

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：15401
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2022
課題番号：20K18561
研究課題名(和文)細胞導入型バイオメンブレンの新規開発

研究課題名(英文)Development of new bio-membrane

研究代表者

沖 佳史 (Oki, Yoshifumi)

広島大学・医系科学研究科(歯)・助教

研究者番号：80806571

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：インプラント治療において骨量が不足する場合、バリアメンブレンを使用する骨再生誘導法が行われ、このメンブレンには骨再生のための空間保持や上皮系細胞の骨欠損内への侵入阻止などの機能とともに骨形成促進作用が要求される。現在このメンブレン材料には、生体親和性、力学的強度および操作性に優れたチタンが広く用いられているが、チタン自体は生体不活性材料であり骨形成促進作用を持たない。そのためチタンに生体活性作用を付与する様々な表面改質法が提案されている。そこで本研究では、チタン薄膜の生体活性を向上する表面改質法を明らかにし、これを用いた骨形成促進作用を有するチタンメンブレンの作製を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、臨床で用いられているメンブレンは非吸収性メンブレンと吸収性メンブレンがあるが、材料強度や空間保持能の関係から、大規模な骨欠損部に対しては、非吸収性のチタンメッシュメンブレンが主に用いられている。チタン自体は生体不活性材料であり骨形成促進作用を持たないため骨形成を促進するための表面処理については多くの報告がされている。しかしながら、チタンメッシュメンブレンに対する表面処理に関する報告は少ない。これらのことから、本研究における新規メンブレンによる骨誘導再生療法の確立は、骨欠損部に対する骨誘導再生療法の適用拡大と予知性で患者のQOL向上に大きく貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：When bone volume is insufficient for implant therapy, a barrier membrane is used to induce bone regeneration. This membrane is required to have osteogenesis-promoting properties as well as functions such as maintaining space for bone regeneration and preventing epithelial cells from entering the bone defect. Currently, titanium is widely used as the membrane material because of its excellent biocompatibility, mechanical strength, and operability, but titanium itself is a bioinert material and has no osteogenesis-promoting effect. However, titanium itself is a biologically inert material and does not promote bone formation. In this study, we aimed to clarify a surface modification method to improve the bioactivity of titanium thin films and to fabricate titanium membranes with osteogenesis-promoting properties using this method.

研究分野：骨再生

キーワード：骨誘導再生療法 インプラント チタン薄膜

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラント治療において骨量が不足する場合、バリアメンブレンを使用する骨再生誘導法が行われる。このメンブレンには骨再生のための空間保持や上皮系細胞の骨欠損内への侵入阻止などの機能とともに骨形成促進作用が要求される。現在このメンブレン材料には、生体親和性、力学的強度および操作性に優れるチタンが広く用いられている。チタン自体は生体不活性材料であり骨形成促進作用を持たない。そのためチタンに生体活性作用を付与する様々な表面改質法が提案されている。これまでインプラント体のような緻密体に有用な表面改質法は多く報告されているが、チタンメンブレンのような薄膜構造体に適用できる表面改質法については明らかとなっていない。そこで本研究は、チタン薄膜の生体活性を向上する表面改質法を明らかにし、これを用いた骨形成促進作用を有するチタンメンブレンの作製を目指した。

2. 研究の目的

チタン薄膜の生体活性を向上する表面改質法を明らかにし、これを用いた骨形成促進作用を有するチタンメンブレンの作製を行う。

3. 研究の方法

実験1 表面改質法の検討

アセトンおよび蒸留水を用いて超音波洗浄した純チタン薄膜(厚み:20 μm)を準備し比較対照(未処理群)とした。このチタン薄膜に酸処理(66.3%硫酸と10.6%塩酸から成る混酸水溶液, 60℃, 1時間浸漬)もしくはアルカリ処理(5 N 水酸化ナトリウム水溶液, 60℃, 24時間浸漬)を施し、それぞれ酸処理群およびアルカリ処理群とした。各試料に対して、走査型電子顕微鏡による試料表面の観察、接触角の測定によるぬれ性の評価、処理前後の薄膜厚み測定による腐食深度の評価および引張試験による力学的強度の評価を行った。

