

令和元年6月18日現在

機関番号：32710

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17225

研究課題名(和文) 骨および軟組織付着を目指した凹凸微細表面を有するレーザ加工ジルコニアインプラント

研究課題名(英文) Nanosecond-pulsed laser-treated zirconia implant with microgrooves for bone integration and soft tissue adhesion

研究代表者

廣田 正嗣(Hirota, Masatsugu)

鶴見大学・歯学部・学部助手

研究者番号：50734860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ナノ秒パルスNd:YAGレーザを2種類の部分安定化ジルコニア(Y-TZPおよびCe-TZP)に照射し、深さ30 μm、幅30 μmの凹凸微細構造を表面に形成した。Ce-TZPではレーザ照射後表面が黒変しており、EDX測定の結果、Y-TZPに比較してより多くの表面酸素原子の欠損が確認できた。レーザ照射ジルコニアインプラントをラット大腿骨欠損部へ4週間埋入した。比較対象としてそれぞれをブラスト+酸処理したインプラントを用いた。その結果、Y-TZPの場合、ブラスト+酸処理群に比較してレーザ処理群で有意に高い骨-インプラント接触率が得られたが、Ce-TZPではレーザ処理の効果は見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ジルコニアインプラントの表面改質にナノ秒パルスレーザによる微細加工を応用したことにより、確実なジルコニアオッセオインテグレーションを実現できる可能性が示された。これらの研究結果は、各関連学会で広く研究発表し、機関雑誌に掲載することできた。これにより日本発のジルコニアインプラントの臨床応用への糸口になり得たと考えている。生体安全性が高いセラミックインプラントの実用化は多くの国民の健康寿命を延長し、QOL向上に寄与すると考えている。

研究成果の概要(英文)：Two type of partially stabilized zirconia, namely Y-TZP and Ce-TZP, were irradiated by nanosecond-pulsed Nd:YAG laser and the regular structure with concave and convex of each 30 μm width and 30 μm depth were prepared on both surfaces. In the case of Ce-TZP, the surface was changed to be black after laser irradiation. EDX measurement revealed the reduction of more amounts of oxygen atoms on Ce-TZP compared to Y-TZP. Laser irradiated zirconia implants were inserted into the bone defects of rat femur during 4 weeks. As a control, large grid sandblasted and acid etching (blastedHF) implant was used. Laser treatment for Y-TZP provided greater degree of bone-implant contact ratio than blastedHF treated Y-TZP ( $p < 0.05$ ). In the case of Ce-TZP, however, laser treatment showed no clear effect on bone response.

研究分野：歯科理工学

キーワード：ジルコニア インプラント ナノ秒パルスレーザ 表面改質 骨形成 オッセオインテグレーション

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

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、生体安定性が高く、高強度のセラミックスである部分安定化ジルコニアがチタンあるいはチタン合金に代わる歯科用インプラント素材として注目されている。歯槽骨と光学顕微鏡レベルで直接結合するチタンに対し、ジルコニアの場合、骨との親和性についてはチタン同様に骨結合をするという報告があるが、チタンよりも骨結合に劣るという報告もあり、未だに解明されていない。ジルコニアインプラントをより安全に使用するためには生体に対するジルコニアの反応および安全性に関するエビデンスの獲得が急務である。

(2) 現在、海外市場において販売されているジルコニアインプラントは、従来のチタンインプラントと同様に骨適合性向上の目的で、サンドブラストや酸処理などにより表面改質されている。しかしながら、ジルコニアはその機械的性質ゆえに加工が非常に困難であり、既存のチタンと同様の手技で処理しても同様の表面形状を得ることができず、その条件設定基準も明らかでない。そこで、本研究では基材表面にマイクロオーダーで精密な機械加工制御が可能ナノ秒パルスレーザに注目し、骨芽細胞および歯肉線維芽細胞の細胞サイズに合った幅および深さの凹凸形状をジルコニアインプラントに付与し、表面改質を試みた。

