

令和元年5月23日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15798

研究課題名(和文) ジルコニアおよびチタン表面への軟組織接着機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of soft tissue adhesion mechanism to zirconia and titanium surfaces

研究代表者

埴 隆夫 (Hanawa, Takao)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：90142736

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：純水およびハanks液に浸漬前後のイットリア安定化ジルコニア(Y-TZP)表面の変化についてXPSを用いて解析した。Y-TZPは水分子と反応して、Y-TZP表面の水酸基が増加した。また、Y-TZPはハanks液と反応して、Y-TZP表面の水酸基が増加し、さらにリン酸基を形成した。一方で、ハanks液に浸漬したY-TZP表面においてカルシウムは検出されなかった。したがって、生体環境下においてY-TZP表面にリン酸化合物は形成されるものの、リン酸カルシウムは形成しないことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

イットリア安定化ジルコニア(Y-TZP)は人工股関節や歯科材料として臨床応用されている。Y-TZPは硬組織と化学的に直接結合しない一方で、軟組織とは直接結合するが、その結合メカニズムは解明されていない。これまでにY-TZPへCO₂レーザー照射し、表面濡れ性向上によるY-TZPの接着性を改善する研究などが行われてきたが、Y-TZP自体に対する解析は行われていなかった。本研究によって、Y-TZPが軟組織と接着するが硬組織とは結合しないメカニズムを明らかにすることができた。

研究成果の概要(英文)：Change in surface chemical state of yttria-stabilized zirconia (Y-TZP) before and after immersion in water and Hanks' solution was characterized using XPS. Y-TZP reacted with water molecules and surface hydroxyl groups increased. In Hanks' solution, Y-TZP reacted with phosphate ions as well as water molecules and phosphate was formed in the addition of the increase of hydroxyl groups, while calcium ion was not incorporated and calcium phosphate was not formed on itself.

研究分野：生体材料学

キーワード：イットリア安定化ジルコニア チタン ハanks液 表面反応 表面分析 軟組織接着

1. 研究開始当初の背景

歯科インプラントにおいては、チタンと結合上皮との結合が重要であり、周囲炎の主因であると言ってもよいにも関わらず、未解決の問題として残っている。一方、アバットメントとしてはイットリア安定化ジルコニア (YSZ) も使用されるようになってきている。YSZ は化学的に安定であり軟組織との接着は期待できないにも関わらず、臨床現場では軟組織と比較的よく接着するという報告が多くなっている。このような表面科学的視点と臨床成績との矛盾は、ハードマテリアルと生体組織との反応が完全に解明されていないために起こるものである。生体組織側の反応については主に界面組織の観察から、かなり明らかになりつつある。しかし、人体内における生命現象は、体液中における物理化学反応あるいは生体組織表面・細胞膜表面における生化学反応が担うため、マテリアルの生体反応を解明するためには、材料 - 生体組織インターフェース反応の解明が必須である。この反応を規定するのはマテリアル表面の性質であり、これを明らかにすることが、臨床上で観察される現象を説明するために必要となる。

2. 研究の目的

本研究は、生体擬似環境におけるジルコニアおよびチタン表面の組成と化学的状態の変化の厳密な解析を通じて、これらと生体組織との界面反応機構を探る点で独創的であり、従来の材料表面に形成した生体組織の観察から機構解明を行う研究手法とは異なるものである。歯科インプラント周囲炎防止のため、ジルコニア・チタン表面と軟組織との接着機構を表面科学的手法によって明らかにすることを旨とする。本研究は現象論に留まらず、その機構を明らかにして汎用的技術の創製を目指すことから、生体機能材料の応用に留まっている従来の研究手法とは異なる学術発展の方向性を提案する点でチャレンジングである。

3. 研究の方法

(100)面、(110)面、(111)面を表面とする単結晶ジルコニア (YSZ) 3種類、2種類の市販Y-TZP (KATANA、ZR-SS)、チタン (2種) の各試料に対して、純水 (Direct-Q UV 3、メルク製) に室温で60日間浸漬した。また、各試料を調製したハンクス液に室温で7日間浸漬した。浸漬前後の試料に対して、XPS (JPS-9010MC、JEOL製) により測定を行った。測定は MgK α 線 (1253.6 eV) を照射し、試料面に対して 90 $^\circ$ の方向へ放出された光電子を検出した。はじめに結合エネルギー範囲0 ~ 1200eVについて走査 (サーベイ分析) し、検出されたZr 3d、Y 3d、Ti 2p、O 1s、P 2p、Ca 2p、Ca 2s、N 1s、K 2p、S 2p、Cl 2p、Na 1s、C 1s および価電子帯について高分解能で分析した。測定された結合エネルギーは、表面汚染層の炭化水素に由来するC 1s の結合エネルギーを285.0 eVとして補正した。各電子のエネルギー領域のスペクトルを化学状態に従って分離し、その積分強度および実測値に基づく光イオン化断面積によって定量を行った。