実験2 生体活性作用の検討

実験1と同様に未処理群とアルカリ処理群を設定し、各試料を37℃の擬似体液に7, 14, 21日間浸漬した。浸漬前の表面粗さおよび構造の観察を行った。また、擬似体液浸漬後の各試料表面の析出物の観察、電子線マイクロアナライザーを用いた析出物の元素分析、浸漬前後の重量変化率およびCa吸光度測定によるリン酸カルシウム化合物の形成状態の評価を行った。

実験3 骨形成促進効果の検討

Sprague-Dawley ラット(雄性, 8週齢, n=21)の頭蓋骨に直径6 mmの円柱状骨欠損を形成し、未処理チタン薄膜で被覆(未処理被覆群)、アルカリ処理チタン薄膜で被覆(アルカリ処理被覆群)、または薄膜を用いず皮膚縫合のみの未被覆群とした。4週間後、薄膜を含む組織ブロックを採取し非脱灰研磨標本を作製した。組織学的観察および組織形態計測として骨新生率と骨薄膜接触率を測定した。骨新生率および骨薄膜接触率は骨欠損部全体および中央部で評価した。

4. 研究成果

実験1 表面改質法の検討

未処理群では圧延された圧痕が観察された。酸処理群ではマイクロスケールの構造が、アルカリ処理群ではさらに微細な網目状構造が観察された(図1)。接触角の測定では、未処理群に対して酸処理群が高い値を示した。一方アルカリ処理群は値が0に近似し超親水性を示した(表1)。薄膜厚み測定および引張試験では、いずれも酸処理群が最も低い値を示した。これらの結果から、酸処理群は腐食によりチタン薄膜の構造および強度を減弱させることが確認された。一方、アルカリ処理群は未処理群との比較にて力学的強度に有意差を認めず、構造を劣化させることなく表面改質が可能であった(図2)。これらの結果より、アルカリ処理はチタン薄膜に適した表面改質法であることが明らかとなった。

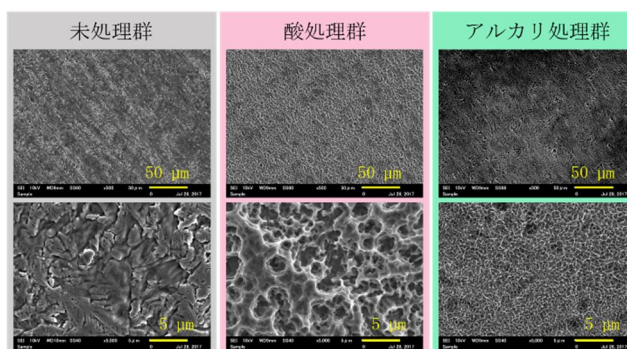


図1 表面構造の観察

これらの結果より、アルカリ処理はチタン薄膜に適した表面改質法であることが明らかとなった。

未処理群	71.0 ± 1.63
酸処理群	103.1 ± 3.81 [#]
アルカリ処理群	測定不能

: $p < 0.05$ (n=8); vs Control group

表1 接触角 (°)

