

反応性スパッタによる新規チタン酸化物生体材料表面の創製

薄膜・表面物性研究室 竹内 将人
M166122 Masato TAKEUCHI

背景と目的

チタン (Ti) は優れた生体親和性をもつため生体材料として広く使われている。Ti は表面に細胞適合性に優れる TiO_2 をはじめとする複数種の酸化物を形成して不働態化している。これまでに、皮膜中の Ti 酸化物の組成比が細胞応答や血小板粘着特性に影響をおよぼすことが報告されている[1]。また、 TiO_2 の結晶構造 (ルチル, アナターゼなど) も細胞応答に影響をおよぼすことが示唆されている[2]。Ti 酸化物の組成比・結晶構造と細胞応答の関係性を解明することは、新規 Ti 製生体材料の開発につながると期待できる。そこで本研究では、反応性スパッタを用い、製膜時の酸素流量・Ar 圧力を制御して Ti 酸化物薄膜を作製し、さらに作製した薄膜に熱処理を行った。これによって多様な組成・結晶構造をもつ Ti 酸化物薄膜を作製した。製膜した試料および熱処理をした試料に対して、化学組成、結晶構造やぬれ性などの表面特性を評価した。また、試料に対して細胞培養試験を行い、細胞接着性や石灰化能の評価を行った。

実験方法

DC 反応性マグネトロンスパッタを用いてシリコンウェハまたはガラス基板上にチタン酸化物薄膜を作製した。チャンバーを 4×10^{-5} Pa 以下まで排気した後、ターゲットに Ti、スパッタガスとして Ar を 10 sccm 導入した。その後、Ar 圧力: 1.0, 3.0 Pa、 O_2 流量: 0.1~2.0 sccm、電力: 100 W、ターゲット-基板間距離: 50 mm の条件で製膜した。製膜時間を制御し、膜厚はすべて 100 nm となるように製膜した。製膜後、酸素フロー雰囲気下で $400 \sim 600^\circ\text{C}$ の熱処理を 1 h 施した。熱処理前後の表面化学組成を X 線光電子分光 (XPS)、結晶構造を X 線回折 (XRD)、表面のぬれ性を静的接触角測定、表面粗さを触針型粗さ計によりそれぞれ評価した。さらに、製膜した各薄膜上にマウス頭蓋冠骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) を播種し、培養 24 h 後の接着の様子を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。さらに、25 日間の骨分化誘導を行い、アリザリン・レッド染色による石灰化量の測定も行った。比較対照として、市販のポリスチレン製の組織培養皿 (PS dish) を用い、同様に細胞培養とその後の評価を行った。

結果および考察

反応性スパッタにおいて酸素流量を制御することにより、 TiO_2 含有量が異なる Ti 酸化物薄膜を作製できた。酸素流量: 0.1 sccm で作製した試料の Ti^{4+} 量は 71 at.% 程度、酸素流量: 0.86 sccm では 82 at.% 程度、酸素流量: 2.0 sccm では 90 at.% 以上となった。これらの試料 ($n=3$) 上で 24 h の細胞培養を行った結果、どの試料でも細胞は接着して伸展している様子が観察できた。このことから、細胞は Ti 表面の構成比に関係なく良好に接着することがわかった。また、細胞の平均接着面積に大きな差はみられなかったが、接着面積の分布は異なり、 TiO_2 含有量が多い薄膜の方が、伸展している細胞が多く、PS dish 上の細胞にその挙動が類似していた (図 1)。この結果から、 TiO_2 含有量が細胞の伸展のしやすさに影響をおよぼしていることが示唆された。続いて、上記と同条件の試料 ($n=5$) に対して 25 日間の骨分化誘導実験を行った結果、酸素流量が増加する

につれて石灰化量が増加し、酸素流量: 2.0 sccm の試料において最も石灰化量が多くなることが確認できた (図 2)。このことから、TiO₂ 含有量が骨分化に影響をおよぼし、TiO₂ 含有量が多いと骨形成を促進することが示唆された。これらの試料において、表面粗さはいずれも 0.27~0.30 nm の範囲で大きな差はなく、ぬれ性においても接触角は 67°~74°で大きな違いは見られなかった。したがって、化学組成が骨形成に対して大きな影響をおよぼしたと考えられる。

