様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成２４年　６月２１日現在

機関番号：10106
研究種目：若手研究(B)
研究期間：　2008　～　2010
課題番号：20791460
研究課題名（和文）水酸化カルシウムスラリーを用いたチタンインプラントへの骨誘導性能付与

研究課題名（英文）Bioactivation of titanium using calcium-hydroxide slurry

研究代表者
大津　直史（　Ohtsu Naofumi**）**
北見工業大学・工学部・講師
研究者番号　：10400409

研究成果の概要（和文）：チタンインプラント周囲の骨形成を促進できる表面処理方法として、プラズマ溶射法によるハイドロキシアパタイト皮膜形成が実用化されているが、臨床においては、皮膜の剥離や溶解などの問題点も指摘されている。我々は、水酸化カルシウム（$Ca(OH)_2$）粉末と水を混練することにより調整したスラリー状処理剤中にチタン基材を埋没させ、そのまま加熱処理するという簡便な処理プロセスを用いることにより、その表面に骨形成の促進を期待できるチタン酸カルシウム皮膜を形成出来ることを明らかにした。本研究では、このプロセスにおける処理条件の最適化をおこない、さらに、小動物内における骨形成を評価した。

最初にスラリー処理における熱処理温度が、形成皮膜に与える影響を調査した。600℃以上でチタン基材を処理した場合、その表面に、結晶化したチタン酸カルシウム皮膜を形成され、擬似体液液中において、リン酸カルシウムを迅速に析出できることがわかった。一方、処理温度を上げると二酸化チタンの厚膜が同時に形成し、皮膜の密着強度が低下する。次に、$Ca(OH)_2$スラリーにナトリウムイオンを混合させ、皮膜の生体適合性の向上を試みた。1ＭのNaOHまたはNaCl水溶液を用いてスラリーを調整すると、その表面に、チタン酸カルシウムとチタン酸ナトリウムの混合皮膜が形成され、リン酸カルシウム析出性能は向上するが、半面、形成する皮膜は厚く、機械的強度に劣ること示唆された。最後に、$Ca(OH)_2$粉末と水を混練したスラリーを用いて、熱処理温度600℃で処理したチタンを、ラットに埋入して、その周囲組織を観察した。7日後、周囲組織では、活性な新生骨形成が観察され、新生骨の一部は試料と直接接していることがわかった。

研究成果の概要（英文）: The activation of osteogenesis on titanium has been a major interest for biomaterial researchers, and, thus, various surface modification techniques have been studied. Among these techniques, a hydroxyapatite (HAP) coating applied by the plasma-splaying process is the most successful technique due to its good biomaterial-bone fixation ability and HAP-coated titanium is currently used in clinical settings. However, dentists and orthopedists have pointed out that fracture at the HAP-titanium interface and dissolution of the coating itself sometimes occur after such implants have been in the human body for a long time. We recently developed a chemical coating technique using calcium-hydroxide slurry. The process is as follows: a titanium substrate is buried in calcium-hydroxide slurry prepared by a mixture of calcium-hydroxide powder with water, and, subsequently, the slurry containing the titanium substrate is heated in air. We revealed that, by treating a titanium plate with this process, a calcium titanate coating was formed on its surface. In the present study, the relationships between the treatment conditions and the characteristics of the surface layer were investigated. Furthermore, the surface-modified titanium rod was surgically inserted in hard tissue of rat, and osteogenesis around the rod was investigated.

