

酸化膜を付与した歯科用インプラント材としてのチタンの研究

寺島 伸佳

松本歯科大学 歯科理工学講座
(指導教員：伊藤 充雄 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

Study of properties of heat-treated titanium for dental implant

NOBUYOSHI TERASHIMA

*Department of Dental Materials, Matsumoto Dental University
(Academic Advisor : Professor Michio Ito)*

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

要 旨

【目的】チタンは生体親和性に優れているという特徴を生かし、歯科用インプラント材としての使用頻度が高い。しかし近年、インプラント体としてのチタンと、上部構造物の合金の種類によっては、ガルバニック作用が生じてアレルギーが発症することが報告されている。そこで本報は、より生体安全性に優れたインプラント材の開発を目的として、チタン表面に積極的に酸化膜を付与することで、耐食性を向上させることが可能であると考え、その耐食性について、溶出試験および電気化学特性試験を用いて詳細に検討した。

【方法】JIS第2種チタン圧延板（1×1cm）を使用し、温度400℃、600℃、800℃にてそれぞれ40分、60分、80分の加熱処理を行い、酸化膜を付与した試験片を作製した。また、比較のために同様の処理を行った試験片の酸化膜を除去した試

験片を作製した。溶出試験は、酸化膜有無の試験片をそれぞれ1%乳酸溶液80mlに浸漬し、振とう器で毎分100回、37℃で6ヶ月間保持した後、チタンの溶出量を定量分析した。電気化学特性試験は、電気化学分極測定装置と37℃の恒温槽内に設置した電解セルを用いて、1%乳酸溶液70ml中で電位走査を行い、電位と電流密度の関係をプロットした。得られた動電位分極曲線から1%乳酸溶液への試験片の分極抵抗値（Rp）を算出した。酸化膜の表面性状については、グロー放電発光分析装置を使用して酸素・窒素・炭素の拡散状態について、表層から最大深さ約10μmまでの測定条件にて測定を行なった。さらにレーザー顕微鏡にて表面観察を行なった。硬さ試験は、ビッカース硬さ計にて荷重100gで荷重負荷時間15秒で、1試料10カ所の硬さを測定した。また、1%乳酸溶液に6ヶ月間浸漬後の試験片も同様に測定を行った。細胞培養試験は、マウス頭蓋骨由来の

初代培養骨芽細胞を用いた。37℃、5% CO₂環境下で2日間と4日間培養し、細胞数の計測は2日後、4日後に行った。Alamar Blueにて反応させた培養液の吸光度を、励起波長560nm、検出波長590nmを用いて測定し、細胞増殖数の比較を行なった。

【結果および考察】表面性状は、レーザー顕微鏡観察において、400℃では結晶粒界がはっきり確認できた。600℃は粒界が見られる部位とまだら模様に見られる部位があった。800℃では、酸化膜は均一で全体的に盛り上がり粒界は確認できなかった。グロー放電発光分析装置において、酸素の拡散は加熱温度が高いほど深部まで拡散が認められたが、時間における違いは少なかった。これらのことから表面性状は、加熱温度が高くなるほど酸化膜が均一に厚くなることが確認された。硬さ試験では、400℃と比較して600℃で2倍、800℃で4倍の硬さであった。これは、酸化膜が厚くなったためと考えられる。加熱処理によって酸化膜を付与した試験片からのチタンの溶出量は、すべての処理温度で、プラスト処理したものより有意に少なかった ($p < 0.01$)。同じ加熱温度では時間による差異はほとんど認められなかった。加熱温度が高いほどチタンの溶出量は減少し耐食性が向上した。電気化学的特性試験においても加熱温度が高くなるにしたがって、分極抵抗値が大きくなる傾向が認められた。また800℃で加熱した試験片は、絶縁体で電気を通さないため測定不可能であった。このことから800℃で加熱処理をしたチタンをインプラント体に使用した場合、上部構造物の合金の種類によって、ガルバニック腐食や孔食が生じることはないと考えられる。しかし溶出試験において、800℃で処理した試験片から微量のチタンの溶出が認められたのは、電気化学的な溶出ではなく、6ヶ月間という長期の浸漬期間に、振とうによるチタン同士による摩擦やガラス瓶との摩擦等により生じたと考えられる。細胞培養試験においては、2日目よりも4日目の方が、細胞増殖が認められたことから、チタンの酸化膜上で細胞は生着し増殖したと考えられる。

緒 言

近年、高齢化社会を背景として、欠損部位に歯根として人工材料を埋入するインプラント治療の

使用頻度が増えている。それは、インプラント治療により、ブリッジのように隣在歯に負担をかけることなく、また多数歯欠損においては義歯のような着脱の必要もなく、天然歯に近い状態で咀嚼や会話などが行なえる利点を有するためである。

インプラントの研究は、19世紀末から20世紀初頭にかけて始められた。当初、インプラント材としては、セラミックと加硫ゴムを組み合わせた物やポーセレンを用いたものであった。その後20世紀中ごろからは、骨内インプラントとして、スパイラル型、アンカー型、スクリュー型、ピン型、ブレード型、多孔質型、多重毛管型、三次元型と多様な形状の研究もなされてきた¹⁻³⁾。それと同時に材料もステンレス、22K金合金、コバルトクロム合金、チタン、チタン合金といった金属材料、また無機材料のサファイヤ、アルミナ多結晶と多岐に渡る材料が使用されてきた¹⁻³⁾。しかしインプラント材の製造許可は、直接生体内に埋入して使用するために、数々の規格が定められており容易ではない。材料の多くは、インプラント材として必要とされる骨組織や口腔内組織との親和性、接着力、機械的強度などの不足から、チタン、チタン合金以外は、現在使用されなくなった¹⁻⁵⁾。チタンは、JIS規格において第1種から第4種が製造されており、窒素(N)、炭素(C)、水素(H)、鉄(Fe)、酸素(O)の含有量によって分類されており、それらの含有量の差は、引張強さ、耐力、伸びに影響を及ぼす⁶⁾。現在インプラント材として使用されているチタンは、JIS第2種と4種である。

昨今、口腔内に使用されている金属材料から溶出した金属イオンに寄因するアレルギーが、社会問題として大きく取り上げられている⁷⁾。骨内インプラントは、骨内に直接埋め込む部位と口腔内に露出している部位とがあり、他の歯科治療に用いる金属材料と比較して、患者に対する化学的特性、生物学的特性や機械的特性の影響は大きいことが考えられる。そのためインプラント用チタンと細胞の関係や、電気化学的特性についての研究が行なわれており⁸⁻¹⁵⁾、それらの報告によると、インプラント体としてのチタンと上部構造物の合金の種類によっては、ガルバニック腐食や孔食が生じることがあり、チタンが15 ppm以上溶出すると細胞毒性が生じることが報告されている¹⁶⁾。し

たがって、チタンの溶出を減少させ、組織や細胞との接着性を向上させることが求められており、様々なチタンの表面改質がなされてきた¹⁷⁻²¹⁾。骨の成分であるハイドロキシアパタイトをコーティングする方法は、口腔内組織との生体親和性が良く、細胞との直接的結合をも得ることができた。しかし埋入後に経過観察を行うと、チタン表面からコーティング層が脱落してしまう欠点があった³⁾。またチタンに窒素を固溶する窒化処理は、物性において著しく高い硬さを示したが、チタンの溶出抑制の効果は無く、生体親和性の向上も認められなかった²²⁾。

チタンは活性な金属であるが、その表面に形成される不動態被膜によって耐食性が向上する特性を有している²³⁾。これまでの報告からその不動態被膜は、組織や細胞との直接的な結合が期待できる^{19, 22, 23)}。一般に加工材や表面研磨後のチタンは、厚さ10nmの酸化膜に覆われている。しかし、この状態での酸化膜によるチタンの溶出抑制効果は十分ではない²⁴⁾。チタン表面の酸化膜をコントロールすることにより、耐食性や生体親和性をより向上させ、インプラント材として使用した際の生体内におけるイオンの溶出をさらに抑制することができると考えられる^{9, 19, 25)}。

これらのことからチタン表面に積極的に酸化膜を付与し、不動態被膜を形成する表面改質が行われた²⁶⁾。過酸化水素処理は、比較的簡単な操作で酸化処理することができるが、過酸化水素自身の酸化力が弱いため、その酸化膜は薄く、チタンの溶出の抑制効果は不十分であることが報告されている^{27, 28)}。また陽極酸化処理では、リン酸カルシウム水溶液中で処理を行うと、通常の処理以上の生体親和性が認められたことが報告されている²⁹⁻³¹⁾。しかしこの処理は、一次、二次と繰り返しが必要な煩雑な操作であり、酸化膜が孔を有するため、チタンの溶出の抑制も十分ではなかった²⁹⁻³¹⁾。チタンの不動態被膜という他の金属では得難い特性を利用して、インプラント材の開発を行うことは、今後その使用頻度が益々急増するために重要である。しかし、不動態被膜の形成において大気中における加熱処理は操作も簡便であり、酸化膜のコントロールが容易であるにもかかわらず、インプラント材への応用は未だなされておらず、それについての系統的な研究もほとんど

ない。

したがって、本研究はチタンの溶出を抑制し、より生体安全性に優れたインプラント材の開発を目的として、JIS第2種チタンを大気中の加熱し、酸化膜の形成を行い³²⁾、加熱温度と加熱時間の条件と不動態被膜の表面性状、耐食性および細胞培養の関係について検討を行った。

実験材料と方法

1. 実験材料および加熱処理方法

実験使用したJIS第2種のチタン圧延板(以

表1: チタンJIS第2種の化学成分及び機械的性質

元素	重量 wt. %
N	0.03以下
C	0.08以下
H	0.013以下
Fe	0.25以下
O	0.20以下

表2: 引張試験(厚さ0.2以上15以下)

