

平成22年3月31日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19592236

研究課題名（和文）

チタン酸Ca-非晶質炭素複合物をナノフィラーとするライナー材の活性象牙質との反応

研究課題名（英文） Basic research of a novel dental material: Calcium Titanium Oxide-Amorphous Carbon for applying the lining material

研究代表者

高木 亨 (TAKAGI TORU)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：20124696

研究成果の概要（和文）：

我々は新規生体材料として、チタン酸カルシウム-非晶質炭素複合物を開発した。本材料の歯科材料への応用を目的とし、物性、細胞反応、生体反応について検討した結果、優れた物性を示し、また、生体反応においても細胞活性を向上させることが明らかとなった。本成果から、本材料は歯科材料のみならず、医科領域への応用や、工業への応用も期待できる材料であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We have developed modified thermal decomposition method to obtained “calcium titanium oxide-amorphous carbon” (CaTiO₃-aC). The purpose of the research was to evaluate the effect of this material as nanoparticles for applying the dental material. We analyzed the chemical composition of the particles and studied it's influence on the cell. Our results suggest that CaTiO₃-aC plays a dominant effect on cell response, which could be considered as an important biomaterial for not only dental materials but also medical and industrial materials.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：口腔病理学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：歯科材料、生体材料、チタン酸カルシウム、ナノ粒子、裏装材

1. 研究開始当初の背景

我々はインプラント（チタン）界面に熱分解法を工夫し、ディッピング法によりコーティング、500-650℃急速焼結により、ナノ粒子

を膜状としたチタン酸カルシウム-非晶質炭素複合物 (CaTiO₃-aC) というコーティング複合物を開発した。

非晶質炭素 (-aC) は接着のぬれに効果的で

ある。

CaTiO₃-aCは基本ナノ構造が粒径（10～20nm）であることから、ナノ粒子として、歯科用充填材料、コンポジットレジン、ナノフィラー材やライナー材（裏装材）、根充材として利用できることが示唆された。

歯質接着材の現状：最近の研究でボンディング材（高機能モノマー）、酸エッチングによる樹脂含浸象牙質層効果への疑問が生じている。

病理学的には生きている象牙質（コラーゲン）と現行のモノマーに接着性があるとは考えられない。しかも、歯繊維（細胞突起）は1平方ミリメートルに3～5万本あり、象牙質は多孔性の生体内組織と考えられる。

最近の研究ではボンディング材（機能性モノマー）によって作られる樹脂含浸層は歯細管からの体液により加水分解されることが発表されている。（DeMunck 2003）それにより接着性劣化と、歯髄為害性が生ずるだろう。これらの解決には新規材料CaTiO₃-Cをナノフィラーとするライナー材によって裏装し、象牙質界面を無機化し、次いで常法のボンディング材を利用することが考えられる。

2. 研究の目的

本プロジェクトは、チタン酸カルシウム（CaTiO₃）に非晶質炭素を含有させて開発した新規生体活性物質、チタン酸カルシウム-非晶質炭素複合物（CaTiO₃-aC）の歯科用材料（裏装材・根充材・コンポジットレジンのナノフィラー等）への応用を目的としている。

3. 研究の方法

(1) CaTiO₃-aC ナノ粒子の改良アルコキッド法による合成及び、基本的な性質の解析

①EELS分析

②EF-TEM分析

③KUSA細胞を用いた細胞毒性実験

④ゼータ電位解析

(2)加熱時間の違いによるCaTiO₃-aCの物性及び細胞に与える影響について

①加熱時間を30分、2時間、12時間の3条件でCaTiO₃-aCを作製、ジェットミルおよびフィルターを用いナノ粒子とし、SEMによる粒径計測、XRD、FT-IR解析を行った。

②骨原性細胞（KUSA cell）を用いて培養実験を行った。培地に各条件で作製した粒子を添加し、MTS assayによる細胞増殖、アルカリホスファターゼ（ALP）活性測定による細胞分化について検討した。

(3) チタン酸カルシウム-非晶質炭素複合物（CaTiO₃-aC）の細胞反応、生体反応について検討した。具体的には、チタンプレートに本材をコーティングし、細胞への影響を培養実験により検討した。

CaTiO₃-aC及びハイドロキシアパタイト

(HA)コーティング溶液を作製し、我々が新規に開発したディッピング法、改良型熱分解法にてチタンプレートへのコーティングを行った。各コーティングプレート及びチタンプレート上でマウス骨芽細胞（MC3T3-E1）を培養した。

4. 研究成果

(1)CaTiO₃-aCナノ粒子の改良アルコキッド法による合成及び、基本的な性質の解析

①EELS分析により、合成されたCaTiO₃-aCは結晶構造中に非晶質炭素を含んでいたことから、この物質は従来の乾式法により炭酸カルシウム（CaCO₃）と二酸化チタン（TiO₂）の混合粉末を1200℃で加熱して作製される合成チタン酸カルシウム（ペロブスカイト、CaTiO₃）とは異なる、新規の複合物であることを明らかにした。