We initially investigated the effect of heating temperatures in the slurry processing upon characteristics of the coatings. When using the heating temperature beyond 600°C, a crystallized calcium titanate coating was formed on its surface, and the coated titanium can precipitate calcium phosphate in a simulated body fluid rapidly. When raising the temperature, thick titanium dioxide layer was

simultaneously formed on the substrate, resulting in the decrease of the adhesion strength of the coating. We secondly attempted to improve biocompatibility of the coating by adding sodium ions in the slurry. When preparing the slurry by mixing $Ca(OH)_2$ with 1-M NaOH or NaCl solutions, a composite coating comprising calcium and sodium titanates were formed on the substrate. The composite coating could precipitate calcium phosphate more rapidly, although mechanical strength of the coating would decrease owing to the formation of the thick coating. Last, we surgically implanted the Ti rod treated with the $Ca(OH)_2$ slurry and with the heating temperature of 600°C, into a rat. At 7 days, new bone was formed vigorously and was in contact with the surface directly.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００８年度	700,000 円	210,000 円	910,000 円
２００９年度	1,400,000 円	420,000 円	1,820,000 円
２０１０年度	1,000,000 円	300,000 円	1,300,000 円
年度			
年度			
総　計	3,100,000 円	930,000 円	4,030,000 円

研究分野：歯科医用工学・再生歯学
科研費の分科・細目：歯科
キーワード：オッセオインテグレーション、化学処理、歯科インプラント

１．研究開始当初の背景

(1) 歯科インプラント治療とは、虫歯や歯周病などによって歯を失った部位の顎の骨に、チタン製の人工歯根（インプラント）を埋め込み、その上から人工歯を装着する治療である。高齢者人口の増加に伴い、その患者数は急増している。この治療において、咀嚼による加重は、全てインプラントで支えるが、チタンは骨との結合性能が不十分であるという欠点を有する。そのため、高齢者や糖尿病患者など骨再生機能が低下している患者にはインプラント治療を適用できない場合がある。インプラント治療の適用可能患者を広げるため、これまで、チタンインプラント周囲の骨形成を促進できる種々の表面処理方法が研究されてきた。

(2) チタンインプラント周囲の骨形成を促進できる表面処理方法として、プラズマ溶射法によるハイドロキシアパタイト皮膜形成が実用化されている。しかし、臨床においては、皮膜の剥離や溶解などの問題点も指摘されている。我々は、水酸化カルシウム粉末と水を混練することにより調整したスラリー状処理剤中にチタン基材を埋没させ、そのまま加熱処理するという簡便な処理プロセス（図 1）により、処理剤からの物質拡散と表面皮膜の結晶化が同時に促進され、その表面に骨形成の促進を期待できる結晶化したチタン酸カルシウム皮膜を形成出来ることを明らかにした。結晶化したチタン酸カルシウム皮膜は、化学的に安定な化合物であるため生体内において溶解しにくい、さらに、熱拡散を用いているため、チタン基材と皮膜の高い密着性も期待できる。故に、本処理によって作製されるチタン酸カルシウム皮膜は、プラズマ溶射ハイドロキシアパタイトの欠点を克服できる新しい表面処理法として期待できる。

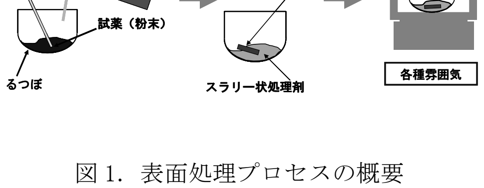

図 1．表面処理プロセスの概要

２．研究の目的

$Ca(OH)_2$ スラリーを利用した新しい処理プロセスは、工業的実用化の可能性を持つ優れた処理方法であるが、解決すべき諸問題も残されている。本研究は、この新しい処理方法

について、以下に述べる問題を解決し、工業的実用化が可能な医用技術として確立することを目的とした。

(1) 処理効果が最も表れる最適な処理条件の決定

(2) 水酸化カルシウムスラリー処理材料の小動物内における骨形成を評価

３．研究の方法

(1) 試料作製

スラリーは、水酸化カルシウム（$Ca(OH)_2$）粉末 1ｇに対して、蒸留水、水酸化ナトリウム（NaOH）水溶液、および塩化ナトリウム（ＮaCl）水溶液を 1 mL を混練することによって調整した。このスラリーにエメリー紙（#1000）で研磨した JIS 1 種チタン（10 mm×10 mm×t 1mm）を完全に埋没させ、大気中で、400－800℃で 2 時間の熱処理を施した(図 1)。炉冷後、固化した処理剤中からこれらの試料を取り出し、蒸留水 10 分間の超音波洗浄後、大気中 40℃で乾燥した。

