

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463057

研究課題名(和文) バイオカップリング剤によるチタンインプラント表面の骨誘導能の検討

研究課題名(英文) Study on osteoinduction of titanium-implants by bio-coupling agents.

研究代表者

大橋 桂 (Ohashi, Katsura)

神奈川県大学・歯学研究科(研究院)・助教

研究者番号：30350531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：チタンインプラント治療の成功率を上げるために、チタン表面をバイオカップリング剤で表面改質し、骨芽細胞の親和性を高め確実なオッセオインテグレーションを獲得する目的で研究を行った結果、処理直後には親水性表面に改質し処理効果が認められるものの、熱サイクルによりその効果は消失した。改質したチタン表面への細胞接着実験より、バイオカップリング剤の細胞に対する毒性はないものの、チタン表面への細胞接着性の向上には寄与しないことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to improve osseointegration of titanium implants by the bio-coupling agents, to improve success rate of titanium implants treatment. The results showed the hydrophilic on titanium applied to bio-coupling agents, but had no durability. The bio-coupling agents showed no toxicity for cells, but these agents were not improved adhesion on titanium for cells.

研究分野：歯科材料

キーワード：シランカップリング剤 バイオカップリング剤 再生医療 チタンインプラント

### 1. 研究開始当初の背景

現在、歯の喪失後のデンタルインプラント治療による咬合機能の回復が一般に広く普及している。最近になり、チタンインプラント表面のエイジングによりオッセオインテグレーションの獲得が十分に得られないことが証明されるとともに、チタンインプラント表面の新たな処理法として、紫外線照射による光機能化技術が世界的に広まりつつある。しかし、光機能化するためには専用の機器を用意する必要があること、ならびに紫外線照射時に生じる毒性の高いオゾンの発生が問題点である。

我々の研究室では、骨再生療法のために新規に開発・合成したバイオカップリング剤を用いて、骨再生の足場となるスキャホールド表面の細胞接着性を向上させ、骨の形成作用を促す技術を開発してきた。本研究ではこの技術を応用し、インプラント表面に適応することを目的とし、インプラント表面をバイオカップリング剤で改質処理することによりインプラント表面の骨芽細胞親和性を高め、オッセオインテグレーションを確実に獲得しようとするものである。

### 2. 研究の目的

本研究では、デンタルインプラント治療に利用されているチタン表面の細胞親和性を高め、骨芽細胞の骨形成能力を積極的に促進させるために、チタンと骨芽細胞をカップリングするバイオカップリング剤を合成し、骨芽細胞のチタンに対する親和性(細胞接着性)および歯槽骨再生誘導能を期間内に明らかにすることを目的とする。

また、本研究により、従来チタンインプラントの製造から歯科医院に届けられ、患者の口腔内に埋入される間に生物学的劣化(エイジング)が生じ、インプラントと骨の十分なオッセオインテグレーションが獲得できない問題に対し、インプラント治療の直前に表面処理を行うことによりこの問題が解決されることが期待できる。

### 3. 研究の方法

#### (1) バイオカップリング剤の合成

バイオカップリング剤の合成には、出発物質としてアミド基を有する 1,3-ジアリル尿素やマレイミド、アロバルビタールを用いて、溶媒にテトラヒドロフラン、触媒には塩化白金(Ⅳ)酸テトラヒドロフラン溶液を加え、滴下ロートよりトリメトキシシランを攪拌しながら少しずつ加える。その後、20 時間還流し、減圧留去した後、減圧蒸留することで最終生成物であるアミド基を有するシランカップリング剤を得る。

#### (2) バイオカップリング剤の評価

得られた生成物の同定は、<sup>1</sup>H-NMR、FT-IR および Mass の各スペクトルにより行う。

#### (3) チタン表面のバイオカップリング処理層の物理学的評価

合成により得られたバイオカップリング剤、すなわち 1,1-DAU6M、1,3-DAU6M、AB6M、DI6M、MI3M 等を用いて、インプラント体へのバイオカップリング剤の処理効果を検討し、評価を、チタン板を用いてバイオカップリング剤を浸漬法にて処理し、処理前後の水、油に対する接触角の測定を行い評価する。また、サーマルサイクルなどの加速試験によりチタン表面に結合しているバイオカップリング剤の耐久性もあわせて検討を行う。

