

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 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：31201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791915

研究課題名（和文） 陽極酸化・水熱処理チタンインプラントの三次元的骨形態計測による骨伝導能の評価

研究課題名（英文）Evaluation of Osteoconductive Property of Anodization-hydrothermal-Treated Titanium Implants

研究代表者

伊藤 茂樹（ITO SHIGEKI）

岩手医科大学・歯学部・助教

研究者番号：10530032

研究成果の概要（和文）：

SA 処理法の特徴である骨伝導能に関するメカニズムを解明する一方法として、HA 被膜の分析と細胞外基質生成の観察を行った。SA 処理により形成された HA 結晶を含む陽極酸化被膜を足場として、骨形成に関与する骨芽細胞様細胞は既存の骨組織から移動して増殖し、コラーゲンを分泌するとともに細胞外基質が生成されていることがわかった。さらに SA 処理チタンは陽極酸化処理チタンに比較して、早期に細胞外基質が生成されていることが *in vivo* 所見から明らかとなった。以上のように、SA 処理により形成された HA 被膜を足場として、骨形成に関与する骨芽細胞様細胞の分化速度が促進され、早期に細胞外基質生成が起こっていることが新たに確認された。

研究成果の概要（英文）：

This study demonstrates that an SA-treated cpTi implant surface will result in a substantial increase in bone matrix mineralization during the process of osseous wound healing compared with an AO cpTi implant, in the rat maxilla. Furthermore, the highly crystallized HA which results from SA-treatment may play a key role in osteoconduction during osseointegration

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総 計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：表面・界面物質、細胞・組織
歯学、シグナル伝達、生体材料

1. 研究開始当初の背景

口腔インプラント治療は、歯や顎骨欠損に対する補綴治療の 1 つとして有用であり、さ

らには高齢化にともなう顎口腔の歯列の形態・機能的変化による咀嚼障害を回復する方

法として、現代社会へ貢献されている。現在では、年齢・性別を問わず口腔内環境の意識レベルが高まるとともに、各家庭内に留まらず学校などの教育機関や会社、各団体、医療機関等が一体となって、地域と国レベルで歯科口腔衛生の改善・向上が取り組まれている。

このような社会の変革にともない、さらに各人の経済レベルも安定してきていることから、口腔内の審美性に関する意識レベルが向上し、欠損部への補綴治療による機能面での改善の他に審美性の改善にも口腔インプラント治療は一役を担い、欠かすことのできない治療法となっている。このような社会的背景から 1990 年代に比べて、2000 年代では患者のニーズが向上しより良質なインプラント材料、インプラント治療術式が改良、開発されつつある。そして、早期のオッセointegration 獲得と骨質の劣る部位への適応範囲拡大を目指した更なる口腔インプラント体表面の性状・形状や治療術式の研究、開発の余地を残している。

このような社会背景と課題に対して、当講座では bioinert と bioactive の両方の性質を兼ね備えた口腔インプラントを用いることが有利と考え、インプラント埋入後の治癒期間の短縮や骨質の劣る部位での生着率の向上を目的として、純チタン (cpTi) 表面を陽極酸化処理し、さらに水熱処理を行うことでハイドロキシアパタイト(HA)結晶を析出させる表面処理法(SA 処理)を報告してきた。

2. 研究の目的

このような顎骨組織に対して口腔インプラントを適用する場合、骨伝導能を有する HA が有利であると考えている。すなわち、当講座にて研究開発されている純チタンインプラント表面へ陽極酸化処理を施し、その後に水熱処理を施すことで陽極酸化被膜上に六方晶系で結晶性の高い単結晶の bioactive

な HA を析出させる SAcpTi インプラントを用いるのが有用であると考えている。これまでに、SAcpTi インプラントの骨伝導能について、光学顕微鏡レベルでの組織学的分析による検索を行ってきたが、いまだそのメカニズムについては不明確である。

そこで、本研究では多角的に SAcpTi インプラントの表明分析を行い、ラット上顎骨に SAcpTi インプラントを埋入するいわゆる“SAcpTi インプラント表面上での骨形成モデル”を構築し、SAcpTi インプラントの骨形成能について検討する。すなわち、本研究では、我々がこれまでに課題として挙げてきた骨質の劣る部位における SAcpTi インプラント周囲の骨形成(生着率)を探る一環として、マイクロ CTを用いたインプラント周囲骨組織の X 線分析を行い、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた組織形態学的分析と併せて骨伝導能を評価することを目的としている。

