR法により定量し、発現したmRNAを測定する。

石灰化の測定：3種類のポーラスチタンとポーラスアパタイトにMC3T3-E1を10000/チタン播種し、12日後にアリザリンレッドS染色を施し、その後界面活性剤にて色素抽出、吸光度測定を用いて石灰化物を定量する。

以上、3種類の気孔率の連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンのin vitro における骨再生能を明らかとする。

【平成30年度】

平成30年度の研究目的は連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンのin vivo における骨再生能、オッセオインテグレーションの獲得および力学試験を行うことである。動物としてニュージーランドホワイトラビットを、担体として大きさが10×10×2mm、気孔率20、40および80%のポーラスチタンおよび10×10×2mm、気孔率が75%のポーラスアパタイトを使用した。

以上、3種類の気孔率の連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンのin vivo における骨再生能を明らかとする。

以上より、平成28、29および30年の研究結果を総括して、鎖長65のポリリン酸がハイドロキシアパタイト上で確実な石灰化を達成できるか否かを明らかにする。

4. 研究成果

【平成28年度】

材料には担体として3種類のポーラスチタン（大きさ：10×10×2 mm、気孔率：20、40および80%）とポーラスアパタイト（大きさ：10×10×2 mm、気孔率：75%）を試作し使用した。試作したポーラスチタンはそれぞれアセトン中に30分以上浸漬し超音波洗浄、蒸留水で洗

浄、乾燥し作製した。またコントロールとしてポーラスアパタイトも同時に用意した。その後作製した材料の圧縮試験から力学的強度を評価した。その結果、ポーラスチタンはポーラスアパタイトと比較して高い強度を示した。以上のことから、インプラントに加わる応力に耐える十分な強度をもち臨床応用する可能性が高いことを明らかにした。

【平成29年度】

細胞はマウス頭蓋骨由来前骨芽細胞、培地はDMあるいは骨分化誘導培地を用い、細胞増殖数、mRNAおよび石灰化の測定を定量した。ポーラスアパタイトの結果において、アパタイト上では細胞増殖は10日まで、I型コラーゲンおよびALPは骨分化初期に、OPNは骨分化中期、OCNは骨分化後期に発現を、さらに成熟した石灰化を十分に確認することができ、異なった気孔率の細胞実験の測定を評価するに十分な骨再生能をもっていることを示した。以上の結果から、ポーラスアパタイトの骨再生能は臨床応用を実現するに足り得る可能性が高いことが明らかとなった。

【平成30年度】

動物の両側大腿骨に円柱状の直径10 mm、長さ2 mmの骨窩をそれぞれ1カ所形成、3種類のポーラスチタンあるいはポーラスアパタイトを埋入した。また、観察期間は8週および12週とした。各期間5個ずつのブロックから非脱灰研磨標本作製、骨再生状態を組織学的に観察し、次いで、再生骨の面積率ならびに骨接触率を測定、組織形態計測学的に検討した。各ブロックから凍結試料を作製、可及的に圧縮試験を測定、力学的に検討し、3種類の気孔率の連通ハニカム構造を付与したポーラスチタンのin vivoにおける骨再生能、オッセオインテグレーションの獲得度および強度を明らかとした。結果は80%のポーラスチタン群が75%のポーラスアパタイト群と比較して再生骨の面積率と骨接触率において有意に大きかった。一方、圧縮試験においては75%のポーラスアパタイト群は他の群と比較して有意に小さかった。以上の結果から、十分な骨結合と優れた機械的強度をもった連通ハニカム構造の新規骨補填材料が開発された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

