

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11809

研究課題名(和文)母床骨の改善を目指したスタチン徐放型インプラントの創製

研究課題名(英文)Development of statin-released implant due to improvement of bone quality

研究代表者

武本 真治 (Takemoto, Shinji)

岩手医科大学・歯学部・教授

研究者番号：70366178

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)：チタンに骨形成を促すスタチン系薬剤を固定し、その徐放性および生体親和性について検討を行った。その結果、チタンにアルカリ処理することで水酸基を増加させ、さらにドパミンを介してゼラチンと結合したフルバスタチンを固定することができた。コラーゲン分解酵素溶液中でフルバスタチンは徐放することが明らかになった。ラットの背部皮下組織に表面処理したチタンを埋入したところ、埋入1週ではリンパ球の浸潤が認められたが、重度の炎症は確認されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科用インプラントを埋入する際、母床骨が不足していると咬合力に耐えることができない。本研究では、母床骨の改善をインプラント材からアプローチするための画期的な方法であると言える。一方で、固定化したフルバスタチンの徐放を制御することを試み、生理食塩水中では徐放がみられなかったため、インプラント周囲炎のような炎症が生じ、上皮組織が侵入してくる際にスタチンを徐放し、骨形成を促す可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Titanium specimens were immobilized to statin drug to promote bone formation, and its sustained release and biocompatibility were examined. As a result, the number of hydroxyl groups on titanium specimens could be increased by NaOH treatment, and fluvastatin bound to gelatin via dopamine could be immobilized. Fluvastatin was found to be released in the collagen degrading enzyme solution during 24 hs. When gelatin/fluvastatin complex immobilized titanium disc was implanted into the subcutaneous tissue of the back of the rat, lymphocyte infiltration was observed 1 week after the implantation but no severe inflammation was confirmed.

研究分野：歯科生体材料

キーワード：インプラント スタチン固定 薬剤徐放 表面分析 皮下組織反応

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯科用インプラントが口腔咬合機能の回復に有用な方法であることは広く周知されつつある。一方で、老齢・骨粗鬆症患者に歯科用インプラントを適用するためには、多くの場合インプラント植立前に顎骨(母床骨)の改善が必要となる。母床骨の改善にはリン酸カルシウム系材料や骨成長因子を用いた骨造形成が盛んに検討されている。申請者らのグループでは、比較的安価であるスタチン系薬剤の局所投与システムについて検討をおこなった。

スタチン系薬剤は骨芽細胞の分化決定シグナルである BMP-2 の生合成を促進するとともに血管内皮増殖因子(VEGF)の遺伝子発現を顕著に促進させることが報告されている。フルバスタチン-ゼラチンハイドロゲルは、線維芽細胞が放出するコラーゲン分解酵素の存在下で分解することから、インプラント表面に固定することができれば、上皮組織からの酵素供給によりフルバスタチンを徐放し、インプラント周囲にのみ局所的な骨形成が期待できる。

一方で、インプラント表面へのスタチン系薬剤を固定化させ、その後徐放させることに関する知見は少なく、詳細な検討が必要である。申請者らはフルバスタチン-ゼラチンハイドロゲルをチタン表面に固定化する方法について、チタン表面の水酸基やゼラチンと結合するドパミンに着目し、*in vitro* 試験でチタン表面に化学結合を誘引する手法をオランダ・ラドバウド大学ナイメーヘンの Jansen 教授と共同で行ってきた。本研究では、チタン表面にドパミンを用いて固定したフルバスタチン-ゼラチンハイドロゲル均一な固定方法の検討および生体内でインプラント周囲にフルバスタチンの至適濃度、すなわち固定したフルバスタチンの徐放量、徐放期間などの徐放挙動を明らかにし、母床骨を改善するインプラントとして提案する。

2. 研究の目的

チタン表面に骨形成を促進するスタチン系薬剤を均一に固定し、線維芽細胞から放出されるコラーゲン分解酵素によってフルバスタチンを徐放するシステムの構築を試みる。そのために、下記の項目について検討し、明らかにする。

