

医療器具用金属材料における 抗菌表面処理技術の研究開発 —ナノピラー形成による抗菌機能化—

平野 満大* 大津 直史**

1. はじめに

世界的に高齢化が進行しており、2050年での60歳以上人口は世界人口の20%に到達すると予想されている⁽¹⁾。加齢による生体機能の衰退に伴い、循環器や関節に関わる様々な疾患の発症リスクが高まっていく。このため、健康寿命のさらなる延伸が重要となるが、近年では体内埋植型医療器具を用いた治療法が発展し、その有効性から治療件数も増加している。医療器具には力学的安全性が求められるため、機械的強度および破壊靱性が高い金属材料が主に採用されている⁽²⁾。特にTiおよびその合金は化学的安定性が高いことも相まって、ステント、ペースメーカー、人工関節などで臨床応用されている⁽³⁾。また、埋め込み時の外科手術で必須となるメスや鉗子、ピンセットなどの手術器具にはステンレス鋼が用いられており⁽²⁾、様々な金属材料が近代医療を支えている。

一方で、外科手術中での細菌混入、それに伴う手術部位感染症が長年の課題となっている⁽⁴⁾⁽⁵⁾。空気中には細菌が浮遊し、また術者や患者の皮膚表面にも常在菌が細菌叢を形成している。このため、体内埋植型医療器具ならびに手術器具は常に細菌付着のリスクに曝されており、完全に防止することは極めて困難である⁽⁶⁾⁽⁷⁾。器具を介して体内に細菌が侵入すると徐々に増殖し、ある一定数に達するとクオラムセンシングにより多糖性物質を一斉に排出することでバイオフィルムを形成する⁽⁸⁾(図1)。最終的にバイオフィルムから細菌が分散することで感染部位が拡大し、感染症の発症に至る。ここで注意すべきは、バイオフィルムは外部刺激から細菌を保護する防壁となるため、治療で用いる抗菌薬の作用を著しく阻害

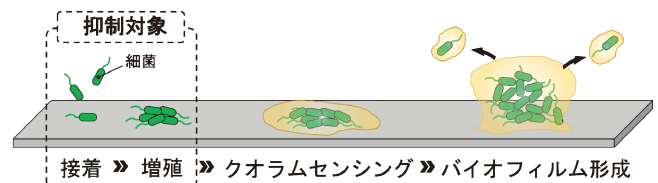


図1 病原性細菌によるバイオフィルムの形成過程(文献(8)を改変)。(オンラインカラー)

する⁽⁸⁾。さらに、抗生物質に耐性を獲得した薬剤耐性菌が年々増加しており⁽⁹⁾、今後より一層の感染症の難治化、慢性化が危惧される。このため、感染症予防では発症の起点となる細菌付着および増殖を器具表面で早期に抑制することが最も重要となる。

本稿では、医療器具用金属材料の抗菌表面処理技術について概説する。細菌付着および増殖を抑制する材料表面の設計方針を述べ、近年新たに注目されている表面処理技術を著者の研究も交えて紹介する。

2. 表面処理による抗菌機能化の方針

表面処理は材料表面の組成や構造などを変化させることで新たな機能性を付与することが可能である。表面処理が材料自体の機械的特性に与える影響は極めて小さいため、力学的安全性が要求される医療器具用金属材料の抗菌機能化では有効な手法となる。図2に抗菌表面処理による表面設計の方針についてまとめた。本分野では、抗菌メカニズムによって化学的手法と物理的手法に大別される⁽¹⁰⁾。

* 香川大学；助教(〒761-0396 高松市林町2217番地20)

** 北見工業大学；教授

Antibacterial Surface Treatment for Metallic Material Applied to Medical Devices~Antibacterial Functionalization via Fabrication of Nanopillar~; Mitsuhiro Hirano* and Naofumi Ohtsu**(*Faculty of Engineering and Design, Kagawa University, Takamatsu. **Faculty of Engineering, Kitami Institute of Technology, Kitami Institute of Technology, Kitami)

