

平成30年 8月30日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11222

研究課題名(和文) チタンインプラント表面微細構造化による周囲骨質とリモデリングの最適化

研究課題名(英文) adaptive bone remodeling on micro-structurally optimized titanium implant

研究代表者

柴田 陽 (Shibata, Yo)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号：30327936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：歯科用インプラントでは早期の骨結合だけでなく、周囲骨と適応した物理的機能を長期的に維持することが重要である。したがって再生骨組織の良好な骨質に基づく応力遮断効果の抑制による周囲組織のメンテナンスを達成できる新たなインプラント表面デザインが求められる。本研究では放電陽極酸化処理を用いてチタン表面の化学構造・超微細構造を改質し、インプラント-生体界面バイオメカニクスの最適化を検討した。放電陽極酸化チタン表面に析出する石灰化組織は弾性係数が天然骨組織に匹敵し、インプラント周囲組織として優れた支持と、長期的な維持効果を発揮する。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to investigate the mechanical requirements of tissue-implant interface. The interface of spark anodized titanium-bone ingrowth likely enables a functionally graded Young's modulus, thereby allowing reduction of stress shielding. The understanding of complex mechanical bone behavior and size-dependent properties ranging from nano- to a mesoscopic level are essential in the biomechanical optimization of implants. The requirements of regenerated tissue at the interface include high strength, fracture toughness related to ductility, and time-dependent energy dissipation and/or elastic-plastic stress distribution. Moreover, a strong relationship between strain signals and peri-implant tissue turnover could be expected, so that ideal implant biomechanics allows longevity via adaptive bone remodeling.

研究分野：歯科理工学

キーワード：チタン インプラント リモデリング ナノインデンテーション 表面分析

### 1. 研究開始当初の背景

歯科用インプラントと生体の結合様式は天然歯と大きく異なり、歯根膜を介さない直接性骨結合（オッセオインテグレーション）であるが、補綴維持装置として口腔機能回復を長期間維持できる症例が臨床報告されている。インプラントの長期的予後には、骨結合獲得と周囲に再生される骨質の向上、機能下での適応的リモデリングが重要である。チタンインプラントの表面改質により細胞増殖・分化が向上し、機能回復までの期間を短縮できることが報告されてきた。しかし、表面改質インプラントによる再生骨の強度や物理的特性は明らかでない。また表面微細構造化によるインプラント 生体界面バイオメカニクスと、これに伴う周囲骨の適応的リモデリングについては検討されていない。

### 2. 研究の目的

歯科用インプラントでは早期の骨結合だけでなく、周囲骨と適応した物理的機能を長期的に維持することが重要である。したがって再生骨組織の良好な骨質に基づく応力遮断効果の抑制と、適応的リモデリングによる周囲組織のメンテナンスを達成できる新たなインプラント表面デザインが求められる。本研究では放電陽極酸化処理を用いてチタン表面の化学構造・超微細構造を改質し、界面骨組織の物理的特性向上と適応的リモデリングのシミュレーションにより、インプラント 生体界面バイオメカニクスの最適化にチャレンジする。

### 3. 研究の方法

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液中で放電陽極酸化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った。ddY マウス頭蓋骨から採取した骨芽細胞をカルチャープレート上で培養し、骨分化誘導因子である BMP2 の添加により骨基質の発現量を上昇させ、石灰化組織

を形成した。細胞が産生した幼弱なコラーゲン分子は、リジン残基の酸化により架橋反応が亢進され、生体組織が形成される。Lysyl oxidase などの酸化酵素を添加することにより骨基質の架橋構造を変化させ、ナノインデントレーション法とレーザーラマン分光法により、チタンサンプル上の石灰化組織と物理化学的特性を比較分析した。インプラント再生骨組織の質的検討のため、天然骨組織を採取し、その分子構造と力学的特性を同時に評価した。

