

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10178

研究課題名（和文）Er:YAG-パルスレーザーデポジション法のインプラント歯周炎治療への応用

研究課題名（英文）Application of the Er:YAG-pulsed laser deposition method to the treatment of implant periodontitis

研究代表者

馬場 俊輔（BABA, Shunsuke）

大阪歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：40275227

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：歯質の切削や歯石除去に使用される Er:YAG レーザーの蒸散機序を HAp 薄膜形成技術に応用できないかと考え Er:YAG-PLD 法を開発した。そこで本研究では、純チタン金属表面への HAp 成膜技術の簡易化を目指し、純チタン金属板およびスクリューに Er:YAG レーザーを使用した HApコーティングが、インプラント埋入周囲組織に与える影響を、in vitro, in vivo両面から比較・検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果より、Er:YAGレーザーを使用することによって、従来方法より簡易に純チタン金属表面へのHAp成膜が可能であることが明らかとなった。また、Er:YAGレーザーによりHApを純チタン金属にコーティングすることによって、インプラント埋入周囲組織の硬組織分化誘導能および新生骨の形成を向上させることが、in vitro, in vivo両面から明らかとなった。本成果では新規のインプラント周囲炎に対する治療法に繋がる可能性を秘めており社会的意義は高い。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to simplify the technique of HAp coating on titanium surfaces, then investigated the effects of HAp coating using an Er: YAG laser on titanium screws on the tissue surrounding implant placement both in vitro and in vivo. These results showed that HAp can be deposited more easily on titanium surfaces using an Er: YAG laser. It is also evident that HAp coating improved the induction of hard tissue differentiation and the formation of new bone in the tissue surrounding the implant both in vitro and in vivo.

研究分野：再生歯学

キーワード：Er:YAG レーザーデポジション法 ハイドロキシアパタイト

1. 研究開始当初の背景

近年のインプラント体は微細なマイクロストラクチャーを有するものが多く、組織親和性に優れている反面、骨から露出してしまうと汚れや細菌が付着しやすく除去することが難しい。従来の機械的な清掃治療では、チタンインプラントに損傷を与えず、スレッドを有する複雑な立体構造の細部まで、しかも、マイクロストラクチャーが付与されたフィクスチャー表面を破壊せずに効率的にデブリドメントを達成するのは殆ど不可能である。機械的手段の補助として、薬液や抗菌薬による化学的除去が行われているが、これらは必ずしも確実ではない。従って、マイクロストラクチャーのデブリドメントには接触型ではなく、非接触型の Er:YAG レーザーによるデブリドメントが期待されている。

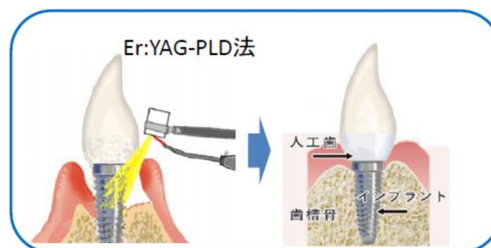


図1. 口腔内 Er:YAG-PLD 法を用いたインプラント周囲炎の治療

Er:YAG レーザーは、高出力ではチタンに熱変化を生じるが、臨床に通常用いられる適正な低出力の注水下での照射は、マイクロストラクチャーを含む各種チタン表面の著しい性状の変化や著しい温度上昇を起こさず、ヒーリングアバットメント上の石灰化物を表面の損傷なく除去できることなどが報告されている。従って、Er:YAG レーザーは適正な出力と照射条件を遵守することにより、チタン表面および骨欠損部の両方を同時にデブリドメントできる効果的なデブリドメント治療用レーザーとして期待されている。

しかし、Er:YAG レーザーでのデブリドメント後のチタンインプラントに対する骨組織の再生についての報告は少ないが、Er:YAG レーザーでのデブリドメントが積極的に骨芽細胞の付着や骨再生を誘導することはないと考えられる。そこで、Er:YAG レーザーを歯質の主成分のハイドロキシアパタイト(HAp)や HAp の前駆体の β -リン酸三カルシウム(β -TCP)のバルクターゲットに照射すれば、ターゲットから蒸散により飛散した粒子がインプラント上に堆積し HAp 膜を形成できる Er:YAG-PLD 法を適用することを考えた(図1)。すなわちインプラント周囲炎で露出したインプラントへデブリドメントを行うとともに同レーザーで HAp 膜を堆積することで積極的にオッセオインテグレーション効果を付与することが可能となる。

