

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：13201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20505

研究課題名（和文）バイオフィーム形成を抑制する疲労による金属表面の創生

研究課題名（英文）The creation of metal surfaces that inhibit biofilm formation by fatigue-induced method

研究代表者

岩崎 真実（Iwasaki, Mami）

富山大学・学術研究部工学系・助教

研究者番号：00965973

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：安価な手法によって、医療材料金属表面に抗菌性のあるマイクロテクスチャーを創生することを本研究の目的とした。評価方法として、表面粗さ、撥水性、抗菌性および生物付着性を調査した。独特なマイクロテクスチャーによる抗菌性が向上した金属表面創生に成功した。また、表面粗さ増大とともに撥水性と生物付着抵抗性向上を確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

独特の手法であるマイクロテクスチャー創生による表面粗さと撥水性、抗菌性および生物付着性の関係を明らかにできたことにより、以下の意義がある。

学術的意義：異なるマイクロテクスチャー創生方法であっても、表面粗さから表面特性の予測ができる。そして、期待する効果を持つ金属表面を時間と予算コストを削減して、効率良く生み出すことができる。

社会的意義：安価な本手法により創生したマイクロテクスチャーによる抗菌性のある医療材料金属製品を医療現場に導入することにより、予算コストをかけずに、感染症を防ぐことが期待できる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to create antimicrobial micro-textures on medical material metal surfaces by inexpensive methods. Surface roughness, water repellency, antimicrobial properties and bioadhesion were investigated as evaluation methods. A metal surface with improved antimicrobial properties due to the unique micro-texture was successfully created. In addition, water repellency and improved biofouling resistance were confirmed as surface roughness increases.

研究分野：生体医工学

キーワード：医療材料金属 撥水性 抗菌性

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

医療現場において人工関節、脊椎固定器具などの人工物の表面に形成された黄色ブドウ球菌や大腸菌のバイオフィームが難治性の感染症を引き起こすバイオフィーム感染症が、外科系診療科をはじめ全ての診療科において問題となっている。抗菌薬存在下では増殖不可能だが死滅もせず、抗菌薬濃度が低下すると再び増殖を開始するという、抗菌薬を投与による除菌効果が得られない感染症であり、また生体の防御機構からも逃れやすいために治療が困難になる。そのため、根本的な予防法の開発は急務であり、バイオフィーム形成を抑制する医療素材の開発が重要となる。

これまでに報告されている抗菌性のある金属表面創生方法としては、ポリマー等でのコーティング (M. Miola et al. *Acta Biomate.*, 2019, H. Ishihama et al. *Sci. Rep.*, 2021) や、抗菌性がある銀を配合もしくは覆う方法 (Y. Zhang, et al. *Mater. Sci. Eng. C*, 2020, T. Odatsu, et al. *Antibiotics*, 2020)、レーザー加工 (A. Cunha et al. *Appl. Surf. Sci.*, 2016) など機械加工でのマイクロテクスチャーの生成による撥水性と生物付着抵抗性向上が挙げられる。しかしながら、これらの方法においては、抗菌性が不十分、コストがかかる等、医療現場への実用化には問題が多く、解決すべき課題が残っていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、バイオフィーム形成を抑制するため、抗菌性に優れた医療材料金属表面を創生することである。抗菌性に繋がる撥水性と生物付着抵抗性に優れた凸凹な金属表面 (マイクロテクスチャー) をコストのかからない新規手法により創生する。

3. 研究の方法

(1) 試料：純チタン 2 種 (CP-Ti)、チタン合金 (Ti-6Al-4V)

鏡面仕上げを行ったロット形試験片 (Φ6 mm)

鏡面仕上げを行った短冊形試験片 (100 mm x 10 mm x 1 mm)

(2) 金属表面マイクロテクスチャー創生方法：

金属疲労試験 (ねじり試験および引張り試験) を実施する。破断前の段階で独特なマイクロテクスチャーが創生される。

(3) 試験試料表面観察：デジタルマイクロスコープ VHX7000 (キーエンス) および低真空電子顕微鏡 Miniscope TM4000Plus II ((株) 日立ハイテク) にて試料表面観察・表面粗さの評価を行う。三次元マッピングは、Hitachi map 3D ソフトを用いて行う。

(4) 撥水性試験：接触角測定装置 DropMaster700 (協和界面科学 (株)) を用いて、純水を滴下し、接触角を測定する。接触角が 90° 以上を撥水、150° 以上を超撥水という。接触角が大きいほど撥水性が高く、抗菌性が高い可能性がある。

