

## 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 5月14日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592509

研究課題名（和文） カーボンナノチューブ被覆によるインプラント材料の骨伝導能の改善

研究課題名（英文） Improvement of the osseointegration of the implant materials by the carbon nanotube coating

研究代表者

野谷 健一（NOTANI KENICHI）

北海道大学・大学院歯学研究科・准教授

研究者番号：70113602

研究成果の概要（和文）：カーボンナノチューブは生体親和性にも優れ、生体材料への応用も期待されている。本研究では歯科用及び医療用インプラント材料の表面をカーボンナノチューブで被覆する方法を模索し、ナノメートルレベルでの表面構造制御することにより、骨結合性に優れたインプラント体を開発することを目的とした。第一に多層カーボンナノチューブ(MWCNT)をカルボキシル化し、これをコール酸ナトリウム（界面活性剤）水溶液に分散することで安定分散水溶液を作製し、同分散液をコラーゲンコートしたチタン板（棒）に作用させることにより、チタン表層を一様にMWCNTsで被覆することが可能になった。被覆されたMWCNTsは洗浄などの作業では剥離することなく、安定に固定されており、細胞接着性・増殖性も良好であった。

研究成果の概要（英文）：Carbon nanotubes have high biocompatibility, therefore, the application for biomaterials are expected. In this study, the method of the carbon nanotube coating onto the dental and medical implant materials were developed in order to improve their osseointegration. The carboxylated multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) were stably dispersed into sodium cholate aqueous solution. Using this MWCNT suspension, the titanium surface could be homogeneously and tightly coated with MWCNT. Cell adhesion and proliferation on MWCNT coated titanium surface were good as normal titanium surface.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：カーボンナノチューブ、生体適合性、インプラント、骨結合性、ナノ材料

## 1. 研究開始当初の背景

近年、注目されているカーボンナノチューブ(CNT)は右図のように、炭素の六員環からなるシート（グラフェンシート）が円筒状に

伸びたものであり、直径＝数～数十 nm に対し、長さが数 $\mu\text{m}$  以上の極微小炭素繊維である。CNTのグラフェンシートは欠陥が少なく、単結晶の繊維とも呼べるものであることか

ら、強度、化学的耐久性及び電気伝導性に優れている。このため電気・電子材料や触媒担体、燃料電池などへの応用が期待されている。ナノチューブ類は結晶性が高く、特に長軸方向の引張強さは同じ素材の単結晶に匹敵するとも言われており、一般の繊維材料に比べて桁違いに高い強度を持つ。

難点は長さが $\mu\text{m}$  レベルと短いことであるが、近年は製造技術の進歩により、CNT に関しては数 mm のレベルまで可能となっており、電子材料のような微小な材料だけでなく、構造材料などにも応用が期待されている。

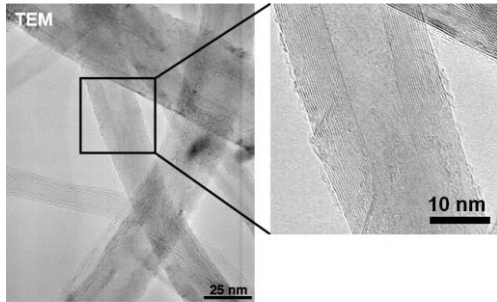


図1 多層カーボンナノチューブの透過電子顕微鏡像

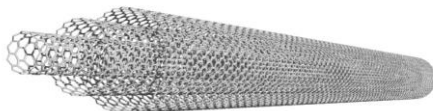


図2 多層カーボンナノチューブの模式図

生体への応用に関しては、CNT が細胞との付着性が良く、生体為害性が低いとの報告が多く成されている。カーボンナノチューブはその繊維状の形状がアスベストを連想させるため、同様の毒性を懸念されているが、炭素の良質の単結晶であるカーボンナノチューブは生体内で溶解・分解することが無く、有害な重金属や化合物類を含まないこと、剛直な針状のアスベストと異なり、柔軟な繊維であることから、生体に対しても安定であると考えられる。そのため同材料の生体材料としての応用も期待されている。

他方、歯科用・外科用のインプラント材料研究における最近の主眼は、荷重負荷に十分な骨結合を短期間に形成し、術後の可能な限り早い時期にインプラントに通常の負荷を与えられるようにすることにある。そのためアパタイトコーティングなどが試みられてきたが、昨今の主流はインプラント表面に微細な凹凸を持つ安定な被膜を形成する陽極酸化法に移りつつある。同方法はミクロンレベルの凹凸を持つ被膜を形成するもので、無処理の金属（チタン）表面に比べ、骨結合形成の期間や結合強度が改善されることが報告されている。先に述べた CNT の高い細胞付着性はナノメートルレベルでのナノチューブ/細胞表面間の相互作用によると考えられ、これをインプラントの表面処理に応用することにより、現在のミクロンレベルの表

