

令和元年6月14日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11603

研究課題名(和文)非晶質シリカ膜コーティングによるインプラントアバットメント表面の機能化

研究課題名(英文)Biological Activation of Implant Abutment with Amorphous Silica Coating

研究代表者

尾立 哲郎 (ODATSU, Tetsurou)

長崎大学・病院(歯学系)・講師

研究者番号：70513167

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)：本研究では非晶質(アモルファス)シリカを表面に応用することで、歯肉線維芽細胞の接着とコラーゲン産生の向上、さらに抗菌性を併せ持つ新規機能性インプラントアバットメント表面の創生を目的とした。

ゾル-ゲル法にてジルコニア表面にアモルファスシリカコーティングを行い、ヒト歯肉線維芽細胞を培養したところ、コラーゲン遺伝子発現の増強を認めた。これにより周囲粘膜組織に存在する歯肉線維芽細胞の活性を向上し、コラーゲン繊維の増産を促すことが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インプラント支持骨まで炎症が波及し骨吸収を起こしているインプラント周囲炎は、インプラント埋入患者の28～56%程度に認められると報告されており、インプラント失敗の最も大きな原因の1つである。アバットメント表面にアモルファスシリカコーティングを行うことで、周囲粘膜組織に存在する歯肉線維芽細胞の活性を向上し、コラーゲン繊維の増産を促すことが示された。これは、インプラント周囲組織のバイオタイプを改善し、インプラント周囲炎防御に対して優位に働くことが考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to develop the coating methods for biological activation of implant abutment. Amorphous silica coatings were applied with zol-gel technique on the surface of zirconia disks. Human gingival fibroblasts were cultured on the samples for 1, 3, 7 days, and evaluated the cell proliferation, gene expression of collagen (Col-a1) and superoxide dismutase (SOD). The cell proliferation did not changed among each group and each time-point. The gene expressions of Col-a1 and SOD were increased on the sample groups with the amorphous silica coatings.

These results indicate that amorphous silica coating on the implant abutment surface develop the activity of gingival fibroblast around the implant, leading to the improvement of the bio-type of peri-implant tissue and the protection from peri-implantitis.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：インプラントアバットメント インプラント周囲炎 コラーゲン繊維

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

### 1. 研究開始当初の背景

天然歯周囲の軟組織付着は、結合組織層におけるコラーゲン線維の歯根セメント質への陥入とヘミデスモソーム結合による上皮付着という、精巧な上皮-間葉系相互作用により構成されている。それに対してインプラント周囲軟組織は、ヘミデスモソームによる上皮付着を認めるといふ報告はあるものの、コラーゲン線維はインプラントに平行に走行するのみで、いわゆる脆弱なバイオロジカルシールを呈する。これが、インプラントの最も頻度の高い合併症とされるインプラント周囲炎の要因の一つとされている。

歯肉線維芽細胞はインプラント周囲結合組織の主要な構成成分の1つで、インプラントアバットメントから40  $\mu\text{m}$  の範囲では、その32%を占めるとされている(J Clin Periodontol. 1999; 26: 658-663.)。したがって、線維芽細胞の付着とそこから産生されるコラーゲンリッチな厚い結合組織をインプラントアバットメント周囲に獲得することが、細菌の侵入や周囲粘膜と骨吸収を妨げ、インプラントの長期予後を獲得することにつながると考えられる。インプラント周囲粘膜の厚さが2.5 mm以上の厚い歯肉では、2 mm以下の薄い歯肉の症例と比較して1年経過時の骨レベルが優位に高く保たれたという臨床研究報告もあり(Int J Oral Maxillofac Implants. 2009; 24: 712-719.)、実際の臨床においても、インプラント周囲粘膜のバイオタイプを改善するために、口腔粘膜下から採取した結合組織の移植が行われている。

