

令和 6 年 5 月 22 日現在

機関番号：83906

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01644

研究課題名（和文）セグメント構造酸化チタンコーティングによる抗菌性と生体親和機能の創成

研究課題名（英文）Generation of antibacterial performance and biocompatibility due to titanium oxide coating with a segmented structure

研究代表者

北岡 諭（Kitaoka, Satoshi）

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・理事 副所長

研究者番号：80416198

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：レーザー加熱機構を有する電子ビームPVDにより、Ti基板上に縦割れのセグメント構造を有し、かつ、その表面を幅10～50 nmの棘で覆われたTiNO膜を創成することに成功した。セグメント構造により膜の変形許容性が大幅に増大したことから、繰り返しの咬合時においても、膜の大変形に伴う接触部の応力集中低減により膜構造を維持するものと推測された。この膜に対して、フィルム密着法により大腸菌に対する抗菌性を評価した結果、抗菌性に優れることを明らかにした。しかし、株化骨芽細胞様細胞を用いた培養実験による細胞誘導性評価においては、現用材よりも生体親和性が低かった。今後、抗菌性と生体親和性の両立を図る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯科用インプラントに抗菌性を付与するためには、薬剤が使用されており、生体に安全な薬剤の徐放制御が必要である。一方、棘を有する固体表面には抗菌性が発現することが報告されたが、細かい棘では繰り返しの咬合に伴う応力集中により容易に損耗することが懸念される。本研究成果は、薬剤を使わないで発現する上記抗菌作用を実使用環境下において持続するための方法を提唱したものであり、歯科用インプラントだけでなく、人工股関節など、幅広く医療分野への展開が可能である。また、航空機エンジン用耐熱部材の遮熱コーティングとして培われてきた成膜技術を、医療分野に展開するものであり、まさに、異分野融合の成果であるといえる。

研究成果の概要（英文）：A TiNO film was successfully formed on a Ti substrate using electron beam PVD with a laser heating system. The film had a segmented structure with vertical cracks, and its surface was covered with spines ranging from 10 to 50 nm in width. The segmented structure significantly increased the film's deformation tolerance, allowing it to maintain its structural integrity by reducing stress concentration at contact points during repeated occlusions. The antibacterial properties of the film were evaluated against Escherichia coli using the film adhesion method, and the results demonstrated excellent antibacterial performance. However, in cell induction evaluations using cultured osteoblast-like cells, the film exhibited lower biocompatibility compared to currently used materials.

研究分野：腐食・防食技術

キーワード：酸化チタン セグメント コーティング 抗菌性 変形許容性

## 1. 研究開始当初の背景

Ti は、強固な不働態膜 (Ti-O) の形成による優れた耐食性と比較的良好な生体適合性を有することから、歯科インプラント基材として豊富な実績を有する。しかし、現行のインプラント基材においては、さらに優れた生体親和性 (歯槽骨との結合性や歯肉上皮の付着性) と抗菌性が求められている。近年、強力な殺菌作用を有する昆虫の羽を模倣した固体表面に、非常に高い殺菌効果が発現することが見出された ( )。この機能は、部材表面を幅数 10 ナノメートルオーダーの棘が林立した構造にすることで、棘表面に付着した細菌の細胞膜が破られることにより発現する。このオーダーの棘をインプラント表面に模倣することができれば、薬剤等によらない画期的な抗菌性の発現が期待される。しかし、このような細かい棘では繰り返しの咬合に伴う応力集中により容易に損耗することが懸念される。一方、航空機エンジン用耐熱部材の遮熱コーティング技術として豊富な実績を有する電子ビーム PVD 法は、シャドーイング効果により縦割れの多孔質セグメント構造を有する酸化物膜を形成することができる。このセグメントは外部応力に対して変形許容性を有するため、その表面を上述する微細な棘で覆うことができれば、損耗し難い棘表面を創成できるものと期待される。

