

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：83906

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05123

研究課題名(和文)二次元ナノ構造酸化チタンの表面欠陥と形態制御および抗感染性医用材料への応用

研究課題名(英文) Surface defects and morphology control of two-dimensional nanostructured titanium dioxide and its application to anti-infective medical materials

研究代表者

橋本 雅美 (HASHIMOTO, Masami)

一般財団法人ファインセラミックスセンター・その他部局等・上級研究員

研究者番号：20450851

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：歯科用インプラントやカテーテル等には、生体親和性と抗感染性が要求され、この相反機能を同時に向上させるのは極めて困難である。酸化チタンをナノシート化することで、上記相反機能の制御だけでなく、多様な素材と形状を有する部材表面への被覆が期待できる。ナノシートを室温下でTiインプラント表面に被覆し、医用材料としての可能性を探索した。その結果、酸化チタンナノシートを医用部材に被覆することに成功し、良好な細胞増殖性を示すことを確認した。一方、抗菌性に関しては、まず電子スピン共鳴法の結果から、ヒドロキシラジカルの確認ができなかったこと、大腸菌を用いた抗菌性試験においても抗菌性の確認はできなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗菌性と生体活性能を併せ持つ酸化チタンナノシートは、室温下で柔軟性のある基材にもコーティング可能なため、感染が問題になっているインプラントだけでなく、カテーテル等の経皮端子や手術室での噴霧による抗菌性環境の実現等が可能であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Biocompatibility and anti-infectivity are required for dental implants and catheters, and it is extremely difficult to improve these conflicting functions simultaneously. By forming titanium dioxide nanosheets, it is expected that not only the above conflicting functions can be controlled, but also the surfaces of components with various materials and shapes can be coated. We coated nanosheets on Ti implant surfaces at room temperature and explored their potential as a medical material. As a result, titanium dioxide nanosheets were successfully coated on medical components, and it was confirmed that they showed good cell proliferation properties. On the other hand, as for the antimicrobial property, first of all, hydroxyl radicals could not be confirmed from the results of electron spin resonance method, and antimicrobial property could not be confirmed in the antimicrobial property test using E. coli.

研究分野：材料工学

キーワード：ナノシート 酸化チタン 細胞増殖性

1. 研究開始当初の背景

術後の医療用インプラントの感染症を防止するために、インプラント自身に抗菌性を付与することが必要である。また、インプラントは生体に埋入後に骨と結合する性質である生体活性能を有している必要もある。一般に、抗菌性を発現させるためには、Ag や Cu 等のイオンの導入が検討されるが、黒く着色する問題(審美性低下)や初期に多量の Ag イオン等の溶出による歯肉の炎症が問題となっている。そこで、抗菌性を酸化チタンの光触媒能で制御することに企業は興味を示しており、社会的ニーズも大きい。また、酸化チタンは生体活性能も有しており、酸化チタン単独で抗菌性と生体活性能を発揮する材料として注目されており、2016 年には、共同研究先の企業が申請した酸化チタン含有骨セメントの PMDA の審査が日本で受理されている。

まず、酸化チタンの生体活性能に関しては、以前の我々の研究から、純チタンを低酸素分圧下での熱処理によって窒素含有欠陥を導入した酸化チタン表面を形成させると、表面電位を正または負に制御可能で、その表面では骨成分である水酸化アパタイト(HAp)形成能および骨芽細胞活性能が高いことを明らかにしている(平成 28~30 年度基盤 C(一般) 16K06786)。しかし、低酸素分圧下での熱処理時間を 20 時間まで長くすると、酸化チタンが形成しているにも関わらず、HAp 形成能は発現しない(*M. Hashimoto et al., Acta Materialia, 155 (2018) 379*)。また、酸化チタン粒子の場合には、前駆体を低酸素分圧下の窒素雰囲気中で熱処理すると、チタンの価数が Ti^{4+} Ti^{3+} に一部変化した際に HAp 形成能が高かった(平成 25~27 年度基盤 C(一般) 25420767)(*M. Hashimoto et al., Adv. Powder Tech, 27 (2016) 2409*)。以上のように、酸化チタンの HAp 形成能に関して、酸化チタンの表面欠陥種によって大きく異なるが、その関係性には未だ不明点が多い。