2. 研究の目的

1) サンドブラストチタンへの Er:YAG パルスレーザーデポジション法によって得られたハイドロキシアパタイト フィルムの特性評価: In Vitro 研究

この研究は、前処理方法としてサンドブラストを Ti ディスク上に使用し、Er:YAG-PLD によって HAp コーティングを作成することを目的とした。次に、サンプルの表面特性と細胞生存率を評価した。この研究の結果は、骨インプラントの生体適合性を改善し、骨結合と骨形成を誘導するための新しいアプローチを提供する可能性がある。

2) ビーグル犬を用いた Er:YAG パルスレーザーデポジション法による HA コーティングインプラントの生体適合性

本研究では、Er:YAG-PLD 法で作製した新規インプラント体をビーグル犬の顎骨に埋入し、in vivo でその生体適合性について評価を行った。

3. 研究の方法

1) サンドブラストチタンへの Er:YAG パルスレーザーデポジション法によって得られたハイドロキシアパタイト フィルムの特性評価: In Vitro 研究

市販の JIS2 種チタン板およびスクリューを実験材料とし、前処理としてアルミナ粒子 #320 にてサンドブラスト処理を施した後、Er:YAG レーザー(モリタ)を使用して β -リン酸三カルシウム(β -TCP)の成膜を行った。なお、照射エネルギーは 300 mJ、照射時間は 10 秒とした。その後、成膜された β -TCP 堆積膜を HAp 加水分解させるため、90 の蒸留水内で 10 時間浸漬を行った後、自然乾燥させた(実験群)。対照群は無処理の純チタン金属とした。堆積膜が HAp であることを確認するため、試料の X 線解析および走査型電子顕微鏡観察(SEM, EDS, XRD)を行った。生後 8 週齢の SD 系雄性ラット両側大腿骨から骨髓間葉細胞を単離後、継代培養し、3 代目を両群試料に播種、所定の時間培養後に細胞の初期接着およびカルシウム析出量について比較・検討した。

2) ビーグル犬を用いた Er:YAG パルスレーザーデポジション法による HA コーティングインプラントの生体適合性

直径 3 mm、長さ 6 mm の純チタン製実験用インプラント体(京セラ(株)、京都)を基材として使用した。HA の前駆体である β -TCP のターゲットを使用し、Er:YAG-PLD 法を用いてインプラント体表面に β -TCP 膜を堆積した。その後 37 の恒温で人工唾液に 96 時間浸漬し、HA 膜に転移させた。成犬のメスのビーグル犬 2 頭を使用した。下顎両側第一、第二、第三前臼歯を抜歯し、

抜歯窩の治癒後に純チタン表面のインプラント体 (対照群) および HA コーティングのインプラント体 (実験群) をランダムに埋入した。インプラント体の埋入から 4 週と 8 週後に試料を採取した。得られた試料を用いてマイクロ CT と、組織切片で評価を行った。

4. 研究成果

1) サンドブラストチタンへの Er:YAG パルスレーザーデポジション法によって得られたハイドロキシアパタイト フィルムの特性評価: In Vitro 研究

各種表面解析の結果より, SEM 画像において実験群の材料表面に HAp と推測される針状の結晶構造が認められた (図 2)。また, EDS および XRD の解析結果から, HAp の結晶構造が純チタン金属表面に薄膜形成されていることが明らかとなった (図 3, 4)。SD 系ラット骨髄細胞を使用した in vitro 評価では, 実験群で骨髄細胞の初期接着 ($p < 0.001$) が有意に高い数値を示していた (図 5)。

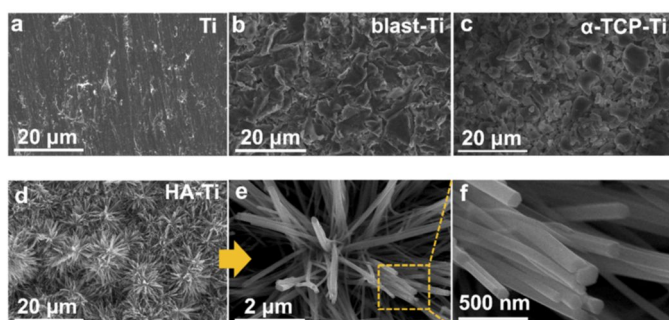


図 2. Scanning electron micrographs of (a) Ti, (b) blast-Ti, (c) α -TCP-Ti, and (d-f) HA-Ti discs. (f) Magnification of the area marked by the yellow rectangle in (e)

