

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21760574

研究課題名(和文) 骨形成能向上を目的としたパックスセメンテーション法による
チタン系材料の表面改質研究課題名(英文) Surface modification of titanium by pack cementation process
for improvement of bone compatibility

研究代表者

上田 恭介 (UEDA KYOSUKE)

東北大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：40507901

研究成果の概要(和文)：チタンの骨適合性向上を目的として、パックスセメンテーション法、定温定圧法およびその複合により、チタン表面にリン酸カルシウム反応層を作製した。得られた反応層は hidroksiapatit(HAp)相および Ca-P-O-Ti 傾斜層であり、厚さは数 μm 程度であった。本法は、基板との優れた密着力を示し、細胞培養試験からも高い ALP 活性を示したことから、新規表面処理方法として有効であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Calcium phosphate reaction layers were fabricated on titanium by pack cementation process, isobaric-isothermal process and their combination process to improve the bone compatibility of titanium. The phase of the reaction layer was hydroxyapatite (HAp) and Ca-P-O-Ti graded layer, and its thickness was several μm . The reaction layer showed high bonding strength to the substrate and high ALP activity by the cell culture test. These results suggested that the new process effectively improved the bone compatibility of titanium.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学・材料加工・処理

キーワード：チタン、表面処理、リン酸カルシウム、パックスセメンテーション法、密着力、アパタイト、生体外評価、細胞培養試験

1. 研究開始当初の背景

チタンおよびチタン合金は優れた機械的特性、耐食性、生体適合性を有するために整形外科や歯科分野において硬組織代替デバイスとして用いられている。硬組織代替デバイスには骨との迅速で強固な結合が求められるが、リン酸カルシウムコーティングはチタンの骨適合性向上に有効な手段の一つで

ある。リン酸カルシウムは骨の無機成分の大半を占める材料であり、代表的なものに骨伝導性を有する hidroksiapatit(HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)がある。現在、チタン系硬組織代替デバイスへのリン酸カルシウムコーティングとしてプラズマプレー法が実用化されているが、膜厚 $30\ \mu\text{m}$ 以下の領域において膜厚制御ができず、厚膜になってしまう、

高温プロセスであるため相制御の困難さや基板であるチタンの機械的特性低下が問題視されている。そこで近年、プラズマスプレー法に替わる多くのリン酸カルシウムコーティング方法に関する研究が行われている。一般的に、チタン系材料へのリン酸カルシウムコーティングにおいては、薄膜領域(数 μm)における膜厚制御が可能であること、低温プロセス($< 973\text{ K}$)であること、広範囲へのコーティングが可能で、基板との高い密着力を有していること、が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、チタンの新規骨適合化表面処理方法として(1)リン酸カルシウム系粉末を用いたバックセメンテーション法、(2) P_2O_5 を用いた定温定圧法に着目した。

(1) バックセメンテーション法

バックセメンテーション法は、基板を処理粉末で包埋し熱処理を施すことで基板の表面改質を行う方法であり、安価、簡便、複雑形状の基板表面にも適用可能である、粉末の組成を変えることで反応層の制御が可能である、といった特性を有する。また、反応促進剤を粉末中に添加することで反応層の相制御が可能であり、元素添加も期待される。

チタンおよびチタン合金に関するバックセメンテーション法のこれまでの研究としては、Al や Si、Cr 粉末を用い、耐酸化性向上を目的としたものや、 B_4C 粉末を用いた硬化処理が報告されているが、リン酸カルシウム系材料を用い、生体内における骨形成能向上を目的とした処理に関する報告は未だ行われていない。バック粉末としてリン酸カルシウム系材料を用いることで、チタンおよびチタン合金表面にリン酸カルシウム系や Ti-O 系などの反応層を得ることが可能であると考えられる。

(2) 定温定圧法

P_2O_5 は 800 K 以上において高い蒸気圧を示すため、基板と一緒に閉じた系内に入れて熱処理することで、リンが蒸気として基板と反応すると考えられる。ガスとの反応であるため、基板の形状や表面凹凸に影響されず、反応層を形成することが可能であると考えられる。また、これまでチタンの生体適合化を目的として、Ca-O-Ti 系反応層の作製および評価に関しては報告があるが、リンを用いた P-O-Ti 系に関してはほとんど報告が無い。