3. 研究の方法

口腔インプラント埋入後の治癒期間の短縮や骨質の劣る部位での生着率の向上を最終的な目的とし、“SAcpTi インプラント表面上での骨形成モデル”を構築することで SAcpTi インプラント表面での骨形成能について検証する。具体的には、ラットを用いて、上顎骨へ SAcpTi インプラントを一定期間埋入後に摘出し、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いた組織形態学的な分析について、下記の方法にて実験を行っていく予定である。

1) SAcpTi インプラントの製作

実験試料には、純チタンインプラント体 (JIS 2 種、直径 1.0 mm×長さ 2.0 mm、一部平面加工) を β -グリセロリン酸ナトリウム (0.01mol/l) と酢酸カルシウム (0.15mol/l) からなる電解質溶液中で放電陽極酸化処理 (AOFCP) 後、水熱処理を施したもの (SAcpTi) を用いる。対照試料として、未処理の cpTi,

陽極酸化処理を施した AOFCP チタンを用いる。

2) ラット上顎骨へのインプラント埋入

実験には、臼歯が萌出完了した 8 週齢の Wistar 系ラット（体重 160g）を用いる。ネンブタール（大日本製薬, 50 mg/kg）を腹腔内に注射投与し、全身麻酔のもとに仰臥位にて開口固定し、手術野を消毒した後、上顎両側臼歯部の約 0.5 mm 前方の歯槽骨頂に、生理食塩水を滴下しながら、直径 1.0 mm のラウンドバーを用いて上顎骨にインプラント窩を形成する。その窩洞にインプラント体を埋入し骨形成能を検証する。一方、インプラント周囲 4 壁のうち頬側壁の骨削を人為的に行い、露出したインプラント表面を組織再生用吸収性メンブレンにて被覆して骨再生誘導法（GBR ; guided bone regeneration）を用いて骨形成機序を分析し骨形成能を検証していく。これらインプラント埋入後は吸収性縫合糸を用いて粘膜骨膜弁を復位縫合する。

3) 試料の製作

埋入 14, 21, 28 日後に屠殺し、上顎骨を離断して標本を採取する。採取した標本は中性緩衝 10%ホルマリン水溶液で約 1 週間浸漬固定した後、カコジル酸緩衝液にて洗浄し、カルノフスキー固定液にて固定し、アルコール系列による脱水を行った後、第三アルコールにて凍結、乾燥を行ない試料を作製する。

4) 試料の分析

SAcpTi インプラントの表面分析ならびに SAcpTi インプラント周囲骨、陽極酸化処理 cpTi インプラント周囲骨、未処理 cpTi インプラント周囲の骨組織の状態について、以下の機器による分析を行う。

- ① SEM によるインプラント体の表面分析、組織形態観察（骨基質形成、石灰化、幼弱骨組織）
- ② X 線回折（XRD : JDX-3500, JEOL）を用いた SA 処理チタンを構成する物質の同定

- ③ 接触角計（CA-D, 協和界面科学）を用いた SAcpTi インプラント、陽極酸化処理 cpTi インプラント表面上での接触角（ぬれ）の測定

- ④ XPS における SAcpTi 表面上に析出した HA 被膜の分析

4. 研究成果

本研究では、SA 処理法の特徴である骨伝導能に関するメカニズムを解明する一方法として、HA 被膜の分析と細胞外基質生成の観察を行った。SA 処理を純チタン表面上に施すことで陽極酸化被膜ならびに六方晶系を呈する結晶性の高い HA 単結晶が析出される。SA 処理チタン表面に形成された陽極酸化被膜の構造は、陽極酸化処理チタン表面に比較して多孔質を呈していることが SEM 観察より確認された。さらに陽極酸化被膜表面が多孔質構造となることでぬれ性が飛躍的に向上することが明らかとなった。SA 処理により形成された HA 結晶を含む陽極酸化被膜を足場として、骨形成に関与する骨芽細胞様細胞は既存の骨組織から移動して増殖し、コラーゲンを分泌するとともに細胞外基質が生成されていることがわかった。さらに SA 処理チタンは陽極酸化処理チタンに比較して、早期に細胞外基質が生成されていることが *in vivo* 所見から明らかとなった。以上のように、SA 処理により形成された HA 被膜を足場として、骨形成に関与する骨芽細胞様細胞の分化速度が促進され、早期に細胞外基質生成が起こっていることが新たに確認された。

