

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 29 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 年度～2011 年度

課題番号：22791939

研究課題名（和文）優れた生体適合性を長期的に維持できるチタンインプラントの表面改質

研究課題名（英文）An extended biocompatibility of surface modified titanium implant.

## 研究代表者

柴田 陽 (Shibata Yo)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：30327936

研究成果の概要(和文):チタンインプラント生体適合性は、加工直後の新鮮面がピークであり、表面に吸着する疎水性炭化水素の影響により経時的に悪化することが、「チタンの生物学的老化」という造語を用いて米国の一研究機関から強調されており研究者や臨床家の間に不安と動揺が広がっている。このため、加工直後の理想的な生体適合性を持続的に維持できるチタンインプラントの表面改質が求められている。本研究の目的は、放電陽極酸化処理によりチタンの持続的生体適合性達成することである。電解液中で放電陽極酸化処理したチタンおよび未処理のチタン表面への、疎水性炭化水素の吸着および親水性の変化による、経時的な生体適合性の変化を検討した。研磨チタン、陽極酸化チタンおよび塩化ナトリウム溶液中で放電陽極酸化処理したチタン(Ti-Cl)を実験室の雰囲気中で保管し、表面に吸着する有機物、主に炭化水素の経時の上昇をX線光電子分光分析法により経時的に測定した。同時に、試料表面に吸着した酸素のピーク分解により、陽極酸化処理したチタン上に発生する活性酸素を検出した。各試料表面の経時的な親水性の変化を測定する。親水性の変化は、試料表面に脱イオン水を接触させ、広がった水滴と試料表面との接触角(°)を測定。吸着炭化水素と親水性の変化に伴う、細胞接着性タンパク吸着能を各試料上で測定。血清培地に浸漬した試料表面に、各種細胞接着性タンパクを認識する蛍光ラベル抗体分子を反応させた。蛍光顕微鏡下で撮影した画像解析により、各試料表面に対する細胞接着性タンパクの接触面積を測定。陽極酸化チタン表面に発生するフリーラジカルの細胞遺伝子レベルの有害性を検討。各試料に骨芽細胞を播種し、細胞膜インテグリンから石灰化までの mRNA を RT-PCR 法を用いて詳細に分析した。Ti-Cl ではフリーラジカルの発生により経時的な劣化が見られず、チタンインプラントの表面処理として有効である。

研究成果の概要（英文）：Photo-functionalized radical reactions on  $\text{TiO}_2$  have been correlated with adsorption of organic impurities and decreasing hydrophilicity of titanium-based biomaterials. Such reactive oxygen species (ROS) spontaneously generated on oxidized titanium surfaces may also have important roles against time-dependent degradation of biological ability and adherent microorganisms. This study examined *in vitro* biological ability as a function of time and antimicrobial activity on oxidized titanium surfaces without photo-functionalization. Mechanically polished titanium and thermally oxidized titanium surfaces that had been stored for 4 wks showed adsorbed organic impurities with decreased surface hydrophilicity. Even after the storage period, anodically oxidized titanium surfaces enabled super-hydrophilicity without adsorption of organic impurities, because of the ROS and the hydrophilic functional groups generated on the surfaces. The osteogenic gene expressions of osteoblasts cultured on anodically oxidized titanium surfaces with or without storage were significantly higher than those on thermally oxidized titanium and polished titanium surfaces. Titanium surfaces anodically oxidized in a solution with chloride achieved

antimicrobial activity against an oral microorganism due to the amount of ROS generated on the surface. Thus, titanium anodically oxidized in solution with chloride may have potential use for titanium-based internal fixation devices.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22年度	2,500,000	750,000	3,250,000
23年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

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：チタン，インプラント，陽極酸化，表面分析

#### 1. 研究開始当初の背景

平均寿命の向上と急速な高齢化により，体の機能を喪失した患者が人工材料に頼らざるを得ない期間も長くなりつつある．このため歯科治療では従来の義歯に対する不満も増加し，これに代わる理想的な人工歯根（インプラント）が求められている．生体での安定性と同時に，咬合力の負担が求められるインプラントでは，物理的・化学的安定性の高い金属生体材料であるチタンおよびその合金が用いられる．チタンは一次加工あるいは二次加工による表面改質により，生体適合性を向上させることが，これまでの基礎研究により証明されており，様々な表面改質が臨床応用されている．一方，チタンインプラント生体適合性は，加工直後の新鮮面がピークであり，表面に吸着する疎水性炭化水素の影響により経時的に悪化することが，「チタンの生物学的老化」という造語を用いて米国の一研究機関から強調されており研究者や臨床家の間に不安と動揺が広がっている．このため，加工直後の理想的な生体適合性を持続的に維持できるチタンインプラントの表面改質が求められている．

