

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18390520  
 研究課題名（和文） 光触媒活性超親水性効果はオッセオインテグレーションを亢進する  
 研究課題名（英文） Photo-catalytic superhydrophilicity enhances Osseointegration  
 研究代表者  
 澤瀬 隆（SAWASE TAKASHI）  
 長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授  
 研究者番号 80253681

研究成果の概要：骨組織内に埋入されるインプラント表面改質により、光触媒超親水性効果を付与することで、インプラント表面での細胞接着を促進し、ひいては骨形成（オッセオインテグレーション）を亢進するとの仮説を立て、細胞培養試験ならびに動物実験により検証を行った。その結果超親水性インプラントにおいては、早期からの細胞接着、伸展、増殖が向上し、さらにオッセオインテグレーションの指標である骨接触率の有意な向上を認めた。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
18年度	10,100,000	3,030,000	13,130,000
19年度	2,700,000	810,000	3,510,000
20年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

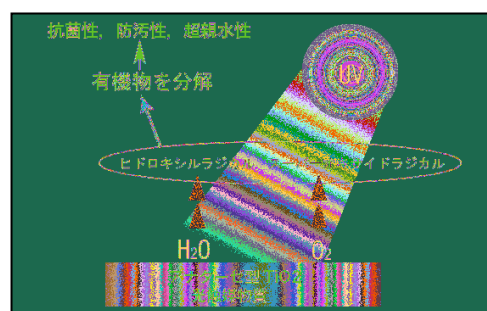
キーワード：歯科インプラント学、生体材料

## 1. 研究開始当初の背景

生体親和性に優れたチタンはインプラント材、人工骨、人工関節など硬組織代替材料として広く利用されている。チタンの生体適合性には、その表面酸化膜が大きく寄与しており、酸化膜の表面性状により細胞の接着、伸展、移動、増殖および組織化といった細胞基本行動が制御されるといわれている。とりわけ材料表面の親水性は細胞接着を直接左右する重要なファクターである。

チタン酸化物の結晶型の一つであるアナターゼ型酸化チタンは、太陽光などの光エネ

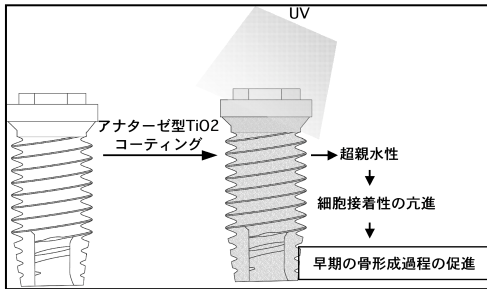
ルギーにより強い酸化作用を発揮するというユニークな特性を持つ（下図）。



工業界においては、この光触媒活性を利用した殺菌法や脱臭法、防黴法が期待され、多くの研究そして実用化がすすめられている。さらにこの光触媒活性は、材料表面を超親水性にすることが可能で、表面の親水性を劇的に向上させることが知られている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、チタンインプラントの表面改質によりチタン表面酸化膜をアナターゼ型に結晶化し、光照射という簡便な方法で材料の表面ぬれ性を向上させ、インプラント表面への細胞接着性の亢進、さらには早期の骨形成過程（オッセオインテグレーション）の促進を図ることである。



## 3. 研究の方法

### チタン試料作製・表面処理

実験試料として、細胞培養用に直径 10 mm 厚さ 1 mm のディスク状試料と、動物実験用にネジ外径 3.75mm、長さ 6 mm のスクリュー型市販インプラントを用いた。

本研究では、

A. プラズマソースイオン注入法による酸化膜厚径増大+アニーリングによる酸化膜の結晶化

B. 硫酸—リン酸—過酸化水素水系電解液中にて陽極酸化した後、フッ化水素アンモウニウム浸漬

の 2 種類の純チタン表面改質を行い、それぞれにおいて、

### 1) 光触媒活性の確認

水接触角により評

### 2) 培養細胞での効果

骨芽細胞への分化能を有するマウス由来筋芽細胞 (C2C12) を通法に従い培養した。細胞接着性の評価は培養 30 分後に非附着細胞を洗浄し、試料上の接着細胞数を propidium iodide 核染色により計測し、さらに走査型電子顕微鏡 (SEM) による細胞形態観察を行った。また培養 24 時間後に培地中に BrdU を加え、FITC conjugated anti-BrdU 抗体による蛍光免疫染色を行い、細胞増殖率を計測した。

### 3) 家兎脛骨埋入実験

家兎 (日本白色種、体重約 4.0 kg) の両側脛骨近位端に対称に埋入した。埋入 2 週間

後に検体を採取し、固定、脱水、レジン包埋後、非脱灰研磨標本 (厚さ約 40 μm) を作製した。得られた標本はトルイジンブルー染色を行い、骨接触率の計測ならびに組織形態観察を行った。

