

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23659931

研究課題名(和文) 金属製生体材料からの生体・細胞内での微量溶出金属元素の分布・状態評価

研究課題名(英文) Evaluation of distribution and state for the eluted metal elements in the living body and the cells

研究代表者

高師 則行 (TAKASHI, NORIYUKI)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：40312376

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：4種類の歯科用合金を動物皮下に埋入し、埋入部周囲組織中への合金成分元素の移行を微量元素の検出に好適な放射光XRFを用いて分析し、周囲組織中での合金元素分布を可視化した。耐食性の低い非貴金属添加銀合金では、埋入部周囲にAg, Snなどの局在が認められ、より耐食性の高い金銀パラジウム合金やコバルト-クロム合金でも周囲に微量の合金成分元素の局在が確認された。

対象元素の化学状態を識別可能なXAFS測定を併用することにより、組織中の合金元素の殆どが溶出した水和イオン状態か、硫化物(Ag)、酸化物(Cr)として析出したものであることが判明した。

研究成果の概要(英文)：Four dental alloy were implanted in subcutaneous of animal. Migration into the surrounding tissue of the alloy component elements analyzed by using a suitable radiation XRF for the detection of trace elements, and alloy element distribution in the surrounding tissue was visualized.

In the non-noble metal addition silver alloy with low anti-corrosion, Ag and Sn was observed in the surrounding tissue. In cobalt and gold-silver palladium alloy with high anti-corrosion, localization of alloy component elements was confirmed.

It was found that most of the alloying component elements in the tissue were a hydration ion state, the eluted hydration ion or the eluted ion as sulfide (Ag), oxide (Cr) by using the XAFS measurement that can identify the chemical state of the alloy component elements.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：溶出金属

1. 研究開始当初の背景

セラミックスやポリマーの生体材料としての重要性が増しているが、歯科補綴物や歯科・医療用インプラント材料としては依然として信頼性の高い金属材料が広く用いられている。生体内では材料は長期に渡って体液に体温で浸漬され、関節などでは絶えず摩擦も受けるという過酷な条件で使用されるため、生体埋め込み用金属材料としては耐食性の高い貴金属合金類、クロム基やチタン合金、ステンレス鋼等が用いられる。しかしながらこれら高耐食性合金でも長期の使用により腐食により成分元素が溶出したり、強度低下や表面性状の変化を起こすことがある。特に関節など摩擦しやすい環境下では合金の摩耗粉が発生し、その高い比表面積故に高濃度の溶出を起こし、周囲組織への影響や、場合によっては全身の体液循環により金属アレルギーのような全身的な症状を引き起こす可能性もある。これら生体用金属材料の耐食性や溶出総量については多数の研究例があるが、実際に生体組織内での局所的な溶出挙動、特に組織や細胞内の局所での分布やその溶出元素の化学状態について調査した例は少ない。それは実用生体用合金の溶出濃度が極めて低く、元素分布や化学状態を評価する一般的な方法（例えばEPMAやXRD, XPSなど）では検出不可能であるためである。申請者らはこれまでに強力なX線源であるシンクロトロン放射光を用いたX線吸収微細構造 (XAFS)測定により、生体内の微量溶出金属元素の状態分析を行ってきた。放射光は通常のX線源の数桁強い線源であるため、数～数十ppm程度の極めて低い濃度でも、金属元素の生体内での化学状態（金属状態か、イオンか、酸化物かなど）を特定できることを見いだしている。また最近では放射光のビームサイズを1 μ m程度にまで集光して、 μ mレベルでの元素分布分析が可能になっており、細胞内部の元素分布まで測定が可能になってきている。