#### (4) in vitro による基礎実験および評価

バイオカップリング剤のマウス骨芽細胞に対する接着性の評価は、バイオカップリング剤で表面を改質したチタン板またはガラス板を用いて細胞の付着性をルシフェラーゼアッセイにより評価する。また、細胞の付着・伸展を継時的に観察し、細胞付着促進効果の評価を行う。さらに、ディッシュ表面をバイオカップリング剤で処理したガラス製細胞培養用ディッシュを用いて、石灰化誘導培地で骨芽細胞を培養し、ノジュール形成量を指標にバイオカップリング剤の細胞接着・分化促進効果の評価を行う。

### 4. 研究成果

#### (1) バイオカップリング剤の合成・評価

数種類のバイオカップリング剤の合成を試みた。その結果、1,3-ジアリル尿素から 1,3-DAU6M、マレイミドから MI3M、アロバルビタールから AB6M、イソシアヌル酸ジアリルから DI6M、イソシアヌル酸トリアリルから TI9M をそれぞれ得ることができ、<sup>1</sup>H-NMR、FT-IR および Mass の各スペクトルにより最終物質を同定・確認した。

#### (2) チタン表面のバイオカップリング処理層の物理学的評価

合成に成功したバイオカップリング剤を用いてチタンディスク表面に処理し、処理効果を検討したところ、水に対する接触角は低下し、親水性の表面に改質できたことが確認された。しかし、サーマルサイクル後には水の接触角は上昇し、未改質群と同等となった。バイオカップリング剤処理表面は長期にわたる耐久性は得られなかったが、処理直後では効果が期待できることが明らかとなった。

#### (3) in vitro による基礎実験および評価

in vitro による改質したチタンディスク表面への細胞接着実験では、未処理群と処理群による細胞接着性の差がみられなかった。このことよりバイオカップリング剤の細胞に対する毒性はないものの、チタン表面への細胞接着性の向上には寄与しないことが示唆された。同様にガラス面へバイオカップリング剤を処理した場合の接着性は向上することから、チタン表面への処理効果が弱いこと

が原因であ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7件)

(1) Shiuya T, Tomiyama K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Fujino F, Ohashi K, Nihei T, Teranaka T, Mukai Y: Effects of resin-based temporary filling materials against dentin demineralization. Dental Materials Journal. 査読有り, 35, 2016, 70-75.

(2) 原健一郎, 大橋 桂, 二瓶智太郎: フロアブルコンポジットレジンの着色性. 神奈川歯学, 査読有り, 50, 2015, 9-19.

(3) 芹田枝里, 寺中文子, 大橋 桂, 三宅香, 清水統太, 原健一郎, 山口紘章, 押川亮宏, 二瓶智太郎: 各種修復材料の表面粗さと表面自由エネルギーとの相関性. 神奈川歯学, 査読有り, 50, 2015, 20-28.

(4) 緑野智康, 大橋崇明, 三宅 香, 大橋 桂, 山口紘章, 向井義晴, 鈴木敏行, 井野 智, 二瓶智太郎: 疎水性シランカップリング剤による接着耐水性の効果 - 各種芳香族基の効果 -. 神奈川歯学, 査読有り, 50, 2015, 29-36.

(5) 芹田枝里, 大橋 桂, 二瓶智太郎: ワンステップ研磨材によるコンポジットレジンの表面性状. 日本歯科保存学雑誌, 査読有り, 57, 2014, 510-518.

(6) 三宅 香, 寺中文子, 大橋 桂, 清水統太, 富山 潔, 向井義晴, 寺中敏夫, 二瓶智太郎: 大規模災害後における口腔内ケアに対する歯面塗布剤と義歯塗布剤の開発とマニュアル. 神奈川歯学, 査読無し, 50, 2014, 46-54.

(7) 三宅 香, 熊田秀文, 二瓶智太郎, 大橋 桂, 清水統太, 好野則夫, 浜田信城, 寺中敏夫: 第4級アンモニウム塩をもつ新規抗菌剤シランカップリング剤の口腔微生物に対する抗菌活性. 日本歯科保存学雑誌, 査読有り, 56, 2013, 461-467.

[学会発表](計25件)

(1) Ohashi K, Miyake K, Yamaguchi H, Teranaka A, Shiuya T, Tomiyama K, Mukai Y, Nihei T: Effect of the treating with commercial silane coupling agents. The 2016 Academy of Dental Materials Annual Meeting. 2015年10月8日, Maui.

