

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462937

研究課題名(和文)光機能化型ジルコニアインプラントの開発

研究課題名(英文)Development of photofunctionalized zirconia implant

研究代表者

岩佐 文則 (Iwasa, Fuminori)

昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：60297025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：光機能化型ジルコニア(Ce-TZP)インプラントフィクスチャーの開発を目指し、フッ化水素処理をしたCe-TZPに紫外線(UV)を波長、照射時間を変化させ照射した。その結果、骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の接着、増殖、分化と骨関連遺伝子の増強、さらに動物実験による骨結合能力についてある一定の波長と照射時間において15%から40%の有意な効果を確認した。また紫外線照射による細胞毒性試験(活性酸素による酸化ストレス)を行い細胞死の測定を行ったが、細胞レベルでの紫外線の影響は小さくその安全性に問題のないことも確認した。

研究成果の概要(英文)：We aimed to develop a zirconium (Ce-TZP) implant fixture functionalized by ultraviolet (UV). Ce-TZP/Al₂O₃ treated with hydrofluoric acid (HF) irradiated by UV with shifting the wavelength and the irradiation time. The adhesion, proliferation, differentiation, and expression of bone related genes of osteoblastic cell (MC3T3-E1) on these samples enhanced by 15-40% under the wavelength and time of a specific pattern. Similarly, osseointegration capability on UV functionalized Ce-TZP increased significantly compared to control group. Oxidant stress induced cell cytotoxicity by UV irradiation did not show deleterious effect on cellular level. We concluded about this matter that there is no our safety concern.

研究分野：補綴歯科

キーワード：インプラント ジルコニア 紫外線

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、(株)パナソニックと東京大学マテリアル工学部との共同プロジェクトのもと、セリア系ジルコニア粒子とアルミナ粒子のナノ複合セラミックス(製品名「NANOZR」)に高濃度フッ化水素による酸処理を加え、その表面にナノ構造体を形成させることに成功した。特にそのトポグラフィ(表面形状)は右下写真に示すように生体模倣的な形態を示すことを見つけ出し、骨芽細胞の生物学的応答が酸処理したチタン上よりも活性化されることを報告した。一方、酸化チタンの紫外線による光触媒効果は1997年に発見され、表面の有機物の分解および超親水性化が特徴である。申請者は紫外線処理された酸化チタンにおける骨芽細胞の初期接着の亢進について詳細な研究を行い、そのメカニズムを報告した(Iwasa et al. Biomaterials 2009)。同様に我々は、同じ第4族の酸化ジルコニウム(イットリア系)に対しても紫外線を照射することによって骨芽細胞の生物学的な活性を促進させることも報告している(Wael et al. Biomaterials 2009)。

2. 研究の目的

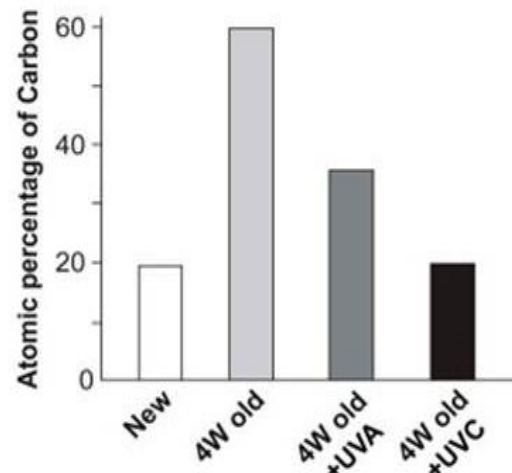
本研究計画では、NANOZRのナノ構造を有する表面形態に紫外線照射を加えることにより骨インプラント結合力だけでなく、超高齢社会を睨んだ高齢者に対するインプラント適応の拡大と紫外線照射による抗酸化作用を確認し、新たな有効性と臨床応用への展開に関する基盤研究を行う。

