

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10199

研究課題名(和文) 傾斜構造付与によるジルコニア材料高機能化の確立

研究課題名(英文) Development of multi-function Zirconia materials with graded structure

研究代表者

洪光(Hong, Guang)

東北大学・歯学研究科・教授

研究者番号：70363083

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)：本研究の目的はジルコニア材料への傾斜構造付与方法の確立により、生体活性および機械的特性の向上を実現し、高機能歯科用ジルコニア材料の開発に繋がる基礎研究を為すことである。本研究ではジルコニアの表面に対する各種処理および各種生体活性物質が骨芽細胞、歯肉線維芽細胞の増殖、分化に及ぼす影響、細胞毒性について検討を行った。その結果、電気化学的処理により材料表面の生体活性向上が可能であり、生体活性物質は骨芽細胞分化増殖にポジティブに影響を及ぼすと共に、細胞毒性は認められず、一定の抗菌性と歯肉線維芽細胞の分化を促進できることが認められた。これらの結果は高機能歯科用ジルコニア材料の開発に寄与するものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、斬新の電気化学的手法を歯科用セラミック系材料に応用することによりメタルフリー歯科用インプラント材表面生体活性を向上する事ができ、オッセオインテグレーション早期獲得に優位に働く表面改質が可能であることが示唆された。さらに、ジルコニア表面に植物由来生体活性有効成分を含有させることにより、治療効果を向上できる可能性も確認された。これらにより、インプラント周囲の組織再生を促進し、オッセオインテグレーションの早期獲得できる新規材料開発を可能とするエビデンスが得られた。本研究は世界初の挑戦であり、患者のQOL向上のみならず、日本歯科産業の世界展開の観点からも社会的意義は高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to establish a method for providing a graded structure to zirconia material to improve its bioactivity and mechanical properties, and to conduct basic research leading to the development of highly functional dental zirconia materials. In this study, the effects of various treatments and bioactive substances on the surface of zirconia on the proliferation and differentiation of osteoblasts and gingival fibroblasts were investigated, as well as their cytotoxicity. The results showed that electrochemical treatment can improve the bioactivity of the material surface, and that the bioactive substances positively affect the differentiation and proliferation of osteoblasts and promote the differentiation of gingival fibroblasts with a certain level of antibacterial activity and no cytotoxicity. These results contribute to the development of high-performance dental zirconia materials.

研究分野：歯科補綴学

キーワード：ジルコニア 傾斜構造 骨芽細胞

1. 研究開始当初の背景

近年、ジルコニア材料、特に新規開発されたセリア系ジルコニアにナノサイズのアルミナ粒子を加えたナノ複合体ジルコニアセラミック（ナノジルコニア）は、優れた機械特性、審美性および耐久性により歯牙欠損修復やインプラントアバットメント材料として広く使用されている。しかし、セラミック系材料の特有の透明性が低い、高い硬度による切削性の低下（咬合調整は極めて困難）などの問題がある。また、本材は非常に安定しているため、歯質との接着力が低いのも問題になっている。この問題を解決すべく、多くの研究者は接着材からのアプローチについて検討を行ってきたが、解決には至っていない。一方、歯科インプラント材に主に使われているチタン系金属はその特有の金属色が審美的観点から、問題視されていると共に、金属イオンの溶出によるアレルギー源の問題も注目されている。そこで、メタルフリーセラミック系材料がチタン系金属材料の代替材料として、歯科インプラント材として使用されるようになったが、その表面処理は不十分であるのが現状である。そこで、本材の内部には強度を持たせ、表面には韌性と生体活性を持たせた傾斜構造を付与し、ドラッグデリバリー機能（生体活生物質配合）を備えたナノジルコニア材料の開発を探求することとし、今回の研究構想に至った。

2. 研究の目的

本研究の目的はジルコニア材料高機能化方法の確立により、生体活性および機械的特性の向上を実現し、高機能歯科用ジルコニア材料の開発に繋がる基礎研究を為すことである。

具体的には、1) ナノジルコニア材料表面を高機能化できる電気化学的手法の条件の検討を行い、有効な処理条件の決定、2) ドラッグデリバリー機能付与のための各種生体活性物質が骨芽細胞分化・ヒト歯肉線維芽細胞・血管再生に及ぼす影響について検討し、質的・量的解明、3) これらの処理を行なったジルコニア材料の物性評価を行なった。

3. 研究の方法

1) 試験試料

本研究ではヤマキン株式会社および第一希元素化学工業株式会社から加工・作成したイットリウム酸化物安定化ジルコニア（3Y-TZP）およびセリウム酸化物安定化ジルコニア（NANOZR）を用い、比較検討には純チタン（CpTi）を用いた。直径13mm、厚さ3mmのディスク状の試験片を用い、未処理、サンドブラスト+酸処理、電気化学的処理（図1）を行い、実験に用いた。さらに、試料表面にLbL+PTL方法（図2）により、生体活性物質を担持させた試料も作成し、生体活性に関する実験に用いた。

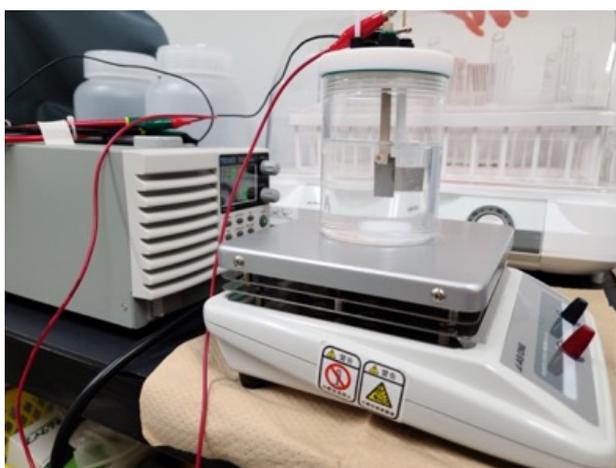


図1. 電気化学処理システム

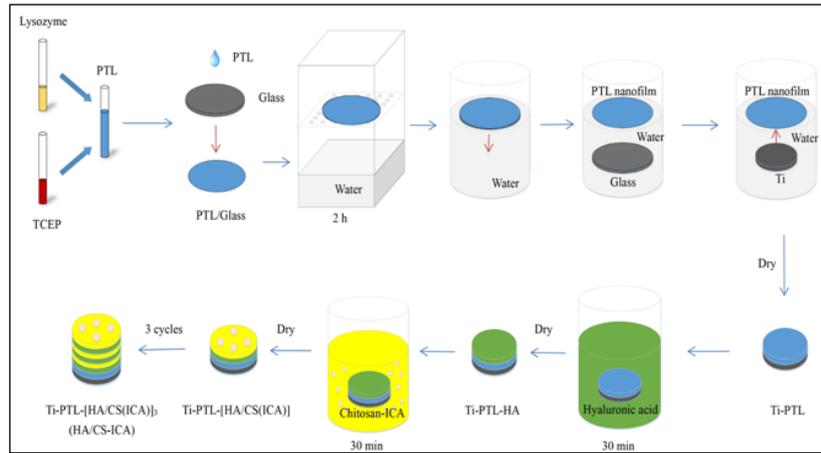


図 2. LbL+PTL 法による生体活性物質担持手順の一例

2) 実験項目

表面処理および生体活性物質担持後に、SEM、接触角計を用いて、資料の表面性状、表面濡れについて評価を行なった。さらに、MC3T3-E1 細胞および Saos2 細胞を用いて、細胞接着、細胞増殖、細胞分化について、比較検討を行なった。最後に、試料表面への細胞接着メカニズムについても検討を行なった。

3) 統計処理

得られたデータは一元配置分散分析 (one-way ANOVA) および Turkey-HSD test による多重比較を用い、危険率 5% で統計処理を行なった。

4. 研究成果

図 3 および図 4 には電気化学的処理を行なった試料の表面性状 (SEM) 像を示す。処理液の種類、処理条件、処理時間により、表面形態は有意な相違が認められ、ジルコニア材料においても、条件の組み合わせによって、材料表面の粗造化が可能であることが示唆された。

細胞培養の結果を図 5 に示す。時間経過と共に細胞数を増加しており、処理条件間で有意差が認められた。特に処理電圧が細胞増殖に大きく影響を及ぼしており、20-25V 程度の電圧による処理が細胞増殖に最も有効であることが示唆された。さらに、NANOZR 表面では良好な細胞遊走性が認められた (図 6)。