本研究ではこれらの方法を用いて、チタン上にリン酸カルシウム反応層を作製し、その作製条件と生成相、膜厚の関係を明らかにし、得られた反応層の生体外評価として、基板と

の密着力評価、擬似体液中におけるアパタイト形成能評価および細胞培養試験による ALP 活性能評価を行った。これらの結果から、チタンの骨適合性向上に有効な、新規プロセス開発を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) バックセメンテーション法

基板には鏡面研磨を施した工業用純チタン(CP Ti, JIS2 種、 $10 \times 10 \times 1\text{ mm}$)を用いた。

処理粉末として、リン酸二カルシウム(CPP, $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$)、 β 型リン酸三カルシウム(β -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)、HAp、リン酸四カルシウム(TTCP, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$)および CaO を用いた。また、反応促進剤として CaCl_2 、 MgCl_2 および NaCl を用いた。2 g の粉末を乳鉢にて粉碎した後、アルミナ坩堝中に全体の 1/2 程度の量を敷き詰め、その上に鏡面側が下側を向くようにチタン基板を置いた。さらにその上から残りの粉末をかぶせることで、基板を粉末で完全に覆った。熱処理は大気中にて、保持温度 $773 \sim 973\text{ K}$ 、保持時間 $3.6 \sim 86.4\text{ ks}$ の条件にて行った。

(2) 定温定圧法

基板には鏡面研磨 CP Ti を用いた。石英($\phi 13 \times 150\text{ mm}$)管に P_2O_5 粉末約 2 g を入れ、石英管の逆端に基板を設置した。ロータリーポンプを用い、石英管内を 1 Pa 以下まで真空引きした後、封入した。熱処理はマッフル炉を用い、 $773 \sim 973\text{ K}$ 、保持時間 $10.8 \sim 86.4\text{ ks}$ の条件にて行った。

(3) 評価

処理後の基板は純水中およびエタノール中にて超音波洗浄を行い、薄膜 XRD (α -2 θ XRD, $\alpha = 1^\circ$)による相同定、SEM による表面観察、EDX による組成分析を行った。また、処理に用いた粉末の相同定も XRD (θ -2 θ)により行った。

① 反応層の密着力

反応層と基板との密着力は、薄膜強度試験機を用いたピン引き抜き法により評価した。接着剤を塗布した Al 製ピン(接着面 $\phi 2.7\text{ mm}$)を反応層に接着し、ピンの引き抜き試験を行い、最大荷重から密着力を評価した。なお、ピンの接着に用いた接着剤の接着力は $60 \sim 70\text{ MPa}$ である。

② アパタイト形成能評価

擬似体液中におけるアパタイト形成能は、生体内における骨形成能の指標となることが知られている。本研究においても、擬似体液として Kokubo 溶液($\text{pH} = 7.4$)を用いた浸漬試験を行った。作製した反応層を 310 K に保

持した Kokubo 溶液(50 mL)に最大 86.4 ks 浸漬した。浸漬後の試料は、純水中で洗浄し、大気中にて乾燥後、薄膜 XRD による相同定、SEM による表面観察に供した。

③ALP 活性能評価

ヒト骨芽細胞様細胞である SaOS-2 を用いた細胞培養試験により、ALP 活性能を評価した。試料上に SaOS-2 細胞を 5×10^5 個播種し、2, 4, 6 および 8 日間培養を行い、測定に供した。ALP 活性量と DNA 量の比(ALP/DNA)は造骨性のマーカーとなり、骨芽細胞分化の指標となることが知られており、本研究では ALP/DNA 値を ALP 活性能として算出した。

4. 研究成果

(1)パックスセメンテーション法

①純粉末を用いた処理

図 1 に CPP、 β -TCP、HAp、TTCP および CaO 粉末を用い、大気中にて 973 K、86.4 ks 処理を行った基板の XRD パターンを示す。CPP 粉末を用いた場合、基板から α -CPP および β -CPP のピークが、CaO 粉末を用いた場合、 CaTiO_3 のピークがそれぞれ確認された。また、HAp および TTCP 粉末を用いた場合においては、HAp のピークが確認され、特に TTCP 粉末を用いた場合に顕著であった。図 2 に TTCP 粉末を用いて上記の条件にて処理した試料の表面断面 SEM 写真を示す。基板表面からは、数百 nm 程度の微細な粒を含有する直径数 μm 程度の穴が観察された。EDX 分析から、微細な粒からのみカルシウムおよびリンの存在が確認され、その他の部分からはチタンおよび酸素のみが確認された。XRD の結果と併せて、この微細な粒が HAp であると考えられる。一方、粉末が脱離したために生じたと

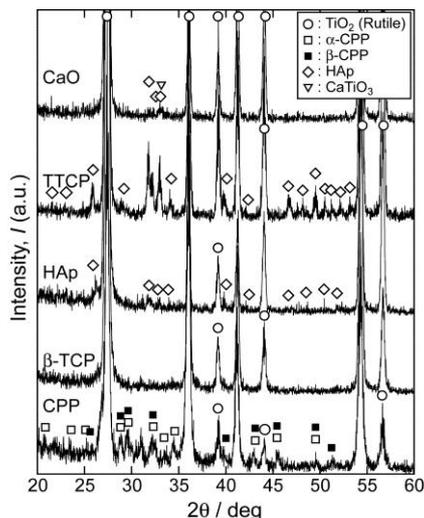


図 1 各種粉末を用いてパックスセメンテーション処理を行った基板の XRD パターン

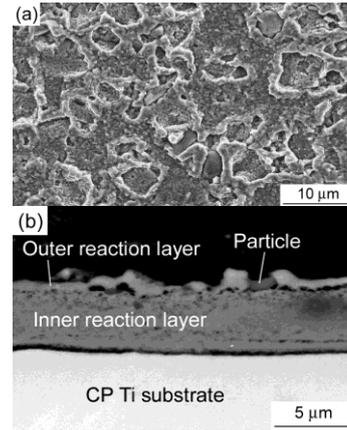
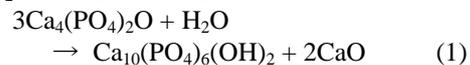


図 2 TTCP 粉末を用いたパックスセメンテーション処理後の基板(a)表面および(b)断面 SEM 写真

考えられるポアも観察された。断面 SEM 写真から、反応層は 2 層構造を有しており、外部反応層中に粉末が組み込まれていることが分かる。これは、熱処理中にチタンの外方拡散が生じたためであると考えられる。

図 3(a), (b) に TTCP 粉末を用い、大気中、973 K にて各保持時間処理した際の基板および用いた粉末の XRD パターンをそれぞれ示す。基板からは、保持時間 21.6 ks 以上で HAp のピークが確認された。一方、処理に用いた粉末においては、TTCP から HAp および CaO への分解反応が起こり、43.2 ks において完全に HAp と CaO に分解したことがわかる。以下の反応式に示すように、TTCP の分解は H_2O が必要となる。



ここで生じた CaO と基板とが反応し、(2)式によりチタン酸カルシウムが生成したと考察した。

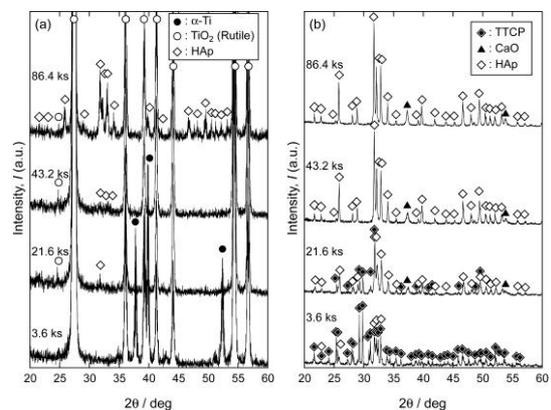
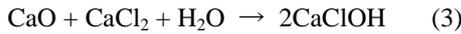


図 3 TTCP 粉末を用いて各時間処理を行った際の(a)基板および(b)処理粉末の XRD パターン

②反応促進剤を用いた処理

反応促進剤として、CaO 粉末に CaCl₂ を添加して 873 K, 86.4 ks 処理を行った試料の基板および処理粉末の XRD パターンを図 4 に示す。基板からは、添加無し試料からはルチル相のみが検出されたのに対し、1%CaCl₂ 添加試料からは CaTiO₃ 相が検出された。また 10%CaCl₂ 添加試料粉末からは CaClOH 相が検出された。これらの結果から、TTCP への CaCl₂ 添加は、基板上における CaTiO₃ 相形成を促進させることが明らかとなった。これは、以下の(4)、(5)式の反応が生じたためであると考察した。



