

リン酸亜鉛系ガラスを用いた 抗菌性アモルファス薄膜の作製

名古屋工業大学 環境セラミックス分野

春日 敏宏

Preparation of an antibacterial amorphous thin film using a zinc phosphate-based glass

Toshihiro Kasuga

Division of Advanced Ceramics, Nagoya Institute of Technology

1. はじめに

歯科インプラント（人工歯根）は、現在では一般的な療法となっているが、細菌感染によるインプラント周囲粘膜炎に罹患する場合は実に80%にも達するという報告がある。これが進行するとインプラントの抜去を強いられることになる。ここで、抗菌作用のある材料がインプラントと歯肉に接触する部分にコーティングされていれば、感染を防ぐために有用である。このコーティングは長期間に亘って安定であることが望ましい。

Ag^+ イオンや Zn^{2+} イオンの抗菌作用はよく知られている。ただし、 Ag^+ イオンは口腔内に残留した硫化物と反応して黒色化する可能性があるので考慮しておく必要がある。一方、 Zn^{2+}

イオンは審美的な問題は生じないと思われるので、歯科用インプラントの抗菌化設計に有用と考えられる。ただし、 0.1 mmol/L 以上の Zn^{2+} イオン濃度で細胞毒性を示し始めるので [1]、抗菌剤からの Zn^{2+} イオンの溶出は、必要最小限に抑えねばならない。

筆者らは、微量の Zn^{2+} イオンが徐放されるリン酸塩ガラスを開発し、これを金属チタンインプラント表面にスパッタ法でコーティングすることを検討している。本稿では、その最近の結果の一部を紹介したい。

2. 抗菌作用をもつ

リン酸塩系インバートガラス

酸化物ガラス中での P の電場強度は大きいいため、近接の酸素上の電子密度は小さく酸性度が高くなる。したがって、リン酸塩ガラスは様々な元素を多く溶かし込むことができる。たとえば CaO 量を 60% 以上含んでもガラス化できる [2]。 P_2O_5 含有量が少ないと長鎖構造は作られにくくなり、ピロリン酸構造 ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-} : \text{Q}_p^1$ グル

〒 466-8555

名古屋市昭和区御器所町

TEL 052-735-5288

FAX 052-735-5288

E-mail : kasuga.toshihiro@nitech.ac.jp

ープ) やオルトリン酸構造 ($\text{PO}_4^{3-} : \text{Q}_P^0$ グループ) で構成されるようになる。これらの構造の周囲には Ca^{2+} イオンが配位して電荷バランスを補償して、見かけ上、陽イオンがリン酸イオンを連結して3次元構造を作るのでインバートガラスと呼ばれる。リン酸イオン周りの対称性が高いため耐水性が向上する。ガラス化を容易にするためには、 TiO_2 、 Nb_2O_5 、 ZnO 、 MgO などの中間酸化物を導入することが効果的である。とくに Nb_2O_5 の添加により形成される P-O-Nb は P-O-P より結合が強く [3]、ガラス形成能が効果的に向上する [4]。

筆者らは、 $65\text{ZnO} \cdot 30\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 5\text{Nb}_2\text{O}_5$ 組成 (以下、ZnPNbO) のガラス粉末 ($125 \sim 250 \mu\text{m}$ に分級) を作製して、その抗菌性 (シェイク法) を調べた [5]。ZnPNbO ガラス粉末を共存させておくと、大腸菌 (グラム陰性菌)、黄色ブドウ球菌 (グラム陽性菌) の菌数は < 1 となった。24 h 後までに溶出した Zn^{2+} イオン量は極めて微量 (約 $70 \mu\text{M}$) であった。ZnPNbO は、耐水性の高い抗菌性ガラスであることがわかった。

ラマン分光および固体核磁気共鳴分光 (MAS-NMR) の結果 [5]、および X 線光電子分光法 (XPS) による酸素周りの局所構造の解析 [6] から、 Q_P^0 および Q_P^1 グループと P-O-Zn および P-O-Nb 結合の存在が確認され、ガラス形成能や耐水性の向上に寄与していると考えられた。