## 2. 研究の目的

原子・ナノレベルで高次構造制御した TiO 基系セグメントを Ti 基板上に形成することで、変形許容性、抗菌性、生体親和性を併せ持つ表面改質技術基盤を構築する。

## 3. 研究の方法

(1) 成膜方法 酸素ポンプで  $P_{O_2}$  を調整した  $N_2$  雰囲気中 ( $P_{O_2} = 10^{-17}$  Pa) において、成膜面を鏡面仕上げした Ti 基板 (グレード: 2 種、 $\Phi 10 \times 3$  mm) を熱処理 ( $700^\circ C$ , 1 h) することで、予め成膜面にルチル型  $TiO_2$  結合層 (厚さ約 70 nm) を形成した (予備酸化 Ti)。その後、Ti インゴット (グレード: 2 種) を用いた電子ビーム PVD 法により、チャンバー内の Ti 製治具に取り付けた上記基板を 30 rpm で回転させながら、基板上にセグメントを形成した。この際、膜の結晶性と膜 - 基板間の密着性を高めるために、インゴット溶融面からの輻射伝熱加熱に加えて、基板に半導体レーザー光 (波長 915 nm) を照射することで、成膜面を 500 以上に加熱した。このように本手法は高温での成膜のため、膜成分の表面拡散により平滑化が進行し棘が消失することが懸念される。そこで、Ti-O 膜への N ドープにより共有結合性を強めて表面拡散を抑制することにより、

棘表面の形成を試みた。つまり、 $N_2$  ガスに 10 vol%- $O_2$  ガスを含む混合ガスを基板とインゴットに吹き付けながら成膜した（サンプル A）。比較として、吹き付けるガス種を 100 vol%- $O_2$  ガスにした場合についても実施した（サンプル B）。成膜中のチャンバー内の全圧は約 0.1 Pa であった。

（2）膜の構造と変形特性 得られた膜表面の X 線回折、XPS 分析、膜表面の SEM 観察、膜断面の STEM-EDS 分析、並びに、ゼータ電位を測定した。また、半径 9.85  $\mu m$  の球状圧子を用いたナノインデンテーション試験により、荷重印加時のヤング率、弾性変形域における最大押し込み荷重時の押し込み深さと平均圧力を測定した。

（3）膜の抗菌性と生体親和性 抗菌性については、JIS-Z-2801 に準拠したフィルム密着法により大腸菌に対する抗菌性を評価した。生体親和性については、株化骨芽細胞様細胞（MC3T3-E1 細胞）を用いた培養実験により細胞誘導性を評価した。また、比較として、Ti 基板と予備酸化 Ti 基板についても同様の評価を実施した。

#### 4. 研究成果

（1）膜の構造 膜表面の XRD 分析の結果、サンプル A は [111] 面の方向に強く配向して NaCl 型  $TiO_N$  膜であり、サンプル B はルチル型  $TiO_2$  膜であった。図 1 に、サンプル A、B の表面および断面 SEM 像を示す。サンプル A は厚さ約 2  $\mu m$  の垂直クラック構造を持ったセグメントを持ち、各セグメントの幅は数 100 nm あり、表面は鋭いエッジで構成されていた。サンプル B は、膜厚 1  $\mu m$  程度の膜が形成されており、その表面は比較的平滑であった。

図 2 に、サンプル A の表面近傍の断面 TEM 像と対応する EDS 元素比マップ ( $Ti/(N+O)$ ) を示す。各セグメントの表面は幅 10 ~ 50 nm の棘で覆われており、表面近傍の方が内部より Ti が欠乏し酸素が濃化していた。また、XPS 分析の結果、表面近傍には +3、+4 価の Ti イオンが存在することから、セグメント表面は内部に比べて酸化していることがわかった。さらに、サンプル A の pH = 中性付近のゼータ電位はわずかにマイナス ( $-0.94 \pm 1.62 eV$ ) に帯電していたが、予備酸化した Ti 基板やサンプル B のゼータ電位は、それぞれ  $-6.6 \pm 0.24 eV$  および  $-6.45 \pm 1.36 eV$  であり、負に大きく帯電していた。

（2）膜の変形特性 図 3 に、サンプル A および B の弾性変形領域内のヤング率、変形範囲内の最大変形深さ ( $h_{e-max}$ )、 $h_{e-max}$  における平均圧力を示す。サンプル A の

ヤング率はサンプル B の 1/4 であり、サンプル A の $h_{e-max}$ はサンプル B よりも著しく大である。サンプルAの場合、圧子の押し込みに応じて各セグメントがわずかに変形し、圧子接触部の応力集中が軽減したものと考えられる。また、サンプルAの最大荷重時の平均圧力は平均咬合圧力 (< 10 MPa) よりも十分に大であることから、この条件下では棘状表面を有するセグメント構造を維持するものと予想された。

