

そこで本研究では、材料表面における水分子のネットワーク構造(水和構造)と材料表面近傍で働く分子間相互作用(表面相互作用力)が、タンパク質吸着挙動に与える影響を定量的に解析することを目的とする。

材料表面における水和構造や表面相互作用力は非常に微細である。つまり、これらを定量的に分析するためには構造明確な表面が必要不可欠である。本研究では、構造が明確であると同時に、広範囲にわたり界面科学的特性を制御できる高密度ポリマーブラシ構造を、ポリマー表面のモデルとして一貫して使用する。

本年度は、ポリマーブラシ表面近傍の水分子の磁気緩和時間を様々な条件下で測定することで、より正確に表面水和構造を解析する系の確立を目指した。また、原子間力顕微鏡のフォースカーブ測定により、ポリマーブラシ表面近傍で働く表面相互作用力を解析するとともに、タンパク質との相互作用を詳細に解析することで、タンパク質吸着現象に与える分子間相互作用の役割を明らかにした。

B. 研究方法

1. ポリマーブラシ表面の構築

シリコン基板もしくはシリカ粒子(直径: 2、10 または 20 μm)に原子移動ラジカル重合(ATRP)の開始基を固定した後、表面開始型 ATRP (SI-ATRP)法を用いて、図 1 に示すポリマーブラシ構造を構築した。ポリマーブラシ構造を構築する際のモノマー濃度とフリー重合開始剤の比は 50、100 および 200 とした。ここで、双性イオン性モノマーとして、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) (ホスホベタイン型)、*N*-methacryloyloxyethyl *N,N*-dimethyl ammonium- α -*N*-methyl carboxylate (CBMA) (カルボキシベタイン型)および[2-(methacryloyloxy) ethyl] dimethyl-(3-sulfopropyl) ammonium hydroxide (SBMA) (スルホベタイン型)を、非電解質親水性モノマーとして 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) (ヒドロキシル基)および oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate (mOEGMA) (オリゴエチレングリコール鎖)を、カチオン性モノマーとして、2-trimethylammoniummethyl methacrylate (TMAEMA) (トリメチルアンモニウム基)を、アニオン性モノマーとして、3-sulfopropyl methacrylate (SPMA) (スルホプロピル基)を、疎水性モノマーとして、*n*-butyl methacrylate (BMA) (ブチル基)をそれぞれ用いた。

作製したポリマーブラシ表面の物理化学的な構造を X 線光電子分光(XPS)測定、原子間力顕微鏡(AFM)および分光エリプソメーターにより評価した。代表的な表面特性である動的接触角および表面ゼータ電位(10 mmol/L の NaCl 水溶液中)は、表 1 に示すようにモノマーユニットの特性を強く反映した結果となった。

様々な膜厚のポリマーブラシ構造を構築したシリカ粒子(直径: 2 または 10 μm)を NMR 管に詰めた後、脱気した純水もしくは 10 mmol/L に調製した NaCl 水溶液を加え、ポリマーブラシ層を水和させた。これを 3500 rpm で 10 分間遠心し、シリカ粒子を充填させた。上清を除去した後、NMR 装置

2. 水和構造解析

様々な膜厚のポリマーブラシ構造を構築したシリカ粒子(直径: 2 または 10 μm)を NMR 管に詰めた後、脱気した純水もしくは 10 mmol/L に調製した NaCl 水溶液を加え、ポリマーブラシ層を水和させた。これを 3500 rpm で 10 分間遠心し、シリカ粒子を充填させた。上清を除去した後、NMR 装置

に設置し、37°Cに保持した後、サンプルに含まれる水分子のスピン-格子緩和時間(T1)を測定した。

3. ポリマーブラシ表面近傍の表面相互作用力測定

図1に示したポリマーブラシ層のうち、poly(MPC)、poly(TMAEMA)、poly(SPMA)およびpoly(BMA)ブラシ表面を構築した直径20 μmのシリカ粒子をプローブレスカンチレバーの先端に手動で固定化した。カンチレバー先端に存在するポリマーブラシ層と同じポリマーブラシ層をシリコン基板表面に構築し、様々な塩濃度の水環境下において両者の間に生じるフォースカーブ曲線を取得した。

4. タンパク質との直接的/間接的な相互作用評価

3で使用した4種類のポリマーブラシ表面に関して、タンパク質との直接的/間接的な相互作用を評価した。タンパク質として、ウシ血清アルブミン(BSA)およびニワトリ卵白由来リゾチーム(Lys)を使用し、これらのタンパク質を化学的に固定化したカンチレバーを作製した。室温のPBS中におけるフォースカーブ測定により、各ポリマーブラシ表面に対する接近および離脱時のフォースカーブを取得した。

(倫理面への配慮)

本研究は、合成高分子やタンパク質を使用するものであるため、倫理面に関して特段の配慮は不要であると判断した。

C. 研究結果およびD. 考察

1. ポリマーブラシ表面の構造および特性

前年度までに報告してきたように、作製されたポリマーブラシ表面は、5.0から20 nm程度の膜厚で、比較的小さい凹凸構造を有した。表1に示すように、各ポリマーブラシ表面のグラフト密度はすべて0.10 chains/nm²を超えており、高密度領域にあった。グラフト密度とポリマー鎖の断面積から概算される表面被覆率から、グラフト鎖で被覆されていない下地表面はタンパク質と比べて十分小さかった。つまり、作製されたポリマーブラシ表面へのタンパク質の吸着において、タンパク質の下地表面への直接的な吸着(一次吸着)やグラフトポリマー鎖間への吸着(三次吸着)は回避され、ポリマーブラシ層最表面への吸着が支配的であることが示唆された。動的接触角の後退接触角は、疎水性の側鎖を有するpoly(BMA)ブラシ表面を除いて様に小さい値であった。また、10 mmol/Lの塩化ナトリウム水溶液における表面電位は、ポリマー自体が有する荷電特性と同様の傾向であった。

このように、高密度ポリマーブラシ層により、均一な構造を有し、ポリマー鎖の配置がナノメートルオーダーで明確である表面を構築した。また、様々な化学構造を有するグラフト鎖を配置することで、濡れ性や表面電位などに代表される界面科学的な表面特性を広範囲に制御した。

2. 水和構造解析

図2に重合度が100の各ポリマーブラシ構造を構築したシリカ粒子(直径:2または10 μm)内に封入された水分子のT1値を示す。図2から分かるように、双性イオン性

およびカチオン性ポリマーブラシ層で覆われたシリカ粒子間に存在する水分子の T1 値は低い値となった。一方、非電解質親水性および疎水性ポリマーブラシ層で覆われたシリカ粒子間に存在する水分子の T1 値は比較的大きな値となった。間隙に封入された水は、ポリマーブラシ層内部の水、ポリマーブラシ層最表面付近の水、およびポリマーブラシ層と相互作用していない水からなると考えられる。重合度 100 で作製したポリマーブラシ層の厚さは 10 nm 程度であるが、直径が 10 μm のシリカ粒子が形成する間隙のサイズは最大で 800 nm である。これは、間隙内に封入された水分子の大部分が表面に存在するポリマー鎖と相互作用しない自由水であることを意味する。