次に、酸化チタンの光触媒能に関しては、一般的に結晶構造の違いによる光触媒能の違いや(アナターズ、ルチル型)、窒素含有欠陥が $(N_0)^{-1}$ を含む酸化チタンの場合には、可視光応答の光触媒能を示すが(*R. Asahi et al., Science, 293 (2001) 269*)、上記 HAp 形成能が上昇した $(NO)_0^{-1}$ または $(N_2)_0^{+2}$ の欠陥種の場合には可視光応答は発現しない。純チタンのアンモニア雰囲気中での熱処理によって窒素を導入した酸化チタン層を形成し、可視光応答の光触媒能が発現する報告があるが、ヒドロキシラジカル生成量が実用化レベルの $10 \mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{g}$ に達していない(*M. Kawashita et al., Colloids Surf. B, 111 (2013) 503*)。

さらに、酸化チタンにはバルク、粒子、ナノシート等の様々な形態がある。特に、ナノシートは 1 nm の厚さで数~数十 μm の二次元的な広がりを持ち、高い柔軟性を持つために、曲率を持ったネジ上にもその形状を忠実に再現し、室温下でコーティングが可能であるが、生体材料に対して適用した報告例は全くない。酸化チタンナノシートは、層状チタン酸化物の剥離ナノシート化によって作製されるが、酸化チタンの組成としては Ti が欠損した $Ti_{0.91}O_2$ 等がある(長田実等, 粉砕 51 (2008) 44)。以上のように、酸化チタン中の欠陥種や形態が異なれば、HAp 形成能や光触媒能が変わることが考えられるため、ナノシートの場合の生体活性能(HAp 形成能、骨芽細胞活性能)や抗菌性に関しては全く不明である。またナノシート構造を持つことによって、一般的な粒子や膜との特性の違いに関しても全く不明である。

一方、酸化チタンナノシートとチタンとの密着性に関しては、実用上も重要であるだけでなく、定量的に耐剥離寿命を予測した報告は全くない。耐剥離寿命は、エネルギー解放率(計算値)と界面破壊靱性値(実験値)の経時変化により定量的に予測可能であり、生体材料に対して適用することによって、新たな取り組みとなる。

2. 研究の目的

本研究では、表面欠陥と形態を制御した酸化チタンナノシートを純チタンに室温下でコーティングすることによって、高い抗菌性と生体活性能を同時に発現し、さらに両特性が長期間持続可能な、耐剥離寿命が 1 年以上の表面を構築することを目的とする。酸化チタンナノシートは、

層状チタン酸化物の剥離ナノシート化によって作製されるが、酸化チタンの組成としてはTiが欠損した $Ti_{0.91}O_2$ および $Ti_{0.87}O_2$ がある。特にTiの欠損を有する酸化チタンに対して、生体活性能(HAp形成能、骨芽細胞活性能)や抗菌性に関する報告は全く無い。またナノシート構造を持つことによって、形態の違いによる一般的な粒子や膜との特性の違いについての報告例も全く例がない。

また、酸化チタンナノシートの密着性の評価に関しては、有限要素法を用いて亀裂先端周りの特異応力場計算や各層に蓄えられた歪みエネルギー(エネルギー解放率)を予測し、この計算値と界面破壊靱性値(実験値)の経時変化によって、酸化チタンナノシートの耐剥離寿命を定量的に予測する研究は世界中で我々以外にない独創的なものである。

本研究で開発する抗菌性と生体活性能を併せ持つ酸化チタンナノシートは、室温下で柔軟性のある基材にもコーティング可能なため、感染が問題になっているインプラントだけでなく、カテーテル等の経皮端子や手術室での噴霧による抗菌性環境の実現等が可能であると考えられる。

3. 研究の方法

[2020年度]

[1]酸化チタンナノシートの作製および基材へのコーティング手法の確立 (JFCC)

酸化チタンナノシートの作製を以下の通りに行った。 $Ti_{0.87}O_2$ または $Ti_{0.91}O_2$ 組成の酸化チタンナノシートの作製を行うために、層状チタン酸化物($K_{0.8}Ti_{1.73}Li_{0.27}O_4$ または $Ce_{0.7}Ti_{1.825}O_{4.175}$, 空孔)を酸水溶液で処理し、層状構造を維持したままアルカリ金属を水素イオンに交換する。水酸化テトラブチルアンモニウムを層間に導入し、剥離し、ナノシートを作製した。本酸化チタンナノシート分散のコロイド溶液とカチオン性ポリマー溶液に交互に浸漬する交互吸着法を用いて(図1)、純チタン表面にナノシート/ポリマー膜を5層積層した。ナノシートの組成は、1層の中で同じ組成の場合と違う組成が共存し、共存比を変化させた場合、さらに積層するナノシートの組成が同じ場合と違う場合を検討し、特異な表面欠陥種を形成させる。加熱処理(200℃)によってポリマー層を取り除いた。ナノシートの形態をAFMやSEMで観察した。

