

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24792108

研究課題名(和文)セリア安定型ジルコニアを用いたインプラントフィクスチャーの開発

研究課題名(英文)Development of Ce-TZP/Al2O3 nanocomposite dental implant

研究代表者

田中 晋平 (Tanaka, Shinpei)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号：40365705

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)：本研究では表面にフッ酸処理を加えたCe-TZP/Aが骨芽細胞に及ぼす影響を検討した。Ce-TZP/Aの基板にそれぞれ機械研磨，4%，55%フッ酸処理を加え，各試料片の表面を電子顕微鏡で観察し，表面粗さを測定した。また，MC3T3-E1細胞を各試料片上で3，24時間培養し，接着細胞数のカウントおよび，3時間後の細胞骨格分子を蛍光二重染色し，共焦点レーザー顕微鏡で観察した。また，播種7日後にALP染色で，骨芽細胞の分化への影響を調べた。セリア安定化ジルコニアはフッ酸処理によるナノ構造を有する表面形状によって，骨芽細胞の初期応答に効果的な影響を与えることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ce-TZP/A (NANOZR), which is composed of nano-sized grains and particles dispersed in each crystal and has therefore higher strength and fracture toughness than conventional Y-TZP, has been widely used for crowns and bridges. This study aimed to investigate initial response of osteoblast for hydrofluoric treated NANOZR with nanostructure surface. NANOZR disks with two different surface modifications (4% hydrofluoric acid: HF etching, and 55% HF etching) were prepared. MC3T3E-1 cells were cultured on these disks. The culture on each disk was examined by the water-soluble tetrazolium-1 test for cell attachment and the alkaline phosphatase activity test for cell differentiation. Cell spread and cytoskeletal development were evaluated by confocal microscopic image-based cytomorphometry with actin filament staining. A newly created nanostructure surface on alumina/zirconium composites enhances initial attachment, cytoskeletal organization and eventually differentiation in osteoblast.

研究分野：補綴理工系歯学

キーワード：インプラント ジルコニア 表面性状

1. 研究開始当初の背景

1)ジルコニアの材料学的背景

チタンは、その優れた生物学的安定性、機械的特性により、インプラントフィクスチャー材料としての地位が確立され、表面性状や形態の最適化と相まってインプラント治療の予後は飛躍的に向上した。しかしながら、歯頸部付近の歯肉が暗く見えやすい・金属が歯肉に接触することにより歯肉が黒変する、生理的な歯周組織の吸収による外観不良を呈するなどの審美性の欠点、金属アレルギーの原因となりうる、形態や表面性状の加工が高コストである、などの欠点があることも指摘されている。

インプラントの上部構造やクラウンなどでは、メタルフリー修復に対する需要から、ジルコニアが広く臨床応用されるようになった。特に、従来のオールセラミックでは対応が難しい症例にもメタルフリー修復が応用でき、ジルコニアの優れた生物学的安定性、機械的特性が証明された。

これを受け、一部の国内外の研究機関ではインプラントフィクスチャーにジルコニアを用いる研究にすでに着手しており、試験的な臨床応用が行われている。

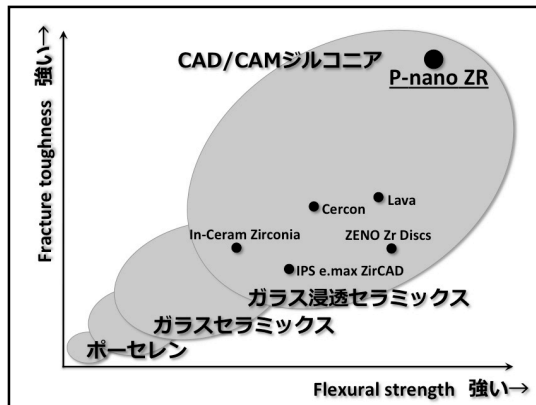


図1：ナノジルコニアとイットリア系ジルコニアの物性の比較

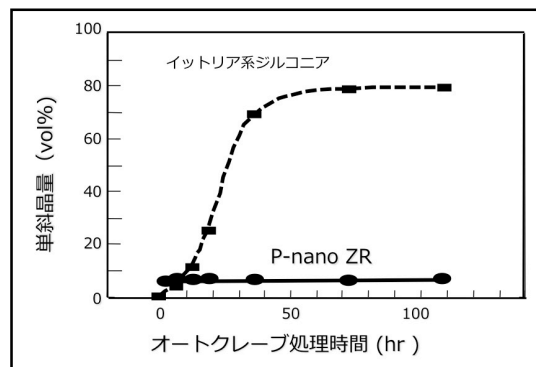


図2：オートクレーブによる結晶変化(単斜晶量の増加は物性の劣化を表す)

