

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592886

研究課題名(和文) 暫間インプラント/生体組織間の電子顕微鏡下での界面観察

研究課題名(英文) Interface observation under the electron microscope between an temporary implant and living body tissue

研究代表者

白井 肇(Hajime, Shirai)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：00263591

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：インプラントの素材として用いられる純チタンは骨組織との間にosseointegrationと呼ばれている軟組織の介在のない接合界面を形成することが広く知られている。一方、暫間インプラントとの素材として用いられているチタン合金(Ti6Al4V)は、生体組織との界面観察に関する情報が少なく不明な点が多い。そこで、ラットを用いて、両者の界面観察を行った結果、良好な接合界面が得られているチタン合金の最表層には、アルミならびにバナジウムが検出限界未満であり、チタンを多く含む層となっていた。本研究から、このことが、チタン合金においても良好な臨床結果が得られている原因の一つであると推察された。

研究成果の概要(英文)： It is known widely that the pure titanium can form a direct interface between an implant and bone without intervening soft tissue, in so-called -osseointegration. On the other hand, the Ti6Al4V alloy used as a temporary implant, there is little information about interface observation with a living body tissue. Then, both interface observation was performed using the rats. The XPS revealed that the amounts of aluminum(Al) and vanadium(V) were below the detection limit on the superficial surface of the Ti6Al4V alloy implant. On the other hand, The EDS map of Ti disclosed that the outer layer contained more Ti than the inner layer.

From this research, this was imagined to be one of the causes by which the good clinical results are obtained also in the Ti6Al4V alloy implant.

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：インプラント 界面

1. 研究開始当初の背景

咬合崩壊した症例に対して、暫間インプラントによる早期の咬合回復を図ることが、重度歯周病に罹患した歯列の保存ならびに顎運動の異常習癖の改善に対して、有効であることが臨床的に報告されてきていた。これらのインプラントは、学術的に生体適合性が確認されている純チタンではなく、チタン合金が使用されているにもかかわらず、生体組織との界面観察についての報告は極めて少なく、臨床的に有効な結果が得られている原因については、推測に域を出ず、不明な点が多かった。

2. 研究の目的

暫間インプラント / 生体組織間を透過電子顕微鏡下で観察するためには、界面にダメージを与えずかつ目的箇所を明確にした試料を作製する必要がある。そこで本研究では、ラットの顎骨に純チタンならびにチタン合金製の暫間インプラントを埋入して得られた標本を、イオン研磨法で断面試料を作製し、電界放射型走査電子顕微鏡(FE-SEM)で観察した後、Focused Ion Beam法を用いて、目的箇所を薄膜加工し、電子顕微鏡下で観察することによって、接合界面での様相を明らかとすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物実験

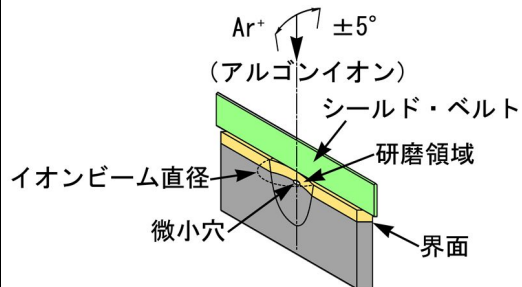
使用動物：Wistar系雄性ラット 7匹×2群

動物実験の方法：14週齢にて購入、1週間の馴化後、ペントバルビタールナトリウム(25.6mg/kg)腹腔内投与による全身麻酔下にて、ラットの右側脛骨に対して、1群(7匹)には、チタニウム合金(Ti6Al4V)製のインプラントを埋入、残る1群(7匹)には表面に特殊な表面処理を施した純チタン製の自家製インプラントを埋入した。

インプラント埋入後、5週後、ペントバルビタールナトリウム(56.0mg/kg)腹腔内投与にて安楽死させ、脛骨を採取し、試料作製に供した。

(2) イオンスライサによる走査電子顕微鏡用の試料作製

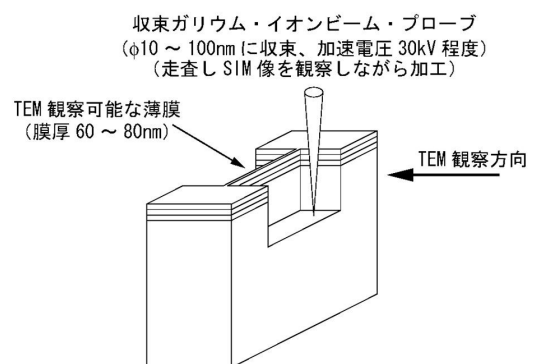
イオンスライサは、アルゴンイオンを低角に照射することにより試料のダメージを最小限に抑えながら超薄切片を作製するための装置である(下図)。



採取した試料は、固定、脱水、エポキシ樹脂包埋後、トリミングし、イオンスライサを用いて研磨、走査電子顕微鏡観察試料を作製した。

(3) Focused Ion Beam (FIB) による試料再加工

観察部位が特定したら、ダイシング・ソーにて30μm程度の膜厚に切断、FIB/TEM兼用ホルダに固定し、FIB装置にてガリウム・イオンビーム・プローブ(下図)により目的箇所を薄膜加工して透過電子顕微鏡観察試料を作製した。