### 4. 研究成果

リン酸二水素ナトリウム溶液中で放電陽極酸化処理したチタン表面がヒドロキシラジカルを発生し、表面疎水性炭化水素の吸着を防止することから優れた生体適合性を長期間持続できる。電解液中でのチタン陽極酸化処理は、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。このチタン酸化膜内には Ti<sup>4+</sup>と O<sup>2-</sup> の正孔電子対が残存しており、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。放電陽極酸化チタンプレートを開イオン水中に浸漬すると、表面ヒドロキシラジカルの分解により、経時的な溶存酸素濃度が上昇することを見出した。

機能性バイオマテリアルであるインプラントでは、新生骨の物理化学的特性とバイオメカニクスが重要である。ヒドロキシラジカルを発生する放電陽極酸化処理チタン表面では、骨石灰化マーカー遺伝子（*Opn*、*Ocn*、*Bsp2*）だけでなく、石灰化能が著しく上昇する。ddY マウス頭蓋骨から採取した骨芽細胞を放電陽極酸化処理チタン表面で培養することにより *in vitro* で析出した石灰化組織の化学的特性は、コラーゲンマトリクスの架橋構造が増加し、骨や象牙質と同様のリン酸カルシウム・コラーゲン複合体であった。また石灰化組織の微小機械特性は、硬さ・弾性係

数ともに骨や象牙質での値に類似している。一方、加熱によりヒドロキシラジカルの発生が抑制された放電陽極酸化チタンサンプルでは、骨石灰化マーカー遺伝子上昇がみられるものの、培養後に形成された石灰化組織の物理化学的特性は著しく低下した。カルチャープレート上で骨分化誘導因子添加により骨芽細胞分化を向上させた培養条件でも、石灰化組織の物理化学特性は同様に低い。したがって、チタンインプラント表面の石灰化能向上にはヒドロキシラジカルによる骨基質やマトリクスタンパクの架橋構造促進が必要であると考えられる。

インプラント支持組織として再生骨組織は天然骨組織と同等の力学的特性を獲得する必要がある。この点、本研究では天然骨組織の詳細な力学的特性を検討した。骨は優れた剛性だけでなく、粘弾性などの時間依存特性を有する。これはセラミックや金属などの無機材料には見られない特性であり、クリープや応力緩和によってより大きな応力を吸収することができる。また骨の最小構造であるアパタイトナノ結晶と非コラーゲン性タンパクの動的構造変化により、弾性限以下のエネルギー吸収(レジリエンス)が上昇した。材料の本質的破壊は、弾性限を超えた応力から発生するクラック発生 伸展によるものである。したがって、ひずみ速度に依存したレジリエンスの上昇は、クラックの発生を未然に防ぐことが可能であり、骨の動的耐久性に大きく寄与していると考えられる。

#### 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 11 件)

1. Rodriguez R., Yoshimura K., Shibata Y., Miyamoto Y., Tanaka R., Uyama R., Sasa K., Suzuki D., Miyazaki T., Kamijo R., Nanoindentation time-dependent deformation/recovery suggestive of

methylglyoxal induced glycation in calcified nodules. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 13:2545-2553, 2017 (査読あり)

2. Alao A.R., Stoll R., Song X.F., Miyazaki T., Hotta Y., Shibata Y., Yin L., Surface quality of yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystal in CAD/CAM milling, sintering, polishing and sandblasting processes. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 65: 102-116, 2017 (査読あり)
3. Sharma A., McQuillan A.J., Shibata Y., Sharma L.A., Waddell J.N., Duncan W.J. Histomorphometric and histologic evaluation of titanium-zirconium (aTiZr) implants with anodized surfaces. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 27(5): Article 86, 2016 (査読あり)
4. Inami T., Tanimoto Y., Yamaguchi M., Shibata Y., Nishiyama N., Kasai K. Surface topography, hardness, and frictional properties of GFRP for esthetic orthodontic wires. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 104(1): 88-95, 2016 (査読あり)
5. Sharma A., McQuillan A.J., Sharma L.A., Waddell J.N., Shibata Y., Duncan W.J. Spark anodization of titanium-zirconium alloy: surface characterization and bioactivity assessment. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 26(8): Article 221, 2015 (査読あり)
6. Ganeko K., Masaki C., Shibata Y., Kondo Y., Mukaibo T., Nakamoto T., Miyazaki T., Hosokawa R. Bone aging by advanced glycation end products: multi-scale mechanical analysis. *Journal of Dental*

