

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05130

研究課題名（和文）骨含有元素とチタンの合金化・複合化による骨形成能に優れた表面の創製

研究課題名（英文）Fabrication of surfaces with high bone formation ability by alloying and compositing titanium with bone-containing elements

研究代表者

稗田 純子（Hieda, Junko）

名古屋大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40566717

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、従来のTiおよびTi合金よりも骨形成能に優れた新規医療用Ti材料の開発を目指し、骨含有元素であるCaやMgとTiを合金化したTi-MgおよびTi-Ca合金膜の作製を試みた。作製条件の検討により合金膜の組成制御に成功し、CaおよびMg濃度と作製した合金膜の結晶構造、表面特性と生体適合性との関係を明らかにした。CaあるいはMgの添加により、擬似体液中でのハイドロキシアパタイトの形成がTiと比べて早くなることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の溶解法では合金化できなかった元素が添加可能となったことにより、医療用金属材料の開発における添加元素の選択肢および可能性を広げることができる。さらに、本研究結果により、Ti合金製部材を体内に埋入してから骨との接着にかかる期間の改善が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we attempted to prepare Ti-Mg and Ti-Ca alloy films by alloying Ti with bone-containing elements such as Ca and Mg, to develop new medical Ti materials with better bone formation ability than conventional Ti and Ti alloys. We succeeded in controlling the composition of the alloy films and clarified the relationship between the Ca and Mg concentrations and the crystal structure, surface properties, and biocompatibility of the fabricated alloy films; the addition of Ca or Mg resulted in faster formation of hydroxyapatite in simulated body fluids compared to Ti.

研究分野：医療用金属材料

キーワード：チタン合金 骨含有元素 非平衡合金 骨形成能

1. 研究開始当初の背景

事故、疾病あるいは加齢により骨や歯を損傷・喪失した場合、骨折固定具、人工関節や歯科インプラント等、体内埋入型の医療部材による治療を行う。これらの体内埋入型の医療部材には主に、骨との親和性という他の金属材料にない特性を持つ Ti およびその合金が用いられる。骨と接着する医療部材では、患者の負担軽減の観点から、その表面において体内に埋入してから骨形成までにかかる期間、部材と生体骨との接着強度が極めて重要である。そのため、骨形成能の高い Ti 合金の開発や骨形成能を向上させる表面処理法の開発が行われてきた。Ca や Mg は生体必須元素であり、骨に含有されている無機成分である。骨などの体内に存在する元素を含んだ材料表面では、表面酸化物の存在やそれらの元素の溶出により、骨形成が促進されることがわかっている。Ti と Ca、Mg を合金化することで、より骨形成能に優れた新規 Ti 合金を開発できる可能性がある。これまでに Ti および骨含有元素との合金についての報告は少なく、詳細な結晶構造や生体適合性はわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、従来の Ti および Ti 合金よりも骨形成能に優れた新規医療用 Ti 材料の開発を目指し、骨含有元素である Ca や Mg と Ti を合金化した Ti-Mg および Ti-Ca 合金膜を作製し、その結晶構造、表面特性と生体適合性との相関関係を調べることで、骨形成を促進させるために最適な組成、表面構造を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 医療用 Ti-Mg 合金膜の作製と特性評価

高周波(RF)マグネトロンスパッタ法を用いて、Si 基板上に Ti-Mg 合金膜を作製した。Ti プレート上に Mg リボンを設置し、ターゲットとした。Mg リボンの面積を変化させることで、合金膜中の Mg の濃度の制御を試みた。

作製した合金膜の組成をエネルギー分散型 X 線分光法(EDS)、結晶構造を X 線回折法(XRD)、透過型電子顕微鏡(TEM)により調査した。表面の化学結合状態を X 線光電子分光法(XPS)により調査・検討した。生体埋入後の材料表面での骨形成では、材料表面における細胞接着性タンパク質の吸着、その上への骨芽細胞の接着・増殖が重要になる。そこで、生体外(*in vitro*)における生体適合性評価としてタンパク質の吸着量の調査、擬似体液(SBF)への浸漬試験を行い、合金膜表面における骨形成能を評価した。タンパク質の吸着量の調査では、0.2 mg/mL ウシ血清アルブミン溶液を用いた。ビシニコニン酸法により各試料表面へのタンパク質の吸着量を測定した。SBF 浸漬試験には 1.5 倍の濃度の c-SBF を使い、作製した膜を 37℃で 3, 7, 21 日間浸漬した。合金膜表面の析出物の同定を EDS および XRD により行った。