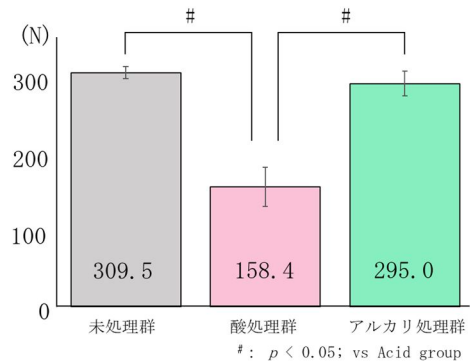


図2 引張試験

実験2 生体活性作用の検討

表面粗さは、アルカリ処理群が高い値を示した(表2)。析出物の観察では、両群とも浸漬期間が長くなるにつれて表面析出物が増加した。浸漬14日目以降では球形状のアパタイト様析出物を認め、アルカリ処理群ではより成熟した析出物を認めた。析出物の元素分析では、7日目以降に両群でCaとPが検出され、アルカリ処理群が未処理群よりも早期で高い値を示した。重量変化率では14日目以降でアルカリ処理群が高い値を示した(表3)。Ca吸光度測定では、全ての期間においてアルカリ処理群が高い値を示した(図3)。以上よりアルカリ処理したチタン薄膜はリン酸カルシウム化合物の析出を促進する生体活性作用を示した。

未処理群	0.013 ± 0.001
アルカリ処理群	0.036 ± 0.003 ^{##}

: $p < 0.01$ (n=5); vs Control group

表2 表面粗さ (μm)

		element (wt. %)				
		C	O	Ti	Ca	P
未処理群	-	0.26	5.91	93.80	-	-
	day 7	0.64	35.02	54.27	4.52	4.36
	day 14	0.65	42.78	40.44	7.52	7.09
	day 21	0.44	43.13	32.40	11.01	10.28
アルカリ処理群	-	2.58	23.65	73.69	0.08	-
	day 7	0.54	42.17	36.13	9.46	8.24
	day 14	0.71	43.94	32.75	10.27	8.83
	day 21	1.41	38.62	38.82	9.37	8.01

表3 析出物の元素分析

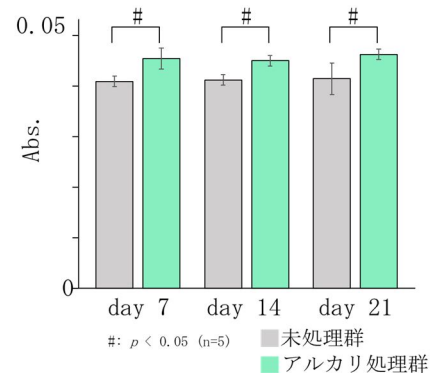


図3 Ca吸光度測定

実験3 骨形成促進効果の検討

組織学的観察では、未被覆群と比較して未処理被覆群およびアルカリ処理被覆群で既存骨から連続する広範囲の新生骨形成を認めた。組織形態計測では、骨欠損部全体および骨欠損中央部において、未処理被覆群およびアルカリ処理被覆群は未被覆群より高い骨新生率を示した。骨薄膜接触率では、骨欠損部全体において未処理被覆群とアルカリ処理被覆群に有意差を認めなかったが、欠損中央部においてはアルカリ処理被覆群が高い値を示した(図4)。

これらの結果より、アルカリ処理はチタン薄膜に適した表面改質法であり、アルカリ処理されたチタン薄膜は生体活性作用を促進し、*in vivo*において骨形成促進作用を有することが示された。

	骨新生率 (%)		骨薄膜接触率 (%)	
	Total area	Central area	Total area	Central area
未処理群	35.1 ± 20.6 ^{##}	21.4 ± 21.4 [#]	21.6 ± 12.1	8.0 ± 13.7
アルカリ処理群	37.9 ± 13.0 ^{##}	33.1 ± 17.1 ^{##}	42.5 ± 28.8	41.1 ± 29.3 [#]
未処理被覆群	11.7 ± 4.6	1.5 ± 2.6		

: $p < 0.05$ (n=7); vs control group

: $p < 0.05$ (n=7); vs without membrane group
: $p < 0.01$ (n=7); vs without membrane group

図4 組織形態計測

以上より、アルカリ処理チタン薄膜は、強度を維持しつつ生体活性作用が促進されることが明らかとなり、骨形成促進作用を有する新規チタンメンブレンに成り得ることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

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 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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------