(5) 抗菌性試験：大腸菌を用いて、JIS Z2801 フィルム密着法に準じた手法を用いてプレートカウント法による評価を行う。寒天培地上に形成されるコロニー数をカウントする。コロニーが少ないほど、抗菌性が高いと判断する。ロット試験片については、シェーク法を用いた。(黄色ブドウ球菌の試験は実施予定であったが実施できなかった。)

(6) 生物付着性試験：マウス骨芽前駆細胞株 (MC3T3-E1) を試料表面に播種し、37°C・5% CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養を行う。メイグリンワルド・ギムザ (MGG) 染色

を行い、試料に生着した細胞数をカウントする。ランダム5視野の細胞数の平均を算出する。観察はデジタル顕微鏡VHX7000（キーエンス）にて行う。細胞数が少ないほど、生物付着性が低く、抗菌性が高い可能性がある。

4. 研究成果

ねじり試験でのマイクロテクスチャー創生（すべり帯）は、CP-Tiでのみ確認することができた。抗菌性試験を実施したところ、マイクロテクスチャー創生試料において、コロニー数が増加し、抗菌性の確認はできなかった。この理由として、溝状になったマイクロテクスチャーに大腸菌が入り込み、増殖しやすい環境になったためと考えられる。

引張り試験のマイクロテクスチャー創生は、CP-TiおよびTi-6Al-4Vの両方で確認することができた。しかし、Ti-6Al-4Vはリューダース帯（すべり帯）が肉眼観察できる破断寸前の段階でなければ、顕微鏡レベルにおいても表面形状の変化は見られなかった。そのため、本報告ではCP-Tiに重点を置いて報告する。

CP-Tiにおいて、引張り試験条件をストローク5 mm、7.5 mm、10 mmの3段階で中断し、表面観察を行った（Fig. 1）。引張り無し、5 mm、7.5 mm、10 mmの順に表面粗さが増大した。

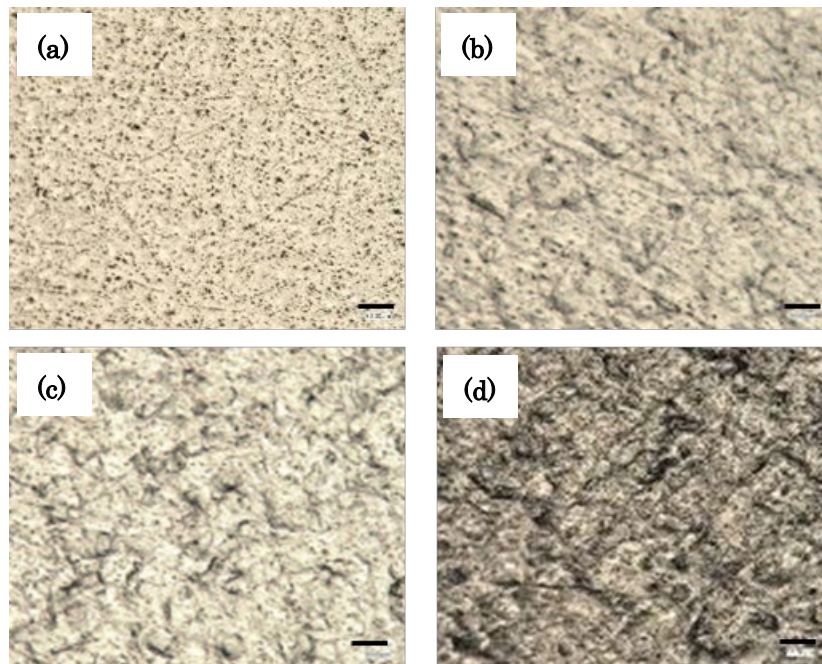


Fig. 1 金属表面観察画像

(a) 引張り無し (b) 5 mm (c) 7.5 mm (d) 10 mm

500倍、スケールバー 50 μm

接触角も引張り無し、5 mm、7.5 mm、10 mmの順に増大し、撥水性の向上を確認することができた。抗菌性に関しては、5 mm、7.5 mmおよび10 mmにおいて、引張り無しよりもコロニー数の減少が確認できた。しかし、表面粗さ増大とコロニー数に相関関係は見られなかった。

代表して、引張り無しと10 mmの結果を示す。Ra値は引張り無しおよび10 mmが、それぞれ1.87および3.50であった。寒天培地上の大腸菌コロニーの画像をFig. 2に、試料あたりのコロニー数のグラフをFig. 3に示す。10 mmにおいて、コロニー数が減少傾向であることを確認することができたが、個体差が大きく、統計学的有意差はなかった。

