

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	山田 尚子
論文審査委員	(主査) 朝日大学歯学部 教授 永原 國央 (副査) 朝日大学歯学部 教授 玉置 幸道 (副査) 朝日大学歯学部 教授 近藤 信夫
論文題目 炉内焼成を利用したチタン製インプラント体の表面改質法	
<p><u>論文内容の要旨</u></p> <p>【目的】</p> <p>欠損補綴の治療手法として、固定性義歯の一手段である口腔インプラント治療は特定保険医療材料ともなり有望な選択肢となっている。口腔インプラント治療では、埋入後に骨と直接的に接合するオッセオインテグレーションが獲得された後に、上部構造を構築していく2回法インプラントシステムが一般的である。しかし、近年では、患者側の短期間の審美・咀嚼・発音機能回復の希望に応えるべく、早期荷重を実現する即時機能型インプラント治療計画の需要が高まっている。そのためには、顎骨に埋入されたインプラント体と周囲骨が、より早期にオッセオインテグレーションを獲得することが必要条件となる。</p> <p>本研究ではチタンが酸素との親和性が大きいことを利用し、チタン製インプラント体に対する表面処理法として、炭酸カルシウムで被覆したインプラント体に対して電気炉を利用した加熱焼成する方法を検討し、加熱により生じる表面の酸化膜の性状と生体親和性への関わりについて評価し、早期にオッセオインテグレーションを獲得することのできるインプラント体としての表面改質に有効であるかを検討した。</p> <p>【材料および方法】</p> <p>1. チタン試料の作製</p> <p>チタン製インプラント体の素材として頻用されるJIS規格2種の純チタンを10×10×2mmの板状に成形加工したものを準備し、表面を#1000の耐水研磨紙により研磨後、アセトン、エタノール、蒸留水を用いて洗浄し実験に供した。</p> <p>2. チタン試料の表面改質</p> <p>加熱処理によりチタン試料表面にカルシウムを接合させるために、ペースト状にした炭酸カルシウムでチタン試料表面を一層被覆し、最高焼成温度は700℃と900℃に設定し、各設定温度で1.5時間係留し炉内冷却したものを700℃-1.5h焼成、900℃-1.5h焼成、3時間係留し炉内冷却したものを700℃-3h焼成、900℃-3h焼成とし実験に供した。</p> <p>3. チタン試料の熱分析</p> <p>加熱による炭酸カルシウムの挙動を探るため、各チタン試料の熱重量測定(TG)および示差熱分析(DTA)を行った。</p> <p>4. チタン試料の走査型電子顕微鏡観察</p> <p>走査型電子顕微鏡(SEM)を用い、各チタン試料表面のSEM観察を行い、表面の変化</p>	

を視覚的に分析した。

5. チタン試料のエクス線回折 (XRD)

焼成により表面に生成された化合物を同定するため、エクス線回折装置を用いて試料表面の化合物を同定した。また、焼成前後での炭酸カルシウムについても同様の条件で回折した。

6. チタン試料のエネルギー分散型エクス線分析 (EDS)

各チタン試料表面に対して、EDS を行い、試料表面の元素定性分析を行った。

7. チタン試料の表面粗さ測定

各チタン試料表面の中心線平均粗さ (Ra) を測定した。

8. チタン試料上でのヒト骨髄由来幹細胞の増殖評価

ヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC) は、専用の増殖培地を用いて 37 °C, 5 % CO₂ 存在下で継代培養し、継代数 4 代の細胞を実験に使用した。hBMSC を各チタン試料上に播種し、48 時間後に Alamar Blue 試薬を培地の 1/10 量添加し、2 時間反応させ、培地を回収してその蛍光輝度 (励起波長:560 nm, 吸収波長:590 nm) をプレートリーダーで測定し細胞増殖の指標とした。

9. 統計処理

計測値の統計処理は試験片表面の Ra 値および細胞増殖について行い、一元配置分散分析の結果から多重比較検定 (Tukey) を行った。有意差検定の危険率は 5 % とした。

【結 果】

1. 炭酸カルシウムの熱分析

実線で表される TG 曲線から、約 700°C 付近より急激に重量が減少し、炭酸カルシウムの分解が始まっていることが認められた。

2. 焼成前後のチタン試料の肉眼的観察

1. の結果から、焼成温度を 700, 900°C に設定し、700°C-1.5h, 900°C-1.5h で焼成した試料を焼成前のものと比較すると、金属色 (銀色) から明らかに色調 (明度) が変化している状態が肉眼で観察できた。