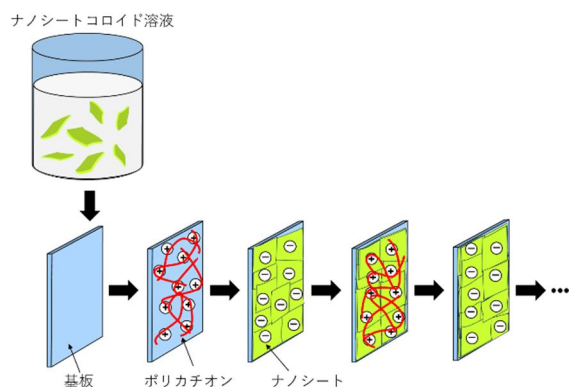


図1 交互吸着法による純チタン表面へのナノシートコーティング

[2]酸化チタンナノシートの光触媒能(有機物光分解およびヒドロキシラジカル発生量)および抗菌性の評価、構造-機能相関の解明並びに特性改善 (JFCC、東北大学)

[1]で作製した種々の組成、形態および膜厚の酸化チタンナノシートに対して、可視光および紫外線等照射による光触媒能を評価した。電子スピン共鳴装置(ESR)によるヒドロキシラジカル生成量を評価(目標値:10 $\mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{g}$, 実用化レベル)した。

[3]酸化チタンナノシートの骨芽細胞活性評価（東北大学）

ナノシートをコーティングした純チタンに対して、細胞学的および分子生物学的手法により、骨芽細胞活性の評価を実施した。前骨芽細胞株（MC3T3-E1）を用いた培養実験により、骨芽細胞活性（細胞増殖およびALP活性の評価を行った）。

【2021年度以降】

[4]酸化チタンナノシートの純チタン基板との耐剥離寿命の評価(JFCC)

2021年度までに確立した酸化チタンナノシートのコーティング法によって、純チタン上にナノシートを形成させた。き裂先端周りの特異応力場計算や各層に蓄えられた歪エネルギー（エネルギー解放率）を予測するために有限要素法解析ソフトを使用する。エネルギー解放率（計算値）と界面破壊靱性値（実験値：モードI, II）の経時変化より酸化チタンナノシートの耐剥離寿命の定量的な予測を検討した(図2)。

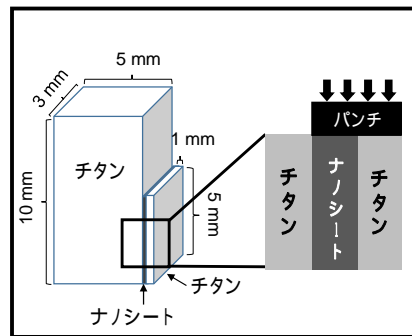


図2 ナノシートとチタン基板の密着性評価

4. 研究成果

国内外における位置づけ:生体活性を持たせるために、純チタンに室温下で二次元構造を有する、酸化チタンナノシートをコーティングし、欠陥の種類および有効電荷を制御することを狙っており、このような報告例は無く、我々のグループ以外には無い独創的なものである(図3および4)。純チタンへの酸化チタンナノシートコーティングによって、優れた骨芽細胞活性を発現させる取り組みも我々のグループ以外には無い独創的なものである(図5)。

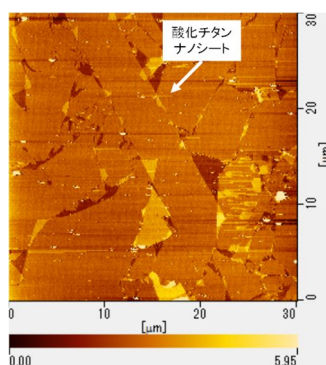


図3 作製した酸化チタンナノシートのAFM

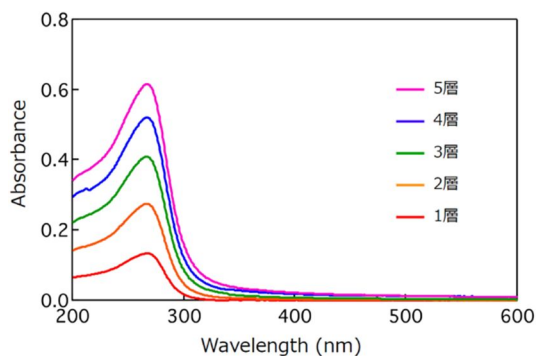


図4 作製した酸化チタンナノシートのUV-VISスペクトル

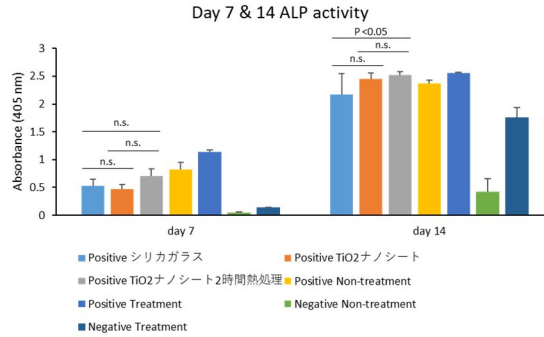


図5 作製した酸化チタンナノシートのALP活性評価結果

一方、酸化チタンナノシートの抗菌性を評価する前に、ESR測定を行った結果、可視光および紫外光の何れの照射を15分間行ってもヒドロキシラジカルの発生は確認出来なかった(図6)。本研究で作製した酸化チタンナノシートは、Ti欠損型 $Ti_{0.91}O_2$ であり、今まで生体材料として研究されている酸素欠損型や窒素導入とは異なる構造を有していることが考えられた。

また、ナノシートであるが故に密着性評価に必要な膜厚までの積層が難しく、密着性の定量評価に至らなかった。しかし、テープテストによる剥離は生じていないことを確認済みである。

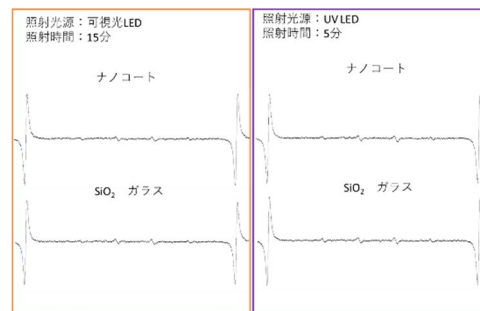


図6 作製した酸化チタンナノシートのESRスペクトル

インパクト: 国民生活調査によると、支援・介護を必要とする約475万人のうち要支援者の33%、要介護者の16%において、認知症が原因となっており、認知症予防の重要性は高まっている。生涯にわたり歩くことや、歯との認知症予防との関係は強く、認知症予防になるだけで無く、記憶力の回復の可能性も高まると考えられている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kyomoto Masayuki, Moro Toru, Yamane Shihori, Watanabe Kenichi, Hashimoto Masami, Tanaka Sakae, Ishihara Kazuhiko	4. 巻 110
2. 論文標題 Efficacy of hydrated phospholipid polymer interfaces between all polymer bearings for total hip arthroplasty	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials	6. 最初と最後の頁 89 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm.b.34892	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 橋本雅美、小川貴史、北岡諭	4. 巻 56
2. 論文標題 生体用チタンの低酸素分圧下での熱処理による表面電位制御	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 セラミックス	6. 最初と最後の頁 522 ~ 525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Masami, Takahashi Seiji, Kawahara Koichi, Ogawa Tomoyuki, Kawashita Masakazu	4. 巻 33
2. 論文標題 Effect of heating conditions on the magnetic properties of micron-sized carboxyl modified-magnetite particles synthesized by a spray pyrolysis and heating process	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advanced Powder Technology	6. 最初と最後の頁 103412 ~ 103412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.appt.2021.103412	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 橋本雅美、高橋誠治、川原浩一、横江大作、加藤丈晴、小川智之、川下将一
2. 発表標題 ウイルスの高感度検出を目指した多孔質酸化鉄微粒子の開発
3. 学会等名 第34回秋季シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本雅美、高橋誠治、川原浩一、横江大作、加藤丈晴、小川智之、川下将一
2. 発表標題 ウイルス検出用の新規COOH基修飾-Fe3O4微粒子の開発
3. 学会等名 第43回日本バイオマテリアル学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 微粒子及びそれを含む組成物	発明者 橋本雅美	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-210688	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	金高 弘恭 (Kanetaka Hiroyasu) (50292222)	東北大学・歯学研究科・教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------