

課題番号 32

抗菌性と骨適合性を有するハイブリッドインプラントの創製

[1] 組織

代表者：上田 恭介

(東北大学大学院 工学研究科)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

成島 尚之(東北大学大学院 工学研究科)

研究費：物件費 10 万円

[2] 研究経過

世界的な高齢者人口の増加に伴いインプラントの需要は増大しており、特に加齢に伴う歯の喪失、関節リウマチや関節の変形による人工関節等、硬組織代替デバイスの利用が増加している。硬組織代替デバイスには骨との迅速で強固な結合が求められる。

一方、インプラントに関連した手術部位感染(Surgical site infection, SSI)は少なくとも数%から30%発生している。骨組織では食細胞が少なく生体防御機構が弱いことに加え、加齢に伴う免疫機能の低下により SSI のリスクは増加する。加齢に伴う骨形成能の低下から、インプラントの固定に時間を要し、長期間の入院を強いられることもある。これらの問題解決には、SSI 対策としての抗菌性と骨形成能の両方を有するハイブリッドインプラントが有効な手段である。

当グループではこれまで、生体吸収性を有する非晶質リン酸カルシウム(ACP)に着目し、RF マグネトロンスパッタリング法による ACP コーティングにより、チタン製硬組織代替デバイスの骨形成能向上を動物実験により明らかにした。加えて、ACP への元素添加により溶解性の制御が可能であることを見出した。インプラントへの抗菌性付与には様々な方法があるが、耐性菌を生じにくい、広い抗菌スペクトルを有する、といった特徴を有する Ag に着目し、Ag 添加 ACP (Ag-ACP)コーティング膜は大腸菌に対して抗菌性を有することを見出した。しかし、過剰な Ag は細胞毒性を発現することが予想される。

そこで本研究では、元素添加により ACP の溶解性を制御することで、Ag の徐放速度を制御した元素添加 Ag-ACP コーティング膜の作製およびその溶解性、細胞毒性を評価することを目的とした。

平成 30 年度は、抗菌性元素である Ag および構成元素である Ca, P の溶解挙動解明に着目し、抗菌性評価に用いる希釈 NB 培地および TRIS-HCl 溶液中への浸漬実験を行い、溶解量評価を行った。加えて、抗菌性発現として光触媒である TiO_2 にも着目し、実用 Ti 合金上へ TiO_2 膜を作製し、可視光照射下における抗菌性評価も行った。

対応者である小笠原教授とはこれまでも共同研究を行ってきっていたが、平成 30 年度も 4 月に新たに第 1 回の打ち合わせを行った。その際に、工学研究科の学生 3 名が加齢研小笠原研究室にて抗菌性評価試験を行うことを決めた。学生 3 名が順番に小笠原研究室にて実験を行った。具体的には、JIS R1752 を参考として、小笠原研が所有する大腸菌(DH 5 α)を用いたガラス密着法による抗菌性評価を行った。NB 培地中での培養、濃度調整(希釈 NB 培地)、試料上への菌液の播種、可視光照射下における培養、菌液回収、生菌数測定(寒天平板培養法)である(図 1)。