### 2. 研究の目的

本研究では、オッセオインテグレーションを早期に獲得し、長期間安定して機能するメタルフリーであるジルコニアインプラントの開発を最終到達目標とし、微細加工が可能ナノ秒パルスレーザを使用しジルコニア表面に凹凸構造を創成し、動物へのインプラント埋入によって、骨適合性と軟組織接着性について検証を行った。長期持続可能で安全なジルコニアインプラントを開発し、歯科臨床での普及と拡大を以って国民のQOL向上に寄与することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 実験試料には、イットリア 3 mol% 添加型正方晶部分安定化ジルコニア多結晶体 (TZ-3YB-E, 東ソー, 以下 Y-TZP) および 30 vol% Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 含有セリア 10 mol% 添加型正方晶部分安定化ジルコニア多結晶体 (NANOZR, Panasonic Healthcare, 以下 Ce-TZP) の 2 種類の部分安定化ジルコニアを用い、平板状 (3 × 2 mm, 厚さ 1 mm) に機械加工し、流水しながら耐水研磨紙 (#1200) を用いて研磨した。

表 1. レーザ照射条件

Pulse duration	3 ns
Power	150 μJ/pulse
Wavelength	1064 nm
Frequency	50 Hz
Scanning speed	7 μm/s
Laser spot	Rect. 30 μm × 60 μm
Environment	Standard atmosphere

(2) レーザ照射群 (laser/Y-TZP, laser/Ce-TZP) には、レーザ照射スポットが矩形に整形された Nd:YAG ナノ秒パルスレーザ (Quicklaze-50trilite, NEW WAVE RESEARCH) を用い、試料表面に対し垂直に照射した。表 1 にレーザ照射条件を示す。コントロール群 (blastedHF/Y-TZP, blastedHF/Ce-TZP) には、粒径 200 μm のアルミナによりサンドブラスト処理 (0.5 MPa, 20 mm) を行った後、46%HF (室温) にて酸処理を行った。

(3) 各々の試料の表面形状を、走査型電子顕微鏡 (SEM, JSM-5600LV, JOEL) を用いて表面および断面から観察した。また、レーザ照射により加工後に生じたジルコニア表面の変化を調べるため、エネルギー分散型 X 線分析 (EDX) および X 線光電子分光法 (XPS) による元素分析および X 線回折法 (XRD) による結晶構造分析を行った。

(4) 動物実験として、Wistar 系ラット大腿骨欠損部へのインプラント埋入を行った (鶴見大学歯学部動物実験委員会: 承認番号 28A042)。術後 2 週および 3 週目にキシリノールオレンジとカルセインによるラベリングを行い、術後 4 週で試料を摘出して、アルコール系列による脱水、MMA による包埋を行い、非脱灰薄切研磨標本を製作した。染色は、塩基性フクシンとメチレンブルーによる二重染色とした。共焦点レーザ顕微鏡 (CLSM) および光学顕微鏡を用いて新生骨の形成挙動を病理組織学的に観察した後、画像解析ソフトを用いて骨-インプラント間接触率 (BIC) および新生骨量 (BM) を算出し、定量的評価を行った。

### 4. 研究成果

(1) SEM 観察により laser/Y-TZP, laser/Ce-TZP 表面にスポット幅 30 μm で深さ 30 μm、幅 30 μm の規則的な凹凸が確認できた (図 1)。さらに、凹部には蒸散によって得られたと思われるフラクタル様の粗造構造が認められた。

(2) レーザ照射後、laser/Ce-TZP 試料表面において黒変が認められた。レーザ照射により Ce-TZP に比較し laser/Ce-TZP では、表面ゼータ電位が 80% 低下していた。EDX 分析より、レー

レーザー照射後は酸素原子数濃度が減少していたが、laser/Ce-TZPの方がlaser/Y-TZPに比べてより大きな減少を示した。また、XPS分析の結果、laser/Ce-TZPにおいてEDXと同様に酸素原子の欠損が認められ、ジルコニウムイオンの還元が観察された。さらに、laser/Ce-TZPの黒変は電気炉内で1,000℃、15分間留置後炉冷を行うことにより、白色へ色調回復できることも明らかになった。

(3) XRDによる各試料の表面分析の結果、blastedHF/Y-TZPおよびblastedHF/Ce-TZPにおいて単斜晶ジルコニアのピークが観察されたのに対し、laser/Y-TZPおよびlaser/Ce-TZPにおいてはほぼ全てのピークが正方晶ジルコニアであった(図2)。このことから、レーザー

