

平成 30 年 9 月 11 日現在

機関番号：32650

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07214

研究課題名(和文) 歯周病原菌が産生する硫化物によるチタンインプラントの腐食挙動の解明

研究課題名(英文) Corrosion behavior of titanium in response to sulfides produced by Porphyromonas gingivalis

研究代表者

原田 麗乃 (Harada, Rino)

東京歯科大学・歯学部・非常勤講師

研究者番号：30778642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：口腔内細菌P. gingivalisが産生する揮発性硫化物によるチタンの耐食性への影響について評価検討を行った。

P. gingivalisを純チタンの組成分析、構造変化の調査、表面反応を検討した。評価は7日と14日で行った。硫化物を測定したところ、細菌の培養後の溶液からは十分な硫化水素とメチルメルカプタン類が検出された。結果として、14日間という浸漬期間ではP. gingivalisの放出する揮発性硫化物によるチタンの腐食は見られなかった。変色、光沢度の変化、チタンの溶出は見られなかった。しかし、チタンの表面からは溶液中に含まれている硫黄が検出された。

研究成果の概要(英文)：The purpose was to investigate the effects of sulfides produced by P. gingivitis on the corrosion behavior of titanium.

Titanium disks were mirror-polished and immersed in culture medium (BHI), spent medium (BHI-S), and culture medium with P. gingivalis (BHI-P), and incubated aerobically at 37 °C for 14 days. Titanium corrosion was evaluated through surface observation, color change (E*ab), glossiness (Gs(20°)), chemical composition and state (XPS), and titanium release.

E*ab and Gs(20°) did not significantly differ and no visible signs of localized or overall corrosion were observed. XPS analysis indicated sulfide and sulfate peaks on BHI-S and BHI-P. Valency fraction of titanium decomposed from Ti2p spectrum of BHI-S and BHI-P specimens indicated no progression of oxidation. Results suggested that sulfides produced by P. gingivalis attached on the surface of titanium specimens but did not cause titanium corrosion over the immersion period of 14 days.

研究分野：歯科材料

キーワード：チタン 腐食 インプラント

1. 研究開始当初の背景

歯科用インプラントに用いられているチタンは表面の不動態被膜によって生体親和性を示すとともに耐食性を維持している。しかし、インプラント周囲炎により除去したインプラントに変色が認められた報告もあり、チタンは口腔内では腐食される可能性がクローズアップされている。申請者はこれまで硫化物溶液 (Na₂S) 中でのチタンの腐食について、溶液中の硫化物濃度および pH に依存して変色が起こることを示し、その変色は表面の酸化反応により形成する厚い酸化膜が原因であることを明らかにした。本研究では、インプラント周囲に多く検出される口腔内細菌の代謝産物、特に揮発性硫化物に着目し、その硫化物が歯科用インプラント材料として使用されているチタン合金の腐食の影響について調査した。

2. 研究の目的

Porphyromonas gingivalis (*P.gingivalis*) が生産する硫化物がチタンの腐食挙動を調べると共に、その腐食機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

鏡面研磨したチタン試料 (MP) を培養液 (BHI)、細菌培養後の培養液 (揮発性硫化物を含む溶液: BHI-S)、そして *P.gingivalis* を含む培養液 (揮発性硫化物、及び細菌を含む溶液: BHI-P) を 37 に保持した恒温槽中で、3 日から 14 日間嫌気培養した (図 1)。種々の期間経過後、各溶液から試料を取り出し、資料の色調 (E*ab) 及び光沢度 (Gs (20°)) を測定するとともに、走査型電子顕微鏡 (SEM) で表面観察を行った。一方で、浸漬後の溶液を高周波誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-OES) より溶出したチタン濃度を調べた。また、一部の試料では X 線回析装置 (XRD) および X 線光電子分光分析装置 (XPS) を用いて表面分析を行い、硫化物溶液中でのチタンの表面反応を調査した。細菌の交差汚染を予防、そして十分な硫化物が検出されるように、培地の pH と硫化物濃度をモニタリングした。

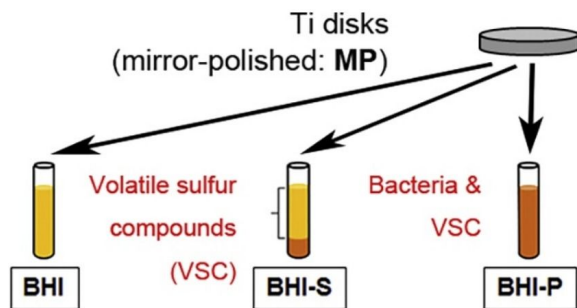


図 1. 実験に使用された溶液

4. 研究成果

pH は BHI で 6.5 - 6.9、BHI - S で 7.2 - 7.7、BHI-P で 6.5 - 8.1 の範囲であった。BHI-S 及び BHI-P の pH は細菌培養前の BHI より高かった。揮発性硫化物の量は H₂S が BHI-S については 1.5 - 2ppm、BHI-P については 20 - 70ppm あり、メルカプタン類は BHI-S については 0.5 - 1.5ppm、BHI-S については 10 - 50ppm 検出された。この研究で検出された VSC の量は通常の口腔内より約 100 倍高いが、細菌のバイオフィームが形成されたインプラント表面では VSC レベルが局所的にかなり上昇することが考えられるため、これらの値は適切と思われる。SEM 観察、ならびに pH の増加と VSC の産生から、BHI-P 表面の *P.gingivalis* の付着および増殖は確認された (図 2)。