Poly(HEMA)や poly(BMA)鎖は非水溶性であるため、そのポリマーブラシ層内部に水を含むことができない。このため、これらの表面では、3500 ms 程度の T1 値を有する純水の影響を強く受け、T1 値が大きく見積もられたと考えられる。このような事態を解決するため、シリカ粒子の直径を変化させる(図 2)、遠心を利用しシリカ粒子のパッキングを密にする(図 2)、またはブラシ層の厚さを変化させる(図 3)などの改変を試みたが、現時点ではそれぞれの T1 値に大きな変化は見られなかった。表面特異的な水和構造をより正確に定量するためには、より小さいシリカ粒子を使用する、より厚いポリマーブラシ層を構築する、などのさらなる工夫が必要であると考えられる。

3. ポリマーブラシ表面近傍の表面相互作用力測定

前年度で報告したように、同種のポリマ

ーブラシ層を用いた接近時のフォースカーブは、カチオン性またはアニオン性ポリマーブラシ層の場合、塩強度により大きさや及ぶ範囲が異なることが示された。また、疎水性または双性イオン性ポリマーブラシ層では、接近時のフォースカーブに、特別な相互作用が検出されなかった。図 4 に各ポリマーブラシ層を用いた場合の、離脱時のフォースカーブを示す。疎水性ポリマーブラシ層では離脱時の強い引力が検出されたのに対し、カチオン性、アニオン性および双性イオン性ポリマーブラシ層ではこのような引力がほとんど検出されなかった。これらの結果から、カチオン性およびアニオン性ポリマーブラシ表面には、静電的相互作用のみが、疎水性ポリマーブラシ表面には疎水性相互作用のみが働き、双性イオン性ポリマーブラシ表面にはこのような相互作用が全く働いていないことが明らかとなった。

4. タンパク質との直接的／間接的な相互作用評価

図 5 に各ポリマーブラシ表面と生理条件下で正味電荷の異なるタンパク質(BSA および Lys)との代表的なフォースカーブを示す。前年度までに、離脱時のフォースカーブから、タンパク質と各ポリマーブラシ表面との直接的相互作用が、これらの電荷の組み合わせやポリマーブラシ表面の疎水性に強く影響を受けることを定量的に示した。ここでは、接近時のフォースカーブに着目した。つまり、ほとんどの組み合わせで、接近時にタンパク質とポリマーブラシ表面との間に引力を観測することはなかった。すなわち、これらの表面における静電的あるいは疎水的な相互作用はタンパク質を引

き付ける駆動力としてではなく、接触後の離脱を妨げる力として働いていることが明らかとなった。

E. 結論

シリカ粒子の粒径やポリマーブラシ層の化学構造や膜厚を様々に変化させ、表面特異的な水和構造を測定したことにより、より厳密な測定系が必要であることがわかった。また、ポリマーブラシ表面は、表面相互作用力を明確に区別できる新しいモデル表面であることがわかった。さらに、その表面で生じる静電的および疎水的な相互作用は、表面からのタンパク質の離脱を妨げる力としての役割を果たすことがわかった。以上より、タンパク質の離脱時の分子間相互作用を誘起しない表面の設計がタンパク質吸着の抑制に重要であると結論づけた。

F. 研究発表

1. 論文発表

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Nano-scale Molecular Interaction Force Measurement for Analysis of Protein Adsorption on the Surfaces", *Trans. Mat. Res. Soc. Japan* 39[2] 185-188 (2014).

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Molecular Interaction Forces Generated during the Protein Adsorption to Well-defined Polymer Brush Surfaces", *Langmuir*, in press (2015) ([dx.doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00351](https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00351)).

2. 学会発表

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Surface Interaction Forces

Governing Protein Adsorption Analyzed by Direct Force Measurement", *The Society For Biomaterials 2014 Annual Meeting and Exposition: Pioneering the Future of Biomaterials*, Denver, USA, 2014/4/16-19.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「表面で観測される力の解析に基づくタンパク質非吸着表面の創製」、第63回高分子学会年次大会、名古屋、2014/5/28-30.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「タンパク質吸着における分子間相互作用力の役割」、第43回医用高分子シンポジウム、東京、2014/7/28-29.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「ポリマー表面における分子間相互作用力の精密解析とタンパク質吸着プロセスの理解」、第63回高分子討論会、長崎、2014/9/24-26.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「種々の分子間相互作用力に基づくタンパク質吸着プロセスの理解」、第36回バイオマテリアル学会大会、東京、2014/11/17-18.

○井上祐貴、石原一彦、「マテリアル表面近傍の水和構造がタンパク質との相互作用に与える影響」、第36回バイオマテリアル学会大会、東京、2014/11/17-18.

○Sho Sakata, Yuuki Inoue, Kazuhiko Ishihara, "Analysis of protein adsorption force generated at polymer surfaces for designing non-biofouling surfaces", *The 10th International Polymer Conference*, Tsukuba, Japan, 2014/12/2-5.

○Kazuhiko Ishihara, Sho Sakata, Yuuki Inoue, "Nanoforce measurements for understanding protein adsorption at the

biocompatible surface", 8th International
Symposium on Nanomedicine,
Matsuyama, Japan, 2014/12/4-6.

○坂田翔、井上祐貴、石原一彦、「タンパク質吸着プロセスの理解を目指した分子間相互作用力の解析」、第24回日本MRS年次大会、横浜、2014/12/10-12.

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

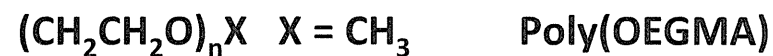
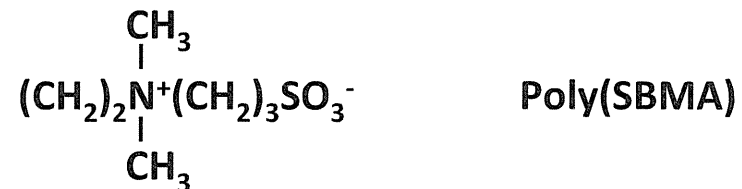
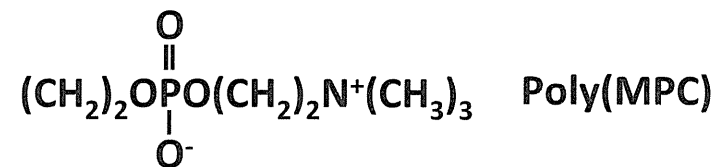
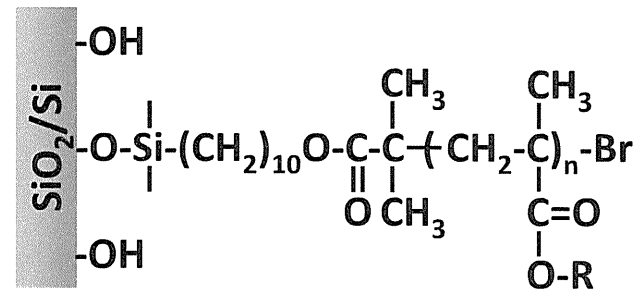


図1. ポリマーブラシ層の化学構造.

表1. ポリマーブラシ層の特性.