(2) 皮膜評価

表面皮膜の結晶構造は微小角入射Ｘ線回折法（GIXD）、表面構造は走査型電子顕微鏡（SEM）にてそれぞれ評価した。

(3) 擬似体液浸漬評価

擬似体液中での、試料表面における自発的なリン酸カルシウム析出は、その試料の骨形成性能を示す重要な指標となる。本研究では、作製した試料を、擬似体液の一種であるハンクス緩衝塩類溶液中（37℃に保持）に 6－9 日間浸漬し、その表面に析出したリン酸カルシウムを、GIXD、SEM および蛍光Ｘ線分析（XRD）にて評価した。

(4) 動物埋入試験

円柱（ϕ1 mm× 5 mm）の JIS1 種チタン材表面をエメリー紙（#1000）で研磨後、4 週齢ウイスター系ラットの大腿骨に埋入、1 週後に屠殺し、周囲組織とともに摘出した。試料を取り除いた後、周囲組織を脱灰および染色し、光学顕微鏡を用いて組織学的検索を行った。

４．研究成果

(1) $Ca(OH)_2$ スラリー処理における熱処理温度が形成皮膜に与える影響

$Ca(OH)_2$ スラリー処理における熱処理温度が、形成皮膜およびその性能に与える影響を調査するため、$Ca(OH)_2$ 粉末と蒸留水を混練して調整したスラリーに、チタン（Ti）基材を埋没し、種々の熱処理温度で保持して試料を作製した。作製した試料の GIXD パターンを図２に示す。図中における左パネルは、回折角 31°―37° の拡大である。XRD パターン中におけるピークは、チタン酸カルシウム（CT）、二酸化チタン(TiO_2)および Ti に帰属できる。Ti は基板に由来するものであり、その他は皮膜およびその界面に由来する。CT のピークは、600℃以上で処理した場合のみで観察されることから、結晶化した CT 皮膜を得るためには、600℃以上の熱処理温度が必要であることがわかる。また、CT および TiO_2 のピークは、熱処理温度の上昇に伴い増加している。すなわち、高温で処理すると、カルシウムおよび酸素の拡散が促進され、CT および TiO_2 の膜厚が増加することがわかる。

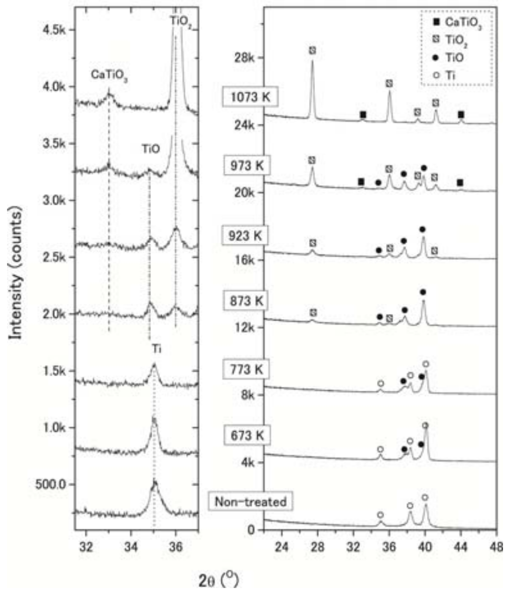

図 2. 種々の熱処理温度で処理したチタン基板の GIXD パターン

図 3 は、600℃および 800℃で処理した Ti 基材表面の SEM 像である。600℃で処理した場合、その表面からは研磨痕のみが観察され、未処理の Ti 板表面とほぼ同じである。他方、800℃で処理した Ti 表面には、粒状を示す酸化物の成長が観察される。これら結果は、熱処理温度の上昇に伴い、酸化物の形成が促進され、表面形状が粗くなっていくことを示唆する。600℃および 800℃で作製した試料を、擬似体液の一種であるハンクス緩衝塩類溶液（HBSS）中に 6 日間浸漬した後の表面 SEM 像を図 4 に示す。尚、比較材として、未処理の Ti 基材も同様に浸漬した。600℃および 800℃で処理した Ti 基材上には、網目構造を