2. 研究の目的

生体内での金属などの溶出挙動については、周囲組織全体や体液（血液）中の総量測定については多数研究がなされており、周囲への溶出・分布挙動についても著者らは金属種によって拡散状態に差があることを示してきた。蛍光X線顕微鏡によるCu, Ni, Fe埋入周囲数mm領域内での各金属の溶出・拡散状態の評価では、特にNiが微量ながら広範囲に分布して、その領域で強い組織障害が起きることを見いだしている。しかし、耐食性の高い歯科用合金では溶出濃度が低いため、この方法では分析が困難である。また分解能も汎用の蛍光X線顕微鏡では不十分であり、細胞内での分布まで調査することはできない。溶出金属の生体影響を解明するためには、特に細胞内での溶出金属元素の局在や、そこでの金属元素の化学状態（イオン状態から生体由来成分とどのように結合しているか）を調査することが不可欠である。

本研究では、更に微少な領域で微量元素の分布を調査するため、近年開発された放射光を用いた微小部蛍光X線分析を用いて、歯科用合金からの溶出金属元素の微小領域、特に細胞内での μ mレベルでの元素分布測定を目指す。

3. 研究の方法

材料と方法

円柱状(1mm \times 10mm)に鋳造し、アルミナ砥粒で鏡面研磨した金属材料をラット背部皮下に埋入し、3, 6ヶ月後に周囲組織ごと摘出し、10%ホルマリン固定したあと、金属を傷つけないよう抜去して、周囲組織を測定した。

使用する歯科用金属

- (1) スーパーシルバー (松風: Ag 73.0, Zn 16.0, Sn 8.0 (In))
- (2) キャストウエル12 (ジーシー: Ag 46, Pd 20, Cu 20, Au 12 (Zn, Ir, In))
- (3) デントニッケル (松風: Ni 63.5, Cr 15.0, Nb 5.0, Mn 5.0 (Co, Mo, Cu, Al, Si))

(4) コバルタン (松風: Co 63.0, Cr 29.0, Mo 6.0 (Mn, Si, N, C))

分析機器

(1)放射光XRF分析

・高エネルギー加速器研究機構放射光科学研究施設(KEK-PF)

BL-4A (ポリキャピラリー集光によるビーム径:20mm,照射X線エネルギー:12.9keV)

・高輝度放射光施設Spring-8 BL-37XU

(K-Bミラー集光ビーム径: 1mm, 照射X線エネルギー: 30keV)

(2)XAFS測定

KEK-PF BL-9A, PF-AR NW10A

(19素子SSDを用いた蛍光法)

4. 研究成果

(1)非貴金属添加銀合金(スーパーシルバー)