(2) Shiuya T, Kataoka A, Fujino F, Tomiyama

K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Ohashi K, Nihei T, Mukai Y. Anti-demineralization effect of novel S-PRG filler containing varnishes on dentin. The 2016 Academy of Dental Materials Annual Meeting. 2015年10月8日, Maui.

(3) 大橋 桂, 山口紘章, 三宅 香, 緑野智康, 和田悠希, 亀山祐佳, 大野晃教, 小林弘明, 向井義晴, 木本克彦, 二瓶智太郎: シランカップリング剤の保存法が接着に及ぼす影響. 第34回日本接着歯学会学術大会. 2015年12月19日, 東京.

(4) 緑野智康, 大橋 桂, 三宅 香, 山口紘章, 亀山祐佳, 和田悠希, 二瓶智太郎. 施策レジンセメントの性能に関する研究. 第34回日本接着歯学会学術大会. 2015年12月19日, 東京.

(5) 三宅 香, 山口紘章, 緑野智康, 亀山裕佳, 和田悠希, 大橋 桂, 二瓶智太郎. 多目的光重合型プライマーに関する研究 象牙質に対する接着耐久性について. 第34回日本接着歯学会学術大会. 2015年12月19日, 東京.

(6) 山口紘章, 亀山祐佳, 和田悠希, 三宅香, 大橋 桂, 大野晃教, 小林弘明, 木本克彦, 二瓶智太郎. CAD/CAM用ハイブリッドレジンに関する研究(第2報) レジンセメントとの接着性について. 第34回日本接着歯学会学術大会. 2015年12月19日, 東京.

(7) 大橋 桂, 山口紘章, 三宅 香, 寺中文子, 緑野智康, 和田悠希, 亀山祐佳, 下山和夫, 押川亮宏, 二瓶智太郎: シランカップリング剤の保存法が接着に及ぼす影響. 神奈川歯科大学学会第50回総会, 2015年12月5日, 横須賀.

(8) 三宅 香, 和田悠希, 大橋 桂, 山口紘章, 二瓶智太郎: ルート/クラウン・ポジションで弾性率の異なる支台築造用コンポジットレジンの性能. 神奈川歯科大学学会第50回総会, 2015年12月5日, 横須賀.

(9) 中島勝也, 栗原淳之, 大橋 桂, 二瓶智太郎, 木本克彦: セルフアドヒーズンセメントの接着における化学重合の検討. 神奈川歯科大学学会第50回総会. 2015年12月5日, 横須賀.

(10) 大橋 桂, 三宅 香, 山口紘章, 寺中文子, 押川亮宏, 下山和夫, 鈴木敏行, 木本克彦, 二瓶智太郎: マルチプライマーによる表面改質に関する研究(第2報) レジンブロック面処理に対するレジンの接着強さについて. 2015年度春季第65回日本歯科理工学会学術講演会, 2015年4月12日, 仙

台 .

( 1 1 ) 二瓶智太郎, Kunzelmann KH, 大橋桂, 三宅 香, 山口紘章, 寺中文字, 押川亮宏, 富山 潔, 下山和夫, 鈴木敏行, 向井義晴: 重合性基含有芳香族系シランカップリング剤に関する研究(第 12 報) フィラー・レジン界面の変化について .2015 年度春季第 65 回日本歯科理工学会学術講演会, 2015 年 4 月 12 日, 仙台 .

( 1 2 ) 二瓶智太郎, 三宅 香, 山口紘章, 大橋桂, 向井義晴: 疎水性基を有するシランカップリング剤のコンポジットレジンへの応用( ) 長期水中保管後の物性について .第 33 回日本接着歯学会学術大会, 2014 年 12 月 14 日, 神戸 .

( 1 3 ) 大橋桂, 大野晃教, 小林弘明, 山口紘章, 三宅 香, 向井義晴, 木本克彦, 二瓶智太郎: 各種プライマーによる表面改質に関する研究 マルチプライマーを用いたガラス面処理に対するレジンの接着強さ . 第 33 回日本接着歯学会学術大会, 2014 年 12 月 14 日, 神戸 .

