

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23792413

研究課題名（和文） 金属ガラス製矯正用ミニスクリューの開発

研究課題名（英文） Development of the orthodontic mini-screw made by bulk metallic glasses

研究代表者

宮島 悠旗（Miyajima Yuki）

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常勤講師

研究者番号：30583372

研究成果の概要（和文）：本研究では、 $Zr_{70}Ni_{16}Cu_6Al_8$ 金属ガラスの矯正用ミニスクリューとしての有用性を検討するため、生物学的見地から解析した。その結果、In vitro において金属ガラス上における骨髄間葉細胞が接着、増殖したことが認められ、骨分化誘導培地にて培養すると骨分化することから、良好な生体親和性を有することが明らかとなった。また、In vivo での埋入実験においても明らかな炎症反応は認められず、生体内で安定することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In this study, in order to evaluate the usefulness of $Zr_{70}Ni_{16}Cu_6Al_8$ bulk metallic glasses (Zr-BMG) as a mini-screw for the orthodontic treatment, we analyzed from biological viewpoint. As a result, since bone-marrow mesenchymal cells on the Zr-BMG have the potential of focal adhesion, proliferation and osteogenic differentiation when cultured by osteogenic induction medium in vitro, it became clear that Zr-BMG have good biocompatibility. And more, we transplanted the Zr-BMG into the rat maxillary jaw. No inflammatory responses were seen in vivo.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学 矯正・小児系歯学

キーワード：歯科矯正学

1. 研究開始当初の背景

重度不正咬合の矯正歯科治療において、確実な固定源を得ることが最も重要である。現在、絶対的な固定源を確立する唯一の方法としてミニスクリューが知られている。申請者らは過去にミニスクリューの固定源としての有効

性を臨床的、基礎的に分析し、多くの研究報告を行ってきた。しかしながら、チタン製のミニスクリューは、破折するなど強度に若干の問題があり、また、矯正治療中の脱落も問題となる。脱落率においても我々は様々な分析を臨床的、および基礎的に行い、その要因

を解析した。また、脱落率以外でも隣在歯根への損傷や炎症を防ぐ方法についても様々な研究を行ってきた。その中で、より安全に有効的にミニスクリューを応用する上で、特に形状および材料の改善の必要性を強く認識した。チタン製のミニスクリューと比較して骨への接着がより良い材料が存在し、ミニスクリューに応用できれば、ミニスクリューのデザインを現在よりも短く、安全な形態にできる可能性がある。そこで、新たな金属材料を用いたミニスクリューを固定源とした矯正治療の確立が、重要な課題となった。

さらに、今までチタン製のミニスクリューは成人症例に主に使用され、10歳以下においては脱落率も上がり、ほとんど使用されていない。しかし、より生体親和性の高い材質を用いることで、早期にミニスクリューが骨組織と生着すると思われ、若年者でも安定して用いる事ができるかも知れない。若年者にも用いることが可能となれば、骨格性の不正咬合を有する症例にもミニスクリューを固定源として応用でき、歯のみならず、顎骨の成長のコントロールも行うことが可能となる。そこで、多様な問題を有する不正咬合や若年者の治療にも応用でき、より安定性の高い、安全なミニスクリューの開発が必要となっている。しかし、現在まで、ミニスクリューの長さや直径あるいはデザインの分析は行われてきたが、材質の解析はほとんど行われていない。新たなより良い材料の開発が進めば、さらにミニスクリューの大きさやデザインにも影響し、より小さく安全に用いることができ、応用範囲も広がると思われる。以上より、新たな固定源としてのミニスクリューを開発するために、最適な金属材料の探索が鍵となる。

