

研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2006～2008
課題番号：18592159
研究課題名（和文） バイオミメティックマトリックスによるチタンインプラントの機能制御
研究課題名（英文） Biological control of titanium implants depending on biomimetic matrix
研究代表者
岡崎 定司 (OKAZAKI JOJI)
大阪歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号： 80169094

研究成果の概要：

今回の研究では基質としてハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物もしくは炭酸カルシウムとポリ乳酸ポリエチレングリコール共重合体を組み合わせたものを考え、そこにBMP-2ならびにMMPなどの分化・誘導因子を添加することが出来るかを検索した。基質の材料としては、まずはレーザーアブレーション法や浸漬法によりインプラント表面にハイドロキシアパタイトをコーティングし、インプラント初期固定に及ぼす影響の経時的変化を実験動物にラットおよびイヌを用い、インプラントと骨の接合強度、すなわちインプラントを除去するときの値（リムーバトルク値）を測定して検討した。その結果、各種のハイドロキシアパタイト固定化チタンインプラントでは、対照群の未処理チタンインプラントに比べ骨との接合が強固であった（ $p < 0.01$ ）。よってそこにBMP-2ならびにMMPなどの分化・誘導因子を添加することでインプラントの初期固定に相乗効果を与えることが可能であることがわかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
18年度	1,300,000	0	1,300,000
19年度	1,200,000	360,000	1,560,000
20年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	630,000	4,030,000

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：国際研究者交流、インプラント、バイオミメティック、マトリックス、リムーバトルク、ラット

1. 研究開始当初の背景

私たちは硬組織である歯槽骨や歯、ならびに軟組織の細胞外マトリックスの構造ならびに構成成分について20年以上にわたり、生化学的、組織化学的、電顕的に検索してきた。最近ではマトリックス中のグリコサミノグリカンであるヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸に着目し、高速液体クロマトグラフィーを用い、グリコサミノグリカン分解酵素でヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸を二糖レベルにまで分解したのち、その糖鎖構造を色々な条件で検索してきた。さらに、現在は培養系において骨芽細胞の分化に与えるヒアルロン酸を初めとした高分子多糖体の効果についても検索している。そのため、インプラント周囲組織のマトリックスについては熟知し、バイオメテックプロセスによるマトリックス製作は材料・試料さえ手に入れば、いつでも開始できると考える。

また、私たちの大学には講座から独立した中央歯学研究所があり、実験動物の飼育から細胞の培養、バイオメテックマトリックスの生成、生化学分析、形態観察等の機器は十分完備しており、新たに備品の購入を必要としない。そのため、ほとんどの研究費を実験費用に充てることができる。このような背景から今回の研究を企画できたと考える

2. 研究の目的

骨は生体内では骨芽細胞がカルシウムイオンとリン酸イオンを取り込み、有機物と複合化したナノ粒子が凝集し結晶化し、無機・有機複合体となって形成されるが、その過程で骨芽細胞の分化・誘導を行う場が細胞外マトリックスである。そのため、このマトリックスの構成成分のうち骨芽細胞の分化・誘導を積極的に行う因子を豊富に持つ人工的に生成したバイオメテックマトリックスを骨欠損、すなわち今回の研究ではラットの前歯を抜歯し、またイヌの大腿骨にインプラント埋入と同時にインプラント周囲にセッティングすることにより、速やかな骨芽細胞の分化・誘導を生来せしめ、早期のインプラントの機能向上を図ることを目的としている。

そのためには、まずレーザーアブレーションならびにポリマーを介した方法でハイドロキシアパタイトを固定化したチタンインプラントの基本的生体反応データを収集する必要がある。まずは、実験動物にイヌとラットを用い、イヌでは大腿骨にハイドロキシアパタイト固定化チタンインプラントを埋入し、その初期固定について、ラットでは下顎前歯抜歯窩にハイドロキシアパタイト固定化チタンインプラントを埋入し、即時埋入時の初期固定について、インプラントと骨の接合強度、すなわちインプラントを除去するときの値（リムーバルトルク値）を測定して検討した。

