

平成22年 5月 9日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791458

研究課題名（和文） 抗菌性と生体適合性を併せ持つ歯科用チタン合金の開発

研究課題名（英文） Developing dental titanium alloys with antibacterial property and biocompatibility

研究代表者

高橋 正敏（TAKAHASHI MASATOSHI）

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号：50400255

研究成果の概要（和文）：口腔内細菌に対する抗菌性と生体への適合性を併せ持つ歯科用チタン合金の開発を目的とし、チタン銀合金を設計、試作した。チタン銀合金は、殺菌作用を示さずに、バイオフィーム形成を抑制した。また、表面へのリン酸カルシウム自然形成能を有した。さらに、チタンと同程度の優れた耐食性を示した。チタン銀合金は、常在微生物叢に影響を与えずにバイオフィーム形成を抑制する、新しいタイプの生体材料である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Aiming to develop dental titanium alloys with antibacterial property and biocompatibility, we prepared experimental Ti-Ag alloys and investigated their properties. The Ti-Ag alloys inhibited biofilm formation, but did not have bactericidal activity. Calcium phosphates were spontaneously formed on the Ti-Ag alloys in a simulated body fluid. The Ti-Ag alloys had excellent corrosion resistance similar to that of titanium. It was suggested that the Ti-Ag alloys were a new type of biomaterial which inhibited biofilm formation without affecting normal microbial flora.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯科医用工学・再生歯学

キーワード：チタン合金，歯科用合金，抗菌性，生体適合性，耐食性，歯科修復物，歯科補綴物，チタン銀合金

1. 研究開始当初の背景

生体適合性と機械的性質に優れた歯科生体材料に、口腔内細菌に対する抗菌性を付与することができれば、その価値は飛躍的に高まると考えられる。従来の歯科補綴装置の主要

な役割は機能・形態・審美性の回復であるが、抗菌性と生体適合性を兼ね備えた新しい歯科生体材料が開発できれば、例えば歯科インプラントのように生体内外にまたがって用いられる場合に、術後の予後を大きく向上で

きると思われる。またクラウンやブリッジでは、二次齲蝕や歯周病の罹患を抑制することができる。抗菌性という新たな機能を付与することで、補綴装置の信頼性は上がり、より長期にわたり使用することができる。しかし抗菌性の付与に着目した歯科用合金の開発研究はほとんど行われていない。

従来の研究で、チタンの機械的性質と機械加工性の向上を目的として、様々な歯科用チタン合金を開発し、その性質を調べてきた。その中で、チタン銀合金は α チタンの固溶強化と微細な金属間化合物を析出させる組織制御により、引張強さや耐力が向上し、切削加工性と研削加工性も改善され、歯科用CAD/CAMに有望な歯科用合金であることを見出した。銀は抗菌性を持つことが知られているので、歯科用チタン銀合金を組織制御すれば、生体適合性と抗菌性に富む高機能歯科生体材料を開発できるのではないかと考え本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

従来の研究で開発した歯科用チタン銀合金は、チタン本来の生体適合性の良さと、銀の抗菌性という、ふたつの優れた性質を併せ持つ可能性が考えられる。抗菌性歯科用チタン銀合金を完成するためには、材料学的試験（アノード分極試験、リン酸カルシウム形成試験）はもちろんのこと、生物学的試験（バイオフィーム形成試験、殺菌試験）も行う必要がある。本研究の目的は、歯科用チタン銀合金の抗菌性や生体適合性、耐食性を検討し、金属組織をコントロールすることで、抗菌性と生体適合性を併せ持つ歯科用チタン合金の開発を行うことである。

(1) アノード分極試験

耐食性を評価する方法のひとつであるアノード分極挙動を調べる。また、X線回折により合金相を同定する。チタンに準ずる耐食性を維持できるチタン銀合金の組成範囲を明らかにする。

(2) リン酸カルシウム形成試験

純チタン表面には生体内でリン酸カルシウムが自然に形成され、これが生体適合性の向上や、オッセオインテグレーションに役立つことが知られている。チタン銀合金を擬似体液に浸漬し、表面へのリン酸カルシウム形成能を調べる。

(3) バイオフィーム形成試験

口腔内細菌が、歯、粘膜、生体材料などの表面に形成するバイオフィームは、口腔疾患の誘発因子となりうる。チタン銀合金表面への口腔内細菌によるバイオフィーム形成量を調べ、チタンや従来の歯科用銀合金と比較す

ることで、チタン銀合金のバイオフィーム形成抑制作用を評価する。

(4) 殺菌試験

銀は殺菌作用を持つことが知られている。チタン銀合金、純チタン、純銀、従来の歯科用銀合金について、口腔内細菌を対象とした殺菌試験を行う。各組成の殺菌作用の有無を判定する。

3. 研究の方法

これまでの研究成果を基にチタン銀合金を設計した。合金設計に従い、スポンジチタンと銀粒を秤量し、アルゴンアーク溶解炉でチタン銀合金インゴットを溶製した。インゴットはチタン用鑄造機を用いて板状に鑄造し、各実験に供した。材料学的試験および生物学的試験を通して試作チタン銀合金の耐食性や抗菌性、生体適合性を評価した。実験の各段階における結果はその都度合金設計にフィードバックし、添加元素量を調節した。

(1) アノード分極試験

アノード分極前に、各試験片についてX線回折を行い、合金相を同定した。アノード分極試験はISO 10271に従い、1%乳酸水溶液と4% NaOH水溶液を用いてpH 7.4に調整した0.9% NaCl水溶液を電解溶液とした。脱気した電解溶液に試験片を浸し、Open-circuit potentialとアノード分極曲線の測定を行った。また、アノード分極後の表面組織観察を行った。

(2) リン酸カルシウム形成試験

試験片を擬似体液に浸漬し、試験片表面にリン酸カルシウムが自然形成する様子をSEMで観察した。浸漬期間は2~8週間とした。形成したリン酸カルシウムは、EPMAを用いて定性分析と定量分析を行った。

(3) バイオフィーム形成試験

試験片をスクロース含有複合液体培地に浸漬し、口腔内細菌 (*Streptococcus mutans* または *Streptococcus sobrinus*) を加え、嫌気培養した。12時間後、試験片表面に形成されたバイオフィームを回収して蒸留水に懸濁し、分光光度計を用いて濁度を測定することで、バイオフィーム量を推定した。

(4) 殺菌試験

JIS Z 2801に従い、バイオフィーム形成試験に用いた細菌と同種の菌懸濁液を、試験片表面に滴下し、フィルムにより密着した状態でインキュベートした。2時間後に試験細菌を回収し、寒天平板培養法で生菌数を求めた。試験成立条件の判定を行い、抗菌活性値を求め、殺菌作用の有無を判定した。

4. 研究成果

チタン銀合金は、口腔常在微生物であり齶蝕原性細菌である *Streptococcus mutans* および *Streptococcus sobrinus* に対し、殺菌作用を示さなかったが、同細菌によるバイオフィーム形成を抑制した。また、純チタンと同様に、擬似体液中で表面にリン酸カルシウムを自然に形成することが分かった。さらに、ISO 規格による評価で、チタン銀合金はチタンと同程度の優れた耐食性を有することが分かった。これらの結果から、チタン銀合金は、常在微生物叢に影響を与えずにバイオフィーム形成を抑制する、新しいタイプの生体材料である可能性が示唆された。

(1) アノード分極試験

X 線回折により、チタン銀合金は銀の添加量 20%程度から Ti_2Ag を析出することが分かった。浸漬より 2 時間後の Open-circuit potential は、銀の添加量の多いものほど高い傾向を示し、銀の添加量 20%以上は純チタンより有意に高かった。 α チタンへの銀の固溶と Ti_2Ag の析出により電位が高くなったと考えられた。

測定したアノード分極曲線を図 1 に示す。銀の添加量 25%以下のチタン銀合金は、測定中に急激な電流密度の増加が見られる組成もあったが、すぐにチタンと同程度の電流密度に減少し、再不動態化した。一方、Ti-30%Ag 合金は急激な電流密度の増加を示した後に再不動態化せず、アノード分極後の試験片表面は孔食を呈していた。ISO 規格による評価で、チタン銀合金の耐食性は銀の添加量 25%まで良好であり、歯科用合金として有望であると考えられた。