4. 研究成果

XPS 分析の結果、浸漬前のYSZにおいてZr 3d、Y 3d、O 1s、C 1sのスペクトルが検出された。Zr 3dはZr 3d_{5/2}とZr 3d_{3/2}に分離され、Zr⁴⁺の酸化状態で存在していた。Y 3dはY 3d_{5/2}とY 3d_{3/2}に分離され、Y³⁺の酸化状態で存在していた。O 1sはO²⁻、OH⁻、H₂Oに分離された。YSZ(100)の組成はZr 29.0 at.%, Y 6.3 at.%, O 64.7 at.%で、Oの存在割合は、O²⁻ 0.86、OH⁻ 0.10、H₂O 0.04であった。YSZ(110)の組成はZr 28.3 at.%, Y 8.1 at.%, O 63.6 at.%で、Oの存在割合は、O²⁻ 0.85、OH⁻ 0.11、H₂O 0.04であった。YSZ(111)の組成はZr 28.3 at.%, Y 6.5 at.%, O 65.2 at.%で、Oの存在割合は、O²⁻ 0.86、OH⁻ 0.10、H₂O 0.04であった。次に純水に浸漬後のYSZ面もZr 3d、Y 3d、O 1s、C 1sが検出され、各スペクトルを分離した結果、浸漬前のYSZと同様の化学的状態であった。組成については、浸漬1日後は浸漬前と同様であったが、浸漬60日後はOH⁻が増加し、YSZ(110)面が最もOH⁻が増加した。図1に示すように、ハンクス液に浸漬後のYSZは、P 2pスペクトルも検出され、HPO₄²⁻とPO₄³⁻に分離された。表1に示すように、Pの組成は0.6 ~ 0.9at.%であった。一方、KATANA、ZR-SSにおいても同様に、純水浸漬後にOH⁻が増加し、ハンクス液浸漬後にリン酸状態のPを検出した。さらに、チタンにおいては、ハンクス液浸漬後にリン酸に加えてCa²⁺状態のCaを検出した。

本研究では、初めにジルコニア結晶面による特性を調べた。YSZ(100)面およびYSZ(111)面の投影図と異なり、YSZ(110)面の投影図ではカチオン (Zr⁴⁺またはY³⁺) が結晶格子の中央に存在していないため、O²⁻同士が隣り合い静電的に不安定な構造となっている。ZrO₂がY₂O₃に置換することで、O原子の欠損V_oが生じ、O²⁻同士が隣り合う構造が解消される。その結果、YSZ(100)面のO 64.7at.%およびYSZ(111)面のO 65.2at.%に対し、YSZ(110)面のOが63.6at.%と低かったと考えられる。

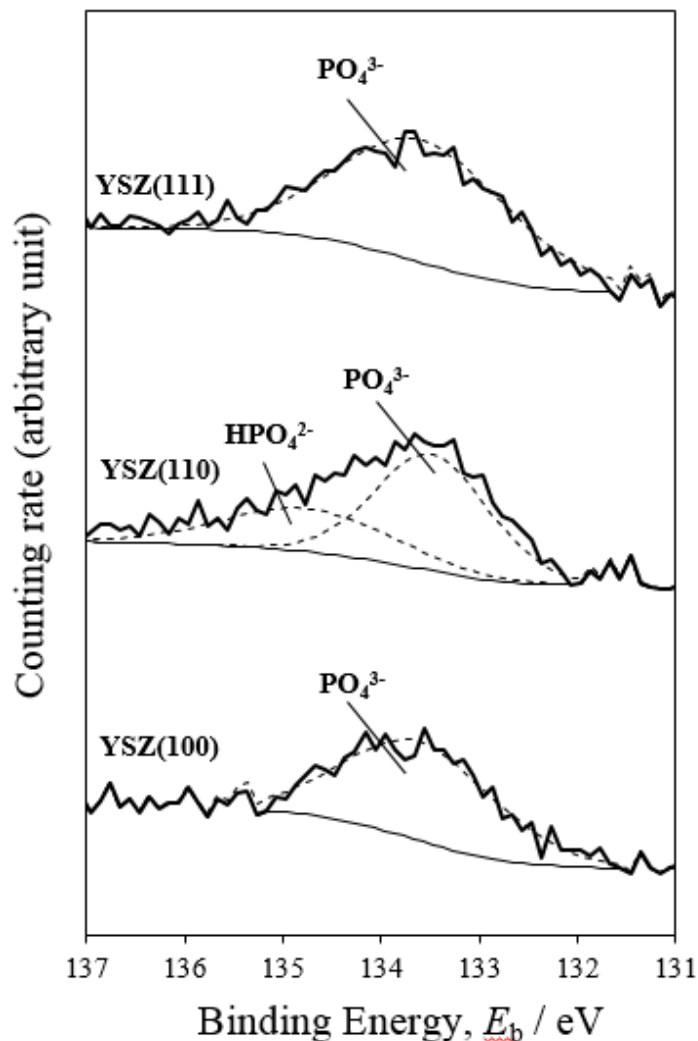


図1 各結晶面のYSZをHanks溶液に7d浸漬後のP 2p領域XPSスペクトル

表1 各結晶面のYSZをHanks溶液に7d浸漬後の各元素の相対濃度と酸素の各状態の割合

Specimen	Relative concentration (at.%)				Proportion of O species		
	Zr	Y	O	P	O ²⁻	OH ⁻	H ₂ O
YSZ (100)	28.0	6.2	65.2	0.6	0.84	0.11	0.05
YSZ (110)	27.9	8.0	63.2	0.9	0.84	0.12	0.04
YSZ (111)	27.1	6.4	65.6	0.9	0.86	0.10	0.04

