

奨励金No.1632

局所温度制御に基づく抗菌性チタンインプラントの新機能開拓

島袋 将弥

東京科学大学 所内講師

Exploration of New Functions for Antibacterial Titanium Implants Based on Localized Temperature Control

Masaya Shimabukuro

Institute of Science Tokyo, Junior Associate Professor



本研究では、チタン表面に炭酸アパタイト層を形成後、塩化銅水溶液処理によりリン酸銅修飾炭酸アパタイト層を作製した。リン酸銅修飾炭酸アパタイト層は細胞適合性、骨形成能を維持しつつ、Cu 由来の抗菌性と近赤外光照射による光熱変換能を示した。MRSA に対する抗菌性は NIR 照射で増強され、早期オッセオインテグレーションとインプラント周囲炎予防に資する表面設計として有望である。

In this study, the copper phosphate-modified carbonate apatite layer was formed on titanium surfaces for achieving rapid osseointegration and preventing peri-implantitis. The copper phosphate-modified carbonate apatite layer maintained cytocompatibility and osteogenic activity while exhibiting Cu²⁺ compound-derived antibacterial activity and near-infrared (NIR)-induced photothermal conversion. The antibacterial activity against MRSA was enhanced by NIR irradiation, suggesting that this surface design is promising for promoting early osseointegration and preventing peri-implantitis.

1. 研究内容

1.1 研究背景

歯の欠損に対する補綴治療では、隣在歯への影響が少ない歯科インプラントを用いた治療が積極的に行われている。一方、インプラントの長期的安定性には早期オッセオインテグレーションの獲得とインプラント周囲炎の予防が重要である。骨伝導性を向上する方法の一つに、インプラント表面に骨の無機成分と類似組成を示す炭酸アパタイト層を形成する手法が挙げられる。一方、炭酸アパタイト層自体は抗菌性を持たないため、インプラント周囲炎の予防のためには抗菌性を有する炭酸アパタイト層の形成が求められる。そこで本研究では、チタン基板上に炭酸アパタイト層を形成後、塩化銅水溶液に浸漬することでリン酸銅修飾

炭酸アパタイト層の形成に取り組んだ。リン酸銅は近赤外光（NIR）駆動型光熱変換能を示すため、局所温度上昇による抗菌性の増強が期待される。以上の研究背景を念頭に置いたうえで、本研究ではチタン表面に形成したリン酸銅修飾炭酸アパタイト層の物性ならびに生体機能評価を目的とし、早期オッセオインテグレーションの獲得とインプラント周囲炎の予防に貢献し得る新表面の創製に取り組んだ。

1.2 結果と考察

本研究では、炭酸アパタイト層を形成したチタン試料（CA0C）とリン酸銅修飾炭酸アパタイト層を形成したチタン試料（CA10C）を用いた。CA0C および CA10C の XRD パターンより、アパ

タイトに起因するピークが検出された（図 1A）。また、FTIR スペクトルでは、リン酸基および炭酸基に帰属される吸収帯が確認された（図 1B）。一方、水酸基に帰属される吸収帯は、いずれの試料からも検出されなかった。これらの結果より、チタン表面上に存在するアパタイトは炭酸アパタイトであり、アパタイト中の水酸基およびリン酸基が炭酸基によって完全または部分的に置換されていることがわかった。すなわち、CA0C および CA10C 上には AB 型炭酸アパタイト層が形成されていることがわかった。SEM/EDS による表面形態観察及び元素分析結果より、CA0C および CA10C の表面は鱗状結晶により構成される球状粒子で覆われていることが確認された。EDS マッピング像から、球状粒子は酸素（O）、リン（P）、カルシウム（Ca）元素で構成されていることが明らかになった。これらの結果より、O、P 及び Ca で構成される鱗状結晶は炭酸アパタイトであると考えられる。また EDS スペクトルならびに定量分析結果より、CA0C 表面からは銅（Cu）元素は検出されず、CA10C からは 1.9 wt.% の Cu 元素が検出された（図 1C）。さらに XPS による表面分析結果より、CA10C 上の Cu の化学状態は主として Cu^{2+} として存在しており、非晶質あるいは低結晶性 Cu^{2+} 化合物として存在していることがわかった。