3. 研究の方法

計画している具体的な研究項目は、(1) UV照射の最適化 表面エネルギーの解析 有機物除去率の解析 紫外線の波長及び照射時間の最適化 (2) 骨形成細胞の生物学的検索 細胞接着試験 細胞増殖試験 細胞形態観察 骨基質形成能試験 (3) 動物実験 骨-インプラント結合能解析 骨接触率並びに骨形成量の算出ラットモデルによるオッセオインテグレーション(骨結合能)の評価、(4) 紫外線照射の影響による細胞毒性及び酸化ストレスの評価、の4つである。

4. 研究成果

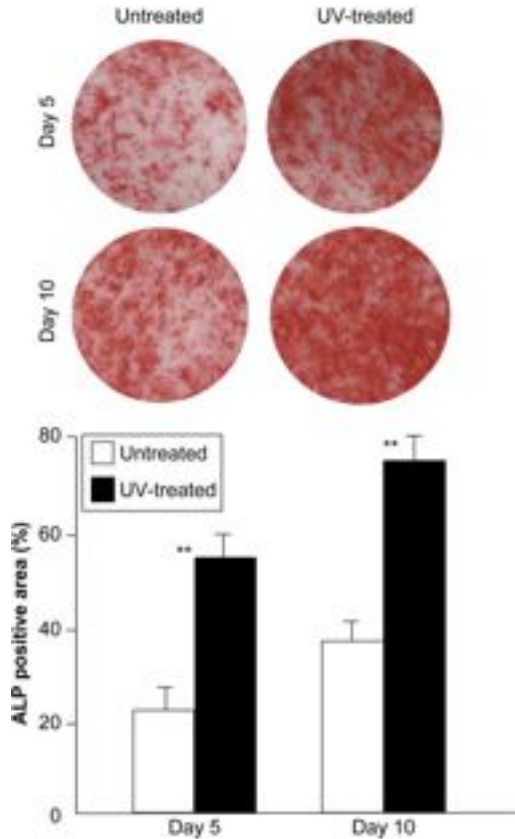
(1) 紫外線の波長の違いによる光触媒効果の検証



ナノジルコニアへの紫外線処理は骨芽細胞に対し、その接着、増殖、伸展、分化を促進した。フッ酸処理をしたナノ構造体を持つジルコニア表面への紫外線による光触媒効果は十分にノーマルな表面に対する効果と同様に有効であることが分かった。また光触媒効果のうち、表面の超親水性化に対してはUVA, UVCがともに効果を示したのに対し、表面有機物の分解への効果は低波長で高エネルギーのUVCがその効果が高いことが

分かった。

(2) 骨形成細胞の生物学的検索

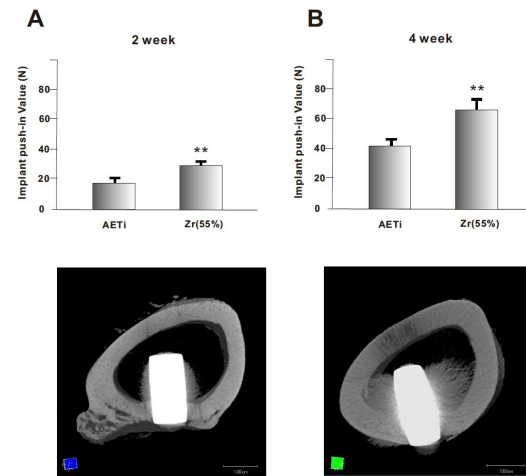


通常の機械研磨ナノジルコニアサーフェイスと比較してフッ酸処理したサーフェイス上では骨芽細胞の接着から基質合成までの初期応答が特に著明であることは報告している。本研究で、紫外線処理の影響は機械研磨サーフェイスよりもフッ酸処理サーフェイス上でそのナノ構造と紫外線という相乗効果を発揮した。また、本研究でテストされたフッ酸濃度の中で最も高い骨芽細胞の応答性と紫外線処理に対する反応性を示したのは5.5%濃度であり、優れた形態的環境を与えていることがわかった。