次に、純水に60日間浸漬したYSZ表面の水酸基の量YSZ(110)面>YSZ(100)面>YSZ(111)面からYSZの結晶面による安定性は、YSZ(110)面<YSZ(100)面<YSZ(111)面といえる。この結果はYSZと結晶構造の類似するCaF₂(100)、CaF₂(110)の表面エネルギーに比べてCaF₂(111)の表面エネルギーが最も小さい既報と一致した。YSZ(110)面の表面エネルギーが他の結晶面に比べて高いため、YSZ(110)面がより多く水分子と反応した結果、水酸基の量が多かったと考えられる。また、多結晶から成るY-TZPにおいても(110)面が優先的に周囲の水分子、電解質と反応すると考えられる。

次に、Y-TZPはハックス液中のリン酸イオンと反応しY-TZP表面に取り込むことを確認できた。このリン酸イオンは、Y-TZP表面の水酸基と水素結合により結合していると考えられる。この結合メ

カニズムは、歯質にジルコニアを接着させる際に用いるプライマーの成分である、リン酸エステル系モノマー (MDP) のリン酸基がジルコニア表面の水酸基と水素結合により相互作用することと一致する。尚、水酸基およびリン酸基はタンパク質と反応する重要な因子と知られており、水酸基はチタンにおいてフィブロネクチンの吸着を促進することが報告されている。リン酸は、タンパク質中のセリン、トレオニン、チロシン、ヒスチジン、アルギニン、リシン残基に付加するリン酸化反応に寄与する。軟組織形成に関わるフィブロネクチンのような接着性タンパク質が Y-TZP 表面の水酸基およびリン酸基を介して Y-TZP と結合し、接着性タンパク質と繊維芽細胞のような軟組織を形成する細胞との相互作用が続いて起こり Y-TZP が軟組織と接着すると考えられる。

一方、ハンクス液に浸漬した Y-TZP においてカルシウムは検出されなかった。これまでに、金属ジルコニウムがカルシウムを取り込まないことが知られている。加えて、体液中の pH7.4 においては、Y-TZP 表面がプラスに帯電しているため、体液中の Ca イオンが Y-TZP 表面と反応することを阻害していると考えられる。その結果、生体内において非晶質リン酸カルシウムが Y-TZP 表面に形成されず、チタンのように非晶質リン酸カルシウムを介した硬組織との直接結合が起これないと考えられる。

純水およびハンクス液に浸漬後、Y-TZP 表面の水酸基およびリン酸基が増加した。これらの官能基が生体内でタンパク質と相互作用し、軟組織を形成する細胞を導くと考えられる。一方で、Y-TZP 表面にカルシウムは検出されなかった。Y-TZP 表面は非晶質リン酸カルシウムを形成しないため、硬組織と直接結合しないと考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Oishi, M. Tsutsumi, Y. Chen P., Nakaishi M, Ashida M, Doi H, Hanawa T: Surface characterization of commercially available yttria-stabilized tetragonal zirconia polycrystalline in water and Hanks' solution using XPS. Dent. Mater. J. 20 (2019). 査読有. doi: 10.4012/dmj.2018-299.
2. Oishi, M. Tsutsumi, Y. Chen, P. Ashida, M. Doi, H. Hanawa, T.: Surface changes of yttria-stabilized zirconia in water and Hanks solution characterized using XPS. Surf. Interface. Anal. 50, 587–591 (2018). 査読有. doi:10.1002/sia.6435.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Oishi M, Hanawa T, Tsutsumi Y, Chen P, Doi H: Reaction of yttria-stabilized zirconia surface with water and Hanks' solution, 26th Annual Meeting of the European Society for Biomaterials (ESB2017), 2017.
2. 大石誠, 堤祐介, 陳鵬, 蘆田茉希, 土居壽, 塙隆夫: イットリア安定化ジルコニア表面の水の中およびハンクス液中での変化, 日本金属学会 2017 年春期 (第 159 回) 大会, 2017.
3. Oishi M, Tsutsumi Y, Chen P, Doi H, Hanawa T: Change in surface of yttria-stabilized zirconia in water nad Hanks' solution characterized using XPS, International Dental Materials Congress 2016, 2016.

〔図書〕(計 1 件)

1. 岡野光夫監修, 田端泰彦, 塙隆夫編集: バイオマテリアル - その基礎と先端研究への展開, 東京化学同人, 2016, pp. 6-27.

〔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

<http://www.tmd.ac.jp/i-mde/www/metal/metal-j.html>

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 堤 祐介

ローマ字氏名: Yusuke Tsutsumi

所属研究機関名: 東京医科歯科大学

部局名: 生体材料工学研究所

職名：准教授

研究者番号(8桁): 60447498

(2)研究協力者

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。