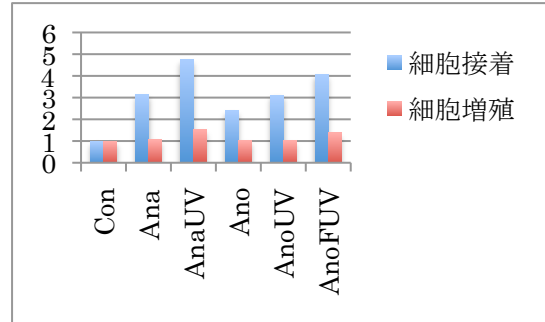
## 4. 研究成果

### 1) 親水性の評価 [略号]

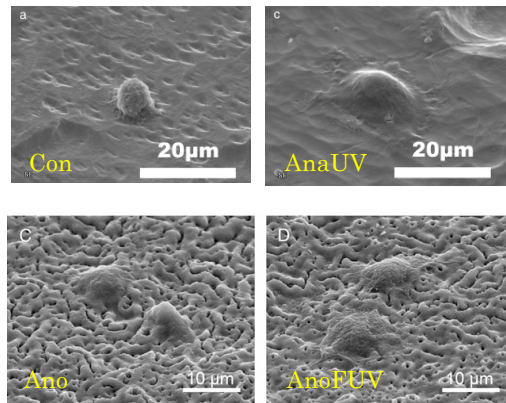
- ① 機械加工純チタン: 45.0° [Con]
- ② アナターゼ型酸化膜: 43.5° [Ana]
- ③ アナターゼ型酸化膜 + UV: 0.5° [AnaUV]
- ④ 陽極酸化チタン (Anode): 46.0° [Ano]
- ⑤ Anode + UV: 12.0° [AnoUV]
- ⑥ Anode + フッ化物処理 + UV: 4.0° [AnoFUV]

### 2) 培養細胞での効果

超親水性試料においては、培養 30 分という早期から著しい細胞の伸展がみられ、細胞接着数ならびに細胞増殖率も有意に向上した。



Con を 1 としたときの相対細胞接着数と細胞増殖率



培養 30 分後の細胞伸展

### 3) インプラント周囲骨形成

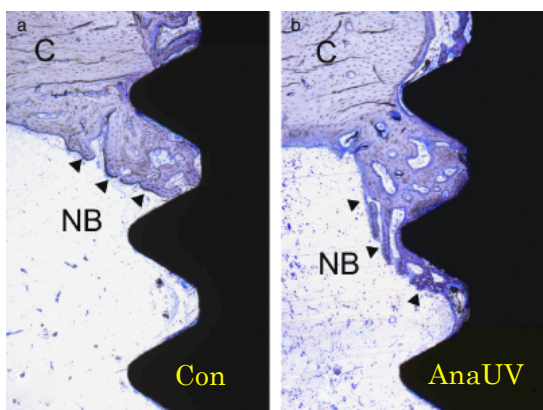
インプラント埋入 2 週間後、インプラント周囲にはトルイジンブルーに濃染する幼弱な類骨組織が多く観察された。特に親水性インプラントの皮質骨周囲では、インプラントに沿って下方への伸展が顕著であった。この所見と相関して骨接触率の有意な向上が示さ

れ、本表面処理を行ったインプラントは、事前の近紫外線照射という簡便な方法のみで、極めて高い親水性を発揮し、生体内において早期のオッセオインテグレーションを獲得することが示唆された。

は、近紫外線照射親水性インプラント：50.3% (16.3) 近紫外線非照射インプラント：36.5% (16.3) と、親水性インプラントにおける、骨接触率の有意な向上が示された。

埋入2週間後の骨接触率

親水性処理法 A(PSII+anneal)	
コントロール(Con)	親水性(AnaUV)
18.0(6.2)	28.2(10.9)
親水性処理法 B(anodization+F)	
コントロール(Ano)	親水性(AnoFUV)
36.5(16.3)	50.3(15.3)



埋入2週間後の研磨標本：親水性インプラント表面での有意な骨形成が認められる

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. Jimbo R, Sawase T, Shibata Y, Hirata K, Hishikawa Y, Tanaka Y, Bessho K, Ikeda T, Atsuta M, Enhanced osseointegration by the chemotactic activity of plasma fibronectin for cellular fibronectin positive cells, *Biomaterials*. 28:3469-3477, 2007

2. Sawase T, Jimbo R, Wennerberg A, Suketa N, Tanaka Y, Atsuta M, A novel characteristic of porous titanium oxide implants, *Clin Oral Implants Res*, 18:680-685, 2007

3. Jimbo R, Sawase T, Baba K, Kurogi T, Shibata Y, Atsuta M, Enhanced initial cell responses to chemically modified anodized titanium, *Clin Implant Dent Relat Res*, 10: 55-61, 2008

4. Sawase T, Jimbo R, Baba K, Shibata Y, Ikeda T, Atsuta M, Photo-induced hydrophilicity enhances initial cell behavior and early bone apposition, *Clin Oral Implants Res*, 19: 491-496, 2008

5. Jimbo R, Ono D, Hirakawa Y, Odatsu T, Tanaka T, Sawase T, Accelerated photo-induced hydrophilicity promotes osseointegration: an animal study, *Clin Implant Dent Relat Res*, 10, 2009(in print)

