

令和元年6月14日現在

機関番号：42697

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11619

研究課題名(和文) 歯科医療の発展に寄与する粉末積層造形法の導入を目指した新たな展開

研究課題名(英文) An innovative idea for introducing the additive manufacturing to the advancement in dentistry

研究代表者

小池 麻里 (KOIKE, Mari)

日本歯科大学東京短期大学・その他部局等・教授(移行)

研究者番号：00234667

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)：粉末積層造形導入により、医科・歯科用への応用が期待されが、臨床で重要な生体親和性については未だ十分とはいえない。粉末積層造形で作製したTi6Al4V試料と従来法の鑄造試料の細胞親和性とバイオフィーム付着性を検討した。細胞親和性は、ISO10993-5に準じ、繊維芽細胞で評価した。バイオフィーム付着性は、口腔内での応用を考慮し、*S. mutans*で評価した。その結果、積層造形作製のTi6Al4V試料の表面粗さは、鑄造試料より粗いが、本研究の短期の評価では、細胞親和性とバイオフィーム付着性については統計学的な有意差は認められなかった。しかし、臨床応用への道を拓くには、長期の検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

医用生体材料の作製に粉末積層造形を応用した際の安全性を確認できたことで、患者のCT撮影などから得られるデータを用い、カスタマイズされた補綴物などを作製できることで、高い治療効果を期待でき、患者の健康の維持・増進に寄与することができる。それと同時に、作製にかかる大幅なコスト削減と短期の納品が可能となり、医療費の削減と患者の治療機関へ通院する期間と時間の短縮に繋がる。粉末積層造形装置は、高価な機器であることが懸念されているが、補綴物の作製過程において全てをデータ化して処理することで、作製は一か所で行えるシステムを構築できることから、今後の普及が大いに期待できる。

研究成果の概要(英文)：Following the introduction of additive manufacturing (AM) technology, there have been several reports describing its efficacy for fabricating medical and dental devices. Although minimizing cytotoxicity and biofilm are important clinically, few studies have compared that on AM devices with that on alloys fabricated by other methods. AM Ti6Al4V were compared with that on Ti6Al4V alloys fabricated by casting. Teflon served as controls. The direct contact cell culture tests followed by ISO 10993-5 were performed using fibroblasts with MTT assay. *S. mutans* biofilm accumulation on alloys was conducted to determine the *S. mutans* adhering to the alloys using a bioluminescence assay. Although the surfaces of the AM Ti6Al4V alloy were rougher than those of cast alloy, this roughness, unexpectedly, did not increase the cytotoxicity and the biofilm. However, additional research is needed to evaluate whether the Ti alloys maintain their low cytotoxicity and biofilm when exposed for longer periods.

研究分野：補綴系歯学

キーワード：粉末積層造形 チタン合金 生体親和性 細菌付着性 歯科用合金

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

チタンは、耐食性、生体適合性および強さが優れていることから医用生体補綴物として広く利用されている。その作製には、主に鋳造と切削加工技術が用いられているが、大きさと形状が限られている。その一方で、生体材料を用いた補綴装置の重要性は年々高まってきている(成島尚之, 軽金属 55: 561-565, 2005.)。

3次元CAD (computer aided design) システムの普及、造形装置の機械的精度および製造物の精度の向上などのコンピュータ技術の発展に伴い、金型を使用しないで、直接、レーザービームや電子ビームを使用して部品を作製する粉末積層造形法が開発された。この方法は、物体の断面形状のデータに従い、素材を徐々に付加していくことで、外部の形状はもとより、空洞や網目状などの内部構造も作製できる。この造形法は、1995年以降、著しい発展を遂げ、樹脂から金属まで幅広い素材を使用できるという利点から、機械部品に始まり、近年、さらに医科・歯科領域への応用とその重要性が一気に増している。粉末積層造形法で期待される効果は、1) 物体の断面形状データに従って、層状に材料を付加していくことにより、1) 3次元CADなどにより作製した形状を、忠実に再現できる。2) 金属粉末を焼結するだけでなく、一層ずつ熔解して成形するので、高密度、かつ合金に見合った強さの造形物を作製できる。3) 粉末材料を使用するため、成形に適した素材の選択性が高い。4) 外部構造に併せて内部構造も成形できる。5) 多孔質性や連通孔性の表面などを組織との適合性を考慮して、自由に微細な表面形状と形態を作製できることが挙げられる。しかし、積層試料は、いずれも焼結・熔解した金属粉末層の積み重ねによって作製されているので、表層は試料作成方向、つまり装置内のビームの方向に垂直で、板状の積み重ね層状構造を呈している。総合的な機械的特性は、歯科への応用に十分な強度 (ISO 22674, 2006.) であった。そのため、表面性状については、今後改良が必要と考えるが、その一方で、現在の波状・積み重ね構造の表面を利点として利用できないか、模索する価値があると考えた。