Keywords: antibacterial surface treatment, nanopillar, surgical site infection, titanium, stainless steel, plasma etching

2022年6月30日受理[doi:10.2320/materia.61.755]

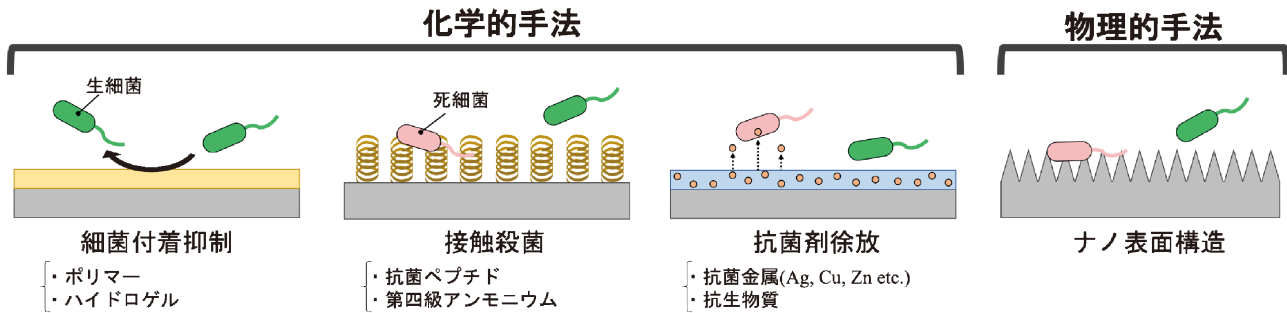


図2 抗菌表面処理技術の分類(文献(10)を改変)。(オンラインカラー)

(1) 化学的手法

化学的手法は本分野における従来法であり、表面処理層は手法により[1]細菌付着抑制性、[2]接触殺菌性、[3]抗菌剤徐放性を発揮する⁽¹⁰⁾。細菌付着抑制および接触殺菌では、ポリマーや抗菌ペプチドなどをコーティングすることで細菌-材料間における付着力の減衰や細胞膜の機能阻害により抗菌性が発揮される⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。しかし、コーティング膜の密着性や生体環境下での化学的安定性が乏しいことから、定常的に抗菌性を発揮することが難しい。一方で、抗菌剤徐放では表面処理層に担持または内包された抗菌剤が放出され、細菌と化学的に作用することで抗菌性が発揮される。近年では薬剤耐性菌の拡大防止の観点から抗生物質の使用が制限されているため、抗菌金属が活用されている。Ag, Cu, Znなどが抗菌金属として知られているが、特にAgは抗菌スペクトルが広く、感染症の原因となる表皮ブドウ球菌や緑膿菌などの増殖を抑制することができる⁽¹³⁾。Agは表面処理層からAg⁺として放出され、細菌内部の代謝酵素やDNAと化学反応することで生命活動を阻害し、抗菌性を発揮する⁽¹⁴⁾。しかし、高濃度のAg⁺は生体組織に対しても毒性を示すため、徐放量および速度の最適化が課題である⁽¹⁵⁾。さらに、民生分野でのAgの使用頻度急増に伴いAg耐性菌の拡大が懸念され、実際に耐性菌の分離報告件数は増えつつある⁽¹⁶⁾。

(2) 物理的手法

対して、物理的手法では材料表面に特異的なナノスケールの表面構造(ナノ表面構造)を設けることで細菌の付着および増殖を抑制する。ナノ表面構造による抗菌性は、10年前にIvanovaらの研究チームがセミの翅から初めて発見し、細菌の細胞膜とナノ表面構造の間に作用する物理現象に基づくことを見出した⁽¹⁷⁾。セミの翅表面には高さ数百ナノメートルの突起物(ナノピラー)が密集して垂直に林立している。細菌が翅表面に付着すると自重によりナノピラーが深く差し込まれ、細胞膜は徐々に引き伸ばされていく。弾性限界に到達すると細胞膜が破裂し、細菌内部から細胞質が流出することで細菌が死滅する(図3)。また、ナノピラーとの接触で物理的刺激を受ると細菌内部で活性酸素種(Reactive Oxygen

