

平成 22 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2006～2009

課題番号：18300160

研究課題名（和文） 仮骨形成を防止するチタン合金骨折固定材の表面処理

研究課題名（英文） Surface treatments of bone fixators consisting of titanium alloys to inhibit the formation of callus

研究代表者

埴 隆夫（HANAWA TAKAO）

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：90142736

研究成果の概要（和文）：Ti と Zr のリン酸カルシウム形成能の相違が、両金属の表面酸化皮膜の安定性にあることを明らかにし、Zr 被覆がリン酸カルシウム形成防止に有効であることを明らかにした。また、支持電解質中でカソード分極を行うことで、Zr 自体にリン酸カルシウム形成能を付与することができ、その機構も解明できた。本研究により、Ti 合金を内固定材として使用した際に起こる仮骨形成を防止するために Zr 被覆が有効であることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Difference in the ability of calcium phosphate formation between Ti and Zr was caused by the difference in the stability of surface oxide films on both metals. Zr coating was effective to prevent calcium phosphate formation on Ti. On the other hand, cathodic polarization of Zr in a supporting electrolyte made it possible to add the ability of calcium phosphate formation to Zr and its mechanism was elucidated. Zr coating is effective to prevent the formation of callus on Ti alloys used for internal bone fixators.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	5,600,000	1,680,000	7,280,000
2007 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2008 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野：生体材料学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：チタン、ジルコニウム、骨形成、リン酸カルシウム、カソード分極、表面分析

## 1. 研究開始当初の背景

骨折固定器具、特に下肢の固定や脊柱の固定器具として金属材料の使用は必須である。これは金属の機械的強度と靱性の大きさ、すなわち力学的信頼性によるものであり、セラミックスやポリマーで代替することはでき

ない。近年、ステンレス鋼に代わって、その生体適合性や安全性の点から、チタン（Ti）合金（Ti-6Al-4V合金、Ti-6Al-7Nb合金）の骨折固定材としての使用が増加している。しかし、Ti合金を随内釘やスクリューとして骨髄のような骨形成因子の存在する環境に埋入すると、骨折治癒後に除去する際に骨と癒

合して仮骨を形成し、安全に摘出できないことが頻繁に発生する。これは、Ti合金の良好な硬組織適合性によって、骨形成環境で骨形成が促進されるために起こるものであり、Ti合金の良好な骨形成能が欠点となっている。これはTi合金の良好な硬組織適合性に起因する現象であり、これを防止するためには、骨形成環境でもTi合金表面で仮骨が形成しない表面の設計が必要である。

過去の研究から、TiおよびTi合金は擬似体液中でその表面に容易にリン酸カルシウムを形成することが明らかになっており、この現象は細胞培養下や人体から摘出した部材でも観察されている。研究代表者らは世界に先駆けてこの性質がTiの良好な硬組織適合性の一因であることを主張してきており、近年になってこの性質は普遍的なものとして認知されている。したがって、仮骨の形成はこのリン酸カルシウム形成に起因している。一方、ジルコニウム (Zr) やTi-Zr合金においてはリン酸カルシウムを析出せず、リン酸ジルコニウムが生成する。実際にZr基合金では動物埋入でもリン酸カルシウムは生成しない。したがって、Zrのようにリン酸カルシウム生成を抑制する金属を表面に存在させれば、仮骨の形成は抑制できる。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでの研究で明らかになっているTiおよびTi合金の生体環境での表面組成の再構成に関する基礎的研究を基に、Ti合金表面の仮骨形成を抑制するための表面処理法を開発する。すなわち、これまでのTiに対する表面処理は、骨形成促進が目的であったが、本研究はその逆の骨形成抑制を目指した表面処理法を開発するものである。

## 3. 研究の方法

### (1) TiとZrのリン酸カルシウム形成における相違の発現機構の解明

Tiは体液中でリン酸カルシウムを、Zrはリン酸ジルコニウムをそれぞれ表面に生成することが知られているが、これらの機構については解明されていない。そこで、TiとZrを、成分調整したHanks溶液中で浸漬および動電位カソード分極を行うことで、リン酸塩生成の機構を検討した。

純Ti (JIS2種) および純Zr (99.6%) を鏡面研磨し、洗浄したものを試料とした。Hanks溶液に加えて、成分からリン酸イオンを除いたHanks溶液 (P-free) またはCaイオンを除いたHanks溶液 (Ca-free) を調製し、それらの溶液に試料を浸漬した (図1)。浸漬後、洗浄した試料をX線光電子分光 (XPS) で解析した。カソード分極は上述の