(2) 医療用 Ti-Ca 合金膜の作製と特性評価

RF マグネトロンスパッタ法を用いて、Si 基板上に Ti-Ca 合金膜を作製した。異なるターゲット構成で成膜することで、作製した合金膜中の Ca 濃度の制御を試みた。

作製した合金膜の各種特性評価は、(1)と同様に行った。作製した合金膜の生体適合性評価として、水滴接触角測定、生理食塩水への Ti および Ca の溶出量の調査、タンパク質の吸着量の調査、SBF への浸漬試験、さらに細胞毒性評価を行った。細胞毒性を評価するために、MC3T3-E1 細胞を用いて、細胞の接着挙動と細胞生存率の調査を行った。作製した合金膜上で 1 日間細胞培養を実施し、細胞骨格を観察した。細胞生存率の調査のために、96 ウェルプレート上に合金膜を作製し、細胞培養を 5 日間実施した。その後、96 ウェルプレートを control とし、その細胞数を 100%として、Ti-Ca 合金膜での細胞生存率を評価した。

4. 研究成果

(1) 作製した Ti-Mg 合金膜の結晶構造と生体適合性

ターゲットの Mg リボンの面積を変えることにより、Mg 濃度が 14.3, 27.6, 53.7 mass%の合金膜を作製することができた。図 1 に作製した合金膜の XRD パターンを示す。Mg 濃度の増加とともに、Ti(002)のピークが Mg(002)側にシフトし、作製した合金膜が Ti-Mg 合金となっていることが確認できた。タンパク質吸着量は Ti-27.6mass%Mg が最も多く、純 Ti よりも多かった。

図 2 に、SBF への浸漬試験において、21 日間浸漬した Ti-27.6mass%Mg 表面の SEM 像と析出物の元素スペクトルおよび元素マッピングを示す。析出物は主に Ca, P, O から構成され、[Ca]/[P] 比が 1.68 であり、XRD パターンからもハイドロキシアパタイトであることがわかった。Ti-53.7mass%Mg では、SBF 浸漬 3 日後に合金膜が剥離した。