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 1 件）

著者名：

Jun Takebe, Shigeki Ito, Shingo Miura, Kyohei Miyata, Kanji Ishibashi

論文標題：

Physicochemical state of the nanotopographic Surface of commercially pure titanium following anodization-hydrothermal treatment reveals significantly improved hydrophilicity and surface energy profiles

〔学会発表〕（計 8 件）

- ① 発表者名：
三浦真悟、武部純、伊藤茂樹、菊地静一郎、宮田京平、小田島正博、石橋寛二
発表標題：
ナノ構造を有する陽極酸化・水熱処理チタン表面上での線維芽細胞の接着に関する検討
学会名：平成 23 年度 社団法人日本補綴歯科学会東北・北海道支部、関越支部、東関東支部総会ならびに合同学術大会
発表年月日：平成 23 年 9 月 23 日，24 日
発表場所：新潟
- ② 発表者名：
宮田 京平、三浦 真悟、伊藤 茂樹、武部純
発表標題：
陽極酸化・水熱処理チタン上の線維芽細胞の挙動に関する検討
学会名：第 41 回 公益社団法人 日本口腔インプラント学会 学術大会
発表年月日：平成 23 年 9 月 16～18 日
発表場所：名古屋国際会議場
- ③ 発表者名：
三浦真悟、武部純、伊藤茂樹、菊地静一郎、宮田京平、石橋寛二
発表標題：
「陽極酸化・水熱処理チタンと結合組織の付着一培養線維芽細胞を用いた検討ー」
学会名：社団法人日本補綴歯科学会第 120 回記念学術大会
発表年月日：平成 23 年 5 月 20～22 日
発表場所：広島国際会議場
- ④ 発表者名：
三浦真悟、武部 純、伊藤茂樹、菊地静一郎、宮田京平、千田豪也、菅野寿美江、石橋寛二
発表標題：
陽極酸化・水熱処理チタンと上皮組織の付着一 in vitroにおける線維細胞を用いた検討ー
学会名：平成 22 年度日本補綴歯科学会 東北・北海道支部総会・学術大会
発表年月日：平成 22 年 10 月 24 日
発表場所：札幌

- ⑤ 発表者名：
S. Ito, J. Takebe, S. Kikuchi, T. Shioyama, K. Ishibashi
発表標題：
Evaluation of Osteoconductive Property of Anodization - Hydrothermal Treated - Titanium Implants
学会名：第 88 回国際歯科学研究学会 (IADR)
発表年月日：H22 年 7 月 13 日～19 日
発表場所：バルセロナ
- ⑥ 発表者名：
J. Takebe, S. Ito, S. Miura, K. Miyata, K. Ishibashi
発表標題：
Evaluation of wettability on anodization-hydrothermal treatment of titanium with nanotopography
学会名：第 88 回国際歯科学研究学会 (IADR)
発表年月日：H22 年 7 月 13 日～19 日
発表場所：バルセロナ
- ⑦ 発表者名：
菊地静一郎、武部純、伊藤茂樹、三浦真吾、塩山 司、石橋寛二
発表標題：
陽極酸化・水熱処理チタンの擬似体液中におけるリン酸カルシウム形成能
学会名：平成 21 年度日本補綴歯科学会東北・北海道支部総会・学術大会
発表年月日：平成 21 年 10 月 24 日，25 日
発表場所：盛岡
- ⑧ 発表者名：
菊地静一郎、武部純、伊藤茂樹、三浦真吾、塩山 司、石橋寛二
発表標題：
擬似体液中における陽極酸化・水熱処理チタンの表面解析
学会名：第 118 回日本補綴歯科学会学術大会
発表年月日：平成 21 年 6 月 6 日，7 日
発表場所：京都

6. 研究組織

- (1) 研究代表者：伊藤 茂樹 (Ito Shigeki)
研究機関名：岩手医科大学
部局：歯学部
職名：助教

研究者番号：10530032