( 1 4 ) 山口紘章, 三宅 香, 大橋桂, 向井義晴, 二瓶智太郎: CAD/CAM 用ハイブリッドレジンに関する研究 レジンセメントの接着強さ . 第 33 回日本接着歯学会学術大会, 2014 年 12 月 14 日, 神戸 .

( 1 5 ) 山口紘章, 大橋桂, 三宅 香, 押川亮宏, 下山和夫, 二瓶智太郎: シランカップリング剤による表面改質に関する研究 市販シランカップリング剤によるレジンの接着強さについて . 2014 年度秋季第 64 回日本歯科理工学会学術講演会, 2014 年 10 月 4 日, 広島 .

( 1 6 ) 大橋桂, 三宅 香, 山口紘章, 志川彰浩, 下山和夫, 鈴木敏行, 木本克彦, 二瓶智太郎: マルチプライマーによる表面改質に関する研究 ガラス面処理に関する研究 ガラス面処理に対するレジンの接着強さについて . 2014 年度秋季第 64 回日本歯科理工学会学術講演会, 2014 年 10 月 4 日, 広島 .

( 1 7 ) Ohashi K, Serita E, Teranaka A, Yamaguchi H, Midono T, Hara K, Nihei T: A study on surface characteristics on polished resin composite . IADR Pan European Resion Congress, 2014 年 9 月 11 日, Dubrovnik .

( 1 8 ) Nihei T, Ohashi K, Yamaguchi H, Teranaka A, Yoshino N, Hickel R, Kunzelmann K-H. Strength and wear of resin composite with hydrophobic silane. IADR Pan European Resion Congress, 2014 年 9 月 11 日, Dubrovnik .

( 1 9 ) Teranaka A, Nihei T, Tomiyama K, Ohashi K, Miyake K, Serita E, Hamada N, Mukai Y, Yoshino N, Shimizu T: Detachment effect of polymicrobial biofilms on glass surfaces modified hydrophobic silane . IADR Pan European Resion Congress, 2014 年 9 月 12 日, Dubrovnik .

( 2 0 ) Shiiya T, Tomiyama K, Iizuka J, Hasegawa H, Kuramochi E, Fujino F, Ohashi K, Nihei T, Teranaka T, Mukai Y: Anti-demineralization effect of S-PRG temporary filling material on dentin . IADR Pan European Resion Congress, 2014 年 9 月 12 日, Dubrovnik .

( 2 1 ) 大橋桂, 芹田枝里, 三宅 香, 寺中文字, 原健一郎, 二瓶智太郎: ワンステップ研磨材によるコンポジットレジンの表面性状について .2014 年度春季学会(第 140 回) 日本歯科保存学会, 2014 年 6 月 20 日, 滋賀 .

( 2 2 ) 二瓶智太郎, 大橋桂, 三宅 香, 山中秀起: 疎水性基を有するシランカップリング剤のコンポジットレジンへの応用 . 第 32 回日本接着歯学会学術大会, 2013 年 11 月 30 日, 福岡 .

( 2 3 ) 二瓶智太郎, Kunzelmann KH, 大橋桂, 三宅 香, 押川亮宏, 山中秀起, 鈴木敏行, 好野則夫, 寺中敏夫: 重合性基含有芳香族系シランカップリング剤に関する研究(第 10 報) 水中保管後の試作レジンの物性 . 2013 年度秋季第 62 回日本歯科理工学会学術講演会, 2013 年 10 月 20 日, 新潟 .

( 2 4 ) 三宅 香, 二瓶智太郎, 富山 潔, 向井義晴, 大橋桂, 押川亮宏, 好野則夫, 寺中敏夫: 歯および歯科材料に対する表面改質剤に関する効果 新規抗菌剤含有シランカップリング剤 . 2013 年度秋季第 62 回日本歯科理工学会学術講演会, 2013 年 10 月 19 日, 新潟 .

( 2 5 ) 二瓶智太郎, Kunzelmann KH, 大橋桂, 押川亮宏, 鈴木敏行, 好野則夫, 寺中敏夫: 重合性基含有芳香族系シランカップリング剤に関する研究(第 9 報) 試作コンポジットレジンの物性 . 2013 年度春季第 61 回日本歯科理工学会学術講演会, 2013 年 4 月 14 日, 東京 .

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

大橋桂 (OHASHI KATSURA)

神奈川歯科大学・大学院歯学研究科・助教  
研究者番号: 3 0 3 5 0 5 3 1