

論文内容要旨

Development of a novel bioactive titanium
membrane with alkali treatment for bone
regeneration

(骨新生を目的としたアルカリ処理生体活性チタン
薄膜の新規開発に関する研究)

主指導教員：津賀 一弘教授
(医系科学研究科 先端歯科補綴学)
副指導教員：谷本 幸太郎教授
(医系科学研究科 歯科矯正学)
副指導教員：吉田 光由准教授
(医系科学研究科 先端歯科補綴学)

梅原 華子

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

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。

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°C，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°C，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。表面は、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。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。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。

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。

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°C 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。表面粗さは、アルカリ処理群が高い値を示した。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。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。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。

これらの結果より、アルカリ処理されたチタン薄膜は生体活性作用を促進することが明らかとなった。

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。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。

これらの結果より，アルカリ処理を行ったチタン薄膜は *in vivo* において骨形成促進作用を有することが示された。

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。