厚さ	mm	0.2以上15以下
引張強さ	N/mm ²	340~510
耐力	N/mm ²	215以上
伸び	%	23以上

表3: 試験処理条件

試験処理条件	略号
加熱処理なしのTi	As
加熱処理なしのTiをブラスト処理	AsB
400℃で40分加熱処理	400 H 40
400℃で40分加熱処理後ブラスト処理	400 H 40 B
400℃で60分加熱処理	400 H 60
400℃で60分加熱処理後ブラスト処理	400 H 60 B
400℃で80分加熱処理	400 H 80
400℃で80分加熱処理後ブラスト処理	400 H 80 B
600℃で40分加熱処理	600 H 40
600℃で40分加熱処理後ブラスト処理	600 H 40 B
600℃で60分加熱処理	600 H 60
600℃で60分加熱処理後ブラスト処理	600 H 60 B
600℃で80分加熱処理	600 H 80
600℃で80分加熱処理後ブラスト処理	600 H 80 B
800℃で40分加熱処理	800 H 40
800℃で40分加熱処理後ブラスト処理	800 H 40 B
800℃で60分加熱処理	800 H 60
800℃で60分加熱処理後ブラスト処理	800 H 60 B
800℃で80分加熱処理	800 H 80
800℃で80分加熱処理後ブラスト処理	800 H 80 B

下チタンと表示する)の化学成分を表1に示す。またチタンの引張試験の結果を表2に示した。チタンは加熱処理前に、製造過程での汚れや油の除去のため、アセトンに3分間浸漬を行い、ペーパーで乾燥した。再度アセトンに数秒間浸漬し、蒸留水にてよく洗浄した後ペーパーにて乾燥した。その後、チタンを磁性ポート上に設置し、400℃、600℃、800℃の温度でそれぞれ40分、60分、80分間の加熱処理を電気炉(SLC 115: Selec)内にて行なった。表3に試料の加熱処理条件と略号を示した。加熱に偏りがなく同一条件にて処理するために、電気炉内の磁製ポート上のチタンの位置を中央に設定して加熱した。電気炉から取り出した後、大気中で室温まで放冷し、それぞれの試験用試料とした。また、比較のために加熱処理したそれぞれの試験片をサンドブラスターII(松風)を用い、ガラスビーズ(松風)にて表面の色が消えるまで酸化膜を除去した試料も作製した。

2. 酸素、窒素、炭素の拡散状態

縦20mm、横20mm、厚さ1mmの大きさのチタンは、グロー放電発光分析装置(GDA 750: 理学)を使用し、酸素・窒素・炭素の拡散について分析を行なった。分析条件は、測定時間30~500秒、高周波電力30W、分析面積約0.16cm²で表層から最大約10μmまで行なった。

3. 表面観察

表面観察は、縦10mm、横10mm、厚さ1mmの大きさのチタンを、それぞれ3枚用いた。37℃の1%乳酸溶液80mlに6ヶ月間浸漬したチタンは、1ヶ月ごとに溶液から取り出してレーザー顕微鏡(LEXT OLS 3000: オリンパス)にて表面観察を行なった。観察は各チタンの3カ所を無作為に観察した。一方、卓上走査型顕微鏡(Miniscopie TM-1000形、日立)を用いて同様に試料表面の観察を行った。

4. 硬さ測定

溶出試験で用いた縦10mm、横10mm、厚さ1mmの大きさのチタンを、それぞれ3枚用いて、ビッカース硬さ計(HMV-2000 島津製作所)にて荷重100gで荷重負荷時間15秒として、1試料につき10カ所の硬さを測定した。また、1%乳酸溶液に6ヶ月間浸漬後のチタンについても同様に硬さの測定を行った。得られた測定値は、一元

配置にて分散分析および有意差検定を行なった($p < 0.05$, $p < 0.01$)。

5. 結晶型の同定

縦10mm、横10mm、厚さ1mmの大きさのチタンを、それぞれ1枚用いて、X線回折装置(JXA-3532: 日本電子)にて、測定条件は、計数時間0.5 sec、管電圧40.000 kV、管電流30.000 mAで、加熱温度による酸化膜の結晶型の同定を行った。

6. 耐食性試験

1) 溶出試験

溶出試験は、縦10mm、横10mm、厚さ1mmの大きさのチタンを、各条件でそれぞれ3枚準備し1%乳酸溶液(ナカライテスク)80mlに1枚ずつ浸漬し、恒温振とう器(IK 400: ヤマト)にて毎分100回振とうし37℃で6ヶ月間保持した。浸漬後の1%乳酸溶液は、高周波誘導結合型プラズマ質量分析装置(ICP-MS: 横河アナリティカルシステムズ)を用いて、チタンの溶出量の定量分析を行なった。得られた結果については、二元配置の分散分析および有意差検定($p < 0.05$, $p < 0.01$)を行なった。

2) 電気化学特性試験

電気化学特性試験は、電気化学腐食測定装置(Potentiostat, Galvanostat Model 283 & Corrosion software M 352 C: SEIKO EG&G)と37℃の恒温槽内に設置した電解セルを用いて行った。参照電極に銀-塩化銀電極(Ag/AgCl)、対極には白金線を用いた。電解液として1%乳酸溶液70mlを用い、窒素ガスにて10分間脱気した。試料表面を1cm²に設計した試料ホルダーに10×10mmの大きさのチタンをはめ込み、作用電極として電解セルに浸漬し、5分間放置した後、走査速度0.167 mV/secにて±1.2Vの走査範囲で分極を行い、電位と電流密度の関係をプロットして、動電位分極曲線を測定した。以上の電気化学的測定の繰り返し数は3回とした。得られた動電位分極曲線から1%乳酸溶液への各チタンの分極抵抗値(Rp)を算出した。結果については、二元配置の分散分析および有意差検定($p < 0.05$, $p < 0.01$)を行なった。

7. 細胞培養試験

細胞培養は、縦5mm、横5mm、厚さ1mmの大きさのチタンをそれぞれ5枚用い、400℃、

600℃と800℃でそれぞれ60分間加熱処理を行った。各処理した400 H 60, 600 H 60と800 H 60を48 well plate に1 wellにつき一枚ずつ敷き詰めた。細胞培養には、最終濃度が10%になるようにFBS (fetal bovine serum, Hyclone) を加えた培養液を調整し、用いた。細胞は、マウス頭蓋骨由来の初代培養骨芽細胞を用いた。初代培養骨芽細胞は、1日齢マウスの頭蓋骨をコラゲナーゼ (Wako) 処理することにより得た。その骨芽細胞を37℃, 5% CO₂存在下で1日 (24時間) 培養後、細胞が20 μl 中の α-MEM (SIGMA) に1 × 10³ cells 存在するように調整した。調整した α-MEM をそれぞれの試験用試料表面に20 μl ずつ播種し、37℃, 5% CO₂環境下で30分間培養することにより細胞を試験用試料面へ付着させた。30分培養後、500 μl の α-MEM をそれぞれの well に加え、37℃, 5% CO₂環境下で2日間 (48時間), 4日間 (96時間) 培養した。細胞数の計測は2日後 (48時間後) と4日後 (96時間後) に行った。培地を吸い取った後、500 μl の1 × PBS (phosphate buffered saline, PH=7.4) (ナカライテスク) により1回洗浄した。そこへ、50 μl の Alamar Blue (Bio souce) と450 μl の α-MEM を加え、37℃, 5% CO₂で3時間インキュベートした。その後、吸光度計 (SPECTRA MAX GEMINI XS : Molecular Devices) にて、励起波長560

nm・検出波長590 nm の吸光度を測定した。吸光度の値から細胞増殖数の比較を行い、その結果については、加熱温度と時間の一元配置にて分散分析および有意差検定 (p<0.05, p<0.01) を行なった。

結 果

1. 加熱処理によるチタンの色彩変化と酸素、窒素、炭素のチタンへの拡散状態

図1はチタンの加熱処理後の色彩の違いを示す。AsとAsBの色彩は図1に示すように金属色を示しており、酸素と窒素の拡散状態の分析結果を図2 (a, b) に示す。Asは、表層部に最も酸素が多く、約50 wt.%認められた。表層部から約0.1 μm で酸素の拡散が4.3 wt.%認められ、その後の減少は緩やかであった。そこで、加熱処理による酸素の拡散については、酸素濃度4.3 wt.%以上についての拡散酸素量について比較した。

400 H 40, 60, 80は、肉眼所見においてはブラウン色を示す (図1)。400 Hの酸素、窒素、炭素の拡散状態の分析結果を図3 (a, b, c, d) に示す。400 H 40の試料は、酸素が表層部に最も多く、約70 wt.%認められた。また表層部から約0.15 μm まで酸素の拡散が認められた。400 H 80は、酸素が表層部に最も多く80 wt.%認められた。また表層部から約0.15 μm まで酸素の拡散が