3. スパッタリング法による $65\text{ZnO} \cdot 30\text{P}_2\text{O}_5 \cdot 5\text{Nb}_2\text{O}_5$ アモルファス膜の作製 [7]

高周波マグネトロンスパッタリング (以下、RF-MS) は、種々の基板に均一かつ緻密な薄膜をコーティングできる方法である。基板表面の形状をよく反映し、基板との接合力も高い。そこで、ZnPNbO ガラスをターゲットに用いて RF-MS アモルファス膜を作製する条件やその抗菌性と細胞毒性の有無を検討した。

ZnPNbO ガラスを、白金ルツボを用いて空气中 1500°C で熔融し、アイロンプレス急冷して作

製した。得られたガラス片をボールミル粉碎したものをペレット成形し、これを RF-MS のターゲットとして用いた (以下、ZnPNbO-T)。組成の変化を最小限に抑えつつ最適な成膜速度を得る諸条件を探り、厚さ $1 \mu\text{m}$ の膜を得た。基板には、シリカガラスや金属チタンを用いたが、現在のところ、いずれも約 0.6 nm/min の成膜速度で固定している (以下、ZnPNbO-C)。表面粗さ測定から、大きなポイドは観察されず、平滑な膜が得られたことが示された。

得られた薄膜 (ZnPNbO-C) は、粉末 X 線回折からアモルファスであることが確認された (粉末試料は、濾紙上に成膜したのからスパチュラで剥離して得た)。この膜の組成は、ターゲット (ZnPNbO-T) と比較的によく一致したが、 P_2O_5 量が約 4% 高くなった。ZnPNbO-C のガラス転移温度 T_g は、ZnPNbO-T よりも 20 K 低かった。 ^{31}P MAS-NMR スペクトル (図 1) では、ZnPNbO-C には ZnPNbO-T には見られなかった Q_P^2 グループが新たに形成されたことがわかる。XPS の O 1s スペクトルからは、ZnPNbO-C の架橋酸素がわずかに増加 (約 4%) すること

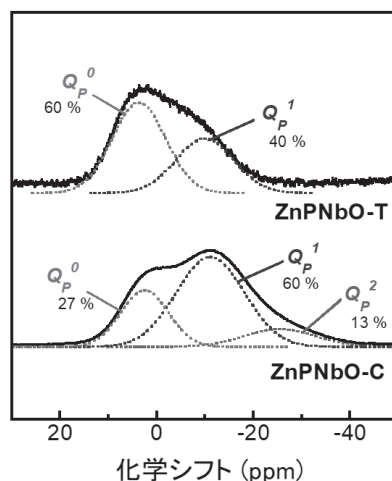


図 1 ZnPNbO-T および ZnPNbO-C の ^{31}P MAS-NMR スペクトル。破線は、ガウス関数で分離した各リン酸塩構造のピーク。RF-MS により得られたアモルファス膜では、その組成はターゲットと大きく変わらないものの、リン酸塩構造の縮合が生じている。Elsevier より許可を得て文献 [7] の一部を改訂して掲載。

が示された。

一般に、低温（たとえば Tg 以下）で行われるスパッタリングでは、P 元素で形成されるクラスター内で PO_4^{3-} グループが互いに接続して縮合しようとする [8]。一方、ZnPNbO ガラスのスパッタリングの場合には多量の Zn^{2+} イオンも放出されるので、 Zn^{2+} イオンの PO_4^{3-} グループへの配位によってリン酸グループの縮合が抑制される現象も同時に生じる。結果として、 Q_p^1 グループと Q_p^2 グループの量は増加し、 Q_p^0 グループの量は減少するものの一定量は残存する。

Zn^{2+} イオンが配位した Q_p^2 グループからなるリン酸鎖では、Zn-O 間の結合が切れやすい [9]。その後、P-O-P 結合は分極した水によって徐々に切断され、リン酸グループが溶出する。 Zn^{2+} イオンの徐放性を設計するために効果的ではあるが、長期間に亘る安定性も考慮する必要がある。また、 Q_p^2 グループの形成量の制御が鍵となる。

