

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 21 日現在

機関番号：33602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 年度 ～2012 年度

課題番号：21791955

研究課題名（和文） 傾斜機能を有する二酸化チタンバイオセラミックスの創生

研究課題名（英文） Creation of biomaterials from titanium dioxide with functionally graded materials

研究代表者

横井 由紀子 （YOKOI YUKIKO）

松本歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：60469012

研究成果の概要（和文）：この研究の目的は二酸化チタンを原料とした生体材料の創製である。アナターゼ型二酸化チタンは光触媒作用および骨造成機能を有することが知られている。本研究は、この機能を応用してインプラントの材料を開発するための基礎研究である。アナターゼ型二酸化チタンを焼成して焼結体を作製し、焼成温度と細胞増殖性との関係を検討した。また、焼成温度と結晶構造および表面性状との関係についても検討した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is creation of biomaterials from titanium dioxide (TiO₂). This TiO₂ has known for photocatalysis and osteogenesis. For the purpose of applying this function to implant materials, the relationship between sintered temperature and cell proliferation were examined. In addition, sintered temperature, crystal structure and the surface property of sintering bodies were investigated.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,468,740	440,622	1,909,362
2010 年度	331,260	99,378	430,638
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
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：生体材料学

1. 研究開始当初の背景

（1）現在、歯科インプラントの需要は急速に高まっている。多くの企業から種々のインプラントシステムが開発、市販されている。種々の研究は施行され、例えば、純チタンやチタン合金の表面性状に骨形成に大きく影響することについて数多くの報告がある。二酸化チタンにおいては、表面処理剤として、粉末をチタン基材にプラストして表面粗さを変化させているシステムも存在する。

ところが、生体材料としてのセラミックスの二酸化チタンを評価する研究や、その焼結体を作製しその表面性状や機械的性質を報告は少ない。さらに二酸化チタンの両構造、ルチル型とアナターゼ型に着目している研究はほとんどない。本研究の目的は申請者がこれまでの成果である焼成温度と強度との関係、また、焼成温度を微妙にコントロールすることによって、細胞増殖能を自由に変化させる可能性を見出している成果をさらに発

展させて、適時使用目的に合致させた機能を付与した傾斜機能を有するテーラーメイドの二酸化チタン焼結体の創製にある。

(2) 近年、金属チタンやチタン合金によるアレルギー発現が報告されている。本研究は、用途に合致した機能を有する、すなわち傾斜機能を付与した、しかもアレルギーなどを惹起させない材料の開発である。セラミック材料、特に二酸化チタン (TiO_2) 粉末を原材料にした焼結体の生体応用を目指している。歯科領域の様に骨と粘膜面が介在する場合、生体材料は単一の機能では不十分で、適時コントロールできる機能を付与することが必要であると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 現在、医科領域および歯科領域のインプラント材料として、金属チタン、チタン合金が主流である。これはチタン表面に存在する酸化皮膜 (TiO_2) が骨とのオッセオインテグレーション (結合組織を介在することなくチタンと骨が直接チタンと骨が結合すること) を促すことが報告されていることによる。そこで、アレルギーの可能性が少なくオッセオインテグレーション期待できるセラミック材料、二酸化チタン (TiO_2) 粉末を原材料にした焼結体の生体応用を目指して、用途に合致した機能を有する、すなわち傾斜機能を付与した材料の開発を目的とする。

(2) アナターゼ型の二酸化チタンは、光触媒作用を有することから、あらゆる分野で利用されている。歯科でも歯牙および義歯の着色の除去効果を期待して、その実用化の研究も行われている。光触媒作用は抗菌機能として作用する。このように生体応用する場合に、骨欠損部では骨の増殖など骨芽細胞増殖能に優れる機能を有するように、また、術後の一時固定が目的の場合は、治癒後撤去するため増殖能はないほうがよい。以上のことを踏まえ、生体材料は単一の機能では不十分で、適時コントロールできる機能を付与することが必要であると考えられる。このような発想で、傾斜機能を有する二酸化チタン焼結体の生体材料としての研究を目的とする。