[学会発表] (計 13 件)

1. Sawase T, Jimbo R, Shibata Y, Suketa N, Baba K, Ikeda T, Atsuta M: Photo-induced hydrophilic surface enhance cell attachment, European Association for Osseointegration 15th Annual Scientific Meeting, Zurich, Switzerland, 2006 {Program #288, 2006}

2. Jimbo R, Sawase T, Shibata Y, Hirata K, Hishikawa Y, Tanaka Y, Ikeda T, Atsuta M: Fibronectin regulates osteoprogenitor cells migration and bone formation around implants, European Association for Osseointegration 15th Annual Scientific Meeting, Zurich, Switzerland, 2006 {Program #57, 2006}

3. Jimbo R, Sawase T, Tanaka Y, Hirata K, Hishikawa Y, Shibata Y, Ikeda T, Atsuta M: Efficacy of titanium-coated acrylic rods for in situ detection of molecules account for peri-implant bone healing, International Microscopy Congress Annual Meeting, Sapporo, Japan, 2006 {Program #B-10, 2006}

4. Jimbo R, Sawase T, Shibata Y, Hirata K, Ikeda T, Atsuta M: Fibronectin Induces Marrow Stromal Cells Chemotaxis to the Implant Surface.

5. 神保 良, 澤瀬 隆, 柴田 恭明, 平田 一成, 馬場直樹, 祐田尚紀, 池田 通, 熱田 充: チタン薄膜コーティングインプラントによるオッセオインテグレーション微細構造解析について, 第 23 回日本口腔インプラント学会九州支部学術大会, 小倉, 2 月 {日本口

腔インプラント学会誌, 19, p.65, 2006 }

6. 澤瀬 隆, 神保 良, 柴田恭明, 祐田尚紀, 鎌田幸治, 添野光洋, 池田 通, 熱田 充: 光触媒活性親水性効果による, 陽極酸化チタンへの細胞接着, 増殖の亢進, 第 36 回日本口腔インプラント学会総会, 新潟, 9 月 {抄録集 演題番号 T-3-3, p.151, 2006}

7. 神保 良, 澤瀬 隆, 柴田恭明, 平田一成, 池田 通, 熱田 充: 血清ファイブロネクチンのオッセオインテグレーション促進効果, 第 36 回日本口腔インプラント学会総会, 新潟, 9 月 {抄録集 演題番号 T-3-4, p.151, 2006}

8. Jimbo R, Sawase T, Shibata Y, Hirata K, Tanaka Y, Ikeda T, Atsuta M: Fibronectin induces marrow stromal cells chemotaxis to the implant surface, 85th IADR, New Orleans, USA, 2007 {Program, #2537, 2007}

9. Jimbo R, Sawase T, Atsuta M: Improved photo-induced hydrophilic surface enhances cell behavior and bone apposition, European Association for Osseointegration 16th Annual Scientific Meeting, Barcelona, Spain, 2007 {Program, #310, 2007}

10. 澤瀬 隆, 神保 良, 熱田 充: 光触媒活性超親水性効果によるオッセオインテグレーション促進効果, 第 49 回日本歯科理工学会学術講演会, 札幌, 5 月 {歯材器, 26, 演題番号 P-109, p.253, 2007}

11. 澤瀬 隆, 神保 良, 尾立哲郎, 平川祐子, 鎌田幸治, 添野光洋, 熱田 充: 光触媒超親水性効果による, 陽極酸化チタンインプラントのオッセオインテグレーション促進効果, 第 37 回日本口腔インプラント学会学術大会, 熊本, 9 月 {抄録集, 演題番号 T-4-7, p.202, 2007}

12. Ono D, Sawase T, Jimbo R, Asahina I, Ioku K, Ikeda T: Lateral bone augmentation with a newly developed beta tri-calcium phosphate block, 4th Asian Academy of Osseointegration, Hiroshima, June, 2008

13. 平川祐子, 柴田恭明, 尾立哲郎, 神保 良, 池田 通, 澤瀬 隆: 親水性チタン表面への血清タンパク質の吸着, 第 26 回日本口腔インプラント学会九州支部学術大会, 沖縄, 2 月

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: インプラント

発明者: 澤瀬隆, 馬場恒明, 神保良

権利者: 長崎大学, 長崎県

種類, 番号: 特願 2007-110741

出願日: 2007 年 4 月 27 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤瀬 隆 (SAWASE TAKASHI)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・准教授 (平成 20 年 12 月まで), 教授 (平成 21 年 1 月から)

80253681

(2) 研究分担者

柴田 恭明 (SHIBATA YASUAKI)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・助教

80253673

池田 通 (IKEDA TOHRU)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

00211029

鎌田 幸治 (KAMADA KOJI)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・助教

60264256

吉田 圭一 (YOSHIDA KEIICHI)

長崎大学医学部歯学部附属病院・講師

70230729

熱田 充 (ATSUTA MITSURU)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授 (平成 20 年 3 月退職)

60002135