面構造制御より更に進んだ骨結合性が得られる可能性がある。

## 2. 研究の目的

著者らはすでに CNT をはじめとする各種のナノ粒子の生体親和性について研究を行っており、その過程で特に多層 CNT が極めて優れた細胞接着性を示すことを見いだしている。生体材料では組織との親和性が高く、体内で長期間安定に存在し、強度と信頼性に富むことが求められる。カーボンナノチューブは化学的耐久性に極めて優れ、有害な成分を含まず炭素のみから成り立っており、極めて高強度の繊維であることを考えると、良質の生体材料になる可能性を秘めていると考えられる。

そこで本研究では歯科・外科用インプラントの表面を種々のカーボンナノチューブで被覆した、ナノメートルレベルの制御された表面構造を持つ新たなインプラント材料を試作し、その生体適合性を評価することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1)CNT 分散法の検討

CNT は水や有機溶剤などに対する分散性が極めて悪いため、最初に多層カーボンナノチューブ(MWCNTs)を均一分散するための界面活性剤の探索を行った。界面活性剤には Triton-X およびコール酸ナトリウムを用い、これらを種々の濃度で溶解した界面活性剤水溶液に MWCNTs を分散させて、分散液の安定性を比較した。また MWCNT 表面をカルボキシル化し、親水性を高めたカルボキシル化 CNT も作製し、同様に分散性の検討を行った。高分散性 CNT 溶液はコラーゲンコートディッシュに注入・静置し、洗浄後に走査電子顕微鏡(SEM)で CNT の被覆状態を観察した。

### (2)チタン表面への CNT 被覆法の開発

上記で検討した MWCNT 分散液をコラーゲンコートしたチタン板に作用させ、表面を SEM で観察することにより、MWCNT のチタン表面への付着状態を評価した。さらに MWCNT 被覆チタン板上で細胞(MC3T3-E1)を通常に従って培養することにより、同被覆体の細胞接着性を評価した。

### (3)チタンインプラント表面の分析

現在、歯科用インプラントに用いられているチタンは表面を陽極酸化処理して、多孔化しているものが多い。その表面状態を調査するため、X線吸収微細構造解析(XAFS)を用いて、表面処理層に於けるチタンの化学状態を調査した。XAFS 測定は高エネルギー加速器

研究機構 放射光科学研究施設で行った。

#### 4. 研究成果

##### (1)MWCNT の安定分散液の開発と表面処理状態

無処理の MWCNTs を用いた場合には界面活性剤の種類や濃度に寄らず、分散液は安定性に乏しかったが、酸処理およびカルボキシル化処理した MWCNTs では分散性が向上した。特にカルボキシル化 MWCNTs をコラーゲンナトリウム（界面活性剤）1w/v%水溶液に分散した場合には MWCNT 濃度が 100ppm を超える濃度で安定した分散液が得られた。

この分散液をコラーゲンコートディッシュに作用させると、均一で凝集 CNT の無い CNT 被覆が可能であった。

##### (2)チタン表面への CNT 被覆法の開発

上記で検討した MWCNT 分散液をコラーゲンコートしたチタン板に作用させることにより、MWCNTs が均一にチタン上に付着し、チタン表層を一様に MWCNTs で被覆することが可能になった。被覆された MWCNTs は洗浄などの作業では剥離することなく、安定に固定されていた。

図3はチタン板の表面状態の変化を示しており、研磨(A)からコラーゲン塗布(B)では大きな変化が無いが、MWCNT コート(C)では表面に均一に MWCNT が付着しており、断面(D)観察から、被覆層の厚みは 200~300nm 程度で、単一の MWCNT 層で均一に被覆されていることがわかる。この MWCNT 被覆体は通常の洗浄操作などで剥離することは無く、チタンに安定的に MWCNT を被覆できることが判明した。

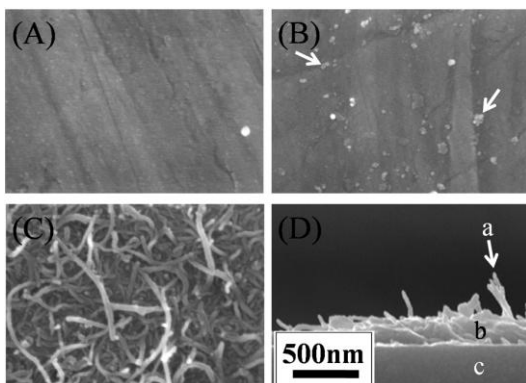


図3 MWCNT 被覆前後のチタン板の表面状態 (A) 研磨 Ti (B)コラーゲン塗布 Ti (C) MWCNT コート Ti とその断面(D)