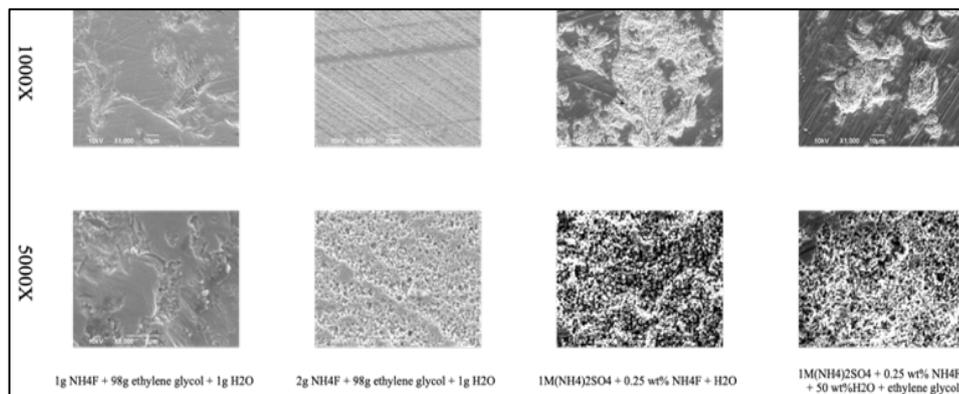


図 3. ジルコニア表面処理後の SEM 像

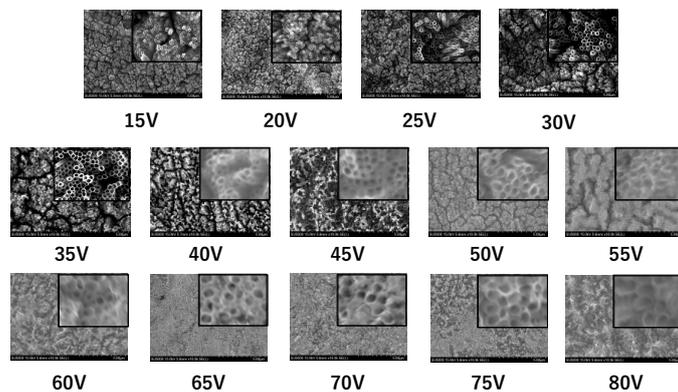


図 4. チタン表面処理後の SEM 像

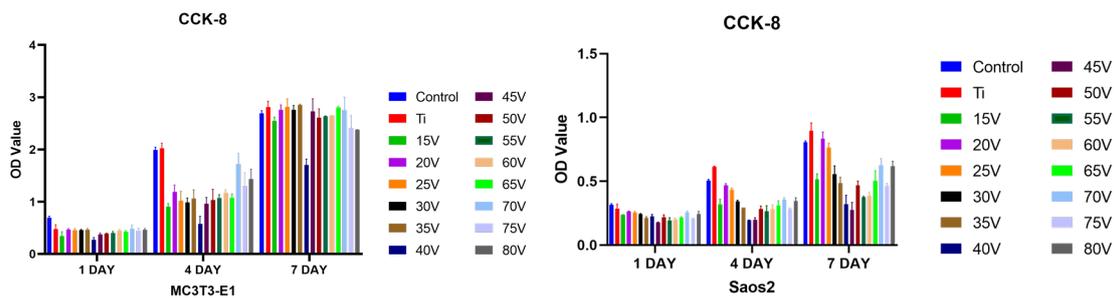


図 5. 表面処理後の細胞増殖

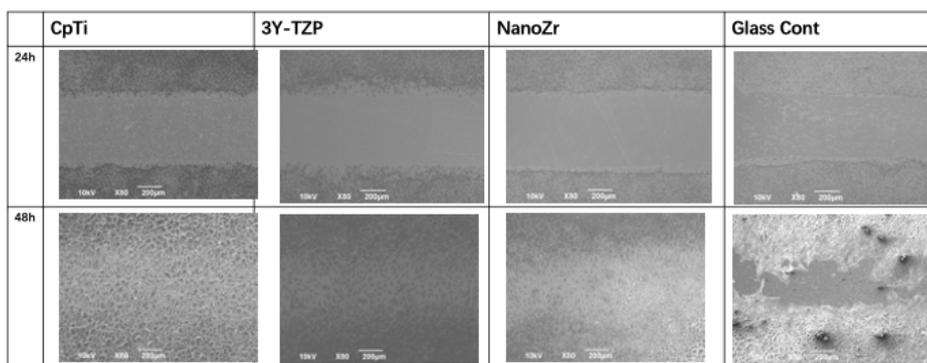


図 6. MC3T3-E1 細胞遊走性

生体活性物質の担持 (LbL+PTL 法) により材料表面の濡れ性の改善が認められ (図 7)、Icariin 低濃度が表面濡れ改善に有意に有効であることが示唆された。さらに、有効成分の徐放性も認められ、低濃度が高濃度よりゆっくり溶出することが示唆された (図 8)。

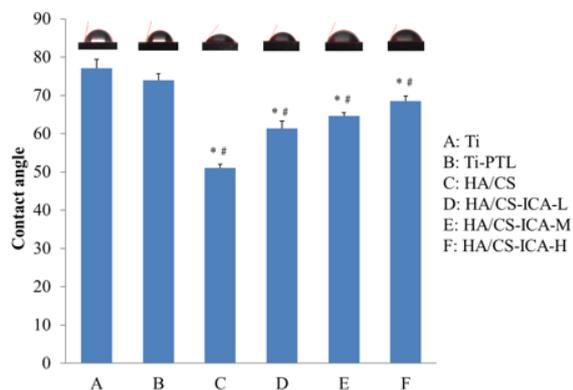


図 7. 表面濡れ性 (接触角)