そこで、生体内での使用を考慮すると材料や積層物の表面形状が細胞親和性や細胞付着性などのような影響を及ぼすかについて検討することは、広範囲において医科・歯科領域への応用が期待できる点において極めて重要となる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、粉末積層造形装置で作製した製品を、幅広く医科と歯科へ応用するために、医用生体材料の必須条件の一つである細胞親和性と生体内で使用することで予測される細菌付着性について詳細に検討し、臨床応用が可能かどうかを評価することである。

3. 研究の方法

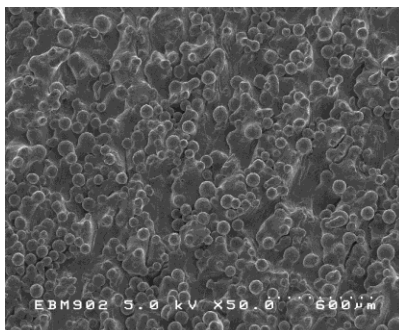
- 1) 粉末積層造形装置を用いて作製された試料表面を走査型電子顕微鏡 (S-4000, 日立ハイテクサイエンス, 東京) にて詳細に観察し、また、走査型白色干渉顕微鏡 (VS1500, 日立ハイテクサイエンス) にて表面粗さの測定を行い、その表面性状を把握した。
- 2) ISO10993-5 (2009) に準じてマウス繊維芽細胞 (市販) を使用し、MTT アッセイを指標とした細胞毒性試験を実施し、生体積層材料と形状に対する親和性を評価した。
- 3) 生体応用時、特に口腔内で感染の可能性が高い、口腔内細菌を用い、表面形状の異なる粉末積層造形試料表層への細菌の付着性を評価し、適切な表面形状とその処理法を検討した。

4. 研究成果

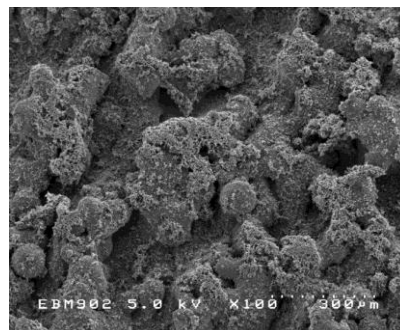
1) 試料表面性状

Ti-6Al-4V 合金粉末を材料にした電子ビーム積層造形試料 (EBM), レーザービーム造形試料 (LBM), 鋳造試料 (As cast) および対照として使用したテフロン試料の代表的な表面の形状と表面粗さ (Sa: 写真下部に記載) を図1左側に示した。

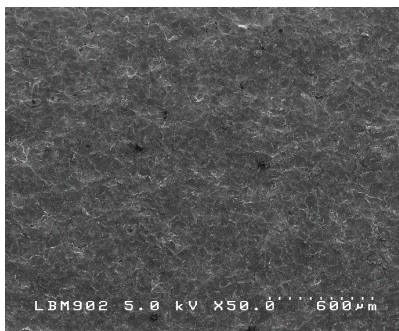
EBM 試料表面が、最も粗かった (Sa=36) が、表層では粉末試料の一部のみが溶解し試料に付着していたことから、溶解していない個々の球状表面は滑沢であった。一方、LBM 試料は作製時のレーザーの熱によって粉末がほとんど溶解しているため Sa=6.4,



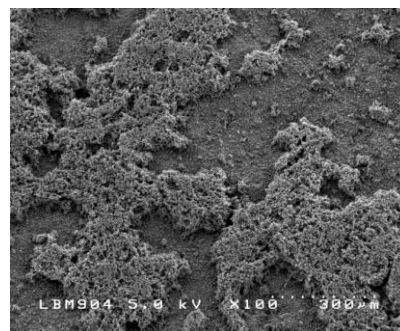
EBM (Sa=36.8 μm)(x50)