Polymer	Graft density (chains/nm ²)	Surface coverage	DCA (°)			ζ-potential (mV)
			θ _{adv}	θ _{rec}	θ _{hys}	
Poly(MPC)	0.26	39%	21	17	4	-3.6
Poly(CBMA)	0.67	74%	22	16	6	-1.8
Poly(SBMA)	0.48	69%	23	17	6	-7.8
Poly(HEMA)	0.79	59%	65	24	41	-4.4
Poly(mOEGMA)	0.36	65%	50	37	13	-3.5
Poly(TMAEMA)	0.31	37%	62	19	43	45
Poly(SPMA)	0.47	70%	30	28	2	-74
Poly(BMA)	0.75	62%	90	70	20	-37

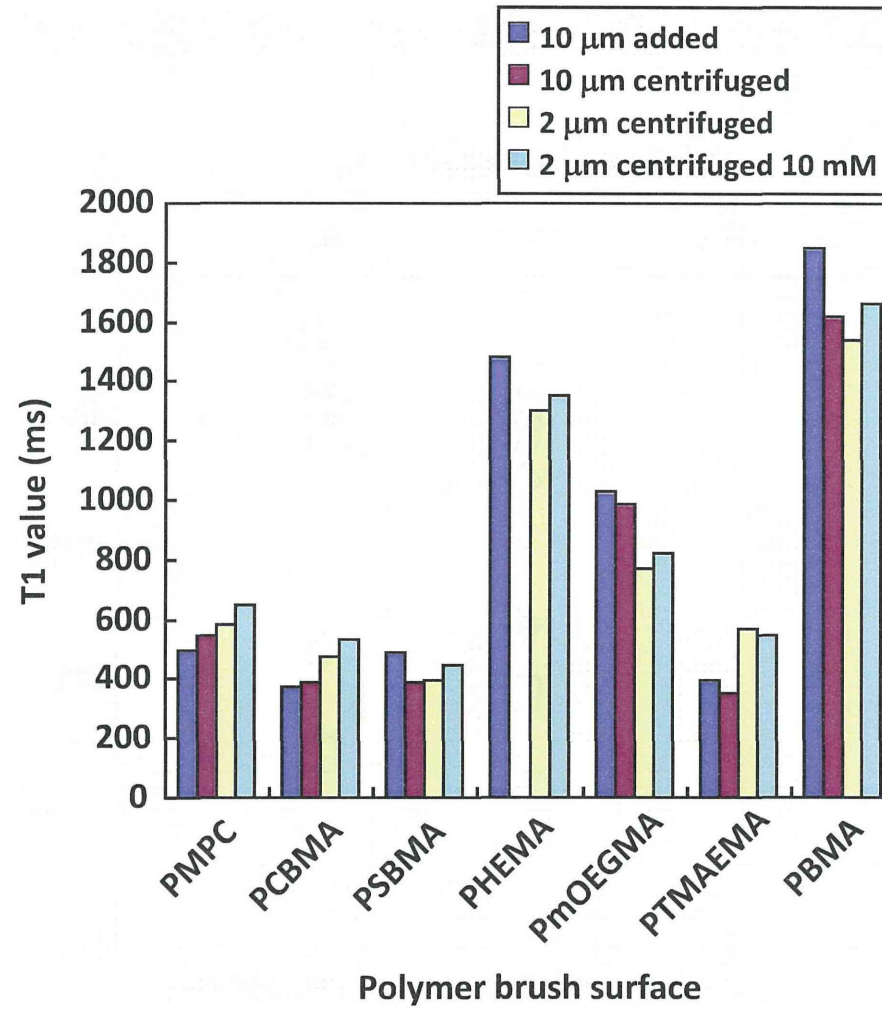


図2. 各ポリマーブラシ層で覆われたシリカ粒子間の水分子のT1値.

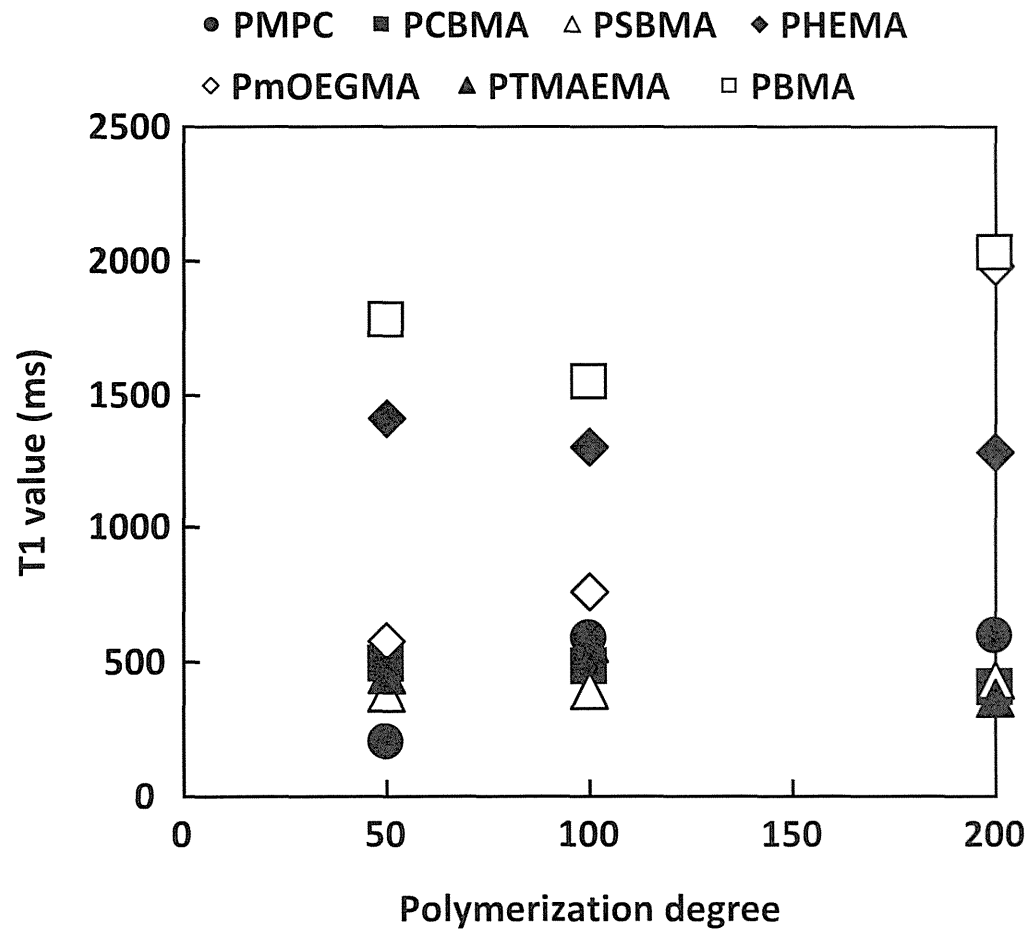


図3. ポリマーブラシ層で覆われたシリカ粒子間の水分子のT1値の重合度依存性.