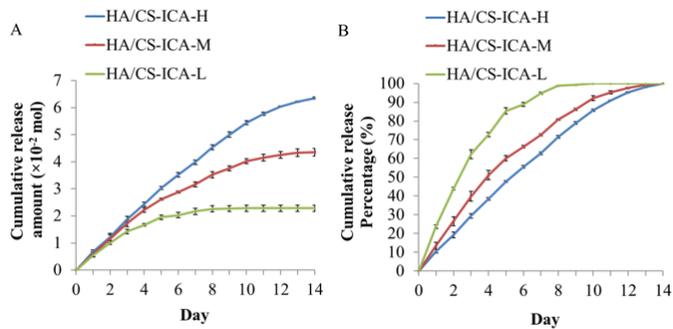


図 8. 有効成分の徐放性

図 9 に細胞培養 3 日後と 7 日後の細胞増殖および培養 3、7、14 日後の ALP 活性を示す。Icariin 低濃度の材料表面で他の材料と比較し、有意に高い細胞増殖が認められた。さらに、同じく、Icariin 低濃度の材料表面で有意に高い ALP 活性が認められた。

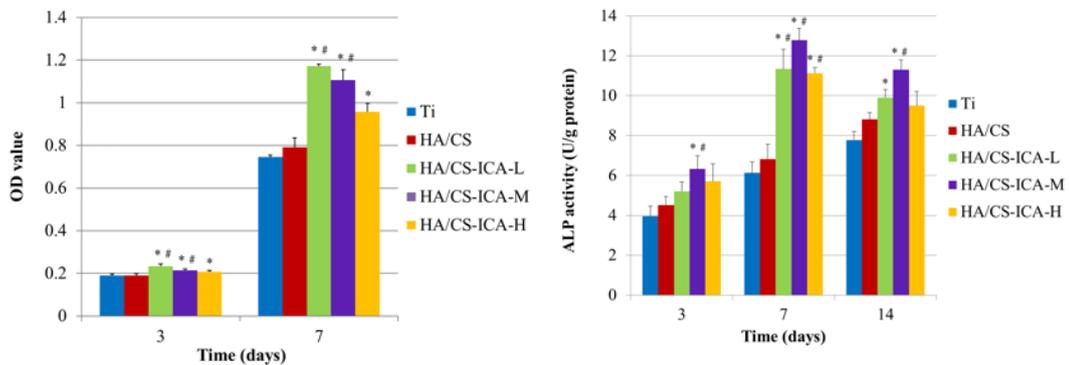


図 9. MC3T3-E1 細胞の増殖および ALP 活性

図 10 にジルコニア材料表面への細胞接着メカニズムに関する検討結果を示す。ジルコニア材料とチタンは異なる傾向を示しており、さらに、異なる細胞においても、異なる結果となった。MC3T3-E1 細胞では、ジルコニア材料で高い Syndecan の発現が認められたが、Sano2 細胞ではチタン表面で高い発現が認められた。これは、HSPG がチタンとジルコニア材料で異なるメカニズムを誘導している可能性を示唆している。