3. 研究の方法

アナターゼ型 TiO_2 は焼成する過程において、ルチル型へ変化する。これを応用し、種々の焼成温度においてのアナターゼ型とルチル型の存在割合を検討する。このときのアナターゼ型特有の性質である触媒作用を観察する。成型法は一軸型プレス法で行う。その物理学的性質として、種々の焼成温度の変化させることと、粒子径・粒子形の配合を変え試料作製する。このとき、焼結状態が変

化するため表面性状は大きく変化することが予想される。表面性状の違いは、ぬれ性も変化させることが予想される。これらは、生体内埋入後に細胞が付着し増殖できるか否かに大きな影響を与えるため、その性状の観察を行うことは生体材料を開発する上で最も重要であると考えられる。その後、作製した種々の試料上にマウス線維芽細胞を培養し、その増殖に与える影響を観察する。細胞の増殖および分化に与える影響を観察する。

4. 研究成果

(1) ヌーブ硬さ

各試料片のヌーブ硬さは (平均値 \pm SD)、出発原料がルチル型 TiO_2 の焼成温度 1300°C 424.3 \pm 133.6、1400°C 920.8 \pm 772.9、1500°C 1026.8 \pm 785.1 であった。未焼結の試料片は、硬さが小さすぎたため破折し計測不能であった。ヌーブ硬さは、焼成温度の上昇とともに硬さが上昇した。焼成温度 1500°Cにて焼結した試料は 1300°Cに対し有意に硬さが増大した ($p<0.05$)。出発原料がアナターゼ型 TiO_2 各試料のヌーブ硬さを示した (平均値 \pm SD) は、700°Cでは 215.9 \pm 64.5 の硬さが 1300°Cでは 1938.5 \pm 549.0 となり、焼成温度が高いほど硬さは増加した。

(2) 表面性状

出発原料がルチル型 TiO_2 の各試料片の中心線平均粗さ (Ra) は、焼成温度 1300°Cでは 2.19 $\mu\text{m}\pm$ 0.15 μm 、1400°Cでは 76 $\mu\text{m}\pm$ 0.18 μm 、1500°Cでは 44 $\mu\text{m}\pm$ 0.09 μm 、シャーレとして用いたセルデスクは 0.61 $\mu\text{m}\pm$ 0.25 μm 、焼結前の未焼成しりょうでは 2.34 $\mu\text{m}\pm$ 0.03 μm 、(平均値 \pm SD) であり、未焼成試料と 1300°Cの間および 1400°Cと 1500°C間には有意な差は認められなかったが、その他の各試料間では有意な差が認められた ($p<0.01$)。出発原料がアナターゼ型 TiO_2 の各試料の中心線平均粗さ (Ra) は、焼成温度が 700°Cでは 4.05 $\mu\text{m}\pm$ 0.34 μm と粗く、1300°Cでは 3.21 $\mu\text{m}\pm$ 0.77 μm と粗さが減少した。このように、焼成温度が高くなると表面粗さは小さくなるが、焼成温度による有意差はなかった。

(3) 結晶相の同定

X線回折にて結晶相の同定を行った。出発原料がルチル型 TiO_2 焼結体のその結果は、未焼結試料も含めすべての焼成温度で、X線回折のピークはいずれも正方晶のルチル型 TiO_2 と同定された。出発原料がアナターゼ型 TiO_2 の試料の結晶相は、未焼結試料および焼成温度 700°Cは、アナターゼ型 TiO_2 の結晶相が確認された。焼成温度が 800°C 900°Cではアナターゼ型 TiO_2