表 1 に示すように、大腸菌および黄色ブドウ球菌を用いた抗菌試験の結果、ZnPNbO-C は抗菌性が非常に高いことが示された。溶出した Zn^{2+} イオンが菌の細胞膜に直接結合して損傷を与え、増殖機能を阻害することが報告されている [10]。口腔内に存在するう蝕原性菌であるグラム陽性 *Streptococcus mutans* およびグラム陰性 *Porphyromonas gingivalis* に対しても抗菌性を示すと期待されるが、今後の研究課題である。

ZnPNbO-C 上で骨芽細胞様細胞 Saos-2 を培養したところ、対照物質（シリカガラス）と比較して、生細胞数の増加および細胞あたりの代

表 1 シリカガラスに成膜した ZnPNbO-C 上での培養前後の細菌数（フィルム密着法）。比較試料 (Ctrl) はシリカガラス板。* は 1 mL あたりのコロニー形成数（括弧内は標準偏差）。Elsevier より許可を得て文献 [7] の一部を改訂して掲載。

菌種	大腸菌 (<i>E. coli</i> : NBRC 3972)		黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i> : NBRC 12732)		
	試料	Ctrl	ZnPNbO-C	Ctrl	ZnPNbO-C
接種菌数*		2.2×10^4		1.6×10^4	
24 h 培養後の菌数*		1.1×10^8 ($\pm 3.4 \times 10^{14}$)	< 1	5.1×10^7 ($\pm 2.6 \times 10^{15}$)	< 1

謝活性に有意差はなく、細胞毒性を示さない。培養中に ZnPNbO-C から徐放された Zn^{2+} イオン量は、細胞毒性を誘発する量よりも少なかったといえる。

金属チタン上に成膜し、トリス緩衝液 (pH 7.40) に浸漬すると、膜厚の単調な減少 (約 10 nm/d) がみられた。抗菌性の発現に十分な Zn^{2+} イオンの徐放量であり、少なくとも数ヶ月は抗菌性を維持できると予想される。

4. おわりに

$65ZnO \cdot 30P_2O_5 \cdot 5Nb_2O_5$ ガラスは安全性の高い抗菌性生体材料として有用である。スパッタ用ターゲットとして使用して、金属やセラミックスをはじめ種々の基板に成膜することができる。ただし、用途によっては膜の耐久性のさらなる向上が求められる場合も考えられ、組成の最適化や熱処理による結晶化など検討が続いている。

文献

- [1] A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita, J. Biomed. Mater. Res., 39, 331-340 (1998).
- [2] T. Kasuga, Acta Biomater., 1, 55-64 (2005).
- [3] F.F. Sense, J.R. Martinelli, L. Gomes, J. Non-Cryst. Solids, 348, 30-37 (2004).
- [4] S. Lee, H. Maeda, A. Obata, K. Ueda, T. Narushima, T. Kasuga, J. Non-Cryst. Solids, 426, 35-42 (2015).
- [5] S. Lee, H. Uehara, A.L.B. Maçon, H. Maeda, A. Obata, K. Ueda, T. Narushima, T. Kasuga, Mater. Trans., 57, 2072-2076 (2016).
- [6] P.S. Sato, T. Watanabe, H. Maeda, A. Obata, T. Kasuga, Mater. Trans., 60, 1707-1710 (2019).
- [7] P.S. Sato, T. Watanabe, H. Maeda, A. Obata, T. Kasuga, J. Non-Cryst. Solids, 528, 119724 (2020).
- [8] J. Koo, B.S. Bae, H.K. Na, J. Non-Cryst. Solids, 212, 173-179 (1997).
- [9] T. Akamatsu, T. Kasuga, M. Nogami, J. Non-Cryst. Solids, 351, 691-696 (2005).
- [10] L. Rimondini, M. Fini, R. Giardino, J. Biomed. Mater. Res., 3, 1-10 (2005).