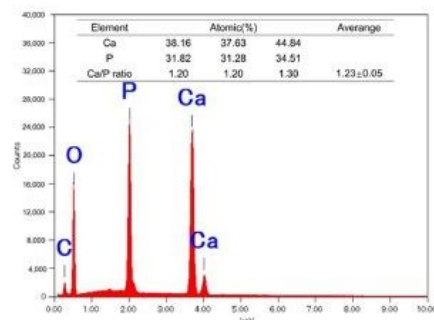


図 3. Energy-dispersive X-ray spectroscopy and elemental mapping (Ca, P, O) of the HA-Ti

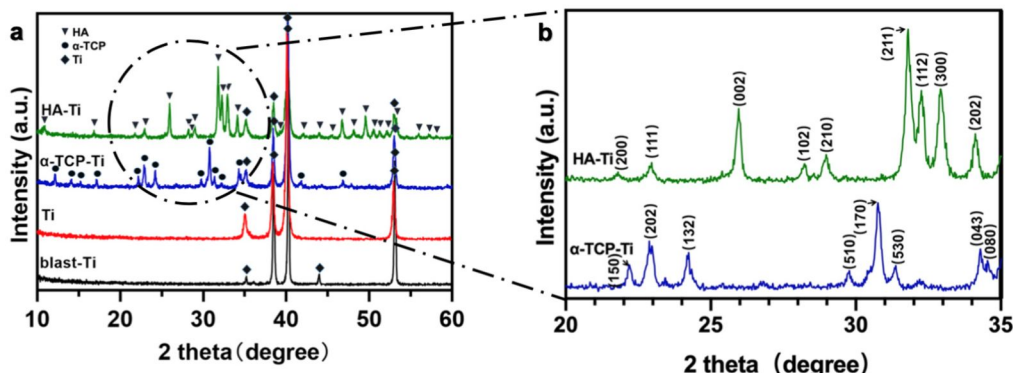


図 4. (a) X-ray diffraction patterns of Ti, blast-Ti, α -TCP-Ti, and HA-Ti discs. (b) Magnification of the spectra of α -TCP-Ti (blue) and HA-Ti (green) marked by the black circle in

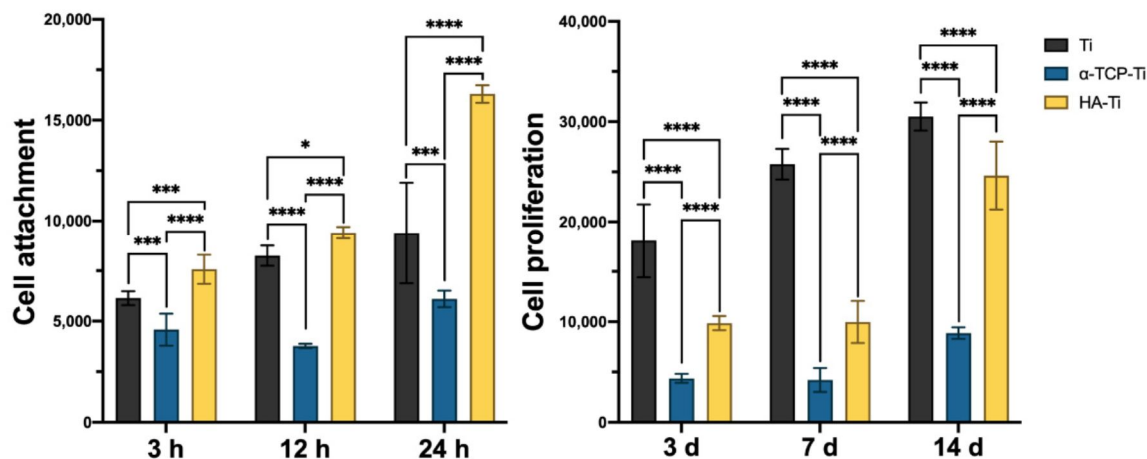


図 5. Cell attachment and proliferation of rat bone marrow mesenchymal stem cells on Ti, α -TCP-Ti, and HA-Ti discs ($n = 3$); * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