骨基質の合成能についても Ca deposition を指標に検索した。結果は図 B に示すように紫外線処理の影響は機械研磨サーフェイスよりもフッ酸処理サーフェイス上でその

ナノ構造と紫外線という相乗効果を発揮した。これらの結果は一連の骨芽細胞の初期応答に一貫していた。また、本研究でテストされたフッ酸濃度の中ではやはり最も高いカルシウム産生を促したのは5.5%の濃度で処理をしたサーフェイス上であり、上記の結果同様、優れた形態的環境を与えていることがわかった。

(3) ラットモデルによるオッセオインテグレーション(骨結合能)の評価



フッ酸処理により新規に創生したナノ構造体を持つナノジルコニア表面に対し、紫外線照射の効果を検討するための基礎研究とさらに臨床応用へと展開するため in vitro の動物実験を行った。まず、紫外線照射試験の確認のための全実験を再度行った。チタンの酸処理表面を対照群として5.5%フッ酸処理をしたナノジルコニアのみにインプラントをラットの大腿骨へ埋入し、その骨結合能を力学的、組織学的に検索した。(push in test)その結果埋入2週間後、4週間後の埋入初期の骨結合能はともに酸処理チタンに対し2倍の値を示し有意に上回った。またマイクロCT画像による組織学的な観察ではミ

ニインプラント周囲の新生骨は明らかにナノジルコニア周囲でその形成量が多く確認された。これらの結果はこれまで常用化されているチタンインプラントの表面処理を生物学的に上回ることを動物モデルで示したものであり、我々の先行研究ともデータ内容が一致することからチタンを凌ぐジルコニアインプラントのオッセオインテグレーション獲得を示唆する重要なエビデンスとして周知したい。これらの結果を踏まえ紫外線照射効果について検討を開始した。現段階で塩酸処理チタン、フッ酸処理ナノジルコニア双方に対し紫外線を照射したミニインプラントを使用して push in test を施行し実施中である。

(4) 酸化ストレスによる細胞毒性

ナノジルコニアディスクを使用してフッ酸処理を施し、紫外線の影響について検討した。一般に紫外線の人体への影響については周知されているが、ジルコニアへの照射に関連した生物学的な影響、さらには照射時間や波長の違いについての詳細なデータに付いて確認する意義は非常に高い。また近年活性酸素による細胞毒性や酸化ストレスについて多くのことがわかってきており、特に紫外線照射に伴うこれらの発生は確実であるため細胞レベルでの検索を行った。具体的には酸化ストレスの評価並びに細胞死の測定を行った結果、いずれも UV 照射による細胞への影響は小さく、その安全性は担保されたと確信する。

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 2 件)

- 1) Oshima Y, Iwasa F, Tachi K, Baba K. Nanofeatured topography on ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite enhanced osteogenesis and osseointegration. Journal of Oral & Maxillofacial Implants. 2017 Jan/Feb;32(1):81-91 (査読有)
- 2) Iwasa F, Baba K, Ogawa T. Enhanced intracellular signaling pathway in osteoblasts on ultraviolet light treated hydrophilic titanium. Biomed Res. 2016 ; 37(1): 1-11 doi: 10.2220/biomedres. 37.1. (査読有)

〔学会発表〕(計 1 件)

F.Iwasa, Y Oshima, K. Baba:Enhanced osseointegration on hydrofluoric-acid cera-stabilised zirconia/alumina nanocomposite, 25thAnnual scientific meeting of the European association of osseointegration congress, Paris, France 2016

〔図書〕(計 0 件)

なし

〔産業財産権〕 出願状況(計 0 件)

現在のところなし

取得状況(計 0 件)

現在のところなし

〔その他〕 ホームページ等

6. 研究組織

- (1)研究代表者
岩佐 文則 (Iwasa, Fuminori)
昭和大学・歯学部・准教授

研究者番号：60297025

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし