

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22860036

研究課題名（和文）

生体化学・力学的複合環境における金属系バイオマテリアルの生体適合性と表面改質

研究課題名（英文）

Biocompatibility and surface modification of metallic biomaterials in biochemical/mechanical environment

研究代表者

宮部 さやか (MIYABE SAYAKA)

大阪大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：50584132

研究成果の概要（和文）：細胞の有無に関わらず、不働態皮膜破壊および再生挙動は材料種に強く依存した。Ti、Ti6Al4V 合金では弾性変形途中から不働態皮膜破壊による新生面増加によりアノード電流は増加したが、SUS316L 鋼では弾性域でのアノード電流増加は認められなかった。細胞の存在や吸着タンパク質の増加により、ひずみ付与終了後の再不働態化速度が低下することが明らかとなった。このことは、タンパク質や細胞が試料表面に接着し試料表面との間にすき間を形成することで、金属イオンの加水分解により生成した H⁺イオンの拡散が抑制されすき間内部の pH 低下が再不働態化を阻害したためと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, I revealed that dissolution and repassivation behavior strongly depended on substrate material even with/without cells. On Ti6Al4V alloy, a slight increase of current was observed in elastic region due to the breakdown of passive films. Then soon after the plastic deformation started, the current rapidly increased, indicating that the area of newly created surfaces drastically increased as a result of formation of slip band. The similar current behavior was observed on pure Ti. On the other hand, for type 316L stainless steel, the current did not change in elastic region and started to increase at the onset of plastic deformation. After the end of elongation, the current rapidly decreased approaching to the level before straining as a result of repassivation. For the charge density during deformation, there was little difference with/without cells. On the other hand, for the charge density after deformation, the larger charge density was recognized on the sample adsorbed proteins and the maximum charge density was observed on the sample with cells. This result suggests that proteins and cells inhibit the repassivation. When proteins or cells accumulate on the sample surface, a closed space is made between proteins or cells and metal surface. In this space, the diffusion of solute is blocked and H⁺ ions reach a high concentration. As a result, the pH becomes low and repassivation is inhibited. The current stagnation on Ti6Al4V alloy with cells is the remarkable example of the repassivation inhibition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,260,000	378,000	1,638,000
2011 年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,420,000	726,000	3,146,000

研究分野：環境材料学、生体材料学

科研費の分科・細目：材料加工・処理

キーワード：(1) 生体材料, (2) 金属系バイオマテリアル, (3) 腐食挙動, (4) 急速歪み電極法, (5) 模擬生体環境, (6) 金属イオン溶出, (7) 変形, (8) 不動態皮膜破壊

1. 研究開始当初の背景

生体適合性に優れた生体埋入金属インプラントの安全性評価、開発には、生体内におけるインプラント表面の金属腐食挙動解明が必須である。一般にバイオマテリアルとして現在使用されている金属・合金は表面に生成される安定な酸化皮膜である不動態皮膜で保護されているために体内での安全性が確保されている。しかしながら、生体内に埋入された金属材料、特に整形外科インプラントは動的荷重を受け、表面皮膜の破壊にともなう金属イオンの溶出と、新たな表面皮膜形成が生じていることが予測される。さらに、生体内では血清や間質液のような体液との接触を避けられず、こうした体液には Na^+ や Cl^- を始めとする無機質、有機質、タンパク質、アミノ酸などを含有し、 Cl^- は一般に金属材料の腐食を促進することが知られており、この点だけを考慮しても生体内は金属材料にとって腐食しやすい環境にあることが理解される上、細胞が付着した金属表面も隙間腐食のサイトとなり得る。現在、金属系バイオマテリアル埋入の機会が急増している。一般に生体用金属材料は、金属表面に生成される安定な酸化被膜により安全性が確保されているが、動的荷重を受け表面皮膜の破壊にともなう金属イオンの流出と、新たな表面皮膜形成に加え、化学的環境との複合的環境の影響を受ける。