- 1) 化学処理および電気化学処理によるチタン表面へのフルバスタチン-ゼラチンハイドロゲル(複合体)の固定とその表面分析
- 2) チタン表面に固定したフルバスタチン-ゼラチンハイドロゲルからのフルバスタチンの徐放挙動の解明
- 3) フルバスタチン-ゼラチン複合体を固定したチタンの組織反応の解明

3. 研究の方法

1) 純チタン板(Grade 2)を切断し、600番の耐水研磨紙で研磨した。試料はアルミナブラストし、60°Cに保持した5M NaOH水溶液に24時間浸漬し、アルカリ処理した。次に薬剤固定の前処理として、ポリドパミン溶液に一晩浸漬した。蒸留水で軽く洗浄後、3%塩基性ゼラチン/0.1mMフルバスタチン水溶液に浸漬し、1.5Hzで振盪した(FG複合体)。24時間経過後、試料を取り出し-30°Cの冷凍庫に6時間静置した後、凍結乾燥した。それぞれの過程での試料を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察し、X線光電子分光分析(XPS)で表面分析を行った。

2) 前述の1)と同様にチタン試料に種々の表面処理を行い、チタン表面にFG複合体を固定した。フルバスタチン徐放特性はコラーゲン分解酵素を含むリン酸緩衝液に試料を浸漬し、60rpmで振盪した。30分~168時間までの種々の期間で新しい溶液に交換し、溶液に含まれるフルバスタチンの濃度を蛍光分析装置(FP-8500、JASCO)で計測した。

3) 1)および2)の研究結果より、アルミナブラストしたチタン板、アルミナブラスト後、アルカリ処理したチタン板、アルミナブラスト後、アルカリ処理し、FG複合体を固定したチタン板をラットの皮下に埋入した。4週齢の雄ラット(体重70g)に吸入麻酔した後、背部皮膚を切開し、皮膚を挙上し、筋層間の結合織部分から剥離し、この部分にチタン板を埋入した。埋入方向は表面処理した部分が表皮方向となるようにした。埋入後1、4、8週または12週経過した後、ラットを麻酔屠殺し、埋入部の皮膚組織を切除した。切除した皮膚組織を4%パラホルムリン酸緩衝液にて浸漬し、固定した。固定期間は1~2日間とし、通法に従ってパラフィン包埋

し、切片を作成、HE染色して光学顕微鏡下で観察した。観察部位は、対照は筋層間の結合織付近で、チタン板を挿入したものでは表面処理した面との境界部とした。

4. 研究成果

1) 種々の表面処理したチタン板のSEM像を示す(図1)。研磨したチタン板では研磨痕が認められるが、アルカリ処理により微小な網目状構造が形成している様子が観察された。同様にアルミナブラストにより表面が粗糙になるとともに、その後のアルカリ処理でブラストによる粗糙な構造よりも微小な網目状構造が形成していた。表面にFG複合体を固定のための表面処理を行うと、一部で凝集体が確認された。

