

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11762

研究課題名(和文)光機能化ジルコニアインプラントの応用研究

研究課題名(英文)Applicative study of UV-photofunctionalized zirconia implant

研究代表者

岩佐 文則 (Iwasa, Fuminori)

昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：60297025

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)：本申請研究は老細胞及び老齢動物を用いて光機能化の効果を検証した。老細胞を使用した培養実験では、生後8ヶ月と15ヶ月の骨髄由来骨芽細胞の比較から培養初期の表現系(接着、増殖、石灰化能、形態)においていずれも両者間に有意な差が認められたが、紫外線未照射群の結果と比較して照射群においてのみその表現系のデータが増進されていた。最終年度の主実験はUV照射により新規に表面改質したナノジルコニアに対し、臨床応用へと展開するため *in vitro* の動物実験を行った。現段階でフッ酸処理ナノジルコニアに対し紫外線を照射、未照射のミニインプラントを使用して *push in test* を老齢ラットに施行し実施中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が現在多く取り組んでいる複雑症例、難症例を克服するためには、さらに高い骨結合能を有するインプラントの開発が最重要かつ急務である。紫外線の照射によるインプラント表面の生物学的機能化をはかることによって即時荷重あるいは全身疾患を有する患者や本来骨造成が必要であるような難症例においても高い成功率を上げられるインプラントの開発に向けた研究基盤を確立できると確信している。

研究成果の概要(英文)： This study evaluated the effect of photofunctionalization on osseointegration under the biologically adverse conditions of aging. Osteoblastic cells from young (8 weeks old) and aged (15 months old) rats were biologically characterized. Then, the osteoblasts from aged rats were seeded on nano-zirconia discs with and without photofunctionalization, and assessed for initial cell attachment and osteoblastic functions. Zirconium mini-implants, with and without photofunctionalization, were placed in the femur of aged rats, and the strength of osseointegration was measured.

Cells from the aged rats showed substantially reduced biological capabilities compared with those derived from young rats. The cells from aged rats showed significantly increased cell attachment and the expression of osteoblastic function on photofunctionalized titanium than on untreated titanium. Push in test for the strength of osseointegration is currently running in aged rats .

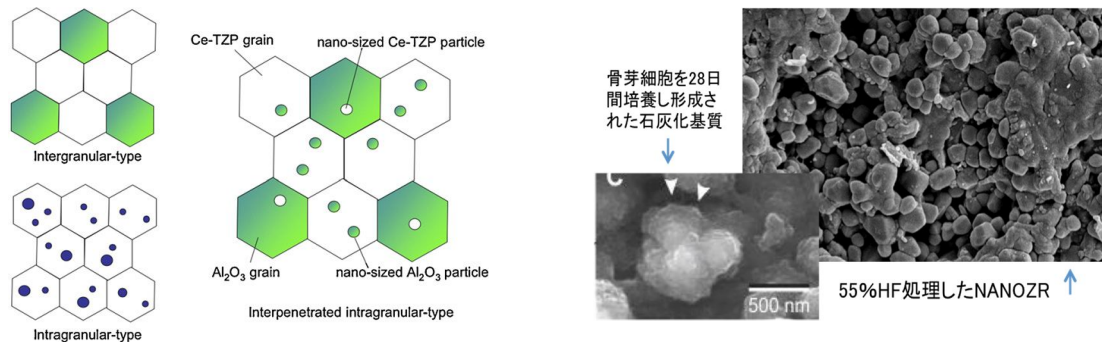
研究分野：歯科補綴

キーワード：ジルコニア インプラント 紫外線

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、セリア系ジルコニア粒子とアルミナ粒子のナノ複合化セラミックス(製品名「NANOZR」)(右図)に高濃度フッ化水素による酸処理を加え、その表面にナノ構造体を形成させることに成功した。特にそのトポグラフィ(表面形状)は下写真に示すように生体模倣的な形態を示すことを見つけ出し、骨芽細胞の生物学的応答が酸処理したチタン上よりも活性化されることを報告した。一方、酸化チタンの紫外線による光触媒効果は1997年に発見され、表面の有機物の分解および超親水性化が特徴である。申請者は紫外線処理された酸化チタン上における骨芽細胞の初期接着の亢進について詳細な研究を行い、そのメカニズムを報告した(Iwasa et al. Biomaterials 2009)。同様に我々は、同じ第4族の酸化ジルコニウム(イットリア系)に対しても紫外線を照射することによって骨芽細胞の生物学的な活性を促進させることも報告している(Wael et al. Biomaterials 2009)。

