

鶴見大学大学院歯学研究科博士学位論文

内容の要旨および審査の結果の要旨

氏名(本籍) 飯沼陽平(岐阜県)
博士の専攻分野 博士(歯学)
学位記番号 甲第504号
学位授与年月日 令和2年3月14日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
研究科専攻 鶴見大学大学院歯学研究科
(博士課程) 歯学専攻
学位論文題目 Surrounding tissue response to surface-treated zirconia implants
(表面改質ジルコニアインプラントに対する周囲組織の反応)
Materials 第13巻 第1号 30 2019年12月19日発行
論文審査委員 主査 教授 山越康雄
副査 教授 早川徹 副査 教授 大久保力廣

内容の要旨

【緒言】

チタンやチタン合金に代わる歯科用インプラント材料として、部分安定化ジルコニア(以下ジルコニアと略す)が注目されている。ジルコニアは生体安全性、審美性、機械的強度が優れており、欧州ではすでにインプラント材料として臨床で用いられている。現在まで、ジルコニアインプラントの骨適合性の向上を目指した様々な表面改質が報告されているが、軟組織の反応に対する研究はほとんどなされていない。また、天然歯では軟組織部位のコラーゲン線維は天然歯に対して垂直に配向しているが、インプラントでは多くのコラーゲン線維がインプラント体に対して水平に配向していると報告されている。このコラーゲン線維の配向性の違いがインプラント体に対する軟組織の付着性に影響を与え、インプラント周囲炎を引き起すと考えられているが、ジルコニアインプラントの表面処理の違いがコラーゲン線維の配向性に与える影響に関する報告はほとんどない。インプラント周囲の軟組織部のコラーゲン線維の配向性を制御して垂直に配向させることができれば、インプラントに対する軟組織の付着性を高めることができ、その結果、細菌の侵入を防ぎインプラント周囲炎を予防できると考えられる。

本研究では、各種表面改質ジルコニアインプラントをラットの口腔内抜歯窩に埋入し、表面改質ジルコニアインプラントに対する周囲組織の反応を比較検討した。特に軟組織部位のコラーゲン線維の配向性について詳細に観察し、表面処理の違いがコラーゲン線維の配向性に与える影響について調べた。

【材料と方法】

1) ジルコニアの表面改質

Y-TZP(イットリア添加型部分安定化ジルコニア: $\phi 15$ mm, 厚さ 1 mm) 製ディスク試料を用いた。鏡面研磨試料をコントロールとし、UVを20分間照射したU試料(UV)、サンドブラスト(180 μ m アルミナ)後、フッ化水素酸(46%)に5分間浸漬した試料(blastedHF)、blastHF試料にUV照射(20分)を施した試料(blastedHF+UV)の4種類の試料を製作した。電子顕微鏡(SEM)を用いて各試料の表面形状を観察し、原子間力顕微鏡(AFM)にて表面粗さの測定を行った。さらに、純水に対する接触角測定を行った。

2) 動物へのインプラント埋入実験

Y-TZPをシリンダー状(上面 $\phi 1.2$ mm, 下面 $\phi 0.8$ mm \times 高さ 4.0 mm)にCAD/CAM加工した試料をインプラント体として、動物埋入実験に用いた。無処理をコントロールとし、UV, blastHF, blastHF+UVは上記と同様の条件にて表面改質

を行った。

6週齢のラット（wistar系：雄）の上顎第一大臼歯を抜歯後、各種表面処理を施したシリンダー状Y-TZPジルコニア試料を埋入した。埋入3週間後に組織ごと試料を取り出し、脱水、固定、樹脂包埋後、非脱灰薄切切片を製作した。塩基性フクシン-メチレンブルーにて二重染色を施した後、インプラント周囲の骨形成やインプラントに対する組織の付着状態について光学顕微鏡を用いて観察した。軟組織付着部位については、さらに偏光顕微鏡を用いて軟組織部位のコラーゲン線維の配向を観察した。形態計測は画像解析ソフト（WinROOF）を用い、骨-インプラント接触率、インプラント体に対して垂直に配向している軟組織部位のコラーゲン線維の割合と領域面積を測定した。垂直配向コラーゲン線維の割合は、インプラント体に垂直に配向しているコラーゲン線維の長さの和をインプラント体に付着している軟組織の全長で割ることで求めた。垂直配向コラーゲン線維の領域面積については、インプラント体に対して垂直に配向しているコラーゲン線維の全領域の面積を測定した（鶴見大学歯学部動物実験委員会、承認番号：19A015）。

【結果および考察】

1) ジルコニアの表面改質

各種表面改質処理後のSEM像では、コントロール、UVではわずかな研磨傷が認められるものの滑沢な表面を観察することができた。blastedHF処理、blastedHF + UV処理では微細な凹凸が付与されていた。AFMによる表面粗さ（Sa）測定では、コントロール、UV処理でSa=3~7nmに対しblastedHF、blastedHF + UVではSa=300nm以上と前2群に比較して有意に高い結果となった（ $p < 0.05$ ）。純水に対する接触角は、コントロール、UV、blastedHF、blastedHF + UVの順で有意に低くなった（ $p < 0.05$ ）。特にblastedHF + UVでは接触角はほぼ 0° となり、超親水性の表面を獲得することができた。