溶液中で行った。

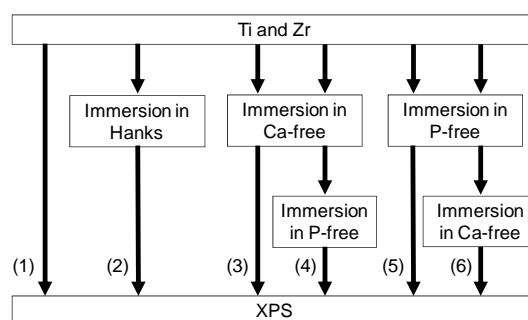


図1 各溶液への浸漬順序

### (2) Zr被覆によるTi表面のリン酸カルシウム形成防止

Ti板 (JIS2種) を切断し、耐水研磨紙およびダイヤモンドペーストで研磨し洗浄し、その表面に、スパッタ蒸着装置によりZr薄膜を形成する。これらの試料をHanks溶液に浸漬し、SEMによる表面観察及びXPSによる解析によって、リン酸カルシウム形成を評価した。

### (3) Zr表面の骨形成促進処理

図2に示すように、純Ti (JIS2種) および純Zr (99.6%) を鏡面研磨し、洗浄したものを試料とした。0.9mass% NaCl水溶液、0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>水溶液および0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.34mass% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の混合溶液を電解液とし、-3 VSCEの定電位で1hカソード分極を行った。試料が体内に埋入された際のリン酸カルシウム形成を模擬するため、Hanks溶液に37°Cで試料を7d浸漬した。試料表面の観察にはSEMを用いた。また析出物の元素分析にはEDSを、また試料最表面の原子の結合状態等、詳細な表面分析にXPSを用いた。

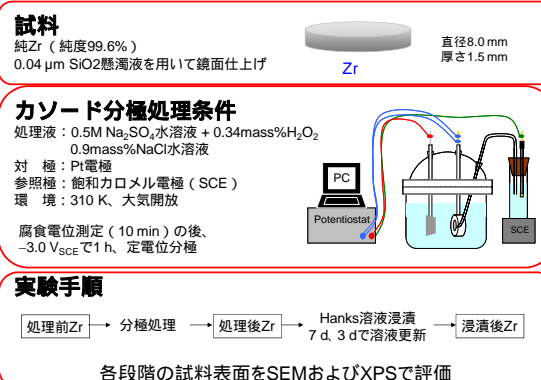


図2 Zr表面の骨形成促進処理の実験方法

#### 4. 研究成果

##### (1) Ti と Zr のリン酸カルシウム形成における相違機構の解明

図3に示すように、XPS解析より、Ca-free中でTi、Zrともにリン酸塩を表面に生成していた。一方P-freeに浸漬したTiからCaが検出されたが、Zrからは検出されなかった。また、Ca-freeへの浸漬でTi表面に取り込まれたリン酸イオンは、その後P-freeに浸漬することでCaイオンと完全に置換した。以上のことからTi表面はリン酸イオンのみでは不安定であり、リン酸Caを生成することで皮膜を安定化させるが、Zr表面はリン酸塩皮膜で安定化しCaを取り込まないことが示唆された。また、カソード分極の結果より、Zr表面に生成する酸化皮膜はTiのものより緻密で高い保護性を有することがわかった。また、Ca-free溶液中でZr表面に生成するリン酸塩皮膜はTiのものより緻密で高い保護性を有していた。このことから、ZrはHanks溶液中で表面に緻密なリン酸ジルコニウム皮膜を生成し、皮膜中にCaを取り込まないためにリン酸Caを生成しないことが明らかになった。