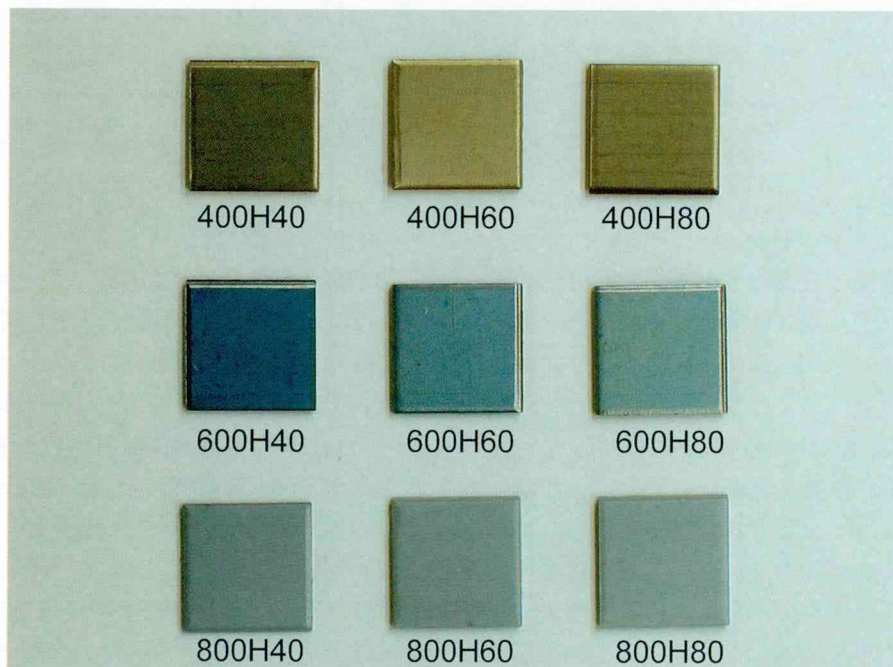


図1：加熱処理を行なったチタンの色彩

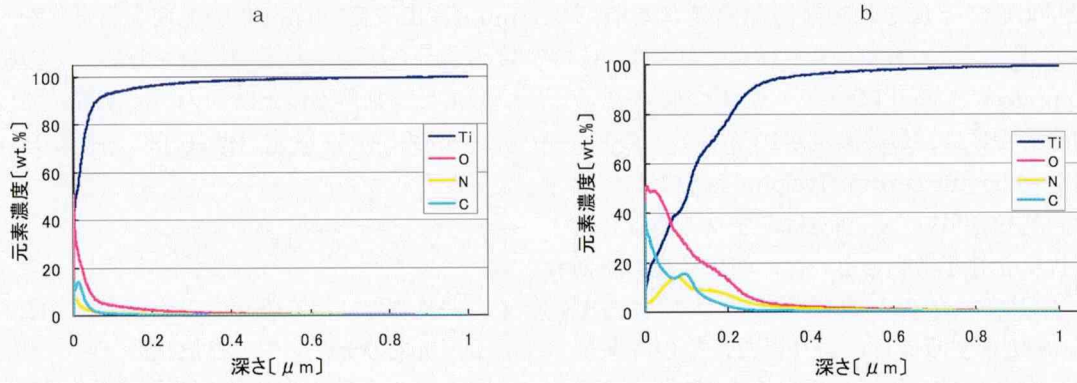


図2：酸素、窒素、炭素の拡散状態 (a: As b: AsB)

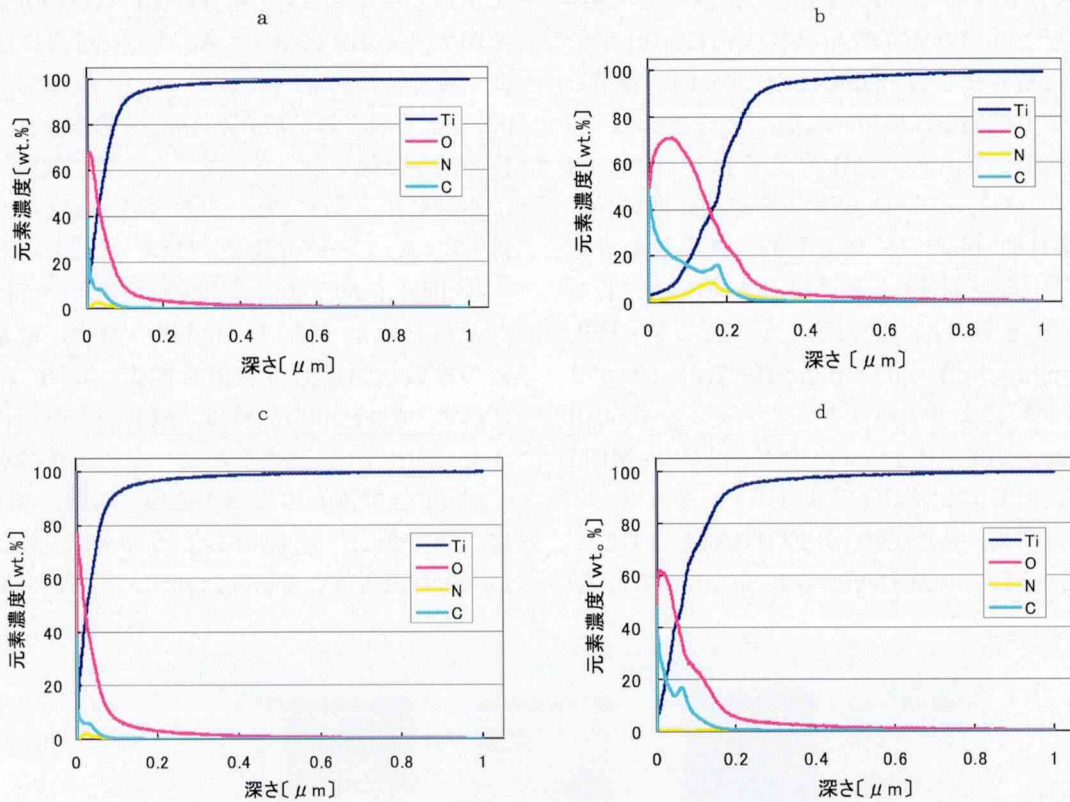


図3：酸素、窒素、炭素の拡散状態 (a: 400H40 b: 400H40B c: 400H80 d: 400H80B)

認められた。窒素と炭素は400 H 40, 80共に差はほとんどみられず、窒素は表層部で最も多く4～6 wt.%認められた。炭素も表層部で多く認められた。

600 H 40, 60, 80は肉眼所見では青色を示す(図1)。600 Hの酸素、窒素、炭素の拡散状態を図4 (a, b, c, d)に示す。400 Hと比較して、酸素と窒素は増加傾向が認められ、炭素は減少傾向がみられた。600 H 40と80共に表層の酸素の拡散が80 wt.%程度認められた。しかし表層から0.02 μmの部分で酸素が58 wt.%程度まで減少

し、0.06 μm部分では66 wt.%まで回復しているが、その後は深さ方向に向かって減少した。600 H 40は0.3 μm, 600 H 80は0.34 μmまで酸素の拡散が確認できた。600 Hは400 Hと比較すると、400 Hの約2倍の深さ方向の酸素の拡散が認められた。600 Hは共に窒素が表層から0.15 μmで最も拡散が多く、その後減少し0.2 μm程度まで拡散が認められた。炭素は表層のみ約25 wt.%の拡散が認められたが、その後急速に減少し表層から深さ方向に約0.2 μmでは、ほとんど確認できなかった。

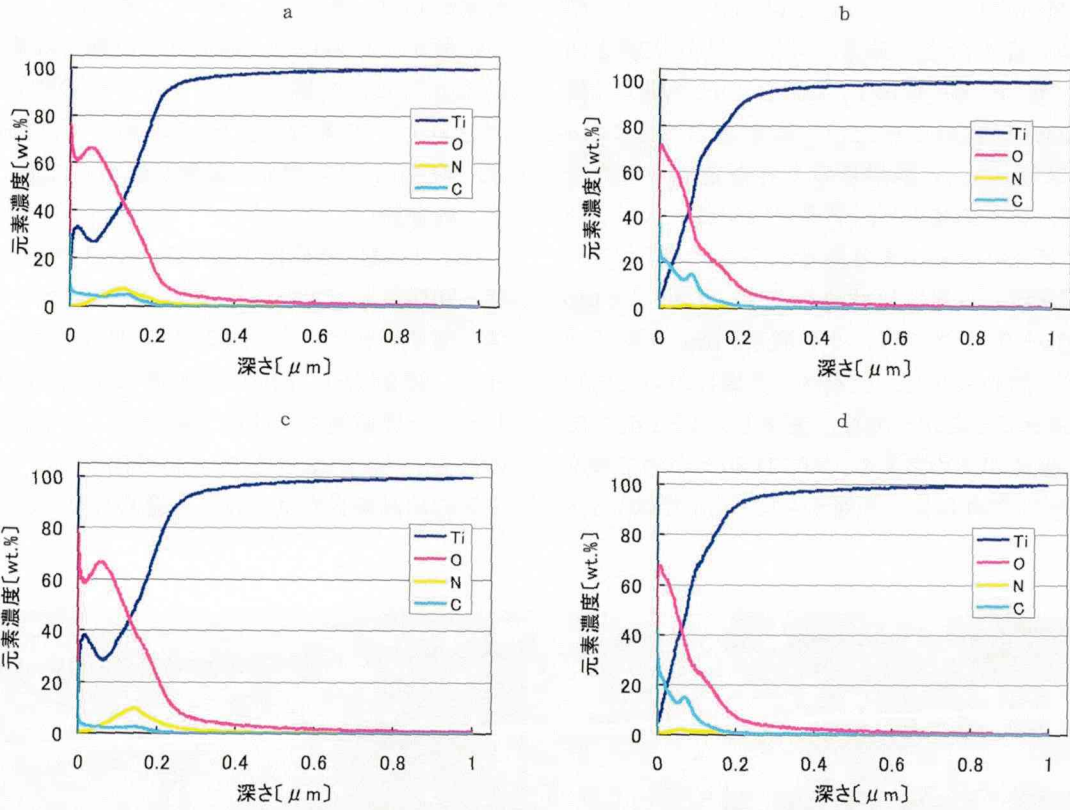


図4：酸素，窒素，炭素の拡散状態 (a：600H40 b：600H40B c：600H80 d：600H80B)