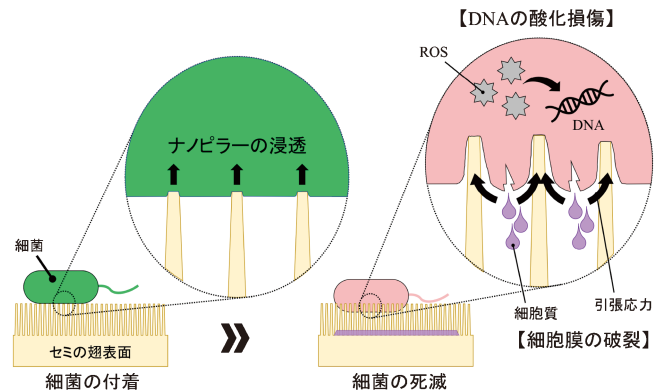


図3 ナノピラーによる抗菌性発現メカニズム⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。(オンラインカラー)

Species: ROS)が生成されるため、DNAや細胞膜が酸化損傷を受け、代謝機能が阻害される⁽¹⁸⁾。抗菌メカニズムは現在も議論されているが、これらの現象が競合していると考えられており、いずれもナノピラーとの物理的な接触に起因していることから新たな抗菌性として学術的に定義された。また、セミ以外にもトンボの翅やヤモリの皮膚でも同様の現象が確認されている⁽¹⁹⁾。注目すべきは、抗菌剤を全く必要とせず、接触から最短5分後に細菌が死滅し始めるため即効性に優れる点である⁽¹⁷⁾。

3. 医療器具用金属材料表面へのナノピラー形成技術

上述した物理現象に起因する抗菌性は手術部位感染症および薬剤耐性菌の拡大防止策として有望視されている。近年では生物表面のナノピラーを人工的に再現する表面処理技術が研究されており、ウェットプロセスおよびドライプロセスの両方面で検討されている。本章では、医療器具用金属材料であるTiおよびステンレス鋼を対象とした抗菌性ナノピラー形成技術について概説する。

(1) ウェットプロセス

ウェットプロセスは液相で材料表面に生じる化学反応を利用した表面処理法である。ナノピラーの形成ではアルカリ溶液を用いた水熱処理が挙げられ、Ti およびその合金に応用されている。Ti 材料を NaOH または KOH 溶液に浸漬し、密閉容器内で高温高压処理するとチタン酸化合物で構成されたナノ表面構造を形成する。後処理として HCl 溶液に浸漬することで層内のアルカリ金属イオンを H^+ と置換し、大気中で熱処理することで TiO_2 ナノピラーが等方的に形成される⁽²⁰⁾⁽²¹⁾。実際に Cao らは水熱処理で形成した TiO_2 ナノピラーが表皮ブドウ球菌の細胞膜を物理的に変形し、抗菌性を発揮することを実証している⁽²²⁾。

(2) ドライプロセス

ドライプロセスは真空下において気相での化学反応または物理的な相互作用を利用した表面処理法であり、斜入射スパッタリング法およびプラズマエッチング法が研究されている。

(a) 斜入射スパッタリング法

斜入射スパッタリング法は基板を大きく斜めに傾けた状態でスパッタ原子を堆積することで、三次構造を形成する手法である。通常のスパッタリング法ではターゲットと基板を並行に設置し、均一な膜を得ることができる。対して、斜入射スパッタリング法では島状の安定核が一定の大きさになるまで成長すると、島自身によってスパッタ原子の堆積が遮蔽される自己遮蔽効果が生じる。このため、スパッタ原子の堆積箇所および成長方向が限定され、最終的に構造物が形成される⁽²³⁾。この手法により、Ziegler らは Ti-6Al-4V 合金表面に Ti ナノピラーを、Bobaru らはステンレス鋼表面に SUS301 鋼で構成されたナノピラーを形成し、大腸菌に対して抗菌性を示すことを報告している⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾。

