

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：82108

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25420742

研究課題名(和文) 生体吸収性Mg合金のための耐局部腐食性アパタイト-生分解性高分子複合被膜の開発

研究課題名(英文) Development of anti-local corrosion apatite-biodegradable polymer composite coatings for bioabsorbable Mg alloys

研究代表者

廣本 祥子 (Hiromoto, Sachiko)

国立研究開発法人物質・材料研究機構・生体機能材料ユニット・MANA研究者

研究者番号：00343880

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに、生分解性マグネシウム合金の腐食速度制御のために水酸アパタイト(HAp)およびリン酸八カルシウム(OCP)被膜を開発した。本研究では、高分子とリン酸カルシウム(Ca-P)被膜との複合化による基材Mg合金の局部腐食の抑制を目的とした。当初用いたポリ乳酸(PLLA)およびポリカプロラクトン(PCL)は疎水性のため、親水性のCa-P被膜との良好な接着が得られず、高分子層の下側で腐食が進行した。親水性高分子(HPPolym)との複合化では、Ca-P被膜のみの場合よりも若干耐食性が低下した。しかし、HPPolymのみをMg合金に被覆すると細胞培養液中での耐食性が向上するという発見があった。

研究成果の概要(英文)：We previously developed hydroxyapatite (HAp) and octacalcium phosphate (OCP) coatings to control the corrosion of bioabsorbable/biodegradable magnesium (Mg) alloys. In this study, polymer and calcium phosphate (Ca-P) composite coatings were formed to prevent local corrosion of Ca-P-coated Mg alloy. First, poly-L-lactic acid (PLLA) and polycaprolactone (PCL) were used, but these hydrophobic polymers did not show enough adhesiveness to Ca-P coating, leading to the corrosion under the polymer layer. Hydrophilic polymer (HPPolym) and Ca-P composite coating showed slightly lower corrosion protectiveness than Ca-P coating. An interesting finding of this study was that HPPolym coating improved corrosion resistance of Mg alloy in cell culture medium.

研究分野：腐食防食科学

キーワード：マグネシウム リン酸カルシウム 生分解性高分子 複合化被膜 親疎水性 腐食 疑似体液

## 1. 研究開始当初の背景

役目を終えたら溶解し、生体に吸収されて消失する生体吸収性デバイス用のマグネシウム (Mg) 合金の研究・開発が、2000 年ごろより主にドイツや中国の企業や研究機関で盛んである。ドイツのベンチャー企業により、表面に薬物徐放性を付与した Mg 合金製ステントの治験が行われている。Mg 合金の生体材料応用の始まりは 1940 年代にさかのぼるが、ステンレス鋼の開発と生体材料応用に伴い Mg 合金の応用は下火になった。日本での Mg 合金の生体材料応用は、1990 年代後半に整形外科用デバイスへの応用の検討が始まり、現在はステントもしくは骨折固定材への応用を目指した研究が行われている。しかし、研究グループの数は非常に少ない。

Mg 合金は比強度が高く、ヤング率が骨に近く、Mg が生体必須元素であるため、骨折固定材として期待されている。一方、既存の Mg 合金の動物埋入試験では、これらの Mg 合金の腐食劣化が早すぎることで報告されている。生体内での腐食劣化速度を患部の治癒に合わせて制御するために、様々な表面処理が検討されている。本研究グループでは、骨の主成分である水酸アパタイト (HAp) およびその関連化合物のリン酸ハカルシウム (OCP) 被膜を開発し、これらの被膜により Mg 合金の疑似体液中での腐食速度が抑制されることを明らかにした (Hiroto et al., *Electrochim. Acta*, 54, 7085 (2009). Tomozawa et al., *Acta Mater.*, 59, 355 (2011).)。一方、疑似体液に浸漬した HAp 被覆 Mg 合金は 1 週間という短期間で局部腐食を呈し、Mg 合金の疲労強度が埋入早期に低下する可能性が示唆された。HAp および OCP 被覆 Mg 合金の局部腐食は、被膜の欠陥から生じると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では、生分解性高分子と HAp 被膜との複合化により、局部腐食を抑制した被膜の開発を目的とした。

骨折固定材は骨の形状に合わせて変形させて使用する。HAp や OCP などのリン酸カルシウム被膜のヤング率は Mg 合金よりも高いため、被膜は基材 Mg 合金の変形に追従できずにき裂や剥離を生じる可能性がある。そこで、複合化する材料には、Mg 合金よりもヤング率の低い高分子が適していると考え、生体吸収性骨折固定材として使用されているポリ L-乳酸 (PLLA) およびポリカプロラクトン (PCL) を用いた。