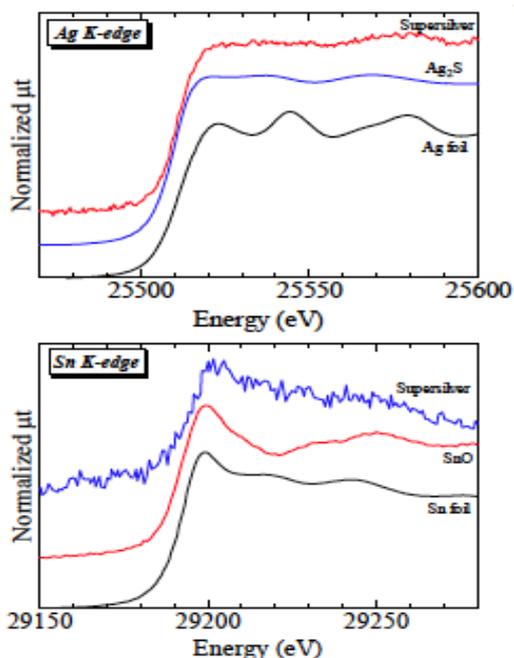


Fig. スーパーシルバー埋入周囲組織のAgおよびSn K端XAFSスペクトル

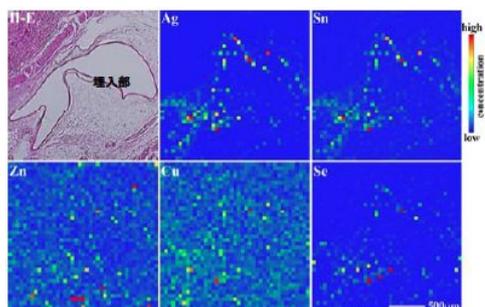


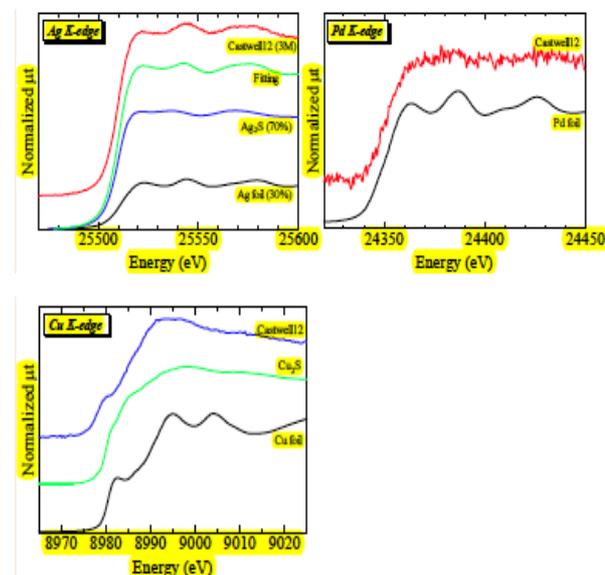
Fig. スーパーシルバー埋入周囲組織のSR-XRFによる元素分布像

銀合金(スーパーシルバー)埋入部周囲に主成分であるAgとSnと局在が見られる。

Zn, Cuは周囲に広く存在が見られるが、生体内にも含まれる元素のため、合金由来かの識別は困難。生体由来のSeもAg局在部周囲に集積していることが分かる。金属埋入部周辺に観察されるAgやSnが銀合金の物理的脱落物(摩耗粉など)か溶出に起因するかを知る必要がある。

XAFSスペクトルから、Agは金属状態ではなく、硫化物として存在することが判明。溶出したAgが硫化物として析出したと推測された。

(2)金銀パラジウム合金(キャストウエル12)



金銀パラジウム合金では周囲組織中への溶出量が極めて少ないため、元素分布像は得られなかった。但し、乾燥標本全体で分析すると、Ag, Pd, Cuが検出され、Agは一部が金属状態(埋入試料表面の研磨残渣と推定)だが、大部分は非貴金属添加銀合金と同様に溶出し、硫化物で蓄積したと考えられる。

(3)ニッケルクロム合金(デントニッケル)

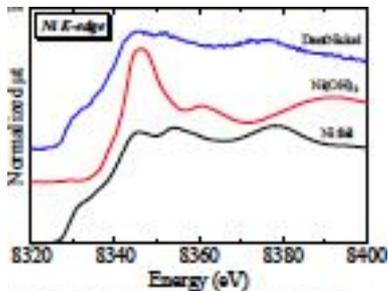


Fig. デントニッケル埋入周囲組織のNi K端XAFSスペクトル

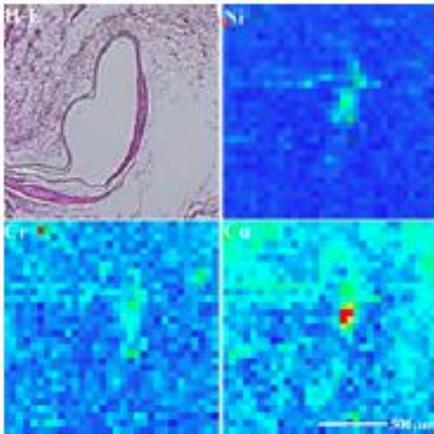


Fig. デントニッケル埋入周囲組織のSR-XRFによる元素分布像

ニッケル - クロム合金周囲にはNiとCuの局在が認められた。Ni K端XAFSスペクトルは金属Niに近く、当該組織中のNiは金属状態で有り、溶出物では無く、debris由来と推測された。