#### 2. 研究の目的

本研究の目的は，チタンインプラントが理想的な生体適合性を達成し，さらにその効果が長期的に保管しても維持される表面改質方法を開発することである．

#### 3. 研究の方法

本研究では，表面研磨後に酸化膜を十分に回復させたチタン，陽極酸化チタンおよび Ti-Cl

を自然放置し，表面に吸着する汚染物質，特に炭化水素相対比と親水性の経時的变化を検討する．陽極酸化チタンおよび Ti-Cl で炭化水素の減少と親水性の向上が期待できる．これらの特性は，細胞接着性タンパクの表面吸着を促進させ，骨芽細胞の初期接着と増殖を向上させることが知られている．したがって，研磨チタン，陽極酸化チタンおよび Ti-Cl 表面の細胞接着性タンパク吸着能や，細胞膜インテグリンによる細胞増殖回路に関連する mRNA を検討した．

#### 4. 研究成果

研磨チタン，陽極酸化チタンおよび Ti-Cl を実験室の雰囲気 で保管し，表面に吸着する有機物，主に炭化水素の経時の上昇を X 線光子分光分析法を用いて経時的に測定した．同時に，試料表面に吸着した酸素のピーク分解により，陽極酸化処理したチタン上に発生する活性酸素を検出した．各試料表面の経時的な親水性の変化を測定する．親水性の変化は，試料表面に脱イオン水を接触させ，広がった水滴と試料表面との接触角（°）を測定．吸着炭化水素と親水性の変化に伴う，細胞接着性タンパク吸着能を各試料上で測定．血清培地に浸漬した試料表面に，各種細胞接着性タンパクを認識する蛍光ラベル抗体分子を反応させた．蛍光顕微鏡下で撮影した画像解析により，各試料表面に対する細胞接着性タンパクの接触面積を測定．陽極酸化チタン表面に発生するフリーラジカルの細胞遺伝子レベルの有害性を検討．各試料に骨芽細胞を播種し，細胞膜インテグリンから石灰化までの mRNA を RT-PCR 法を用いて詳細に分析

した。Ti-Cl ではフリーラジカルの発生により経時的な劣化が見られず、チタンインプラントの表面処理として有効である。

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 5 件)

1. Iwai-Yoshida M., Shibata Y., Wurihan, Suzuki D., Fujisawa N., Tanimoto Y., Kamijo R., Maki K. and Miyazaki T.: Antioxidant and osteogenic properties of anodically oxidized titanium. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials** 2012 DOI: **10.1016/j.jmbbm.2012.01.016** (article in press)
2. Murakami A., Arimoto T., Suzuki D., Iwai-Yoshida M., Otsuka F., Shibata Y., Igarashi T., Kamijo R. and Miyazaki T.: Antimicrobial and osteogenic properties of a hydrophilic-modified nanoscale hydroxyapatite coating on titanium. **Nanomedicine** 8:374-382, 2012
3. Shibata Y., Suzuki D, Omori S, Tanaka R, Murakami A, Kataoka Y, Baba K, Kamijo R, Miyazaki T.: The characteristics of *in vitro* biological activity of titanium surfaces anodically oxidized in chloride solutions. **Biomaterials** 31:8546-8555, 2010
4. Tanaka R., Shibata Y., Manabe A., Miyazaki T.: Micro structural integrity of dental enamel subjected to two tooth whitening regimens. **Archives of Oral Biology** 55: 300-308, 2010
5. Deng J.Y., Arimoto T., Shibata Y., Omori S., Miyazaki T., Igarashi T.: Role of chloride formed on anodized titanium surfaces against an oral microorganism. **Journal of Biomaterials Applications** **25:179-189, 2010**

[学会発表] (計 5 件)

1. Y. Shibata, M. Iwai-Yoshida, Y. Tanimoto, H. Nakano, K. Maki, T. Miyazaki: Antimicrobial and osteogenic properties of a hydrophilic-modified nano scale hydroxyapatite coating on titanium. ICMOBT 2011
2. M. Iwai-Yoshida, Y. Shibata, Y. Tanimoto, H. Nakano, K. Maki, T. Miyazaki: The in

vitro characteristics of anodically oxidized titanium. ICMOBT 2011

3. Y. Tanimoto, R. Uchida, H. Teshima, N. Nishiyama, Y. Shibata, T. Miyazaki: Physical properties of sintered tricalcium phosphate laminates with addition of milled Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-fibers. ICMOBT 2011
4. R. TANAKA, Y. SHIBATA, D. SUZUKI, A. MANABE, H. HISAMITSU, and T. MIYAZAKI: Antimicrobial activity and osteoblastic responses to anodically oxidized titanium surfaces. IADR 2011
5. 柴田 陽, 宮崎 隆: チタンインプラントの高機能化を目指した表面改質. 日本口腔インプラント学会 2010

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計◇件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柴田 陽 ( Shibata Yo )  
昭和大学・歯学部・助教  
研究者番号 : 30327936

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：