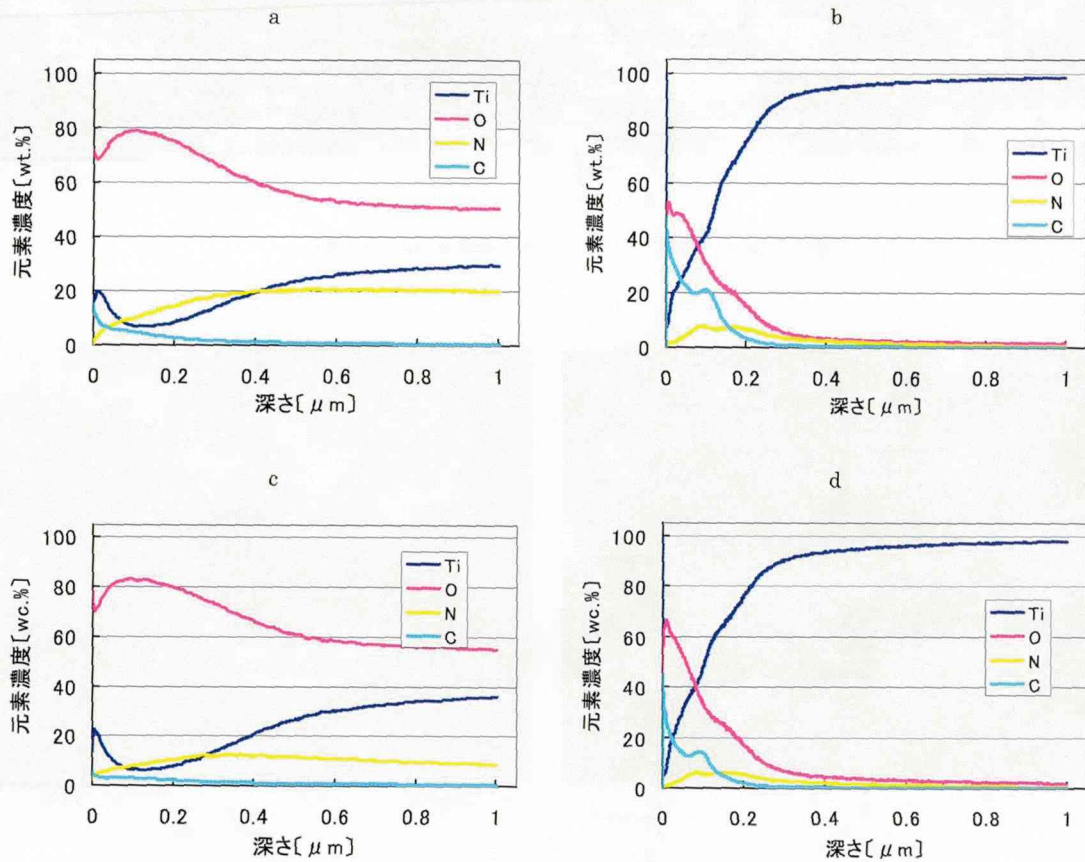


図5：酸素，窒素，炭素の拡散状態 (a：800H40 b：800H40B c：800H80 d：800H80B)

800 H 40と80は肉眼所見では白色を示す(図1)。800 Hの酸素、窒素、炭素の拡散状態を図5(a, b, c, d)に示す。800 H 40は表層では酸素が70 wt.%認められたが、表層から深部へ0.1 μm では78 wt.%と酸素量の上昇が認められた。その後、徐々に減少し、グラフに記載されていないが、深部の5 μm まで酸素の拡散が認められた。窒素は、表層では認められず、0.3~2.5 μm で約20 wt.%確認でき、その後5.5 μm の深部まで拡散が認められた。炭素は、表層において約14 wt.%確認できたがその後、減少し、3.8 μm まで深部の拡散が認められた。800 H 80は表層で酸素が78 wt.%認められ、表層から0.1 μm では83 wt.

%認められ、その後、減少し、6.5 μm まで酸素の拡散が認められた。窒素は、表層では約3 wt.%認められ、表層から0.4 μm でも約12 wt.%確認された。炭素は、表層では約5 wt.%確認でき、約5 μm まで深部の拡散が認められた。

2. 表面観察

As, 400 H, 600 Hと800 Hの各チタンのレーザー顕微鏡と電子顕微鏡による表面観察結果の一部を図6~9に示す。図7は400 H 40, 図8は600 H 40, 図9は800 H 40の表面観察結果を示す。レーザー顕微鏡および電子顕微鏡による表面観察の結果, Asと比較して, 400 H 40, 60, 80はチタンの結晶粒界がはっきりと認められた。しかし

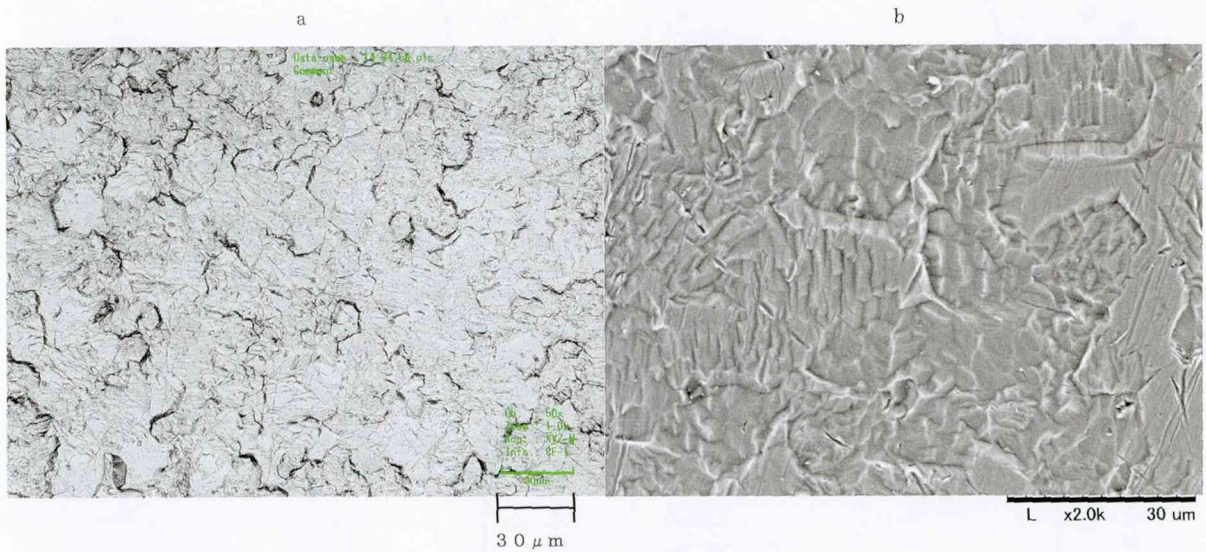


図6：Asの表面観察 (a：レーザー顕微鏡 b：電子顕微鏡)

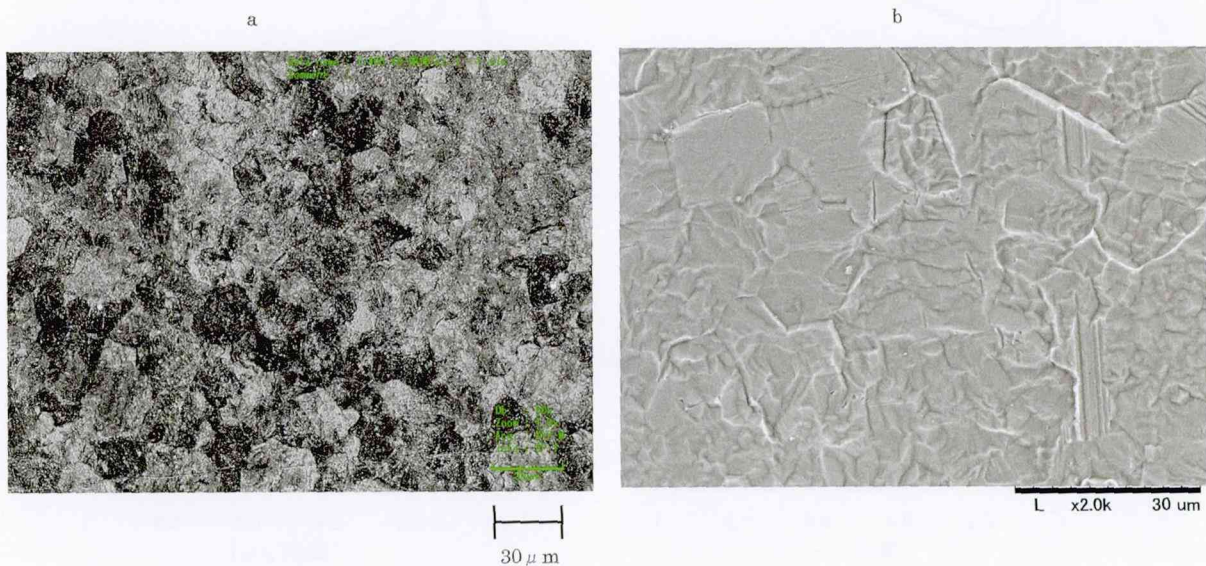


図7：400 H 40の表面観察 (a：レーザー顕微鏡 b：電子顕微鏡)

