

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592220
 研究課題名（和文） 細胞特異的親和性を有するバイオマテリアルの開発
 研究課題名（英文） DEVELOPMENT OF NEW BIOMATERIALS CHARACTERIZED BY CELL-SPECIFIC AFFINITY
 研究代表者
 會田 英紀（AITA HIDEKI）
 北海道医療大学・歯学部・講師
 研究者番号：10301011

研究成果の概要：本研究の目的は、細胞レベルでの生体材料の最適化をはかることである。デンタルインプラントは上皮を貫通して顎骨内に固定されるのがその特徴で、部位によって接している生体組織が異なるため、材料表面に求められる生物学的特性が部位によって異なる。本研究の成果より、チタン表面を量子線照射処理することにより細胞特異的親和性（Cell-selective affinity）を付与できる可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

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：バイオマテリアル、チタン、生体機能化、細胞特異的親和性

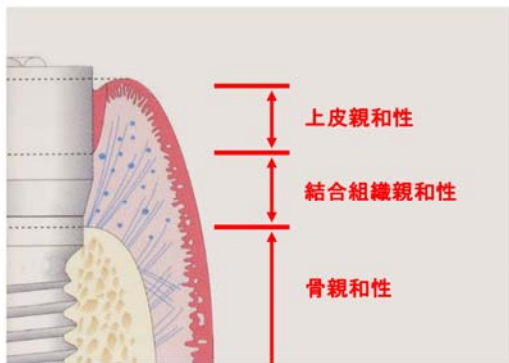
1. 研究開始当初の背景

Brånemark らによりチタンインプラントを用いたオッセオインテグレートドインプラントの治療が開始されて40年が経過し、この間多くのEBMに基づく臨床成績の評価等にも支えられてヨーロッパ、米国、アジアの世界各地で臨床応用され、今日では予知性の高い治療法としての地位を確固たるものにしていく。また、この40年の間にインプラントの表面に関しても、機械研磨された純チタンに代表される第一世代サーフェイスから、酸処理、サンドブラスト、陽極酸化等の各種

表面処理された第二世代サーフェイスへと改良が行われており、より早期に強固なオッセオインテグレーションを獲得することが可能となっている（Albrektssonら, Int J Prosthodont, 2004）。

これまでインプラント治療に関して、その良好な長期的予後が発表されてきているものの術後の合併症は少なからず報告されており、インプラント周囲炎に代表される深刻な合併症のために術後撤去せざるを得ない症例もあり、インプラント治療の長期的維持を脅かすものとなっている。インプラント周囲炎の原因とし

では感染と咬合性外傷が考えられているが、これまでは後者に対するアプローチを試みた研究は多いが、感染を防御するための有効な改善は手つかずのままである。デンタルインプラントは上皮を貫通して顎骨内に固定されるものであるため、部位によって接している生体組織が異なるため、マテリアル表面に求められる生物学的特性が部位によって異なる。具体的には、インプラントアバットメント部では、上方は上皮親和性 (Epithelial-philic)、その下方は結合組織親和性 (Fibro-philic)、さらにインプラント体部では、骨親和性かつ結合組織非親和性 (Bone-philic & Fibro-phobic) であることが望ましい。



インプラント各部に求められる生物学的特性

2. 研究の目的

本研究の目的は、量子線照射処理により表面エネルギーを変えたバイオマテリアル上での各種培養細胞の挙動を調べることで、各細胞に最適な表面改質法を確立することである。さらに、これらの改質法を組み合わせることにより、インプラント各部表面に選択的に細胞特異的親和性を付与した生物学的最適設計の可能性を検討する。

3. 研究の方法

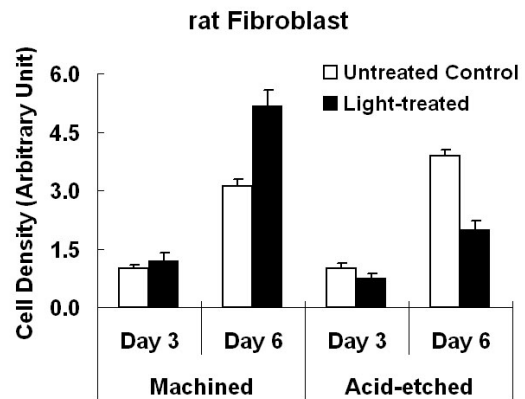
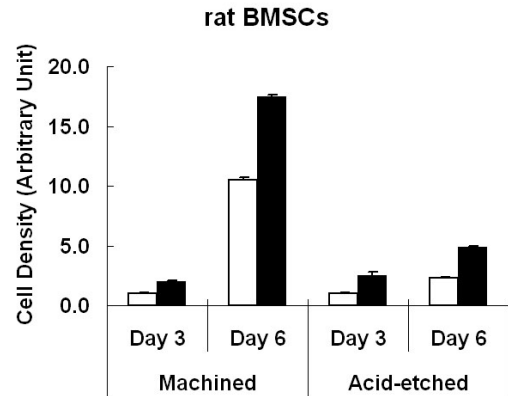
12-well cell culture plate で培養実験を行うことを想定して、各 well に適合するように直径 20.0 mm、厚さ 1.0 mm の寸法で下記の3種類のディスクを準備する (各対照群)。さらにそれぞれのディスクに所定の条件で量子線を照射し、実験群とする。

