

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24360290

研究課題名(和文)世界初の金属間化合物による溶解性インプラントの創成

研究課題名(英文)Development of new biodegradable implant materials based on the intermetallic compounds

研究代表者

萩原 幸司 (HAGIHARA, KOJI)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10346182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：ステント、骨代替インプラントなどへの利用を目指し、インプラント後摘出再手術の必要性がない「生体内溶解性構造材料」の開発が強く望まれている。本研究では異種原子が規則配列した金属間化合物を用いることにより、新たな溶解性インプラントの創成、溶解挙動制御の可能性を検討した。具体的には生体為害性の小さな元素より構成されたCa-Mg-Si、Ca-Mg-Zn系に着目し検討を行った。この結果、当初の期待通り、化合物化による溶解挙動制御、溶解速度低減の可能性が示された。特にCa-Mg-Zn系化合物の溶解挙動制御因子として、Zn濃度に依存した表面酸化層の形成挙動が重要な影響を及ぼすことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Development of biodegradable metallic implants that eliminate the need of a second operation for removal has been strongly desired. As a new candidate, we focused the use of intermetallic compounds. In intermetallic compounds, different atomic species occupy designated lattice sites, and are typically held together by strong bonds. The variations in bond properties between the varying atomic species were expected to control the degradation behavior of the material. In this study we focused on the Ca-Mg-Si and Ca-Mg-Zn ternary systems. As a result, the control of the degradation behavior by forming compounds was actually accomplished as expected. Especially, in Ca-Mg-Zn compounds, the formation of Zn-containing oxide as a protective layer against corrosion on the specimen surfaces was found to strongly affect their corrosion properties.

研究分野：結晶塑性学、金属間化合物

キーワード：生体内溶解性材料 Mg合金 Ca合金 金属間化合物 溶解挙動 生体親和性 力学特性

1. 研究開始当初の背景

バイオマテリアルとしての Ti 合金や Co-Cr 合金は、優れた力学特性、耐食性、生体親和性を有していることから、骨補強材としての生体用金属材料として現在広く利用されている。これらは体内埋入後、長期間残存し機能を発揮するが、場合によっては患部治癒後には除去手術が必要なケースが多くある。そこで近年の医療技術進展の中で、置換手術を必要としない生体内溶解性インプラント材料の開発が期待されている。これまでに開発された生体内溶解性材料の多くは主に高分子材料やセラミックスを主成分としていることから、優れた力学的特性を持つ「生体内溶解性金属材料」の開発が強く望まれている。その候補として Mg 合金が特に着目されているが、その溶解挙動、溶解速度に現在も課題が残されている。

2. 研究の目的

本研究では、新たな生体内溶解性金属材料の候補として、生体必須元素である Ca, Mg, また体内に微量存在する Si, Zn に注目し、その金属間化合物の利用による新規材料創成の可能性を検討した。今回着目した Ca, Mg, Si, Zn 各元素の特徴を以下に示す。

Ca: 生体必須元素の 1 つ。骨形成に必須。更にホルモン分泌、酵素活性の変化などの各種の細胞機能の調節因子として、生体機能の維持および調節に不可欠な役割を担っている。
Mg: 生体必須元素の 1 つ。その体内存在量は体重 1kg に対し約 0.5g であり、その約 55% は骨に存在していると言われている。骨代謝や骨力学機能、筋肉収縮、神経伝達機能、生理現象などに深く関わっている。

Si: 免疫システムの構築や治癒過程の手助けをし、骨や結合組織の成長と発達に重要な役割があると言われている。

Zn: 生体必須元素の 1 つ。1 日の必要摂取量は約 15mg であり、体内にはおよそ 1.4 g~2.3g ほど存在している。その 90% は骨や筋肉中に存在し、そのほか腎臓、肝臓、心臓、大動脈、甲状腺などにも多く含まれている。

本研究では上記元素を組み合わせた金属間化合物の利用により、原子間結合力の変化等を介した溶解挙動制御の可能性について検討した。

3. 研究の方法

高周波溶解法(Ar 雰囲気)により、Ca-Mg-Si 系および Ca-Mg-Zn 系化合物合金を作製した。Ca-Mg-Si 系については Mg_2Ca , Mg_2Si , Ca_2Si ,

$CaMgSi$ の 4 化合物、さらに Ca-Mg-Zn 系については後述するように、10 種類以上の組成を選択し、合金を作製した。OM, SEM-EDS, XRD により各化合物合金の組織観察、および構成相の同定を行った。

各化合物の溶解挙動を評価するため、作製した化合物と、比較材として純 Ca, Mg, Zn に対し、ASTM-G31-72 に従い、37°C にて生体疑似溶液である Hank's 液を用いた浸漬試験を行った。試験中の溶液 pH 値と質量変化を測定し、溶解挙動の評価を行った。浸漬試験前後での試料表面の変化について OM, SEM-EDS, XRD により観察した。また一部化合物については電気化学測定を ASTM-G102-89 に従い、ポテンシヨ/ガルバノスタットを用いた三電極法にて行った。試験溶液は Hank's 液、対極は白金電極、参照極は銀/塩化銀(Ag/AgCl)電極、作用極を試料とし測定を行った。自然電極電位を基準に約+300mV から -300mV まで、走査速度 1 mV/s の条件にて分極曲線を測定した。

さらに特に Mg_2Si については、生体内埋入を想定した際の生体親和性を評価するため、ISO10993-5, 12 に従い MC3T3-E1 細胞による細胞毒性試験を、マテリアル生産科学専攻・中野研究室の協力の元実施した。 α -MEM ベースの溶液に Mg_2Si 純 Mg を 72 時間浸漬し、その 100% エキス、ならびにそれを 50%, 10% に希釈したエキスをを用いて細胞を 1, 2, 4 日間培養し、WST 法によって試験後の生細胞数を吸光度(SA)にて測定することで、細胞生存率を評価するとともに、試験後の細胞の形態をギムザ染色を用いて OM にて観察した。

4. 研究成果

4.1 Ca-Mg-Si 系化合物

実験方法の項で述べたように、(Mg, Ca) 基化合物としては、 Mg_2Ca , Ca_2Si , Mg_2Si , $CaMgSi$ の四種に着目した。溶解法による合金作製の結果、 Mg_2Ca , Mg_2Si については若干の第二相を含むもののほぼ期待通りの単相組織が得られたが、 Ca_2Si , $CaMgSi$ においては Ca の溶解の困難さから、それぞれ Ca_5Si_3 , $CaSi$ を多量に含む二相組織であることが SEM-EDS, XRD 等において確認された。

これら各化合物合金の溶解挙動について、Hanks 溶液への浸漬試験により評価した。この結果、数分間で溶解が完了するような Ca 単体で見られる溶液との爆発的な反応性は、期待通り化合物化により低減することが確認された。ただし現状では Ca を含む合金は化合物化によっても 6 時間以上溶液中でバ

ルク形態を保つことは困難であり，何れの試料も粉砕に至った．骨置換材として適応を目指すためには現状の特性では不十分であり，合金組成制御による更なる安定性の向上が必要不可欠である．一方，Mg と Si の化合物である Mg_2Si においては，浸漬後の溶液 pH 変化も小さく，溶解性の低減が示唆された．このことを定量的に評価すべく，浸漬時の反応に伴う水素発生量を市販の純 Mg インゴット(純度 99.98 mass%)と比較した結果を図 1 に示す． Mg_2Si は浸漬後に水素発生を伴うことから，わずかな溶解性が確認できる．この際の水素発生量は市販 Mg 材における値の約 1/80 程度であり，すなわち溶解速度が劇的に低減したことを示唆している．過去の報告によると， Mg_2Si は水と反応し表面に SiO_2 を形成することが指摘されており，この SiO_2 被膜が溶解性低減に寄与していると考えている．