持つ粒状の析出物が観察される。SEM-EDX で分析すると、カルシウム (Ca) およびリン (P) が検出されることから、この析出物はリン酸カルシウムであることがわった。他方、未処理の Ti 基材表面からは析出物が観察されない。これらより、$Ca(OH)_2$スラリーで Ti 基材を処理することにより、その表面におけるリン酸カルシウム析出性能を促進できることがわかる。また、浸漬後の処理 Ti 表面 SEM 像に大きな相違が観察されないこれらより、600℃および 800℃で作製した試料の HBSS 液中におけるリン酸カルシウム析出性能は、ほぼ同じであることがわかる。

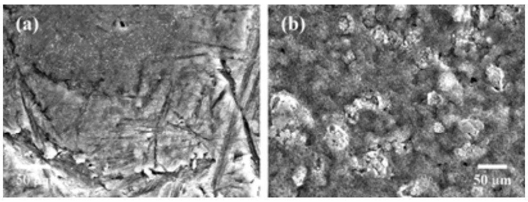

図 3. 種々の熱処理温度で処理したチタン基材の表面 SEM 像 : (a) 600℃、(b) 800℃

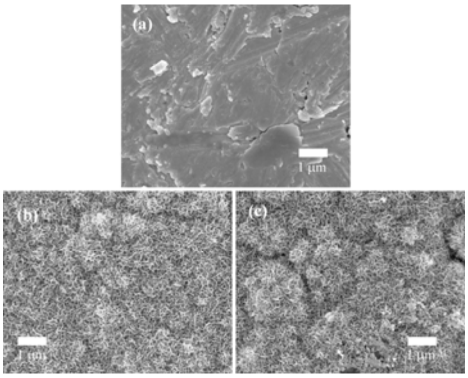

図4. HBSSに6日間浸漬した処理チタン基材表面の SEM 像 : (a) 未処理 Ti、(b) 600℃処理 Ti、(c) 800℃処理 Ti

熱処理温度を高くすると、酸化物が増大し、皮膜の密着強度を低下させる。他方、リン酸カルシウム析出性能は、600℃以上において相違がなかった。故に、本処理プロセスにおける最適熱処理温度は、600℃であるという結論を得た。

(2) ナトリウムを含む $Ca(OH)_2$スラリー処理による形成皮膜

ナトリウム (Na) 含む $Ca(OH)_2$スラリーを用いて Ti 基材を処理すると、その表面が、Ca および Na と同時に反応し、チタン酸カルシウム (CT) とチタン酸ナトリウム (ST) の両方を含む複合皮膜が形成することが予測される。ST 皮膜は、骨形成を促進できることが知られており、故に、CT と ST の複合皮膜は、高い骨形成性能を持つことが期待できる。Naイオンを含む3種類の水溶液を用いてスラリーを調整し (表 1)、それらに Ti 基材を埋没させ、600℃で保持することで試料を作製した。これらの試料の GIXD パターンを図 5 に示す。XRD パターン中におけるピークは、チタン酸カルシウム (CT)、チタン酸ナトリウム (ST)、二酸化チタン (TiO_2) および Ti に帰属できる。TiO_2に由来するピーク強度は、Slurry(ii)および Slurry(iii)を用いた場合、比較的大きくなる。すなわち、スラリー中に塩素イオン (Cl^-) を含ませることで、TiO_2の形成が促進されることがわかる。また、CT および SD に由来するピークは、Slurry(i)および Slurry(ii)を用いた場合に大きくなる。故に、CT および ST の形成は、スラリー中における Na イオン濃度に依存して促進されることがわかる。