- ① 機械研磨された純チタン
- ② 酸処理された純チタン
- ③ ジルコニア

8週齢の雄ラットの骨髄から採取し分離培養した①骨芽細胞、上顎歯肉から採取し分離培養した②線維芽細胞ならびに③上皮細胞を前述の6つのサーフェスを有するディスク上に播き、初期細胞接着ならびに増殖能を調べた後に、RT-PCR法により各細胞に特徴的なマーカーとなる遺伝子の発現パターンを解析することにより、播種した細胞の機能および成熟度を評価する。

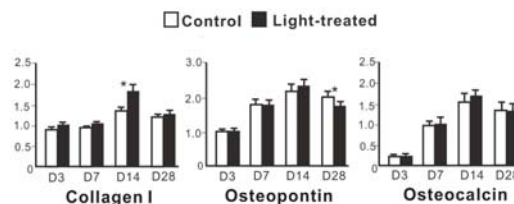
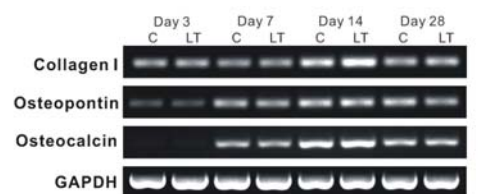
4. 研究成果

(1) 酸処理された純チタンディスク (対照群) と量子線照射した酸処理された純チタンディスク (実験群) 上に播種した骨芽細胞と線維芽細胞の増殖を *in vitro* で調べたところ、骨芽細胞は実験群の方が良く増えたが、線維芽細胞はあまり増えないという結果を得た。

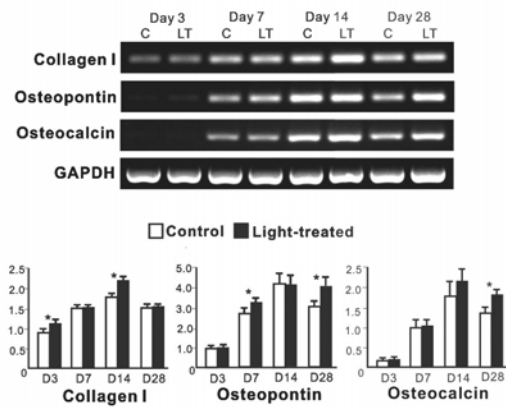


(2) 骨芽細胞に関しては、機械研磨された純チタンならびに酸処理された純チタンの両者において、量子線照射処理することにより骨関連遺伝子の発現レベルは、同程度かわずかに上昇する傾向を認めた。

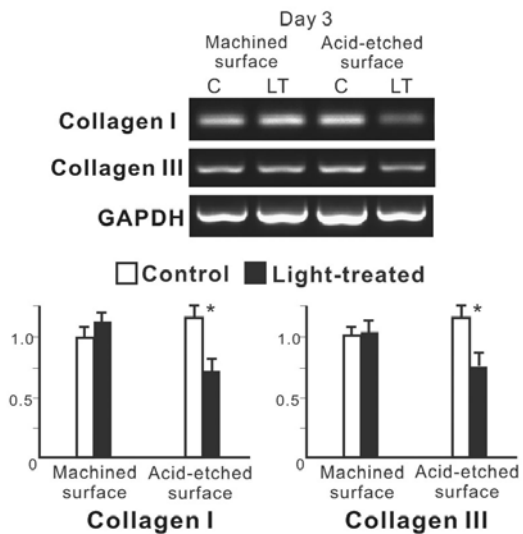
Machined surface



Acid-etched surface

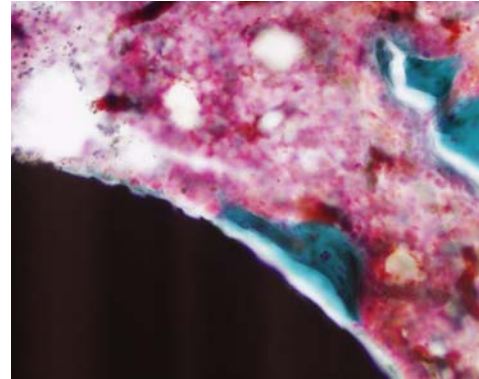


一方で、線維芽細胞に関しては、機械研磨された純チタンでは骨芽細胞と同様の傾向を示したが、酸処理された純チタン上では量子線照射処理により、線維芽細胞の機能がむしろ低下している可能性が示唆された。このことは、先の細胞増殖のデータと一致しており、酸処理された純チタンでは本実験で用いた量子線照射処理により細胞特異的親和性を付与できる可能性が示された。

