

論文要旨

Bioactive Apatite Coating on Titanium Using an Alternate Soaking Process

交互浸漬法を用いたチタンへの
生体活性アパタイトコーティング

河野博史

【序論および目的】

チタンは耐食性、機械的強度および生体親和性に優れた金属であり、歯科領域における臨床応用は年々増加してきている。一方、チタンの表面性状が生体親和性に大きく影響することが知られており、また、生体組織と直接結合しないことから表面改質の研究が進められている。表面改質の技法には様々なものがあるが、物理的および化学的アパタイトコーティングによる生体活性表面処理に関する報告が多くなされている。

化学的方法の一種である交互浸漬法は、Ca イオンおよび PO_4 イオンを含む 2 つの水溶液に基板を交互に浸漬し、アパタイトを形成する手法であり、有機ゲルなどではアパタイトコーティングの成功例が報告されている。しかし、チタンへの交互浸漬によるアパタイト形成の報告はない。そこで、本研究では酸処理とアルカリ処理の複合処理によりチタン表面に生じた多孔質の親水性皮膜を活用し、アパタイトコーティングに効率的な交互浸漬条件を検討した。

【材料および方法】

1. 交互浸漬に適したチタンの前処理条件の検討

チタン板に酸処理、アルカリ処理、酸・アルカリ複合処理をそれぞれ施し、無処理のものと併せて 4 種類の基板を作製した。

2. 交互浸漬によるチタン板へのアパタイトコーティング

Ca イオンおよび PO_4 リン酸イオンを含む 2 つの水溶液に前述の前処理を施したチタン基板を交互に浸漬した。交互浸漬の条件として、溶液の温度、浸漬時間、浸漬回数を変えてアパタイト形成量および結晶性などを比較検討した。

3. チタンメッシュへのアパタイトコーティング

より複雑な形状の基材に対するアパタイトコーティングを想定し、チタンメッシュへのコーティングを行い、析出物の状態分析を行った。

4. 状態分析

交互浸漬前後の試料を X 線回折装置、フーリエ変換型赤外分光光度計、走査型電子顕微鏡、エネルギー分散型 X 線分析装置、透過型電子顕微鏡を用いて状態分析を行った。

【結果】

1. 交互浸漬に適したチタン板の前処理

チタン板に高濃度酸処理（60℃の48% H_2SO_4 に1時間浸漬）を施すと表面に孔径1 μm 程度の均一な凹凸が形成され、表層に水素化チタンが形成された。一方、アルカリ処理（60℃の5 M NaOHに24時間浸漬）ではチタン板表面に網目構造のチタン酸ナトリウムが形成された。酸・アルカリ複合処理では、酸処理によって生じた凹凸上にチタン酸ナトリウムが網目状に形成された。アルカリ処理のみを施した試料と酸・アルカリ複合処理を施した試料は交互浸漬により表面にアパタイトが析出したが、無処理および酸処理のみの試料では交互浸漬を行ってもアパタイトは形成されなかった。また、酸・アルカリ複合処理を施した試料の方がアルカリ処理のみの試料よりも交互浸漬後のアパタイトの析出量が多かった。

2. アパタイト形成に影響する交互浸漬条件

溶液温度4℃、37℃、60℃で交互浸漬した試料のX線回折図形において、60℃で析出したアパタイトのピークが最も大きかった。浸漬時間の変化に伴うCa/P比の有意差は認められなかった。浸漬回数10回、30回、50回では回数が増加するにつれアパタイトのピークが大きくなった。エネルギー分散型X線分析では交互浸漬後にCaおよびPの検出カウント量、すなわち析出量が増大し、Ca/P比は浸漬回数の増加に伴って1.45から1.6と大きくなった。溶液温度と浸漬時間の影響は観察されなかった。フーリエ変換型赤外分光分析では、浸漬回数の増加に伴いリン酸基の吸収ピークの増大が確認された。また、50回においては炭酸基の吸収ピークも観察された。水酸基のピークは全ての回数において観察された。

3. チタンメッシュへのアパタイト形成と微細構造

チタンメッシュでもチタン板を表面処理した場合と同様の表面性状を得ることができた。透過電子顕微鏡像では、アルカリ処理によって形成されたチタン酸ナトリウムの薄膜が交互浸漬により消費され減少していることが観察された。また、電子線回折像では無処理および酸処理のみのチタン板で観察された明瞭なスポットはアルカリ処理および酸・アルカリ複合処理の試料では認められず、非晶質の生成を示す回折リングが認められた。この析出物はチタン酸ナトリウムと推定された。20℃と60℃の交互浸漬後の回折リングは結晶性の低いアパタイトと同定された。

