

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09683

研究課題名(和文)インプラント支持を可能とする生体活性チタン多孔体を用いた骨再建療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of bone reconstruction using bioactive porous titanium porous that enables implant stability

研究代表者

土井 一矢 (Doi, Kazuya)

広島大学・医系科学研究科(歯)・助教

研究者番号：80444686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は骨伝導および骨形成促進作用を持つ生体活性チタン多孔体による骨再建後のインプラント支持についての検討を行った。チタン多孔体表面にアルカリ処理を行うことで生体活性性を付与した生体活性チタン多孔体は擬似体液中においてアパタイト形成促進作用を示した。また、ウサギ大腿骨埋入試験において、生体活性チタン多孔体は周囲からの骨伝導を促進することで、他の比較群と比べ有意に高い骨再生を示した。さらに生体活性チタン多孔体で骨再建した部位へインプラント体を埋入したところ、オッセオインテグレーションを獲得し、インプラントを良好に支持する結果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

顎骨広範囲骨欠損の骨再建にはチタンプレートなど緻密体の骨再建材料が用いられているが、形態的回復が難しくかつ内部への骨形成は困難である。そのため骨再建後のインプラント治療などは困難であり、十分な機能回復が得られない。チタン多孔体は内部への骨伝導が可能な立体構造を有しており、さらに同部へのインプラント治療が可能である結果を示した。チタン材料で骨再建した部位へのインプラント体のオッセオインテグレーションの確立は初めての報告であり、学術的にも大きな意義を持つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The presented study investigated the stability of implants after bone reconstruction with bioactive porous titanium. The bioactive porous titanium showed an apatite formation promoting action in the simulated body fluid. In addition, in the rabbit femur implantation test, the bioactive porous titanium promoted bone formation from the surroundings bone, and the result of bone formation ratio was significantly higher than that of the other comparative groups. Furthermore, when the implant was implanted in the site where the bone was reconstructed with a bioactive porous titanium, osseointegration was established, and the results showed that the implant was well supported.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：骨再建 インプラント チタン多孔体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腫瘍や炎症性病変などにより広範囲の顎欠損が生じた場合、骨再建材を用いた骨再建療法の後、義歯やインプラントなどの補綴治療により機能回復を行う。チタンは高い生体親和性および強度を持っており骨再建材料として用いられているが、臨床で広く用いられているチタン骨再建材は、緻密体やプレート状の構造体であり、材料内部への骨形成が得られず骨組織と一体化しないことなどの問題がある。そのため、再建部の骨支持が不十分となり、形態および機能的回復のための補綴治療は非常に困難となる。これらの解決のため、生体親和性が高い、高い機械的強度を持つ、形態的回復が得られる、優れた骨伝導を持つ、骨形成促進作用を持つ、埋入窩の形成ができる、以上の要件を満たす新規生体材料の開発に着想した。我々は樹脂基材から金属多孔体へ置換する製法を持って骨再建に適した新規チタン多孔体材料を開発した。さらに本材料への生体活性処理により骨形成促進作用をもつ生体活性チタン多孔体を製作することで、上記要件を満たす骨再建材の開発が期待できる。また、多孔体製作時にインプラント適応が予定される部位へ埋入窩を付与しておくことで広範囲骨欠損部の確実な骨再建、さらに同部へのインプラント埋入が可能となり、骨再建および咀嚼機能の回復が達成できる骨再建療法が確立できると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体活性作用を持つチタン多孔体による骨再建およびインプラント支持を確立することである。チタン多孔体材料により骨再建を行った部位へのインプラント埋入はこれまで報告されていない。本材料は高い機械的強度を有するチタンを連通多孔性構造とすることで、内部への確実な骨伝導による骨再建が行える。さらに材料にあらかじめ付与した埋入窩は骨形成により骨組織により占められるため、通法のインプラント埋入が行うことができ、オッセオインテグレーションの獲得が大いに期待できる。これらの実現を明らかとすることで、新たな新規骨再建材による骨再建およびインプラント治療法の確立が達成できることとなる。