2)ナノジルコニアとは

パナソニックヘルスケア株式会社が開発したジルコニア材料 (P-nano ZR, ナノジルコニア) はセリア安定化ジルコニアとアルミナの複合材料であり、現在、歯科において広く応用されているイットリア系ジルコニアに比べ、高い曲げ強さと破壊靱性値を示す(図1)。また、イットリア系ジルコニアにみられる低温劣化が起こらない(図2: Nawa et al. J. Biomed. Mater. Res., 2003.) ため、口腔内における長期的な安定性が得られることが知られている(低温劣化とは 200℃~300℃、もしくは高湿潤環境下において正方晶から単斜晶に相転移することにより物性が劣化する現象である)。現在行われているイットリア系ジルコニアを用いたインプラントの開発では、骨内で長期にわたって機能しなければならないにもかかわらず、低温劣化の欠点が認識されていないことが本研究を展開する上での重要な着眼点であると考えた。

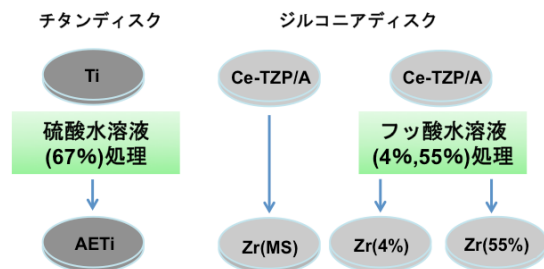
2. 研究の目的

セリア安定化ジルコニア複合体(商品名: ナノジルコニア)は、セリア安定化ジルコニア結晶とアルミナ結晶のそれぞれの結晶構造にナノサイズの粒子を分散させた複合体であり、通常のイットリア系ジルコニアと比較して約2倍の強靱性と、水熱環境下でも劣化しない優れた特性を有する。

本研究ではこのナノジルコニアの歯科インプラントフィクスチャーへの可能性を探るため表面にフッ酸処理を加え骨芽細胞の初期応答に対する影響について検討した。

3. 研究の方法

実験には直径20mm、厚さ1mmのセリア系ジルコニア/アルミナ・ナノ複合体(ナノジルコニア、パナソニック電工)にそれぞれ4%、55%のフッ酸処理を行った。またコントロール群には67%硫酸にて処理したチタンディスクを用いた(下図)。



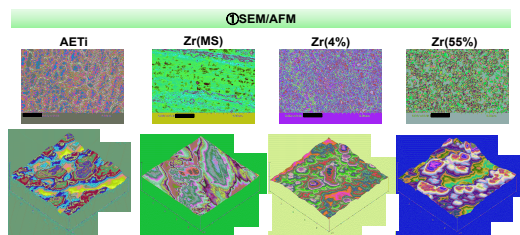
ナノジルコニアおよびチタン試料は、表面形態の観察を電子顕微鏡 (SEM) で行い表面粗さの測定を表面粗さ計により算術平均粗さ (Ra) を計測した。

骨芽細胞の初期応答は骨芽細胞様細胞 MC3T3E-1 を用いてこれらのディスク上で培

養し以下の測定を行った。接着細胞数を細胞播種後24時間後にWST-1テストにより評価した。播種後5日目にはアルカリフォスファターゼ活性を定量及び染色にて測定評価した。また、細胞の初期接着についての形態学的観察を行い、播種後24時間後の細胞形態を細胞骨格分子のアクチンフィラメントと接着斑裏打ちタンパクビンキュリンを二重染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察することによって評価した。

4. 研究成果

SEM 所見より、フッ酸処理した Ce-TZP/A の表面は、4%Ce-TZP/A よりも 55%Ce-TZP/A でナノレベルの球状構造が顕著に認められた (①)。