2) 動物埋入実験

インプラント埋入期間にジルコニアインプラントの脱落はなかった。まず、骨形成状態を調べたが、コントロールおよびUVジルコニアインプラントでは、骨の接触界面に空隙が散見された。それに対して、blastedHF、blastedHF + UVでは、インプラント体と骨とは緊密に接触していた。骨-インプラント接触率を測定した結果、コントロールとUVで50~60%、blastedHFおよびblastedHF + UVでは80~85%となり、コントロール、UVと比較してblastedHF、blastedHF + UVが有意に高い値となった（ $p < 0.05$ ）。

次に、軟組織の付着状態について調べた。その結果、全ての試料においてインプラント体と軟組織との良好な接合を確認できた。偏光顕微鏡を用いてインプラント体に対するコラーゲン線維の走行を観察したところ、全ての試料において、垂直に配向しているコラーゲン線維の存在が認められた。特にblastedHF + UVにおいては、他の試料と比較して長いコラーゲン線維の束が明瞭に観察された。垂直配向コラーゲン線維の割合は、コントロールで約20%であり、それに対してUVで約38%、blastedHFで約40%、blastedHF + UVで約50%といずれも有意に高い値となった。また、垂直コラーゲン線維の全領域面積は、コントロール、UV、blastedHFでは約13,000~265,000 μm^2 であったが、blastedHF + UVでは約55,000 μm^2 と有意に高かった（ $p < 0.05$ ）。これはサンドブラスト酸処理によってジルコニア表面に形成された細孔がコラーゲン線維の足場となり、UV処理によって血液など体液の浸透が促進され、その結果コラーゲン線維の垂直配向を誘導したと考えられる。

【結 論】

サンドブラスト酸処理後にUV処理を施したblastedHF + UV処理ジルコニア表面は微細な凹凸を有する超親水性表面であった。blastedHF + UV処理ジルコニアインプラントは骨に対する適合性が良好であり、さらに周囲軟組織部位ではインプラント体に垂直に配向するコラーゲン線維を明瞭に観察することができた。以上、blastedHF + UV処理はジルコニアインプラントの表面処理としての有効性が期待できると考えられる。今後は、より長期での軟組織の付着性などについて詳細に検討する予定である。

審査の結果の要旨

インプラント体に付着する軟組織コラーゲンは水平に配向しており、垂直に配向する天然歯とは異なる。本研究ではジルコニアインプラント周囲のコラーゲン線維の配向性を制御して垂直配向に誘導できれば、軟組織付着性の向上および細菌の侵入を防ぐことが可能となりインプラント周囲炎の予防に繋がると考え、ジルコニアインプラントに対する表面処理がコラーゲン線維の配向性にどのような影響を及ぼすかを調べることを目的とした。

イットリア添加型部分安定化ジルコニア (Y-TZP) 製ディスクを鏡面研磨した試料をコントロールとし、それに UV を照射した試料 (UV)、サンドブラストと酸処理した試料 (blastedHF) および blastedHF に UV 照射した試料 (blastedHF+UV) を用いて表面形状の観察、表面粗さ測定、純水に対する接触角測定を行った。次に Y-TZP をシリンダー状に CAD/CAM 加工したインプラント体を上記と同様の表面改質を行い、ラット上顎第一大臼歯抜歯窩への埋入実験を行ってインプラント周囲の骨形成や軟組織の付着状態を光学顕微鏡にて観察した。また、軟組織付着部位について偏光顕微鏡を用いてコラーゲン線維の配向を観察し、骨-インプラント接触率、インプラント体に対する垂直配向コラーゲン線維の割合と領域面積を測定した。

各種表面改質処理後の SEM 像では、コントロール、UV が滑沢な表面であったのに対して、blastedHF および blastedHF+UV では微細な凹凸が観察された。表面粗さ測定では blastedHF および blastedHF+UV がコントロール、UV と比較して有意に高かった。さらに接触角測定により blastedHF+UV が超親水性の表面を有していることが判明した。次に動物埋入実験ではコントロール、UV では骨の接触界面に空隙が散見されていたものの blastedHF および blastedHF+UV は骨に密に接触しており、その接触率もコントロール、UV と比較して有意に高かった。軟組織の付着状態は blastedHF+UV では他の試料と比較して長いコラーゲン線維束が観察され、垂直配向コラーゲン線維の割合およびコラーゲン線維の全領域面積も有意に高かった。

以上よりサンドブラスト・酸処理によってジルコニア表面に形成された細孔がコラーゲン線維の足場となり、さらに UV 処理により体液の浸透が促進され、その結果コラーゲン線維の垂直配向が誘導されたことが示唆された。

本研究では、サンドブラスト・酸処理と UV 照射の併用はインプラント周囲炎を防ぐためのジルコニアインプラントの新規表面処理法として期待できる可能性を見出すことができた。よって、本論文は博士 (歯学) の学位請求論文として十分な価値を有するものと判定した。