表 1. Na を含む $Ca(OH)_2$スラリーの調整条件

Symbol	Powder	Solution
Slurry (i)	$Ca(OH)_2$ powder	0.1 M NaCl solution
Slurry (ii)	$Ca(OH)_2$ powder	1M NaOH solution
Slurry (iii)	$Ca(OH)_2$ powder	Mixed solution of 1 M NaOH and 0.1 M NaCl

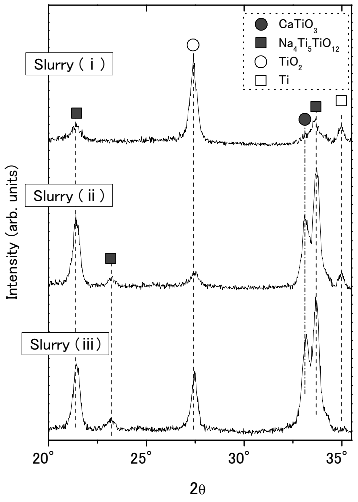

図 5. Na を含む $Ca(OH)_2$スラリーを用いて処理した Ti 基板の GIXD パターン

これら３種類のスラリーを用いて処理したTi基材を、ハンクス緩衝塩類溶液（HBSS）中に９日間浸漬し、その表面に析出したCaおよびＰの量を蛍光Ｘ線分析（XRF）によって評価した（図６)。尚、図中における（CT）とは、Naを含まない$Ca(OH)_2$スラリーで処理したTi基材である。Slurry(i)を用いた場合、リン酸カルシウム析出性能に関して、(CT)に比べて優位性は認められなかった。１Ｍ のNaOHを含むSlurry(ii)およびSlurry(iii)の場合、(CT)と比較して、CaおよびＰの析出量が大きい。すなわち、スラリーに用いる溶液を、水から1-M NaOH水溶液へと変えてTi基材を処理することで、その表面におけるリン酸カルシウム析出性能を、さらに向上できることがわかった。

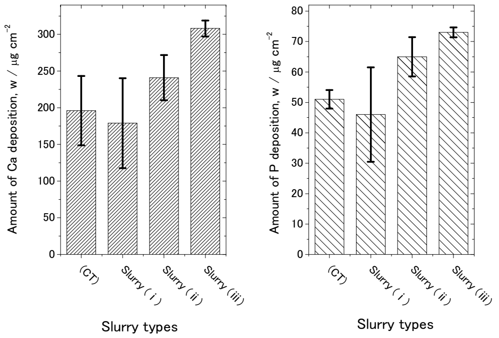

図６.　HBSS中９日間浸漬により表面に析出CaおよびＰの量

しかし、処理Ti基材表面の断面を透過電子顕微鏡で観察すると、$Ca(OH)_2$スラリーによる形成皮膜の膜厚は50 nm程度であったが、Na含む$Ca(OH)_2$スラリーによる形成皮膜は500 nm程度と比較的厚いことがわかった。皮膜膜厚の増大は、皮膜の機械的強度の低下の要因となる。それ故、Na含む$Ca(OH)_2$スラリーによる処理は、リン酸カルシウム析出性能に優れるものの、実用性を考慮すると、不適切であると結論付けた。

以上、(1)および(2)の研究成果より、処理効果が最も表れる最適なスラリーは$Ca(OH)_2$粉末と水の混合であり、熱処理温度は600℃である、という最終的結論を得た。

(3)　$Ca(OH)_2$スラリー処理チタン材料の組織学的検索

研究成果(1)および(2)より得た最適プロセスである、$Ca(OH)_2$粉末と水を混練したスラリーを用いて、熱処理温度600℃で処理したチタンを、ラット大腿骨に埋入して、その周囲組織の組織学的検索をおこなった。図７は、スラリー処理Ti材料を１週間埋入したラット大腿骨の周辺組織である。試料埋入部位周辺に活性な新生骨形成が観察され、新生骨の一部は試料と直接接している。また、繊維性結合組織の入り込みも観察されず、試料表面が骨と、良好に接触していることがわかる。