(b) プラズマエッチング法

プラズマエッチング法では材料をプラズマに曝し、活性種のエッチング作用によりナノピラーを形成する。処理工程が単純であり、垂直に林立したナノピラーを再現できることから、本分野では最も報告件数が多い⁽¹⁹⁾。Ti へのナノピラー形成では、 Cl_2 ガスを用いた反応性イオンエッチング (Reactive Ion Etching: RIE) が検討されている。 Cl_2 ガスを高周波放電することで発生したプラズマには Cl_2^+ または Cl 原子が含まれている。Ti 表面との化学反応に伴い揮発性の高い $TiCl_4$ または $TiCl_3$ が生成することでエッチングが進行し⁽²⁶⁾、最終的に TiO_2 ナノピラーの形成に至る。また、RIE の処理時間、 Cl_2 のガス流量、放電時の印加電力など処理条件を調整することで、ナノピラーの形状制御が可能である⁽²⁷⁾。Hasan らは RIE で形成した TiO_2 ナノピラーが感染症の原因菌である緑膿菌および黄色ブドウ球菌に対して抗菌性を示すことを実証している⁽²⁸⁾。しかし、金属塩化物は一般的に蒸気圧が高いため⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾、医療器具用金属材料において RIE の適用対象は Ti に限定される。

4. Ar プラズマエッチング法を活用したナノピラー形成によるステンレス鋼の抗菌機能化

一方で、Ar ガスを用いたプラズマエッチング法でもナノピラーの形成が可能である。プラズマ中では、 Ar^+ が材料表面に衝突することで原子が物理的に弾き出されるスパッタリング現象が生じ、金属材料表面でナノスケールまたはマイクロスケールの突起物が点在して形成されることは古くから知られていた⁽³¹⁾⁻⁽³³⁾。著者らはこの現象に着目し、高いバイアス電圧(イオンの入射エネルギー)が得られる直流放電を利用した Ar プラズマエッチング法により、ナノピラーを密集して形成させることで、ステンレス鋼の抗菌機能化に成功した。以降はこれまでの研究成果について紹介する。

図 4 に Ar プラズマエッチングにて 10 から 60 min 処理した SUS316 鋼表面の SEM 像を示す⁽³⁴⁾。なお、プラズマエッチングは Ar ガス圧力 300 Pa、定電流 0.10 A の条件で実施した。10 min 処理した表面では直径数百 nm の球状突起物が点在していたが、時間経過に伴い円錐状に変化していき、最終的に 60 min では表面全体が柱状物で覆われた。これらの表面観察から、直流放電を採用した Ar プラズマエッチングにより SUS316 鋼表面にナノピラーを密集して形成できることを明らかにした。一連の表面形態の変化から、ナノピラーの形成過程を下記の様に予想される。 Ar^+ の衝突に伴い基板表面の温度が上昇することで球状炭化クロムが析出する。炭化物はエッチングの遮蔽物となるため、周りの素地部分が優先的にエッチングされ、ナノピラーの形成に至ったと考えられる。