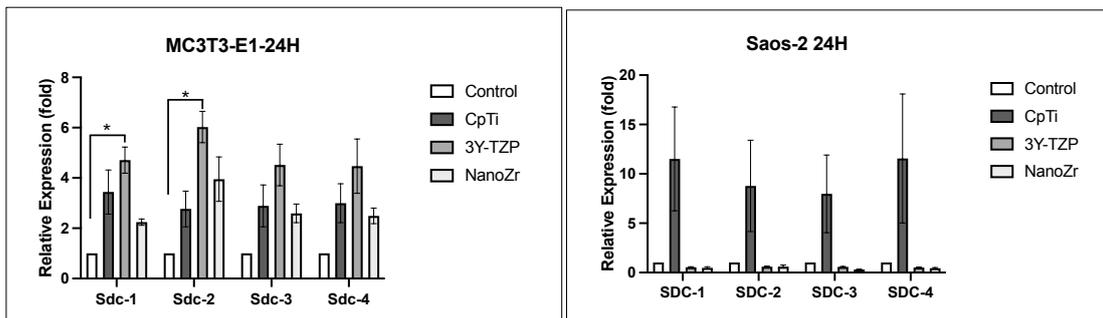


図 10. 材料表面での Syndecan 発現レベル

以上の結果から、電気化学的処理によりジルコニア材料表面の粗造化が可能であり、これにより材料表面生体活性向上が実現できることが示唆された。さらに、生体活性物質は骨芽細胞分化増殖にポジティブに影響を及ぼすと共に、細胞毒性は認められず、一定の抗菌性と歯肉線維芽細胞の分化を促進できることが認められた。以上のことから、電気化学的方法および生体活性物質の組み合わせより、ジルコニア材料高機能化が可能であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 L Sun, G Hong, H Matsui, YJ Song, K Sasaki	4. 巻 15
2. 論文標題 The effect of syndecan on osteoblastic cell adhesion onto nano-zirconia surface	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Nanomed	6. 最初と最後の頁 5061-5072
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/IJN.S263053	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 該当する
1. 著者名 H Yang, DW Hong, G Hong, H Yu	4. 巻 25
2. 論文標題 Effects of low-temperature degradation on the surface roughness of Y-TZP ceramics: A systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Prosthet Dent	6. 最初と最後の頁 222-230
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.prosdent.2020.01.005	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 該当する
1. 著者名 Luo F, Hong G, Wan Q.	4. 巻 2
2. 論文標題 Artificial Intelligence in Biomedical Applications of Zirconia.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Dent Med	6. 最初と最後の頁 689288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fdmed.2021.689288	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 該当する
1. 著者名 G Hong, JK-H Tsoi, JM Han.	4. 巻 3
2. 論文標題 Editorial: Biofunctional Applications of Zirconia in Dental Devices.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front. Dent. Med.	6. 最初と最後の頁 1430
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fdmed.2022.841120	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 該当する

1. 著者名 Sun L, Hong G.	4. 巻 2
2. 論文標題 Surface Modifications for Zirconia Dental Implants: A Review	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Dent. Med.	6. 最初と最後の頁 733242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fdmed.2021.733242	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 該当する

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 G. Hong
2. 発表標題 How to make bio-active surface on Zirconia?
3. 学会等名 The International Cooperation Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 G. Hong
2. 発表標題 How to make bio-active surface on Zirconia?
3. 学会等名 Prosthetic Update 5 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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	齋藤 恵一 (Saito Keiichi) (00178477)	東北大学・歯学研究科・助教 (11301)	

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			
中国	北京大学	四川大学	福建医科大学	
インドネシア	Airlangga University			
中国	Peking University	Sichuan University	Tianjin Medical University	