これまでの研究では、ヒト骨膜由来細胞に対して、生体活性ガラスとそこから溶出するSi イオンの骨形成促進能について研究しており、Runx2 やオステオカルシン、アルカリフォスファターゼ等の骨形成に関与する遺伝子発現を上昇させるとともに、コラーゲン遺伝子発現も上昇させ細胞外基質中のコラーゲン産生を増加させることを報告している(J Biomed Mater Res A. 103(8): 2797-2806, Adv Healthc Mater. 2016; 5: 2199-2213.)。骨膜はコラーゲン線維と線維芽細胞によりなる繊維層と、骨原性細胞が含まれる骨形成層からなる。これまでの研究では骨膜の骨形成能に注目し、Si イオンの骨形成促進効果について研究を進めていたが、細胞外基質中のコラーゲン量が向上したことから、線維芽細胞に対しても活性化作用があるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究ではゾル-ゲル法により作製した非晶質(アモルファス) シリカを表面に応用することで、歯肉線維芽細胞の接着とコラーゲン産生の向上、さらに抗菌性を併せ持つ新規機能性アバットメント表面の創生を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) ゾル-ゲル法によるアモルファスシリカコーティング

$\phi$  10 mm×厚さ1.5 mmのジルコニアディスク(東ソー)上に、45S5 Bioglass (45 wt% SiO<sub>2</sub>, 24.5 wt% CaO, 24.5 wt% Na<sub>2</sub>O, 6.0 wt% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)のコーティングを行った。これはオルトケイ酸テトラエチル(TEOS、和光純薬工業)と酢酸を主成分にシリカゲルを作製し、40°Cで24時間乾燥させた後、700°Cで2時間焼成し形成した。また、Na<sub>2</sub>Oの割合を調整し、創傷治癒を促進するとされているZn (1、5、10 wt%)を含む試験群も作製した。

#### (2) 線維芽細胞増殖率の測定

48wellプレート上に試料を設置し、 $2 \times 10^4$ 個のヒト歯肉線維芽細胞(hGF、ACTT)を播種した(n=5)。24、48、72時間後の細胞数をMTSアッセイ(CellTiter96 One Solution Cell Proliferation Assay、Promega)にて測定し比較した。

#### (3) 線維芽細胞の遺伝子発現の比較

細胞播種後、1、3、7日後にコラーゲンおよびSuperoxide Dismutase (SOD)の遺伝子発現をrt-PCRにて解析した。

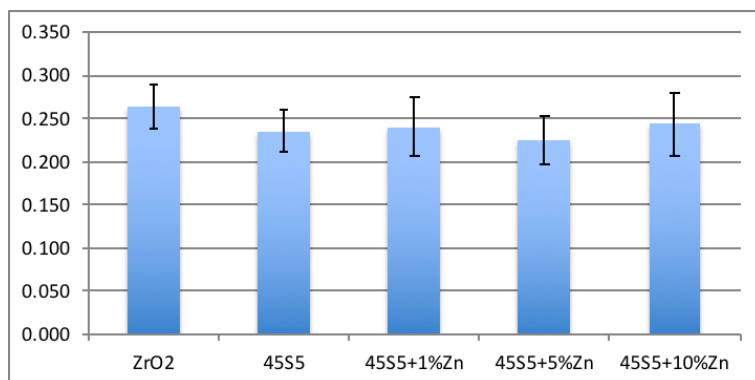
### 4. 研究成果

#### (1) ゾル-ゲル法によるアモルファスシリカコーティング

ゾル-ゲル法にて、ジルコニアディスク上に45S5Bioglassコーティングを施すことが可能であった。試作したZnを含むBioglassも問題なく作製できた。しかし、コーティング膜厚に関しては偏りがあり、均一に作成することが困難であった。この点に関しては、今後も検討が必要である。

