

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 10 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：2015～2016

課題番号：15H06609

研究課題名(和文)セリア安定化アルミナ・ジルコニアインプラントの開発

研究課題名(英文)Development of Ceria-Stabilized Zirconia/Alumina implant

研究代表者

大嶋 瑶子(Oshima, Yoko)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：50756442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：歯科用インプラント材料として現在最も広く使用される材料はチタンであり、審美性とアレルギーの問題が懸念されている。そこで我々は新たなインプラント材料としてセリア安定化ジルコニア/アルミナ・ナノ複合(Ce-TZP/Al2O3)に着目した。Ce-TZP/Al2O3は、イットリア系ジルコニアと比較して、口腔内のような水熱環境下でも劣化しない優れた特性を有する。本研究の目的はCe-TZP/Al2O3インプラントフィクスチャーの開発である。我々はフッ化水素酸処理したCe-TZP/Al2O3が骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の分化を促進し、ラットの大腿骨へ埋入したインプラント体と骨との結合を確認した。

研究成果の概要(英文)：Ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite (Ce-TZP/Al2O3) has been widely used for crowns and bridges. Since Ce-TZP/Al2O3 has low susceptibility to hydrothermal degradation, this material has potential to be applied to dental implant fixtures. The aim of this study was to development of Ce-TZP/Al2O3 implant, to investigate the osseointegration capability of the Ce-TZP/Al2O3 implant that was treated with hydrofluoric acid (HF) compared to that of acid-etched titanium implant. Culture studies using MC3T3-E1 osteoblasts showed that the attachment, spread, and functional phenotypes of osteogenic cells, such as alkaline phosphatase activity, were remarkably increased on nanofeatured Ce-TZP/Al2O3 treated with HF. The strength of osseointegration measured by a biomechanical push-in test in a rat model was stronger for nanofeatured Ce-TZP/Al2O3 implants than for acid-etched titanium at week 2 and 4.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：歯科インプラント 歯科材料 オッセオインテグレーション

### 1. 研究開始当初の背景

歯科用インプラントフィクスチャー材料として現在最も広く用いられている材料は金属チタンである。チタンは高い成功率を有するものの、その金属色による審美性の問題や感作性実験からそのアレルギーの問題などが指摘されている。一方、ジルコニアは金属に匹敵する強度を有しており、高強度セラミックスとして歯冠修復材料、インプラントのアバットメント、上部構造に用いられている。ジルコニアには、イットリア系とセリア系の2種類に分けられる。特にセリア系は、ジルコニア粒子とアルミナ粒子のナノ複合化セラミックスで、イットリア系と比較して約2倍の強靱性と、水熱環境下でも劣化しない優れた特性を有している。セリア系ジルコニア(以下 Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)の優れた靱性を活用して歯科インプラントおよび人工関節等の生体材料への適用が期待される。

### 2. 研究の目的

Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> インプラントフィクスチャーの開発

### 3. 研究の方法

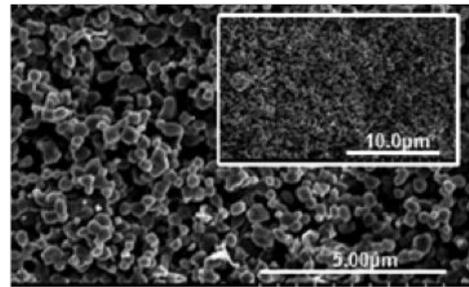
SEM によるフッ化水素酸処理後の Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 試料片の表面性状分析  
XRD による Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 試料片の結晶性・配向性の評価  
骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) の接着・増殖・分化に及ぼす影響を調べる。  
ラット動物実験による Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> と骨の結合力を評価  
マイクロCTにより Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> と骨の結合を確認

### 4. 研究成果

**高濃度フッ化水素酸処理したCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> はナノ構造を有した。**

表面にフッ化水素酸(以下HF)処理を施し、電子顕微鏡での観察により、55%フッ化水素酸で処理したCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の表面は、**ナノレベルの凹凸のある球状構造をもつことを明らかにした(図1)。**