Biofilm on EBM



LBM (Sa=6.4 μm) (x50)



Biofilm on LBM

また、鑄造試料 Sa=2.3 となっていた。測定面積の精度で評価すると鑄造試料がもっとも粗造であった。

2) 細胞親和性

ISO10993-5 (2009) に準じてマウス繊維芽細胞を使用し、MTT アッセイを指標とした細胞毒性試験で積層造形試料表面粗さが与える影響を評価した。

その結果を図 2 に示した。全ての試料の試料において正の対照であるテフロン試料とほぼ同様な結果を示した。

3) 細菌付着性

口腔内で感染の可能性が高い、口腔内細菌である *S. mutans* を用いて、表面性状の異なる粉末積層造形試料表層への細菌の付着性を評価し、その結果を図 3 に、その走査電子顕微鏡写真を図 1 右側に示した。今回の 4 時間の培養条件では、全ての試料において付着量に関しては統計学的な有意差は、認められなかった。

以上の結果から、両粉末積層造形による Ti-6Al-4V 製品は、表面粗さは、鑄造製品より凹凸が大きくなっていったが、本研究の短期の評価では、細胞親和性と口腔内細菌によるバイオフィーム付着性については有意な差は認められなかった。細菌の短時間の接触、つまり初期の段階では、表面観察で見られた EBM 製品材料であるの粉末の滑沢な面には、やや細菌付着が少ない傾向を示している。しかしながら、培養時間が長くなると、一旦凹の部分に細菌が付着し、増殖が進むと、平坦な部位に比較して除去が困難になるのではないかと懸念もある。しかし、臨床応用への道を拓くには、長期の検討が必要である。特に、細菌が付着した製品からの削除方法の開発も必須と考える。

改良点はあるが、カスタマイズされた補綴物などを作製できることで、高い治療効果が期待でき、患者の健康の維持・増進に寄与できる。同時に、作製時の大幅なコスト削減と短期の納品が可能となり、医療費の削減と患者の治療機関への通院期間と時間の短縮に繋がる。

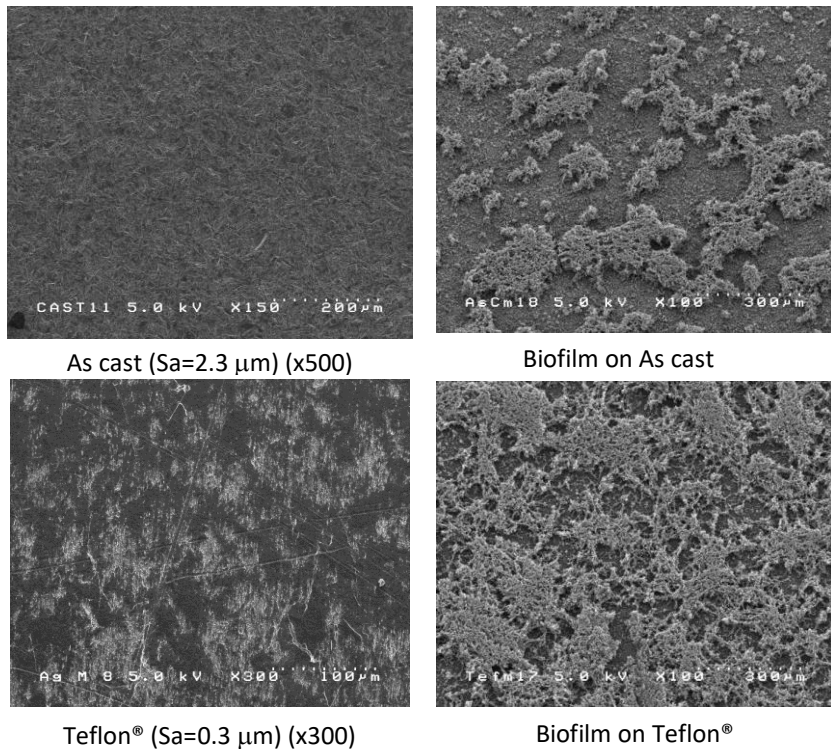


図 1 SEM images showed the surface of the specimens before (left side) and after (right side) biofilm accumulation. The Sa under the SEM picture is the roughness of the surface for each specimen.