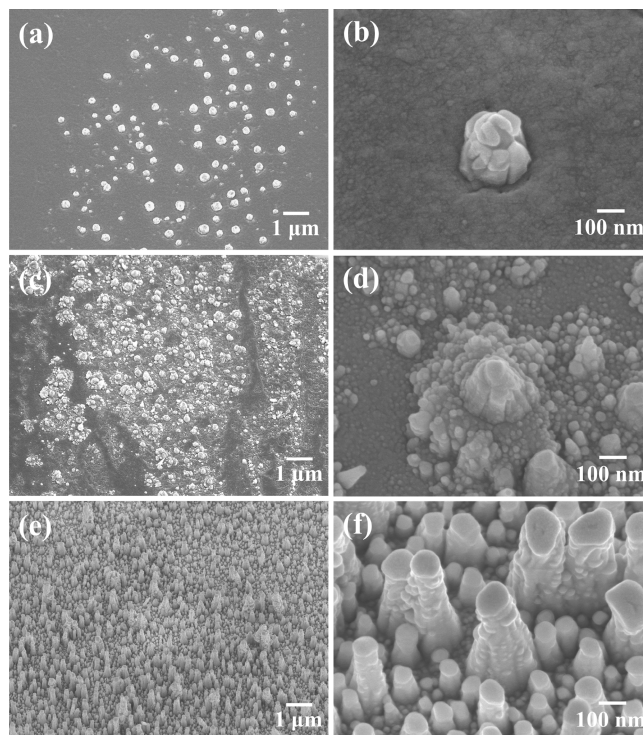


図 4 Ar プラズマエッチングした SUS316 表面の FE-SEM 像 : (a), (b) 10 min, (c), (d) 30 min, (e), (f) 60 min (文献(34)を改変)。

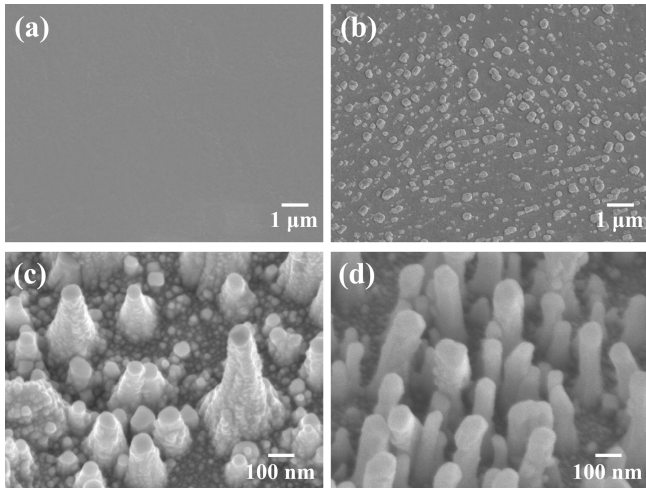


図5 Arプラズマエッチングした(a), (c) SUS316Lおよび(b), (d) SUS410S表面のFE-SEM像：(a), (b) 10 min, (c), (d) 60 min(文献(35)を改変)。

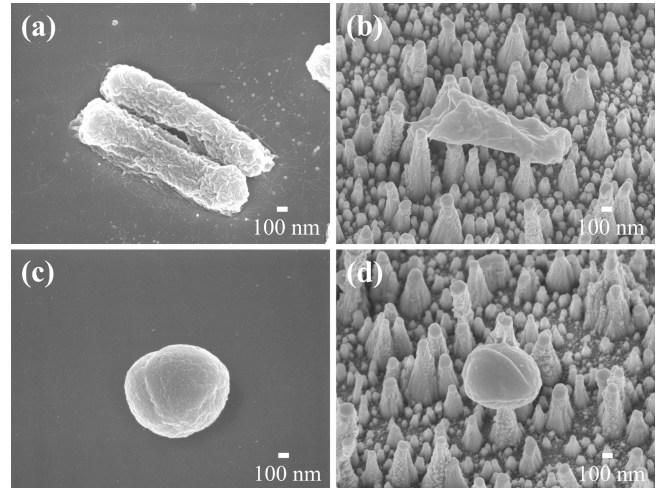


図7 (a), (c) 未処理および(b), (d) ArプラズマエッチングしたSUS316鋼表面に接着した大腸菌(a), (b)および表皮ブドウ球菌(c), (d)のFE-SEM像(文献(34)を改変)。