とルチル型 TiO_2 両結晶相が混在していた。

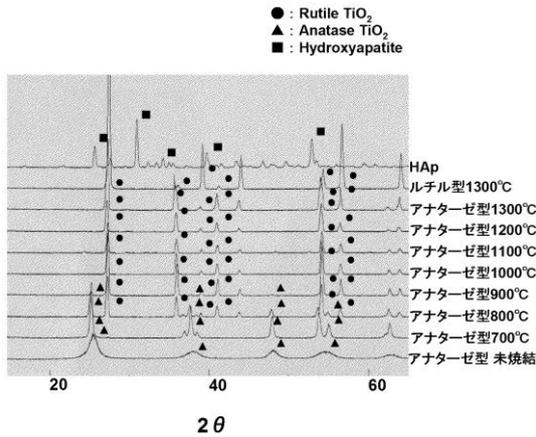


図1 アナターゼ型二酸化チタン試料のX線回折による結晶相の同定。SA1000°C以上ではルチル型 TiO_2 単独の結晶相が観察された。

このことから、焼成温度が 800°C 900°Cではルチル型 TiO_2 の性質およびアナターゼ型 TiO_2 の性質が両方得られる可能性が示唆できた。

(4) 二酸化チタン試料の表面観察

ルチル型 TiO_2 を出発原料とした各試料表面観察を SEM (走査型電子顕微鏡, JSM-5900LV, JEOL) にて加速電圧は 20kV とし行った。試料の結晶粒の形状と長径は、焼成温度により異なり、その数と長径は試料の各焼成温度の違いにより差が認められた。未焼結試料では、長径約 5 μm の針状結晶が各方向に重なり合った状態で圧接され、その間に多数の気孔が存在した。1300°Cでは小さい気孔が多数存在し、結晶粒子は長径約 5~10 μm 程度となり、表面は粗造で細長い楕円状の粒子が重なり、その間には気孔が観察された。1400°Cでは針状粒子が減少し気孔の数は少なく、各粒子間は接触し始め粒径は長径約 10 μm ~ 40 μm 程度となり、接触面の増大が観察された。1500°Cでは、焼結が進行し、結晶粒の長径は約 40~70 μm であり敷石状の結晶粒が観察された。

出発原料がアナターゼ型 TiO_2 の結晶粒の形状と大きさは、焼成温度により異なり、未焼結試料では、直径 7 nm の球状 TiO_2 が圧接され比較的平滑であることが認められた。焼成すると各粒子間の接触が始まり、接触面の増大、粒成長へと進行する。粒子間には多数の気孔が存在し、不規則形状の細かい凹凸が認められ、粗造な面を呈していた。その数と大きさは実験群試料の各焼成温度の違いにより差が認められた。焼成温度が 900°C以上に焼成すると結晶の融合が認められ不規則な粒成長が認められた。

(5) 二酸化チタン試料上での L929 細胞増殖

図2に各試料上での L929 細胞増殖の関係を示した。培養直後 (0 時間) および培養 24 時間後では、ルチル型およびアナターゼ型 TiO_2 の細胞増殖にほとんど差は認められなかった。培養 24 時間後のルチル型 TiO_2 上の細胞数は増加し、アナターゼ型 TiO_2 は、その 0 時間の生細胞数よりも減少した。その後 96 時間まで両試料上の細胞数は増加した。ルチル型は良好な増加を示したが、アナターゼ型 TiO_2 上の細胞数は、その 0 時間の生細胞数よりも増加することはなかった。

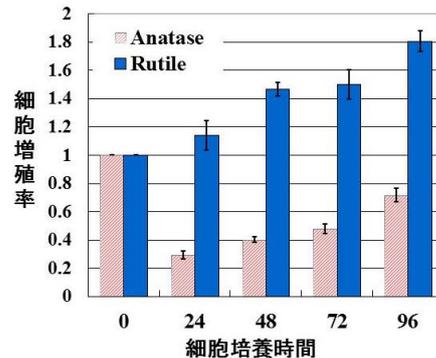


図2. ルチル型およびアナターゼ型二酸化チタン上の細胞増殖

出発原料がルチル型 TiO_2 での各焼成温度の細胞数は、焼成温度が 1300°Cおよび 1500°Cの細胞数は 76×10^4 個、 77×10^4 個、プラスチックシャーレ上では 33×10^4 個であった。培養 96 時間後で、各試料は、いずれもプラスチックシャーレよりも高い生細胞数を示した。培養 72 時間後以降において、各 SR- TiO_2 試料と CDL 上の生細胞数との間に有意な差が認められた ($p < 0.01$)。

出発原料がルチル型 TiO_2 での各焼成温度の細胞数は、培養 24 時間後の 700°C、800°Cは 0 時間の生細胞数よりも減少した。培養 24 時間後において 700、800°Cは、1200、1300°Cおよびに対し有意に低い値を示した ($p < 0.01$)。培養 48 時間後では、1300、1200°C上位順に細胞数の増加が認められた。プラスチックシャーレは、700、800°Cに対し、有意に低い値を示した ($p < 0.01$)。