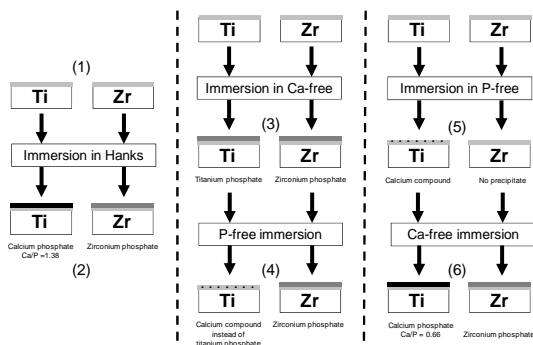


図3 各溶液浸漬後のTiとZr上での生成物

##### (2) Zr被覆によるTi表面のリン酸カルシウム形成防止

図4に示すように、Hanks溶液浸漬後の試料は、SEMによる観察でTiには1μm程の粒状析出物が確認されたがZrを被覆したTiでは析出物は認められなかった。XPS分析でリン酸イオンとカルシウムイオンが検出されたため、この析出物はリン酸カルシウムであることがわかった。定量分析の結果、Tiと90nm真空蒸着材にはPとCaが約3.0mol%検出された。130nm蒸着材ではPとCaは約半分に減少し、スパッタ蒸着材ではCaは検出されなかった。これはスパッタ蒸着は真空蒸着よりも蒸着材との結合力が強く、CaPに代ってリン酸ジルコニウムが形成されたものと考えられた。

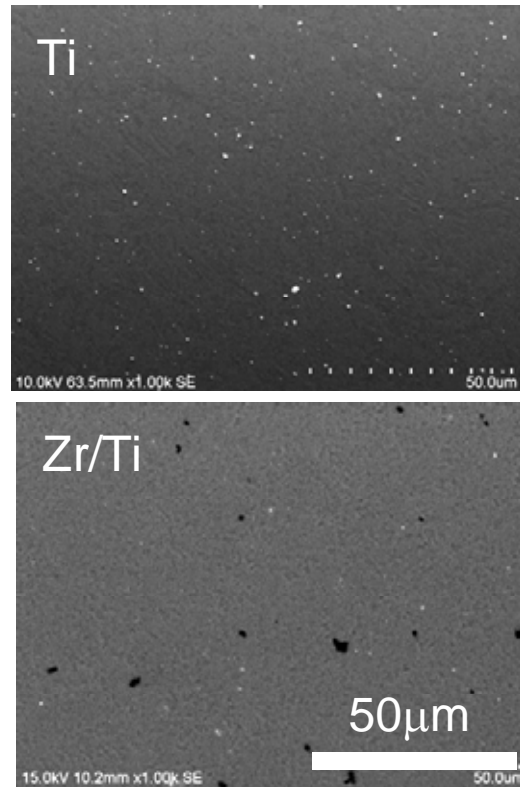


図4 TiおよびZr被覆TiをHanks溶液に浸漬した後の表面

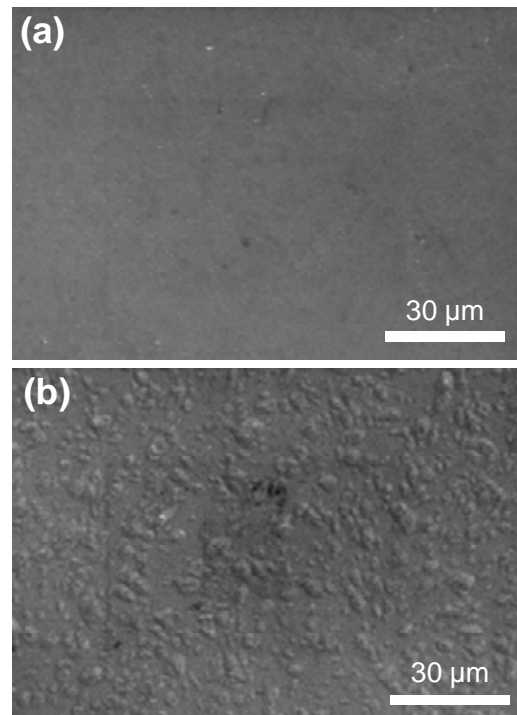


図5 0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.34mass% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の混合溶液中でカソード分極前(a)と後(b)の表面

##### (3) Zr表面の骨形成促進処理

0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.34mass% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の混合

溶液中でカソード分極後の Zr では、図 5 に示すように、試料表面には凹凸がみられ、処理によって表面粗さが増加した。Hanks 溶液中に 7 d 浸漬した試料では、図 6 に示すように、凹凸とは別に白色で示される粒子の析出が観察された。この部分での EDS 測定では Ca、P、O のピークが検出されたため、この粒子がリン酸カルシウムであることが示された。したがって、この処理により Zr にリン酸カルシウム形成能を付与することができた。これは、XPS による表面解析によって、Zr 表面の酸化物がカソード分極処理によって還元され、不安定になることで起こることが明らかになった。

