

論 文 要 旨

**Surface Properties and Biocompatibility of Acid-etched
Titanium**

〔 酸エッチング処理を行ったチタンの表面特性および生体親和性 〕

岩 谷 由 香 梨

【序論および目的】

チタンは、優れた耐食性と生体親和性のために、硬組織代替用材料として整形外科および歯科領域に広く応用され、インプラント体などに用いられている。チタンの表面性状が生体親和性に影響を及ぼすことが知られているが、チタンなど生体内に埋入する材料の表面特性は、細胞の増殖・分化に影響すると言われている。我々は、酸の種類と濃度がチタンの表面性状に及ぼす影響について、様々な種類の酸を用いて検討を行ってきた。その結果、加温した濃硫酸でエッチングすると、微細な空孔の集合体よりなる粗面がチタン表面に形成されることを明らかにした。

本研究では、濃硫酸によりエッチングしたチタン表面の生体親和性の評価を行った。

【材料および方法】

1. チタンの前処理

純チタン円板 (Kobelco, KS-40, JIS-I, 直径 15 mm、厚さ 1 mm) を用いて以下の 4 種の表面改質を行った。

①P0 : 粒径 1 μm のアルミナを用いた鏡面研磨

②SB : 粒径 70 μm のアルミナを用いたサンドブラスト処理

③A60 : 48% 硫酸水溶液に 60°C で 1 時間浸漬

④A60VF : 48% 硫酸水溶液に 60°C で 1 時間浸漬後、600°C にて 10 分間真空焼成

さらに、コントロールとしてポリスチレン板を用い、計 5 種を評価対象試料とした。

試料は、アセトン、アルコール、超純水中で各 20 分間超音波洗浄後、室温にて乾燥を行い、エチレンガスによるガス滅菌を行った。

2. 材料の状態分析

チタン表面の結晶相は、X線回折図形の測定により行い、表面形態は走査型電子顕微鏡 (SEM) による二次電子像で観察した。また、表面粗さ計を用いて、 R_a (算術平均値) および R_z (最大深さ) の測定を行った。さらに、接触角測定器によりぬれ性試験を行った。統計処理は、分散分析 (ANOVA) 後、Bonferroni にて検定を行った。

3. 生体親和性評価

細胞培養試験は、各条件の純チタン板に、骨芽細胞様細胞 (MT3T3-E1) を 1 well あたり 5×10^3 cell 播種し、培地は 10% ウシ胎児血清、抗生物質を含む α -MEM を加え、5% CO_2 存在下に 37°C で培養

した。付着細胞の細胞形態観察を、培養 24 時間後に SEM により行った。また、細胞増殖能を MTT assay により測定した (3, 6, 9 日)。また、培養上清中に産生されたコラーゲン量の測定 (3 日目) を、Collagen assay Kit を用いて行った。MTT と Collagen assay においては、コントロールとして PP を用いた。統計処理は、ANOVA 後、Bonferroni にて検定を行った。

【結果】

X線回折図形において、高濃度酸エッチングを行った A60 では水素化チタンのピークを認めたが、真空焼成を加えた A60VF では水素化チタンのピークは消失し、 α -チタンのピークが減少した。また、サンドブラスト処理を行った SB において、他の処理のものと比較して α -チタンのピークが減少し、幅が広がった。SEM 像においては、鏡面研磨の P0 では均一な研磨痕が観察され、SB では多数の凹凸が認められ、アルミナ粒子の衝突によって延性破壊した様相を呈しており、シャープな端面が認められた。A60 と A60VF では表面構造に明らかな違いは認められず、高濃度酸エッチングにより著しく腐食され、その表面は多孔質になり、約 $1\mu\text{m}$ のマイクロポアが多数認められ、また、明瞭な粒界も観察された。表面粗さにおいて、鏡面研磨の P0 の表面粗さが Ra 約 $0.34\mu\text{m}$, Rz 約 $2.8\mu\text{m}$ であるのに対し、高濃度酸エッチングを行った A60, A60VF は Ra 約 $2.0\mu\text{m}$, Rz 約 $12.3\mu\text{m}$ と、特に大きい表面粗さを示した。サンドブラスト処理を行った SB では P0 と高濃度酸エッチングを行った A60, A60VF の中間程度の表面粗さを示した。接触角は A60 が最も低い値を示し、P0 が最も高い値を示した。表面処理法の異なるすべてのチタン上で、細胞の付着が観察された。MTT assay の結果、細胞は培養時間とともに有意な増殖がみられたが、表面処理法の違いによる差は認められなかった。コラーゲン産生においても、有意差は認められなかった。

【考察および結論】

X線回折図形において、高濃度酸エッチングを行った事で、A60 に水素化チタンのピークが認められ、真空焼成した A60VF では水素化チタンが消失し、 α -チタンのピークが減少したことから、A60VF では水素化チタンは酸化分解し、酸化チタン被膜が形成されたと考えられる。SB において、他の処理のものと比較して α -チタンのピークが減少し、幅が広がったが、これは、表面にアルミナ粒子が衝突した結果、塑性変形が生じ、残留応力の発生によるものと考えられた。チタン表面は高濃度酸エッチングを行うことで、著しく腐食され、表面粗さは有意に増加し、チタン表面は孔径 $1\sim 2\mu\text{m}$ 程度の微細な凹凸の面となった。今回用いたチタン表面の接触角は、細胞の初期付着に好ましいとの報告のある接触角の範囲内に含まれた。骨芽細胞様細胞は、表面処理法の異なるすべてのチタン表面において付着し、増殖を認めた。MTT assay の結果、細胞は培養時間とともに有意な増殖がみられたが、表面処理法の違いによる差は認められなかった。コラーゲン産生においても、有意差は認められなかった。チタンの生体親和性は、表面粗さ、ぬれ性、表面構造、化学的特性などに影響されると報告されているが、本実験において用いた表面処理法の間では、細胞増殖及びコラーゲン産生に差は認められなかった。細胞の種類や細胞の状態が異なると、表面粗さに対する細胞増殖に影響する可能性がある。高濃度酸エッチングは、インプラント体の表面処理として、チタンの生体親和性を損なう事なく均質にエッチングする事が可能であり、チタン表面の有効な表面改質方法であると判断された。