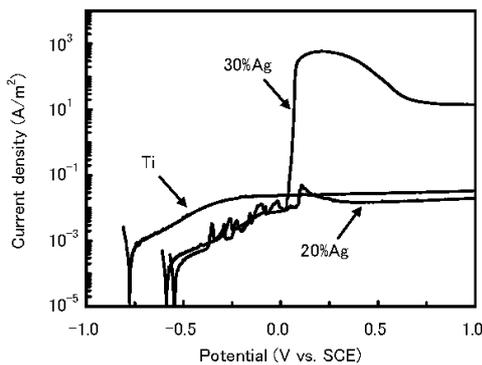


図 1 Ti-Ag 合金のアノード分極曲線

(2) リン酸カルシウム形成試験

チタン銀合金と純チタンの表面には、浸漬 2 週間後に $1 \mu m$ 以下の析出物がわずかに観察された。析出物の大きさと数は、浸漬期間が延びるにつれて増加した。擬似体液への浸漬より 8 週間後の試験片表面の SEM 像を図 2 に示す。チタン銀合金と純チタンの表面には、

$5 \sim 10 \mu m$ の析出物が多数観察された。析出物の量はチタン銀合金と純チタンで変わらなかった。EPMA の分析により、析出物はリン酸カルシウムであることが分かった。また、形成されたリン酸カルシウムの Ca/P モル比に有意差は認められなかった。チタン銀合金の表面には純チタンと同様に、擬似体液中でリン酸カルシウムが自然形成することが分かった。

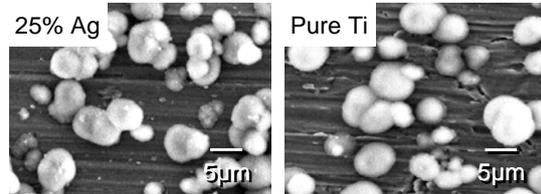


図 2 擬似体液への浸漬より 8 週間後の試験片表面の SEM 像

(3) バイオフィーム形成試験

Streptococcus mutans により試験片の表面に形成されたバイオフィーム量を図 3 に示す。対象としたどちらの口腔内細菌においても、純チタン、純銀、歯科用銀合金の間にバイオフィーム量の有意差は認められなかった。しかし、チタン銀合金のバイオフィーム量は純チタンより少ない傾向が見られ、銀の添加量 25%では純チタンよりも有意に少なかった。このことから、他の金属と比べて、チタン銀合金はバイオフィーム形成を抑制し、特に銀の添加量 25%でその作用は強いことが明らかとなった。

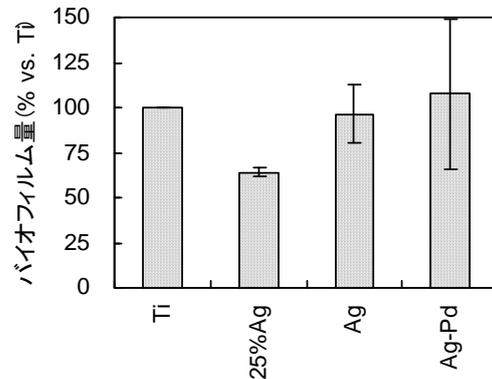


図 3 *Streptococcus mutans* により形成されたバイオフィーム量

(4) 殺菌試験

Streptococcus mutans を用いた殺菌試験後の生菌数を図 4 に示す。対象としたどちらの口腔内細菌においても、純銀と歯科用銀合金は殺菌作用を示したが、純チタンとチタン銀合金は殺菌作用を示さなかった。殺菌作用の要因の一つとして、銀イオンの溶出が考えられる。チタン銀合金はチタンと同程度の優れた

耐食性を有することから、銀イオンを溶出しなかった、もしくは溶出しても極微量であったため、殺菌作用を示さなかったと考えられた。チタン銀合金のバイオフィーム形成抑制作用は、殺菌に起因した作用では無いことが分かった。

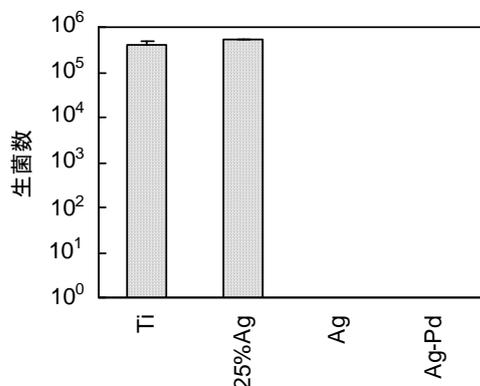


図4 *Streptococcus mutans* を用いた殺菌試験後の生菌数

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5件)

- ① 高橋正敏、菊地聖史、奥野 攻、歯科用Ti-Zr二元合金の研削性、日本金属学会誌、査読有、74巻、2010、印刷中
- ② Takahashi M、Kikuchi M、Takada Y、Okuno O、Corrosion resistance of dental Ti-Ag alloys in NaCl solution、Materials Transactions、査読有、Vol. 51、2010、762-766
- ③ Takahashi M、Kikuchi M、Okuno O、Grindability of dental cast Ti-Zr alloys、Materials Transactions、査読有、Vol. 50、2009、859-863
- ④ Takahashi M、Kikuchi M、Hatori K、Orie Y、Sasaki K、Takada Y、Calcium phosphate formation on Ti-Ag alloys in simulated body fluid、Journal of Biomechanical Science and Engineering、査読有、Vol. 4、2009、318-325

[学会発表] (計24件)

- ① 高橋正敏、Ti-Ag合金のISO規格によるアノード分極挙動、歯科チタン学会、平成22年2月13日、東京都文京区
- ② Takahashi M、Spontaneous formation of calcium phosphate on experimental Ti-Ag alloys in simulated body fluid、Processing and Fabrication of Advanced Materials、平成21年12月12日、宮城県仙台市
- ③ 高橋正敏、擬似体液中における試作Ti-Ag

合金表面へのリン酸カルシウム自然形成、日本歯科理工学会、平成21年10月1日、鹿児島県鹿児島市

- ④ 高橋正敏、擬似体液中におけるTi-Ag合金表面へのリン酸カルシウム形成、歯科基礎医学会学術大会、平成21年9月11日、新潟県新潟市
- ⑤ 高橋正敏、Ti-Ag合金の口腔内細菌付着抑制作用、日本歯科理工学会 北海道東北支部夏期セミナー、平成21年7月25日、福島県郡山市
- ⑥ Takahashi M、Corrosion behavior of Ti-Ag alloys used in dentistry in lactic acid solution、The 3rd International Conference on Processing, Manufacturing of Advanced Materials、平成21年7月8日、Busan Korea
- ⑦ 高橋正敏、Ti-Ag合金のバイオフィーム形成抑制作用、日本歯科理工学会、平成20年4月11日、東京都江戸川区
- ⑧ 高橋正敏、試作Ti-Ag合金はバイオフィーム形成を抑制する、東北大学歯学会、平成21年2月27日、宮城県仙台市
- ⑨ 高橋正敏、歯科用Ti-Ag合金の機械的性質、歯科チタン学会、平成21年2月14日、東京都千代田区
- ⑩ Takahashi M、Experimental Ti-Ag alloys inhibit biofilm formation、The 3rd International Symposium for Interface Oral Health Science、平成21年1月15日～16日、宮城県仙台市
- ⑪ 高橋正敏、歯科CAD/CAM用Ti-Ag合金の機械的性質、日本歯科理工学会、平成20年9月20日、大阪府豊中市
- ⑫ 高橋正敏、パルス法による試作チタン合金の弾性率測定、日本歯科理工学会 北海道東北支部夏期セミナー、平成20年8月23日、北海道千歳市
- ⑬ 高橋正敏、制菌性と生体適合性を兼ね備えた新しい歯科用チタン合金の開発、東北大学若手研究者萌芽研究育成プログラム研究成果発表会、平成20年7月16日、宮城県仙台市

[図書] (計2件)

- ① Takahashi M、他、Springer、Interface Oral Health Science 2009、2010、283-285

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：バイオフィーム抑制型抗菌性チタン合金
 発明者：高橋正敏
 権利者：同上
 種類：特許権
 番号：特願 2008-294012

出願年月日：平成 20 年 11 月 18 日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 正敏 (TAKAHASHI MASATOSHI)
東北大学・大学院歯学研究科・助教
研究者番号：50400255