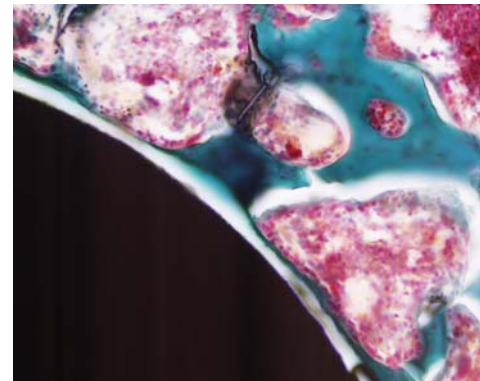


なお、当初予定していたジルコニアディスクならびに上皮細胞の挙動に関しては、本研究期間内で一貫した傾向を示すデータが得られなかった。今後、組成の異なる新たなジルコニアディスクの採用ならびに上皮細胞の分離培養法に関して再度検討を行い、本研究プロジェクトを継続していく予定である。

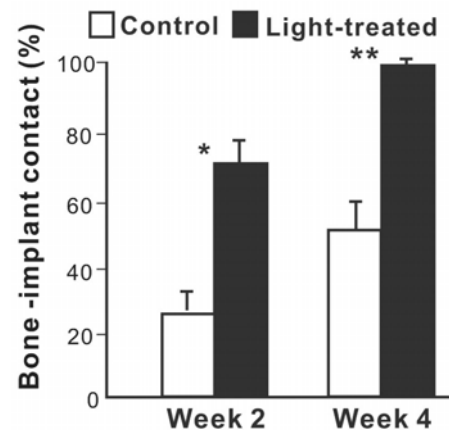
(3) 酸処理された純チタンシリンダー形状のインプラント（対照群）と量子線照射処理したもの（実験群）をラットの大腿骨に埋入して得られた組織学的切片より実験群では、結合組織の進入を阻止するかのようにインプラント周囲を完全に骨で取り囲む像が認められた。

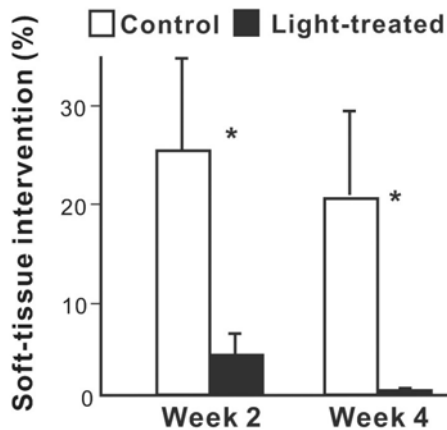


Untreated acid-etched Ti (2W)



Light-treated acid-etched Ti (2W)





以上の結果より、量子線照射処理により細胞特異的親和性 (Cell-selective affinity) を付与できる可能性が示唆された。そこで、今後はさらにチタン以外の他のバイオマテリアルも対象として、上皮細胞の挙動も含めたより詳細な検索を行っていく予定である。

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4件)

- ① Aita H, Hori N, Takeuchi K, Yamada M, Suzuki T, Anpo M, Ogawa T, The effect of ultraviolet functionalization of titanium on integration with bone, *Biomaterials*, 30, 1015-25, 2008、有
- ② Aita H, Ogawa T, *Nanotechnology for implant dentistry*, バイオマテリアル-生体材料, 26, 41-53, 2008、無
- ③ 會田英紀, 大畑 昇, 小川隆広, 異なった表面性状を有するチタン上でのラット骨髄由来間質細胞の骨関連遺伝子発現: デキサメタゾン非添加骨誘導培養系を用いた予備的研究, *日口腔インプラント誌*, 20, 250-257, 2006、有

[学会発表] (計11件)

- ① 會田英紀, 光誘起超両親媒化に伴う炭化水素の減少はチタン表面へのタンパク質吸着と細胞接着の増加に関与する, 第26回日本骨代謝学会学術集会, 平成20年10月29日, 大阪
- ② 會田英紀, Enhanced osteoblastic cell initial behavior on light-induced super-amphiphilic titanium surface, *IADR/CADR 86th General Session*, 平成20年7月5日, トロント

- ③ 會田英紀, 光誘起超両親媒化処理により、チタン表面への間葉系幹細胞の接着は増加する, 平成19年度日本補綴歯科学会東北・北海道支部学術大会, 平成19年11月11日, 小樽

[図書] (計0件)

該当無し

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

該当無し

○取得状況 (計0件)

該当無し

[その他]

該当無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

會田 英紀 (AITA HIDEKI)

北海道医療大学・歯学部・講師

研究者番号: 10301011

(2) 研究分担者

該当無し

(3) 連携研究者

該当無し

(4) 研究協力者

小川 隆広 (OGAWA TAKAHIRO)

カリフォルニア大学・歯学部・准教授