MgCl₂ 粉末を反応促進剤として用いた場合も同様に、無添加と比較して CaTiO₃ 相の形成を促進させることが明らかとなった。

図 5 に、TTCP に NaCl を添加した粉末を用いて 973 K にて 86.4 ks 処理後の基板の XRD パターンを示す。0.1%添加試料においても、チタン酸ナトリウム相が検出された。ここで、Kokubo らが開発し、現在実用化されている NaOH/熱処理法(86.4 ks の NaOH 浸漬+7.2 ks の大気中熱処理)によるチタンの表面処理においてもチタン酸ナトリウム相が得られており、チタンの骨形成能向上に有効であることが知られている。本法は、Kokubo らの処

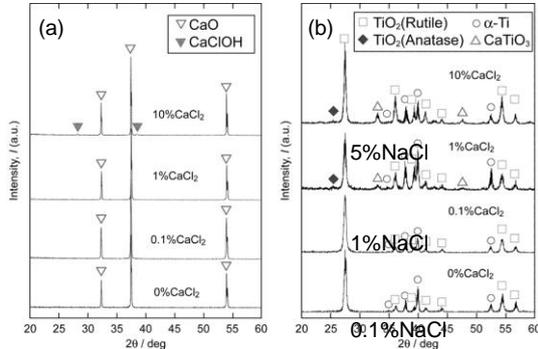


図 4 TTCP 粉末に CaCl₂ を添加して処理を行った際の(a)粉末および(b)基板の XRD パターン

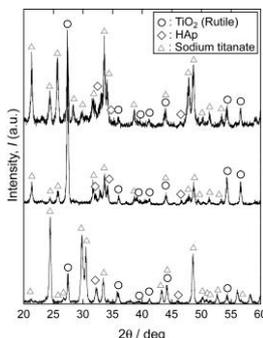


図 5 TTCP 粉末に NaCl を添加して処理を行った際の基板の XRD パターン

理よりも短時間かつ 1 プロセスで反応層を得ることが可能であり、有効な方法として期待される。

(2) 定温定圧法による Ca-P-O-Ti 系反応層の作製

① 定温定圧法による P-O-Ti 系反応層の作製

図 6 に、P₂O₅ と基板とを石英管内に封入し、873 K にて各時間熱処理を行った後の基板の XRD パターンを示す。PTi 相およびルチル相が検出され、P-O-Ti 系反応層が得られたことが明らかとなった。これは、以下の(6)式によるものであると考えられる。



図 7 に、基板の表面断面 SEM 写真および EDX による組成分析結果を示す。表面は微細な凹凸はあるものの、平滑であり、EDX 分析からはリンの存在が確認された。断面 SEM 写真から、反応層は均一で基板とよく密着しているおり、膜厚はおよそ 2 μm 程度であることが分かった。