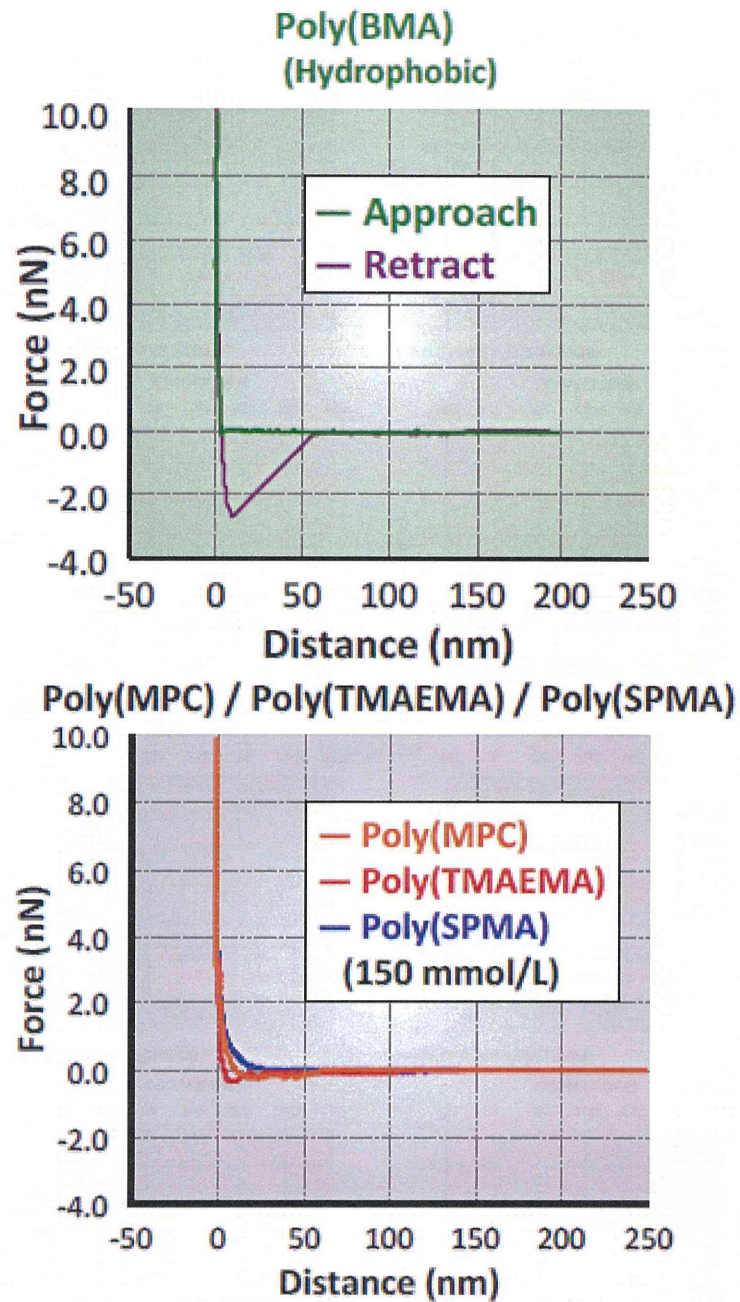


図4. ポリマーブラシ層同士の離脱時のフォースカーブ.

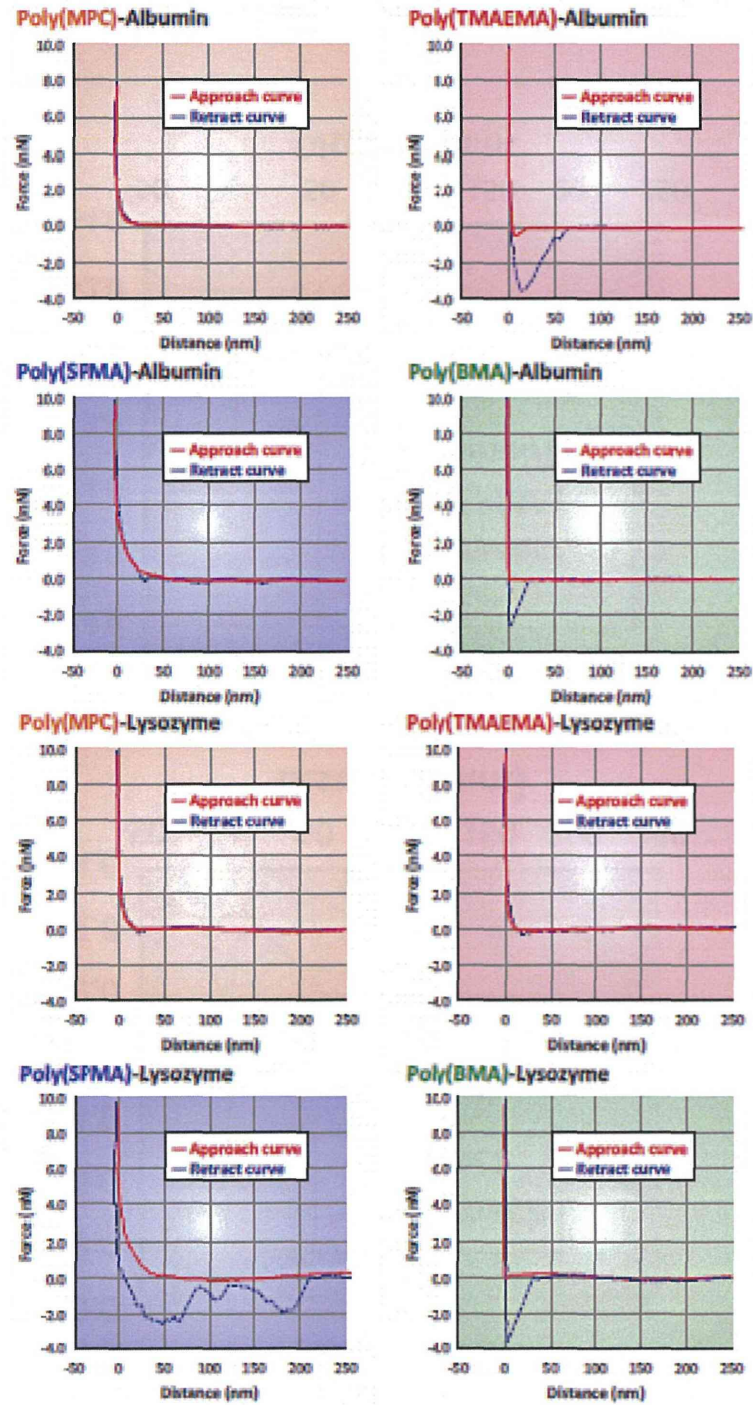


図5. 各ポリマーブラシ層とタンパク質との間のフォースカーブ.

分担研究報告書
厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業
「革新的医療機器開発を加速する規制環境整備に関する研究」

分担研究課題名
国際標準歯科インプラント材料の有効性及び安全性評価に関する研究

研究分担者 佐々木啓一 東北大学大学院歯学研究科長

研究要旨

本研究では、アカデミア、独立行政法人医薬品医療機器総合機構、日本歯科材料工業協同組合の3者が連携し、歯科用インプラントの承認審査で行う疲労試験のワーストケース設定などに関する考え方を科学的エビデンスに基づき学術的に検討、整理し、歯科インプラントが真に具備すべき要件を再考し、「課題解決に向けた提言」の取り纏めを行った。本研究をベースとして我が国での審査基準など審査の考え方を再構築することで、申請資料作成の効率化及び審査の迅速化を図り、さらには、新たな国際標準設定に資するものとして、世界に情報発信することにより、国内歯科医療機器産業への波及効果も期待できる。

A. 研究目的

歯科分野の各種医療機器の承認審査において、審査期間の長期化をはじめとするいくつかの課題が指摘されている。殊に、近年、国内外で数多くの新製品が創出されている歯科インプラント分野では、これら課題が顕在化しつつあり、新規製品の上市の遅延が本邦における国際標準の歯科インプラント治療の拡大を妨げる一因となっているとの指摘がある。さらに国産プロダクトの上市遅延が国内企業の競争力を低下させているとの指摘もある。

その解決へ向けて、厚生労働省から平成21年5月に「歯科用インプラント承認基準の制定について」、平成24年7年に「歯科用インプラントの承認申請に関する取扱いについて(Q&A集)」が通知され、具体的な審査の取扱いが示されたところである。しかし、現時点においてもなお、関連団体から申請時に必要な疲労試験における機械的強度の評価項目の明確化や簡素化が求められるなど、未だ課題を残している。

また厚生労働省は、平成21年12月にとりまとめた「医療機器の審査迅速化アクションプログラム」に基づき、審査迅速化に取り組んでいるところであり、全体としては審査期間の改善がみられている。しかし歯科分野の審査については依然、長期化している品目も多く、業界団体からも更なる改善が求められている。これら背景から、承認申請が多い歯科インプラントの審査の改善は急務となっている。