- Research 94(12): 1684-1690, 2015 ( 査読あり )
7. Shibata Y., Tanimoto Y., Maruyama N., Nagakura M. A review of improved fixation methods for dental implants. Part II: Biomechanical integrity at bone-implant interface. Journal of Prosthodontic Research (Elsevier B.V., invited review) 59(2): 84-95, 2015 ( 査読あり )
  8. Shibata Y., Tanimoto Y. A review of improved fixation methods for dental implants. Part I: Surface optimization for rapid osseointegration. Journal of Prosthodontic Research (Elsevier B.V., invited review) 59(1): 20-33, 2015 ( 査読あり )
  9. Maruyama N., Shibata Y., Mochizuki A., Yamada A., Maki K., Inoue T., Kamijo R., Miyazaki T. Bone micro-fragility caused by the mimetic aging processes in  $\alpha$ -klotho deficient mice: *in situ* nanoindentation assessment of dilatational bands. Biomaterials 47: 62-71, 2015 ( 査読あり )
  10. Wurihan, Yamada A., Suzuki D., Shibata Y., Kamijo R., Miyazaki T. Enhanced in vitro biological activities generated by surface characteristics of anodically oxidized titanium- the contribution of the oxidation effect. European Cells and Materials 29: 290-302, 2015 ( 査読あり )
  11. Miyamoto S., Miyamoto Y., Shibata Y., Yoshimura K., Izumida E., Suzuki H., Miyazaki T., Maki K., Kamijo R. In situ quasi-static and dynamic nanoindentation tests on calcified nodules formed by osteoblasts: Implication of glucocorticoids responsible for osteoblast

calcification. Acta Biomaterialia 12: 216-226, 2015 ( 査読あり )

[学会発表](計 6 件)

1. Shibata Y., Tanaka R., Wurihan, Zhou J., Tobe T., Yamamoto M., and Miyazaki T. Nanoindentation Characterization of Regenerated Tooth Enamel. 7<sup>th</sup> ICMOBT, abstract ID 054, 2017
2. Zhou J., Tanaka R., Shibata Y., Gao P., Miyazaki T. Dynamic mechanical analysis of dentin-bonding interface prepared by a self-etching primer. IDMC 2016
3. Tanaka R., Zhou J, Shibata Y., Miyazaki T. Stress-strain behavior of bleached enamel stored in a high-ionic-strength solution. IDMC 2016
4. 周君, 田中玲奈, 柴田 陽, 宮崎 隆. セルフエッチングプライマーによる樹脂含浸層の力学的特性. 第 66 回日本歯科理工学会学術講演会 2015 年 10 月 3 日
5. 丸山紀子, 柴田 陽, 宮崎 隆, 榎宏太郎.  $\alpha$ -klotho 遺伝子欠損マウスをモデルとした老化による皮質骨の物理的特性. 第 66 回日本歯科理工学会学術講演会 2015 年 10 月 3 日
6. Shibata Y., Maruyama N., Tanimoto Y., Maki K., Miyazaki T. Bone micro-mechanical properties related to aging processes. 6<sup>th</sup> ICMOBT, abstract ID 085, 2015

[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

柴田 陽 (Shibata Yo)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号： 30327936

### (2)研究分担者

宮崎 隆 (Miyazaki Takashi)

昭和大学・歯学部・教授

研究者番号： 40175617

美島 健二 (Mishima Kenji)

昭和大学・歯学部・教授

研究者番号： 50275343

山田 篤 (Yamada Atsushi)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号： 50407558

鈴木 大 (Suzuki Dai)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号： 00585797

谷本 安浩 (Tanimoto Yasuhiro)

日本大学・松戸歯学部・准教授

研究者番号： 40312045

### (3)連携研究者

( )

研究者番号：

### (4)研究協力者

( )