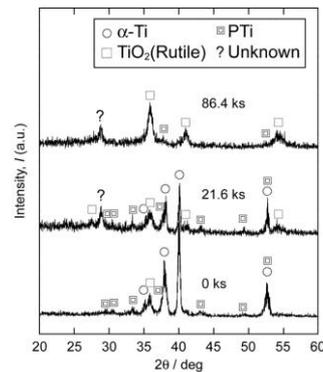


図 6 P₂O₅ を用いた定温定圧法により処理した基板の XRD パターン

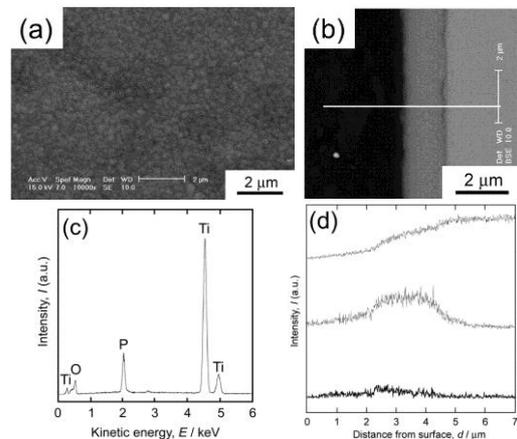


図 7 定温定圧法で作製した基板の(a)表面および(b)断面 SEM 写真および(c)、(d)その EDX 分析結果

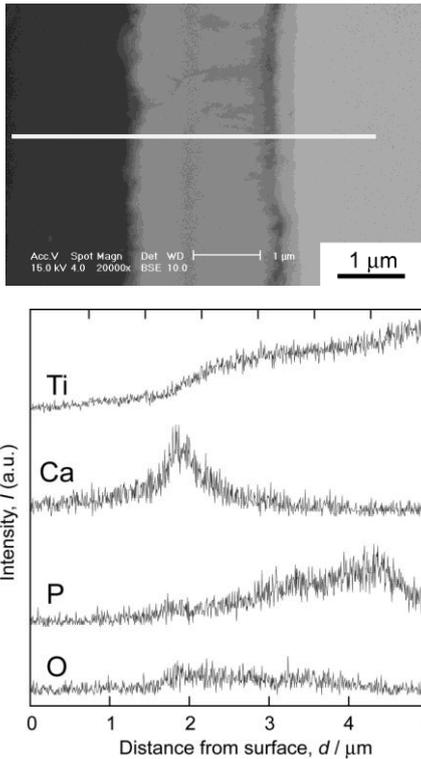


図 8 等温等圧法/パックセメンテーション混合法により作製した Ca-P-O-Ti 系反応層の断面 SEM 写真および EDX によるライン分析結果

②定温定圧/パックセメンテーション混合法による Ca-P-O-Ti 系反応層の作製

以上の結果を踏まえ、1 段階目に定温定圧法により P-O-Ti 系反応層を作製し、その後 2 段階目にパックセメンテーション法により Ca-O-Ti 系反応層を作製することで、Ca-P-O-Ti 系反応層の作製を試みた。

図 8 に 1 段階目に P_2O_5 粉末を用い、873 K にて 86.4 ks 定温定圧処理を行い、2 段階目に CaO-1%CaCl₂ 粉末を用いたパックセメンテーション処理を施した基板の断面 SEM 写真および EDX によるライン分析結果を示す。この反応層からはチタンの準安定酸化物相であるアナターゼ相が検出され、CaTiO₃ 相も確認されたが、リン含有相は検出されなかった。一方、断面 SEM 写真から膜厚は約 2 μm 程度であり、表面近傍に Ca が、反応層中基板寄りに P が存在しており、Ca/P/Ti 傾斜反応層であることが分かった。

(3) 評価

①密着力

パックセメンテーション法により作製した反応層の密着力は、973 K にて 21.6 ks 処理を行った試料においては、68.1 MPa であった。現在実用化されているプラズマプレー法により作製したコーティング膜の密着力は

20~30 MPa 程度であり、ISO で規定されている密着力は 50 MPa 以上ということからも、本研究で得られた密着力は生体材料としては十分な値であることが確認された。

②アパタイト形成能

各条件において作製した反応層の、Kokubo 溶液中におけるアパタイト形成能を調査した結果を表 1 に示す。定温定圧法のみでの処理を除いて、いずれの条件においても、86.4 ks 以内にアパタイトの形成が確認された。前述の NaOH/熱処理法により作製した反応層においてもアパタイト形成に 3 日程度要することから、本研究で得られた反応層は、生体内においても高い骨形成能を示すと予想される。

Table 1 Kokubo 溶液中におけるアパタイト形成能

Process	Powder	Immersion time / ks		
		10.8	43.2	86.4
Pack cementation	HAp	×	○	○
	TTCP	×	○	○
	TTCP -0.1%NaCl	○	○	○
	CaO	×	×	○
Isobaric-isothermal	P ₂ O ₅	×	×	×
	P ₂ O ₅ / CaO-1%CaCl ₂	×	×	○