そこで本研究では、アカデミア、独立行政法人医薬品医療機器総合機構、日本歯科材料工業協同組合の3者が連携し、承認審査で特に課題となっている歯科用インプラントの疲労試験におけるワーストケース設定に関する考え方を、科学的エビデンスに基づき検討、整理し、歯科インプラントが具備すべき要件を再考することを目的とした。

また本研究の成果を基盤とし、本邦での審査基準等、審査の考え方を再構築することで、申請資料作成の効率化および審査の迅速化を図るとともに、新たな国際標準の設定に資するものとして世界に情報発信することにより、国内歯科医療機器産業への波及効果も期待できる。

B. 研究方法

本研究では、現在の歯科インプラント承認審査の課題を抽出、科学的な根拠に基づき、その解決策を検討することを目的とするため、歯科インプラントに関連する学会や大学等からの研究者(アカデミア)、独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)、日本歯科材料工業協同組合の3者が密に連携し、研究を遂行した。具体的には、以下のように行った。

① 歯科インプラントに関連する代表的な学会である、公益社団法人日本補綴歯科学会、公益社団法人日本口腔インプラント学会、一般社団法人日本歯科理工学会等が連携した上で検討することとし、まずは歯科インプラントの承認審査のうち、特に歯科インプラントの疲労試験のワーストケース設定などの考え方について審査側と申請者側で問題と考えている事項を把握する。

② ①で把握した問題点について、科学的エビデンスに基づき、学術的に整理する。検討に当たっては、国際的な動向も踏まえるとともに、機械的強度に関する評価については実際に有限要素解析法(FEM)を用いた方法を検討する。これらの検討を踏まえ、承認審査が円滑に進むための課題解決のための考え方を提言する。本提言は、PMDAにおいて国際標準に整合する審査基準など審査の考え方を再構築するために用いられることが期待できる。

歯科インプラントの承認審査は、材料学的評価、力学的評価、生物学的安全性評価など、多岐に渡るため、効率的かつ迅速にコンセンサスを得るためには、本研究で提案するように、関連する学会の全てが一同に介し、明確な科学的エビデンスに基づき検討することが効率的であり、必要不可欠である。

③ ②で検討された、承認審査が円滑に進むための課題解決のための考え方に関する提言について、関連団体を代表し日本歯科材料工業協同組合に参加頂き、申請者側からの意見を含めて本邦での審査基準等、審査の考え方を再構築する。

上記①、②および③を検討するために、下記メンバーにより、3回の研究会議を開催した。

【班会議構成メンバー】

研究分担者

佐々木啓一 (東北大学大学院歯学研究科 研究科長・教授、日本補綴歯科学会 理事・元理事長)

研究協力者

新家 光雄 (東北大学金属材料研究所・前所長、日本金属学会理事長)
埴 隆夫 (東京医科歯科大学生体材料工学研究所・前所長、前日本歯科理工学会学会長)
渡邊 文彦 (日本歯科大学新潟生命歯学部 教授、日本口腔インプラント学会 理事長)
古谷野 潔 (九州大学歯学研究院 教授、日本口腔インプラント学会 理事・学術委員長、日本補綴歯科学会 理事・前理事長)
矢谷 博文 (大阪大学大学院歯学研究科 教授、日本補綴歯科学会 理事長)
窪木 拓男 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科 歯学部 教授、日本補綴歯科学会 理事・学術委員長)
長嶋 利夫 (上智大学理工学部 教授)
東藤 貢 (九州大学応用力学研究所 准教授)
金高 弘恭 (東北大学大学院歯学研究科 准教授、PMDA医療機器審査第二部)

なお、班会議にはオブザーバーとして、厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器・再生医療等製品担当参事官室、独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)の関係部署(医療機器審査第二部および第三部、規格基準部)、日本歯科材料工業協同組合が参加している。

【第1回研究会議】

日時：平成26年6月24日(水) 18:00～19:30

場所：「フクラシア東京ステーション」6階 会議室C

内容：

本研究の目的および承認審査の現況について厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器・再生医療等製品担当参事官室より説明があった。また、H25年度の研究会報告について佐々木研究班班長より説明があり、課題解決に向けた提言について、PMDAおよび日本歯科材料工業協同組合から意見を伺った。その後、今後の研究の進め方および承認審査に関する情報交換を行った。なお、日本歯科材料工業協同組合でH25年度研究会報告に対する業界意見を取り纏め、次回の委員会でまでに提出することになった。

【第2回研究会議】

日時：平成26年12月22日(月) 17:00～19:00

場所：「フクラシア東京ステーション」6階 会議室C

内容：

日本歯科材料工業協同組合より、「H25年度の研究会報告及びH26年度ロードマップに対する業界側意見」と「インプラントシステムの疲労試験に用いる

試験体選択(ワーストケース)の考え方が提出された。これにより申請者側が考える承認審査における問題点が説明されるとともに、疲労試験のワーストケースの選定に静的荷重試験を含めることが要望された。また、ISOインプラントエキスパートより、ISO14801の改訂動向に関する説明があった。

【第3回研究会議】

日時：平成27年3月5日(水) 18:00～19:30

場所：「トラストシティ カンファレンス・丸の内」Room 1

内容：

申請者側(日本歯科材料工業協同組合)から、第2回研究会議で要望された疲労試験のワーストケースの選定に静的荷重試験を含めることに対する根拠として、「歯科用インプラントにおける最大耐久荷重と静的試験結果との相関について」が示された。また、佐々木研究班班長より、「“ワーストケース”選定のためのフローチャート案(ISO14801準拠)」が示され、それに対するPMDAおよび日本歯科材料工業協同組合から意見の聞き取りを行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトを対照としていないため、該当なし。

C. 研究結果

(1) 平成25年度課題解決に向けた提言について (第1回班会議)

本研究での成果、すなわち抽出された課題ならびに課題に対する科学的な検証結果に基づき、我が国での歯科インプラント審査基準等、審査の考え方を検討した結果得られた平成25年度「課題解決に向けた提言」を下記に示す。

本提言に対しては、後日、日本歯科材料工業協同組合から、各項目ごとの問題点、疑問点等が提示され、第2回班会議において対応が協議された。また「インプラントシステムの疲労試験に用いる試験体選択(ワーストケース)の考え方」として、従来のFEMによる選択に加えて、静的荷重試験による試験体選択方法を追加することが提案された。

【課題解決に向けた提言】(研究班提案)

1) 基本方針

- ・疲労試験は、ISO14801規格に準じるものとする。
- ・ISO14801規格に基づく疲労試験は、歯科インプラント複合体に関する評価であり、歯科インプラントの構成体の疲労強度を評価する。そのため、骨等の生体に対する評価とは切り離して考えなければならない。
- ・ワーストケースの選定については、臨床での使用も考慮することが重要であり、このような考え方が併せて議論されているISOの検討状況も十分勘案する。

2) ワーストケースの選定

① フィクスチャ（インプラント体）の形状

- ・ フィクスチャの直径
 - ・ 包埋平面での断面の径が最小のものを選択
 - ・ フィクスチャの頸部が細いタイプにおいても、径の変化を考慮し、包埋平面断面で最小径となるものを選択
- ・ フィクスチャの長さ
 - ・ ISO14801では、フィクスチャを包埋固定し、荷重を付加するため、基本的にはフィクスチャの長さに関する評価は困難である。長さ8mm未満のフィクスチャはそもそも包埋が困難であるため試験系で用いることは現実的ではなく、8mm未満のフィクスチャの包埋平面での断面の径が最小であっても8mm以上で最も短い検体にて疲労試験すること。よって、8mm以上のインプラント体の長さは評価されていると判断することは可能と考えられる。