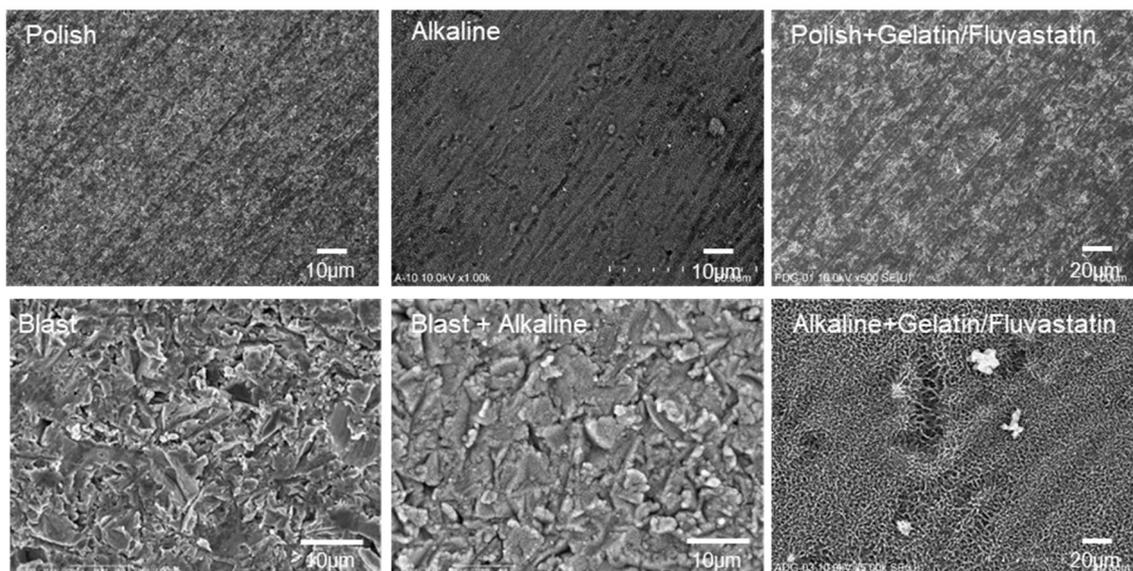


図1 各種表面処理したチタン板のSEM像

(一部は Key Engineering Materials doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.782.233 に掲載)

C1s XPS分析の結果(図2)、研磨したチタン板表面のC-HやC-C結合に由来するピークが主であったが、ドパミン処理したチタン板およびゼラチンのみをコーティングしたチタン板のC1sスペクトルではC-O、C-OH、C=Oのピーク割合が増加していた。また、表面処理した後に、ドパミン処理し、ゼラチン複合体を固定したチタン板では、ゼラチンまたはドパミンで処理したピークと同様のスペクトルが認められたことから、ドパミンを介してFG複合体が結合していることが明らかになった。

O1s XPSスペクトルでも同様に、ドパミン処理したチタン板では幅広ブロードなスペクトルが認められたが、ゼラチン複合体をコーティングしたチタン板ではC1s XPSスペクトルと同様にドパミンとゼラチン複合体の固定できている様子が確認できた。

研磨したチタン板のO1s XPSスペクトルは酸化物および水酸化物に由来するピークのみであった。アルミナブラストおよびアルカリ処理したチタン板では、アルミナ由来のピークが検出された。一方で、ドパミンおよびゼラ

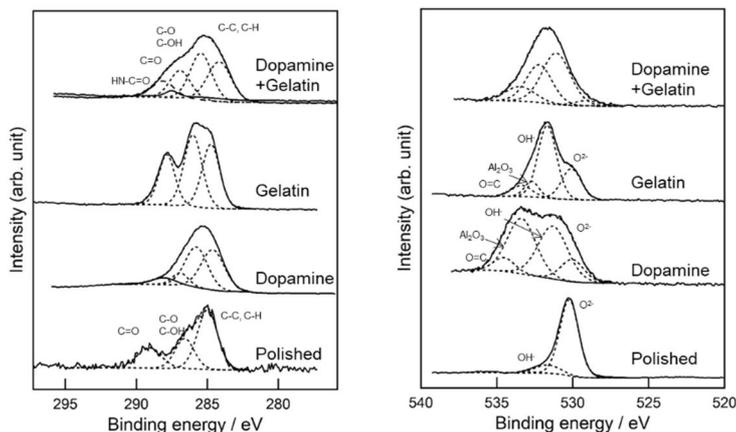


図2 研磨したチタン板およびアルミナブラスト、アルカリ処理したチタン板にドパミン処理、ゼラチンコーティング、およびドパミンおよびゼラチンコーティングしたチタン板のC1sおよびO1s XPSスペクトル

(Key Eng Mater doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.782.233 に掲載)

チンのみを固定したチタン板では、ドパミンやゼラチン由来の水酸基やカルボニル基に由来するピークが検出されることが明らかになった。このことから、ドパミンを介してチタン表面にFG複合体を固定することができることが明らかになった。