(4) コバルトクロム合金 (コバルタン)

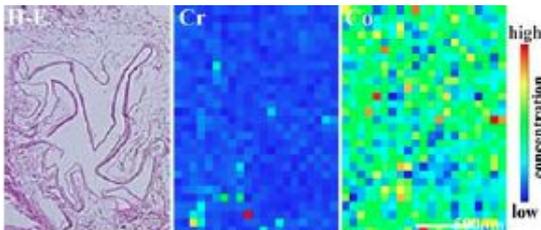


Fig. コバルタン埋入周囲組織のSR-XRFによる元素分布像

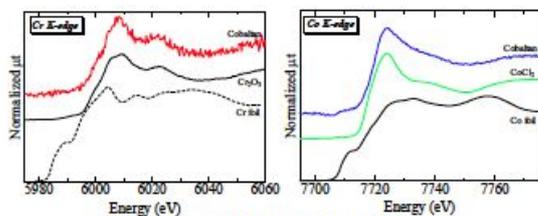


Fig. コバルタン埋入周囲組織のCrおよびCo K端XAFSスペクトル

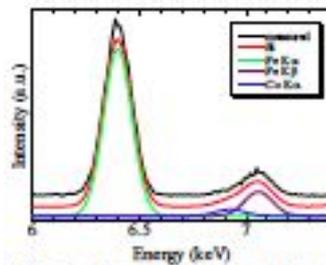


Fig. Co濃縮部のXRFスペクトル

コバルト - クロム合金は耐食性が高く、周囲組織中への溶出量が少ないため、元素分布ではCrの僅かな局在が確認されたのみであった。

乾燥標本では組織中のCo, CrのXAFSスペクトルが測定可能で、組織中に微量ではあるが、埋入金属試料由来のCo, Crが組織中に移行していることが分かった。組織中のCoのXAFSスペクトルはCoCl₂のそれに類似し、金属Coとは大きく異なることから、組織中のCoが水和イオン状態で有り、溶出したCoに由来すると推定された。同様にCrも金属CrではなくCr₂O₃に近い形態を示した。

試料から検出されたCo, Crは埋入試料からのdebrisではなく、溶出したイオンかそこから生成した酸化物であり、組織中でのコバルト - クロム合金の溶出が確認された。

4種類の歯科用合金を動物皮下に埋入し、埋入部周囲組織中への合金成分元素の移行を微量元素の検出に好適な放射光XRFを用いて分析し、周囲組織中での合金元素分布を可視化した。耐食性の低い非貴金属添加銀合金では、埋入部周囲にAg, Snなどの局在が認められ、より耐食性の高い金銀パラジウム合金やコバルト - クロム合金でも周囲に微量の合金成分元素の局在が確認された。

対象元素の化学状態を識別可能なXAFS測定を併用することにより、組織中の合金元素の殆どが溶出した水和イオン状態か、硫化物 (Ag)、酸化物(Cr)として析出したものであることが判明した。

以上より、放射光XRFおよびXAFS測定は生体組織中の微量金属の分布および金属の化学状態分析に有用であることが判明した。

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0件)

[学会発表](計1件)

1. 宇尾基弘、杉山知子、神部芳則、草間幹夫、尾曲大輔、小宮山一雄、高師則行、鄭漢忠、各種歯科用合金からの溶出合金元素の分布および状態分析、第68回日本口腔科学会学術集会、2014年5月7日-2014年5月9日、京王プラザホテル(東京)

6. 研究組織

(1)研究代表者

高師 則行 (TAKASHI NORIYUKI)
北海道大学・北海道大学病院・助教
研究者番号：40312376

(2)研究分担者

宇尾 基弘 (UO MOTOHIRO)
東京医科歯科大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：20242042

(3)連携研究者

なし