

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 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21656171

研究課題名（和文）

高分子複合化技術を用いたテグスチャ生体用β型チタン合金の人工腱への応用

研究課題名（英文）

Application of biomedical β-type titanium alloy for artificial tendon by polymer hybrid technique

研究代表者

新家 光雄 (NIINOMI MITSUO)

東北大学・金属材料研究所・教授

研究者番号：50126942

研究成果の概要（和文）：

生体用チタン合金である Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr (TNTZ)の軟組織適合性を改善するため、シランカップリング処理を利用したセグメント化ポリウレタン (SPU)コーティングを検討した。シランカップリング処理には、3種類のシランカップリング剤を用い、TNTZとSPUとの界面の接着強度のシランカップリング剤依存性を調べた。超純水中に30日間浸漬後のTNTZとSPUとの界面接着強度は、シランカップリング剤にメタクリロキシプロピルトリメトキシシラン(γ-MPTS)を用いた場合に最も高くなった。TNTZとSPUとの界面解析の結果より、γ-MPTSは、化学的に安定であるため、良好な耐湿性を得ることができると明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

In order to improve the soft tissue biocompatibility of a biomedical titanium alloy, Ti-29Nb-13Ta4.6Zr (TNTZ), segmented polyurethane (SPU) coating was investigated using silane coupling treatment. Dependence of silane coupling agent on bonding strength between TNTZ and SPU was investigated using three types of silane coupling agents.

The shear bonding strength between TNTZ and SPU after immersion in ultrapure water for 30 days is the highest, when methacryloxypropyl trimethoxysilane (γ-MPTS) is used as a silane coupling agent. According to interfacial analysis, it is found that γ-MPTS exhibits high chemical stability so that it provides good humidity resistance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	0	1,100,000
2010年度	900,000	0	900,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	270,000	3,170,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学、構造・機能材料

キーワード：バイオマテリアル、チタン合金、医療用高分子、シランカップリング剤、接着強度、耐湿性

1. 研究開始当初の背景

人工腱や人工靭帯などの機能再建材料には、柔軟性や力学的強度に加え、硬組織適

合性や軟組織適合性が求められる。申請者らは無毒性および非アレルギー元素から構成され、人工腱に求められる低弾性かつ高強度

を有する生体用β型チタン (Ti) 合金を開発してきた。本研究では、シランカップリング剤を用いた金属-高分子複合化技術により、テクスチャ形状の生体用β型 Ti 合金を生体機能化し、高強度で柔軟な生体適合性の高い金属ベースの人工腱の創出を目指す。

2. 研究の目的

次世代金属系バイオマテリアルとして有望視されている TNTZ は、他の金属系バイオマテリアルと比較して、硬組織適合性に優れているが、他の金属系バイオマテリアル同様、軟組織適合性を持たない。そのため、TNTZ 表面の生体機能化による軟組織適合性の改善が求められている。本研究では、TNTZ にシランカップリング処理を施し、さらにその上に SPU を表面修飾することにより、SPU 被覆 TNTZ(TNTZ/silane/ SPU)を作製する。その力学的生体適合性について評価し、TNTZ/silane/SPU の金属系バイオマテリアルとしての応用の可能性について調査・検討した。

3. 研究の方法

(1) 供試材

供試材には、レビテーション溶解および熱間鍛造にて作製した TNTZ 丸棒(φ24 mm)を用いた。TNTZ 丸棒を 1273 K にて角棒 (15 × 15 × 200 mm) に熱間鍛造し、さらに室温・大気中で圧下率 33.3 % の冷間圧延を施した後、機械加工にて φ8 mm の TNTZ 丸棒を作製した。その後、TNTZ の β-トランザス (1013 K) よりも 50 K 高い 1063 K の真空中で 3.6 ks 保持後、氷水にて水冷する溶体化処理を施した。溶体化処理後の TNTZ を機械加工にて丸型試験片 (φ8 mm × 2 mm または φ8 mm × 5 mm) に切り出し、#600 までの耐水研磨紙を用いて湿式研磨を施した。その後、ダイヤモンドペーストおよびコロイダルシリカ懸濁液を用いたバフ研磨により鏡面に仕上げた。いずれの試験片も研磨後、アセトンおよびエタノールによる超音波洗浄 (5 min × 2) し、ホットドライヤーで乾燥後、各測定に用いた。

(2) 表面水酸基の制御

過酸化水素水 (H₂O₂) を、超純水を用いて 5 v/v%、10 v/v%、30 v/v% の H₂O₂ 溶液に調整した。鏡面研磨を施した TNTZ 丸型試験片 (φ8 mm × 2 mm および φ8 mm × 5 mm) を、295 K の H₂O₂ 溶液中に 24 h または 72 h 浸漬した (H₂O₂ 処理)。浸漬後、超純水で洗浄し、真空デシケータ内に 1 h 静置した。TNTZ 表面水酸基量を亜鉛錯体生成法により測定した。4 mol L⁻¹ 塩化アンモニウム溶液 500 mL と 0.4 mol L⁻¹ 塩化亜鉛 250 mL を混合し、アンモニアにて、pH を 6.9 に調整した。その後、1000 mL にメスアップして塩化亜鉛試薬とした。

H₂O₂ 処理を施した TNTZ (φ8 mm × 2 mm) を塩化亜鉛試薬中に 5 min 浸漬し、TNTZ 表面に亜鉛錯体を生成させた。浸漬後、TNTZ 上の余剰な塩化亜鉛試薬を取り除くため、超純水中への 10 min の浸漬を 3 回繰り返した。真空デシケータ内に 1 h 静置後、2.42 mol L⁻¹ の硝酸中に TNTZ を 10 min 浸漬し、亜鉛イオンを放出させた。硝酸中に放出された亜鉛イオンの濃度を高周波誘導結合プラズマ発光分析装置 (ICP-OES) により測定し、単位面積当たりの TNTZ 表面水酸基量 COH を下式により算出した。

$$C_{OH} = \{(C_{Zn} \times 10^{-6} \times V \times A) / (M \times S)\} \times 2 \quad (1)$$

C_{Zn} は亜鉛イオン濃度 (ppb)、V は硝酸の体積 (L)、A はアボガドロ数 (6.02 × 10²³)、M は亜鉛の分子量 (62.75)、S は TNTZ の表面積 (nm²)、である。H₂O₂ 処理を施した TNTZ の表面水酸基量を未処理の TNTZ の表面水酸基量で除し、規格化した。

(3) シランカップリング処理

シランカップリング剤として、SPU と反応する官能基であるメタクリロキシ基、アミノ基あるいはメルカプト基をそれぞれ持つ、メタクリロキシプロピルトリメトキシシラン (γ-MPTS)、アミノプロピルトリエトキシシラン (APS)、メルカプトプロピルトリエトキシシラン (γ-MPS) を用いた。シランカップリング剤を、1 v/v% 酢酸を用いて pH を調整した超純水で、0.5 v/v%、1.0 v/v%、2.0 v/v% シランカップリング溶液になるように希釈した。溶液を 1 h 攪拌後、孔径 40 μm のフィルターを用いてろ過した。鏡面に研磨した TNTZ (φ8 mm × 2 mm および φ8 mm × 5 mm) をシランカップリング溶液に 10 min あるいは 50 min 浸漬し、浸漬後 N₂ を用いて吹き付け乾燥を行い、真空デシケータ内に 1 day 乾燥した。

(4) 表面構造の解析

H₂O₂ 処理を施した TNTZ の表面化学状態あるいはシランカップリング処理を施した TNTZ (φ8 mm × 2 mm) の表面化学状態を X 線光電子分光 (XPS) を用いて分析した。本研究における XPS の測定条件は、X 線源に AlKα を用い、電圧 15 kV、電流 10 mA、スポットサイズ 700 μm × 300 μm および光電子取り出し角 90 ° にて行った。測定したすべての結合エネルギーはフェルミ準位を基準とした。XPS スペクトルの結合エネルギーは、表面汚染層に由来する C1s 電子のピーク結合エネルギー (284.8 eV) によって補正した。

(5) SPU による表面修飾

N₂ 雰囲気中にて、SPU (Corethane70A) 600 mg をテトラヒドロフラン 10 mL とジメチル

ホルムアミド 10 mL の混合溶液中で 1 h 攪拌し、3.0wt% の SPU 溶液を調整した。未処理およびシランカップリング処理を施した TNTZ ($\phi 8 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$) を真空デシケータ内で SPU 溶液に 2 days 浸漬した。浸漬後 SPU 溶液から TNTZ を取り出し、1 day 乾燥させ、TNTZ/silane/SPU を作製した。

(6) TNTZ/silane/SPU 界面のせん断接着強度の評価

SPU を表面修飾した TNTZ を界面せん断試験に用いた。即時重合型レジン (UNIFAST II、GC) を用いて、SPU 上にせん断試験用つかみ部を作製した。SPU を表面修飾した TNTZ の界面のせん断接着強度は、設計した治具を取り付けた容量 20 kN のインストロン型引張り試験機を用い、クロスヘッド速度 $0.1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ 、室温 (295 K)、大気中にて行った。せん断試験後、金属試験片破面の SPU がはがれた部分に対し、表面化学状態を XPS で解析した。また走査型電子顕微鏡 (SEM) およびエネルギー分散形 X 線分光器 (EDX) を用いて破面の元素マッピングを行うことで、TNTZ/silane/SPU の破壊面の特定を行った。加速電圧には 15 kV を選択した。

SPU を表面修飾した TNTZ を 310 K、15 mL の超純水中に 30 days 浸漬し、その後真空デシケータ内に 1 day 乾燥し、界面せん断試験を行った。せん断試験後、金属試験片破面の SPU がはがれた部分の表面化学状態を XPS で解析した。

4. 研究成果

TNTZ/silane/SPU 界面のせん断接着強度は、シランカップリング層が 1 層から 2 層の薄い場合および 10 層から 20 層の厚い場合について行った。Figure 1 に TNTZ/SPU および TNTZ/silane/SPU 界面のせん断接着強度とシランカップリング層の厚さとの関係を示す。未処理の TNTZ/SPU 界面のせん断接着強度が 2 MPa 程度であるのに対し、シランカップリング処理を施すことで、TNTZ/silane/SPU 界面のせん断接着強度が 10 MPa 程度まで増加

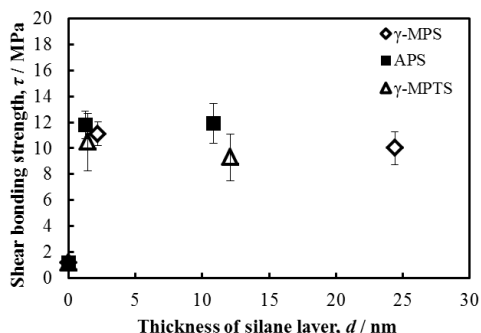


Fig.1 Relationship between shear bonding strength of TNTZ/silane layer/SPU interfaces and thickness of silane layers.

する。

Figure 2 に試料を超純水中に浸漬する前および 30 days 浸漬した後に行った TNTZ/silane/SPU 界面のせん断試験結果を示す。γ-MPTS を用いた場合、超純水中に 30 days 浸漬後も TNTZ/γ-MPTS/SPU 界面のせん断接着強度は低下せず、10 MPa である。また、シランカップリング層の厚さによる耐湿性の違いは認められない。しかし、APS または γ-MPS を用いた場合、超純水中に 30 days 浸漬後、TNTZ/APS あるいは γ-MPS/SPU 界面のせん断接着強度は低下する。また、γ-MPS では、シランカップリング層の厚さが厚い方が 30 days 浸漬後の TNTZ/γ-MPS/SPU 界面のせん断接着強度は低下し、4 MPa になる。

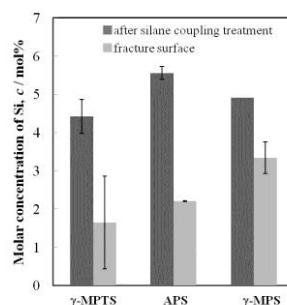


Fig.2 Shear bonding strength of TNTZ/silane layer/SPU interfaces with and without immersion in water for 30 days.

Figure 3 に TNTZ/γ-MPTS/SPU のせん断試験後の破面の SEM 像および EDX による元素マッピングを示す。Ti および Si が、SPU のはがれた金属試験片破面に一様に分布していることがわかる。これらの結果は、APS または γ-MPS を用いた場合も同様の結果であった。

また、XPS による各シランカップリング処理を施した TNTZ および金属試験片破面の Si 元素濃度を定量した結果より、金属試験片破面の Si 元素濃度は、シランカップリング処理を施した TNTZ に比べ減少する。これらの結果から、TNTZ 上に形成したシランカップリ

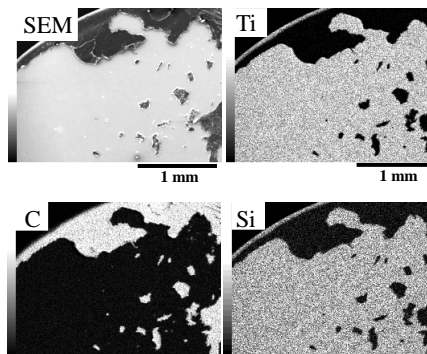


Fig. 3 SEM image and each elemental mapping obtained by EDS on fractured surface of TNTZ/γ-MPTS layer/SPU.

ング層が、せん断試験後に薄くなっていると考えられる。

超純水中への浸漬前では、せん断試験後のランカップリング層と考えられる凝集物を形成していることおよび破面の Si 元素濃度が低下していることから、TNTZ/silane/SPU の破壊は、シランカップリング層中での凝集破壊であると考えられる。一方、超純水中に 30 days 浸漬後では、 γ -MPTS を用いた場合には浸漬前と大きな変化はないが、APS あるいは γ -MPS を用いた場合、シランカップリング層が厚い試料では、大きくなった凝集物がはがれていた。これらの結果より、APS あるいは MPS を用いた場合、超純水中に 30 days 浸漬すると、TNTZ/silane/SPU の破壊は、TNTZ/silane 間の界面破壊 およびシランカップリング層中での凝集破壊が合わさった複合破

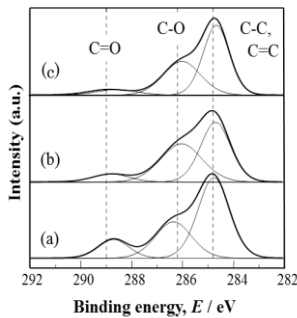


Fig.4 XPS spectra of C 1s electron energy region obtained from (a) γ -MPTS layer on TNTZ, fracture surfaces of TNTZ/ γ -MPTS/SPU composites (b) without and (c) with immersion in water for 30 days.

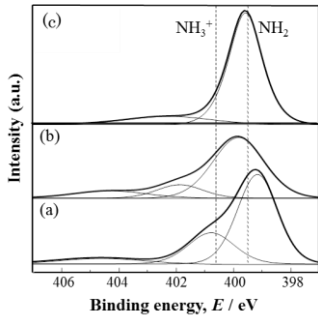


Fig.5 XPS spectra of N 1s electron energy region obtained from (a) APS layer on TNTZ, fractured surfaces of TNTZ/APS/SPU composites (b) without and (c) with immersion in water for 30 days.

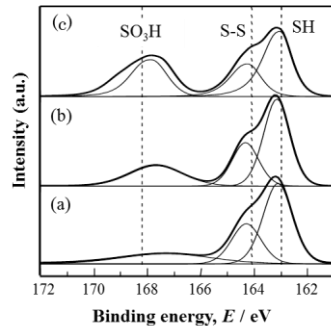
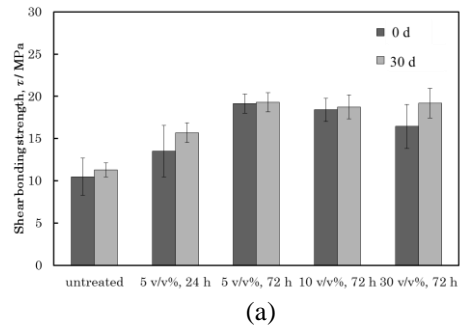


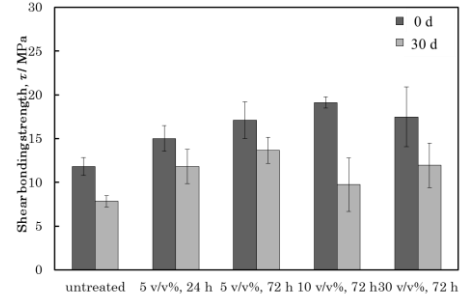
Fig.6 XPS spectra of S 2p electron energy region obtained from (a) γ -MPS layer on TNTZ, fractured surfaces of TNTZ/ γ -MPS/SPU composites (b) without and (c) with immersion in water for 30 days.