2) 各種表面処理したチタン板表面に固定したフルバスタチン量を調べたところ、ドパミンを介してFG複合体で固定したチタン板ではフルバスタチンが多く検出された。

各種表面処理したチタン板をコラゲナーゼ溶液中に浸漬し、フルバスタチンの徐放量を蛍光分析で調べたところ(図3)、ゼラチンとフルバスタチン複合体(FG複合体)で固定した試料(Polish+Geratin/FluvastatinおよびAlkali+Geratin/Fluvastatin)の徐放量は、ゼラチンを介さずにフルバスタチンのみを固定した試料(Alkali+FluvastatinとPolish+fluvastatin)よりも多く徐放していた。しかし、いずれの場合にも3時間までに急激なフルバスタチンの徐放が生じていた。FG複合体を固定した場合の徐放は、24時間まで持続していた。

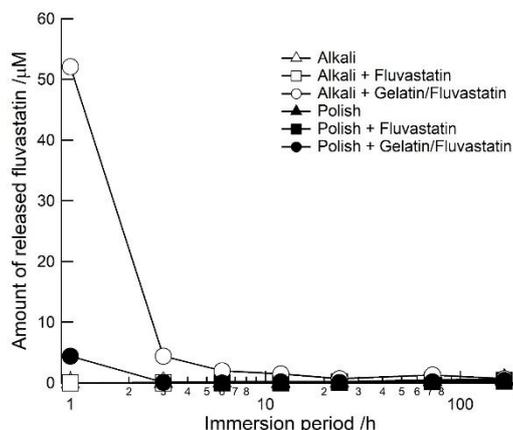


図3 各種表面処理したチタン板からコラゲナーゼ溶液中に徐放したフルバスタチン量

3) ラットの背部の筋層間結合織内に埋入し、表面処理が周囲組織に及ぼす影響を観察した。埋入1週で観察したところ、アルミナブラストしたチタン板およびアルミナブラスト後アルカリ処理したチタン板と比較して、FG複合体を固定したチタン板では組織と接触している面の近傍にリンパ球の浸潤と一部にはやや多めの線維芽細胞が認められた。しかし、埋入4週では図4に示すように、いずれの試料でもリンパ球の浸潤は見られず、線維被膜に覆われていた。

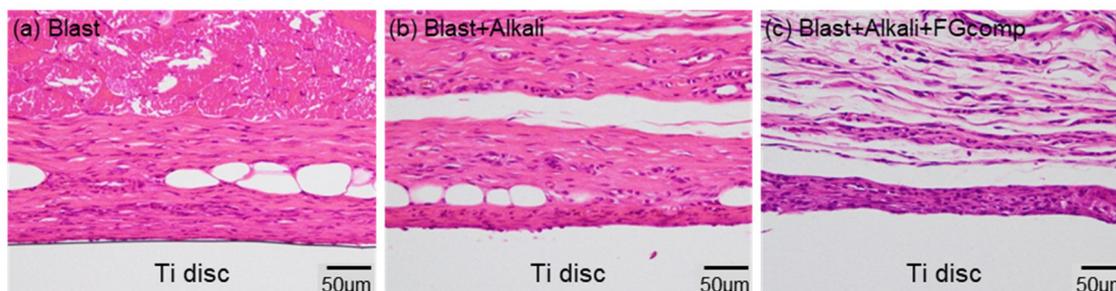


図4 ラット皮下にチタン板を4週埋入した各試料のHE染色組織像

(a) アルミナブラスト処理した試料(GB)、(b) ブラスト処理後にアルカリ処理した試料(GBB)、(c) アルカリ処理後、フルバスタチン/ゼラチン複合体を固定した試料(GBBFG) (口腔インプラント学会誌に投稿中)