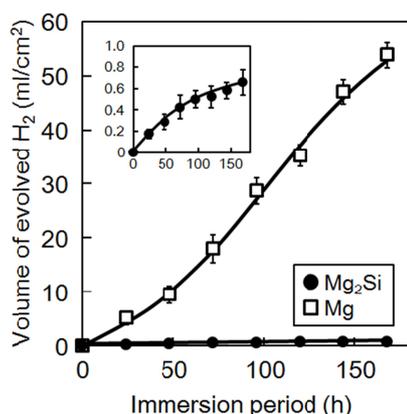


図 1 Mg_2Si , Mg の Hanks 液浸漬における，水素発生挙動の違い．

このような Mg より低速の溶解挙動を示した Mg_2Si について，その生体為害性を評価するため，ISO 10993-5, 12 に基づき，バルク体を 3 日間浸漬した溶液（エキス）を用い，MC3T3-E1 細胞の培養試験を行った．この際浸漬エキスを 50%，10%に希釈した溶液を用い同様に培養試験を行うことで，溶出イオン量と細胞量変化の相関について評価した．図 2 にコントロール（試料浸漬のない溶液で培養）と比較した 1,2,4 日間培養に伴う細胞数変化について示す．図中には比較として市販 Mg を浸漬したエキス中での挙動についても併せ示している．100%エキス中では高い溶出イオン量のため，Mg, Mg_2Si 両エキス中にて細胞数が大きく低減した．しかし，50%エキスに着目すると，Mg エキス中では依然細胞数が大きく低下しているのに対し， Mg_2Si エ

キス中では 60%を超える高い値を示すことが確認された．このような差異が現れる要因は Mg_2Si が示す低溶解速度により，培養液中の Mg イオン濃度が Mg エキス中と比較して大きく低下するためであることが明らかとなり， Mg_2Si の生分解性インプラント材料としての可能性が示された．ただし大きな問題点として， Mg_2Si は室温圧縮試験においてほとんど塑性変形することなく破断するという極めて脆性的な特性を示すことが見出された．実用化を検討するためには，力学特性の向上策を検討することが必須である．

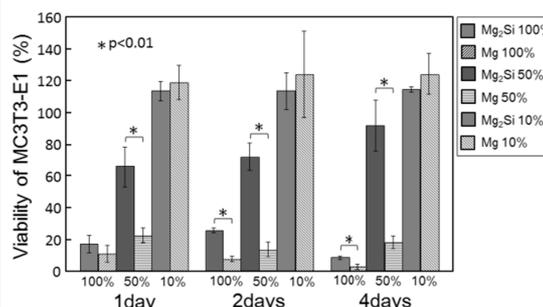


図 2 試料浸漬エキス中での MC3T3-E1 細胞培養試験における細胞数変化．100%,50%,10%はそれぞれ培養液中での浸漬エキス濃度を示す

4.2 Ca-Mg-Zn 系化合物

上述のように Mg_2Si 化合物において特に明らかとなったような化合物化による溶解挙動制御について，より広範な制御を目的として本研究ではさらに Ca-Mg-Zn 系に着目し検討を進めた．得られた興味深い結果の一例として，図 3 に IM1 と呼ばれる $Ca_3Mg_{(15-x)}Zn_x$ 化合物の XRD プロファイルを示す．IM1 相は Ca 濃度が 16.6at.%と一定値を示すものの，Mg/Zn に対し非常に広い固溶域を有する興味深い相である．本研究ではこの IM1 化合物合金として $Ca_3Mg_{12}Zn_3$, $Ca_3Mg_{10}Zn_5$, $Ca_3Mg_9Zn_6$, $Ca_3Mg_8Zn_7$, $Ca_3Mg_7Zn_8$, $Ca_3Mg_6Zn_9$, $Ca_3Mg_{4.6}Zn_{10.4}$ の 7 合金を作製した．この結果，各合金は若干の第二相を含有するものの，期待通り IM1 化合物が主構成相として存在することを確認した．また SEM-EDS による分析から，母相である IM1 相は実際に配合組成に近い Zn/Mg 比を有する異なる組成を示すことが確認された．

これら組成の異なる IM1 相を含め，種々の化合物合金について浸漬試験により溶解挙動を評価したところ，その挙動は，化合物組成によって大きく変化することが明らかと

なった。この傾向を示す図として、浸漬試験中における溶解挙動（試料が粉砕に至った時間）を色分けして示したものを図4に示す。

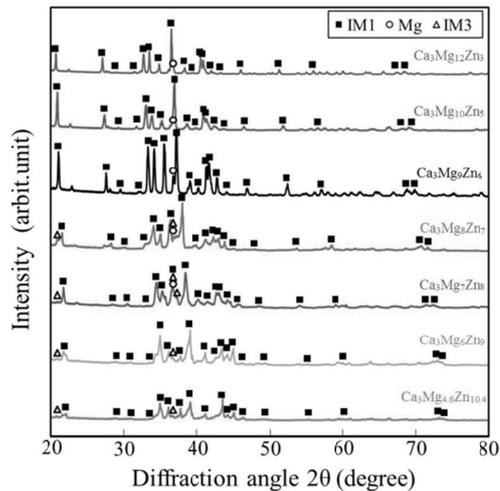


図3 各 IM1 化合物合金の XRD プロファイル。

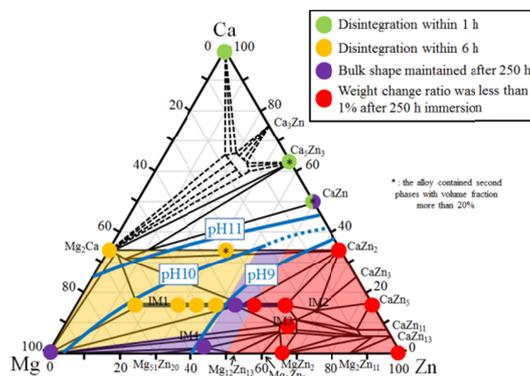


図4 Ca-Mg-Zn 系化合物の溶解挙動マップ。

本実験を通じ、予測通り溶解挙動は合金組成に強く依存して大きく変化することが明らかとなった。Ca 組成 33.3at%以上の領域では、化合物化した際にも溶液との反応によって3時間以内に溶解に至った。一方で Ca 組成 33.3at%以下の領域では溶液との反応性は低減した。この領域において各化合物相の溶解挙動は化合物中の Zn 濃度に強く依存して変化した。Zn 組成 50.0at%以下の領域では、試料は溶液との反応によって6時間以内に粉砕、または崩壊に至った。しかし一方で Zn 組成 50.0at%以上の領域では、試料浸漬時の水素発生はほとんど観察されず、浸漬250時間後も試料の形態変化はほとんど見られなかった。

このような溶解挙動のより定量的な評価として、各合金に対し電気化学測定を行い、得られた分極曲線から腐食電位(E_{corr})、腐食電流密度(I_{corr})を求めることで、腐食速度 CR

(mm/year)を算出した。このうち特に IM1 化合物合金における解析結果を図5に示す。 E_{corr} は Zn 濃度が高くなるにつれ低くなるのが見て取れ、化合物の安定性が Zn 濃度に強く依存していることが明瞭に示唆された。これは浸漬試験における溶解挙動や溶液 pH 値、水素発生量の傾向と概ね良い一致を示した。

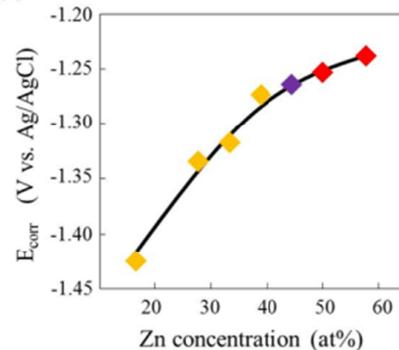


図5 IM1 化合物合金における組成と腐食電位の関係。

実際に生理食塩水に浸漬した各 IM1 試料断面を SEM-EDS にて観察したところ、Zn 濃度の低い $Ca_3Mg_{12}Zn_3$ 合金では、試料表面が浸漬後に素早く溶解し、試料内部まで反応による酸化物の形成が確認された。これに対し Zn 濃度の高い $Ca_3Mg_{4.6}Zn_{10.4}$ 合金では、溶液との反応によって試料表面にのみ Zn 濃度の高い酸化物層の形成が見られた。この酸化物層よりも内部においては、長期浸漬にもかかわらず溶液とほぼ反応しておらず、SEM-EDS による点分析の結果からも内部には反応による酸化物の形成はほとんど検出されなかった。すなわち試料表面に形成する Zn 酸化物層の制御が、Ca-Mg-Zn 系での溶解挙動を制御する上での重要な因子となることが明らかとなった。

以上のように、当初の期待通り、本研究により化合物化による(Mg, Ca)合金の溶解性制御、溶解速度低減の可能性が示された。しかしその程度は特に Ca 化合物においては依然十分ではなく、更なる検討が必要不可欠である。また更なる溶解挙動制御、さらにはインプラントとして重要な力学特性向上を図るうえでも、本研究により明らかとなった合金組成制御に加え、材料学的な組織制御、結晶方位制御の考慮も極めて重要と考えられる。今後引き続き、これら方策を組み合わせた新材料創成、開発を推進していきたいと考えている。