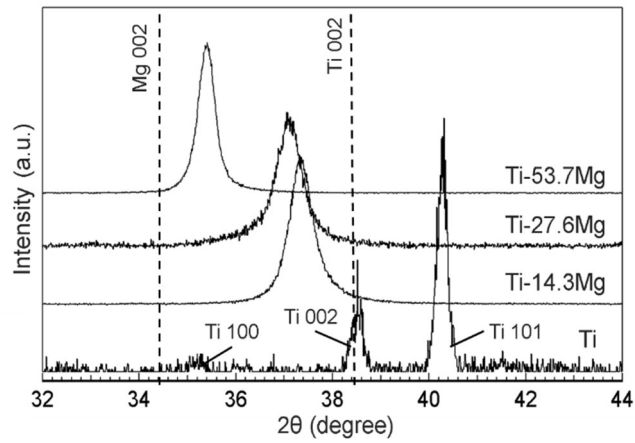


図1 作製した Ti-Mg 合金膜の XRD パターン

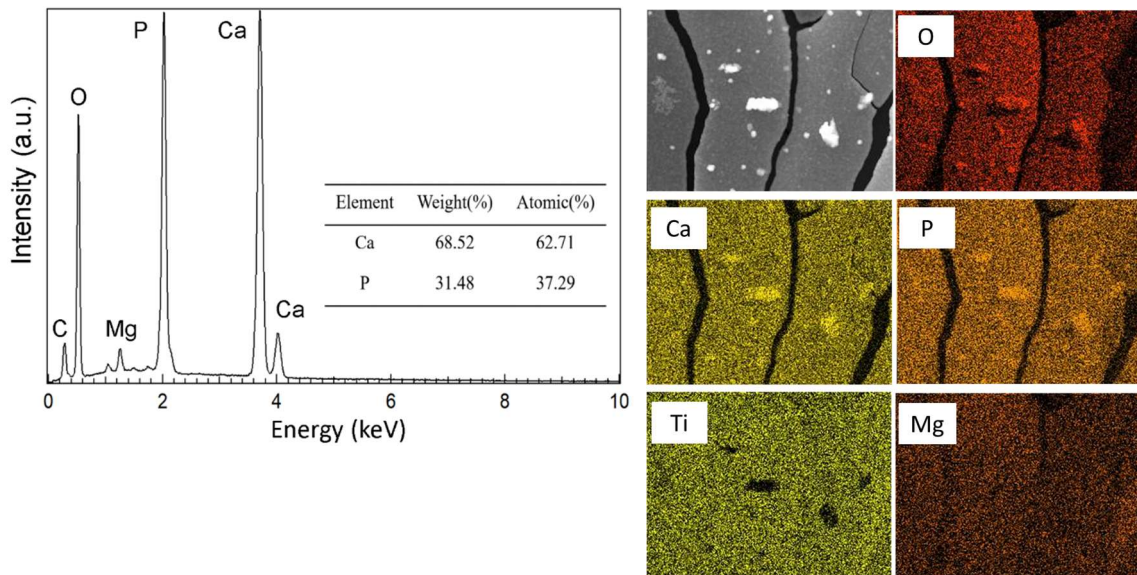


図2 SBF 浸漬後の Ti-Mg 合金膜上の析出物の元素スペクトルと元素マッピング
(Ti-27.6mass%Mg, 21 日間浸漬)

(2) 作製した Ti-Ca 合金膜の結晶構造と生体適合性

ターゲットの構成を変更することにより、Ca 濃度が約 6, 27, 38 mass% の合金膜を作製できた。Ti-6, 27mass%Ca の XRD パターンでは、ハローパターンが見られた。Ti-38mass%Ca では、Ti, Ca, Ca 化合物に関するピークは存在しなかった。図 3 に Ti-8mass%Ca の TEM 像と SAED パターンを示す。いずれの組成の Ti-Ca 合金膜においてもハローパターンが見られ、結晶構造はアモルファスであることがわかった。

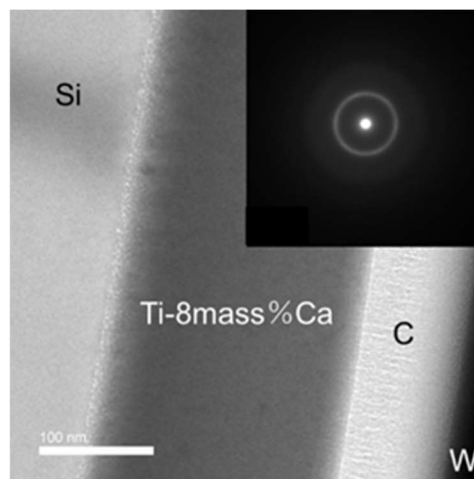


図3 作製した Ti-Ca 合金膜の TEM 像と SAED パターン

生体適合性評価においては、Ti, Ti-6, 27mass%Ca は同程度のタンパク質吸着量を示し、Ti-38mass%Ca では吸着量が増加した。SBF に 3 日間浸漬した膜では、Ti-27mass%Ca でのみ、析出物が認められた。Ti-38mass%Ca では、1 日間浸漬した時点で膜の剥離が生じた。SBF に 7 日間浸漬した膜では、Ti-6mass%Ca, Ti-27mass%Ca 表面で析出物が見られた(図 4)。EDS の元素スペクトルおよび XRD パターンより、析出物は Ca, P, O で構成され、ハイドロキシアパタイトであることが確認できた。細胞生存率の調査では、Ti, Ti-6, 27mass%Ca では control と同程度の細胞生存率を示し、Ti-38mass%Ca のみ細胞生存率が低下した。Ti-38mass%Ca では細胞培養中に膜の剥離が生じ、細胞ごと膜が剥離したため、細胞生存率が減少した。生理食塩水への浸漬における合金膜からの Ti の溶出量は生理食塩水のみ Blank 溶液と同程度であったため、合金膜から Ti は溶出しないことがわかった。合金膜からの Ca の溶出量は、Ca 濃度が高いほど増加した。