照射前の機械加工や研磨時に由来する単斜晶へ変態したジルコニアが、ナノ秒パルスレーザーの照射自体により母材と同様の正方晶に回復することが分かった。すなわち、プラスト法等の従来の機械加工による表面改質法と比較し、正方晶を維持し機械的強度が担保できる点でジルコニア表面への処理として本レーザー加工が有用であることが示された。

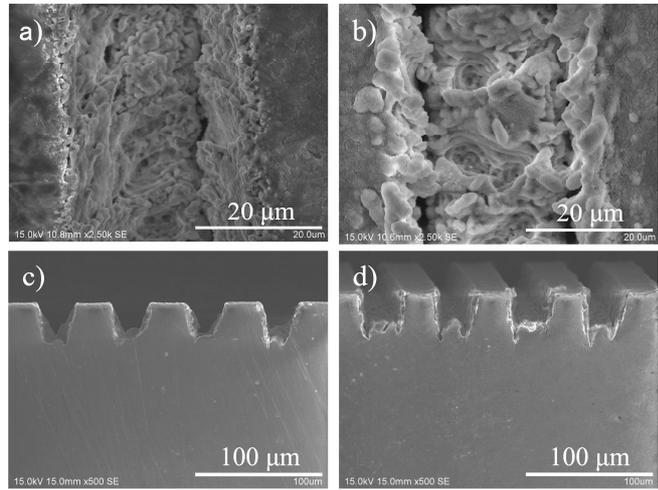


図1. laser/Y-TZP (a,c) および laser/Ce-TZP (b,d)のSEM像 (c,dは断面像)

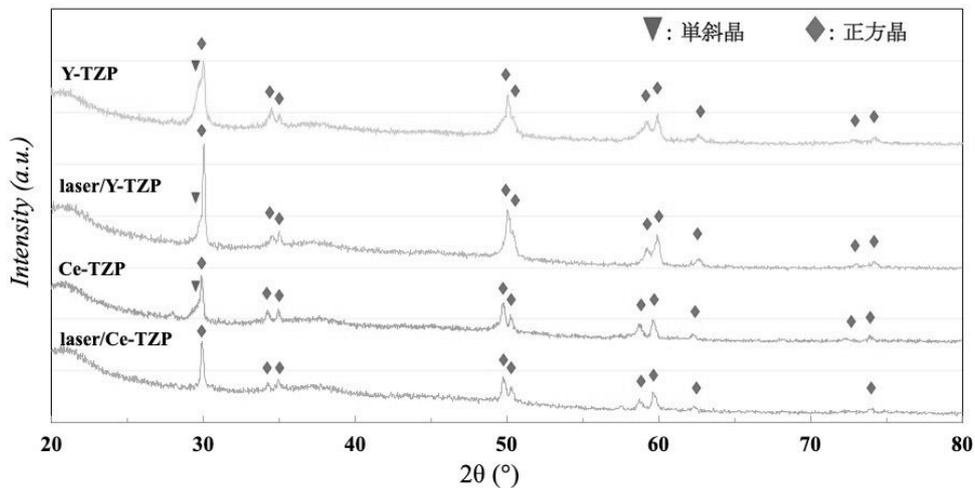


図2 XRDによる結晶構造の分析結果

(4) 動物へのインプラント埋入実験の結果、図3に示すよう、laser/Y-TZPがblastedHF/Y-TZPおよびblastedHF/Ce-TZPと比較して、より多くの新生骨形成が確認され、統計学的に優位に高いBICが得られた( $p < 0.05$ )。また、CLSM像ではインプラント体凹凸部に向かい垂直的な骨形成が観察された。一方、laser/Ce-TZPでは他の試料よりもBICが有意に低くなり( $p < 0.05$ )、レーザー照射によって表面特性が変化すると推察された。BMは全て試料において有意な差は認められなかった。