## 3. 研究の方法

生分解性高分子として、研究開始時には PLLA および PCL を用いた。研究の進行に伴い PLLA を使用する場合の課題が明らかになってきたため、よりリン酸カルシウムとの親和性が高い親水性高分子 (HPpolym) を用いた。

## 1) PLLA および PCL と HAp 被膜との複合化

基材には、Mg-3mass% Al-1mass% Zn (AZ31) 合金を用いた。本研究グループの開発した化学溶液析出法で AZ31 ディスクを HAp および OCP 被覆した後、ディップコーティングにより PLLA もしくは PCL を被覆した。作製した表面の電子顕微鏡 (SEM) 観察、および疑似体液 (Hanks 液) 中への浸漬試験を行った。

## 2) 親水性高分子との複合化

HAp 被覆した AZ31 ディスクおよび研磨まま AZ31 ディスクを、親水性かつ生分解性の HPpolym 水溶液に 40°C、1 h 浸漬し、表面に高分子を修飾した。

## 4. 研究成果

### 1) PLLA および PCL とリン酸カルシウム被膜との複合化

PLLA もしくは PCL を複合化した HAp もしくは OCP 被覆 AZ31 (PLLA-HAp-AZ31、PCL-HAp-AZ31、PLLA-OCP-AZ31、PCL-OCP-AZ31) を Hanks 液に 4d 浸漬した。ここで、HAp および OCP 被膜はそれぞれ pH 8.9 および 5.9 の処理溶液中で作製した。浸漬前後の外観を図 1 および図 2 にそれぞれ示す。

高分子と複合化した HAp-AZ31 および OCP-AZ31 表面には、PLLA 層のディスクの縁での剥離や、PCL 層のき裂がみられた。Hanks 液中では、PLLA および PCL 層の欠陥から基材 Mg 合金の腐食が発生し、高分子層の下側で腐食が進展していた。HAp および OCP は親水性であるのに対し、PLLA および PCL は疎水性の高分子であるために、高分子-HAp 間の接着性が不良であることがわかった。

高分子層の下側での腐食は、HAp よりも OCP 表面での腐食の進展度合いが小さかった。PLLA および PCL とリン酸カルシウムの接着性はリン酸カルシウムの種類により異なることが示唆された。

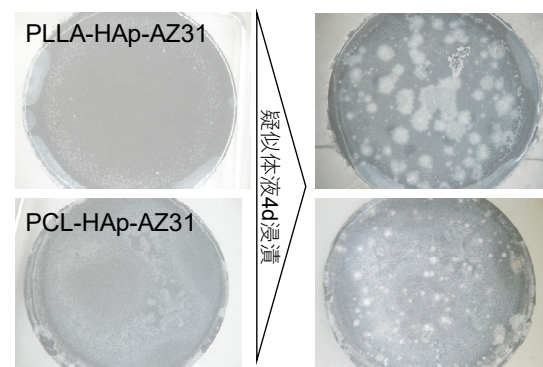


図 1 Hanks 液浸漬前後の PLLA-および PCL-HAp-AZ31

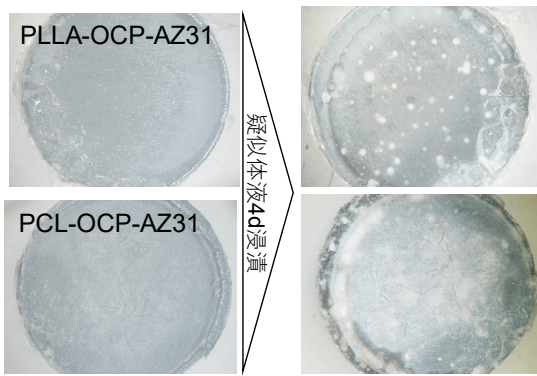


図 2 Hanks 液浸漬前後の PLLA および PCL-OCP-AZ31

処理溶液の pH を変えて作製したリン酸カルシウム (Ca-P) 被覆 AZ31 に PLLA もしくは PCL を複合化し、Hanks 液 4d 浸漬後の腐食孔の数を数えた (図 3)。pH 8.9 および 7.4 では HAp が、pH 6.1 と 5.9 では OCP が形成された。HAp および OCP-AZ31 のいずれでも、PLLA よりも PCL との複合化の方が腐食発生箇所を少なく抑えられることがわかった。また、PLLA との複合化では、HAp よりも OCP との方が腐食発生箇所を少なく抑えられる傾向がみられた。