【結論及び考察】

アルカリ処理のみの試料よりも酸・アルカリ複合処理を施した試料の方が交互浸漬後のアパタイトの形成量が多かったことから、高濃度酸による酸処理はアルカリ処理単独よりもアパタイトの形成能を高め、酸・アルカリ複合処理が交互浸漬を用いたチタンへのアパタイトコーティングに有効であると判断された。析出量およびCa/P比は浸漬回数の増加に伴って大きくなり、浸漬温度および浸漬時間の影響は認められなかった。これはゲル等に対する交互浸漬でのアパタイトコーティングの報告と一致していた。このことから、交互浸漬によるアパタイトコーティングは基板表面の親水性に大きく依存していると考えられた。すなわち、交互浸漬によるアパタイト形成の第一段階は、Caイオンまたは PO_4 イオンを表面に吸着させることであり、そのイオン吸着量は水酸基の量に依存すると考えられた。吸着されたイオンは基板の表面だけであり内部層までは及ばないことから、アパタイト析出量は浸漬時間に影響を受けなかったものと思われる。以上のことから、交互浸漬によるチタンへのアパタイト形成は、基本的に前処理された基板表面へのイオン交換及び吸着によるものであると結論づけられた。したがって、チタンを酸処理後にアルカリ処理し、さらに交互浸漬を行うことにより、効率的に生体活性アパタイトコーティングが可能であり、本法は、メッシュのような複雑な形態のものに対しても有効であることが確認された。

論文審査の要旨

報告番号	総研第 8 号	学位申請者	河野 博史
審査委員	主査	田中 卓男	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	長岡 英一	副査 和泉 雄一
	副査	藤井 孝一	副査 大西 智穂

Bioactive Apatite Coating on Titanium Using an Alternate Soaking Process

(交互浸漬法を用いたチタンへの生体活性アパタイトコーティング)

(Dental Materials Journal 2007 掲載予定)

生体硬組織代替材料としてチタンの臨床応用は年々増加傾向にある。これは耐食性、機械的強度および生体親和性に優れていることなどが理由としてあげられる。一方、表面処理を施していないチタンは骨と直接結合しないことが報告されており、その表面の生体活性を高めるために各種の表面改質法が開発されている。表面改質法は多種多様であるが、物理的および化学的アパタイトコーティングによる生体活性表面処理が有効であるという報告が多くなされている。その中で化学的方法の一種である交互浸漬法は、有機ゲルへのアパタイトコーティングの実施例が報告されているのに対し、チタンへのアパタイトコーティングの報告はない。そこで学位申請者らは、酸処理とアルカリ処理の複合処理によりチタン表面に生じた多孔質の親水性皮膜を活用し、アパタイトコーティングに効率的な交互浸漬条件を検討した。

その結果、本研究では以下の知見を得た。

- 1) アルカリ処理のみおよび酸・アルカリ複合処理を施した試料は交互浸漬により表面にアパタイトが形成された。しかし、無処理および酸処理のみの試料ではアパタイトは形成されなかった。また、酸・アルカリ複合処理した試料の方がアルカリ処理のみの試料よりも交互浸漬後のアパタイトの析出量が有意に多かった。
- 2) アパタイトの析出量は浸漬回数の増加に伴い増加した。また、Ca/P 比は浸漬回数の増加に伴って 1.45 から 1.6 と大きくなった。しかし、析出量および Ca/P 比に対する溶液温度と浸漬時間の影響は認められなかった。
- 3) 酸処理によって生じたチタンの凹凸表面に、アルカリ処理により微細なチタン酸ナトリウム膜が生成し、この複合処理により生じた被膜の存在が交互浸漬によるアパタイトコーティングを効率的にしたことが確認された。
- 4) チタンメッシュに対してチタン板と同様の表面性状のアパタイトコーティング膜を得ることができ、本法は複雑な形態のものに対しても有効であることが確認された。

交互浸漬法によるアパタイトコーティングは、歯科医療で用いられる複雑な形態の修復物にも対応することができ、また浸漬条件を制御することでアパタイトコーティング量およびその材料の微細構造を制御することが可能であり、臨床応用が有望であると考えられる。

本研究はチタンの前処理により、その表面への交互浸漬法によるアパタイトコーティングを可能とした点が独創的であり、きわめて有意義である。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 8 号	学位申請者	河野 博史
審査委員	主査	田中 卓男	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	長岡 英一	副査 和泉 雄一
	副査	藤井 孝一	副査 大西 智和

主査および副査の5名は、平成18年12月19日、学位申請者 河野 博史 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) アパタイトと骨との結合はどうか？

