

論 文 要 旨

Effect of surface roughness on initial responses of osteoblast-like cells on two types of zirconia

2 種類のジルコニアにおける骨芽細胞様細胞の
初期細胞応答への表面粗さの影響

山 下 大 輔

【序論および目的】

歯科用インプラントフィクスチャー材料として現在最も広く用いられている材料は金属チタンである。一方、メタルフリーレストレーションの実現を担うジルコニアは「ホワイトメタル」と呼ばれるように金属に匹敵する強度を有しており、高強度セラミックスとして歯冠修復材料、インプラントのアバットメント、上部構造に用いられている。我々はジルコニアのインプラントフィクスチャー材料としての可能性を検討するため、2種類のジルコニアにおける表面粗さの影響を骨芽細胞様細胞の初期応答について検討し、チタンおよびアルミナと比較検討した。

【材料および方法】

1. 試料板の作製

実験には直径 15 mm、厚さ 0.5 mm のセリア系ジルコニア/アルミナ・ナノ複合材料 (NANOZR、パナソニック 電工) 焼成体、イットリア系ジルコニア (3Y-TZP、東ソー) 焼成体、純チタン (Ti、Kobelco) 圧延板およびアルミナ (AO、大明化学) 焼成体を供した。

各試料板は表面処理によって、Smooth 群と Rough 群に分けた。前処理として、Smooth 群の試料板はダイヤモンド研磨紙 (#220、#400、#600、#1000) で順次研磨し、Rough 群の試料板は Smooth と同様に研磨後、サンドブラスト処理を行った。その後、各試料をアセトン、エチルアルコール、超純水で各 10 分間超音波洗浄を行い、オートクレーブ滅菌 (121°C、20 min) を行った。

2. 試料板表面の分析

- 表面粗さの測定：表面粗さ計により算術平均粗さ (R_a) を計測
- 表面形態の観察：走査型電子顕微鏡 (SEM) および原子間力顕微鏡 (AFM) にて観察

3. 生体親和性評価

培養細胞はマウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) を用い、10 % FBS 含有 α -MEM にて培養した。試料を 24 穴プレート内に配置後、 5×10^4 cells/well にて細胞を播種し、5 % CO₂、37°C 下にて培養を行った。

1, 3, 6 および 24 時間培養後、MTT Assay (cell counting kit 8、同仁化学) を用いて付着細胞数を調べた。1, 3, 6 および 24 時間培養後、固定・脱水・乾燥を行い SEM にて形態観察を行った。3 時間培養後のインテグリン α_5 および β_1 の発現をフローサイトメトリーにより解析した。1, 3 および 6 時間培養後、アクチンファイバーの発現を蛍光顕微鏡にて観察を行った。

【結 果】

表面粗さは Smooth 群 (平均 R_a 0.24 μm) と比較し、Rough 群 (平均 R_a 1.04 μm) は高い値を示し、

サンドブラストしたことにより表面が荒れていることが明らかにされた。また SEM、AFM においても Smooth 群と比較して Rough 群において表面が粗造であることが確認された。付着細胞数は 24 時間まで経時的に増加し、Smooth 群と比較して Rough 群において有意に高かった ($p<0.05$)。しかし、各材料間における付着細胞数には有意差は認められなかった。SEM による細胞形態の観察では経時的に良好に付着・伸展している像が認められた。しかし Smooth 群、Rough 群においては形態的な違いは認められなかった。3 時間培養後における MC3T3-E1 細胞のインテグリン α_5 および β_1 の発現は、Smooth 群と比較して Rough 群において強かったが、材料間における違いは認められなかった。アクチン染色においては、6 時間においてアクチンファイバーの形成が確認できた。しかし Smooth 群と Rough 群においてアクチンファイバーの形成に違いは認められなかった。

【結論及び考察】

ジルコニアは優れた生体適合性を有し、チタンに替わるインプラントの材料として注目を浴びてきている。しかし、チタンおよびジルコニアは生体不活性な材料である。現在インプラントフィクスチャーとして用いられているチタンでは、表面改質により生体適合性の向上が実現されている。チタンの場合、表面を粗くすることにより骨芽細胞の動態の向上が報告されている。我々はジルコニアにおいても表面粗さがチタンと同様の影響を及ぼすのか、特に骨芽細胞の初期動態に注目して研究を行った。

我々の用いた Rough 群の試料板は平均 Ra 1.04 μm の粗さであり、Smooth 群は平均 Ra 0.24 μm であった。Smooth 群の試料板と比較して付着細胞数、インテグリン α_5 および β_1 の発現においては全ての材料で Rough 群が良好であった ($p<0.05$)。しかし細胞形態、アクチン染色については Smooth 群と Rough 群で明らかな違いは認められなかった。細胞骨格のアクチンフィラメントの形成は、細胞と試料板間の接着によって発現するインテグリンを介する経路だけではなく、細胞と細胞間におけるカドヘリンを介する経路等も影響するため、明らかな差は認められなかったものと考えられる。

さらに 2 種のジルコニア、アルミナ、チタンの材料間の比較においては、上記に述べた骨芽細胞様細胞の初期動態は同等であった。この結果は、各試料板の表面は化学的に安定な酸化物で被覆されているため、細胞の初期動態への影響はなかったものと推測された。

以上の結果より、2 種類のジルコニア (3Y-TZP および NANOZR) とともに、その表面粗さは骨芽細胞様細胞の付着に影響を与え、表面を粗くすることにより純チタン、アルミナ表面と同様に骨芽細胞様細胞の初期付着が改善されることが示された。以上のことより、チタンインプラントと同様にジルコニア対しても表面改質は必要であり、ジルコニアはインプラントフィクスチャーとして十分に応用可能であるものと考えられる。