

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861854

研究課題名(和文)インプラントへのカルシウム水熱処理による硬、軟組織結合性の向上

研究課題名(英文)Enhancement of tissue integration with calcium-hydrothermal treatment

研究代表者

古橋 明大(FURUHASHI, AKIHIRO)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：60608975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではチタン製インプラントにカルシウム水熱処理(Ca-HT)を施すことで、周囲組織との親和性が向上するとの仮説のもと、研究を行った。その結果、Ca-HTによりインプラント表面性状をほぼ変化させることなく、表面にカルシウムを修飾できることを確認した。細胞実験ではCa-HTにより細胞接着強度が向上することが明らかとなった。動物実験では、Ca-HTにより上皮組織との界面において接着構造物の発現が向上することが明らかとなった。これらの結果より、Ca-HTチタンが生体内において、より強固な接着を形成する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：One of the important factors for the long time stability of dental implant is biocompatibility. In this study, we focused on the Calcium-Hydrothermal treatment (Ca-HT) for its effect on promoting tissue integration. Calcium modification onto titanium was observed without changing surface roughness. In in vitro study, cell adhesion strength was increased in Ca-HT group. In in vivo study, broader expression of adhesion structure between epithelium and implant was observed. These findings suggest that stronger tissue integration would be formed around Ca-HT titanium.

研究分野：歯科インプラント

キーワード：歯科インプラント

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラント治療において、早期の機能回復と、長期間にわたるインプラント周囲組織の維持は重要である。

早期の機能回復に影響を与える因子としては、チタン製インプラントのオッセオインテグレーション能が考えられる。

また、長期間でのインプラント周囲組織の維持に影響を与える因子として考えられるのは、インプラント周囲組織とインプラント体との親和性であろう。チタン製インプラント周囲軟組織での封鎖性は天然歯周囲と比較して低く、外来因子に対する抵抗性が低いことは過去にも知られている。すなわち、インプラント周囲軟組織における封鎖性を向上させることができればインプラントの長期維持に有効に働くことが期待される。

そこで本研究では過去にも骨結合能向上させると報告されているチタン製インプラントに対するカルシウム水熱処理に着目することとした。

2. 研究の目的

チタン製インプラントにカルシウム水熱処理を行うことによって、インプラント周囲組織との結合性が向上するかどうか調べること。

3. 研究の方法

実験材料として、10mM 水酸化カルシウム水溶液中で 200°C、24 時間カルシウム水熱処理(Ca-Ht)を施したチタン、コントロール(Cont)として洗浄のみを行ったチタン、蒸留水による水熱処理(DW-HT)を行ったチタンを用いた。SEM による表面性状の観察、表面粗さの解析、XPS によるチタン表面の元素解析を行った。

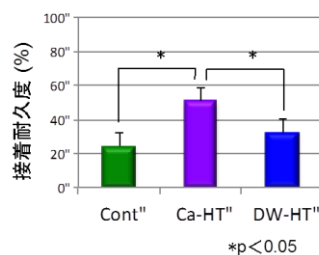
培養実験では、チタン表面に対する口腔粘膜上皮細胞、線維芽細胞の接着性を比較、検討した。

動物実験では、ラット口腔内に実験用インプラントを埋入し、4 週の治癒期間の後に組織標本を作製、免疫組織学的手法を用いてインプラント周囲上皮 (peri-implant epithelium : PIE) の上皮接着の指標となる laminin-332 (Ln) の発現の形態学的解析評価を行った。

4. 研究成果

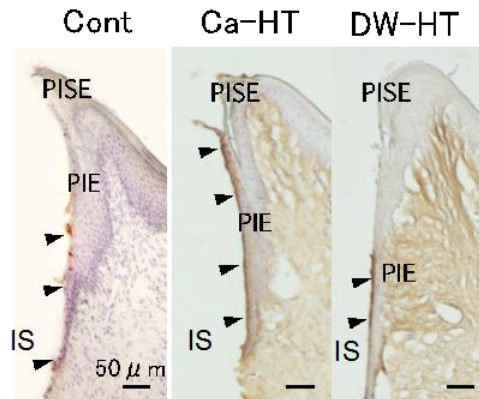
表面解析：チタンの表面性状、表面粗さは Ca-HT 処理後ほとんど変化しなかった。また、XPS による元素解析でチタン上にカルシウムが修飾されていることが明らかになった。