3. 研究の方法

その1. 実験動物は、ビーグル犬(成犬、体重約11kg)を用い、実験部位は両側の大腿骨中央とした。全身麻酔下で皮膚を切開、骨膜を剥離した後に、 $\phi 1.2\text{mm}$ のドリルによって骨の切削を行った。その後、レーザーアブレーション法により 3000\AA の厚さのハイドロキシアパタイトをコーティングした純チタン製矯正用ミニインプラントを埋入した。対照群にはコーティングを施していない純チタン製矯正用ミニインプラントのみを埋入した。その後、ただちに皮膚を縫合した。埋入後3、6、12週のインプラントについて、ハンディータイプトルク計を使用して、リムーバルトルク値を測定した。

その2. 実験動物は、10週齢の雌性Wistarラット(清水実験材料、京都)を用いた。実験期間中は固形飼料と水を自由に与えて飼育した。下顎切歯の抜歯はKusunokiらの方法を参考に、抜歯を容易にするための前処置として、抜歯日の14、11、7、4日目の計4回、エーテルによる浅麻酔下で固定器にうつ伏せで固定した後、歯科用タービンを用いて歯間乳頭の高さで下顎切歯を切削した。抜歯はペントバルビタールナトリウムの腹腔内投与による全身麻酔下で行った。ラット用ヘーベルで歯牙を脱臼させた後、持針器で回転を加えないように注意しながら歯牙の長軸に沿って、下顎切歯を牽引抜去した。

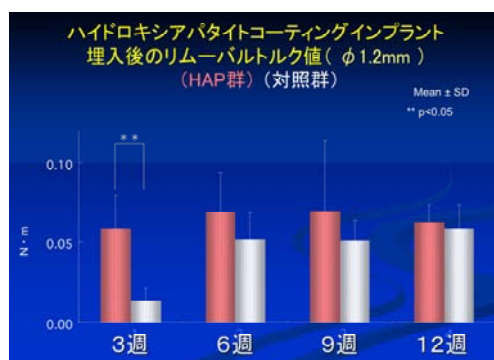
止血確認後、対照群には、直径1.2mm、長さ17.0mmのチタン合金製 (Ti-6Al-4V) インプラント (SNKスクリューポストチタン:デンツプライ三金社製) を即時埋入した。また、実験群には同型のインプラントを用いているが、まずこのインプラントにエチレンビニルアルコール共重合体 (Mn =15000、エチレン含率44mol%、日本合成化学) をコートし、オゾン処理により表面にカルボキシル基を導入した後、塩化カルシウム溶液とリン酸溶液に交互浸漬させ、表面に薄層のハイドロキシアパタイトを導入した。このインプラントを対照群と同様に即時埋入した。

埋入3、6、9週後の実験動物をペントバルビタールナトリウムの過剰投与で安楽死させた後、通法に従って10%中性緩衝ホルマリンによる固定を行った後、下顎骨を取り出した。その後、下顎骨を手指で固定し、ハンディータイプトルク計 (HTG-2N:イマダ社製) にチタン合金製インプラント用ドライバーを装着し、リムーバルトルク値を測定した。統計処理はStudentのt検定を行い、危険率は $p < 0.05$ をもって有意とした。

4. 研究成果

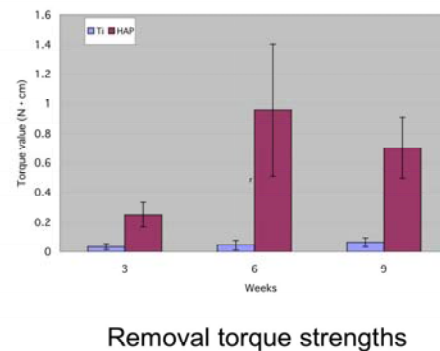
その1. イヌの実験

インプラント埋入後3週のリムーバルトルク値は、ハイドロキシアパタイトコーティングインプラントの方がチタンインプラントに比べ有意に大きかった。 $(p < 0.05)$ この結果は、ハイドロキシアパタイトコーティングがインプラントと骨の接合に対して、埋入後3週では有効に働いていることを示唆しており、ハイドロキシアパタイトは、インプラント埋入後の初期固定に貢献し、アーリーローディングできる可能性が示された。