最近、新しい生体素材として、Ti基Cu基Zr基Pd基系金属ガラスが開発された。この合金系の特徴は、Ni、Cr、Vなどのアレルギー

一元素を含まず、引張強度及び硬度は生体用金属材料として使用されているものの中では最大で、純チタン及びチタン合金と比較してはるかに大きい。また、ヤング率は純チタン及びチタン合金に比較しても小さい。Ti基Cu基Zr基Pd基系金属ガラス合金の耐食性は、擬似体液 Hank's 溶液中でのアノード分極曲線より、純チタン、チタン合金より高い。さらに、東北大学金属ガラス生体材料開発グループにより、Nb、Taを添加したTi基Cu基Zr基Pd基+Nb(Ta)系金属ガラスが、3~5パーセントの塑性変形が生じることを見出されたことから、金属ガラスは生体用金属材料として適した塑性変形も持っている。これらの特徴を総合すると、金属ガラスはアレルギー元素を含まないうえに、高強度、低ヤング率、高耐食性などの特性を有している。このように、金属ガラスは、生体材料として期待される新たな金属であると考えられるものの、その生体親和性についての研究は、ほとんど探索されていない。

申請者らのグループは、すでに金属ガラス上の細胞特性などの研究を推進しており、金属ガラス上の骨髄細胞を骨分化誘導して、アリザリンレッド染色にて染色性を観察した。これらのデータによって、金属ガラスが生体親和性に優れた新たな金属材料であると推測され、ミニスクリューの応用範囲の拡大および安定性、安全性の向上の可能性が示唆される。本研究では、金属ガラスを材料として応用することにより、骨芽細胞および線維芽細胞等の接着性の向上を認め、より侵襲性の低い形状のミニスクリューを開発できると思われる。

2. 研究の目的

近年、様々な重度不正咬合において、矯正治療中の固定源としてミニスクリューが頻繁に使われている。しかし、破折や脱落等の問題をはじめ、より確実、安全にミニスクリューを固定源として用いるためにはミニスクリューの材質やデザインの改良が必要である。そこで申請者は、現在使われているチタン製ミニスクリューの代わりに、新たに高強度かつ高弾性域を特徴とした、アレルギー元素を含まない金属ガラス製のミニスクリューの開発を着想した。現在、チタン製のミニスクリューは主流であるが、アレルギー元素を含まない金属ガラス製のミニスクリューを用いることができれば生体に対してより安全であると思われる。チタン製のミニスクリューは機械的嵌合により維持されるが、より高強度かつ高弾性域を特徴とした金属ガラスによるミニスクリューを用いることにより、脱落率を下げることができ、さらには直径も細く、より安全な形態にすることができることが推測される。本研究では、金属材料として生体親和性が高い特性が重要と考え、金属ガラスに着目して、ミニスクリューの開発を行う。近年、開発された金属ガラスは高強度かつ高弾性を特徴とし、生体に適応する金属材料として有望である。本研究では、新たな金属ガラス製ミニスクリューを開発して次世代矯正治療を確立することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 骨髄細胞の確立

本研究課題では、金属ガラスとの生体の親和性を評価するために、金属ガラス上における骨髄細胞の表現型を評価する。4週齢SDラットの大腿骨を外科的に摘出する。摘出した大腿骨骨頭を切断してフラッシュアウトして骨髄を採取する。その後、10% FBS 含有 α MEM によって骨髄細胞の初代培養を行って 80% コンフルエントの状態まで増殖させる。トリプ

シン/EDTA を用いて細胞を回収してセルバンカーに懸濁して凍結保存する。

(2) 金属ガラスおよびチタン上の骨髄細胞の増殖能解析

凍結保存している SD ラット骨髄細胞を融解して培養し、 1×10^4 個/cm² で、金属ガラスおよびチタン上に播種、細胞を接着させる。金属ガラスおよびチタン上に接着した骨髄細胞を、10% FBS 含有 α MEM にて培養し、細胞増殖を 14 日間位相差顕微鏡によって観察する。その後、それぞれの細胞における増殖能を、WST-8 法によって解析する。さらに、細胞播種より 2 日後より、細胞数を測定して増殖曲線を作成する。WST-8 法における解析と増殖曲線によって金属ガラスおよびチタン上の骨髄細胞の増殖能を比較検討する。