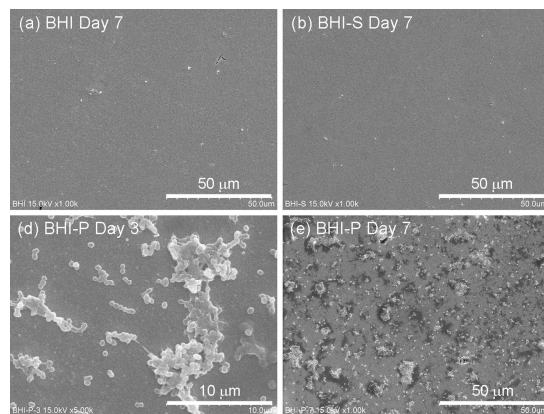


図 2. 培養後、溶液から取り出したチタン試料表面 SEM 像

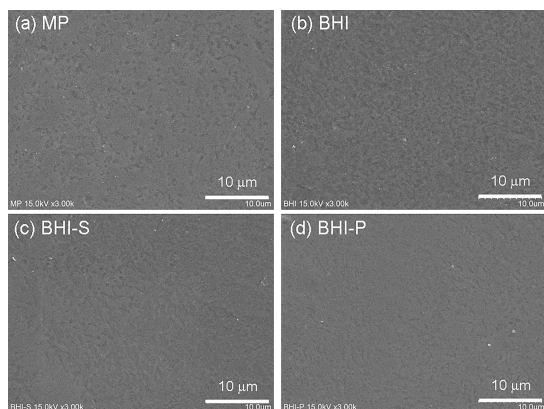


図 3. 培養後のチタン試料洗浄後の SEM 像

SEM による表面観察から、チタンの表面からは全体的、または局所的な腐食はみられなかった (図 3)。

E*ab と Gs (20°) は BHI、BHI-S、BHI-P どの溶液に浸漬した試料、そしてどの期間でも試料の間で有意な差はみられなかった (p>0.05) (図 4)。

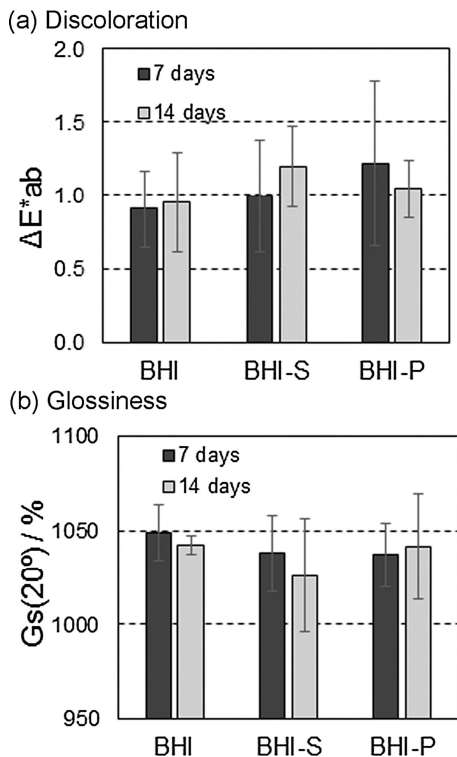


図4 . チタン試料の変色 E^*ab (a) と光沢度 $Gs(20^\circ)$ (b) の継時的変化

XPS 分析において、すべてのチタン試料の表面からチタン、酸素、炭素、そして微量の窒素などが検出された。BHI-S 及び BHI-P では硫化物及び硫酸塩が検出された (図 5)。