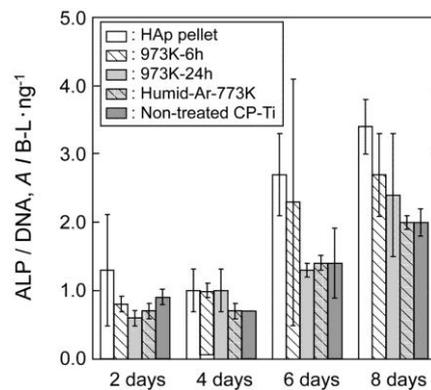


図 9 TTCP 粉末を用い、各条件でパックセメンテーション法により処理したチタン基板の ALP 活性能

③ALP 活性能

パックセメンテーション法により処理した試料の ALP 活性能を図 9 に示す。処理無しのチタン基板よりも高い ALP 活性能を有することを明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- ① K. Ueda, H. Suto and T. Narushima: “Surface modification of titanium by pack cementation treatment using calcium phosphate powders for biomedical applications”, *Met. Mater. Int.*, **4**, (2010) 569-572. (査読あり)
- ② K. Ueda, H. Suto, K. Nakaie and T. Narushima: “Pack cementation treatment of titanium using tetracalcium phosphate powder for biomedical applications”, *Mater. Sci. Forum*, **654-656**, (2010) 2172-2175. (査読あり)
- ③ T. Narushima, K. Ueda, T. Goto, J. Kurihara and H. Kawamura: “Calcium phosphate coating on titanium using dry process”, *Mater. Sci. Forum*, **654-656**, (2010) 2162-2167. (査読あり)
- ④ 上田恭介, 川崎雄城, 後藤孝, 栗原淳, 川村仁, 成島尚之: “チタン上への多層リン酸カルシウム膜の作製とその評価”, 粉体および粉末冶金, **57**, (2010) 314-320. (査読あり)
- ⑤ T. Narushima, K. Ueda and T. Goto: “Surface modification of titanium by dry process for biomedical applications”, *Proceedings of the 9th Int. Symp. on Biomaterials*, (2009) 22-27. (査読あり)
- ⑥ K. Ueda, Y. Kawasaki, T. Narushima, T. Goto, J. Kurihara, H. Nakagawa and H. Kawamura: “Calcium phosphate films with/without heat treatments fabricated using RF magnetron sputtering”, *J. Biomech. Sci. Eng.*, **4** (2009) 392-403. (査読あり)

[学会発表] (計 16 件)

- ① 上田恭介: “ドライプロセスを利用したチタンの骨適合化表面処理” 日本金属学会・日本鉄鋼協会東海支部 第 58 回若手材料研究会「生体材料の進展」, 名古屋工業大学, (2011) 1 月 25 日
- ② K. Ueda, K. Nakaie, H. Suto, T. Narushima and M. Taira: “In vitro evaluation of pack cementation treated titanium using tetracalcium phosphate powder”, *International Workshop on Nano, Bio and Amorphous Materials*, Tohgatta, Japan, (2010) August 9-10.
- ③ K. Ueda, H. Suto, K. Nakaie and T. Narushima: “Pack cementation treatment of titanium using tetracalcium phosphate powder for biomedical applications”, *The 7th Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing*, Cairns,

Australia, (2010) August 2-6.

- ④ 上田恭介, 中家香織, 平雅之, 成島尚之: “リン酸四カルシウムを用いたパックスセメンテーション法により表面処理したチタンの生体外評価”, 軽金属学会 第 118 回春季大会, 関西大学 (2010) 5 月 22-23 日
- ⑤ 上田恭介, 須藤初, 中家香織, 成島尚之: “リン酸四カルシウム粉末を用いたパックスセメンテーション法によるチタンの表面改質”, 日本金属学会 第 146 回大会, 筑波大学 (2010) 3 月 28-30 日
- ⑥ K. Ueda: “Bioceramics coating on titanium materials” *International Cooperation between KITECH and Tohoku University, Korea Institute of Industrial Technology (KITECH)*, Songdo, Korea, (2010) February 25.
- ⑦ 上田恭介, 須藤初, 中家香織, 成島尚之: “リン酸四カルシウム粉末を用いたパックスセメンテーション法によるチタンの骨適合化表面改質”, 粉体粉末冶金協会平成 21 年度秋季大会研究発表, 名古屋 (2009) 10 月 27-29 日
- ⑧ 上田恭介, 須藤初, 成島尚之: “パックスセメンテーション法によるチタンの骨適合化表面改質” 東北大学金属材料研究所共同研究ワークショップ, 東北大学 (2009) 7 月 28-29 日

[図書] (計 1 件)

- ① T. Goto, T. Narushima and K. Ueda: “Bio-ceramic coating on titanium by physical and chemical vapor deposition”, In *CRC Handbook of Biological and Biomedical Coatings*, Ed. By S. Zhang, CRC Press, Boca Raton, FL, (2011), in press.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上田 恭介 (UEDA KYOSUKE)
東北大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号: 40507901

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

成島 尚之 (NARUSHIMA TAKAYUKI)
東北大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 20198394