2. 研究の目的

金属系バイオマテリアルは、(1)生体化学・(2)生体力学的环境の複合的環境のもと使用されているが、現在までの研究は(1),(2)のどちらかに偏っており、複合的環境での金属材料の耐環境性はほとんど明らかとなっていない。そこで、本研究は、こうした腐食に寄与する要因を複合的に考慮し、細胞培養下で動的荷重を負荷した際の金属イオン溶出量の変化に注目することで、生体内環境に近い状態での金属腐食挙動を電気化学的に明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、力学試験機の試験部に温度、 CO_2 濃度を制御可能な電気化学的セルを装着し、溶液中で引張試験を実施した。このことにより、試験片に動的ひずみを与えた際の金属イオン溶出に伴う電流挙動測定を同時に行なっている。また、付与するひずみは急速ひずみとすることにより、従来分離することが困難であった不動態皮膜破壊と不動態

皮膜再生(再不動態化)を個々に捉えている。試験片には実際に体内埋入インプラント材として使用されている(1) Ti、(2) Ti系合金(Ti6Al4V)、(3) SUS316L鋼の3種の材料を用いた。引張試験片を作成後、試験片を 121°C にてオートクレーブ滅菌処理し、 37°C 、5% CO_2 に保持したインキュベータ内で所定期間(1日間、7日間)模擬体液に浸漬、および試験片ゲージ部全面に7日間細胞培養を行った。模擬体液は□-MEM+10% FBS(仔ウシ胎児血清)とし、細胞はマウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)を用いた。これらの試料を 37°C 、5% CO_2 に保持した模擬体液で満たした電気化学セル内で定電位分極した後、油圧式サーボバルサを用い試験片に 10 mm/s (0.67 s^{-1})、ひずみ量4%の条件にて急速ひずみを付与し、応力およびアノード電流変化を計測した。

4. 研究成果

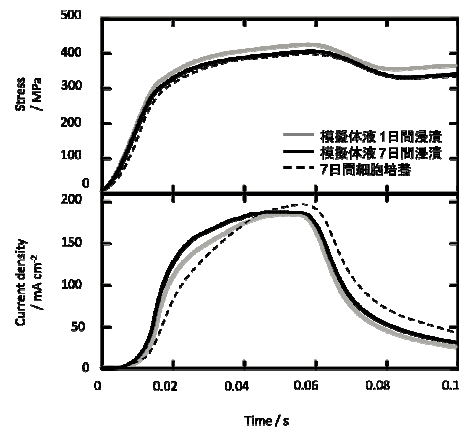


図1 Tiに急速ひずみを付与した際の応力およびアノード電流変化。
(模擬体液1日間および7日間浸漬、7日間細胞培養)

図1に模擬体液1日間および7日間浸漬、7日間細胞培養させたTiに急速ひずみを付与した際の応力およびアノード電流変化を示す。いずれの試料においても、電流値は弾性域の途中からわずかな立ち上がりを見せ、塑性域に入ると急激に傾きが増した後、傾きは減少し、引張停止とともに電流値は減衰した。こうした電流値の変化はまず金属表面の不動態皮膜破壊とともに新生面からのイオン溶出が生じ、その後皮膜破壊と再不動態化が同時に進行し、引張停止時からは再不動態化のみが進行するためと考えられる。Ti、

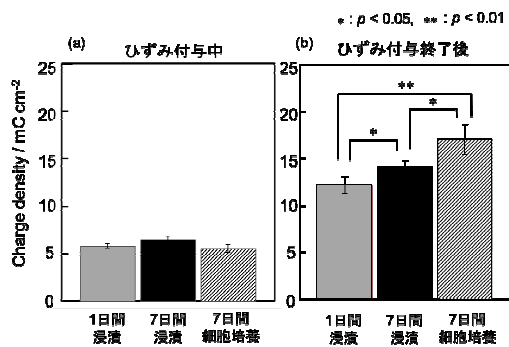


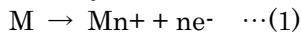
図2 Tiに急速ひずみを付与した際に発生した電気量.

(a) ひずみ付与中、(b) ひずみ付与終了後

Ti6Al4V 合金では、弾性変形の途中からアノード電流は増加したが、SUS316L 鋼では弾性域でのアノード電流増加は認められなかった。このことから、弾性域での Ti および Ti6Al4V 合金と SUS316L 鋼の表面の力学特性は異なると考えられる。

溶出した金属イオン量を検討するために、アノード電流値を積分し、電気量を求めた。図1で示した3条件にてTiに急速ひずみを付与した際に発生した電気量をひずみ付与中とひずみ付与終了後に分け、それぞれ図2(a), (b)として示す。図2の(a)のひずみ付与中、すなわち試料変形中に発生した電気量には浸漬時間や細胞の有無による影響は認められなかった。一方、図2の(b)のひずみ付与終了後、すなわち再不働態化中に発生した電気量は、模擬体液に1日間浸漬させた試料、7日間浸漬させた試料、7日間細胞培養試料の順に大きくなった。Ti6Al4V 合金およびSUS316L 鋼においても同様の結果となった。

金属表面では次の2式の反応が生じると考えられる。



浸漬長期および、細胞培養した試料ではタンパク質や細胞が試料表面に接着し試料表面との間にすき間を形成することで、金属イオンの加水分解により生成した H⁺イオンの拡散が抑制されすき間内部の pH が低下し再不働態化を阻害したために、ひずみ付与終了後の電気量の差が生じたものと考えられる。

さらに、ひずみ付与時のアノード電流変化は試料の分極電位に影響を受けることを本研究にて明らかにした。特に Ti6Al4V 合金は高電位側でひずみが付与された際、アノード反応が促進され、再不働態化中に電流の停滞が生じた。この試料表面の FE-SEM 画像を図3に示す。図より、局部腐食とみられる跡が観察されたことから、Ti6Al4V 合金で認められた局部腐食の発生は細胞による再不働態化

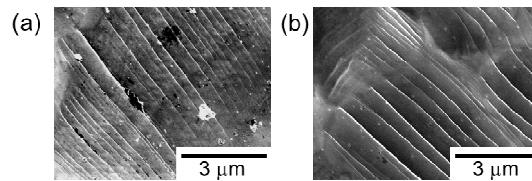


図3 7日間細胞培養した Ti6Al4V 合金の表面 SEM 像.

(a) 電流停滞
(b) 速やかに電流減衰

阻害の顕著な例であると考えられる。こうした知見から、生体内という特殊環境において金属材料表面上にタンパク質や細胞が接着することで、荷重負荷による変形が生じた際の金属表面の再不働態化が阻害され局部腐食が発生することが懸念される。

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1件)

- (1) Sayaka Miyabe, Kotaro Doi, Hiroaki Tsuchiya and Shinji Fujimoto: 「Evaluation of the effect of surface treatments on the biocompatibility of 316L stainless steel using osteoblast-like cells」『Proceedings of ECO-MATES 2011 November 28-30, 2011, Osaka, Japan』, PT 10-5, pp. 263-264, 2011

〔学会発表〕(計8件)

- (1) 土井 康太郎, 宮部 さやか, 藤本 慎司: 各種模擬生態環境における Ti の急速変形に伴う電気化学的挙動; 日本金属学会 2012 春期(第150回)大会 横浜国立大学常盤台キャンパス 2012年3月30日
- (2) S. Miyabe, K. Doi, H. Tsuchiya and S. Fujimoto: Evaluation of the effect of surface treatments on the biocompatibility of 316L stainless steel using osteoblast-like cells; The International Symposium on Materials Science and Innovation for Sustainable Society = Eco-materials and Eco-innovation for Global Sustainability = ECO-MATES 2011, PT 10-5, Hotel Hankyu Expo Park, Osaka, Japan, Nov. 28-30, 2011

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.mat.eng.osaka-u.ac.jp/msp5/MSP5-HomeJ.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮部 さやか (MIYABE SAYAKA)
大阪大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：50584132

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：