3. 研究の方法

本研究は、*ex vivo* および *in vivo* での検討を計画し実施した。生体活性チタン多孔体は次の手順により製作した。樹脂基材（気孔率 85%）にチタン粒子を含浸させ、置換・焼結の工程によりチタン多孔体を製作する。このチタン多孔体を 5N 水酸化ナトリウム溶液に浸漬（24h, 60℃）し、アルカリ水熱処理を行い、生体活性作用を付与した。

1) *ex vivo* での検討

ディスク状チタン多孔体サンプル（直径 13 mm, 高さ 2 mm）を製作し、生体活性チタン多孔体およびチタン多孔体をそれぞれ準備した。それぞれのサンプルの表層分析のため EPMA による測定を実施した。その後、擬似体液（Hanks 溶液）に 7 日間浸漬し、アパタイト結晶形成を走査型電子顕微鏡（SEM）での結晶構造の観察ならび EPMA による測定を実施した。また、それぞれのサンプル上にマウス骨芽細胞様細胞を播種し、骨代謝マーカーの測定を実施した。

2) *in vivo* での検討

骨形成促進効果の検討

円柱状チタン多孔体サンプル（直径 3 mm, 高さ 3 mm）を製作し、生体活性チタン多孔体、未処理チタン多孔体および同サイズのハイドロキシアパタイト多孔体をそれぞれ準備した。動物両側大腿骨に円柱状骨窩（直径 3 mm, 深さ 3 mm）を形成し、各条件の移植材をそれぞれプレスフィット埋入した。埋入から 2 および 3 週間後、組織ブロックを採取、組織学的検討ならび組織形態計測による骨形成状態を評価した。

チタン多孔体骨再建部でのオッセオインテグレーション確立の検討

中空状チタン多孔体サンプル（直径 4 mm, 内径 2 mm, 高さ 4 mm）を製作し、生体活性チタン多孔体、未処理チタン多孔体および同サイズのハイドロキシアパタイト多孔体を準備した。動物両側脛骨関節頭に円柱状骨窩（直径 4 mm, 深さ 4 mm）を形成し、各移植材をそれぞれプレスフィット埋入した。4 週間後、材料の中空部分にインプラント埋入窩を形成し、インプラントを埋入した。その 4 週間後、組織ブロックを採取、非脱灰研磨標本を組織学的検討ならび組織形態計測による骨形成状態を評価した。

以上の研究計画により、生体活性チタン多孔体の骨形成促進作用および骨再建部でのインプラント埋入によるオッセオインテグレーションの確立について検討した。

4. 研究成果

1) ex vivoでの検討

EPMAによる表面元素分析を表1に示す。アルカリ処理を行うことでチタン表面にO, Naが析出され酸化膜を構築していた。擬似体液浸漬7日後の表面元素分析では, 生体活性チタン多孔体の表層には未処理チタン多孔体と比較してCa, Pが多く検出された。SEMによる表面構造の観察の結果を図1に示す。未処理チタン多孔体表面には粒上の構造体が確認され一部球形形状を呈していた。

一方, 生体活性チタン多孔体表面には成熟した球形のアパタイト様結晶構造体が観察された。EPMAによる元素分析およびSEMによる構造体の観察の結果より生体活性チタン多孔体はアパタイト形成促進作用を持つことが確認できた。マウス骨芽細胞様細胞での検討では, 生体活性チタン多孔体では高いALP値となり骨形成促進作用を持つことが示された。

Element	擬似体液浸漬前		擬似体液浸漬後	
	未処理チタン多孔体	生体活性チタン多孔体	未処理チタン多孔体	生体活性チタン多孔体
C	3.00	0.82	1.90	1.58
O	—	27.00	28.83	33.08
Na	—	1.18	0.88	1.26
P	—	—	2.94	4.77
Ca	—	0.09	2.92	6.26
Ti	91.41	64.64	60.80	44.90