② アバットメントの形状

- ・ 各バリエーションにおいて、最も径が細いものを選択する。
- ・ 長さについては、包埋平面と半球荷重部の中心との距離がISO規格の11mmとすることを基本とする。
- ・ 長さが大きく変わらない場合には、径が優先される。

なお、以下に関しては現状での考え方であり、今後、さらなる検討を行う。

- ・ ストレートとアングルは、別途の評価が必要である。
- ・ アバットメントで現在考えられるバリエーションのうち、以下のものについては、流通する形態のものではなく、臨床現場で用いるための加工後に想定される径・角度を用いる。
 - a) 切削加工するアバットメント
 - b) キャスタブルアバットメント
 - c) マルチピースアバットメント

③ 接合部の形状

以下に関しては現状での考え方であり、今後、さらなる検討を行う。

- ・ 各形状ごとに検討が必要である。
- ・ インプラント体とアバットメント、それぞれの材料が同じで、嵌合部が同一形状であれば、破折機序等に鑑みインプラント体またはアバットメントの外形の肉厚がうすいものを選択する。

3) FEM解析データを活用したワーストケースの選定について

ワーストケースの選定に当たっては、2)に基づき判断することが基本であるが、FEMを用いて説明することも可能と考えられるため、FEMをどのように活用できるか考え方を整理した。

① 現時点でのFEM利用に関する基本的な考え方

- ・ FEMの一般的な解析では、静的な荷重条件下での構造体内部の応力分布をみているものであり、繰返し荷重下での疲労試験による破壊強度とは異なるものである。
- ・ 従って、その数値が比較できるものではない。
- ・ 同一の材料であれば応力集中が高いものほど疲労破壊を起こしやすい、という前提に立つ。

② 今後の具体的な活用方法

これまでの検討結果から考えうるFEMの活用方法（案）は以下のとおりであるが、今後さらに検討を進める。

今後は、FEMの結果を受け入れ可能とする条件、すなわちFEMのモデル条件、荷重条件等を明示し、それらをフロー図等で作成、提示することが求められる。そのうえでISOへ提案していく。

FEMはワーストケース選定のための解析手法となり得るが、その場合は、申請品目においてFEMにてワーストケース選定が可能である妥当性を説明できる必要があり、申請者がその点を十分理解した上でFEM解析を実施する必要がある。

【FEMの活用方法（案）】

- 嵌合機構が同じ場合には、同一原材料のサイズの違いを比較検討することが可能であること。
- 比較する部位以外の試験条件は揃えること。
- 通常はストレートとアングル、その他類似形状、サイズ違いの比較も含めてワーストケースの選定に使用することができること。
- 応力集中度合いの高いものをワーストケースと判断すること。
- 応力集中部位と実機試験の破折部位が一致する必要があること。

③ FEMにおけるバリデーションの考え方の整理

FEMでの検討結果と実機での疲労試験との相関性について、実験を行いながら、どこまで示すことが可能か今後検討する。

4) その他

審査における課題を解決するためには、1) から3) のほか、以下の点についても今後整理すべきと考えられた。

- ・ 既承認品を利用した疲労試験の必要性
 - ・ 比較検討のための既承認品との試験条件の同一性の必要条件を明らかにする。
 - ・ 規格値の設定
- ・ 医療現場の状況（使用方法の制限、市販後調査等）からリスクを管理することで評価を簡素化できるかどうか：市販後の管理

【インプラントシステムの疲労試験に用いる試験体選択（ワーストケース）の考え方】（材料組合提案）

これまで、フィクスチャ（インプラント体）のワーストケースにアバットメントのワーストケースを

組み合わせたものが、インプラントシステムのワーストケースであると解釈されてきたが、その試験体の組合せが、必ずしもそのインプラントシステムの臨床的なワーストケースであったとは言えない。

生体組織に埋植されるが故に、その除去にあたっては生体への大きな侵襲行為となる撤去処置に至るフィクスチャの破折が、インプラントシステムの臨床使用におけるワーストケースである。そのため、これまで大部分のインプラントシステムでは、フェイルセーフの考え方を基に、万一の場合には交換可能な部品において不具合を発生させることを基本思想として設計・開発がなされている。即ち、インプラントシステム開発段階では、システム設計上における交換可能な部品として、①補綴物をシステムに締結するためのスクリュー、②アバットメントをフィクスチャに締結するスクリュー、に不具合を発生させ、フィクスチャを保護するという思想のもとで設計・開発されている。

これらの設計思想に鑑みて実際に、臨床経過の各種レビュー論文を調査したところ、その内容によれば、予後観察中に発生したインプラントシステムに関わる不具合のうち、スクリュー類の緩み、破折が大部分であり、フィクスチャの破折事例は、スクリューの事例と比較してはるかに発生頻度が低く（アバットメント破折の発生頻度はさらに低い）、各インプラントシステムの設計思想が正しく反映され機能していることが示されている。

一方、ISO14801の疲労試験は、その結果から臨床でのインプラントの性能を予測するものではないことが明記されている。現在の承認審査におけるISO14801の疲労試験は、申請品目の中で最も疲労強度の低い値を示すものと既承認品目の疲労強度の比較となっている。従って、承認申請におけるワーストケースでの疲労試験の試験体には、申請品目の中で最も低い疲労強度を示すものを選択することと解釈される。

この考え方の上に立って、インプラントシステムにおける承認申請のためのワーストケースについて、現在のFEMを利用する方法に加えて、次の方法を提案する。

フィクスチャの選択は、研究班の報告にあるように包埋平面での断面の径が最小のものを基準として選択する。問題はアバットメントを選択する方式にある。種々のアバットメントの中から、フィクスチャと組み合わせた場合のワーストケースとして、組み合わせでの静的強度が最も低くなるアバットメントを選択するには、インプラントシステムを組み立てた状態でISO 14801の試験配置で静的試験を行い、その中から最も低い値を示すアバットメントを選択する。この際、インターナルとエクスターナルの嵌合部の違い、ストレートとアングルの試験配置の違いは、それぞれの組合せで静的強度が最も低いものを選択する。このようにして選ばれた静的強度が最も低い組合せをインプラントシステムのワーストケースとして選択し、ISO14801の疲労試験を行う。

ここで静的試験を選んだ理由としては、実際に製品開発の途上で多くの会社が用いている試験が静的試験であること、FEMは静的荷重条件下での応力一ひずみ解析（集中部位の検出）であること、また、ISO 14801の疲労試験においても、その開始荷重の決定には静的試験を利用していることから、最も低い値を示す組合せの選択に、ISO 14801の試験配置での静的試験を利用することは妥当であると判断してい

る。現在、ワーストケースの選択については、国際的に標準化されておらず、各国独自の判断で運用されている状況である。また標準化には多大な時間が掛かるものと予想されることから、国際標準化されるまでの間は、現在の承認審査における申請者側のワーストケースの選択における負担を軽減する意味からも、従来のFEMによる選択に加えて、上記の静的試験による選択も可とする取扱いを提案する。

(3) 現在の歯科インプラント承認審査の問題点の整理 (第2回班会議)

歯科インプラントの疲労試験におけるワーストケースの設定などに関する考え方を検討するため、承認審査における問題点について審査側および申請者側から意見を聞き検討すべき論点を明確にしたところ、ワーストケース選定の際に考慮する項目について、とりまとめ検討を行った。