(2) 線維芽細胞増殖率の測定

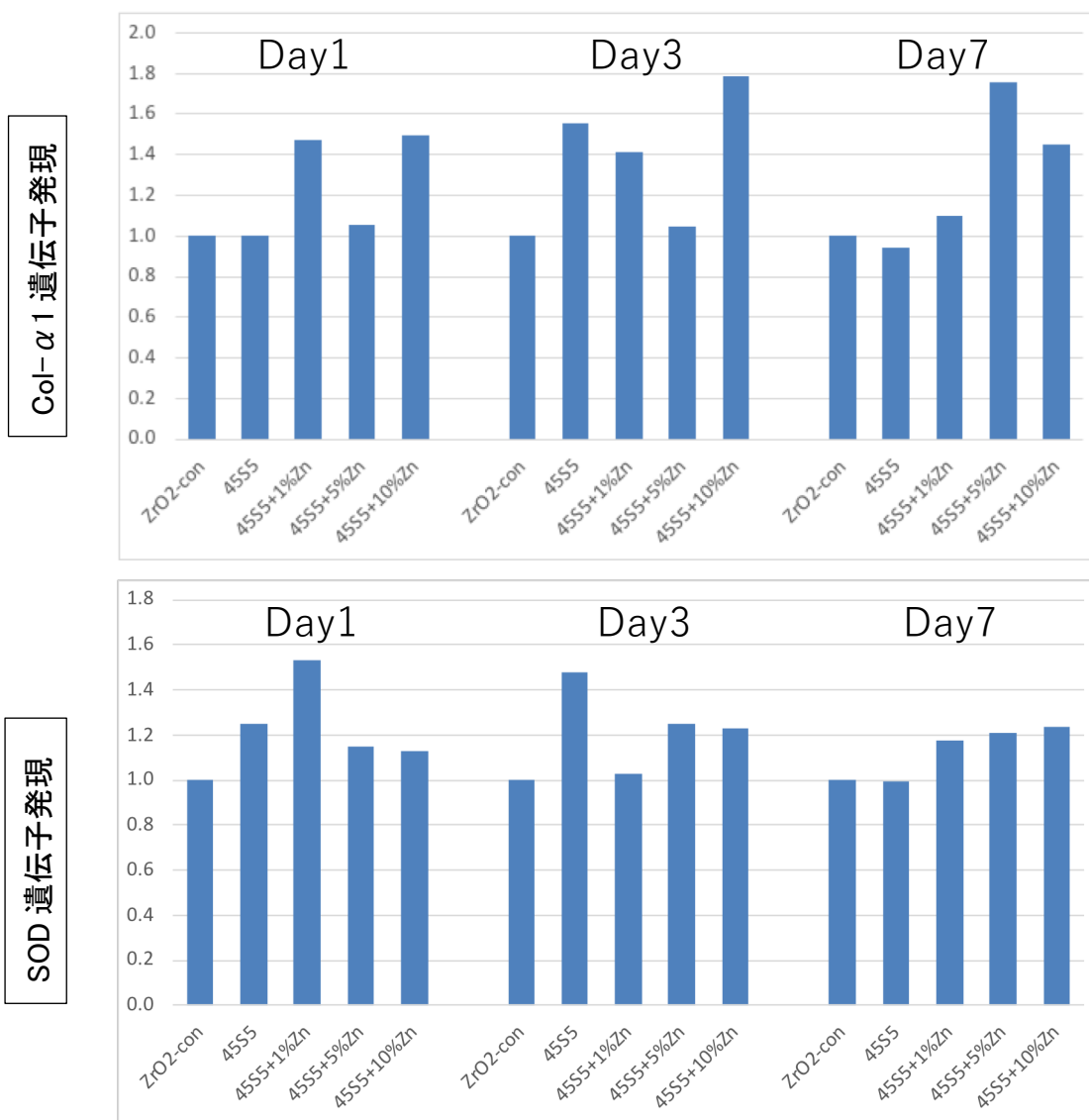
すべてのタイムポイントで、各グループの細胞増殖数に違いは認められなかった。この結果から、アモルファスシリカコーティングおよび溶出するイオンに関して、線維芽細胞の proliferation に対して影響はなく、また細胞毒性についてもないことが示唆された。



代表として線維芽細胞増殖試験（48時間）の試験結果を示す。

(3) 線維芽細胞の遺伝子発現の比較

コラーゲンおよびSOD遺伝子発現結果を図に示す。



コラーゲン遺伝子の発現について、コントロールと比較してコーティングを行った試験群で高い傾向が認められた。ただ、グループ間で発現時期にバラつきがあった。SOD遺伝子発現についても同様の結果が認められ、その傾向は早期のタイムポイント（Day1およびDay3）で、強い傾向があった。

以上の結果より、アバットメント表面にアモルファスシリカコーティングを行うことで、周囲粘膜組織に存在する歯肉線維芽細胞の活性を向上し、コラーゲン繊維の増産を促すことが示された。これは、インプラント周囲組織のバイオタイプを改善し、インプラント周囲炎防御に対して優位に働くことが考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：澤瀬 隆

ローマ字氏名：SAWASE, Takashi

所属研究機関名：長崎大学

部局名：医歯薬学総合研究科（歯学系）

職名：教授

研究者番号（8桁）：80253681

##### (2) 研究協力者

なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。