以上の結果は、スタチン系薬剤をチタン表面にはドパミンを介してゼラチン/フルバスタチン複合体として固定することができることが明らかになった。ゼラチン/フルバスタチン複合体を固定したチタン板は、埋入1週ではリンパ球の浸潤が認められたが、埋入4週では他のチタン板と同様の生体反応であることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 SAKAI Takanori, SATO Toru, HISANAGA Ryuichi, SHINYA Akimasa, TAKEMOTO Shinji, YOSHINARI Masao	4. 巻 38
2. 論文標題 Optical properties and flexural strength of translucent zirconia layered with high-translucent zirconia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 368 ~ 377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2018-157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tanaka Akihiro, Miyake Nahoko, Hotta Hiromi, Takemoto Shinji, Yoshinari Masao, Yamashita Shuichiro	4. 巻 63
2. 論文標題 Change in the retentive force of Akers clasp for zirconia crown by repetitive insertion and removal test	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Prosthodontic Research	6. 最初と最後の頁 447 ~ 452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpor.2019.02.005	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 -
1. 著者名 染屋 智子、武本 真治、笠原 正彰、京極 啓、服部 雅之	4. 巻 38
2. 論文標題 水酸化カルシウム製剤で処理した根部象牙質での接着性レジンセメントの接着強さ	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本歯科理工学会誌	6. 最初と最後の頁 52 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18939/jsdmd.38.1_52	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Harada Rino, Kokubu Eitoyo, Kinoshita Hideaki, Yoshinari Masao, Ishihara Kazuyuki, Kawada Eiji, Takemoto Shinji	4. 巻 34
2. 論文標題 Corrosion behavior of titanium in response to sulfides produced by Porphyromonas gingivalis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Dental Materials	6. 最初と最後の頁 183 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dental.2017.10.004	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 -

1. 著者名 Takemoto Shinji, Sasaki Kaori, Sugawara Shiho, Saitoh Setsuo, Sawada Tomofumi, Taira Masayuki, Tanabe Koji, Yoshinari Masao, Hattori Masayuki, Jansen John A., Leeuwenburgh Sander G.G.	4. 巻 782
2. 論文標題 Loading of Fluvastatin onto Gelatin-Coated Titanium Implants	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Key Engineering Materials	6. 最初と最後の頁 233 ~ 237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4028/www.scientific.net/KEM.782.233	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 該当する