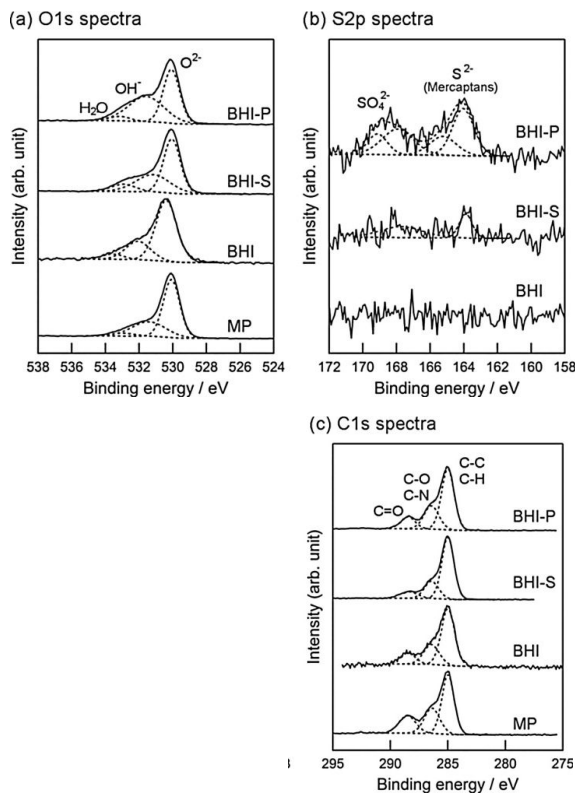


図5 . XPS 分析により検出された元素のスペクトル

BHI-P の Ti-2p スペクトルから分散されたチタンの表面の Ti^0/Ti^{4+} の値は酸化の進行を示さなかった (図 6)。

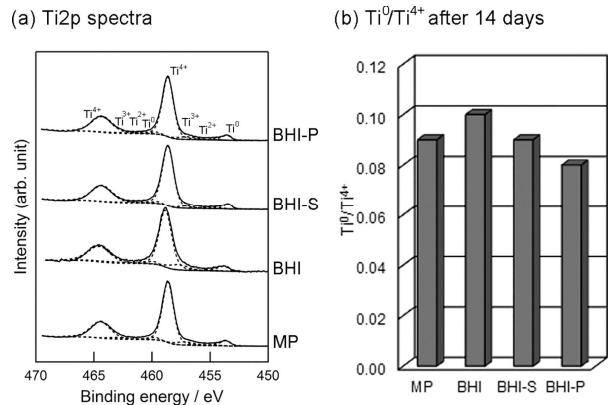


図6 . BHI-P の Ti-2p スペクトル (a) から分散されたチタンの表面の Ti^0/Ti^{4+} の値 (b)

すべての試料において、チタン溶出量は $0.02 - 0.08 \mu g/cm^2$ の範囲であった。チタンはどの溶液からも検出されたが、極めて微量で、溶液間での有意差も認められなかった。

以前の研究で、硫化物濃度および pH の異なる硫化物溶液中でのチタンの腐食挙動について検討し、アルカリ性の溶液中では硫化物の濃度に依存してチタンの変色が起こることを示した。さらに、その変色の要因がチタン表面で起こる酸化反応により形成する厚い酸化膜によるものであることを明らかにした。P. gingivalis の産生する硫化物を含む実験では、すべての溶液の pH は中性に近く、酸化膜の形成によるチタンの腐食は認められなかった。これは中性付近ではチタンの腐食は起こらないという以前の研究結果と一致していた。pH8 付近の溶液はあったが、変色や光沢度に有意な差は認められなかった。溶液の pH を 8 以上に増加させ、かつ硫化物を産生する細菌が存在するとしたら、よりアルカリ性になることで腐食挙動が異なる可能性があることが考えられる。

Rodrigues らによると、インプラント周囲炎により患者の口腔内から除去したインプラントの表面を観察した所、ピットング腐食しており、そこから硫黄を含む腐食生成物が検出されたと報告されている。彼らはインプラントの微小運動と酸性条件との相乗作用により酸化膜が破壊され腐食に繋がったと報告している。我々の研究で使用された溶液は酸性ではないが、表面に硫黄が検出されたことで一致している。これは原因は明らかではないが、口腔内でチタンを腐食させてしまう要因が存在し、硫黄がその機構に関わっている可能性を示している。

今回の実験では硫化物を測定したところ、細菌の培養後の溶液からは十分な硫化物とメチルメルカプタン類が検出された。

結果では *P. gingivalis* 及び産生する硫化物はチタンの表面に付着するが、14 日間の浸漬期間では、腐食は起きないことが明らかになった。

<引用文献>

D. Rodrigues, P. Valderrama, T. Wilson, K.. Palmer, A. Thomas, S. Sridhar, et al. Titanium corrosion mechanisms in the oral environment: a retrieval study. *Materials*, 6(2013), pp5258-5274.

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1件)

Harada, Rino, Kokubu, Eito, Kinoshita, Hideaki, Yoshinari, Masao, Ishihara, Kazuyuki, Kawada, Eiji, Takemoto, Shinji, Corrosion behavior of titanium in response to sulfides produced by *Porphyromonas gingivalis*. *Dental Materials*, 34, 2018, 183-191.

DOI :

<http://doi.org/10.1016/j.dental.2017.10.004>

[学会発表](計4件)

Harada, Rino. Corrosion behavior of titanium in response to sulfides produced from *Porphyromonas gingivalis*. 24th World Congress on Dentistry and Oral Health, 2017.

Harada, Rino. Corrosion of Titanium in Response to Sulfides from *Porphyromonas gingivalis*. International Dental Materials Congress, 2016.

Harada, Rino. Discoloration of titanium in response to sulfides released by *Porphyromonas gingivalis*. International Dental Materials Congress, 2016.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田麗乃 (HARADA, Rino)
東京歯科大学・歯学部・非常勤講師
研究者番号 : 30778642