各試料の光熱変換特性を明らかにするために、NIR を照射し光熱温度測定を行った。その結果、

NIR を照射することで、特に CA10C において顕著な温度上昇が認められた。NIR 照射下における CA0C の表面温度を基準に ΔT を算出したところ、CA10C の表面温度は約 12°C 以上が上昇することがわかった。一般に、リン酸銅は、NIR の吸収性に優れており、NIR 照射によって光熱変換特性を示すことが知られている。この特性は、リン酸銅中の Cu^{2+} の 3d 電子が、NIR 照射によって占有バンドから非占有バンドへと励起し、励起状態から基底状態へと戻る際に、NIR 照射によって得た光エネルギーを熱エネルギーとして放出することによる。すなわち、CA10C の光熱変換特性は、リン酸銅の d-d 遷移に起因すると考えられる。

骨芽細胞様細胞である MC3T3-E1 細胞を用いた細胞試験結果より、CA0C および CA10C 上で 24 時間培養した MC3T3-E1 細胞の細胞生存率はいずれも同程度であった。CA10C は CA0C と比較して顕著な光熱変換特性を示したことから、CA10C は細胞適合性と光熱変換特性を兼備することがわかった。そこで CA10C の増殖、骨分化、石灰化を明らかにするために、CA0C と CA10C を用いて、in vitro 骨形成試験を行った。

細胞形態観察結果より、播種 1 日後に MC3T3-E1 細胞は CA0C および CA10C 表面に接着し、伸展することが明らかとなった。また、播種 5 日後の MC3T3-E1 細胞は、CA0C および CA10C の表面全体を覆っていた。すべての培養期間で、CA0C

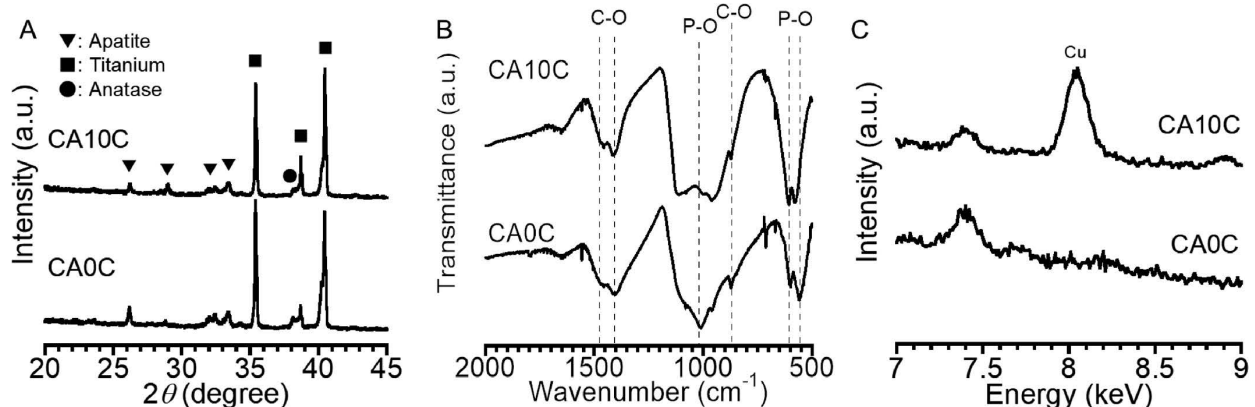


図 1. CA0C および CA10C の XRD パターン (A)、FTIR スペクトル (B)、ならびに EDS スペクトル (C)。

と CA10C の ALP 活性は同程度であり、それらの表面に接着した MC3T3-E1 細胞の骨分化挙動は試料間で相違ないことが明らかとなった。また、分化誘導後 21 日目において、CA0C および CA10C ともに試料全面（100%）が均一に石灰化されていた。以上の結果より、CA10C は CA0C と同様に細胞増殖、骨分化、石灰化挙動を示すことが明らかとなった。このため、CA10C は CA0C と同等の骨形成能を有するだけでなく、光熱変換特性を併せ持つことが明らかとなった。

