

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25年 5月 28日現在

機関番号：32622

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2011～2012

課題番号：23890208

研究課題名（和文）放電陽極酸化処理によるチタンインプラント周囲組織の酸化ストレス抑制

研究課題名（英文）Antioxidant property of anodically oxidized titanium

研究代表者

村上 明日香（Murakami Asuka）

昭和大学・歯学部・兼任講師

研究者番号：70611218

研究成果の概要（和文）：チタンインプラント埋入後の創傷治癒における酸化ストレスは、骨結合を妨げる重要な因子であり、これを抑制することがひつようである。チタンは表面処理により骨との親和性を向上させることができる一方で、酸化ストレスの抑制については検討されていない。本研究では放電陽極酸化によって表面処理したチタンの骨芽細胞に対する酸化ストレス抑制効果を検討した。放電陽極酸化チタンでは骨芽細胞の石灰化関連遺伝子の上昇が見られた。また、表面に析出した骨様石灰化物の物理的性質が向上した。放電陽極酸化チタン表面から発生する活性酸素が分解され、接着細胞に対して酸素を持続的に徐放することにより、酸化ストレスを抑制することが可能になった。放電陽極酸化処理チタンは、骨結合能と創傷治癒の促進により、チタンインプラントの表面処理として有効であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Cells adhering onto implant surfaces are subjected to oxidative stress during wound healing processes. Although titanium and its alloys are among the most frequently used biomaterials in orthopedic and dental implants, titanium surfaces do not have antioxidant properties, and cells grown on these surfaces can show permanent oxidative stress. The present study assessed the antioxidant property and osteogenic properties of titanium samples with or without oxidation treatments. A thick rutile TiO₂ film was observed on thermally oxidized titanium surfaces, while amorphous anatase TiO₂ formed on anodically oxidized titanium surfaces prepared by discharging in 1 M Na₂HPO₄. A resistance to the depletion of reduced glutathione in adherent osteoblasts, which correlates with antioxidant behavior, occurred on anodically oxidized titanium. Enhanced osteogenic gene expressions and nano-biomechanical properties of mineralized tissue were achieved on anodically oxidized titanium, in comparison with thermally oxidized or untreated titanium. Thus, anodic oxidation by discharging in electrolyte is expected to be a useful surface modification for titanium implants.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯科医用工学・再生歯学

キーワード：チタン，インプラント，創傷治癒，酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

チタンインプラントは一次加工あるいは二次加工による表面改質により、骨結合能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。しかし、チタンインプラントの成功には、周囲組織細胞の抗炎症作用や、埋入後の創傷治癒促進などの生体適合性が重要である。周囲軟組織の創傷治癒に関連する血管内皮細胞、さらにマクロファージや歯肉上皮の基底細胞は、炎症による酸化ストレスの影響を受けやすいことが報告されている。このためチタンインプラントの表面処理では、接着細胞の酸化ストレス抑制による抗炎症作用が重要であるが、チタン表面処理の研究は骨芽細胞の増殖・分化能が重視されており、細胞内酸化ストレスとの関係は検討されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、放電陽極酸化によるチタン製インプラントの表面処理により、周囲組織細胞の酸化ストレス抑制と生体適合性向上を達成し、インプラント補綴治療の応用範囲を拡大することである。

3. 研究の方法

表面研磨チタン、大気加熱処理チタン、陽極酸化チタン、および陽極酸化後に加熱処理したチタンの表面化学分析により、ヒドロキシラジカルや親水性化学官能基の同定を行う。ヒドロキシラジカルの分解により発生する溶存酸素量を測定した。試料表面で骨芽細胞を培養し、酸化ストレスの指標であるトータルグルタチオンと mRNA 発現(Ho1, NRF2)を定量することにより、チタン表面化学特性と酸化ストレス抑制能を検討した。チタン表面での骨芽細胞酸化ストレス抑制と骨形成能の関係を明らかにする。創傷治癒に関連する内皮細胞、マクロファージ、ケラチノサイトなどは骨芽細胞にくらべて酸化ストレスの影響を受けやすいと考えられている。これら細胞をチタン試料表面で培養し、トータルグルタチオンと mRNA 定量を行った。

4. 研究成果

電解液中でのチタン陽極酸化処理は、酸化膜/電解液およびチタン/酸化膜界面において同時に Ti^{4+} と O^{2-} が発生し、アモルフ

ァスのアナターゼ型チタン酸化膜を成長させる。この厚みの増加した酸化膜内には Ti^{4+} と O^{2-} の正孔電子対が処理後も残存しており、大気中の酸素や水分と反応することで、ヒドロキシラジカルと親水基が維持される。これは大気加熱により得られたルチル型チタン酸化膜では見られない反応であった。本処理は、チタン表面で抗菌効果と生体適合性向上を同時に達成することができるだけでなく、骨芽細胞の分化能および石灰化能を著しく上昇させた。これは、単に親水性のみを向上させたチタン表面では見られない現象であり、チタン表面で発生するヒドロキシラジカルが、未知の生体反応を発現する可能性が示されたと考えられる。さらに放電陽極酸化チタン表面に接着した骨芽細胞は、ミトコンドリアの呼吸抑制がみられず、細胞内活性酸素の発生を抑制する現象がみられた。近年、漂白剤に用いられる過炭酸ナトリウムを表面に分散させた高分子膜が、細胞内酸化ストレスを抑制し、*in vivo* で創傷のネクロシスを防止する作用があることが報告されている。これは漂白剤から発生したラジカルが水と酸素に分解され、細胞に対する酸素供給が上昇することに起因する可能性が高い。したがって、ヒドロキシラジカルを発生させる陽極酸化処理は、表面接着細胞の酸化ストレスを抑制し、創傷治癒を促進させる効果が期待される。

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 1 件)

① 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: Nanotechnology, Biology and Medicine** 8:374-382, 2012

[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

村上 明日香 (Murakami Asuka)
昭和大学・歯学部・兼任講師
研究者番号：70611218

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：