

令和元年6月27日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20506

研究課題名(和文)インプラントの早期機能、長期的維持を可能にする新規表面処理法の開発

研究課題名(英文) Hydrothermal treatment of titanium implant surface with calcium promotes epithelial sealing

研究代表者

大城 和可奈 (Oshiro, Wakana)

九州大学・歯学研究院・特別研究員

研究者番号：00757990

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：歯科インプラント治療において、歯肉貫通部における上皮封鎖は細菌などの外来因子の侵入を防ぐ上で大変重要と考えられる。しかしながら、インプラント-歯肉間の封鎖性を高める有効な手段は未だ確立されていない。そこで本研究では、様々な細胞の接着に重要な役割を果たすカルシウムを水熱処理によってチタンインプラント表面に修飾することで、上皮との高い封鎖性を獲得するという仮説を検証することとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在インプラント治療は高い成功率を示しているが、インプラント周囲炎に罹患するリスクも増加しており、その主な要因としてプラーク付着による周囲歯肉の炎症があげられる。本研究ではインプラントアバットメント部で主に用いられる純チタンに水熱処理を施し細菌が付着しにくい超親水性の表面性状に変化させ、表面へのプラークの付着度合について解析するとともに、経時的な表面性状の変化を解析し、水熱処理による表面改質がプラーク付着の長期的な予防に有効であるか検討することを目的とする。

研究成果の概要(英文)：In the previous study, we reported that CaCl<sub>2</sub> hydrothermal-treated (Ca-HT) titanium (Ti) implants induced a tight sealing at the interface between the implant and peri-implant epithelium (PIE) after implantation. However, it is not clear how long this improved epithelium sealing can be maintained. We subsequently investigated whether the positive effect of Ca-HT treatment to promote sealing between the PIE and implant was sustained longer term. The effect of Ca-HT on migration and proliferation of rat oral epithelial cells (OECs) was also investigated. In OECs cultured on Ca-HT Ti plates, protein expression in relation to cell migration decreased, and Brd-U content as a proliferation marker was higher compared with the Cont and DW-HT groups. Consequently, Ca hydrothermal treatment of Ti reduced PIE down-growth via tight epithelial attachment to the implant surface, which may enhance implant capability for a longer time post-implantation.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：水熱処理 チタンインプラント 表面性状

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在インプラント治療は歯科の欠損補綴において必要不可欠な治療法となっている。ところが近年では、インプラント治療は機能の回復だけでなく、審美性の回復が望まれるようになってきている。1998年インプラント治療の先駆的会議である ITI Consensus Conference トロント大会以来、成功基準として「審美的な上部構造の機能的支持」と明記されるようになった。また Osseointegration study club of Japan 等でも 2006 年の議題に上がっており、日本においても審美面を重要視したインプラント治療がなされている。加えて、この審美面と機能性を兼ね備えた治療は、出来るだけ長い期間維持されることが患者と術者の双方から強く望まれるようになってきている。

現在インプラント治療は高い成功率を示し、欠損補綴治療の主要な一選択肢となっている。その一方、インプラント周囲歯肉炎およびインプラント周囲炎の罹患率は近年増加してきており、重度の周囲炎ではインプラント体の撤去も余儀なくされる場合が多くなってきている。

インプラント周囲炎の原因として、過度の咬合力、歯肉貫通部となるアバットメントの材料、プラークの付着による細菌感染、喫煙、マイクロギャップ等、様々な要因が挙げられるが、その中でもプラーク付着による細菌感染は天然歯と同様、インプラント周囲炎を起こす主要な原因であると考えられる。そこでインプラント体と上部構造を連結するアバットメントの表面性状を改良することで細菌の付着を減少させ、長期的に安定しやすい状態を維持させることが重要である。

そのため、本研究と同様にインプラント周囲の骨結合および上皮封鎖の獲得、維持、安定を目指した研究が数多くなされるようになった。

### 2. 研究の目的

そのため今回のような機会において、我々の研究を進め、さらに臨床応用することで、今後の国の医療技術の進歩に貢献していきたい。現在インプラント治療は高い成功率を示しているが、インプラント周囲炎に罹患するリスクも増加しており、その主な要因としてプラーク付着による周囲歯肉の炎症があげられる。長期的に口腔内でインプラントを維持させるためにはプラークの付着しにくい表面性状を有するアバットメントを装着し、できるだけ粘膜貫通部周囲をメンテナンスしやすい状態にすることが重要であると考えられる。本研究ではインプラントアバットメント部で主に用いられる純チタンに水熱処理を施し細菌が付着しにくい超親水性の表面性状に変化させ、表面へのプラークの付着度合について解析するとともに、経時的な表面性状の変化を解析し、水熱処理による表面改質がプラーク付着の長期的な予防に有効であるか検討することを目的とする。

### 3. 研究の方法

水熱処理表面に対する細菌付着性、表面性状持続性を評価するため、以下の項目を段階的に解析していく。

:水熱処理に対する材料の物性試験(ぬれ性試験、表面解析、表面性状持続性)等の解析

:in vitro における細菌の初期付着性、および表面性状持続性の評価

:in vivo におけるチタン表面に対する細菌接着性および表面性状持続性の評価

:ヒトを用いたヒーリングアバットメントへの細菌付着性および表面性状持続性の短期評価

:ヒトを用いた BAB 歯肉縁上アバットメントに対する細菌付着性の評価および表面性状持続性

以上である。

チタン製の歯科インプラント周囲において間葉系幹細胞の存在がどれほど有効であるかを明らかにするため、動物および培養実験を各 1 年ずつに分けておこなった。

研究目的を達成するための具体的な方法

【解析 :水熱処理に対する材料の物性試験】

チタンプレートに水熱処理を行い、ぬれ性(水滴の接触角計測)、表面解析(X 線光電子分析法、SEM を用いた表面観察等)、および人工唾液中など数種類の各測定条件における表面性状の変化について未処理のものと比較し経時的に評価する。