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3件)

1. K. Hagihara, K. Fujii, A. Matsugaki and T. Nakano, Possibility of Mg- and Ca-based intermetallic compounds as new biodegradable implant materials, Materials science and engineering C, 査読有, 33, 2013, 4101-4111, DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.05.05>
2. K. Hagihara, S. Shakudo, K. Fujii and T. Nakano, Degradation behavior of Ca-Mg-Zn intermetallic compounds for use as biodegradable implant materials, Materials science and engineering C, 査読有, 44, 2014, 285-292, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.037>.
3. 萩原幸司, 高機能構造材料開発への取り組み, 日本金属学会誌までりあ, 53, 2014, 348-354, DOI: 10.2320/materia.53.348.

〔学会発表〕(計10件)

1. 藤井健太, 萩原幸司, 松垣あいら, 中野貴由, (Ca, Mg, Zn)基生体内溶解性金属間化合物の開発, 日本金属学会 2012 秋期講演大会, 20120919, 愛媛大学
2. 藤井健太, 萩原幸司, 松垣あいら, 中野貴由, 生体内溶解性構造材料としての(Ca, Mg, Zn)基金属間化合物の可能性, 日本バイオマテリアル学会大会シンポジウム 2012, 20121127, 仙台国際センター
3. 藤井健太, 萩原幸司, 松垣あいら, 中野貴由, 溶解性インプラント材料としての(Ca, Mg)基金属間化合物, 2012 年度軽金属学会関西支部 若手研究者・院生による発表研究会, 20121225, 大阪工業大学
4. 赤土周平, 萩原幸司, 中野貴由, (Ca, Mg, Zn)系金属間化合物の溶解挙動, 日本金属学会 2013 秋期講演大会, 20130919, 金沢大学
5. 萩原幸司, 長周期構造層の結晶構造と塑性変形挙動, 日本金属学会 2013 秋期講演大会(基調講演), 20130919, 金沢大学
6. 赤土周平, 萩原幸司, 中野貴由, Ca-Mg-Zn系金属間化合物生体内溶解材料の創成, 2013 年度軽金属学会関西支部 若手研究者・院生による発表研究会, 20121218, 兵庫県立大学
7. 赤土周平, 萩原幸司, 中野貴由, Ca-Mg-Zn系新規生体内単相・複相合金の創成, 日本金属学会 2014 春期講演大会, 20140321, 東京工業大学
8. 赤土周平, 大久保政欣, 萩原幸司, 中野貴

由, Ca-Mg-Zn 基化合物複相合金の溶解挙動, 日本金属学会 2014 秋期講演大会, 20140924, 名古屋大学

9. 大久保政欣, 萩原幸司, 中野貴由, Mg 単結晶の溶解挙動の方位依存性, 2014 年度軽金属学会関西支部 若手研究者・院生による発表研究会, 20121226, 関西大学

10. 大久保政欣, 萩原幸司, 中野貴由, 生体疑似溶液中での Mg 単結晶溶解挙動の結晶方位依存性, 日本金属学会 2015 春期講演大会, 20150317, 東京大学

〔図書〕(計3件)

1. 萩原幸司 (分担執筆), 未来型人工関節を目指して -その歴史から将来展望まで-, 日本医学館, 2013, 413 (著者執筆 176-180)
2. 萩原幸司 (分担執筆), バイオマテリアル研究の最前線, 4-2-1 節: 新たな(Mg, Ca)基生分解性金属材料の開発, 日本金属学会, 2014, 248 (著者執筆 111-112)
3. 萩原幸司 (分担執筆), バイオマテリアル研究の最前線, 2-3-3 節: 薬事認可されたβ型 Ti-15Mo-5Zr-3Al 合金単結晶の塑性挙動の解明, 日本金属学会, 2014, 248 (著者執筆 35-36)

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

〔その他〕

申請者ホームページ

<http://www.hfs.ams.eng.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

萩原幸司 (HAGIHARA KOJI)

大阪大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号: 10346182

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

中野貴由 (NAKANO TAKAYOSHI)

大阪大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号: 30243182