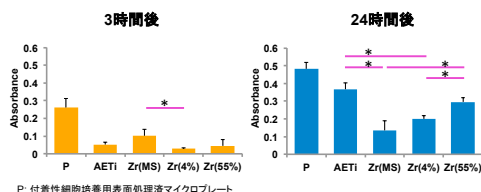
Ra (μm) は MS, 4%Ce-TZP/A, 55%Ce-TZP/A, AETi で、それぞれ 0.258, 0.276, 0.566, 0.564 であった (②)。

②表面粗さ

	表面粗さRa(μm)
AETi	0.564
Zr(MS)	0.258
Zr(4%)	0.276
Zr(55%)	0.566

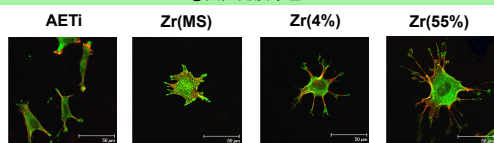
また、骨芽細胞の接着細胞数は、培養3時間後でAETiと比較しMSで6%減少、4%Ce-TZP/A, 55%Ce-TZP/Aで13%, 52%の増加を認め、24時間後では、MS, 4%Ce-TZP/A, 55%Ce-TZP/Aで31%, 27%, 64%の増加を認めた (③)。

③細胞増殖試験

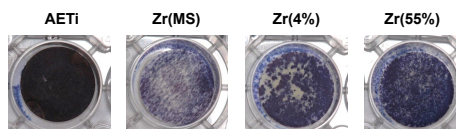


蛍光二重染色では、4%Ce-TZP/A, 55%Ce-TZP/A上で、AETiと比較し細胞骨格、細胞突起の発達が顕著で、細胞が大きく伸展する傾向が認められた。ALP染色ではRaの増加とともに活性が高まる傾向が認められた (④, ⑤)。

④蛍光免疫染色



⑤ALP染色



考察および結論：

セリア安定化ジルコニア/アルミナ・ナノ複合体は、球状様構造を有した粗糙面を形成することにより、骨芽細胞様細胞の接着と分化を促進することが示唆された。

また、フッ酸処理によるナノ構造を有する表面形状によって、骨芽細胞の初期応答に効果的な影響を与えることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計5件)

1) 大嶋瑤子, 岩佐文則, 田中晋平, 舘慶太, 大野育代, 馬場一美
ナノジルコニア上で培養したMC3T3-E1細胞の挙動解析について
第317回 昭和大学学士会例会(歯学部会主催)プログラム, p5, 2014
(第317回 昭和大学学士会例会, 東京, 2014年6月)

2) 大嶋瑤子, 岩佐文則, 田中晋平, 舘慶太, 馬場一美
セリア安定化ジルコニア/アルミナ・ナノ複合体上で培養した骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1細胞)の挙動解析について
第44回 日本口腔インプラント学会学術大会・学会誌, P290, 2014
(第44回日本口腔インプラント学会学術大会, 東京, 2014年9月)

3) Oshima Y, Iwasa F, Tanaka S, Tachi K, Miyauchi T, Baba K:
Enhanced osteoblast function on hydrofluoric-acid treated Ce-TZP/Al2O3 nanocomposite
15th Biennial Meeting of the International College of Prosthodontists Conference Program P.122, 2013

4) Oshima Y, Iwasa F, Tanaka S, Matsumoto T, Akiyama T, Baba K:
Effect of hydrofluoride-treated nanofeatured topography on Ce-TZP/Al2O3 nanocomposite
The 29th Annual Meeting of the Academy of Osseointegration Program guide P.83, 2014

(The 29th Annual Meeting of the Academy of Osseointegration , Seattle, WA March, 2014)

5) 大嶋瑤子, 岩佐文則, 田中晋平, 舘 慶太, 宮内智彦, 馬場一美 :
セリア安定化ジルコニア複合体の歯科インプラントへの応用
口腔先端応用医科学研究会第5回 学術会議プログラム抄録集, p8, 2013
(口腔先端応用医科学研究会 第5回学術会議, 東京, 2013年1月)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

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

○取得状況 (計0件)

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

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 晋平 (TANAKA, Shinpei)

昭和大学・歯学部・講師

研究者番号 : 40365705

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

岩佐 文則 (IWASA, Fuminori)