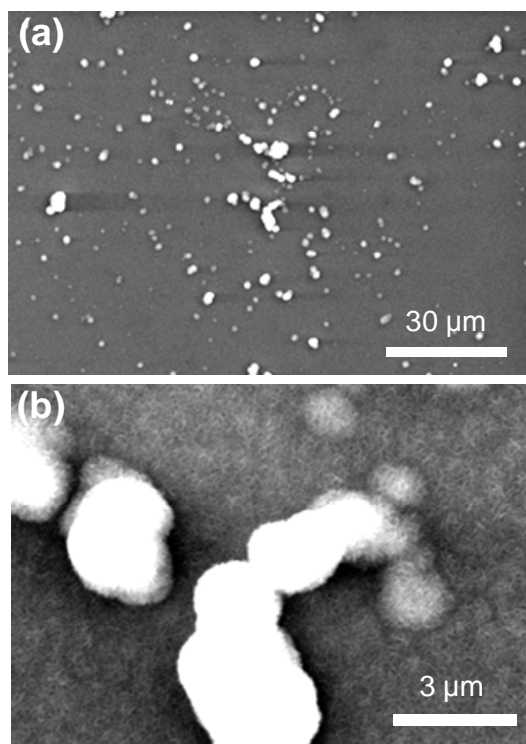


図 6 0.5 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.34mass% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の混合溶液中でカソード分極した試料を Hanks 溶液に 7 日間浸漬した表面

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. 査読有り: Kobayashi E, Ando M, Tsutsumi Y, Doi H, Yoneyama T, Kobayashi M, Hanawa T. Inhibition effect of zirconium coating on calcium phosphate precipitation of titanium to avoid assimilation with bone. Mater Trans 48: 301-306, 2007.
2. 査読有り: Tsutsumi Y, Nishimura D,

Doi H, Nomura N, Hanawa T. Difference in surface reactions between titanium and zirconium in Hanks' solution to elucidate mechanism of calcium phosphate formation on titanium using XPS and cathodic polarization. Mat Sci Eng C, C29: 1702-1708, 2009.

3. 査読有り: Tsutsumi Y, Nishimura D, Doi H, Nomura N, Hanawa T. Cathodic alkaline treatment of zirconium to give the ability to form calcium phosphate. Acta Biomater. In press.

〔学会発表〕(計 35 件)

1. Tsutsumi Y, Takano Y, Doi H, Noda K, Hanawa T. Effect of homogenization treatment on corrosion resistance of Zr based alloys. 6th International Symposium on Titanium in Dentistry, , 2007.6.5, Kyoto, Japan.
2. Nishimura D, Doi H, Tsutsumi Y, Hanawa T, Kobayashi E. Elucidation of phosphate precipitation mechanism on Ti and Zr by cathodic polarization in Hanks' solution. 6th International Symposium on Titanium in Dentistry, 2007.6.5, Kyoto, Japan.
3. 塙 隆夫. 生体環境での金属の信頼性を向上させる表面技術. 表面技術協会第 115 回講演大会, 東京, 2007 年 3 月 8 日.
4. 塙 隆夫. 再生医療のための金属の生体機能化. 第 6 回日本再生医療学会総会シンポジウム, 横浜, 2007 年 3 月 14 日.
5. 塙 隆夫. 金属の生体機能化と生体適合化. 日本金属学会 2007 年春季(第 140 回)大会, 習志野, 2007 年 3 月.
6. 塙 隆夫. 金属とリン酸カルシウム. 第 17 回無機リン化学討論会, 札幌, 2007 年 10 月 2 日.
7. 西村大地, 小林郁夫, 塙 祐介, 土居 壽, 塙 隆夫. Ti 合金製内固定材表面の仮骨形成を防止する表面処理. 第 1 回バイオ・ナノテクフォーラム, 東京, 2007 年 3 月 20 日.
8. 西村大地, 塙 祐介, 小林郁夫, 土居 壽, 塙 隆夫. Ti および Zr の擬似体液中におけるカソード分極によるリン酸塩析出機構の検討. 日本金属学会 2007 年春季(第 140 回)大会, 習志野, 2007 年 3 月 29 日.
9. 塙 祐介, 西村大地, 土居 壽, 小林郁夫, 塙 隆夫. 電気化学処理によるジルコニウム表面でのリン酸カルシウム形成. 日本金属学会 2007 年秋季(第 141 回)大会, 岐阜, 2007 年 9 月 20 日.
10. 大家 溪, 田中裕生子, 坂本晴美, 木村

- 剛, 堤 祐介, 土居 壽, 岸田晶夫, 塙 隆夫. 骨芽細胞様細胞骨分化特性の金属における相違. 第29回日本バイオマテリアル学会大会. 大阪, 2007年11月26日.
11. 西村大地, 堤 祐介, 小林郁夫, 土居 壽, 塙 隆夫. Ti 表面での骨形成を防止する Zr 被覆. 第29回日本バイオマテリアル学会大会. 大阪, 2007年11月26日.
  12. Hanawa T. Calcium phosphate formation mechanism on titanium, The Seventh International Symposium on Biomaterials, Kyngpook National University, 2008.12.1, Deague, Korea.
  13. Hanawa T, Nishimura D, Tsutsumi Y, Doi H, Nomura N. Zirconium coating on titanium for inhibition of assimilation with bone. 8th World Biomaterials Congress, 2008.5.30, Amsterdam, Netherlands.
  14. Oya K, Sakamoto H, Tanaka Y, Kimura T, Tsutsumi Y, Doi H, Hanawa T. Bone differentiation property of osteoblast-like cells on metals. 8th World Biomaterials Congress, 2008.5.30, Amsterdam, Netherlands.
  15. 塙 隆夫. 整形外科における金属材料. 第81回日本整形外科学会総会教育研修講演, 札幌, 2008年5月25日.
  16. 堤 祐介, 西村大地, 土居 壽, 小林郁夫, 塙 隆夫. 電気化学的手法によるチタンとジルコニウムのリン酸カルシウム形成促進処理. 第21回歯科チタン学会学術講演会, 徳島, 2008年2月16日.
  17. 西村大地, 堤 祐介, 土居 壽, 塙 隆夫. ジルコニウム表面でのリン酸カルシウム形成促進. 日本金属学会 2008年春期(第142回)大会公募シンポジウム, 東京, 2008年3月27日.
  18. 西村大地, 堤 祐介, 土居 壽, 塙 隆夫. チタンおよびジルコニウム表面におけるリン塩生成機構の解明, 日本金属学会 2008年春期(第142回)大会, 東京, 2008年3月28日.
  19. 大家 溪, 坂本晴美, 能城 一矢, 竹村太郎, 花方信孝, 木村 剛, 堤 祐介, 土居 壽, 塙 隆夫. 金属の種類による骨芽細胞様細胞の骨分化特性の差異. 日本金属学会 2008年春期(第142回)大会, 東京, 2008年3月27日.
  20. 大家 溪, 坂本晴美, 堤 祐介, 土居 壽, 塙 隆夫. チタン, ジルコニウム, 金の MC3T3-E1 細胞骨分化特性の差異. 第51回日本歯科理工学会学術講演会, 鶴見, 2008年4月26日.
  21. Hanawa T. Titanium alloys and their surfaces, 11th Dental Implantology, Hotel Continental, 2009.10.2, Burno, Czech.
  22. Hanawa T. Calcium phosphate formation on titanium and zirconium and its application to medical devices. 22nd International Symposium on Ceramics in Medicine, 2009.10.27, Hotel Inter-Burgo, Daegu, Korea.
  23. Tsutsumi Y, Hanawa T. Difference in surface property between titanium and zirconium and cathodic alkaline treatment. 9th Asian BioCeramics Symposium (ABC2009), 2009.12.11, Nagoya Congress Center, Nagoya, Japan.
  24. 堤 祐介. ジルコニウム上での骨形成を促進するカソード分極処理法. 次世代医療システム産業化フォーラム, 大阪, 2009年9月15日.
  25. 堤 祐介, 大家 溪, 土居 壽, 野村直之, 塙 隆夫. 電気化学的手法による生体用金属材料の生体機能化. 第31回日本バイオマテリアル学会大会, 京都, 2009年11月16日.
  26. 森山義久, 今井八郎, 塙 隆夫, 野村直之, 土居 壽, 堤 祐介. カソード分極処理を施した Zr の擬似体液中におけるリン酸カルシウム形成能評価. 日本金属学会 2009年春期(第143回)大会, 東京, 2009年3月30日.
  27. 堤 祐介, ハジユンユン, 土居 壽, 野村直之, キムキョウハン, 塙 隆夫. 陽極酸化処理によるジルコニウムの硬組織適合性の向上. 日本機械学会 2009年度年次大会, 盛岡, 2009年9月15日.
  28. 堤 祐介, 河 晶充, 土居 壽, 野村直之, 金 教漢, 塙 隆夫. マイクロアーク酸化処理によるジルコニウムの硬組織適合性の改善. 日本金属学会 2009年秋期(第145回)大会, 京都, 2009年9月17日.
  29. 大家 溪, 竹村太郎, 花方信孝, 森山義久, 野田和彦, 堤 祐介, 土居 壽, 野村直之, 塙 隆夫. チタン, ジルコニウム, 金における骨芽細胞様細胞骨分化特性の網羅的遺伝子発現解析. 日本金属学会 2009年秋期(第145回)大会, 京都, 2009年9月17日.
  30. 大家 溪, 堤 祐介, 土居 壽, 野村直之, 塙 隆夫. MC3T3-E1 細胞の骨分化における金属の種類による遺伝子発現の差異. 第54回日本歯科理工学会学術講演会, 鹿児島, 2009年10月1日.
  31. 大家 溪, 竹村太郎, 堤 祐介, 土居 壽, 野村直之, 花方信孝, 塙 隆夫. 骨芽細胞様細胞の遺伝子発現の金属の種類による相違. 第31回日本バイオマテリアル学会大会, 京都, 2009年11月17日.

32. 森山義久, 大家 溪, 堤 祐介, 土居 壽, 野村直之, 野田和彦, 塙 隆夫. Zr の硬組織適合性へ及ぼすカソード分極処理の影響. 第31回日本バイオマテリアル学会大会, 京都, 2009年11月17日.
33. 堤 祐介, 大家 溪, 土居 壽, 野村直之, 塙隆夫. 電気化学的表面処理による金属材料の生体適合性付与. 第4回バイオ・ナノテクフォーラムシンポジウム, 東京, 2010年3月3日.
34. 堤 祐介, 森山義久, 大家 溪, 土居 壽, 野村直之, 野田和彦, 塙 隆夫. カソード分極処理による Zr の硬組織適合性の改善. 日本金属学会 2010 年春期大会, つくば, 2010年3月30日.

〔図書〕(計5件)

1. 塙 隆夫: 2.3.4 チタン, 3.12 インプラントと微量元素, 生命元素事典, 桜井 弘編, オーム社, 2006, pp.143-146, pp.262-265.
2. 塙 隆夫: バイオマテリアルとしての金属材料, 再生医療のためのバイオマテリアル, 再生医療の基礎シリーズ, コロナ社, 2006, pp. 57-74.
3. 塙 隆夫, 米山隆之. 金属バイオマテリアル, コロナ社, 東京, 2007年9月.
4. 塙 隆夫. 第2章 金属系バイオマテリアル 材料学シリーズ 生体材料, 内田老鶴圃, 29-84, 2008年7月.
5. 塙 隆夫 総論 3.2 金属材料, 生体材料, 環境調和型新材料シリーズ, 日本セラミックス協会編, 日刊工業新聞社, 29-35, 2008年10月.

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

名称: 硬組織接触具用材の製造方法、及び硬組織接触具

発明者: 堤 祐介, 塙 隆夫

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 特許

番号: 特願 2007-241100

出願年月日: 2007.9.18.

国内外の別: 国内

名称: 硬組織接触具用材の製造方法、及び硬組織接触具

発明者: 堤 祐介, 塙 隆夫

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 国際出願

番号: PCT/JP2008/066054

出願年月日: 2008.9.5.

国内外の別: 国外

○取得状況(計1件)

名称: 硬組織接触具用材の製造方法、及び硬組織接触具

発明者: 堤 祐介, 塙 隆夫

権利者: 国立大学法人東京医科歯科大学

種類: 国際出願

番号: Rule19(3) EPC, 2010.4.23.

出願年月日: 2010.4.23.

国内外の別: 国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/i-mde/www/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

塙 隆夫 (HANAWA TAKAO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号: 90142736

(2)研究分担者

野村 直之 (NOMURA NAOYUKI)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・准教授

研究者番号: 90332419

土井 壽 (DOI HISASHI)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教

研究者番号: 30251549

堤 祐介 (TSUTSUMI YUSUKE)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・助教

研究者番号: 60447498