図1 55%フッ化水素酸水溶液に24時間浸漬したCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>



ナノレベルの球状様構造が観察された。

### フッ化水素酸処理後の表面解析

ジルコニアの結晶構造は、温度により相転移を起こし、構造が変化する。室温では、単斜晶となり、1170 で正方晶、2370 で立方晶となる。正方晶から立方晶に変化する際に、体積が約4%収縮する。フッ化水素酸処理により、ジルコニアの結晶構造に変化がみられるかどうかを、XRDで観察を行った。

その結果、Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は、HF処理を行う前[Zr(0%)]と後[Zr(55%)]では、処理後の方が処理前より正方晶の割合が高く、単結晶が減少した。よってCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>は**HF処理後も、安定した結晶構造であることが示された(図2)**

図2 XRDによる結晶構造の割合

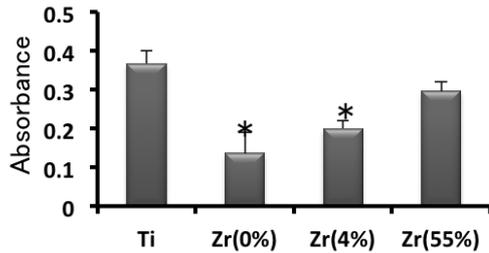
disc	content(%)	
	tetragonal (Zr <sub>0.9</sub> Ce <sub>0.1</sub> )O <sub>2</sub>	monoclinic (Zr <sub>0.9</sub> Ce <sub>0.1</sub> )O <sub>2</sub>
Zr(0%)	76	24
Zr(55%)	84	16

**骨芽細胞様細胞の接着・増殖・分化は、高濃度HF処理後のCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>上で促進した。**

試料片として、直径20mm、厚さ1mmのCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の機械研磨基盤[Zr(0%)]と、4%と55% HFにて24時間処理した基盤 [以下Zr(4%)、Zr(55%)]を用意し、67%硫酸で処理したチタン基盤(以下Ti)を対照群とした。MC3T3-E1細胞を各試料片上で1日間、5日間培養し、細胞接着数と増殖数をWST-1テストで評価した。1日後の細胞接着は、Zr(55%)とTiが

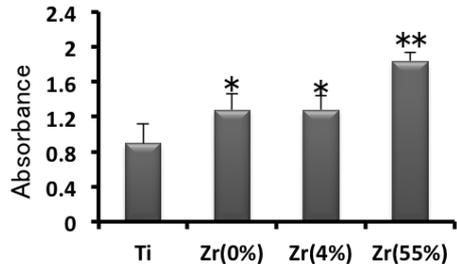
顕著に増加し（図3）、5日後では、Zr(55%)はTiと比較して有意に細胞数が増加していた（図4）。

図3 Zr(55%)は、Tiと同様細胞が多く接着した。



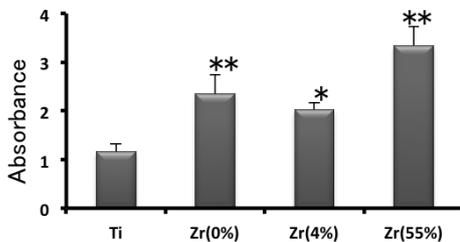
24時間培養後のE1細胞の接着数は、Zr(55%)とTiにおいて他と比較して有意に高い結果となった。(P<0.05, \*P<<0.01)

図4 Zr(55%)は、他と比較して細胞が多く増殖した。



5日間培養後のE1細胞の接着数は、Zr(55%)において他と比較して有意に高い結果となった。(P<0.05, \*P<<0.01)

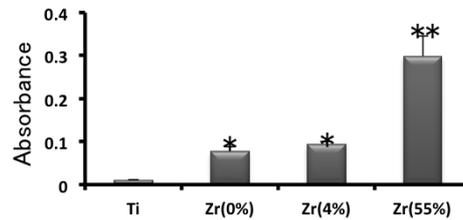
図5 オステリックスの発現は、Zr(55%)で他と比較して有意に高い結果となった。



7日間培養後のRT-PCRによるオステリックスの発現\* (P<0.05, P<<0.01)

また、7日後の骨関連遺伝子をReal Time PCRにて調べ、Osterix、osteocalcinともにZr(55%)上でTiと比較し有意に上昇した（図5,6）。この結果から、Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>はHF処理による表面改質により、骨芽細胞の接着・増殖・分化を促進させることが示唆された。