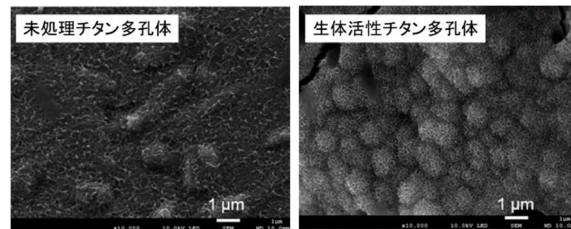


図1 擬似体液浸漬後のSEM像

2) in vivoでの検討

骨形成促進効果の検討

ウサギ大腿骨埋入試験での骨形成の組織像を図2に示す。埋入2週後の組織像では, 未処理チタン多孔体内部は結合組織が多く占めており新生骨形成はあまり多く見られなかった(a)。一方, 生体活性チタン多孔体内部は新生骨の形成が多く観察された(b)。

埋入3週後の組織像では未処理チタン多孔体(c)および生体活性チタン多孔体(d)とも内部への骨伝導が観察された。骨面積率の結果では埋入2週での比較において, 生体活性チタン多孔体は未処理チタン多孔体に対して有意に高い値を示した。一方, 埋入3週においては, 両群に差はみとられなかった。

以上より, 生体活性チタンは早期の骨形成を促進することが明らかとなった。

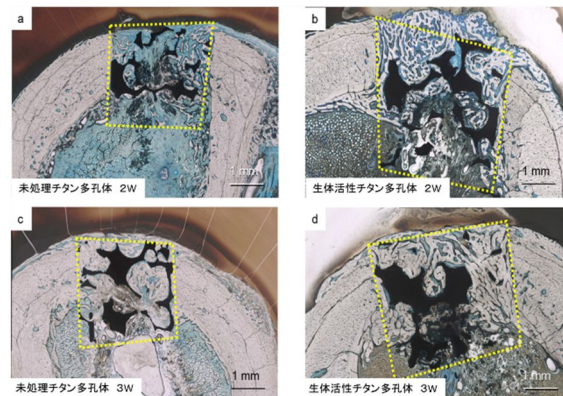


図2 ウサギ大腿骨埋入試験

チタン多孔体骨再建部でのオッセオインテグレーション確立の検討

ウサギ大腿骨関節頭部の骨欠損部においてチタン多孔体により骨再建した部位へのインプラント埋入後の組織所見を示す(図3)。チタン多孔体内部に骨組織が観察されていた。またインプラント表面において, 骨組織の接触が観察されオッセオインテグレーションを獲得していることが明らかとなった。一方, アパタイト多孔体で骨再建部でも同様にオッセオインテグレーションの獲得が確認できた。

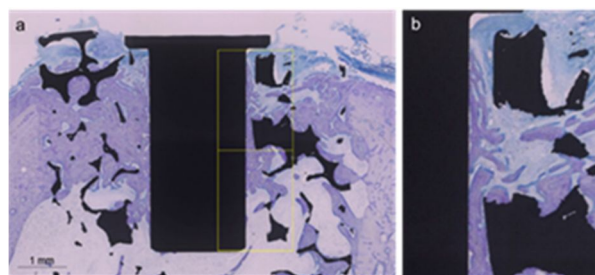


図3 チタン多孔体骨再建部でのオッセオインテグレーション

両群の骨面積率および骨・インプラント接触率を比較したところ, 全体の評価において, 有意差はみられなかった。区画別の評価では, 皮質骨領域では有意差はみられなかったが骨髄領域ではアパタイト多孔体での骨再建部の骨面積率および骨・インプラント接触率はチタン多孔体骨再建部と比べ有意に高い値であった。組織所見においてもアパタイト多孔体での骨再建部では骨髄領域において骨組織の占める割合が大きかった。これはアパタイト多孔体がチタン多孔体より高い骨伝導を示したことといえる。in vivoの結果より, チタン多孔体により骨再建を行いインプラント埋入したところ, オッセオインテグレーションを獲し良好にインプラント体を支持することが明らかとなった。

以上より, 生体活性チタン多孔体は骨形成促進作用を有しており, チタン多孔体にて骨再建した部位でのインプラント埋入が可能であり, 新規骨再建療法の確立のための有益な示唆を得ることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Doi Kazuya, Kobatake Reiko, Makihara Yusuke, Oki Yoshifumi, Umehara Hanako, Kubo Takayasu, Tsuga Kazuhiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Osseointegration Aspects of Implants at the Bone Reconstruction Site by a Novel Porous Titanium Scaffold	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Research	6. 最初と最後の頁 e4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5037/jomr.2021.12304	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 UMEHARA Hanako, DOI Kazuya, OKI Yoshifumi, KOBATAKE Reiko, MAKIHARA Yusuke, KUBO Takayasu, TSUGA Kazuhiro	4. 巻 39
2. 論文標題 Development of a novel bioactive titanium membrane with alkali treatment for bone regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dental Materials Journal	6. 最初と最後の頁 877～882
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4012/dmj.2019-222	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Doi K, Kobatake R, Makihara Y, Oki Y, Umehara H, Kubo T, Tsuga K	4. 巻 10
2. 論文標題 The development of novel bioactive porous titanium as a bone reconstruction material.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 22684-22690
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D0RA03202F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kobatake R, Doi K, Oki Y, Makihara Y, Umehara H, Kubo T, Tsuga K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparative study of surface modification treatment for porous titanium.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Res.	6. 最初と最後の頁 e5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5037/jomr.2020.11205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 土井一矢	4. 巻 4
2. 論文標題 新規チタン多孔体による顎骨再建療法への試み	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 デンタルダイヤモンド	6. 最初と最後の頁 102-106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Umehara H, Doi K, Kobatake R, Oki Y, Makihara Y, Kubo T, Tsuga K	4. 巻 51
2. 論文標題 Effect of Autoclave heat sterilization on the surface properties of the sodium titanate hydrogel layer on the alkali-treated titanium membrane	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 広大歯誌	6. 最初と最後の頁 85-90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobatake Reiko, Doi Kazuya, Kubo Takayasu, Makihara Yusuke, Oki Yoshifumi, Yokoi Miyuki, Umehara Hanako, Tsuga Kazuhiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Novel fabrication of porous titanium by a resin-impregnated titanium substitution technique for bone reconstruction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 1625 ~ 1631
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8ra08744j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 土井一矢
2. 発表標題 スポンジ状チタンおよびマイクロメッシュチタン薄膜による生物応答
3. 学会等名 科学技術振興機構 (JST) 広島大学-新技術説明会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 KobatakeR, Doi K, Makihara Y, Oki Y, Umehara H, Oue H, Abe Y, Kubo T, Tsuga K
2. 発表標題 Novel fabrication of bioactive porous titanium for bone reconstruction
3. 学会等名 DENTISPHERE 4-International Scientific Meeting, 5th Asean plus, Tokushima joint international conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Umehara H, Doi K, Kobatake R, Oki Y, Makihara U, Kubo T, Tsuga K
2. 発表標題 The bioactive effect of alkali treated titanium membrane
3. 学会等名 DENTISPHERE 4-International Scientific Meeting, 5th Asean plus, Tokushima joint international conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Doi K
2. 発表標題 Biology of Non-absorbable Material in Implant Treatment
3. 学会等名 DENTISPHERE 4-International Scientific Meeting, 5th Asean plus, Tokushima joint international conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 土井一矢
2. 発表標題 インプラント骨造成に用いる非吸収性人工骨のバイオロジー
3. 学会等名 第61回秋季日本歯周病学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土井一矢, 久保隆靖, 小島玲子, 沖 佳史, 梅原華子, 牧原勇介, 津賀一弘
2. 発表標題 新規生体活性チタンメンブレンの材料特性および生体活性の検討
3. 学会等名 第48回日本口腔インプラント学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kobatake R, Doi K, Oki Y, Yokoi M, Makihara Y, Umehara H, Kubo T, Tsuga K
2. 発表標題 Osseointegration aspect of implants placed in bone reconstructed site with novel porous titanium
3. 学会等名 27th annual scientific meeting of European association for osseointegration (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 多孔金属薄膜	発明者 土井一矢, 小島玲子, 藤田 剛, 梅原華子, 久保隆靖	権利者 広島大学
産業財産権の種類、番号 特許、2019-129101	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	久保 隆靖 (KUBO TAKAYASU) (60240876)	広島大学・病院(歯)・講師 (15401)	
研究分担者	沖 佳史 (OKI YOSHIFUMI) (80806571)	広島大学・医系科学研究科(歯)・助教 (15401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------