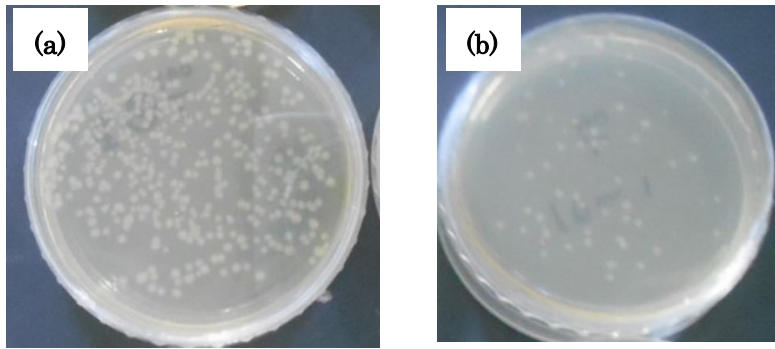


Fig. 2 寒天培地上のコロニー画像
(a) 引張り無し (b) 10 mm

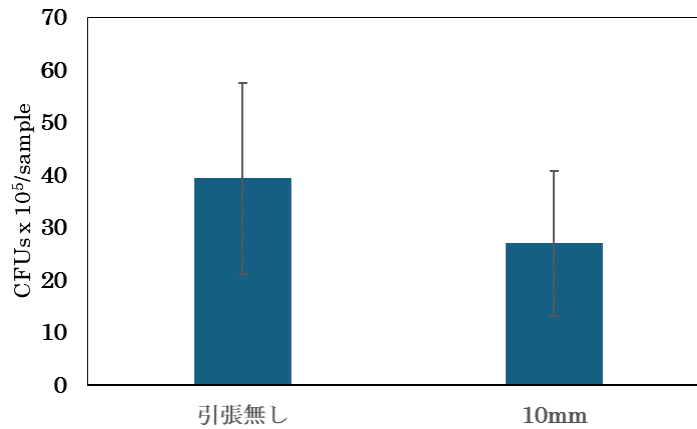


Fig. 3 試料あたりのコロニー数

生物付着性試験においては、引張り無し、5 mm、7.5 mm、10 mm の順に細胞数の減少を確認することができた (Fig. 4)。表面粗さ増大によって、細胞接着を阻害していることが分かった。このことは、抗菌性にも通ずる結果と言える。

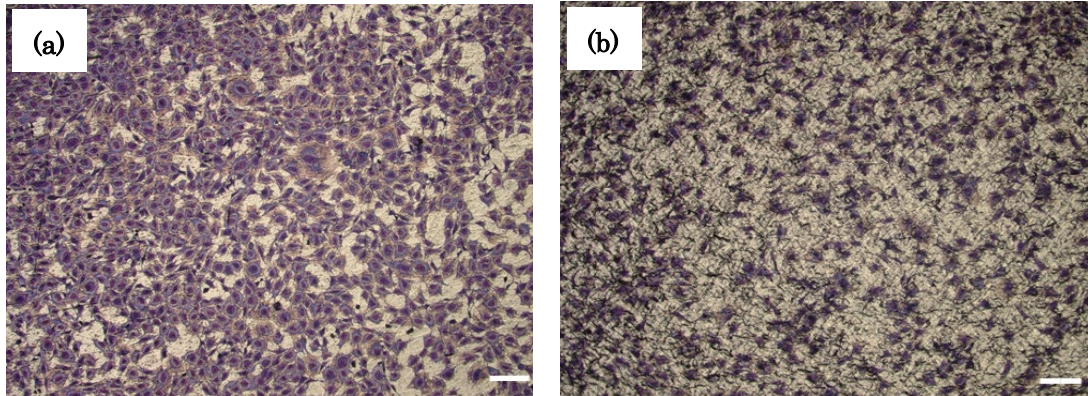


Fig. 4 金属表面上の細胞接着の様子
(a) 引張り無し (b) 10 mm
200 倍、スケールバー 200 μ m

まとめ: 安価な手法により、純チタンを対象に独特なマイクロテクスチャー創生に成功し、撥水性の向上、抗菌性向上および細胞付着抵抗性向上を確認することができた。しかし、マイクロテクスチャーによる表面粗さ増大と抗菌性には相関関係は見られず、さらなる検証を要する。

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 岩崎真実、四方拓海、高木基暉、増田 健一、小熊 規泰
2. 発表標題 新規手法による撥水・抗菌性のある医療材料金属表面の開発
3. 学会等名 日本機械学会 2023年度年次大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------