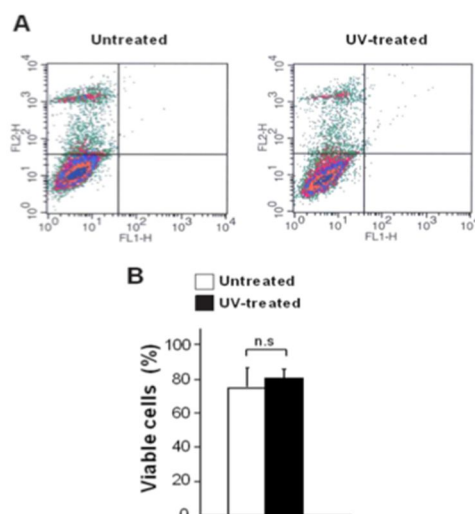


2. 研究の目的

本研究計画では、NANOZRのナノ構造を有する表面形態により骨インプラント結合力だけでなく、紫外線の照射によるインプラント表面の生物学的機能化をはかることによって即時荷重あるいは全身疾患を有する患者や本来骨造成が必要であるような難症例においても高い成功率を上げられるインプラントの開発を目的とし、超高齢社会を睨んだ高齢者に対するインプラント適応の拡大とさらに紫外線照射による抗酸化作用を確認し、新たな有効性と臨床応用への展開に関する基盤研究を行う。

3. 研究の方法

計画している具体的な研究項目は、1. UV照射による酸化ストレスの除去 2. 老骨形成細胞による培養実験 細胞接着試験 細胞増殖試験 細胞形態観察 骨基質形成能試験 3. 老齢ラットを用いた動物実験 骨-インプラント結合能解析 骨接触率並びに骨形成量の算出ラットモデルによるオッセオインテグレーション(骨結合能)の評価、の3つである。



による培養実験 細胞接着試験 細胞増殖試験 細胞形態観察 骨基質形成能試験 3. 老齢ラットを用いた動物実験 骨-インプラント結合能解析 骨接触率並びに骨形成量の算出ラットモデルによるオッセオインテグレーション(骨結合能)の評価、の3つである。

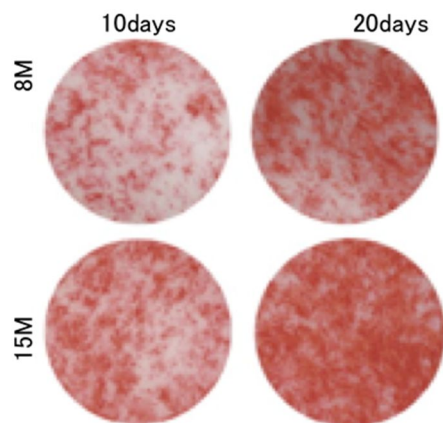
4. 研究成果

紫外線照射による抗酸化能の検証

一般に紫外線の人体への影響については周知されているがジルコニアへの照射に関連した生物学的

な影響は細胞レベルでの検証が必要である。環境ストレス応答としての細胞内活性酸素種の量を測定し、細胞内炎症性サイトカインの検出、DNA 損傷レベル、細胞内グルタチオンの検出、さらに活性酸素種の発生に伴う細胞のアポトーシス誘導能 (A) を調べ UV 照射によって発生する活性酸素種と細胞死との関連を調べながら光機能化ナノジルコニアの抗酸化能を検証した結果、紫外線照射から発生する物理的な表面改質によりナノジルコニアの抗酸化能を細胞レベルで確認した。