培養 72 時間後では、1300、1200、1000°Cの上位順に細胞数の増加が認められた。700、800°Cがその他の群に対し、有意に細胞数の低下を示した ($p < 0.01$)。

培養 96 時間後においても 700°Cの細胞数の増加が認められなかった。800°Cでは、他の試料よりは低下した値であるが、わずかに細胞数の増加が認められたが、700、800°Cは他の群に対し有意に低い値を示した。1300°C、1200°C、1000°C、900°Cで焼成した試料上の細胞増殖は良好であり、プラスチックシャーレは前者に次いで生細胞数の増加が認められた。

(6) 各試料の触媒能

図. 3 より、結晶相がアナターゼ型の試料は、顕著な触媒能を示した。無処置のメチレンブルー溶液の色素濃度を 100%としたとき、アナターゼ型の 12 時間後には吸光度からメチレンブルー濃度は約 25%となり触媒作用の傾向を呈した。前者ほど顕著ではないがアナターゼ型およびルチル型が混在した試料は触媒能を有し、約 39.1%あった。ルチル型の試料は、約 50.3%を示した。このことより、ルチル型 TiO₂ の割合が増えると色素分解能は低下することが判明した。

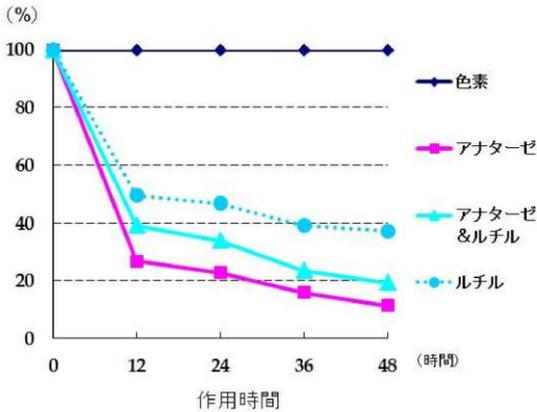


図3. ルチル型、アナターゼ型二酸化チタンの光触媒能

本研究では、はじめにアナターゼ型 TiO₂ が 800~915°C 付近のルチル型に変化することを念頭に置き、常温から高温領域まで安定性のあるルチル型 TiO₂ を出発材料とした試料について検討した。1300~1500°C で焼成したルチル型 TiO₂ は、いずれの試料もマウス線維芽細胞において良好な細胞適合性を示した。このことより、ルチル型 TiO₂ は軟組織、骨組織に安定な生体材料として応用できる可能性が示唆された。

続いて、アナターゼ型 TiO₂ について検討した。アナターゼ型は細胞増殖を抑制する傾向が認められた。しかし焼成温度 900°C は良好な細胞増殖を示し、且つ触媒能も残存していた。X 線回折ではルチル型、アナターゼ型両者の存在が確認されたが、存在比はまだ明らかにされていないので、今後の課題である。以上を踏まえ、焼成温度を変化させ、生体適合性および触媒能を傾斜機能的に制御可能であることが明らかになった。

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 1 件)

横井由紀子, 安東信行, 横井寛之, 岩下栄木, 鈴木龍 : 二酸化チタン焼結体の生体材料への応用 -アナターゼ型 TiO₂ 焼結体

の焼結温度とマウス線維芽細胞由来 L929 の細胞増殖-. 日本口腔インプラント学会誌 査読あり 25: 262-270. (2012)

<http://www.shika-implant.org/publication/ronbun25-2.html>

[学会発表] (計 1 件)

横井由紀子, 二酸化チタン焼結体の生体材料への応用. 第 25 回 歯科チタン学会学術講演会 2012. 2. 18 (愛知)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横井 由紀子 (YOKOI YUKIKO)
松本歯科大学 小児歯科学講座 助教
研究者番号: 60469012

(2) 研究協力者

福井 寿男 (FUKUI HISAO)
愛知学院大学 特殊基礎研究教授 教授
研究者番号: 50090147
林 達秀 (HAYASHI TATSUHIDE)
愛知学院大学 歯学部 講師
研究者番号: 70367621
佐藤 将洋 (SATHO MASAHIRO)
松本歯科大学 歯学部 助教
研究者番号: 50460415

(3) 連携研究者

()

研究者番号: