

チタン表面におけるサンゴの石灰化と安定化

上田 正人* 上坂 菜々子**

1. はじめに

サンゴ礁は地球表面の0.2%の面積を占めるに過ぎないが、9万種類もの多様な生物が生息し、人類を含めた多くの生物に多大な恩恵を与えている。近年、急激な気候変動などによって、サンゴ礁は破滅的な状況に曝されている⁽¹⁾。従来、サンゴ礁の保全は、天敵であるオニヒトデの駆除、陸域からの赤土流入の削減など、対症療法的な方法で行われてきたが、近年は、サンゴの断片を海底の岩盤などに固定し、増殖させる積極的な増殖方法(断片移植、クローニング)も試行されている⁽²⁾。しかしながら、いずれにおいても画期的な成果が得られていないのが現状である。

断片移植の発展形として、サンゴ片を固定した鉄鋼製基盤に陸地から直流電流を通電することで、それらの固定化を促進するBiorock⁽³⁾がある。陸地より送電線を介して通電するため、莫大な設備・維持費用がかかり、適用領域は沿岸部に限定される。そのため同手法に関する研究は低調気味であるが、そのメカニズムはサンゴの骨格形成、サンゴ断片の固定化促進の理解に役立つ(図1)。サンゴの骨格は炭酸カルシウム(CaCO₃)であり、その生成に関して、海水中では式(1)が成立し、pHが8.2より高くなると平衡は左方向に移動する。



海水のpHは、地域や季節、海洋の条件によって若干変化するが、通常、海面近傍において約8.1である。つまり通常の状態においてはCaCO₃の析出が著しく進行することはない。Biorockでは、鉄鋼製基盤に微弱電流を通電することで、その表面近傍にOH⁻を発生させ、CaCO₃の析出を促進させる。pHがわずかに高くなり、式(1)の平衡が左方向に

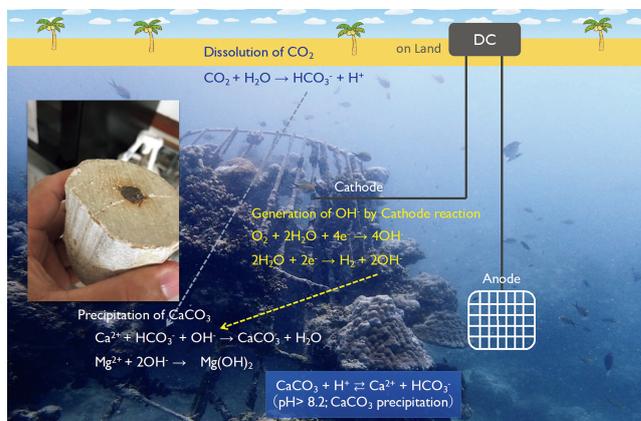


図1 Biorockの全体像と関連する化学反応。(オンラインカラー)

移動すると考えることもできる。これはいわゆるCaCO₃の電解析出であり、微弱電流通電を続けると図1の中に示す写真のように鉄鋼製基盤(鉄筋)はCaCO₃に覆われる。鉄鋼製基盤はサンゴの骨格と同じCaCO₃に覆われるため、固定したサンゴも密着しやすくなると考えられる。

筆者の研究領域は、海洋生物ではなくバイオマテリアルであるが、2015年からこのサンゴの研究チームに参画し、微弱電流通電によるサンゴの基盤密着促進などのプロジェクトを進めてきた。現在はそれに加え、バイオマテリアルの知見や技術をサンゴの高効率増殖に繋げる研究を進めている。本稿では、そのコンセプトと研究の経過を紹介する。

2. サンゴの石灰化

サンゴ骨格のμCT像を図2に示す。一般的にサンゴの骨

* 関西大学化学学生命工学部; 教授(〒564-8680 吹田市山手町 3-3-35)

** 関西大学大学院・理工学研究科; (現職)ハイレックスコーポレーション)

Calcification and Stabilization of Coral on Titanium Surfaces; Masato Ueda* and Nanako Kosaka** (*Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering, Kansai University, Suita. **Graduate School of Engineering, Kansai University, Suita)

Keywords: titanium, titanium dioxide, polyp, calcium carbonate, skeletal formation, osteoblast, carbon neutral

2024年7月12日受理[doi:10.2320/materia.63.623]

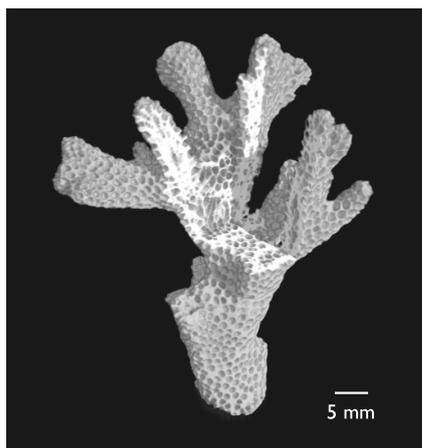


図2 ハナヤサイサンゴの μ CT像.

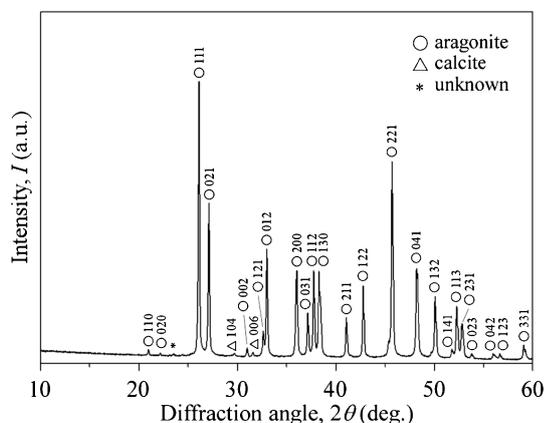


図3 サンゴ骨格のXRDプロファイル.

格は多孔質であり、例えば、ハナヤサイサンゴでは100~1000 μ mの細孔が表面だけでなく内部にも分布している。この骨格を大気乾燥させた後、乳鉢・乳棒で粉碎した粉末のXRDプロファイルを図3に示す。CaCO₃には、カルサイト構造、アラゴナイト構造、バテライト構造の3種の型が存在し、常温・常圧下ではカルサイトが最も安定な型であることが知られている。その中でサンゴの骨格はアラゴナイト型である。

純チタン(Ti)板、ならびに陽極酸化処理(リン酸水溶液、80 V)により酸化チタン(TiO₂)をコーティングした純Ti板をサンゴ断片に接触させた状態、ならびに接触させていない状態で人工海水中に浸漬し、所定の期間静置した。31日間の静置後、それらの表面状態を調べたところ、サンゴ断片の有無に関わらず、すべてのサンプル表面に藻類が付着していた。また、サンゴ断片を接触させたサンプル表面には微細な球状析出物が放射状に規則的に観察された。それらサンプルのTF-XRDプロファイルを図4に示す。サンプルは、純水で洗浄せずに空气中で乾燥させたため、塩化ナトリウム(NaCl)のシャープなピークが現れている。さらに、サンゴ断片を接触させたサンプルでは、CaCO₃のピークが観察さ

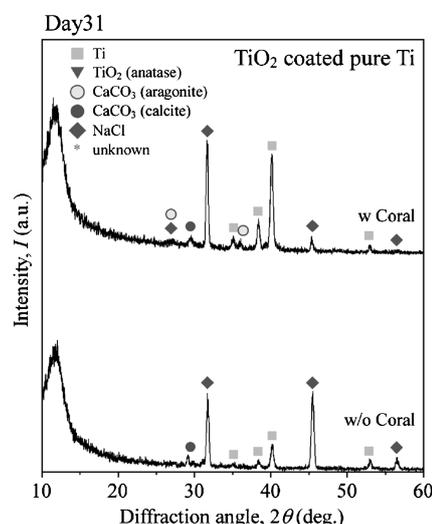
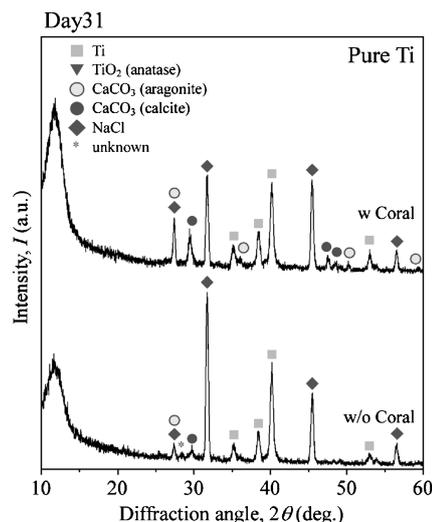


図4 純チタン板、ならびに陽極酸化処理(リン酸水溶液、80 V)により酸化チタンをコーティングした純チタン板をサンゴ断片に接触させた状態(w Coral)、ならびに接触させていない状態(w/o Coral)で人工海水中に31日間浸漬したサンプルのTF-XRDプロファイル.