暗所および NIR 照射下でメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）を各試料表面上で 1 時間培養し、暗所の CA0C 上の生菌数を 100% として細菌生存率を計算したところ、暗所における CA10C 上の MRSA の生存率は 11.6% 程度であった。一方、NIR 照射下における CA0C および CA10C 上の MRSA の生存率はそれぞれ 110%、3.9% 程度であった。この結果から、CA10C は MRSA に対して抗菌性を示し、その抗菌性は NIR 照射によって著しく増強することが明らかとなった。暗所にて MRSA を 1 時間培養し、表面に接着した MRSA を SEM にて観察したところ、CA0C 表面の MRSA は球状形態であり、MRSA が CA0C 表面全体に散布していた。また、CA10C 表面では、MRSA の形態に変化はないものの、全体的に付着の量が減

少し、細胞内から物質が溶出しているような MRSA も観察された。NIR 照射後の CA10C 表面では、細胞構造が完全に変形した状態の MRSA も観察されたことから、Cu イオンによる抗菌性のほかに、光熱変換による熱焼灼が MRSA を殺滅していることが示唆された（図 2）。以上の結果より、NIR 駆動型光熱変換によって CA10C の抗菌性が増強することが明らかとなった。

本研究では、炭酸アパタイトコーティング上に修飾した銅化合物の同定には至らなかったが、本研究結果より非晶質あるいは低結晶性のリン酸銅が修飾されたと考えられる。今後は、炭酸アパタイト上に修飾された Cu の状態分析をより詳細に行っていく必要がある。また本研究では、グラム陽性球菌である MRSA を用いて抗菌性評価を実施したが、今後は口腔内細菌を用いた抗菌性試験を実施する必要がある。以上の結果より、CA10C は、MRSA に対して抗菌性を示し、良好な骨形成能を併せ持つことが明らかとなった。さらに、CA10C は優れた光熱変換特性を示し、NIR 照射によって抗菌性を増強することを実証した。本研究成果は、早期オッセオインテグレーションの獲得とインプラント周囲炎の予防に貢献し得る次世代インプラント材料の表面設計に重要な知見を提供するものである。

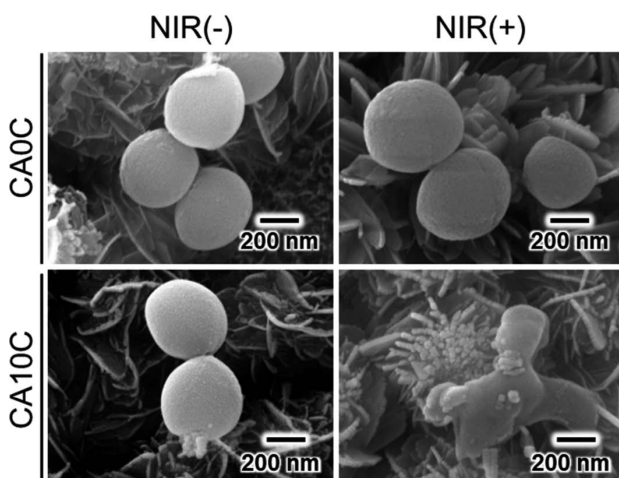


図 2. 暗所（NIR(-)）および NIR 照射（NIR(+)）下で 1 時間培養した各試料表面の MRSA の SEM 像

2. 発表（研究成果の発表）

島袋将弥、抗菌性バイオマテリアルの創製と機能制御、公益社団法人日本セラミックス協会 第 38 回秋季シンポジウム（群馬、2025 年）