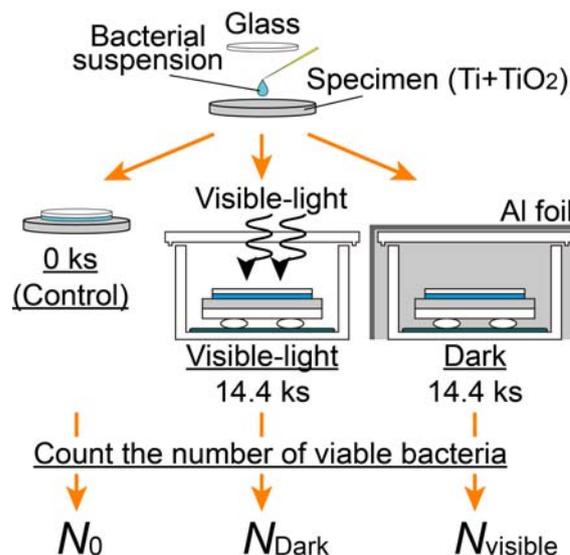


図1 ガラス密着法による Ti 基板上に作製した TiO_2 膜の可視光照射下における抗菌性評価方法

[3] 成果

(3-1) 研究成果

Ag 含有 ACP コーティング膜の溶解性制御として、Ta 添加に着目した。Ag 濃度は一定にして、Ta 濃度のみを 3 レベルで変化させたコーティング膜を作製

した。それぞれ Ag-ACP、(Ag+L-Ta)-ACP、(Ag+H-Ta)-ACP コーティング膜と称することにする。

抗菌性評価に用いたものと同じ希釈 NB 培地および緩衝溶液である TRIS-HCl 溶液への浸漬実験を行った。図 2 にそれぞれの溶液に 24 時間浸漬後の各溶出イオン濃度を示す。Ag-ACP および添加 Ta 濃度の低い (Ag+L-Ta)-ACP からの Ca、P イオン溶出濃度はほぼ同程度であり、浸漬後の試料観察から、ほぼ全てのコーティング膜が溶解していることがわかった。一方、添加 Ta 濃度の高い (Ag+H-Ta)-ACP においては、Ca、P イオン溶出濃度は他の 2 試料よりも低く、溶解性が抑制されたことがわかる。なお、この結果は希釈 NB 培地中および TRIS-HCl 溶液中のいずれにおいても同じ傾向であった。一方、溶出 Ag イオン濃度は試料間においてほぼ同じであった。また、希釈 NB 培地への Ag イオン溶出濃度は TRIS-HCl 溶液への値よりも高かった。浸漬後基板から、金属 Ag および AgCl の析出が確認された。AgCl の溶解度積は室温において $2.0 \times 10^{-10} \text{ mol}^2 \cdot \text{L}^{-2}$ と低いいため、溶出した Ag イオンは溶液中の Cl イオンと反応して AgCl を形成する。そのため、溶液中に Ag イオンとして存在できる濃度は限られるため、試料間ではほぼ等しいイオン濃度となったと考えられる。加えて、溶液中の Cl イオン濃度に着目すると、希釈 NB 培地中では約 1 mM、TRIS-HCl 溶液中では約 30 mM であるため、上述の溶解度積を考えると、希釈 NB 培地中の方が Ag イオンとして存在できる濃度は高くなり、実験結果とよい一致を示す。溶出 Ta イオン濃度は、添加 Ta 濃度の増加に伴い増加した。

以上の結果から、本研究では添加 Ta 濃度の高い (Ag+H-Ta)-ACP コーティング膜において、Ag イオ

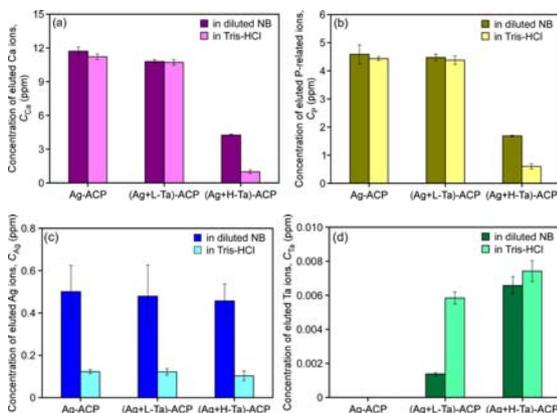


図 2 24 時間浸漬後の Ag-ACP、(Ag+L-Ta)-ACP および (Ag+H-Ta)-ACP コーティング膜から希釈 NB 培地および TRIS-HCl 溶液に溶出した(a) Ca、(b) P、(c) Ag および(d) Ta イオン濃度

ン溶出が見られたことから抗菌性の発現が期待でき、加えて、24 時間浸漬後においても Ca、P を含むコーティング膜が残存していたことから、長期間の抗菌性発現と骨形成が予想される。今後は、本コーティング膜の抗菌性評価および細胞毒性について評価を行う予定である。

Ti 基板上に作製した TiO₂ 膜の抗菌性評価については、図 1 に示した評価方法を確立することができた。結果の一例を図 3 に示す。処理条件を変化させることで、可視光照射(Visible)において生菌数(N/N₀)の減少が見られた。今後は、各処理条件と抗菌性の関係について、詳細に検討する。

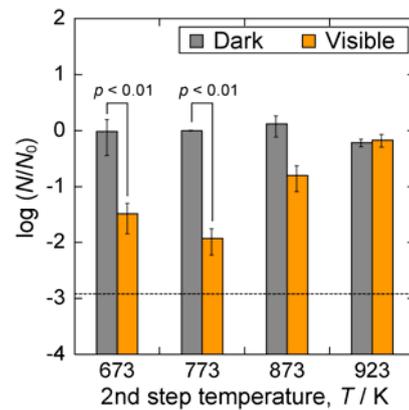


図 3 各処理条件において作製した TiO₂ 膜の可視光照射(Visible)および暗所静置(Dark)における生菌数変化

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究においては、博士課程学生が主に実験を担当しており、現在得られた成果について論文をまとめている。また、国内学会および国際学会での発表を予定しており、若手研究者育成に貢献している。

TiO₂ の光触媒を活用した抗菌性インプラントの創製については、新規性および独自性があると判断し、新プロジェクトとして独立して共同研究を行うこととして、加齢医学研究所共同研究に申請を行った。

[4] 成果資料

1. T. Ueda, K. Ueda, K. Ito, K. Ogasawara, H. Kanetaka, T. Mokudai, Y. Niwano, T. Narushima: "Visible-light-responsive antibacterial activity of Au-incorporated TiO₂ layers formed on Ti-(0-10)at%Au alloys by air oxidation," J. Biomed. Mater. Res. Part A, 107 (2019) 991-1000.