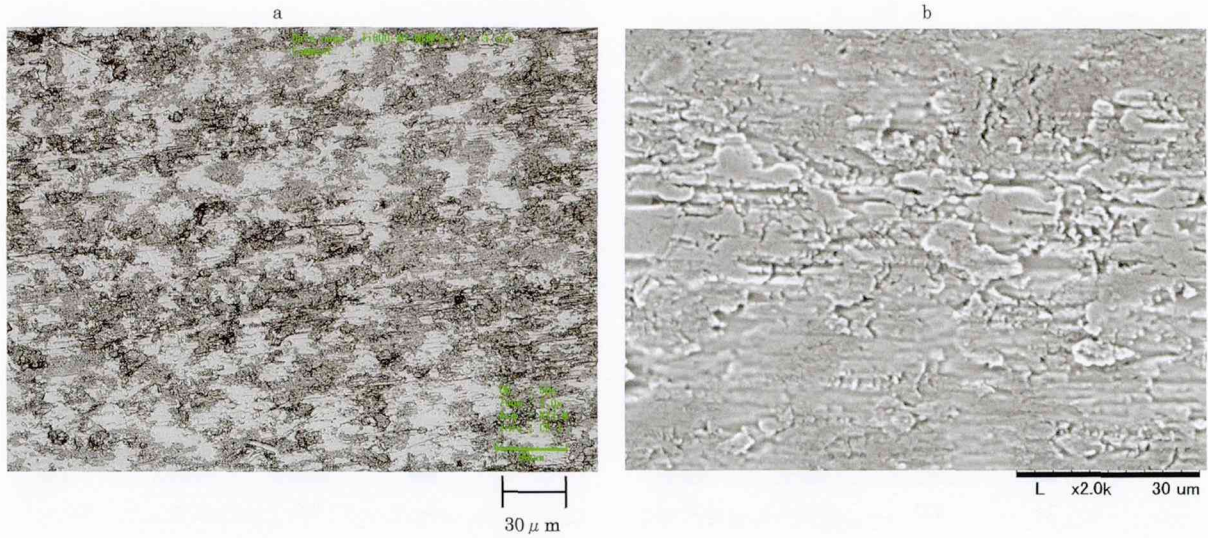


図8：600H40の表面観察（a：レーザー顕微鏡 b：電子顕微鏡）

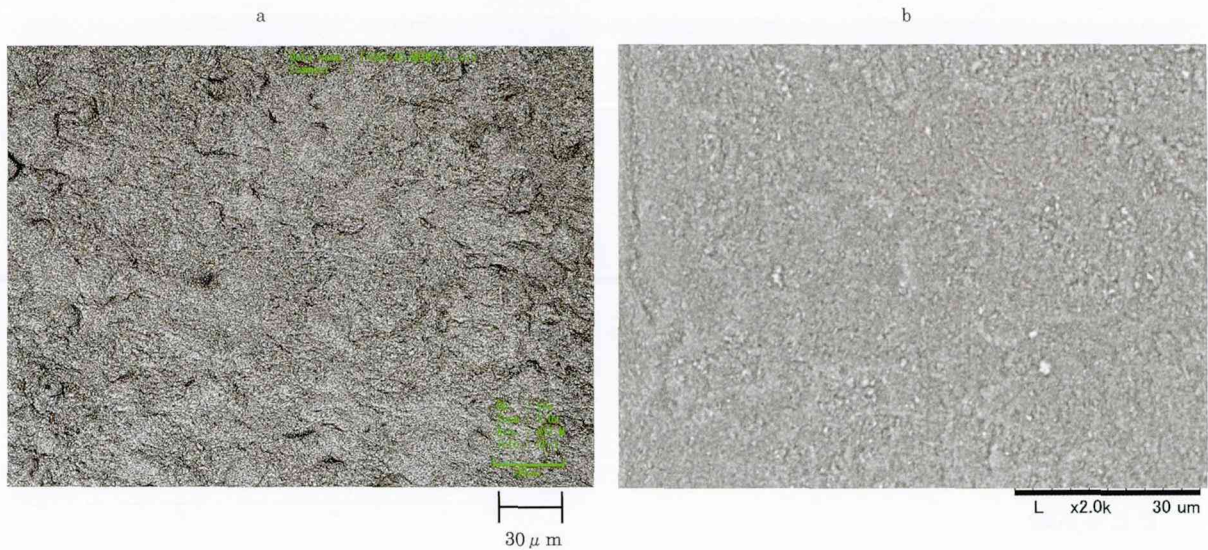


図9：800H40の表面観察（a：レーザー顕微鏡 b：電子顕微鏡）

酸化膜の付き方には、ばらつきが認められた。厚い部分は、薄い部分に比べて、黒っぽく認められた。

400Hと比較して、600Hは粒界がよりはっきりとみえる部位と、まだら模様となり、不明瞭な部分が認められた。800Hは、As、400Hと600Hと比較して、全体的に盛り上がっており、結晶粒界は確認できなかった。一方、1%乳酸溶液に浸漬中の試験片表面を、1ヶ月後から6ヶ月後まで観察を行なったが、ほとんどすべてのチタンにおいて変化は見られなかった。また、卓上型電子顕微鏡観察では、各チタンの粒界は認められなかった。しかし600Hの一部においては、僅かに微細な針状の酸化膜の形成が認められた。800

Hではチタンの全体に微細な針状の酸化膜の形成が認められた。

3. 硬さ試験

硬さ試験の結果を図10（a：浸漬前、b：6ヶ月後）に示す。ビッカース硬さ試験では、Asの硬さは198 Hvであった。400H40の硬さは148 Hv、400H60の硬さは158 Hv、400H80の硬さは151 Hvと値は低くなった。しかし、有意差は認められなかった。As、400H40、60、80と比較して、600H40の硬さは284 Hv、600H60の硬さは286 Hv、600H80の硬さは291 Hvと、表面の硬さはAsの約1.5倍であり、400Hの約2倍と有意（ $p < 0.01$ ）に大きくなった。600H40、60、80と比較して800H40の硬さは644 Hvで約2倍、

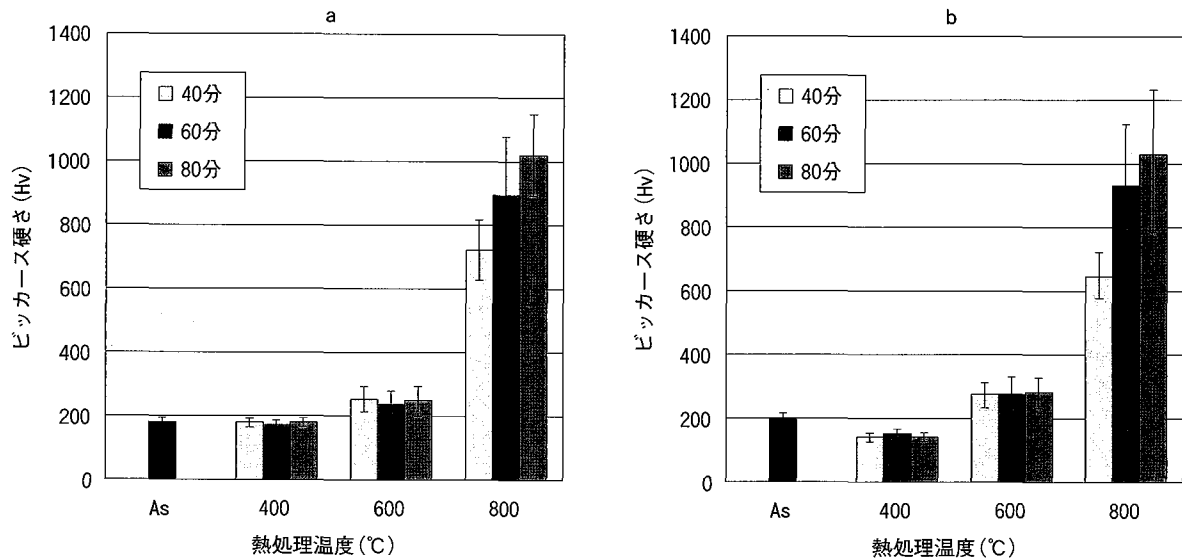


図10：ビッカース硬さ (a：浸漬前 b：浸漬後 6 ヶ月後)

800H60の硬さは933Hvで約3倍、800H80の硬度は1011Hvと約3.5倍の表面硬さと有意に ($p < 0.01$) 大きくなった。

1%乳酸溶液に浸漬して6ヶ月後の試験片で同様に、硬さ試験を行なったが、浸漬前(図10 a)との間に有意差は認められなかった(図10 b)。

4. X線回折

X線回折強度曲線を図11に示す。X線回折ピークでは、400°Cと600°CでTiO₂の結晶型はアナターゼ型が多く認められたが、800°Cにおいてはアナターゼ型よりルチル型の方が多く認められた。

5 耐食性試験

1) 溶出試験

チタンの酸化膜の有無による溶出量を図12と図13に示す。すべての処理条件において酸化膜を除去した試験片からのチタンの溶出量は酸化膜を付与したチタンからより有意 ($p < 0.01$) に多かった(図12)。Asのチタンの溶出量は66.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。AsBは、278.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ とAsの約4倍のチタンの溶出量が有意 ($p < 0.01$) に認められた。

400H40のチタンの溶出量は21.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、400H60は19.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、400H80は17.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。Asと比較してすべての試料においてチタンの溶出量が有意 ($p < 0.01$) に減少する傾向が認められた。また加熱時間の増加に伴ってチタンの溶出量は減少した(図13)。一方、400H40Bでは266.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、400H60Bでは265.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、

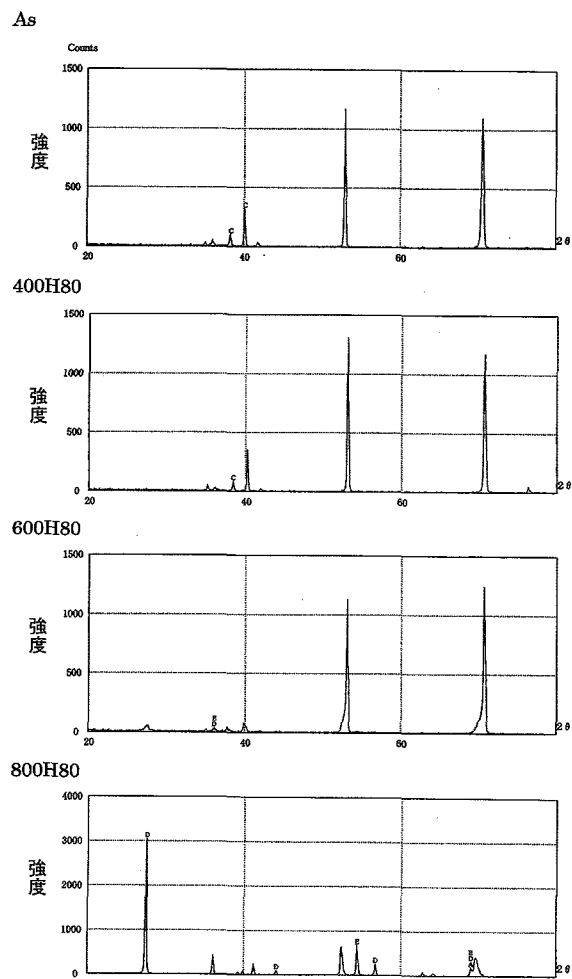


図11：加熱処理後のチタンの酸化膜のX線回折

400H80Bでは251.2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で、加熱時間の増加に伴ってチタンの溶出量は減少する傾向が認められた。