図6 オステオカルシンの発現は、Zr(55%)で他と比較して有意に高い結果となった。



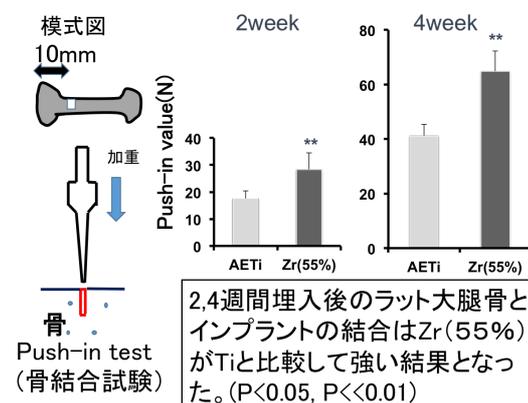
7日間培養後のRT-PCRによるオステオカルシンの発現(P<0.05, P<<0.01)

### ラット動物実験によるCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>と骨の結合力を計測

Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>のシリンダー状の機械研磨試料片(直径1mm、長さ2mm)を55%フッ化水素酸水溶液にて酸処理し[以下Zr(55%)]、コントロールとして同形状の機械研磨チタンを67%硫酸水溶液で酸処理し[以下Ti]、ミニインプラントとして使用した。8週齢SDラットをイソフルラン吸入下で大腿骨関節骨頭から10mm下に各試料片を骨内に埋入、縫合し、2週間後、4週間後にpush-in testを行い、骨と試料片の結合力を、試料片に加える力にて評価した。

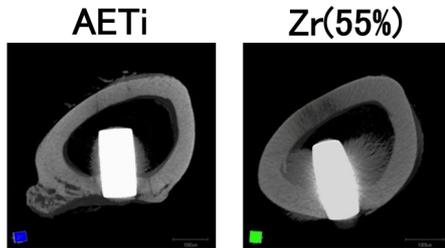
2週間後、4週間後の骨とミニインプラントの結合は、Zr(55%)がTiと比較して、強い結果となった（図7）。

図7 Zr(55%)はTiより強く骨と結合した



2,4週間埋入後のラット大腿骨とインプラントの結合はZr(55%)がTiと比較して強い結果となった。(P<0.05, P<<0.01)

図8 Zr(55%)はTiと同様に骨と結合している



4週間後のZr(55%)は、骨と結合していることが確認された。

#### マイクロCTによるCe-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>と骨の結合を確認

上記動物実験のミニインプラント埋入4週間後の骨をマイクロCTにて観察、Zr(55%)と骨の結合を確認した(図8)

#### 今後の展望

Ce-TZP/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>に特異的な表面トポグラフィーが骨インプラント結合力を飛躍的に高めることができるかどうか、また生体への安全性など臨床応用への展開に関しても検討することが多い。本研究結果から、生体に安心して審美性を求める患者においても高い成功率を上げられるインプラントの開発に向け、研究基盤を確立していくことが必要と考えられる。

#### 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 1件)

Yoko Oshima, Fuminori Iwasa, Keita Tachi, Kazuyoshi Baba、Effect of Nanofeatured Topography on Ceria-Stabilized Zirconia/Alumina Nanocomposite on Osteogenesis and Osseointegration、The International Journal of ORAL & MAXILLOFACIAL IMPLANTS、査読有、Vol. 32、No.1、2017、P.81~91

[学会発表](計 2件)

F. Iwasa, Y. Oshima, K. tachi, S. Yokoyama, K. Baba

Enhanced Osseointegration on hydrofluoric-acid treated ceria-stabilized zirconia/alumina

nanocomposite

(25<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the European Association for Osseointegration, Paris, France, September 29-October 1, 2016)

25<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the European Association for Osseointegration Program guide P.50 Poster presentation

大嶋瑶子, 岩佐文則, 館慶太, 横山 紗和子, 馬場一美

ナノ構造をもつセリア安定化ジルコニア/アルミナ・ナノ複合体の骨形成とオッセオインテグレーションへの影響、日本口腔インプラント学会誌、第28巻 63頁、2015年

(第45回日本口腔インプラント学会学術大会、岡山、2015年9月)

[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

大嶋 瑶子 (OSHIMA, Yoko)  
昭和大学・歯学部・助教

研究者番号： 50756442

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
( )