本研究の結果より, Er:YAG レーザーを使用することによって, PLD 法より簡易に純チタン金属表面への HAp 成膜が可能であることが明らかとなった。また, Er:YAG レーザーにより HAp を純チタン金属にコーティングすることによって, インプラント埋入周囲組織の硬組織分化誘導能および新生骨の形成を向上させることが, in vitro から明らかとなった。

2) ビーグル犬を用いた Er:YAG パルスレーザーデポジション法による HA コーティングインプラントの生体適合性

X線解析および走査型電子顕微鏡での解析により、実験群のインプラント体表面に転移した HA 膜が成膜されていた。骨-インプラント接触率 (BIC) および骨体積率 (BV/TV) を含めたマイクロ CT の解析結果で、埋入後 4 週、8 週の両期間で実験群がより骨形成を促進する傾向が見られたが有意差は認めなかった。また、病理組織解析の結果では、8 週において対照群ではインプラント界面に接する部位に骨組織の形成を認め、実験群ではインプラント界面に接する部位に骨および骨髄組織の形成を認めた。両群ともに骨芽細胞の集積や血管新生を認め、良好に骨結合が得られており、HA コーティングインプラントは対照群と遜色ない結果を示した。

Er:YAG-PLD 法を用いることでインプラント体表面への安定した HA 膜の成膜を行う事ができ、生体内でも良好な骨結合が得られたことから、Er: YAG-PLD 法による HA コーティングインプラントは優れた生体適合性を示すことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Ma Lin, Li Min, Komasa Satoshi, Yan Sifan, Yang Yuanyuan, Nishizaki Mariko, Chen Liji, Zeng Yuhao, Wang Xin, Yamamoto Ei, Hontsu Shigeki, Hashimoto Yoshiya, Okazaki Joji	4. 巻 15
2. 論文標題 Characterization of Hydroxyapatite Film Obtained by Er:YAG Pulsed Laser Deposition on Sandblasted Titanium: An In Vitro Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 2306
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma15062306	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 Li Min, Komasa Satoshi, Hontsu Shigeki, Hashimoto Yoshiya, Okazaki Joji	4. 巻 23
2. 論文標題 Structural Characterization and Osseointegrative Properties of Pulsed Laser-Deposited Fluorinated Hydroxyapatite Films on Nano-Zirconia for Implant Applications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2416
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23052416	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 Chen Liji, Hontsu Shigeki, Komasa Satoshi, Yamamoto Ei, Hashimoto Yoshiya, Matsumoto Naoyuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Hydroxyapatite Film Coating by Er:YAG Pulsed Laser Deposition Method for the Repair of Enamel Defects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 7475
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ma14237475	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 陳麗吉, 本津茂樹, 小正聡, 山本 衛, 橋本典也, 松本尚之
2. 発表標題 エナメル質欠損修復のためのEr:YAGパルスレーザーディポジション法によるハイドロキシアパタイト成膜
3. 学会等名 日本歯科理工学会 第78回 秋期学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 陳麗吉 , 本津茂樹, 小正聡 , 橋本典也, 松本尚之
2. 発表標題 Er:YAGレーザーアブレーション法によるエナメル質上へのアパタイト膜の直接形成
3. 学会等名 日本歯科理工学会 近畿・中四国地方会 令和2年度冬期セミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 南野 智紀, 平井 瑞樹, 橋本 典也, 吉川 一志, 本津 茂樹
2. 発表標題 Er:YAG レーザーデポジション法を用いたエナメル質の修復
3. 学会等名 第73回日本歯科理工学会学術講演会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 橋本典也、本田義知	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 315
3. 書名 無機 / 有機材料の表面処理・改質による生体適合性付与	

〔産業財産権〕

〔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	岡村 友玄 (OKAMURA Tomoharu) (10567473)	大阪歯科大学・歯学部・講師 (34408)	

6. 研究組織（つづき）

	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	橋本 典也 (HASHIMOTO Yoshiya) (20228430)	大阪歯科大学・歯学部・教授 (34408)	
研究分担者	本津 茂樹 (HONTSU Shigeki) (40157102)	近畿大学・生物理工学部・名誉教授 (34419)	

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