骨形成老細胞による培養実験

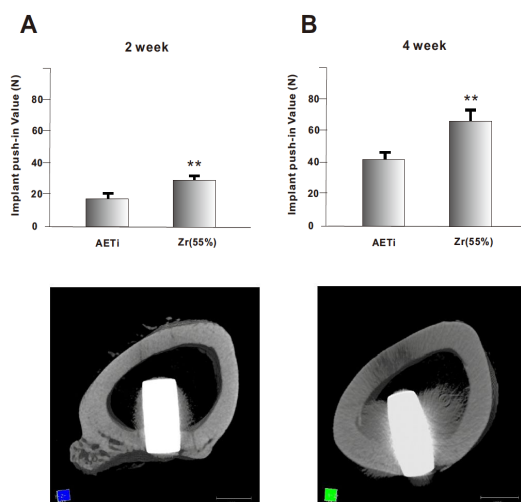


老細胞を使用した培養実験を行った。生後 8 ヶ月と 15 ヶ月の骨髄由来骨芽細胞の比較から培養初期の表現系 (接着、増殖、石灰化能、形態) においていずれも両者間に有意な差が認められた。しかし、紫外線未照射群の結果と比較すると照射群においてのみその表現系のデータが増進されていた。骨基質の合成能についても Ca deposition を指標に検索した。結果は上図に示すようにフッ酸処理サーフェ

イス上で紫外線処理の影響は老細胞上でも 8 週齢ラットと同様の効果を発揮した。これらの結果は一連の骨芽細胞の初期応答に一貫していた。また、本研究でテストされたフッ酸濃度の中ではやはり最も高いカルシウム産生を促したのは 5.5% の濃度で処理をしたサーフェイス上であり、上記の結果同様、優れた形態的環境を与えていることも確認した。

ラットモデルによるオッセオインテグレーション(骨結合能)の評価

フッ酸処理により新規に創生したナノ構造体を持つナノジルコニア表面に対し、紫外線照射の効果を検討するための基礎研究とさらに臨床応用へと展開するため in vivo の動物実験を行った。まず、紫外線照射試験の確認のための前実験を再度行った。チタンの酸処理表面を対照群として 5.5% フッ酸処理をしたナノジルコニアのミニインプラントをラットの大腿骨へ埋入



し、その骨結合能を力学的、組織学的に検索した。(push in test) その結果埋入 2 週間後、4 週間後の埋入初期の骨結合能はともに酸処理チタンに対し 2 倍の値を示し有意に上回った。またマイクロ CT 画像による組織学的な観察ではミニインプラント周囲の新生骨は明らかにナノジルコニア周囲でその形成量が多く確認された。これらの結果はこれまで常用化されているチタンインプラントの表面処理を生物学的に上回ることを動物モデルで示したものであり、我々の

先行研究ともデータ内容が一致することからチタンを凌ぐジルコニアインプラントのオッセオインテグレーション獲得を示唆する重要なエビデンスとして周知したい。これらの結果を踏まえ老齢ラット(15週齢)を用いた生物学的悪条件のもとで紫外線照射の効果の検討を開始した。現段階で塩酸処理チタン、フッ酸処理ナノジルコニア双方に対し紫外線を照射したミニインプラントを老齢ラットに埋入して push in test を施行し実施中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Oshima Y, Iwasa F, Tachi K, Baba K.	4. 巻 32(1)
2. 論文標題 Nanofeatured topography on ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite enhanced osteogenesis and osseointegration.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 journal of oral & maxillofacial implants	6. 最初と最後の頁 81-91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Iwasa F et al.
2. 発表標題 proliferation, morphology and gene expression of gingival fibroblasts on ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite.
3. 学会等名 AFM（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akiyama Y, Oshima Y, Matsumoto T, Iwasa F, Takami M, Baba K
2. 発表標題 Effects of surface roughness of Ce-TZP/Al2O3 on th morphology and function of human gingival fobroblasts.
3. 学会等名 EAO（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秋山友里, 岩佐文則, 大澤昂史, 松本貴志, 浦野絵里, 大嶋瑤子, 小溪 徹彦, 鈴木満, 馬場一美
2. 発表標題 セリア安定化ジルコニアアルミナナノ複合体（Ce-TZP/Al2O3）の表面粗さがヒト歯肉繊維芽細胞（HGF-1）に与える影響.
3. 学会等名 日本補綴歯科学会 第23回東京支部総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 インプラント周囲粘膜に親和性を示すセリア安定化ジルコニアナノ複合体の表面粗さ	発明者 岩佐文則 馬場一美	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-215305	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----