(3) In vitro における金属ガラスおよびチタン上の骨髄細胞の骨分化能の解析

凍結保存している SD ラット骨髄細胞を融解して培養し、 1×10^5 個/ml の細胞懸濁液を作製した後、金属ガラスおよびチタンを 24 時間浸漬させて、細胞を接着させる。骨分化誘導をかけて骨分化を解析し、金属ガラスおよびチタン上での骨髄細胞の骨分化能を比較検討する。また、骨髄細胞を、10% FBS 含有 α MEM にて培養し、デキサメタゾン、アスコルビルビン酸、 β -グリセロフォスフェイトを添加し骨分化誘導を行う。2 週間の骨分化誘導の後、RT-PCR 法にて Alkaline Phosphatase (ALP), Osteocalcine (OCN), Bone sialoprotein (BSP) の遺伝子発現を解析し、ALP 活性を測定し、骨髄細胞の骨分化能評価を行う。また、Alizarin red 染色によって骨分化にともなう石灰化の評価を行う。

(4) In vivo における金属ガラスおよびチタンインプラントの生着の解析

金属ガラスおよびチタンインプラントを埋入する。それぞれのインプラントを埋入 8 週間後に、顎骨を摘出し組織切片を作製する。その後、ヘマトキシリンエオジン染色、ピラヌエバ染色によって顎骨との生着を評価する。また、マイクロ CT によって解析し、インプラントの生着を 3 次元構造解析によって評価する。これらの解析結果より金属ガラスおよびチタンにおけるインプラントアンカーへの有用性を比較検討する。

4. 研究成果

(1) 骨髄細胞の確立

F344 系ラットの大腿骨から採取した骨髄間葉細胞の骨分化能の有無を解析するために 14 日間骨分化誘導を行い、ALP 染色、アリザリンレッド染色にて染色性を解析し、ALP 活性値を測定した。採取した骨髄間葉細胞を培養したところ、位相差顕微鏡像にて線維芽細胞様の紡錘形の細胞が観察された。骨髄間葉細胞に 14 日間骨分化誘導を行って、ALP 活性値を解析したところ、骨分化誘導群で有意に発現上昇が確認された。また、ALP 染色では、骨分化誘導群では紫色に染まる染色性が認められ、細胞が骨分化能を有することが判明した。また、アリザリンレッド染色では骨分化誘導群が赤色に染色し、石灰化しているのが確認された。これらの結果から F344 系ラットの大腿骨から採取した骨髄間葉細胞が骨分化能を有することが示された。

(2) 金属ガラスおよびチタン上の骨髄細胞の増殖能解析

WST8 を用いた細胞増殖能の解析についても $Zr_{70}Ni_{16}Cu_6Al_8$ 金属ガラス上で培養した骨髄間葉細胞、2 種純チタン上で培養した骨髄間葉細胞の間に 8 日目のみ有意差はみられたものの、全体的に大きな差は認められなかった。

(3) In vitro における金属ガラスおよびチタン上の骨髄細胞の骨分化能の解析

$Zr_{70}Ni_{16}Cu_6Al_8$ 金属ガラス上での骨髄間葉細胞の骨分化能を解析するため、骨芽細胞分化マーカーの ALP、OCN、Runx2 の mRNA 発現量をリアルタイム PCR にて解析した。ALP、Runx2 は 7 日目から分化誘導群において発現が上昇し、14 日目でピークを迎え、その後減少した。OCN は 14 日目から発現が上昇し 28 日目まで発現していた。また、ALP、Runx2、OCN の発現量は $Zr_{70}Ni_{16}Cu_6Al_8$ 金属ガラスと 2 種純チタンとの間に有意差は認められなかった。また、骨髄間葉細胞の骨分化誘導群は非骨分化誘導群と比較して、アリザリンレッド染色では石灰化を示す赤い染色像が得られた。

(4) In vivo における金属ガラスおよびチタンインプラントアンカーの生着の解析

金属ガラスの生体親和性を in vivo で検討するため、金属ガラス箔を F344 系ラット上顎第一臼歯抜歯窩に移植し、移植後 6 週目で顎骨を摘出し、組織切片を作成した。HE 染色、ピラヌエバ染色で染色し観察したところ、抜歯窩には骨の再生がみられ、明らかな炎症反応は見られなかった。今後はさらにインプラント体を作製、埋入し、CT 解析などインプラントの生着について 3 次的に評価する必要がある。

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)

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0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

宮島 悠旗 (Miyajima Yuki)

東北大学・大学院歯学研究科・大学院非常
勤講師

研究者番号：30583372

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：