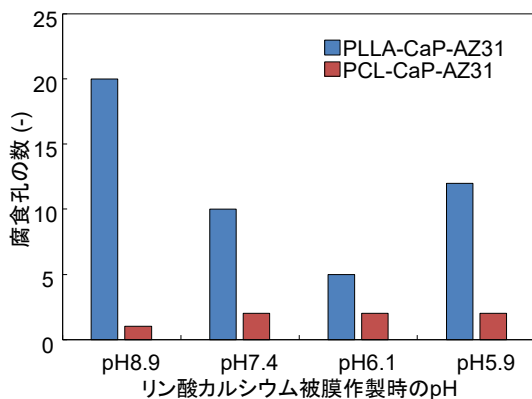


図 3 様々なリン酸カルシウム (CaP) 被覆 AZ31 に PLLA もしくは PCL を複合化させた場合の Hanks 液中で発生した腐食孔の数

## 2) 親水性高分子との複合化

PLLA および PCL は疎水性でありリン酸カルシウム被膜は親水性であるために両者の接着性が不良であったことから、親水性の HPpolym を HAp 被膜に複合化し、細胞培養液中への浸漬試験を行った。このとき、HPpolym の分子量を 600~500,000 とした。細胞培養液中の Mg 濃度変化を図 4 に示す。

研磨ままと比べて、HAp 被覆により Mg イオン溶出は大きく抑制された。しかし、HPpolym との複合化では、分子量に関わらず Mg イオン溶出が若干増加した。HPpolym との複合化処理中に HAp 被膜下で基材 AZ31 が腐食し、複合被膜の保護性を低下させた可能性がある。

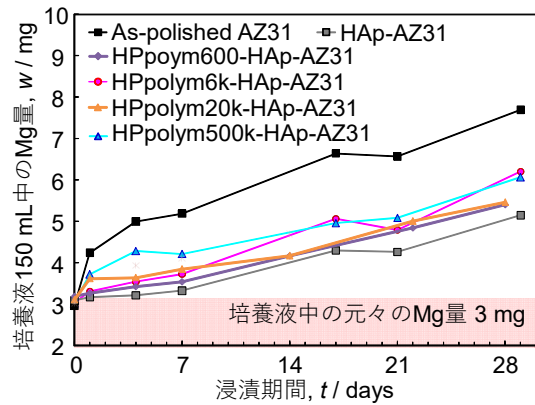


図 4 様々な分子量の HPpolym を複合化させた HAp-AZ31 を浸漬した細胞培養液中の Mg 量変化

HPpolym のみ被覆した場合の細胞培養液中への浸漬試験を行った。細胞培養液中の Mg 濃度変化を図 5 に示す。HPpolym のみ被覆で、Mg イオンの溶出が抑制された。分子量が小さい方が、Mg イオン溶出抑制効果が高い傾向だった。本結果は、従来 Mg 合金の耐食被膜には疎水性高分子が適しているとの認識を大きく変える結果である。

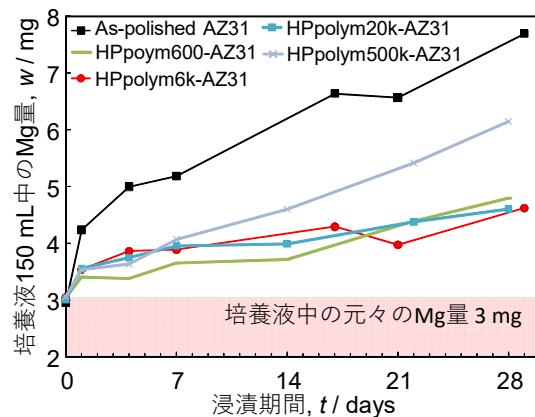


図 5 様々な分子量の HPpolym のみを被覆した AZ31 を浸漬した細胞培養液中の Mg 量変化

## 3) U 字曲げ試験片の浸漬試験

HPpolym と HAp 複合被膜を、100x25x0.3 mm の AZ31 薄板表面に作製し、薄板を曲げ角度約 80° の U 字に折り曲げた状態で Hanks 液に 4w 浸漬した。薄板は板面中央付近を残してシリコン被覆した。Hanks 中への Mg イオン溶出量は、HPpolym の有無でほとんど変化しなかった。一方、図 6 に示すように、HAp-AZ31 では歪みが最も大きいと考えられる U 字外側の頂点付近での孔食発生がみられたのに対し、HPpolym-HAp-AZ31 では U 字の頂点付近よりもシリコン被覆との境界での孔食発生が多かった。これより、HPpolym の HAp 被膜への複合化は、被膜に欠陥が生じた場合の