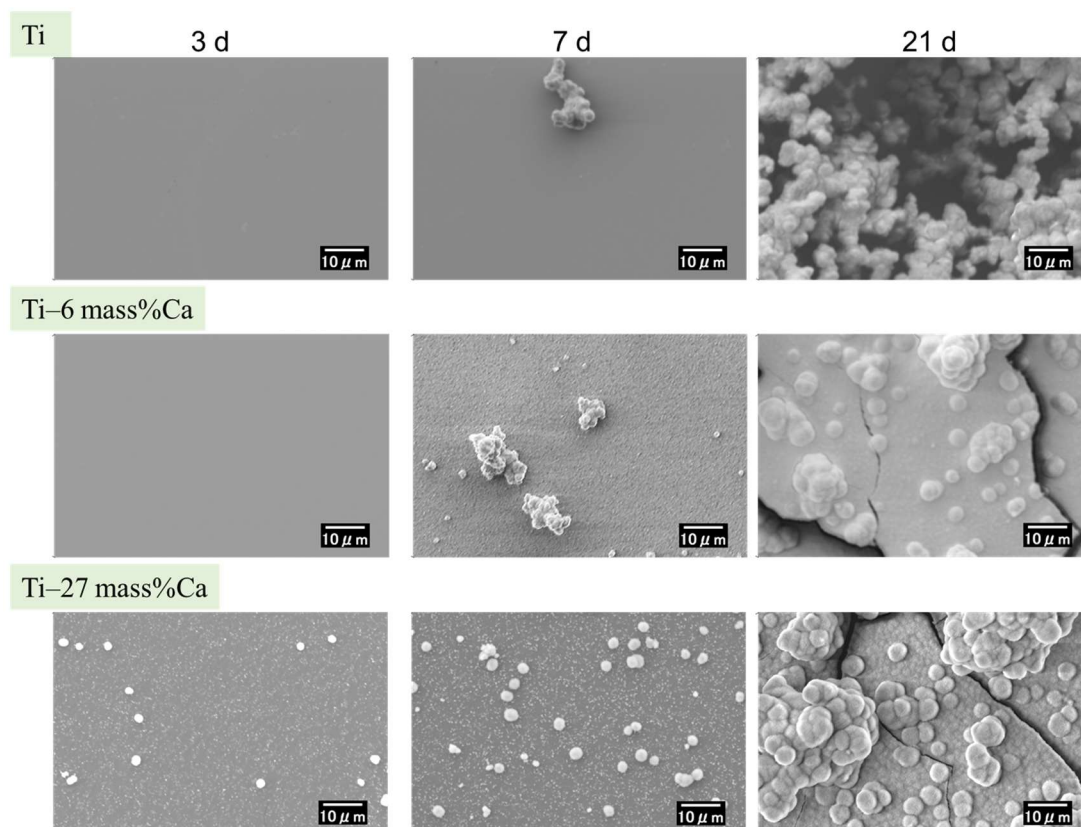


図 4 SBF 浸漬後の Ti-Ca 合金膜上の析出物の SEM 像

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 加藤敦士, 稗田純子
2. 発表標題 高周波マグネトロンスパッタ法による生体適合性Ti-Ca膜の作製と評価
3. 学会等名 日本金属学会2021年春期(第168回)講演大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 可児誠太郎, 稗田純子
2. 発表標題 一元高周波マグネトロンスパッタリングによるTi-Mg合金薄膜の作製と生体適合性評価
3. 学会等名 日本金属学会2021年春期(第168回)講演大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒柳洋人, 小河優玖, 金子真大, 井藤彰, 稗田純子
2. 発表標題 医療用Ti-Ca合金膜の構造解析と生体適合性評価
3. 学会等名 日本金属学会2023年春期(第172回)講演大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------