(回答) アパタイトは骨と直接結合することが多くの研究者により確認されている。また兎大腿骨に埋入したインプラントの引き抜き試験において、アパタイトコーティング後のチタン金属は未処理のものに比べ引き抜きに要した荷重およびその経時的増加において高い値が報告されている。したがって、アパタイトと骨はチタンと骨よりも強固に結合するものと考えている。

質問2) 生成されたアパタイトとチタンの結合はどうか？

(回答) 金属チタン表面に直接アパタイトが生成されているわけではなく、多層構造の最表層にアパタイトが形成されており、各々の層間には化学結合が生じていると判断している。結合強度として定量はしていないが、インプラントした場合このアパタイト層は吸収され骨アパタイトに置換されることを想定しているため、結合強度は臨床操作時に剥離が生じなければ問題ないと考えている。

質問3) アパタイトはTCPなどの他のリン酸カルシウム塩よりも生体活性被膜として適しているのか？

(回答) ハイドロキシアパタイトは中性領域での溶解度が最も小さく、生体内で最も安定なリン酸カルシウム塩であり、正常な硬組織はそれに類似した生体アパタイトである。他のリン酸カルシウム塩を骨充填材として用いる場合もあるが、金属表面の生体活性被膜としてはより安定なアパタイトの方が適切であると考えている。

質問4) アパタイトのコーティングの目的は？

(回答) チタンと骨は電子顕微鏡観察下のレベルでは直接結合していない。アパタイトの被膜を付与することにより、インプラント表面での骨細胞との親和性が良くなり、埋入後早期に骨組織との化学的な結合を得ることができると考えられている。

質問5) 機能的に活性化するとはどういう意味か？

(回答) インプラント表面が骨細胞サイズに適した凹凸を有し、さらにアパタイトコーティングにより化学的

に細胞との親和性を高めることにより、骨細胞の骨形成機能を効率的に発揮する環境を付与することを機能的な活性化と考えている。

質問6) 析出したアパタイトの Ca/P 比が 1.45 から 1.6 であるが、どの Ca/P 比が一番良いのか？

(回答) 化学量論的にはヒドロキシアパタイトの Ca/P 比は 1.67 であるが、生体アパタイトの Ca/P 比の範囲は 1.5 前後とされている。本実験で得られたアパタイトの Ca/P 比は生体アパタイトに近く、この範囲であれば生体への適合性は良いものと考えているが、今後生物学的評価に基づき最適組成を判断していく予定である。

質問7) リン酸三カルシウム (TCP) かアパタイトかどのように判断するのか？

(回答) X 線回折を行って判断した。また、赤外分光分析 (FT-IR) の吸収ピークおよびエネルギー分散型 X 線分析 (EDX) の元素分析結果も併せて最終的に判断している。

質問8) 交互浸漬に使用している溶液の濃度が高いのではないかと？リン酸水素カルシウム二水塩 (DCPD) ができたりしないのか？

(回答) チタン基板の表面近傍のみで反応するため、交互浸漬によりリン酸カルシウム塩の過飽和状態が得られる濃度であれば溶液濃度の影響はないと考えた。DCPD に関しては酸性領域で生成されるものであり、本実験ではアルカリイオン存在下、すなわち表面はアルカリ性領域であると推定され、化学的に DCPD は生成されないものと考えられる。また、各分析結果からも DCPD は生成されなかったものと判断している。

質問9) チタン基板に均質化熱処理はしているのか？

(回答) 市販の圧延された純チタン板を切断して用いたが、チタン表面の不動態被膜の還元がこの酸処理の律速段階であるため、圧延時の残留ひずみの影響は少ないと判断し、熱処理は行わなかった。

質問10) 酸処理によりチタン表面に TiH_2 が残されるが、その影響はないのか？

(回答) TiH_2 は表層のごく浅い部位 ($1 \mu m$ 以下) に生成されるに過ぎず、チタン内部には生成されていない。したがって水素脆性による強度低下の影響はないと考えられる。また、アパタイトの生成に与える影響もないことを我々の既報で報告している。さらに、生体組織への影響もないものと考えているが、この点については骨芽細胞様細胞による評価を実施中である。

質問11) 炭酸含有アパタイトは吸収性といわれるがどうか？

(回答) 骨は炭酸含有アパタイトであり、炭酸を含有することにより溶解性が増し、生体内での吸収性は高まるものと考えられている。

質問12) アパタイトのキャリアーとしてコラーゲンの利用は考えなかったのか？

(回答) コラーゲンとアパタイト複合体についての報告もあるが、コラーゲンは熱に弱く、交互浸漬法におけるアパタイトの形成は溶液温度が高いほど効率的であるため、キャリアーとしてコラーゲンは不適合であると考えられる。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(歯学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。