なお、インプラントシステムの疲労試験に用いる試験体選択（ワーストケース）の考え方として、従来のFEMによる選択に加えて、静的荷重試験による試験体選択方法を追加するよう日本歯科材料工業協同組合側から要望する提案がなされたが、提案を裏付けるデータが示されていなかったため、次回会議までに、材料組合に根拠とするデータ提供を依頼した。

(3) 疲労試験に用いる試験体選択（ワーストケース）の考え方 (第3回班会議)

インプラントシステムの疲労試験に用いる試験体選択（ワーストケース）において、日本歯科材料工業協同組合より、従来のFEMによる選択に加えて、静的荷重試験による試験体選択方法が要望され、提案を裏付けるデータが示された。

ただし、サンプル数の不足や科学的根拠の不足などの問題が散見されたため、材料組合からの提案については継続して検討することとなった。

【歯科用インプラントにおける最大耐久荷重と静的試験結果との相関】 (材料組合提案) (図については別添資料とする)

金属材料における疲労限は、極端な高強度材料でない限り、静的な機械試験における機械的性質（耐力、引張強さ、硬さ）と強い正の相関をもつことが知られている*。この関係が歯科用インプラント実機試験においても成り立つかどうか、成り立つとすればその適用の可能性を探るために、これまでに実施された試験結果を利用して若干の検討を行った。図1は、ISO 14801:2007 (JIS T 6005:2013) に準拠して2機関で行われた歯科用インプラントの疲労試験において、疲労限に対応する“最大耐久荷重”と、疲労試験と同配置で行った静的試験での“塑性変形開始荷重” (=failure時の荷重、機械試験の耐力に対応) との相関を示したものである。純チタン、チタン合金であるかに関わらず、また装着されたアバットメントの角度の有無に関わらず、両荷重の間には強い相関が認められる ($r=0.82$)。

疲労限は、静的な機械試験における機械的性質のうち、引張強さと最も良い相関をもつことが知られていることから、図2は、図1と同じデータに基づい

て、図1の“塑性変形開始荷重”の代わりに、静的な機械試験における“引張強さ”に対応する“最大曲げ荷重”を用いて“最大耐久荷重”との相関を見たものであるが、強い相関は認められなかった ($r=0.45$)。

図2で用いたデータ対のうち、図1と図2の比較から図1で見られた強い相関を阻害しているデータ対として、試験体番号#5、#6、#7が挙げられる(表1)。これら3組のデータ対を除いた場合の歯科用インプラントの“最大耐久荷重”と静的試験における“最大曲げ荷重”との相関を示したものが図3である。図1の“塑性変形開始荷重”との間ほどではないが、図2と比較して両者の相関は大幅に向上する ($r=0.75$)。

ここで除外した3個のデータ対はいずれもスクリー締結式のアバットメント(いわゆるマルチアバットメント)であることが注目される。これらの疲労試験ではISO 14801:2007の規定に従いアバットメント上にシリンダー類を締結して試験が行われるが、試験中に“最大曲げ荷重”が現れる段階では、荷重付加の中心軸に対し荷重接触部は大きな角度がついており、多段構成となるスクリー締結式のアバットメントでは、シリンダー類の構成に依存して強い相関からのずれが発生するものと推測される。このことは、荷重付加の中心軸に対する荷重接触部の角度が“最大曲げ荷重”の出現時の角度よりもはるかに小さい“塑性変形開始荷重”との相関が“最大曲げ荷重”との相関よりも強かったことによっても支持される。“最大耐久荷重”と“最大曲げ荷重”との相関には、試験体となる歯科用インプラントの構成の違いが影響するが、これに対し“最大耐久荷重”と“塑性変形開始荷重”との相関には、インプラントの構成の違いがほとんど影響しないものと推測される。

チタン系材料を用いた歯科用インプラントの“最大耐久荷重”は、チタンの材質、アバットメントの角度、歯科用インプラントシステムの構成に依らず、静的試験における“塑性変形開始荷重”と強い相関をもつこと、及び歯科用インプラントシステムにおけるワーストケースの選定に当たり、静的試験における“塑性変形開始荷重”を評価することは妥当な選定方法の一つであるということがこの結果から強く示唆された。

(4) “ワーストケース”選定のためのフローチャート案(第3回班会議)

現在、改正案が提案されているISO/DIS 14801 Annex Aを参考にした「“ワーストケース”選定のためのフローチャート案(ISO 14801 準拠)」(別添資料)が示された。これに対し、日本歯科材料工業協同組合から、日本はISO/DIS 14801に反対投票していることが説明されるとともに、業界側が考えるフローチャート案が別途提案されることとなった。

D. 考察

我が国は、世界最高水準のモノ作り技術を有しているものの、医療機器に関しては、その多くを輸入に頼っているのが現状である。歯科分野で用いられる各種医療機器の状況も同様であり、特に歯科インプラントについては8割以上を輸入に頼っている。現在政府では、医療分野を成長戦略として位置づけており、国内の医療機器産業を活性化し、革新的な製品を世界に先駆けて実用化できるような環境整備の取組を進めている。このためには薬事規制に関する取組も必要であり、承認審査に関しても迅速化に向け産業界のみならず、学・官も含めたオールジャパン体制での対策が急務となっている。

しかしながら、歯科分野、特に歯科用インプラントでは承認審査に時間がかかる品目も多く、上市が遅れることにより、結果的に本邦での国際標準の歯科インプラント治療の展開の遅れ、また国産インプラントの国内・国際競争力の低下等を招く結果となっている。したがって、本研究により、特に審査において問題となっている歯科インプラントに関して、アカデミア、独立行政法人医薬品医療機器総合機構、日本歯科材料工業協同組合の3者が密に連携し、課題を整理し、今後の承認審査が合理的に対応できるような提言を検討している。

現在の状況を作り出している一因は、承認審査基準や関連のQ&Aがまとめられているものの、当該基準の解釈について、審査側と申請者側の考え方が一致していないことにあると考えられ、その結果として承認審査のやりとりに時間が生じることであった。

承認審査では、有効性・安全性が確認できるデータをもとに評価していくのは当然であり、申請者側でもそのためのデータ収集は必須である。他方、歯科インプラントで今回論点となった疲労試験は、実際に臨床現場で使用される実態を考えると、製品自体の強度のほか、使用実態等による影響もあることから、一定の合理性をもって製品の強度が確認できれば現時点では大きな問題は生じないと考えられる。

したがって、今回のワーストケース選定のためのフローチャートのような考え方を導入することで、疲労試験のワーストケースの選定については合理的かつ効率的な判断ができ、歯科インプラント審査の問題点の一部は改善できるものと考えられる。これにより、我が国での審査基準など審査の考え方を再構築し、申請資料作成の効率化及び審査の迅速化を可能にすることが期待される。

また、申請者側としては、機械的強度に関しては科学的根拠に基づきしっかり説明できるような申請資料を作成する必要があり、特に輸入品を取り扱う場合は海外で試験等が行われているので、海外企業との連携が必須である。今回の提言により申請者の負担も軽減できることが期待される。

さらに間接的な波及効果としては、我が国の最新技術を利用した日本発の世界標準インプラント開発にとって追い風になり、歯科医療機器産業のさらなる向上、発展に寄与するものと考えられる。

本年度には、疲労試験のワーストケース選定の基本的考え方について、前年度の研究成果としての、インプラント形状における長さ、径、アングルの有無、嵌合機構の形状に関して審査基準に関する考え方を取り入れ、ワーストケース選定のためのフローチャート案を取り纏め提案することができた。

E. 結論

関連学会や大学等のアカデミア、独立行政法人医薬品医療機器総合機構、日本歯科材料工業協同組合の3者が密に連携して、現在の歯科インプラント承認審査の様々な課題を抽出、その解決策を検討し、国際標準に整合する有効性・安全性評価を提案することにより、新たな歯科インプラント材料の審査基準を構築するためにコンセンサスを得て、「“ワーストケース”選定のためのフローチャート案」として取り纏める提案することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

① Ogawa T, Vandamme K, Zhang X, Naert I, Possemiers T, Chaudhari A, Sasaki K, Duyck J. Stimulation of titanium implant osseointegration through high-frequency vibration loading is enhanced when applied at high acceleration. *Calcif Tissue Int.* 95(5):467-75, 2014.

② Chatterjee M, Hatori K, Duyck J, Sasaki K, Naert I, Vandamme K. High-frequency loading positively impacts titanium implant osseointegration in impaired bone. *Osteoporosis International* 26(1):281-90, 2014.

③ Shigemitsu R, Yoda N, Ogawa T, Kawata T, Gunji Y, Yamakawa Y, Ikeda K, Sasaki K. Biological-data-based finite-element stress analysis of mandibular bone with implant-supported overdenture. *Comput Biol Med* 54:44-52, 2014.

2. 学会発表

① 大竹義雄、高橋 哲、山内健介、小山重人、佐々木啓一
当院歯科インプラントセンターにおける 1 年間の臨床統計

第34回日本口腔インプラント学会 東北・北海道支部学会, 2014/11/15-16, 山形

② Ogawa T, Shibamoto A, Zhang X, Naert I, Sasaki K, Duyck J.

Effect of low-magnitude and high-frequency loading on peri-implant bone healing and osseointegration in rats.

China-Japan-Korea Dental Science Symposium 2014, 2014/11/8-9, China

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

歯科用インプラントにおける最大耐久荷重と静的試験結果との相関

金属材料における疲労限は、極端な高強度材料でない限り、静的な機械試験における機械的性質（耐力、引張強さ、硬さ）と強い正の相関をもつことが知られている*。この関係が歯科用インプラント実機試験においても成り立つかどうか、成り立つとすればその適用の可能性を探るために、これまでに実施された試験結果を利用して若干の検討を行った。

図1は、ISO 14801:2007 (JIS T 6005:2013) に準拠して2機関で行われた歯科用インプラントの疲労試験において、疲労限に対応する“最大耐久荷重”と、疲労試験と同配置で行った静的試験での“塑性変形開始荷重”(=failure 時の荷重, 機械試験の耐力に対応)との相関を示したものである。純チタン、チタン合金であるかに関わらず、また装着されたアバットメントの角度の有無に関わらず、両荷重の間には強い相関が認められる ($r=0.82$)。

疲労限は、静的な機械試験における機械的性質のうち、引張強さと最も良い相関をもつことが知られていることから、図2は、図1と同じデータに基づいて、図1の“塑性変形開始荷重”の代わりに、静的な機械試験における“引張強さ”に対応する“最大曲げ荷重”を用いて“最大耐久荷重”との相関を見たものであるが、強い相関は認められなかった ($r=0.45$)。

図2で用いたデータ対のうち、図1と図2の比較から図1で見られた強い相関を阻害しているデータ対として、試験体番号#5、#6、#7が挙げられる(表1)。これら3組のデータ対を除いた場合の歯科用インプラントの“最大耐久荷重”と静的試験における“最大曲げ荷重”との相関を示したものが図3である。図1の“塑性変形開始荷重”との間ほどではないが、図2と比較して両者の相関は大幅に向上する ($r=0.75$)。

ここで除外した3個のデータ対はいずれもスクリュー締結式のアバットメント(いわゆるマルチアバットメント)であることが注目される。これらの疲労試験ではISO 14801:2007の規定に従いアバットメント上にシリンダー類を締結して試験が行われるが、試験中に“最大曲げ荷重”が現れる段階では、荷重付加の中心軸に対し荷重接触部は大きな角度がついており、多段構成となるスクリュー締結式のアバットメントでは、シリンダー類の構成に依存して強い相関からのずれが発生するものと推測される。このことは、荷重付加の中心軸に対する荷重接触部の角度が“最大曲げ荷重”の出現時の角度よりもはるかに小さい“塑性変形開始荷重”との相関が“最大曲げ荷重”との相関よりも強かったことによっても支持される。“最大耐久荷重”と“最大曲げ荷重”との相関には、試験体となる歯科用インプラントの構成の違いが影響するが、これに対し“最大耐久荷重”と“塑性変形開始荷重”との相関には、インプラントの構成の違いがほとんど影響しないものと推測される。

チタン系材料を用いた歯科用インプラントの“最大耐久荷重”は、チタンの材質、アバットメントの角度、歯科用インプラントシステムの構成に依らず、静的試験における“塑性変形開始荷重”と強い相関をもつこと、及び歯科用インプラントシステムにおけるワーストケースの選定に当たり、静的試験における“塑性変形開始荷重”を評価することは妥当な選定方法の一つであるということがこの結果から強く示唆された。

参考文献

*例えば、

1. 中村 宏, 堀川 武 : 金属疲労の基礎と疲労強度設計への応用, コロナ社, 東京, (2008), 42.
2. METALS HANDBOOK COMMITTEE ed. : METALS HANDBOOK 8th ed. VOL. 1, ASM, Metal Park, Ohio, (1961), 217.

表1 ISO 14801: 2007 に準拠した疲労試験における塑性変形開始荷重,
最大曲げ荷重及び最大耐久荷重 (単位:N)

試験体 番号	塑性変形 開始荷重 (標準偏差)	最大曲げ 荷重 (標準偏差)	最大耐久 荷重	仕様	
				フィクスチャー	アバットメント
#1	257 (21)	451 (5)	190	インターナル, Ti6AL4V 合金	セメント合着式, 角度 0° , Ti6AL4V 合金
#2	237 (6)	433 (15)	200	インターナル, Ti6AL4V 合金	セメント合着式, 角度 0° , Ti6AL4V 合金
#3	283 (42)	480 (31)	230	インターナル, Ti6AL4V 合金	セメント合着式, 角度 15° , Ti6AL4V 合金
#4	172 (20)	331 (19)	160	インターナル, cp-Ti	セメント合着式, 角度 15° , cp-Ti
#5	350 (35)	412 (20)	210	インターナル, Ti6AL4V 合金	スクリュー締結式, 角度 0° , Ti6AL4V 合金
#6	240 (35)	655 (61)	210	インターナル, cp-Ti	スクリュー締結式, 角度 0° , Ti6AL4V 合金
#7	365 (55)	437 (9)	290	インターナル, Ti6AL4V 合金	スクリュー締結式, 角度 30° , Ti6AL4V 合金
#8	207 (45)	415 (21)	130	インターナル, Ti6AL4V 合金	インプラントオーバーデンチャー用, Ti6AL4V 合金
#9	217 (23)	298 (13)	110	インターナル, Ti6AL4V 合金	インプラントオーバーデンチャー用, Ti6AL4V 合金
#10	187 (40)	—	110	インターナル, cp-Ti	インプラントオーバーデンチャー用, Ti6AL4V 合金
#11	236 (—)	514 (—)	180	インターナル, Ti6AL4V 合金	インプラントオーバーデンチャー用, Ti6AL4V 合金