(4) 電界放射型走査電子顕微鏡 (FE-SEM) 下で試料観察

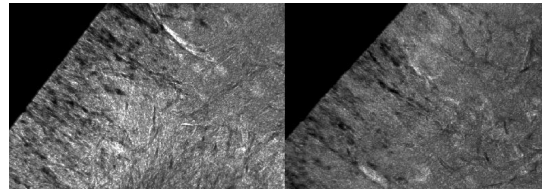
チタニウム合金 (Ti6Al4V) と純チタンインプラントのインプラント / 生体組織界面の違いを電界放射型走査電子顕微鏡 (FE-SEM) 下で観察した。試料観察に用いた FE-SEM は、電子銃に冷陰極電界放出型電子銃を対物レンズには強励磁コニカルレンズを用いた電界放射型走査電子顕微鏡である。従来の 5000 倍程度での観察よりさらに TEM 観察に近い倍率で高分解能下での観察が可能である。また、透過電子顕微鏡 (TEM) 観察試料とは異なり、微小部位と広域観察が同一断面で観察できることから、本研究の様な、観察部分が数百マイクロンに及ぶ様な広域構造の断面観察に適していると考えられている。

(5) 界面試料をエネルギー分散型 X 線分析 (EDS) および X 線光電子分光 (XPS) を用いて分析

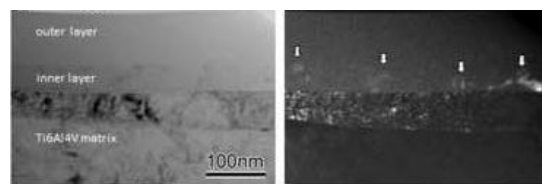
陽極酸化を施されたチタニウム合金 (Ti6Al4V) 製のインプラントの表層構造をエネルギー分散型 X 線分析 (EDS) および X 線光電子分光 (XPS) を用いて分析した。

4. 研究成果

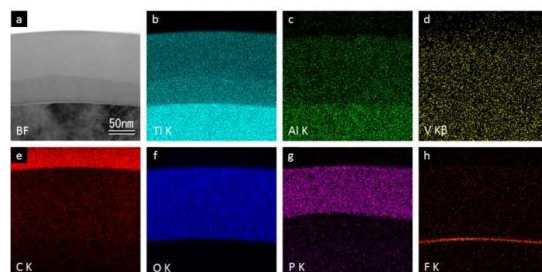
(1) インプラントの組成が純チタンであっても、チタン合金であっても、電子顕微鏡用試料作製において、骨と接触している部分に限って観察するため、その表層に大きな違いは認められなかった。全体像としての骨接触率等で比較するためには、むしろ低倍率での観察が適していると考えられるが、チタン合金の表層においても純チタンの場合と同様に osseointegration している界面が存在することが明らかとなった。その電子顕微鏡像を右上図に示す。



(2) FE-SEM 下で観察した結果、陽極酸化処理されたインプラントの表面の酸化被膜層は、下左図に示す様に約 50nm の中間層と約 100nm の外層の 2 層に分かれていることが明らかとなった。下右図は暗視野下の像である。輝線は中間層と外層との間において観察された。



(3) エネルギー分散型 X 線分析 (EDS) および X 線光電子分光 (XPS) を用いて分析した結果、チタンは外層に多く含まれていることに比較して、アルミ、バナジウム、リンは中間層に多く存在していることが明らかとなった。(下図)



チタン合金に対して陽極酸化処理を施すことによって、チタン合金の表層は改質され、アルミやバナジウムはほとんど最表層に存在しなくなっていることが明らかとなった。この現象は、インプラント表面の物理的な表面構造の改質に加えて、臨床的に良好な結果をもたらしていることの一因であること示唆すると同時に、人体にとって有害であると考えられているアルミニウムやバナジウムのイオンリリースを抑制している可能性が高いことが示唆された。

チタン合金の陽極酸化処理の表層構造についてEDSおよびXPSを用いて分析し、その表層がチタンに富んだ層となっていることを示唆したのは国内外においても始めてであり、純チタンではなく、人体に有害かもしれないと考えられているアルミやバナジウムの人体内への放出がチタン合金の表面を陽極酸化処理することによって抑えられる可能性を示している本データは臨床家にとって大きな安心感を与えるものであると考えられるため、現在関連学会誌に投稿中である。

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0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

特になし

6. 研究組織

(1)研究代表者

白井 肇 (SHIRAI HAJIME)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：00263591

(2)研究分担者

鳥井 康弘 (TORII YASUHIRO)

岡山大学・大学病院・教授

研究者番号：10188831

皆木 省吾 (MINAGI SYOGO)

岡山大学・医歯薬総合研究科・教授

研究者番号：80190693

河野 隆幸 (KONO TAKAYUKI)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：80284074

鈴木 康司 (SUZUKI KOUJI)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：30304322

長岡 紀幸 (NAGAOKA NORIYUKI)

岡山大学・医歯薬総合研究科・助教
研究者番号：70304326

(3)連携研究者

なし