( 3 ) 抗菌性・生体親和性 図4に、24 時間のインキュベーション後の膜の蛍光顕微鏡画像を示す。サンプルAの抗菌性はサンプルBや膜なし基板 ( Ti基板、予備酸化Ti基板 ) よりも明らかに優れることがわかった。表面電位がゼロに近いサンプルAにおいて最も優れた抗菌性が発現したことから、負に帯電する膜と大腸菌との静電反効果によるものでなく、棘表面に吸着した大腸菌の細胞壁が破れて死滅し、細菌の増殖が阻害されたことが関したものと考えられる。

固体表面で発現する抗菌性や細胞誘導性は、表面電位の影響を強く受けるものと予想される。既に、棘状構造を維持しつつ、表面酸化を進行させてゼータ電位をより負に著しく大きくすることにも成功した。今後、これらの膜を用いて抗菌性と生体親和性に及ぼす表面電位の効果について明らかにする。

<引用文献> E. P. Ivanova et al., *Nature Comm.*, 3838 (2013)

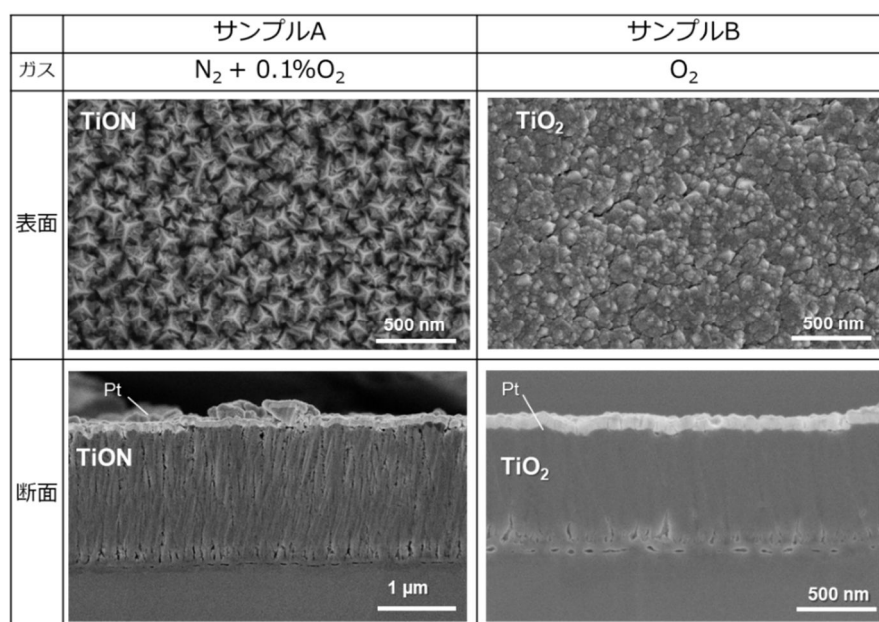


図 1 膜の表面および断面の SEM 像

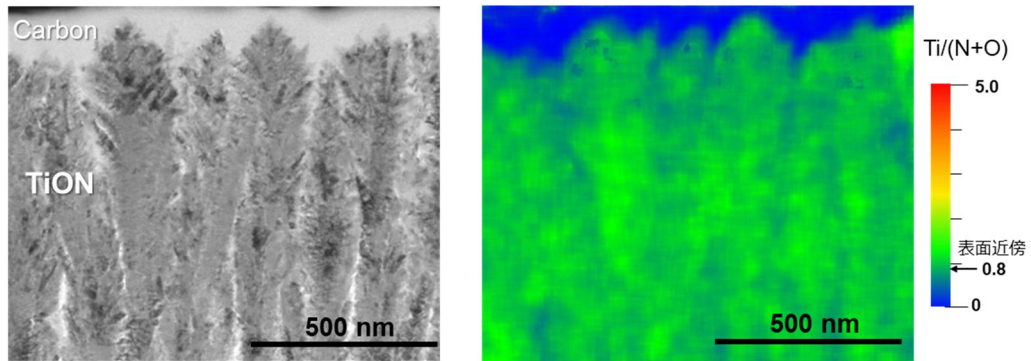


図2 サンプルA膜表面近傍断面のTEM像およびEDS元素比マップ (Ti/(N+O)) : 最表面のN濃度 = 約20 atom%

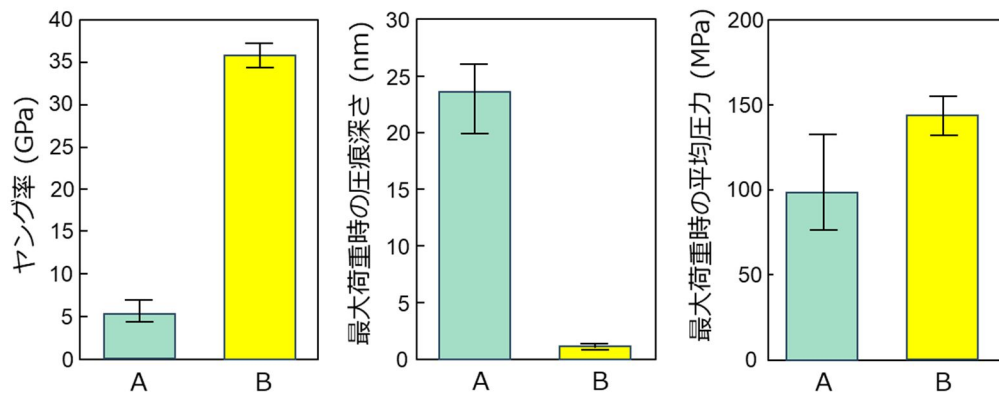


図3 ナノインデンテーション試験により計測した膜の弾性変形域内の特性

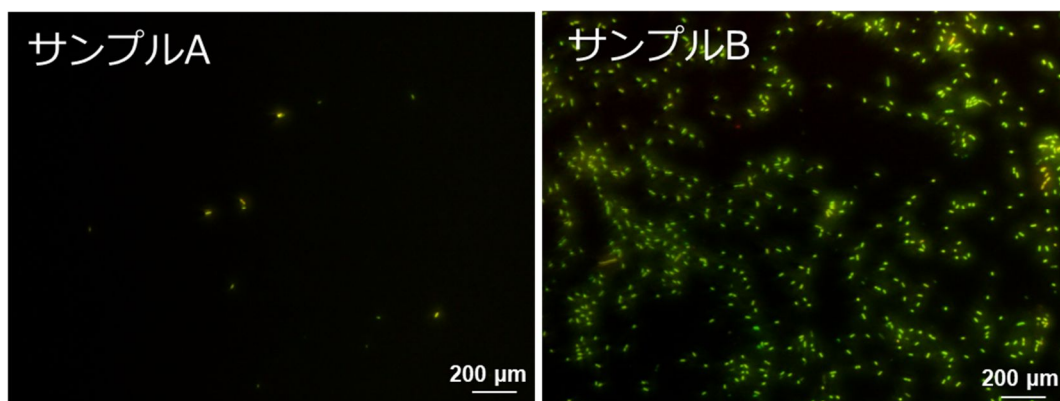


図4 膜の大腸菌に対する抗菌性 (菌を蛍光染色)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1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・山口哲央・橋本壮真・伊藤大志・北岡諭, 金高弘恭
2. 発表標題 抗菌性を発現する棘状表面を有するセグメント構造TiON膜の創成
3. 学会等名 日本セラミックス協会 2024年年会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗菌性セラミックス膜およびその製造方法	発明者 橋本雅美, 北岡諭, 山口哲央, 橋本壮 真, 金高弘恭	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2024-31137	出願年 2024年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

歯学イノベーションリエゾンセンター 異分野共創部門 <a href="http://www.dent.tohoku.ac.jp/field/liaison/02/index.html">http://www.dent.tohoku.ac.jp/field/liaison/02/index.html</a> 東北大学大学院歯学研究科・歯学部 歯学イノベーションリエゾンセンター 異分野融合部門 <a href="http://www.dent.tohoku.ac.jp/field/liaison/02/index.html">http://www.dent.tohoku.ac.jp/field/liaison/02/index.html</a>
---

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)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	橋本 雅美  (Hashimoto Masami)  (20450851)	一般財団法人ファインセラミックスセンター・材料技術研究所・主任研究員    (83906)	
研究協力者	山口 哲央  (Yamaguchi Norio)  (30466289)	一般財団法人ファインセラミックスセンター・材料技術研究所・主任研究員    (83906)	
研究協力者	橋本 壮真  (Hashimoto Soma)	一般財団法人ファインセラミックスセンター・材料技術研究所・技術者    (83906)	

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