また MWCNT 被覆チタン板上での細胞培養においては、図4に示すように研磨(上段)、コラーゲン塗布(中段)に比べて、MWCNT

被覆チタン(下段)では若干細胞の付着量が少ないが、良好な細胞増殖が認められ、MWCNT 被覆体も通常のチタンと同様に、優れた細胞への親和性を有することが確認された。この手法によるチタンへの MWCNT 被覆は、金属チタン表面だけでなく、陽極酸化を施した多孔性チタン表面にも可能であることも、あわせて確認された。

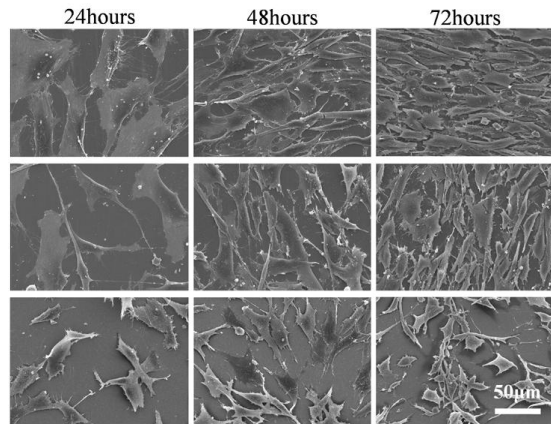


図4 MWCNT 被覆チタン上での細胞(MC3T3-E1)増殖状態 (上段) 研磨 Ti (中段)コラーゲン塗布 Ti (下段)MWCNT コート Ti

##### (3)チタンインプラント表面の分析

陽極酸化した表面の Ti K 吸収端の XANES スペクトルは転換電子収量法で測定するとアモルファス  $TiO_2$  様を示し、蛍光法で測定するとアナターゼ型  $TiO_2$  様を示した。転換電子収量法の測定深さは高々2~300nm であり、蛍光法のそれは数 $\mu m$  に及ぶことから、同表面の極表層は非晶質で内部が結晶化していると推測された。

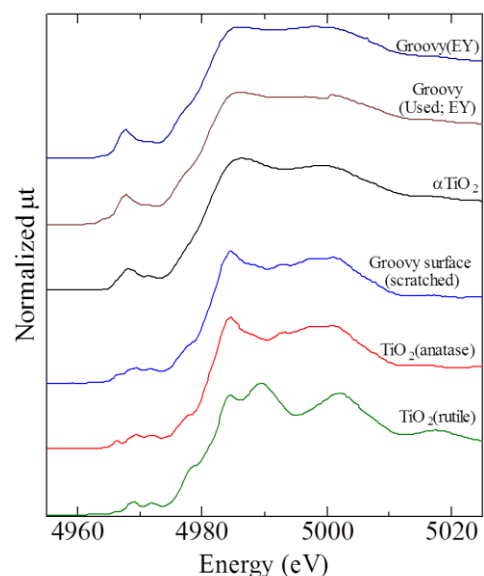


図5 陽極酸化したチタンインプラント表面の Ti K-edge XANES スペクトル

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 件)

[学会発表] (計 件)

○宇尾基弘・寺田典子・北川善政・馬淵亜希子・戸塚靖則, 金属アレルギー患者の口腔内金属修復物の迅速成分分析, 第54回日本口腔外科学会学術大会(札幌, 2009年10月9~11日), 日本口腔外科学会雑誌, 55(特別号) p.246, 2009

○宇尾基弘・村田翼・古橋一憲・野谷健一・北川善政・亘理文夫, 金属アレルギー患者の口腔内金属修復物分析, 第3回ナノ・バイオメディカル学会(鶴見, 2010年9月17日) 2010.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

野谷 健一 (NOTANI KENICHI)

北海道大学・大学院歯学研究科・准教授

研究者番号: 70113602

### (2)研究分担者

北川 善政 (KITAGAWA YOSHIMASA)

北海道大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号: 00224957

山崎 裕 (YAMAZAKI YUTAKA)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号: 90250464

宇尾 基弘 (UO MOTOHIRO)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号: 20242042

### (3)連携研究者

( )

研究者番号: