

令和 元年 6 月 15 日現在

機関番号：32650

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11660

研究課題名(和文)インプラントへの超親水性処理は軟組織接着に寄与できるか？

研究課題名(英文)Does contribute the super hydrophilic treatment to soft tissue adhesion?

研究代表者

吉成 正雄 (Yoshinari, Masao)

東京歯科大学・歯学部・客員教授

研究者番号：10085839

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：インプラント周囲の生物学的封鎖を達成すべく、細胞接着を促進する表面処理法として「超親水性処理法」を採用し、軟組織接着に最も適した処理条件を探索することを目的とした。具体的には、チタンへの超親水性処理が、上皮細胞と接着・移動を促進する細胞接着性タンパク質ラミニン332の吸着特性に及ぼす影響、およびラミニン332の吸着メカニズムを明らかにする研究を行った。その結果、超親水性処理の最適化を図ることにより、インプラント表面への上皮接着能を向上させ、ひいてはインプラント周囲上皮の下方増殖および細菌の侵入を抑制する生物学的閉鎖を達成できる可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔インプラントに対する低温大気圧プラズマ処理は、処理時間が10秒程度と短時間で超親水性を付与することができ、インプラント表面への上皮接着能や上皮結合組織接着能を向上させ、ひいてはインプラント周囲上皮の下方増殖および細菌の侵入を抑制する生物学的閉鎖を達成できる可能性があることが示唆される。

研究成果の概要(英文)：The superhydrophilic surface modification is reported to enhance the adsorption of the proteins to titanium. This study aimed to evaluate the binding behavior of LN332 on the surface-modified Ti with superhydrophilicity. In addition, the mechanism of enhancing adsorption of LN332 is considered by the surface analyses. The atmospheric-pressure plasma treatment (Ti-Plasma) and ultraviolet treatment (Ti-UV) as a superhydrophilic treatment were performed to the titanium sensor that was designed for quartz crystal microbalance (QCM-D) apparatus. Untreated gold (Au-Air) or titanium sensor (Ti-Air) were used as a control. Adsorption properties of LN332 were assessed using a QCM-D method. In addition, surface characteristics with X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and SEM observation are performed using LN332-adsorbed specimens. The results suggested that the superhydrophilic modifications may promote the adhesion of LN332 to titanium.

研究分野：医歯薬学

キーワード：口腔インプラント 生物学的封鎖 超親水性処理 ラミニン332 水晶発振子マイクロバランス(QCM) X線光電子分光分析(XPS)

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

### 1. 研究開始当初の背景

インプラント周囲軟組織は、天然歯と比べ上皮接着能、ターンオーバー、血管の走行、歯肉溝滲出液、コラーゲン線維の走行などに劣り、生物学的封鎖は脆弱である。したがって、インプラント周囲に強固な軟組織接着様式を付与し生物学的封鎖を実現すれば、インプラント周囲上皮の下方増殖および細菌の侵入を抑制し、ひいてはインプラント周囲炎を防止することが期待できる。細胞接着を亢進する表面処理法の一つとして「超親水性処理法」が提案されている。しかし、様々な超親水性処理法があるなか、これらの処理法の共通点・相違点について明らかにされておらず、本処理の有効性に関するコンセンサスが得られていない。ましてや、超親水性処理法がインプラント周囲の「軟組織接着」を促進するのかについては、未だ十分なエビデンスが得られていない。著者らは、超親水性表面は紫外線処理による光活性化(光機能化)だけではなく、プラズマ処理やそれ以外の化学処理によっても得られることを明らかにした。また、超親水性の発現は炭化水素の分解と水酸基の形成によること、また、表面電荷は表面に存在する正負の異なった水酸基の存在量に支配されることを明らかにした。

以上の成果を踏まえ、軟組織接着に超親水性処理のどの表面性状因子(表面エネルギー、表面荷電など)が関与しているかを明らかにすれば、最適な処理法と処理条件を見出すことができ、本処理にエビデンスを与えることができると考えた。

### 2. 研究の目的

インプラント周囲の生物学的封鎖を達成すべく、細胞接着を促進する表面処理法として「超親水性処理法」を採用し、軟組織接着に最も適した処理条件を探索することを目的とした。具体的には、チタンへの超親水性処理が、上皮細胞と接着・移動を促進する細胞接着性タンパク質ラミニン 332 の吸着特性に及ぼす影響、およびラミニン 332 の吸着メカニズムを明らかにする研究を行った。

### 3. 研究の方法

(1) 直径 13mm、厚さ 1mm に切り出したチタン (JIS-2 種) およびジルコニア(Y-TZP)基板に鏡面研磨を施し洗浄後、SEM 観察と表面形状測定機にて粗さの測定値を求めた。

その後、オートクレーブ滅菌を施し、デシケータ内で 1 週間保存し、対照群とした。

#### (2) 超親水性処理

(1)の試料に、超親水性処理を施し実験群とした。紫外線処理: UV オゾンクリーナー(波長 365 nm、254 nm、185 nm)、低温プラズマ処理: 大気圧プラズマ装置(最大出力 150W)、化学処理: 表面形状を変化させない条件を採用した。

各種方法の処理条件は、(3)の表面濡れ性の測定結果を参考にして、超親水性を示す最小の条件を最初に設定し、その後変化させた。

#### (3) 各種超親水性処理表面の性状解析

表面濡れ性、表面エネルギーの測定

純水に対する接触角測定により表面濡れ性を評価する。さらに Owens-Wendt 法により表面エネルギーを測定し、極性因子( $\gamma_p$ )と分散因子( $\gamma_d$ )の関与を明らかにした。