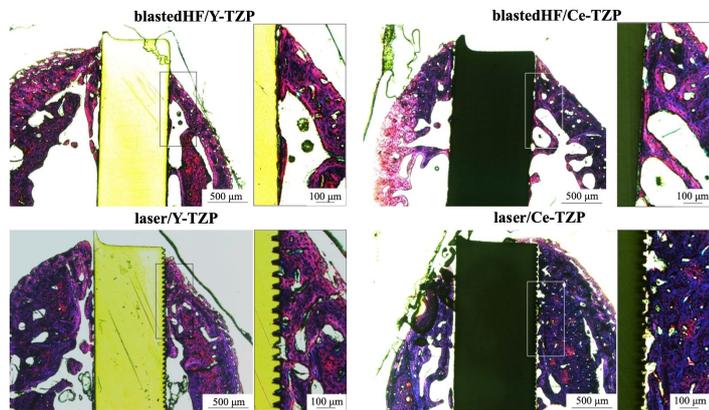


図3. インプラント周囲の病理学的組織像

(5) 以上より、ジルコニアへのナノ秒パルスレーザーによる凹凸微細加工は、骨形成に影響を及ぼし、インプラントの表面改質として応用可能と示唆された。

#### <引用文献>

Hirota M, Hayakawa T, Ohkubo C, Sato M, Hara H, Toyama T, Tanaka Y, Bone responses to zirconia implants with a thin carbonate-containing hydroxyapatite coating using a molecular precursor method, Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, Vol.102B, No.6, 2014, 1277-1288,  
DOI: 10.1002/jbm.b.33112

#### 5. 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計2件)

Hirota M, Harai T, Ishibashi S, Mizutani M, Hayakawa T, Cortical bone response toward nanosecond-pulsed laser-treated zirconia implant surfaces, Dental Materials Journal, 査読有, Vol. 38, No. 3, 2019, 444-451

DOI:10.4012/dmj.2018-153

原井智広、廣田正嗣、早川 徹、嶋田慶太、水谷正義、厨川常元、ナノ秒パルスレーザーによるジルコニアインプラントへの生態適合性付与：微細溝の創成および熱影響の検討、日本金属学会誌、査読有、83巻、2019、37-45

DOI:10.2320/jinstmet.J2018043

##### [学会発表](計8件)

原井智広、嶋田慶太、水谷正義、厨川常元、廣田正嗣、早川 徹、ナノ秒パルスレーザーによるジルコニアインプラントの骨適合性、2018年度精密工学会東北支部学術講演会、2018年  
廣田正嗣、吉田英史、早川 徹、QCM法による義歯床用金属材料への唾液糖タンパクの吸着解析、第40回日本バイオマテリアル学会大会、2018年

廣田正嗣、塚越 好、野本理恵、早川 徹、各種試作シランカップリング剤がCAD/CAM冠用レジブロックとレジセメントの接着性に及ぼす影響、平成30年秋季日本歯科理工学会第72回学術講演会、2018年

原井智広、廣田正嗣、早川 徹、嶋田慶太、水谷正義、厨川常元、ナノ秒パルスレーザーによる生態親和性付与に関する研究、第39回日本バイオマテリアル学会大会、2017年

廣田正嗣、原井智広、水谷正義、厨川常元、早川 徹、ナノ秒パルスレーザー照射ジルコニアの骨適合性、第39回日本バイオマテリアル学会大会、2017年

原井智広、廣田正嗣、早川 徹、嶋田慶太、水谷正義、厨川常元、ナノ秒レーザーによるジルコニア製インプラントへの生体親和性付与-レーザー照射による微細凹凸の付与および熱影響の検討-、日本材料学会第66期学術講演会、2017年

廣田正嗣、水谷正義、早川 徹、ナノ秒パルスレーザー照射ジルコニアインプラントの骨適合性、平成29年度秋期日本歯科理工学会第70回学術講演会、2017年

廣田正嗣、原井智広、石橋信治、水谷正義、早川 徹、超微細表面を有するレーザー加工ジルコニアインプラントの骨反応、第26回硬組織再生生物学会学術大会、2017年

#### 6. 研究組織

##### (1)研究分担者

なし

##### (2)研究協力者

研究協力者氏名：水谷 正義

ローマ字氏名：(MIZUTANI, masayoshi)

研究協力者氏名：原井 智広

ローマ字氏名：(HARAI, tomohiro)

研究協力者氏名：石橋 信治

ローマ字氏名：(ISHIBASHI, shinji)

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。