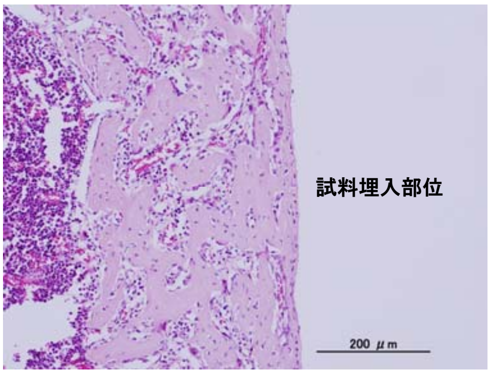

図７.　処理Tiを埋入したラット大腿骨周辺組織

以上、(3)の研究成果より、は$Ca(OH)_2$粉末と水の混練したスラリー中、Ti基材を埋没し、そのまま600℃で２時間加熱するという簡便なプロセスによって、Tiインプラントの骨形成を促進できることが明らかになった。

〔雑誌論文〕（計７件）

1．N. Ohtsu, C. Abe, T. Ashino, S. Semboshi, K. Wagatsuma
“Calcium-hydroxide slurry processing for bioactive calcium-titanate coating on titanium“
***Surface and Coatings Technology** 202(2008)5110*

2. N. Ohtsu, M. Hayashi, J. Ueta, T. Kanno
“Biofunctional calcium titanate coating on titanium by simple chemical treatment process using calcium-hydroxide slurry -Effects of the heating temperatures-“
***Progress in Organic Coatings** 70 (2011) 353*

3. N. Ohtsu, S. Semboshi, C. Abe, S. Tokuda
“Fabrication of composite coating comprising bioactive calcium and sodium titanates on titanium using calcium hydroxide slurry containing sodium ions”
***Surface and Coatings Technology** 205 (2011) 3785*

〔学会発表〕（計３件）

1.　大津直史、阿部千景、芦野哲也、千星聡
“NaおよびClを含む水酸化カルシウムスラリーで処理したチタンの表面特性”
日本金属学会2008年秋季大会（2008.9.24 /熊本）

2.　大津直史、中村勇気
“スラリー埋没加熱処理を利用したアパタイト被覆チタン材料の作製”
日本金属学会2010年春季大会（2010.3.29 /筑波）

3. 中村勇気、林学、大津直史
“スラリー埋没加熱処理により作製したアパタイト被覆チタンの擬似体液浸漬挙動”
日本金属学会 2010 年春季大会（2010. 3. 29 /筑波）

4. N. Ohtsu, M. Hayashi, J. Ueta, T. Kanno
“Calcium titanate coating on titanium by simple chemical treatment process using calcium-hydroxide slurry”
Coating Science International (CoSI 2010) (2010. 6. 27 / オランダ)

5. 中村勇気、大津直史
“スラリー埋没加熱処理により作製したハイドロキシアパタイト皮膜の均一性評価”
日本金属学会 2011 年秋季大会（2011. 9. 25 /札幌）

6. 大津直史、中村勇気、高原豊文、松林裕真
“スラリー埋没加熱処理を利用した Zr および Nb へのリン酸カルシウム皮膜形成”
日本金属学会 2011 年秋季大会（2011. 11. 8 /宜野湾）

7. 大津直史、高原豊文、松林裕真
“スラリー埋没加熱処理にるリン酸カルシウム皮膜形成に及ぼす粉末形状および加熱温度の影響”
日本金属学会 2012 年春季大会（2012. 3. 29 /横浜）

〔産業財産権〕
名称：骨適合チタン材料およびその製造方法
発明者：大津直史、中村勇気
権利者：北見工業大学
種類：特許
番号：特開 2011－16737