1. 著者名 FURUYA Katsunori, TAKEMOTO Shinji, YAMASHITA Shuichiro, SEKINE Hideshi, YAJIMA Yasutomo, YOSHINARI Masao	4. 巻 39
2. 論文標題 Low-temperature degradation of high-strength Y-TZP (yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystal)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 577 ~ 586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2019-090	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 TANAKA Kensuke, SOMEYA Tomoko, KAWADA Eiji, OHYAMA Takashi, YOSHINARI Masao, TAKEMOTO Shinji, HATTORI Masayuki	4. 巻 39
2. 論文標題 <i>In vitro</i> wear behavior of restorative resin composites against bovine enamel	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 915 ~ 923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2018-297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 SAWADA Tomofumi, SCHILLE Christine, SCHWEIZER Ernst, GEIS-GERSTORFER J?rgen, TAKEMOTO Shinji	4. 巻 39
2. 論文標題 Bond strength of commercial veneering porcelain to experimental cast Ti-Cr alloy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 825 ~ 833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4012/dmj.2019-245	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計21件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武本真治, 佐々木かおり, 菅原志帆, 齋藤設雄, 澤田智史, 平雅之.
2. 発表標題 チタンから薬剤徐放を目指した表面処理 - チタン表面への薬剤固定方法.
3. 学会等名 岩手医科大学歯学会第86回例会.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 澤田智史, 菅原志帆, 佐々木かおり, 齋藤設雄, 平雅之, 武本真治.
2. 発表標題 陶材を焼付したTi-Cr合金鑄造体の破断面分析.
3. 学会等名 第73回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤設雄, 菅原志帆, 佐々木かおり, 澤田智史, 平雅之, 長岡紀幸, 吉原久美子, 武本真治.
2. 発表標題 金表面での金属プライマーおよびマルチプライマーのXPS分析.
3. 学会等名 第73回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水峻介, 野田 守, 武本真治
2. 発表標題 光重合型ボンディングシステムの根管部位での接着強さ
3. 学会等名 第73回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎貴裕, 佐藤 亨, 野本俊太郎, 四ツ谷 護, 神田雄平, 久永竜一, 武本真治, 吉成正雄
2. 発表標題 1壁残存歯冠歯質がファイバーポストを応用したレジン支台築造の破壊荷重に及ぼす影響
3. 学会等名 第128回日本歯科補綴学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水峻介, 青木貴晃, 管徹也, 浅野明子, 岡田伸男, 澤田智史, 野田守, 武本真治.
2. 発表標題 根管窩洞でのコンポジットレジンの接着強さ.
3. 学会等名 2019年度東北大学金属材料研究所共同研究ワークショップ・日本バイオマテリアル学会東北ブロック講演会.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 澤田智史, 齋藤設雄, 佐々木かおり, 菅原志帆, 平 雅之, 武本真治.
2. 発表標題 鋳造Ti-Cr合金のメタルセラミック修復への応用.
3. 学会等名 第74回日本歯科理工学会学術講演会.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩崎太郎, 山内しのぶ, 武本真治, 谷本安浩
2. 発表標題 チタン接着システムの開発(その3) 重合様式が接着強さに及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本歯科理工学会学術講演会.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤設雄, 佐々木かおり, 澤田智史, 畑中昭彦, 平 雅之, 武本真治.
2. 発表標題 ろう付けしたステンレス鋼の酸性溶液中での溶出挙動.
3. 学会等名 第74回日本歯科理工学会学術講演会.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Christine Schille, Tomofumi Sawada, Shinji Takemoto, Jurgen Geis-Gerstorfer.
2. 発表標題 Influence of fluoride corrosion attack on the metal-porcelain bond strength of TiCr20 compared to titanium.
3. 学会等名 Euro BioMAT 2019.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Takemoto
2. 発表標題 Surface Characterization of Gelatin-fluvastatin Complexes-coated Titanium
3. 学会等名 2019 International Association for Dental Research
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武本真治, 佐々木かおり, 齋藤設雄, 平雅之
2. 発表標題 表面処理したチタンへのゼラチン固定
3. 学会等名 第71回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Takemoto, Kaori Sasaki, Shiho Sugawara, Setsuo Saitoh, Tomofumi Sawada, Masayuki Taira, Koji Tanabe, Masao Yoshinari, Masayuki Hattori, John A. Jansen, Sander G.G. Leeuwenburgh.
2. 発表標題 Loading of Fluvastatin onto Gelatin-Coated Titanium Implants.
3. 学会等名 30th Symposium and Annual Meeting of the International Society for Ceramics in Medicine (Bioceramics 30)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武本真治、佐々木かおり、齋藤設雄、平雅之
2. 発表標題 表面処理したチタンへのゼラチン固定
3. 学会等名 第71回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 武本真治
2. 発表標題 歯科理工学から考えるチタン系材料
3. 学会等名 岩手医科大学歯学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 畑中 昭彦, 澤田 智史, 佐々木 かおり, 齋藤 設雄, 染屋 智子, 服部 雅之, 武本 真治
2. 発表標題 異なる歯冠修復材と牛歯エナメル質との摩耗挙動
3. 学会等名 第75回日本歯科理工学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水 峻介, 澤田 智史, 佐々木 かおり, 齋藤 設雄, 畑中 昭彦, 浅川 和也, 野田 守, 武本 真治
2. 発表標題 根管象牙質での重合方法の異なるボンディング材の接着強さ
3. 学会等名 日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 齋藤 貴裕, 千 和世, 田中 良武, 畑中 昭彦, 菅原 志帆, 佐々木 かおり, 齋藤 設雄, 平 雅之, 澤田 智史, 武本 真治
2. 発表標題 審美性歯冠修復材の牛歯エナメル質に対する摩耗例
3. 学会等名 岩手医科大学歯学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 菅原 志帆, 石河 太知, 武本 真治, 近藤 尚知
2. 発表標題 歯肉上皮細胞培養系におけるLPS刺激時の時間依存性炎症応答
3. 学会等名 日本歯科補綴学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武本 真治, 浅野 明子, 澤田 智恵, 澤田 智史
2. 発表標題 陶材を焼成したチタンクロム合金の焼付強さとその破断面分析
3. 学会等名 日本歯科補綴学会学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 武本真治
2. 発表標題 歯科領域における医工連携
3. 学会等名 第36回日本医工学治療学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関