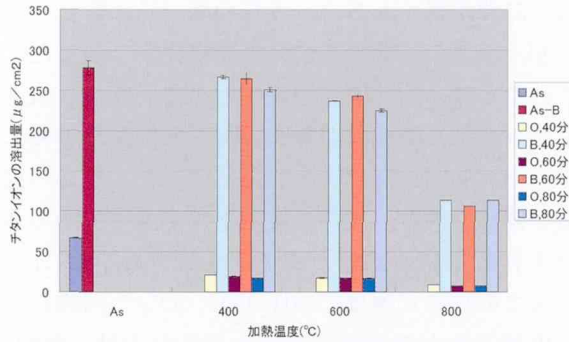


図12：酸化膜を除去した試験片からのチタンイオンの溶出量

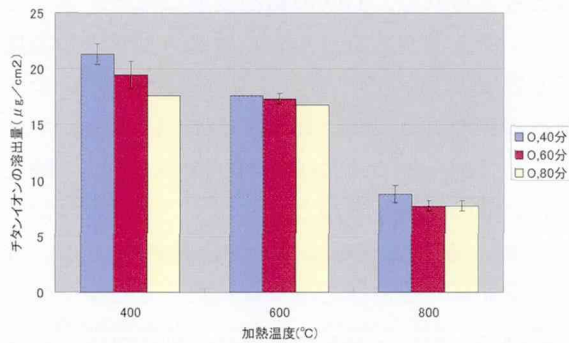


図13：酸化膜を付与した試験片からのチタンイオンの溶出量

600H40は17.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、600H60では17.3 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、600H80では16.8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。すべてにおいて、Asと比較してチタンの溶出量が有意 ($p < 0.01$) に、減少する傾向が認められた。また加熱時間の増加に伴ってチタンの溶出量は減少した。一方、600H40Bでは237.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、600H60Bでは243.5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、600H80Bでは225.1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で、AsBと比較してチタンの溶出量は減少を示した。また加熱時間の増加に伴って、チタンの溶出量は減少する傾向が認められた。

800H40のチタンの溶出量は8.8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、800H60では7.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、800H80では7.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。Asと比較してチタンの溶出量は、有意 ($p < 0.01$) に減少し、加熱時間の増加に伴って溶出量は減少する傾向が認められた。一方、800H40Bでは113.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、800H60Bでは106.9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、800H80Bでは113.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で、AsBと比較してチタンの溶出量は減少した。しかし、加熱時間の増加による溶出量の減少は認められなかった。

加熱処理により酸化膜の付与を行なった試料、酸化膜の除去を行なった試料、共に400°Cから800°Cまでチタンの溶出量が減少した。400°C、600°Cに比べ800°Cはチタンの溶出量が有

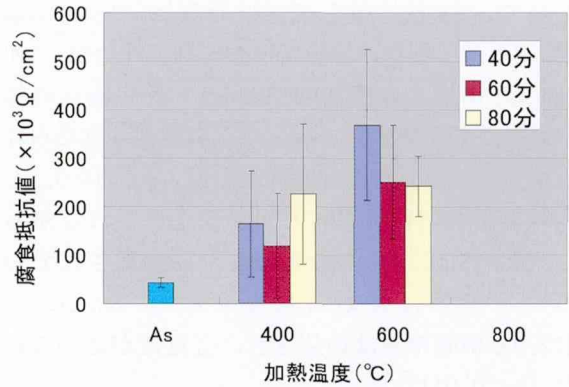


図14：1%乳酸溶液への腐食抵抗値

意 ($p < 0.01$) に減少した。同じ加熱温度での時間による差異は少なく、有意差は認められなかった。

2) 電気化学的特性試験

電気化学的特性試験によって得られた、1%乳酸溶液中での各チタンの分極抵抗値の結果を図14に示す。Asの分極抵抗値 $43.6 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ と比較して400H40は $164.2 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 、400H60は $118.7 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 、400H80は $225.4 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 、と分極抵抗値が大きい傾向が認められた。しかし、いずれも有意差は認められなかった。一方、600H40は $368.9 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 、600H60は $251.3 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 、600H80は $242.4 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2$ 、でAsと比較して、分極抵抗値が大きく、有意差が認められた ($P < 0.05$)。しかし、400Hと600H共に標準偏差の値が大きく、加熱時間の違いによる差は認められなかった。800Hは、いずれの加熱時間の試験片も絶縁体で電気を全く通さなかったため、計測は不可能であった。

6. 細胞培養試験

細胞培養試験における結果を図15に示す。2日後 (48時間後) では、Asの細胞培養は333.9で

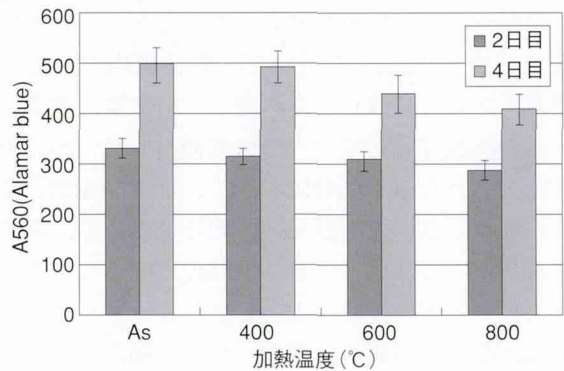


図15：細胞培養試験

あった。Asと比較して、吸光度は、800H60は295.6と骨芽細胞の細胞増殖が抑制されたが、400H60は318.8、600H60は314.6と、骨芽細胞の細胞増殖が若干減少しているが、有意差は認められなかった。4日後(96時間後)は、Asの493.5と比較して400H60は496と抑制が認められなかった。600H60は443でありわずかに抑制されているが有意差は認められなかった。800H60は412.9と細胞増殖は抑制され、有意差が認められた($p < 0.01$)。

考 察

チタンの化学的性質としては、耐食性に優れていることがあげられる。それはチタンが、その表面に不動態被膜を形成することに起因している。しかし、貴金属合金との組み合わせによってチタンの溶出が報告されている³³⁻³⁵。このためチタンをインプラント材として用いるには、より生体安全性を向上させることが課題である。この表面の薄く強固な酸化膜は、不動態被膜として高い耐食性を示す²⁹。そこで本報は、加熱処理によって加熱温度と時間を変化させることによって、チタン表面に付与する酸化膜の形成と硬さ、電気化学的特性、生物学的特性等の関係について検討を行った。

1. 酸化膜の表面性状

チタンは、常温では耐食性に優れているが、高温になると反応性に富み、侵入型元素の炭素、窒素、酸素とも容易に反応して炭化、窒化、酸化する^{36,37}。またチタンは大気中で加熱すると酸素を14 wt.%固溶し、強度が増加することが報告されている²⁶。酸化膜は、加熱温度と加熱時間によって、その表面性状にも相異があると考えられる。

したがって、加熱処理して形成した酸化膜および金属内の元素分布が計測が出来るグロー放電発光分析法(GDS)³²を用いて、酸化膜内の酸素、窒素、炭素の拡散状態を測定した。酸素、窒素、炭素の拡散は酸化膜と内部に認められた。酸化膜の除去を行なった試料はすべて、炭素、窒素、酸素の拡散状態が加熱温度と時間に関係なく、同じであった。これは、ブラスト処理の際に起こるガラスビーズとの摩擦によって生じるエネルギーにより、空気中の炭素、窒素、酸素を固溶したためと考えられる。また酸化膜を形成した400℃で

は、時間が長くなると、表層の酸素量は多くなったが、深部の拡散状態に大きな変化がなかった。このことは、加熱温度が低いために取り込む酸素量が少なく、酸化膜が薄かったことによると考えられる。600℃では、400℃より深部まで酸素の拡散が認められた。また一度酸素量が減ってから再び上昇している部位がある。800℃40分、80分での酸素の拡散状態は、600℃40分、80分と同様に、一度酸素量が減少後、再び上昇したのは、600℃と同様に不安定な酸化状態や、結晶型の転移によると考えられる。TiO₂の結晶状態にはアナターゼ型とルチル型がある。ルチル型は、すべての温度で安定であり、アナターゼ型は約700℃でルチル型への転移が起こる。800℃では、ほとんどがルチル型であったことから、800℃ではチタン酸化膜の結晶の転移が理論と一致している事が確認された^{38,39}。加熱処理によるチタンの酸化膜は、加熱温度が高くなるほど厚くなった。またすべての加熱温度において酸素の拡散は、加熱時間が長くなるほど深部にまで至っていることが認められた。このことからチタンは、加熱処理温度が高く、加熱時間が長くなるにしたがって、固溶する酸素量が多くなり、その酸素はより深部まで拡散すると考えられた。

さらに、大気中での加熱処理によってチタンの酸化膜の形状がどのように変化するのか、レーザー顕微鏡にて観察した。400℃40分、60分、80分は、チタンの結晶粒が確認できた。これは、表2に示したような、チタン元素以外の窒素(N)、炭素(C)、水素(H)、鉄(Fe)、酸素(O)のような不純物の多い結晶粒界にまず先に酸素が結合したために、エッチングをしたように結晶粒界がはっきりと観察できたものと考えられる(図7)。また加熱温度400℃では加熱時間が長くなっても、酸化が結晶粒界でのみ生じるため加熱時間による差は認められなかったと考えられる。600℃でまだら模様になっている部分が多く確認できた。結晶粒界は認められなくなっており、結晶粒界だけでなく粒内での酸化が進行し、酸化膜が全表面に不均一に付着したためと考えられる(図7)。電子顕微鏡にて観察すると、酸化膜が部分的に厚くなり、段差ができていることから、それがレーザー顕微鏡においてまだら模様に確認されたと考えられる。800℃では、600℃よりもさらに全体的に厚