細胞動態：Ca-HT 群では接着関連タンパクの発現が増加していた。細胞の接着能は Cont、DW-HT より有意に向上しており、細胞の移動量も小さかった。



動物実験:インプラント埋入4週後のCont、DW-HTではLnの発現がインプラント周囲上皮の根尖側に限局していたのに対し、Ca-HTではインプラント-上皮界面全体に認められた(矢印)。

インプラント埋入4週後



これらの結果より、カルシウム水熱処理を施したチタン表面は上皮細胞との接着性が向上されることにより、チタンインプラント-上皮界面における封鎖性を高める可能性が示唆された。

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 11 件)

- Oshiro W, Ayukawa Y, Atsuta I, Furuhashi A, Yamazoe J, Kondo R, Sakaguchi M, Matsuura Y, Tsukiyama Y, Koyano K. Promoting effect of CaCl<sub>2</sub> hydrothermal treatment to titanium implant surface for early epithelial sealing, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, doi:10.1016/j.colsurfb.2015.04.025
- Kondo R, Atsuta I, Ayukawa Y, Yamaza T, Matsuura Y, Furuhashi A, Tsukiyama Y, Koyano K. Therapeutic Interaction of Systemically-administered Mesenchymal Stem Cells with Peri-implant Mucosa. PLOS ONE. 2014 (DOI:10.1371/journal.pone.0090681)
- Atsuta I, Ayukawa Y, Furuhashi A, Ogino Y, Moriyama Y, Tsukiyama Y, Koyano K. In vivo and in vitro studies of epithelial cell behavior around titanium implants with machined and rough surface. Clin Implant Dent Rel Res, Volume 16, Issue 5, pages 772-781, October 2014
- Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K. Micro-CT and histomorphometric analyses of novel titanium mesh membranes for guided bone regeneration: A study on rat calvarial defects, Int J Oral Maxillofac Implants, 2014, 29(4):826-835

5. Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Atsuta I, **Furuhashi A**, Koyano K. Fibroblast attachment onto novel titanium mesh membranes for guided bone regeneration, *Odontology*, 2014, DOI :10.1007/s10266-014-0151-8
  6. Atsuta I, Ayukawa Y, **Furuhashi A**, Yamaza T, Okawachi H, Koyano K. Promotive effect of insulin-like growth factor-1 for epithelial sealing to titanium implants. *J Biomed Mater Res A*, doi: 10.1002/jbm.a.34608. 2013
  7. Atsuta I, Ayukawa Y, **Furuhashi A**, Yamaza T, Koyano K. The role of phosphoinositide 3-kinase in adhesion of oral epithelial cells to titanium. *Arch Oral Biol*. Volume 58, Issue 11, November 2013, Pages 1696-1708
  8. Yamane K, Ayukawa Y, Takeshita T, **Furuhashi A**, Yamashita Y, Koyano K. Bacterial adhesion affinities of various implant abutment materials. *Clin Oral Implants Res*, Volume 24, Issue 12 December 2013 Pages 1310-1315
  9. Rakhmatia YD, Ayukawa Y, **Furuhashi A**, Koyano K. Current barrier membranes: The role and titanium mesh applications for guided bone regeneration. *J Prosthodont Res*, Volume 57, Issue 1, January 2013, Pages 3-14
  10. **Furuhashi A**, Ayukawa Y, Atsuta I, Rakhmatia YD, Yasunami N, Koyano K. Influence of titanium surface topography on peri-implant soft tissue integration, *Key Eng Mater*, 529-530: 559-564, 2013. 6.
  11. Atsuta I, Ayukawa Y, Yamaza T, **Furuhashi A**, Kondo R, Koyano K. Expression of Integrin alpha-3 and beta-4 subunits on the process of peri-implant epithelium formation, *Key Eng Mater*, 529-530: 407-412, 2013.
- [学会発表] (計 15 件)
1. Yasunami N, Ayukawa Y, **Furuhashi A**, Atsuta I, Rakhmatia YD, Moriyama Y, Koyano K. Accelerated healing of extraction socket and peri-implant tissue by statin. *International Association for Dental Research*, Boston, USA, March 2015
  2. Oshiro W, Ayukawa Y, Atsuta I, Kondo R, **Furuhashi A**, Koyano K. The Facilitatory Effect of Calcium-hydrothermal Treatment on Peri-implant Epithelial Sealing. The 93rd IADR General Session & Exhibition
  3. **Furuhashi A**, Ayukawa Y, Atsuta I, Koyano K. A Solution for Rehabilitation of Angle-Class2 Patient: A Case Report, 38th annual conference of the European Prosthodontic Association, Istanbul, 2014 (Poster Presentation)
  4. Oshiro W, Atsuta I, Ayukawa Y, Yamazoe