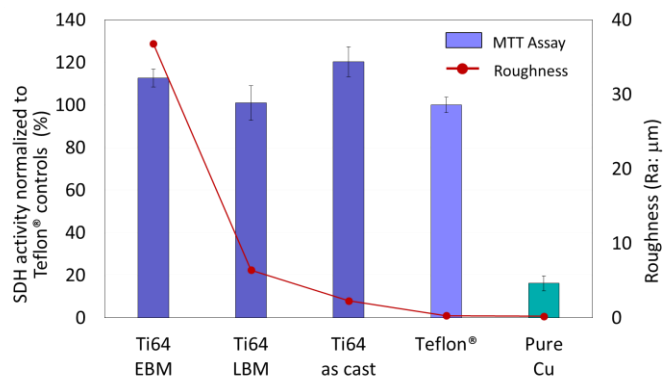


図 2 Cytotoxicity and surface roughness on alloys and control substrates

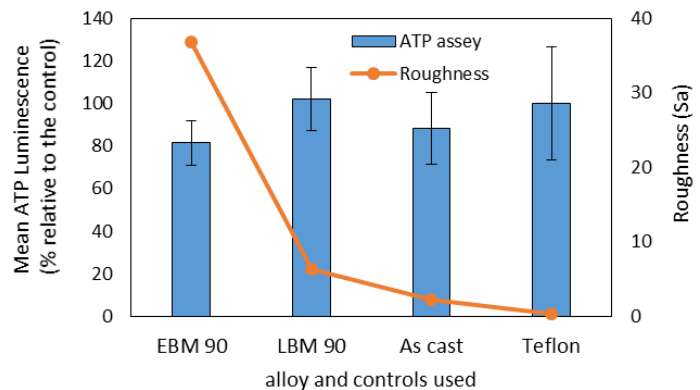


図 3 Biofilm accumulation on alloy and control substrates

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

- 1) Koike M, Horie T, Mitchell R, Okabe T. Accumulation of Biofilm on Ti-6Al-4V Alloy Fabricated Using Additive Layer Manufacturing TMS 2019 148th Annual Meeting & Exhibition Supplemental Proceedings: 827-836, 2019. DOI 978-3-030-05861-6_81
- 2) Chu TG, Khouja N, Chahine G, Kovacevic R, Koike M, Okabe T. In vivo Evaluation of a Novel Custom-Made press-Fit Dental Implant through Electron Beam Melting® (EBM®). International Journal of Dentistry and Oral Science (IJDOS), ISSN: 2377-8075, 2017.
<http://scidoc.org/IJDOS.php>

[学会発表] (計 6 件)

- 1) Koike M, Horie T, Mitchell RJ, Okabe T. Accumulation of Biofilm on Ti-6Al-4V Alloy Fabricated Using Additive-layer-manufacturing. 2019 TMS Annual Meeting & Exhibition, TMS2019 Technical Program: 282, March 14, 2019.
- 2) Koike M, Horie T, Hummel SK, Mitchell RJ, Okabe T. Biofilm on Additive-Layer-Manufactured Ti Alloy - Effects of Different Build-up Directions. J Dent Res 97 (Spec Iss B): 855, July 26, 2018.
- 3) Koike M, Horie T, Hummel SK, Mitchell RJ, Okabe T. Biofilm Accumulation on Titanium-Alloy Fabricated by Additive-Layer-Manufacturing vs. Conventional Casting. J Dent Res 97 (Spec Iss A): 960, March 23, 2018.
- 4) 小池麻里, 岡部 徹. 粉末積層法を用いたチタンの歯科利用, レアメタル研究会 (第78回), 東京大学 生産技術研究所, 2017年11月17日.
- 5) Koike M, Horie T, Takahashi Y, Hummel SK, Mitchell RJ, Okabe T. Effect of Direct-Metal-Laser Melting of Co-Cr Alloys on Biofilm Accumulation J Dent Res 96 (Spec Iss A): 2567, March 24, 2017.
- 6) 小池麻里, 堀江哲郎, 小口春久. 口腔内細菌の歯科用合金への付着性, 貴金属シンポジウム(第4回), 東京大学. 生産技術研究所, 2017年1月6日.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (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: 堀江 哲郎

ローマ字氏名: Tetsuro HORIE

所属研究機関名: 日本歯科大学

部局名: 生命歯学部

職名: 講師

研究者番号 (8桁): 10508675

(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。