く酸化膜が付着したために、結晶粒界は全く確認できなくなったと考えられる。また電子顕微鏡にて観察すると、厚くなった酸化膜表面が、針状になっているのが認められた(図9b)。また800℃を超えた酸化チタンの表面は、針状の酸化膜が確認されるとの報告もあることから、600℃で確認したまだら模様の酸化膜がさらに成長し、針状に変化したと考えられる⁴⁰⁾。800℃では加熱時間が長くなるにしたがって、より大きな針状の酸化膜が観察されたことから、酸化膜が成長したと考えられる。一般にルチル型はアナターゼ型より結晶粒形が大きいとされていることから⁴⁰⁾、800℃での加熱時間が長くなると結晶内のルチル型の量がより多くなり、大きな針状が観察されたと考えられる。これらのことは800℃でも加熱時間が長くなるほど、酸素の拡散が内部に進行したというグロー放電による分析結果と一致する。

硬さ試験においては、400℃ではAsと比較して、加熱時間に左右されず、硬さの値はほとんど変化がなかったのは、加熱温度が低いために取り込む酸素量が少なく酸化膜が薄いためと考えられる。600℃は、Asおよび400℃より硬さの値が大きくなった。酸化膜の厚い800℃は、測定試験片の中で最も硬さの値も大きかった。さらに800℃では加熱時間が長くなるにしたがって、硬さの値が大きくなる傾向も認められた。X線回折の結果から、800℃において確認されたルチル型は、アナターゼ型より硬さの値が大きいと報告されており、400℃や600℃より大きな硬さの値を示したと

考えられた³⁹⁾。つまり侵入型元素の酸化膜内部への拡散状態、酸化膜表面の形状観察、硬さ測定から、加熱処理したチタンの酸化膜は、その加熱温度と時間によって酸化膜の付き方、表面性状、色調が異なる結果が得られた^{25,41)}。このことから加熱温度と時間は、試料表面の硬さにも大きく寄与していると考えられる。

硬さ測定の際にできた圧痕をレーザー顕微鏡で観察したところ、400℃の圧痕は、圧痕周囲に白く波紋状の組織が確認できた(図16)。硬さ測定の時に荷重により圧子がチタン内に侵入するとき原子配列にすべり変形が生じ、そのすべり線が顕微鏡で確認できたと考えられる^{41,42)}。また600℃の圧痕は、同心円のすり鉢状になっているのが認められた。これは酸化膜内において、TiO₂やTi₃O₅が、層をなして成長したためと考えられる。

2. 耐食性および生物学的性質

本研究は、チタン製インプラント体の加熱による表面改質であるため、加熱条件を変えることにより付与した表面性状の異なる酸化膜が、組織内や口腔内で、どのような挙動を示すか予測するために、耐食性と、生物学的な評価を行なった。耐食性の評価としては、溶出試験と電気化学的特性試験を行い、また生物学的性質の評価には、細胞培養試験を行った。

溶出試験において、チタンの1%乳酸溶液中への溶出量は、滅菌生理食塩水や人工唾液中へ浸漬した場合の約17~30倍であるという報告がある^{14,43)}。しかし、生体内を再現しているとの報告

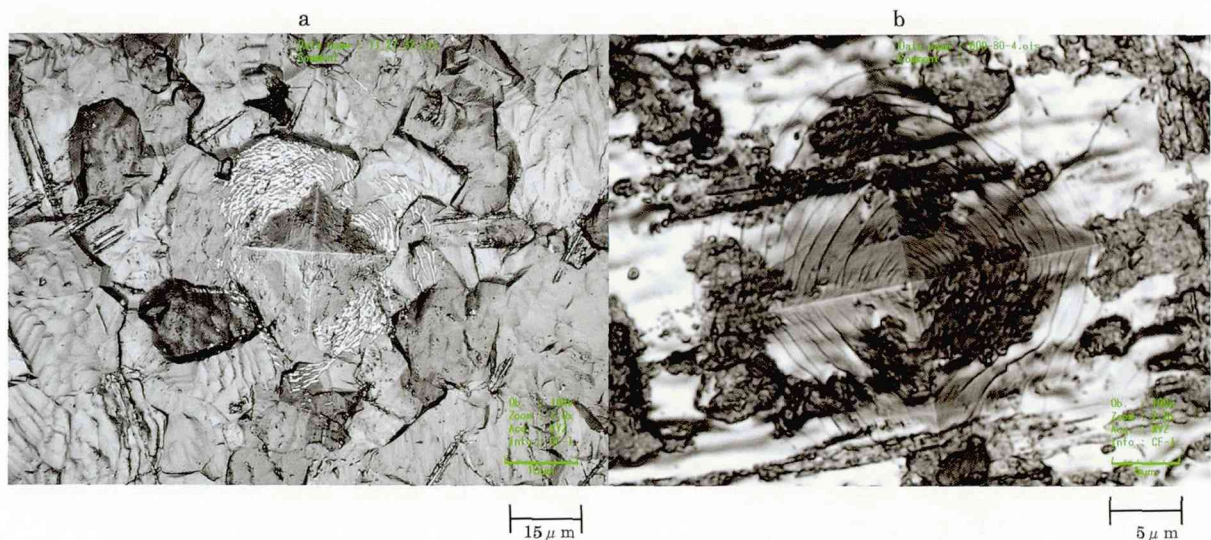


図16：レーザー顕微鏡観察によるピッカース硬さ試験後の圧痕 (a：400H80の圧痕 b：600H80の圧痕)

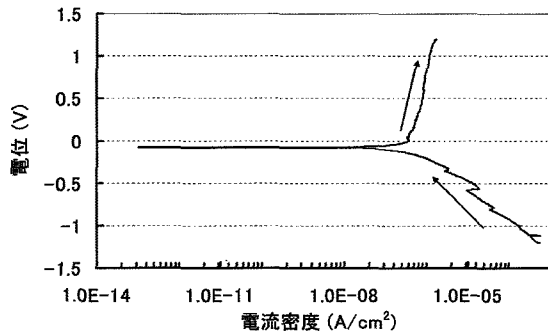


図17：600H40の動電位分極曲線

がなされていることから本研究で1%乳酸溶液を用いて実験を行った^{14,43,44}。酸化膜を除去したすべての材料のチタンの溶出液は、Asと比較して多く認められた。Asと酸化膜を形成した試料を比較すると、チタンの溶出量が減少した。その減少は400℃と600℃では、Asの約1/3に、800℃では、Asの約1/8以下になった。これは加熱温度が高いほど、酸素の拡散がより深部で認められ、酸化膜が厚くなったことによってチタンの溶出量も減少し、耐食性が向上したためと考えられる。また800℃では、加熱時間が長くなるにしたがって溶出量は減少する傾向が認められたが、加熱温度の相違によるチタンの溶出量の違いほど顕著な差は認められなかった。これらのことから、チタンに酸化膜を形成することはチタンの溶出の抑制効果があることが確認された。

図17に典型的な動電位分極曲線を示す。一般に分極抵抗値が大きいほど耐食性がより優れているとされる⁴⁵。測定結果においては、400℃と600℃は酸化膜の厚さが薄く、均一ではないために標準偏差の値が大きくなっているが、600℃は400℃に比べ分極抵抗値が大きく、また600℃80分では酸化膜の厚さが均等になったため、標準偏差の値も小さくなり、より耐食性が向上したと考えられる。800℃では、酸化膜が厚く絶縁体となり電気を通さなくなったために計測ができなかった。このことから、チタンを800℃で加熱処理して用いた場合、酸化膜が絶縁体であるため、上部構造物の合金の種類によって、ガルバニー腐食が生じることはないと考えられる。しかし溶出試験において、これらのチタンからも微量のチタンの溶出が認められた。これは電気化学的な溶出ではなく、6ヶ月間という長期の浸漬期間に振とうによ

る物理的な要因により溶出したものと考えられる。またチタンは、その耐食性が失われる際に孔食やすきま腐食という部分的な腐食が生じることが多いとされている^{46,47}。しかし、本研究の酸化膜を付与したチタンにおいては、レーザー顕微鏡による表面観察において、観察されなかった。また、溶出試験で1%乳酸溶液中に6ヶ月間浸漬したチタンと浸漬前のチタンの硬さを比較した場合、大きな差異は認められなかった。このことから、6ヶ月間1%乳酸溶液中に浸漬しチタンの溶出が認められたにもかかわらず、チタン酸化膜の表面性状には、大きな変化がなかったと考えられる。

本研究の細胞培養試験においては、2日目（48時間後）よりも4日目（96時間後）の方が、細胞増殖していたことから、チタンの酸化膜上で細胞は生着し増殖する結果であった。また、細胞はチタンの表面状態により増殖や生着が左右されるという報告もある⁴⁸。本研究では、加熱温度が800℃を超えると酸化膜が針状に形成され、400℃と600℃よりも表面性状が粗くなり細胞の生着に影響したものと考えられた。

加熱処理によってチタンに酸化膜を付与することで、チタンの溶出を抑制し、加熱前のチタンより耐食性を向上させることが確認でき、さらに800℃以外は細胞増殖の抑制も認められなかった。以上のことから、加熱処理により酸化膜を付与したインプラント体は、生物学的にも電気化学的にも有用であることが示唆された。

チタン表面に加熱処理によって酸化膜を付与した試験片の耐食性は加熱温度が高く加熱温度が長いほど、酸化膜が厚くなり、より優れた不動態特性を示すことがわかった。加熱処理によって、チタン表面に酸化膜を付与する方法は、耐食性の向上を図ることが出来たため、生体安全性に優れたインプラント材の開発に有用であることが示された。