局部腐食の発生挙動に影響を及ぼす可能性が示唆された。今後の検討が必要である。

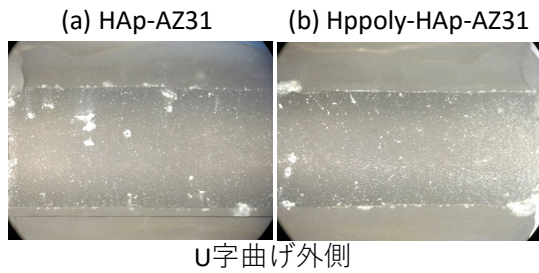


図 6 U 字に曲げた HAp-AZ31 および HPpolym-HAp-AZ31 薄板を Hanks 液に 4w 浸漬した後の U 字外側頂点付近の外観

#### 4) 傷を付けた HAp 被覆 Mg 合金の腐食挙動

HAp 被膜のみの場合における被膜の欠陥が腐食挙動に及ぼす影響を検討した。HAp-AZ31 ディスクの片面に、カッターで×印の傷を付け、細胞培養液中への浸漬試験を行った。図 7 に培養液中への Mg イオン溶出量の経時変化、14 週浸漬後の試料外観写真および傷部分の SEM 像を示す。

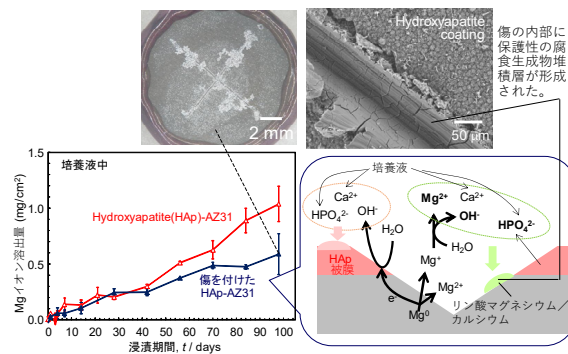


図 7 傷有り／無し HAp-AZ31 から細胞培養液中への Mg イオン溶出量。

浸漬直後 24 h 以内の Mg イオン溶出は、傷がある方が無い方よりも大きかった。しかし浸漬 6 週まで、傷の有無による Mg イオン溶出量にほとんど差はみられなかった。浸漬 6 週以降では、傷を付けた HAp-AZ31 の方が傷のない HAp-AZ31 よりも低い Mg イオン溶出量を示した。14 週浸漬後の表面では、糸状腐食が傷の部分から発生しており、糸状腐食および傷の内部にはリン酸カルシウム／マグネシウムの堆積がみられた。傷内部への腐食生成物の堆積は浸漬直後から始まり、24 h 以内にもとの HAp 被膜と同等の保護性を示す層に成長したと考えられる。

生理食塩水 (0.9%NaCl) 中でも同様の浸漬試験を行ったところ (図 8)、傷の有無による Mg イオン溶出量に差はみられず、傷の内部にリン酸を含む腐食生成物の堆積がみられた。

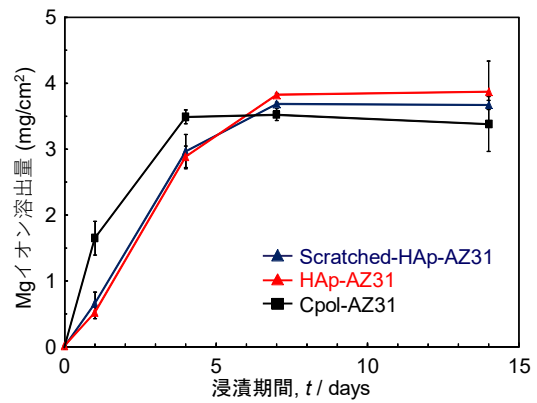


図 8 傷有り／無し HAp-AZ31 から 0.9% NaCl 中への Mg イオン溶出量. Cpol-AZ31 : 化学研磨した AZ31.

