

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	鯉江 信
論文審査 委員氏名	主査 長尾 徹 副査 河合 達志 本田 雅規		
論文題名	原子層堆積により各種酸化物を成膜した 純チタン上での細胞増殖能の評価		

インターネットの利用による公表用

純チタン (Ti) は歯科用インプラント材料として広く臨床応用されており、様々な表面改質が行われている。

原子層堆積 (ALD) は金属酸化物あるいは金属の薄膜を物質表面上に成膜可能とするナノテクノロジーの一種で、原料物質であるプレカーサーと酸化剤の化学反応による薄膜形成技術である。ALD は、高アスペクト比の構造体表面に対して均一な薄膜を得ることができるといった優れた特徴を持つことから、バイオメディカル分野においても応用展開が望まれる成膜技術の一つとして注目されている。そこで本研究では、ALD による成膜が Ti の新たな表面改質法となり得るかを検討するために、Ti 板上にジルコニア、シリカ、および酸化亜鉛の薄膜をそれぞれ成膜し、同試料上での細胞増殖能を評価した。

#### 材料および方法

本研究では、直径 10 mm の Ti 板をディスク状にしたものを使用した。ALD 成膜には At-400 を用いて、各種成膜厚が 50nm となるように、Ti 板上に  $ZrO_2$  薄膜 (ZR)、 $SiO_2$  薄膜 (SI)、 $ZnO$  薄膜 (ZN) をそれぞれ成膜した。成膜後試料は、エネルギー分散型分光分析装置 (EDS) を備えた走査型透過電子顕微鏡 (STEM) を用いて、成膜厚の測定と元素マッピングを作成した。

ついで、各試料を超純水中に浸漬し、 $37^{\circ}C$  の恒温槽中で 4 週間静置した ( $n=3$ )。その後、誘導結合プラズマ発光分析装置 (ICP) を用いて溶出元素の測定を行なった。

各種元素を ALD 成膜した Ti 板および、未成膜の Ti 板を 48 ウェルプレートに配置後、 $1 \times 10^5$  cells/ml のマウス線維芽細胞由来細胞 (L929)、またはマウス頭蓋骨骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) を  $200 \mu\text{l}$  ずつ播種し、インキュベーター中で培養した。両細胞の培養後、経時的に細胞数の計測と試料の SEM 観察を行なった (各  $n=3$ )。細胞増殖試験の結果に対する統計解析には Tukey 法による多重比較検定を行った ( $p < 0.05$ )。

### 結果

STEM 像においては全ての Ti 上に約 10-15 nm の自然成膜された  $\text{TiO}_2$  層が確認され、その上にそれぞれ 50 nm 前後の各種成膜が確認された。EDS 分析では、ZR と SI の層は平坦で均一な成膜が観察されたが、Zn の表層は波状を示し、疎な粒子状部分も認めた。

溶出試験では、いずれの試料からも Ti の溶出はなく、また、ZR と SI の成膜試料は成分検出限界値以下であった。一方、ZN からは Zn の溶出を認めた。

細胞増殖試験では、L929 および MC3T3E-1 は、ZR および SI において、コントロールと同等にいずれも経時的に細胞数の増加がみられた。細胞形態は、コントロールと同様に培養初期から細胞骨格がよく発達している様子が観察された。一方、ZN においては、細胞の生着、増殖は認められず、明らかに萎縮した細胞をわずかに認めるのみであった。

### 考察

ALDによりTi上に、ZR、SI、ZNのいずれも目標成膜厚である50 nmに近似した成膜厚を得られた。

ICP分析において、いずれの試料からもTiは溶出されず、またZR、SIからは成膜元素も検出限界値以下であったことから、ZR、SIは化学的に安定した薄膜が成膜されたと考えられる。

L929 および MC3T3E-1 の細胞増殖試験の結果、ZR と SI は Ti と同様に良好な細胞適合性を示した。一方で、ZN は両細胞ともに培養1日目から生着・増殖が認められなかった。その理由としてZNの成膜状態が関係すると考える。STEM および EDS 分析画像において、ZNの表層は波状を呈しており、また、ZNの溶出試験では、Znの溶出を認めたことから、ZNは化学的に安定して成膜されなかった可能性が考えられる。ZN上で両細胞とも生着・増殖しなかった原因は、培養液中に溶出したZnによるものなのか、あるいは、Ti上に残存するZnOによるものなのか、さらなる検討が必要である。

細胞増殖試験においていずれもTi上での増殖を有意に上回る結果は得られなかった。しかしこれらの結果は、ZrO<sub>2</sub> および、SiO<sub>2</sub> 成膜試料はTiと同等の良好な細胞適合性を有することが示されたとも考えられる。

ALDはTi表面を機能化するためのアプローチとなり得る可能性があり、また、ALDの成膜性能から、マイクロあるいはナノオーダーで形状が制御されたTiインプラント体表面にも均一な薄膜を成膜できる技術の一つになり得ることから、臨床応用への可能性が示唆された。

(論文審査の要旨)

No. ....4.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

以上より、本研究は歯科用インプラント材料として新規テクノロジーを応用した Ti の細胞適合性を評価する基礎研究の重要性を示し、さらに ALD が臨床応用につながる可能性を有することから、口腔外科学、歯科理工学、口腔解剖学および関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。