しかし、この酸化膜の形成法は材質が劣化することが考えられるため、高周波加熱法等によってアバットメントの支台部の表層部のみを処理すれば、機械的性質は劣化しないで生体安全性に優れたインプラント体になると考えられた。

結 論

大気中で加熱温度と時間を変えてチタンに酸化膜を付与し、それぞれの耐食性と表面性状について詳細に比較検討した。耐食性については1%乳酸溶液中にて溶出試験と電気化学的特性試験を行い、表面性状については、炭素(C)、窒素(N)、酸素(O)の拡散状態、顕微鏡観察および硬さ試験を行った。また細胞増殖については、直接接触法を用いて細胞培養試験を行った。その結果以下の結論が得られた。

1. チタンを加熱する温度が高くなるにしたがって酸化膜は、厚くなった。
2. チタンの酸化膜が厚くなるほど、ビッカース硬さの値は大きくなった。
3. チタンの酸化膜が厚くなるほど、1%乳酸溶液中でのチタンの溶出量は減少し、分極抵抗値も大きくなり耐食性が向上した。
4. チタンを800℃で加熱すると絶縁体となった。
5. チタンを加熱して形成した酸化膜は、1%乳酸溶液に6ヶ月間浸漬しても、形態の変化は認められなかった。
6. チタンを800℃で加熱した酸化膜以外は、細胞増殖の抑制を示さなかった。

文 献

- 1) 川原春幸 (1991) 口腔インプラント学 上巻, 1版, 3-9, 医歯薬出版, 東京.
- 2) 津留宏道, 赤川安正 (1991) 歯科インプラントの理論と実際, 1版, 78-91, クインテッセンス, 東京.
- 3) 吉成正雄 (2003) インプラント材料とその表面-インプラント材としてのチタン-. 歯科学報 **103**: 313-9.
- 4) 小林郁夫 (2003) 生体チタン合金の開発と特性評価. 生体材料 **21**: 30-6.
- 5) 慕 鷹 (2000) 金属系材料の生体内・外における溶出に関する新知見 -チタンを中心に-. 生体材料 **18**: 23-9.
- 6) Nakajima H and Okabe T (1996) Titanium in dentistry: development and research in the U. S.A. Dent Mater J **15**: 77-90.
- 7) 田中謙一 (1996) 歯科用合金の組み合わせによる腐食機構について. 東北大歯誌 **14**: 119-38.
- 8) 野沢俊彦 (1993) 歯科用銀合金の局部腐食の電気化学的計測. 歯材器 **12**: 473-85.
- 9) 関 克典 (1992) 家兎組織内におけるチタンの溶出と生体親和性に関する研究. 岩医大歯誌 **17**: 158-77.
- 10) 小瀬木克英, 小田 豊, 住井俊夫 (1996) フッ化物配合う蝕予防剤によるチタンおよびチタン合金の腐食に関する研究. 歯科学報 **96**: 293-303.
- 11) 佐藤和子, 吉居英一, 本郷敏雄, 日景 盛, 佐藤温重 (1997) チタン合金粒子からの組成金属の溶出と溶出物の生体作用. 歯材器 **16**: 122-7.
- 12) 壇上 達 (1993) 培養細胞からみた生体内金属材料の細胞毒性に関する実験的研究. 岩医大歯誌 **18**: 89-103.
- 13) 緒方稔泰, 松浦智二, 岡本佳三, 堀部 隆 (1992) チタンおよびチタン合金の溶出 -各種浸漬液中へのイオンの溶出-. 補綴誌 **36**: 231-5.
- 14) 小池麻里, 中村 茂, 藤井弘之 (1997) 浸漬試験におけるチタンの溶出の評価. 補綴誌 **41**: 675-9.
- 15) 畑 秀一, 畑 好昭 (1997) 家兎大腿骨におけるチタンおよびチタン合金の溶出. 歯学 **85**: 455-65.
- 16) 藤本和久 (1986) インプラント材料としてのTi-Ni 2元合金に関する実験的研究. インプラント誌 **7**: 25-55.
- 17) Yeung KW, Poon RW, Liu XY, Ho JP, Chung CY, Chu PK, Lu WW, Chan D and Cheung KM (2005) Corrosion resistance, surface mechanical properties and cytocompatibility of plasma immersion ion implantation-treated nickel-titanium shape memory alloys. J Biomed Mater Res A **75**: 153-62.
- 18) Hoffmann B, Kokott A, Shafranska O, Detsch R, Winter S, Eisenbarth E, Peters K, Breme J, Kirkpatrick CJ and Ziegler G (2005) Corrosion behaviour, metal release and biocompatibility of implant materials coated by TiO₂-sol gel chemistry. Biomed Tech **50**: 320-9.
- 19) 吉成正雄, 田中輝男 (1996) 生体材料の表面改質 -生体に優しい表面をめざして-. 日歯医師会誌 **49**: 17-28.
- 20) 伊藤充雄, 高橋重雄 (1986) プラズマ溶射機を用いアパタイトコーティングした複合インプラント材の製作について. 歯材器 **5**: 727-33.
- 21) 板橋勇人 (1996) グロー放電処理を行ったチタン表面への細胞付着に関する研究. 歯材器 **15**: 116-31.
- 22) 宮山直也, 吉成正雄, 小田 豊 (1999) ドライプロセスによるインプラント用チタンの表面改質. 歯材器 **18**: 109-21.
- 23) 浅岡憲三, 前島邦光 (2005) 昇温脱離分析によるチタンの侵食に対する酸化膜の働きの評価.

- 歯材器 **124** : 439-45.
- 24) エクテサビ アリ, 大塚貴功, 坪井陽一 (1995) マイクロイオンビームを用いたチタンインプラントからの金属溶出に関する研究. 生体材料 **13** : 153-9.
- 25) Wang G and Cheng X (2000) Characterizations of three surface-modified titanium oxide films. Chinese J Dent Res **3** : 49-52.
- 26) 巨理文夫, 西村文夫 (1991) チタンの熱処理による酸素固溶硬化. 歯材器 **10** : 266-74.
- 27) 神山明生, 古谷修一, 湯浅 智, 升谷滋行, 野元成晃, 藤原忠夫 (2002) チタンおよびチタン合金における過酸化水素還元挙動. 日大歯学 **76** : 547-57.
- 28) Ohtsuki C, Iida H, Hayakawa S and Osaka A (1997) Bioactivity of titanium treated with hydrogen peroxide solutions containing metal chlorides. J Biomed Mater Res **35** : 39-47.
- 29) Sul Y-T, Johansson CB, Jeong Y, Wennerberg A and Albrektsson T (2002) Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides. Clin Oral Impl Res **2** : 252-9.
- 30) Hanawa T and Ota M (1991) Calcium Phosphate naturally formed on titanium in electrolyte solution. Biomater **12** : 767-74.
- 31) Taeg Y, Johansson CB, Petronis S, Krozer A, Jeong Y, Wennerberg A and Albrektsson T (2002) Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown : the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. Biomater **23** : 491-501.
- 32) 梅澤喜夫, 澤田嗣朗, 寺部 茂 (2004) 先端の分析法 -理工学からナノ・バイオまで-, 1版, 463-6, エヌ・ティー・エス, 東京.
- 33) 藤吉敏生 (1987) 金属チタンとその応用, 1版, 2-73, 216-23, 300-1, 日刊工業新聞社, 東京.
- 34) 森永卓一, 室町繁雄, 嵯峨敏朗, 財満鎮雄 (1977) 金属材料学, 19版, 256-61, 朝倉書店, 東京.
- 35) 新 茂夫 (1972) 溶接冶金学, 1版, 290-7, 丸善株式会社, 東京.
- 36) Jaffee RI, Ogden HR and Maykuth DJ (1950) Alloys of titanium with carbon, oxygen, and nitrogen. J Matars Oct Transactions Aime **188** : 1261-6.
- 37) Finlay WL and Snyder JA (1950) Effects of three interstitial solutes (nitrogen, oxygen, and carbon) on the mechanical properties of high-purity, alpha titanium. J Matars Feb Transactions Aime **188** : 277-86.
- 38) 田部浩三 (1980) 金属酸化物と複合酸化物, 2版, 106-9, 講談社, 東京.
- 39) Feng B, Chen JY, Chen SK, Qi SK, He L, Zhao JZ and Zhang XD (2002) Characterization of surface oxide films on titanium and bioactivity. J Mater Sci Mater Med **13** : 457-64.
- 40) 河村末久, 中村義一 (1988) 表面測定技術とその応用, 1版, 71-93, 共立出版株式会社, 東京.
- 41) Ralph W (1981) Phillips science of dental materials, Second Edition, 261-70, W B Saunders Company, Philadelphia.
- 42) 須藤 一, 田村今男, 西澤泰二 (1997) 金属組織学, 3版, 105-7, 丸善株式会社, 東京.
- 43) 土居 寿, 王 鉄軍, 中野 毅, 小林郁夫, 米山孝之, 浜中人士 (1997) 歯科鑄造した Ti-6 Al-7 Nb 合金の 1% 乳酸中におけるイオン溶出. 歯材器 **16** : 182-6.
- 44) Okazaki Y, Gotoh E, Manabe T and Kobayashi K (2004) Comparison of metal concentrations in rat tibia tissues with various metallic implants. Biomater **25** : 5913-20.
- 45) Horasawa N and Marek M (2004) The effect of recating on corrosion of a silver-palladium alloy. Dent Mater **20** : 352-7.
- 46) 岩上徳志, 今井敏夫, 白川正順 (2005) チタンプレート上における骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 の細胞増殖および MAP キナーゼ活性について. 日口腔インプラント誌 **18** : 383-93.
- 47) 佐藤温重, 小玉 剛, 佐藤和子 (1989) チタン合金 Ti-6 Al-4 V の金属溶出について. 歯科技工 **17** : 1426-30.
- 48) Guehennec LL, Soueidan A, Layrolle P and Amouriq Y (2007) Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. Dent Mater **23** : 844-57.