【解析 :in vitro における細菌の初期付着性および表面性状持続性の評価】

水熱処理または未処理のチタンプレートにブランクとして表面に初期付着する *S.mutans*, *S.sanguinis* 等や *P.gingivalis* 等歯周病原因菌の播種を行いチタンプレートに対する細菌の初期接着数、接着耐久度を測定し水熱処理による表面性状の変化が細菌の接着に影響を与えるか、また表面性状が維持されているかを比較し解析 で行った測定と同様の方法で評価する。

【解析 :in vivo における細菌の初期付着性および表面性状持続性の評価】

ラット口腔内の臼歯を抜歯後、水熱処理したチタン製インプラントを埋入し 2 週間待機後、2 週、4 週、8 週後のブランクの付着程度および表面性状持続性の解析を解析 と同様の方法で評価する。またインプラント周囲歯肉の組織学的評価および形態計測学的評価を行い上皮細胞の侵入度を天然歯と比較し、歯肉上縁のみ処理した場合の上皮付着への影響度を歯肉上皮の侵入度で評価する。

【解析 :ヒトを用いたヒーリングアバットメント細菌付着性・表面性状持続性の短期評価】

2 次手術後の患者さんに対しヒーリングアバットメントが 2mm 縁上にくるようヒーリングアバットメントの長さを選択し、歯肉縁上部位を部分的に水熱処理したものを準備しておく。プロビジョナルのための印象採得時にヒーリングアバットメントを交換し、2 週間後に回収し表面付着細菌の評価および表面性状、歯肉溝滲出液のタンパク質解析を行い、未処理のものと比較して評価を行う。

【解析 :ヒトを用いた歯肉縁上アバットメントに対する細菌付着性の評価および表面性状持続性の中期的評価】

プロビジョナルまで使用したヒーリングアバットメントを回収し細菌付着性の評価および表面性状の解析、歯肉溝滲出液中に含まれるタンパク質の解析を行い、未処理のものと比較して評価を行う。使用期間は 3 週間とする。

#### 4. 研究成果

実験に関連して以下の点に留意した。

動物研究に関しては、機器は現有、あるいは歯学研究院共同利用実験室(無償使用可)で利用、動物飼育に関しては、小動物は歯学研究院動物者を無償使用、臨床研究に関しては、当病院のインプラント治療専門施設(再生歯科・インプラントセンター)を利用、各分析も歯学研究院共同利用実験室を利用(無償)、本研究に関わる当教室在籍の研究者間では、情報交換・共有を定期的に行っており、測定手順に対して習熟している、また、連絡が別に必要な場合は、相互が側材に連絡を取りあえる状況にある。

また、研究着手にあたり、現在当大学動物実験倫理委員会および当大学病院臨床研究倫理委員会に研究承認を受けた。

各処理インプラント群においても天然歯群と同様に上皮および結合組織からなる生物学的幅径の形成が観察されたが、その長さは各群で異なり有意差を認めた。

細胞実験において、上皮細胞の接着性は Dish 群およびカルシウム水熱処理群について有意に高く、粗造表面群では最も低かった。また機械研磨群では有意に高い移動能を示した。さらに、線維芽細胞のコラーゲン発現量については、Dish 群、粗造表面群、As 群について、機械研磨群およびカルシウム水熱処理群と比較し有意に高かった。軟組織封鎖性については、天然歯群と同様にカルシウム水熱処理群で最も高かった。次いで As 群、粗造表面群、機械研磨群の順となり、これら 3 群は結合組織におよぶ HRP の浸透を認めた。

上皮細胞の接着性に優れたカルシウム水熱処理群では線維芽細胞におけるコラーゲンの発現量は最も低かったが、豊富な上皮接着関連タンパクの発現に伴い封鎖性は有意に高かった。また上皮細胞が低い接着性を示した粗造表面群では、線維芽細胞のコラーゲン発現量が高かったにも関わらず深い HRP の浸透を生じた。

しかし、機械研磨群では比較的高い上皮接着性を示したが、結合組織の封鎖性が低かった結果、粗造表面群以上の深い HRP の浸透を認めた。また機械研磨群より有意に低い上皮接着性しか有さなかった As 群では、結合組織の封鎖性がある程度高かったため、HRP 浸透に対して有意に高い抵抗性を示した。ただし 16 週では、最も低い上皮接着性を示した粗造表面群で顕著なインプラント周囲上皮の下方伸長を認めた。

これらの結果は患者に用いたプレートにおけるプラーク沈着においても相関性があり、

以上より、インプラント周囲軟組織には生物学的幅径が存在し、その軟組織封鎖性は前衛となる上皮組織の接着と後衛になる結合組織の封鎖が存在すること、そして全体の封鎖性は上皮細胞の強固な接着性に影響されているが、その封鎖能を越えた刺激は結合組織によって守られること、さらにその長期的な維持と安定には上皮接着性が影響することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：熱田 生

ローマ字氏名：ATSUTA, Ikiru

九州大学大学院歯学研究院・口腔機能修復学講座インプラント・義歯補綴学分野・准教授

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。