400°C、600°Cで熱処理を施すと、すべての試料表面はほぼ完全に酸化され、Ti⁴⁺量は95 at.%以上となった。XRD測定の結果を図3に示した。Ar圧力1.0 Pa、酸素流量: 2.0 sccmの試料に対して600°Cの熱処理を行った結果、ルチル (110) ピークが確認された。一方、Ar圧力3.0 Paの2.0 sccmの試料に対して400°Cの熱処理を行った結果、アナターゼ (101) ピークが確認された。また、Ar圧力3.0 Paの0.5 sccmで製膜し、600°Cで熱処理を行うと、複数のルチルピークが確認された。このことから、製膜時の酸素流量とAr圧力の制御により、熱処理後の結晶構造の制御が可能であることが示唆された。また、表面のぬれ性において、製膜後の状態での接触角は70°~72°であったのに対し、結晶構造を有する状態での接触角は54°~56°となり親水化することがわかった。これらの表面状態の違いは細胞応答に影響をおよぼすと考えられる。

結論

反応性スパッタ製膜において酸素流量を制御することにより、約 10% 間隔で Ti⁴⁺ 量の異なるチタン酸化物薄膜を作製できた。Ti 酸化物の組成比の違いによって接着面積の分布には差がみられ、TiO₂ 含有量が多い薄膜の方が伸展している細胞が多かった。そして、骨分化誘導実験の結果から、TiO₂ 含有量の違いが骨分化能に影響をおよぼし、TiO₂ 含有量が多いと骨形成を促進することが示唆された。また、製膜時の酸素流量と Ar 圧力の制御により、熱処理後の結晶構造の制御が可能であることが示唆された。

参考文献

- [1] K. Oya, A. Sanada, N. Nishiyama, R. Watanabe, S. Iwamori, Y. Kimura: Mater. Sci. Soc. Jpn., 51(5), (2014) 27.
- [2] K. Oya, Y. Moriyama, Y. Yoshioka, T. Kimura, Y. Tsutsumi, H. Doi, N. Nomura, K. Noda, A. Kishda, T. Hanawa : J. Biomed. Mater. Res., 94A, (2010) 611.

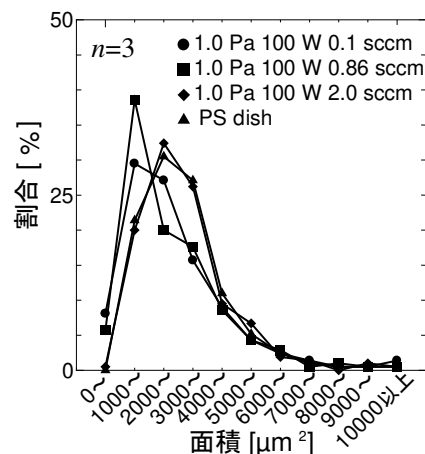


図 1. 細胞接着面積の分布

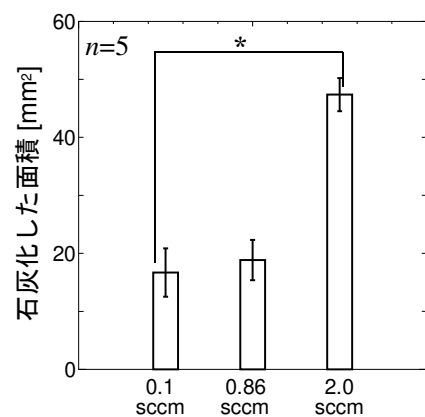


図 2. 石灰化量の測定結果
(*p<0.05)

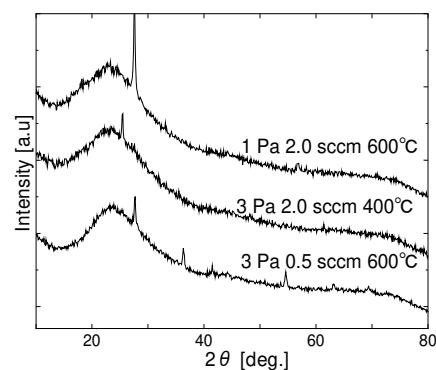


図 3. XRD 測定結果