光電子分光(XPS)、フーリエ変換赤外線分光(FT-IR)分析

XPS、FT-IR 分析により、チタン表面の組成分析、結合エネルギー分析を行い、表面に存在する官能基(-CH<sub>3</sub>、-OH、-COOH、-NH<sub>2</sub>、など)の動態を解析する。

(4) 水晶発振子マイクロバランス法用のチタン(Ti)センサー(直径 13mm)に、紫外線処理: UV オゾンクリーナー(Ti-UV)(波長 365 nm、254 nm、185 nm)および低温大気圧プラズマ処理(Ti-Plasma)(最大出力 150W)を施し超親水性処理を行った。コントロールとして処理を施さない金(Au-Air)および Ti センサー(Ti-Air)を用いた。ラミニン 332 の吸着特性は、水晶発振子マイクロバランス装置を使用し、ブロッキング剤を使用しない非特異的吸着と、ブロッキング剤を使用した特異的吸着の測定を行った。さらに、吸着メカニズムを解析するために X 線光電子分光分析によるタンパク質吸着後のセンサーの表面分析を行った。

### 4. 研究成果

(1) 各処理試料に対するラミニン 332 の吸着特性を調査した結果、ラミニン 332 の吸着は Au-Air より Ti-Air 上で増加した。また、全ての超親水性処理群(Ti-Plasma, Ti-UV)は無処理チタン(Ti-Air)よりラミニン 332 の特異的吸着量が増加した。

(2) ラミニン 332 が吸着した表面を分析した結果、ラミニン 332 の吸着量が多かった群(Ti-Plasma, Ti-UV)は炭素(C)および窒素(N)量が増加し、カルボニル基、ペプチド結合に由来する官能基、およびカルボキシ基の増加が認められ、タンパク質の吸着であることが確認された。超親水性処理によりラミニン 332 の特異的吸着にはペプチド結合が関与していることが推察された。

以上の結果より、超親水性処理の最適化を図ることにより、インプラント表面への上皮接着能を向上させ、ひいてはインプラント周囲上皮の下方増殖および細菌の侵入を抑制する生物学的閉鎖を達成できる可能性があることが示唆された。

## 5 . 主な発表論文等

### [雑誌論文](計22件)

Furukawa T, Matsunaga S, Morioka T, Nakano T, Abe S, Yoshinari M, Yajima Y. Study on bone quality in the human mandible-Alignment of biological apatite crystallites. J. Biomed. Mater. Res. Part B. 査読有、107. 2019. 838-846

DOI : 10.1002/jbmb.34180

Harada R, Kokubu E, Kinoshita H, Yoshinari M, Ishihara K, Kawada E, Takemoto S. Corrosion behavior of titanium in response to sulfides produced by Porphyromonas gingivalis. Dent Mater. 査読有、34. 2018. 183-191

DOI:10.1016/j.dental.2017.10.004

Oda Y, Sasaki H, Miura T, Takanashi T, Furuya Y, Yoshinari M, Yajima Y. Bone marrow stromal cells from low-turnover osteoporotic mouse model are less sensitive to the osteogenic effects of fluvastatin. PLOS ONE. 査読有、13. 2018. e0202857

DOI:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202857

柴垣博一, 野本秀材, 野村智義, 老川秀紀, 吉成正雄, チタンの超親水性処理がラミネン 332 の吸着特性に及ぼす影響、日口腔インプラント誌、査読有、31、2018、208-215

DOI: doi.org/10.11237/jsoi.31.208

Tsuyuki Y, Sato T, Nomoto S, Yotsuya M, Koshihara T, Takemoto S, Yoshinari M. Effect of occlusal groove on abutment, crown thickness, and cement-type on fracture load of monolithic zirconia crowns. Dent Mater J. 査読有、37, 2018, 843-850

DOI:https://doi.org/10.4012/dmj.2017-350

Suzuki K, Takano T, Takemoto S, Ueda T, Yoshinari M, Sakurai K. Influence of grade and surface topography of commercially pure titanium on fatigue properties. Dent Mater J. 査読有、36. 2017. 429-437

DOI : 10.4012/dmj.2017-125

### [学会発表](計11件)

吉成正雄、メタルフリー・ジルコニアインプラントの可能性、日本口腔インプラント学会 第38回関東・甲信越支部学術大会、2019

Yoshinari M, Takemoto S, Influence of superhydrophilic treatment to titanium on adsorption of bone-associated cytokine and behavior of osteoblast-like cells. 538th International Conference On Medical, Biological And Pharmaceutical Sciences (ICMBPS). 2019

吉成正雄、インプラント・顎骨埋入材料、日本化学会第98春季「歯学と化学の連携」、2018  
Yoshinari M. Effect of surface treatment on wettability of tetragonal zirconia polycrystals (TZP). 19th World Congress on Materials Science and Engineering. 2018

Yoshinari M. Influence of osteogenic differentiation medium on hMSCs in 3D-culture with radial flow bioreactor. TERMIS (Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society) –EU. 2017

### [図書](計3件)

#### 1 . 著者名

吉成正雄、他、学建書院、新編歯科理工学、2019, 312, ISBN 978-4-7624-3562-1

吉成正雄(単著)、医歯薬出版、インプラント材料 Q&A 臨床の疑問に答える - マテリアル編,2017、144, ISBN 978-4-263-46133-4

吉成正雄(単著)、医歯薬出版、インプラント材料 Q&A 臨床の疑問に答える - クリニカル編,2017、152, ISBN 978-4-263-46134-1

### [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：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (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。