1. Association between buccal mucosa ridging and oral feature/symptom and its effects on occlusal function among dentate young adults in a cross-sectional study of Japan. Morita K, Tsuka H, Kuremoto KI, Kimura H, Kawano H, Yokoi M, Yasuda K, Yoshida M, Tsuga K. Cranio. 19:1-5, 2019. in press (査読有)
2. Effect of laser groove treatment on shear bond strength of resin-based luting agent to polyetheretherketone (PEEK). Tsuka H, Morita K, Kato K, Kimura H, Abekura H, Hirata I, Kato K, Tsuga K. J Prosthodont Res. 63:52-57, 2019. (査読有)
3. Enhancement of calcification by osteoblasts cultured on hydroxyapatite surfaces with adsorbed inorganic polyphosphate. Kato K, Morita K, Hirata I, Doi K, Kubo T, Kato K, Tsuga K. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 2018. in press (査読有)
4. Factors related to masticatory performance in healthy elderly individuals. Morita K, Tsuka H, Kato K, Mori T, Nishimura R, Yoshida M, Tsuga K. J Prosthodont Res. 62:432-5, 2018. (査読有)
5. Association between buccal mucosa ridging and oral or occlusal status among older people. Morita K, Mori T, Maruyama M, Hiraoka A, Higa C, Kuroki A, Yoshida M, Tsuga K. Oral Dis. 24:778-83, 2018. (査読有)
6. Effect of polymerization temperature on the properties of autopolymerizing resin. Morita K, Tsuka H, Kan K, Tsuga K. J Prosthet Dent. 119:840-4, 2017. (査読有)
7. Evaluation of shear bond strength between PEEK and resin-based luting material. Tsuka H, Morita K, Kato K, Kawano H, Abekura H, Tsuga K. J Oral Biosci. 59:231-6, 2017. (査読有)
8. Tips for Practical Application of Tongue Pressure Test. Morita K, Tsuga K. Annals of Japan Prosthodontic Society. 9:181-5, 2017. (査読有)
9. Prevalence of Torus Mandibularis in Young Healthy Dentate Adults. Morita K, Tsuka H, Shintani T, Yoshida M, Kurihara H, Tsuga K. J Oral Maxillofac Surg. 75:2593-8, 2017. (査読有)
10. Osseointegration aspects of placed implant in bone reconstruction with newly developed block-type interconnected porous calcium hydroxyapatite. Doi K, Kubo T, Makihara Y, Oue H, Morita K, Oki Y, Kajihara S, Tsuga K. J Appl Oral Sci. 24:325-31, 2016. (査読有)

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 表面改質がチタン薄膜の構造に及ぼす影響. 小畠玲子、土井一矢、森田晃司、柄博紀、

- 久保隆靖、津賀一弘. 第 70 回日本歯科理工学会学術講演会. 20171014.
- 新規生体活性型多孔性ハイドロキシアパタイトの開発. 土井一矢、阿部泰彦、岡崎洋平、小畠玲子、森田晃司、柄 博紀、津賀一弘. 第 70 回日本歯科理工学会学術大会. 20171014.
 - 多孔性チタン/インプラント新規複合材料の開発. 小畠玲子、土井一矢、森田晃司、柄博紀、久保隆靖、津賀一弘. 第 69 回日本歯科理工学会学術講演会. 20160415.
 - 多孔性構造を有する新規チタン骨再建材料の開発. 小畠玲子、土井一矢、森田晃司、牧原勇介、沖佳史、久保隆靖、津賀一弘. 日本補綴歯科学会平成 28 年度九州支部、中国・四国支部合同学術学会. 20160903.
 - ポリリン酸吸着ハイドロキシアパタイトに対する骨芽細胞応答. 加藤 寛、森田晃司、土井一矢、久保隆靖、阿部泰彦、津賀一弘. 日本補綴歯科学会第 125 回学術大会. 20160708
 - Evaluation of Implant Stability in Implant/Interconnected Porous Hydroxyapatite Complex Under Functional Loading Location. Doi K, Makihara Y, Oue H, Morita K, Kubo T, Tsuga K. The 94th General Session and Exhibition of the International Association for Dental Research. 20160622.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：土井一矢
ローマ字氏名：Kazuya Doi
所属研究機関名：広島大学
部局名：医歯薬保健学研究科(歯)
職名：助教
研究者番号(8桁)：80444686

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。