- J, Kondo R, Sakaguchi M, **Furuhashi A**, Koyano K. Promoting effect of CaCl<sub>2</sub> hydrothermal treatment to titanium implant surface for epithelial sealing, The 86th Annual Meeting of the American Prosthodontic Society, Chicago, America, 2014(best table clinic award)
5. Atsuta I, Ayukawa Y, Kondo R, Matsuura Y, **Furuhashi A**, Takahashi A, Koyano K. Mesenchymal stem cells promote soft tissue sealing around titanium implants. The 86th Annual Meeting of the American Prosthodontic Society, Chicago 2014 (Poster Presentation)
6. Shimizu H, Jinno Y, Ayukawa Y, Atsuta I, **Furuhashi A**, Koyano K. Evaluation of biodegradable polymer-calcium phosphate nanoparticle composite as a bone substitute material. 2013 Biennial Joint Congress of CPS-JPS-KAP, Jeju, Korea, Apr, 2013. (Poster Presentation)
7. Yasunami N, Ayukawa Y, **Furuhashi A**, Atsuta I, Koyano K. Effect of fluvastatin on proliferation and migration of fibroblast. 2013 Biennial Joint Congress of CPS-JPS-KAP, Jeju, Korea, Apr, 2013. (Poster Presentation)
8. Atsuta I, Ayukawa Y, Kondo R, **Furuhashi A**, Matsuura Y, Tsukiyama Y, Koyano K. Injection timing of Mesenchymal Stem Cells to promote the soft tissue sealing around titanium implant. Biennial Joint Congress of CPS-JPS-KAP, Cheju, Korean 2013 (Poster Presentation)
9. Kondo R, Atsuta I, Ayukawa Y, Yamaza T, **Furuhashi A**, Koyano K. Effect of Mesenchymal Stem Cells on Dental Implant Epithelial Sealing the 91st IADR General Session & Exhibition, Seattle, March, 2013(Poster Presentation)
10. 大城和可奈, 鮎川保則, 熱田生, **古橋明大**, 古谷野潔. チタンに対する上皮封鎖性向上法の探求-塩化カルシウム水熱処理の効果-. 第44回公益社団法人日本口腔インプラント学会学術大会, 東京, 東京国際フォーラム, 9月, 2014. <優秀研究発表賞受賞>
11. 大城和可奈, 鮎川保則, 熱田生, **古橋明大**, 近藤綾介, 坂口真実, 古谷野潔. チタンのカルシウム水熱処理による上皮封鎖性の向上. 公益社団法人日本補綴歯科学会第123回学術大会, 仙台, 仙台国際センター, 5月, 2014. <Dentsply 賞受賞>
12. **古橋明大**. 生物学的側面からインプラントアバットメントを考察する 日本先端歯科技術研究所九州地区研修会(招待講演), 福岡, ホテルオークラ福岡, 2月, 2015
13. **古橋明大**. ジルコニアと軟組織の界面: 生物学的側面から. 第7回日本国際歯科大会(招待講演), 横浜, パシフィコ横浜 10月, 2014

14. 古橋明大. インプラントアバットメントについて考察する：基礎的側面から. 九州大学再生歯科インプラント研究会平成（招待講演）26年度第8回例会，福岡，九州大学11月，2014

15. 古橋明大. 座長，平成26年度日本歯科理工学会九州支部夏期セミナー，鹿児島，アクアガーデンホテル福丸，8月，2014.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古橋 明大 (FURUHASHI AKIHIRO)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：60608975