②EF-TEM分析により、CaTiO₃-aC顆粒は直径

10-20nmの微小結晶が固まった集合体(多結晶)であることを明らかにした。

③KUSA細胞を用いた細胞毒性実験により、CaTiO₃-aCは細胞毒性が見られず、また石灰化を誘導することを明らかにした。

④骨誘導性生体活性材料の性質として重要な、負の表面電荷を持ち且つ長期にわたり溶解性が低いという性質に関するハイドロキシアパタイト (HA) との比較実験より、CaTiO₃-aCはHAと同じく負荷電かつ、HAより低い溶解性を示すことを明らかにした。

(2)加熱時間の違いによるCaTiO₃-aCの物性及び細胞に与える影響について

①SEM解析の結果、粒径は600~1000nmであった。XRD解析では30分および2時間の条件で作製した粒子にCa₃CO₃のピークが確認されたが、12時間加熱した粒子にはCa₃CO₃はみられなかった。しかし、FT-IR解析では3条件の粒子にCO₃が確認された。

②培養実験ではMTS assayおよびALP活性ともに加熱時間による有意な差は認められず、高い値を示した。

以上の結果から、アルコキシド法による加熱時間は30分で十分であり、本法により作製されたCaTiO₃-aCナノ粒子は細胞活性を向上させることを明らかにした。

(3) チタン酸カルシウム-非晶質炭素複合物 (CaTiO₃-aC) の細胞反応、生体反応について

細胞接着試験は、1、3、24時間後に評価し、CaTiO₃-aCは、HAより接着能が高いことが示唆された。細胞増殖実験は、1、3、7日で細胞増殖能をMTSアッセイにて評価し、チタン>CaTiO₃-aC>HAの順で細胞増殖が減少したことが示唆された。細胞分化能実験は1、3、7、14、21日でALP活性測定によって評価し、TiとCaTiO₃-aCは、同様の高いALP活性を示した。

以上の結果より、新規生体材料CaTiO₃-aCは、HAと比較して細胞増殖能、細胞接着能、

細胞分化能において優れた材料であると考えられ、歯科材料のみならず、医科領域への応用や、工業への応用も期待できる材料である。

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21件)

①Inoue M, Rodriguez AP, Nagai N, Nagatsuka H, Legeros RZ, Tsujigiwa H, Inoue M, Kishimoto E, Takagi S, Effect of Fluoride-substituted Apatite on In Vivo Bone Formation.、J Biomater Appl.、査読有、2010、[Epub ahead of print]

②Rodriguez AP, Tsujigiwa H, Gunduz M, Cengiz B, Nagai N, Tamamura R, Borkosky SS, Takagi T, Inoue M, Nagatsuka H, Influence of the microenvironment on gene and protein expression of odontogenic-like and osteogenic-like cells.、Biocell、査読有、33、2009、pp. 39-47

③Nagai N, Okauchi M, Rodriguez A, Gunduz M, Hu H, Kubota M, Nagaoka N, Inoue M, Nagatsuka H, Takagi T, Akao M, Development of New Titanium Coating Material (CaTiO₃-aC) with Modified Thermal Decomposition Method、Journal of Hard Tissue Biology、査読有、17、2008、pp. 47-54

④Okauchi-Yabuuchi M, Tamamura R, Nagaoka N, Takagi S, Kishimoto E, Takagi T, Rodriguez A, Inoue M, Nagatsuka H, Akao M, Nagai N, Chemical Analysis of a Novel Coating Material, CaTiO₃-aC.、Journal of Hard Tissue Biology、査読有、17、2008、pp. 115-120

[学会発表] (計29件)

①井上美穂、新規生体材料チタン酸カルシウム-炭酸カルシウム (CaTiO₃-CaCO₃) の細胞

学的検討、第51回歯科基礎医学会学術大会・総会、平成21年9月11日、新潟

②玉村 亮、新規コーティング材 CaTiO₃-aC の組織学的検討、第18回硬組織再生生物学会総会・学術大会、平成21年9月5日、札幌

③M. Inoue、Effect of CaTiO₃-C coating by thermal decomposition method on osteoblastic cell response、The 4th International Symposium on Apatite and Correlative Biomaterials、平成20年9月12日、フィリピン

④松田寛之、新規生体材料（チタン酸カルシウム-非晶質炭素複合物 CaTiO₃-aC）の細胞学的検討、第17回硬組織再生生物学会学術大会・総会、平成20年8月30日、徳島

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高木 亨 (TAKAGI TORU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・非常勤講師
研究者番号：20124696

(2) 研究分担者

永井 教之 (NAGAI NORIYUKI)
岡山大学・名誉教授
研究者番号：90085770

長塚 仁 (NAGATSUKA HITOSHI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：70237535

鈴木 一臣 (SUZUKI KAZUOMI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：30050058

山本 敏男 (YAMAMOTO TOSHIO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30107776

入江 正郎 (IRIE MASAO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：90105594

辻極 秀次 (TSUJIGIWA HIDEETSUGU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：70335628

(3) 連携研究者

なし