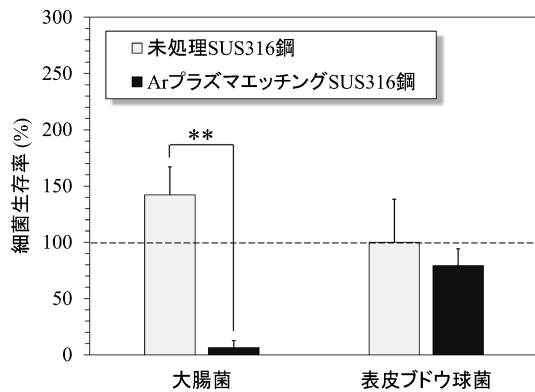


図6 4h培養後の未処理およびArプラズマエッチングしたSUS316鋼の細菌生存率(文献(34)を改変)。

また、様々な鋼種のステンレス鋼をArプラズマエッチングすると、興味深いことに鋼種ごとに特徴のあるナノピラーが形成した⁽³⁵⁾。一例として、図5にSUS316L鋼およびSUS410S鋼のSEM像を示す。SUS316鋼と比較すると、SUS316L鋼ではナノピラーの寸法および本数が全体的に減少したが、SUS410S鋼では細長い形状のナノピラーが形成し、本数も増加傾向を示した(図5(c)(d))。エッチングの初期段階を観察すると、球状突起物の形成状態が鋼種によって異なることも併せて確認できた(図5(a)(b))。これは、合金組成および結晶構造が炭化物の析出挙動に影響を及ぼしたため、ナノピラーの寸法および形状が変化したと考えられる。

SUS316鋼表面に形成されたナノピラー(図4(c), (f))に対し、JIS Z 2801に規格されたフィルム密着法にて抗菌性を評価した。試験菌にはグラム陰性菌である大腸菌およびグラム陽性菌である表皮ブドウ球菌を用いている。細菌を含む懸濁液を評価試料に滴下し、35°Cで4h培養後、試料表面の生菌数を計測した。図6に各試料表面で4h培養後の細菌生存率を示す⁽³⁴⁾。ここで、生存率は4h培養後における試料上

の生菌数を懸濁液滴下直後の生菌数で除し、100を乗することで算出した。即ち、生存率が100%より大きければ細菌が4h後に増加し、逆に小さければ減少したことを意味する。エッチング表面での大腸菌生存率は10%未満であったが、表皮ブドウ球菌生存率は約80%であった。故に、形成されたナノピラーは大腸菌、表皮ブドウ球菌に抗菌性を示すが、その程度は細菌種に依存する。次に、抗菌性発現の要因を明らかにするために細菌の形態観察を行った。図7にナノピラーに付着した大腸菌および表皮ブドウ球菌のSEM像を示す⁽³⁴⁾。大腸菌はナノピラーによって引き伸ばされていたが、表皮ブドウ球菌では顕著な形態変化は観察できなかった(図7(c)(d))。この観察結果から、SUS316鋼に形成されたナノピラーの抗菌性は、生物の表面構造と同様に細菌の形態変化に伴う細胞膜の物理的損傷が要因であることを示唆する。それ故に、大腸菌と比較して形態変化が乏しい表皮ブドウ球菌では抗菌性が減衰したと考えられる。

5. おわりに

本稿では、医療器具用金属材料の抗菌表面処理、特にナノピラーの形成による抗菌機能化について概説した。抗菌性ナノピラー形成技術は感染症や薬剤耐性菌の拡大防止に有望であるが、医療現場での応用には解決すべき課題は多々ある。第一に感染症の原因菌上位であるグラム陽性菌に対する抗菌性の増強が必須であり、ナノピラーの抗菌性はその形状や配列に依存するため⁽¹⁹⁾⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾、表面構造の最適化、それを実現する表面処理技術のさらなる開発が不可欠となる。また、ナノピラーは軽く触れただけで破壊されるため、実用化にはナノピラーの強度向上も重要となる。一方で、ナノピラーは細菌のみならずカビやウイルスにも抑制効果を発揮するため⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾、表面構造の最適化により病原性微生物全般を抑制