その2. ラットの実験

埋入3、6、9週後のインプラントと骨の接合をリムーバルトルク測定により評価したところ、実験群のハイドロキシアパタイト固定化チタンインプラントでは、対照群の未処理チタンインプラントに比べ骨との接合が強固であった ($p < 0.01$)。



イヌおよびラットの実験どちらも、実験群では対照群に比べ、除去トルク値は高く、このことは大腿骨埋入ならびに抜歯窩即時埋入ハイドロキシアパタイト固定化チタンインプラント周辺の骨性治癒が対照群に比べ早期に行われたためインプラントの維持力が増加しているものと考えられた。このことから、ハイドロキシアパタイトコーティングはインプラントを残存歯槽骨に埋入する場合ならびに抜歯窩に即時埋入する場合、チタンインプラントに比べインプラント周囲の骨性治癒を早め、インプラントへの早期過重を行うに有利な環境を提供するものとする。

そして、このことはバイオミメティックマトリックスを骨欠損、すなわち今回の研究ではイヌの大腿骨またラットの前歯抜歯窩に、ハイドロキシアパタイトのコーティングを行ったインプラントの埋入と同時にインプラント周囲にセッティングすることにより、相乗的に早期に骨芽細胞の分化・誘導を生来せしめ、早期のインプラントの機能向上を図ることが出来るものとする。

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 2 件)

1. SAKAI D, OKAZAKI J, KOMASA Y. Bone healing of tooth extraction socket in type 2 diabetes. J Oral Tissue Engin, 5, 134-144, 2008, 査読有.
2. OKAZAKI J, KOMASA Y, SAKAI D, KAMADA A, IKEO T, TODA I, SUWA F, INOUE M, ETOH T. A torque removal study on the primary stability of orthodontic titanium screw mini-implants in the cortical bone of dog femursInt, J Oral Maxillofac Surg, 37, 647-650, 2008, 査読有.

[学会発表] (計 4 件)

1. 坂井大吾、岡崎定司、小正 裕、ラット切歯抜歯窩骨反応に対する糖尿病の影響、日本老年医学会雑誌、22、172-173、2007.
2. 楠 良子、岡崎定司、川本章代、坂井大吾、小正 裕、鎌田愛子、池尾 隆、諏訪文彦、卵巣摘出ラットにおける下顎前歯抜歯窩治癒について、日本歯科骨粗鬆症研究会第5回学術大会抄録集 50、2007.
3. 楠 良子、岡崎定司、川本章代、坂井大吾、小正 裕、鎌田愛子、池尾 隆、諏訪文彦、卵巣摘出ラットにおける下顎前歯抜歯窩治癒の組織学的観察、日本補綴歯科学会雑誌、51、420、2007.
4. 岡崎定司、松村和明、玄 丞侏、坂井大吾、野村昌代、川本章代、柿本和俊、小正 裕、ポリマーを介したハイドロキシアパタイト固定化チタンインプラントのラット下顎前歯抜歯窩への埋入、平成 20 年度春期第 51 回日本歯科理工学会学術講演会講演集 228、2008.

[その他]

ホームページ等

http://odu-www.osaka-dent.ac.jp/index_m.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡崎 定司 (OKAZAKI JOJI)
大阪歯科大学・歯学部・准教授
研究者番号：80169094

(2) 研究分担者

鎌田愛子 (KAMADA AIKO)
大阪歯科大学・歯学部・講師
研究者番号：50140215
川本章代 (KAWAMOTO AKIYO)
大阪歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：50368156

(3) 連携研究者

Rachel Waddington
Cardiff University ・ School of
Dentistry ・ Senior Lecturer
Alastair Sloan
Cardiff University ・ School of
Dentistry ・ Lecturer