3. チタン試料表面の SEM 観察像

焼成前では擦過傷が観察されたが、700°C-1.5h 焼成試料では擦過傷周囲に粒状の化合物生成が確認でき、900°C-1.5h 焼成試料ではそれらが明瞭に増大していることが観察された。

4. チタン試料の XRD

700°C-1.5h 焼成試料では、炭酸カルシウムがほぼ残存していることが確認できたが、900°C-1.5h 焼成試料では酸化カルシウムへと変化していた。また、900°C-1.5h 焼成試料では表面にルチル型二酸化チタンの鋭いピークが観察されたが、700°C-1.5h 焼成試料では強度の低いルチル型酸化被膜以外にも異なる酸化物のピークが検出された。係留時間で比較すると、係留時間の延長に伴い明らかにピーク強度が大きくなっていることが認められた。

5. チタン試料表面の EDS

700°C-1.5h 焼成試料表面では、カルシウムは検出限界以下であったが、900°C-1.5h 焼成試料では表面にカルシウムの存在が確認された。

6. チタン試料の割断面 SEM 像に基づくマッピング分析と表層から内部へのライン分析 EDX 分析と同様、900°C-1.5h 焼成試料ではカルシウムの分布が表面から内部に向かい明瞭に認められたが、700°C-1.5h 焼成試料では希薄であった。

7. チタン試料の表面粗さ

コントロールの#1000 番の耐水研磨紙で仕上げた試験片の Ra (μm) は 0.16 ± 0.05 であった。700°C-1.5h 焼成で 0.12 ± 0.02 、700°C-3h 焼成で 0.14 ± 0.01 とコントロールとほぼ同じ数値であったが、900°C-1.5h 焼成で 0.24 ± 0.07 、900°C-3h 焼成では 1.07 ± 0.06 と、それぞれ約 2 倍、約 5 倍と粗くなる傾向が認められた。

8. チタン試料上での細胞増殖

チタン試料上での hBMSC の増殖は 700°C-1.5h で焼成した試料上で有意に促進された。

【考 察】

チタン製インプラント体の表面改質法として、炭酸カルシウムを水で練和したペーストに包埋し、700°Cあるいは900°Cで焼成という方法を試み、表面改質効果について検討した結果、加熱によりチタン表面には安定なルチル型の二酸化チタンが生成していることが XRD により明らかとなった。700°C-1.5h 焼成試料では表面の色調は金属色から黒化し、さらに 900°C-1.5h 焼成試料では白化することも本実験において確認された。この表面の相違については XRD 結果から 900°C-1.5h 焼成では、ほぼ完全にルチル型の二酸化チタンを示していたが、700°C-1.5h 焼成ではチタンあるいは別のタイプの酸化チタン (Ti_3O) の生成が推察された。カルシウムの取り込みについては 900°C-1.5h 焼成試料の EDS で検出が確認されマッピング分析では深部までの侵入が示唆されたが、700°C-1.5h 焼成試料では検出限界以下であった。当初は加熱による分解でカルシウムとチタンとの化合物 (チタン酸カルシウム: CaTiO_3) が表層に生成されることを推測していたが、EDS の結果では検出されなかった。しかし、マッピング分析結果からカルシウムの存在は明らかであることと、XRD でも検出されていたことから、包埋した炭酸カルシウムの残渣とも考えられた。

また、加熱により生成される酸化膜は、表面に数ミクロンオーダーの比較的大きなうねりを生じさせ、細胞にとっては付着や増殖にとって有利な足場となることが予想された。しかし、本実験においては実際に表面粗さの結果からは 900°C-1.5h 焼成後には焼成前のチタン試料や 700°C-1.5h 焼成に比べて有意な荒れた表面を作り出すことが確認できたが、細胞増殖の結果からは 900°C-1.5h ではなく 700°C-1.5h 試料において有意に増殖促進が認められた。これについては細胞の増殖だけでなく分化の影響が関与していることも考えられる。

以上のことより、炉内焼成法という簡便な方法に加え、炭酸カルシウム内へ包埋することが、臨床応用されるチタン製インプラント体として、最適な表面改質が行える手法であることが示唆された。