れた。カルサイト型に加え、アラゴナイト型も明瞭に表れていることが興味深い。アラゴナイト型CaCO₃の析出は共存させたサンゴ断片が影響していると考えている。

3. 脊椎動物とサンゴの骨格形成メカニズムにおける類似性

筆者らは、脊椎動物とサンゴの骨格形成過程における興味深い類似性に注目している(図5)。脊椎動物では、骨芽細胞が産生したコラーゲンにリン酸カルシウムが沈着し、結晶化することでハイドロキシアパタイトからなる骨格を形成する。一方、サンゴは、刺胞動物(イソギンチャクやクラゲなど)に分類され、ポリプと呼ばれる軟組織に存在する造骨細胞から分泌された有機基質にCaCO₃が沈着することで骨格を形成する。骨格の物質こそ異なるが、形成メカニズムは同

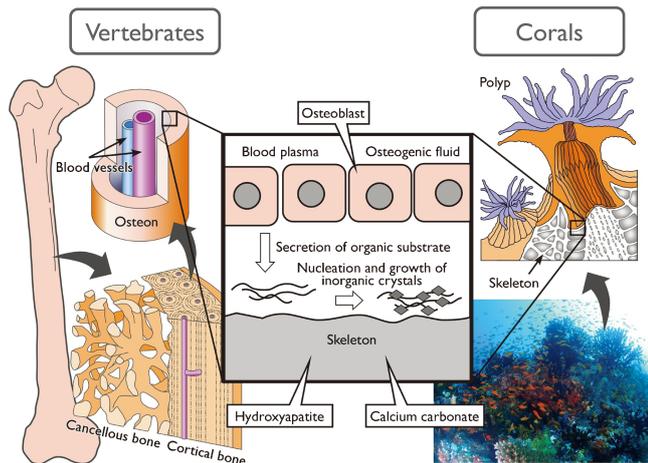


図5 脊椎動物とサンゴの骨格形成における類似性。(オンラインカラー)

じである。

骨形成・再生に関しては、基礎から応用まで詳細かつ多彩な研究が多数報告されている。例えば、インプラント表面の骨形成においては、化学組成の影響のみならず表面粗さの影響、官能基の影響、また、生体骨そのものにおいては、密度や構造、結晶の配向化における細胞の役割、外場の影響など、非常に詳細な知見が得られている⁽⁴⁾⁻⁽⁶⁾。これらの知見を利用して、極めて効果的な治療が実現されている。そこで我々の研究グループでは、既に確立されている骨形成・再生手法をサンゴに転用し、新規なサンゴ骨格形成促進手法を開発できないかと考えた。

4. チタン表面における軟組織の密着と骨格形成

現在、サンゴの断片移植に利用されている基盤のほとんどはモルタル(セメント+砂)製である。自然界に最も近い人工材料であり、非常に安価であることが選択されている理由である。セメントの主要な成分は、酸化カルシウム(CaO)、酸化ケイ素(SiO₂)、酸化アルミニウム(Al₂O₃)及び酸化鉄(Fe₂O₃)であり、硬化過程でCa(OH)₂が生成され、pH 12~13となる。硬化後も初期はそのアルカリ性が維持され、軟組織の接着には適さない。ある程度時間が経ち、海水に溶けたCO₂とカルシウムイオンが反応し、CaCO₃が析出することで表面が中性化するとサンゴの軟組織も密着しやすくなる。

モルタルにおけるこのpHの課題は、基盤にチタンを使用することで回避できる。純Ti板にアザミサンゴの断片を接触させ、研究室の水槽で飼育した。Day150におけるサンプルの外観とμCT像を図6に示す。ここで、基盤に固定した断片はCorallite(中央に見える円筒状の骨格)とそこに住むポリプ1個体からなる。なお、図中の矢印は無性生殖により増殖したポリプである。ポリプは基盤表面に旺盛に拡張し、無性生殖が活発に生じていることがわかる。水平面のμCT像は、ポリプと基盤の界面位置のものである。固定し

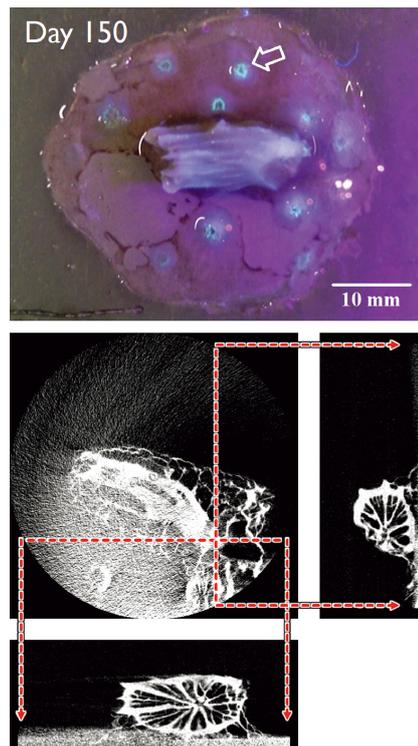


図6 純Ti板に接触させたサンゴ断片(アザミサンゴ)とその周囲に形成された骨格のμCT像。(オンラインカラー)

たサンゴ断片を中心に基盤表面には骨格が形成されていた。塊状に析出してはいたわけではなく、ネットワークを形成し、密着しているポリプに起因して析出した骨格であることは明白である。

リン酸水溶液中で陽極酸化処理を施した純Ti棒(直径2 mm)をサンゴ断片(ミドリイシ)に接触させた。1週間程度で、その表面にポリプが旺盛に拡張する様子が観察された。一方、サンゴ断片を純Ti棒に固定しているステンレス鋼(SUS304)製ワイヤー上にはほとんど拡張しなかった。これは骨芽細胞などが示す傾向と同じである。さらに、サンゴ/Ti界面近傍をμCTで観察すると新たな骨格の形成も観察された(図7)。その骨格は純Tiに直接接触していることが興

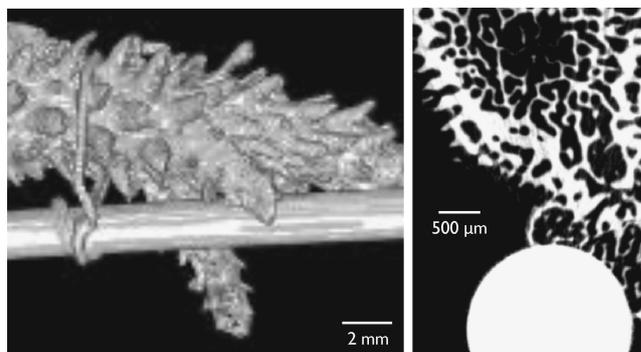


図7 表面修飾を施した純Ti棒に接触させたサンゴ断片(ミドリイシ)とその界面に形成された骨格のμCT像(Day22)。

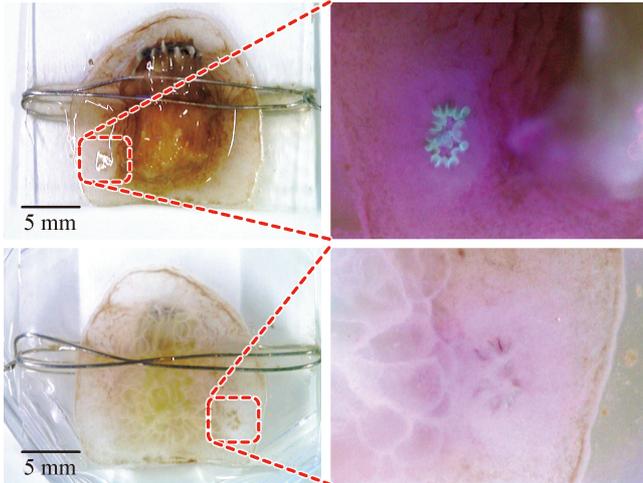


図8 ホウケイ酸ガラスに固定したサンゴ断片(アザミサンゴ)を上方・下方から観察した実体顕微鏡像。(オンラインカラー)

味深い。

純 Ti, 陽極酸化した純 Ti(TiO₂)において, 接触させたサンゴ断片からポリプが旺盛に拡張したのは, 表面粗さなど複数の要素が関与しているはずであるが, 表面 OH 基, それに起因する表面チャージの影響は比較的強いと考えている。そこで等電点の観点から同様にネガティブチャージの発生が期待されるホウケイ酸ガラスにサンゴ断片を固定し, その接触面の状態変化を観察した。同材料は無色透明であるため実体顕微鏡, 光学顕微鏡による下方(背面)からの観察も可能である。サンゴ断片固定後1ヶ月程度経過すると, 基盤表面におけるポリプの拡張, ならびに骨格形成が観察された(図8)。無性生殖により増殖したポリプの直下で観察された析出物は, ポリプの形態を反映した多角形を呈し, これは莢壁の基本構造と考えられる。また, これらはホウケイ酸ガラス上に直接析出していることがわかる。

これらより, 骨形成・再生の研究で蓄積された知見や技術を巧みに利用し, サンゴの増殖基盤を設計・作製すれば, 新規で効果的なサンゴ礁の再生が実現できると確信した。

5. 再生医療技術を利用したサンゴの高効率増殖

サンゴの生活史を図9に示す。サンゴは年1回の成熟期に産卵し, その受精卵は1~3日でプラナラ幼生となる。数日~数週間の浮遊生活の後, 適切な底質を選んで着床し, ポリプとなる。ポリプは自らの下に骨格をつくりながら分裂・出芽を繰り返し, クローンである新しいポリプをつくる(無性生殖)。これを繰り返して多数のポリプが連結し, サンゴ群体を形成する。一部の種類では折れたサンゴ片が岩礁などに固着して, 新たな群体をつくることもある。

現在, 実施されているサンゴの増殖法は, (i)受精卵・プラナラを起点, (ii)骨格を含むサンゴ断片を起点とする方法である。前者では, 自然に放出された受精卵・プラナラ幼生を着床前に捕集し, 人工基盤に固定する。受精卵・プラナラ幼生の多くは漂流中, 魚に捕食されてしまうため, タイミングを見計らって, それらが分散する前のスリック(帯状の集合体)状態時に効率よく捕集する必要がある。多数のサンゴ発生起点を形成できる点で非常に優れているが, 実施できるのは年に1~2回のみであり, 経験も必要である。一方, 後者では, サンゴから断片を採取し, 移植・増殖させる。わかりやすい方法で実施の実績も多く, 蓄積されたデータも多い。ただ, 1断片が1個体にしかならず, その設置もダイバーの手作業に頼らざるを得ない方法で効率が良いとは言えない。また, ドナーとなるサンゴ群集の弱体化も懸念される。このように現行のサンゴ増殖法は一長一短である。

再生医療分野では, 基礎から応用まで詳細かつ多彩な研究が多数報告されている。生体内の患部に細胞を注入したり, 培養した細胞シートを貼付したり, 組織から単離した細胞の利用は, 医療にパラダイムシフトをもたらせた。バイオマテリアルの研究で培われた知見や手法をサンゴの増殖に転用する研究を進めている中, ポリプのストレス忌避反応に出会った。周囲の環境が悪化すると, そのストレスによりポリプが剥離・脱離する“ポリプバイルアウト”と呼ばれる現象である⁽⁹⁾⁻⁽¹³⁾。我々は, この軟組織の環境応答を人工的に誘発して, サンゴ断片から採取したポリプを基盤に固定し, それらを起点にサンゴを増殖する手法を開発している。白化の原因である褐虫藻の放出と同様, ネガティブな現象であるため,

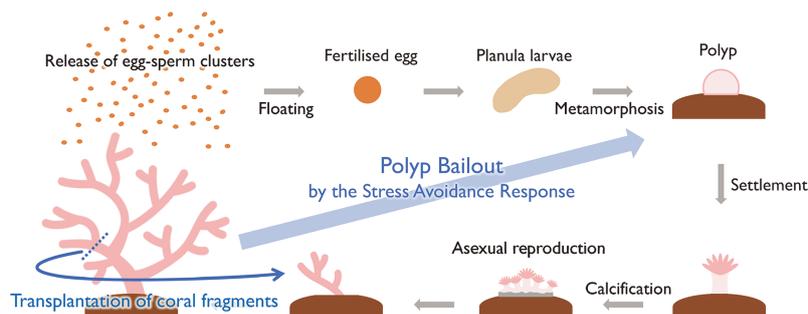


図9 サンゴの産卵~着床~骨格形成のプロセスにおける断片移植とポリプバイルアウトの位置付け。(オンラインカラー)