これらの結果より、HAp-AZ31 では、傷の内部にリン酸を含む腐食生成物が堆積することで急激な腐食が抑制されること、また傷の内部の腐食生成物層の熟成が進むと HAp 被膜と同等以上の耐食性を示すことがわかった。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- 1) 廣本祥子、生体吸収性 Mg 合金のリン酸カルシウム被覆、色材協会誌、査読無、Vol. 86、2013、pp.295-300.
- 2) S. Hiromoto, M. Tomozawa, N. Maruyama, Fatigue property of a bioabsorbable magnesium alloy with a hydroxyapatite coating formed by a chemical solution deposition, J. Mech. Behav. Biomed. Mater., 査読有, vol. 25, 2013, pp.1-10. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2013.04.021
- 3) S. Hiromoto, Corrosion Behavior of Magnesium Alloys for biomedical Use, Corrosion Engineering, 査読有, vol. 63, 2014, pp.294-302.
- 4) 廣本祥子、生体用マグネシウム合金の腐食評価とリン酸カルシウム被覆による腐食抑制、軽金属、査読無、Vol. 64、2014、pp.203-210.
- 5) 廣本祥子、生体用マグネシウム合金の腐食挙動、材料と環境、査読有、Vol. 63、2014、pp.371-377.
- 6) S. Hiromoto, Self-healing property of hydroxyapatite and octacalcium phosphate coatings on pure magnesium and magnesium alloy, Corrosion Science, 査読有, vol. 100, 2015, pp.284-294. DOI: 10.1016/j.corsci.2015.08.001

[学会発表] (計 9 件)

- 1) 廣本祥子、生体用 Mg 合金のリン酸カルシウム被覆と腐食挙動、表面技術協会・腐食防食学会東北支部講演会、招待講演、2016 年 3 月 17 日、仙台。

- 2) S. Hiromoto, Corrosion behaviour of scratched calcium phosphate-coated AZ31 alloys in medium, Mg2015, 招待講演, 2015年10月11日～10月16日, Jeju, Korea.
- 3) S. Hiromoto, M. Inoue, T. Taguchi, N. Ohtsu, In vitro and in vivo degradation behaviour of calcium phosphate-coated bioabsorbable magnesium alloy, E-MRS 2015 Fall Meeting, 招待講演, 2015年9月15日～9月18日, Warsaw, Poland.
- 4) 廣本祥子, 傷を付けたリン酸カルシウム被覆 AZ31 マグネシウム合金の腐食挙動、日本金属学会 2915 年春期講演大会、2015 年 3 月 18 日～3 月 20 日、東京.
- 5) 廣本祥子, 生体用金属材料と表面処理、表面技術協会秋季セミナー、招待講演、2014 年 10 月 8 日、東京.
- 6) 廣本祥子, 花田幸太郎、松崎邦男、山崎智彦、生体用 Mg-Ca 合金の水酸アパタイトおよびリン酸八カルシウム被覆、日本金属学会秋期 (第 155 回) 講演大会、2014 年 9 月 24 日～9 月 26 日、名古屋.
- 7) 廣本祥子, リン酸カルシウム被覆生体吸収性マグ合金の in vitro および in vivo での腐食挙動、第 52 回高性能 Mg 合金創成加工研究会講演会、招待講演、2014 年 3 月 14 日、熊本.
- 8) S. Hiromoto, M. Inoue, M. Yamane, N. Ohtsu, T. Taguchi, N. Maruyama, Corrosion and fatigue behaviors of a bioabsorbable magnesium alloy with hydroxyapatite and octacalcium phosphate coatings formed by a chemical solution deposition, THERMEC 2013, 招待講演, 2013年12月2日～12月6日, Las Vegas.
- 9) S. Hiromoto, M. Inoue, M. Yamane, N. Ohtsu, T. Taguchi, Corrosion behaviour of a hydroxyapatite-coated bioabsorbable magnesium alloy in vitro and in vivo, STAC-7, 招待講演, 2013年6月19日～6月21日, Yokohama.

[図書] (計1件)

- 1) S. Hiromoto, Woodhead Publishing, Surface modification of magnesium and its alloys for biomedical applications, 2015, 22.

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

名称：医療用生体吸収性部材及びその製造方法

発明者：廣本祥子

権利者：物質・材料研究機構

種類：特許

番号：特願 2014-151229

出願年月日：2014年7月24日

国内外の別：国内

名称：医療用生体吸収性部材及びその製造方法

発明者：廣本祥子

権利者：物質・材料研究機構

種類：特許

番号：PCT/JP2015/70888

出願年月日：2015年7月22日

国内外の別：外国

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

NIMS Researchers Database,  
[http://samurai.nims.go.jp/HIROMOTO\\_Sachiko-j.html](http://samurai.nims.go.jp/HIROMOTO_Sachiko-j.html)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

廣本祥子 (HIROMOTO, Sachiko)

国立研究開発法人物質・材料研究機構・生体機能材料ユニット・MANA研究者

研究者番号：00343880