壊であると考えられる。

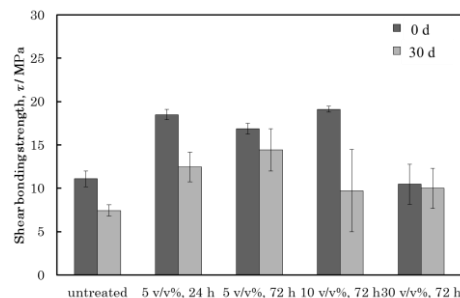
Figure 4, 5 および 6 に γ -MPTS、APS および γ -MPS にてシランカップリング処理を施した TNTZ 表面およびせん断試験後の金属試験片破面のシランカップリング剤末端官能基の XPS スペクトルを示す。 γ -MPTS を用いた場合 (Figure 4)、C1sXPS スペクトル中に C-C および C=C、C-O、C=O に起因するピークが検出される。シランカップリング処理を施した TNTZ、超純水への浸漬前および 30 days 浸漬後のせん断試験後の金属試験片破面の XPS スペクトルに大きな変化はなく、化学的に安定であると考えられる。APS を用いた場合 (Figure 5)、N1s の XPS スペクトル中に NH_2 および NH_3^+ に起因するピークが検出される。 NH_2 に起因するピークはシランカップリング処理を施した TNTZ、超純水中へ浸漬前および 30 days 浸漬後のせん断試験後の金属試験片表面で検出される。一方、 NH_3^+ に起因するピークは、超純水中へ 30 days 浸漬後、小さくなり、高結合エネルギー側にシフトする。APS によってシランカップリング処理を施す際、APS のアミノ基が、環状構造をとるこ



(a)



(b)



(c)

Fig.7 Relationships between shear bonding strength of (a) TNTZ/ γ -MPTS/SPU, (b) TNTZ/APS/SPU and (c) TNTZ/ γ -MPS/SPU interfaces before and after immersion in water for 30 days.

とが知られている。 NH_3^+ に起因するピークを検出することから、TNTZの表面水酸基と有機官能性基であるアミノ基が酸・塩基反応の相互作用を起こし、シランカップリング分子が環状構造を形成していると考えられる。これにより、TNTZ上に、SPUと化学的な結合を形成できていない部分が生じ、超純水中に30 days浸漬すると、TNTZとSPUの接着界面へ水が侵入したと考えられる。また、水の侵入により、プロトン化した NH_3^+ とTNTZ表面水酸基との相互作用がなくなったため、超純水中に30 days浸漬後、 NH_3^+ のピークが小さくなり、結合エネルギーが高エネルギー側にシフトしたと考えられる。 γ -MPSを用いた場合、S2pXPSスペクトル中に、SH、S-S結合および SO_3H に起因するピークが検出される(Figure 6)。 SO_3H のピークは超純水中に30 days浸漬後、大きくなる。これは、S-S結合を形成するなどSH同士が反応するために、 γ -MPSとSPUが化学的に結合できず、TNTZとSPUの接着界面へ水が侵入し、未反応のSHが水により SO_3H に酸化されたことが原因であると考えられる。

Figure 7に超純水中への浸漬前および30 days浸漬後に行った H_2O_2 処理TNTZ/ γ -MPTS、APSおよび γ -MPS/SPU界面のせん断試験結果を示す。超純水中に浸漬する前では、 γ -MPTSおよびAPSを用いた場合(Figure 7(a)およびFigure 7(b))、 H_2O_2 処理を施すことで、TNTZ/silane/SPU界面のせん断接着強度は20 MPa程度まで増加することが明らかになった。しかし、 H_2O_2 濃度増加に伴うTNTZの表面水酸基量の減少は、TNTZ/silane/SPU界面のせん断接着強度に大きな影響を及ぼさない。一方、 γ -MPSを用いて、5 v/v%および10 v/v%の H_2O_2 溶液で処理した場合(Figure 7(c))、TNTZ/ γ -MPS/SPU界面のせん断接着強度は20 MPa程度まで増加する。しかし、30v/v%の H_2O_2 溶液で処理した場合、TNTZ/ γ -MPS/SPU界面のせん断接着強度は10 MPa程度となる。これは、30v/v%の H_2O_2 溶液で処理した場合、 γ -MPSのSHが酸化し、 SO_3H が生成するため、 γ -MPSとSPUとが化学的に結合できず、TNTZ/ γ -MPS/SPU界面のせん断接着強度が10 MPaまでしか増加できないと考えられる。これらの結果から、超純水中への浸漬前では、 H_2O_2 処理によるTNTZ/silane/SPU界面のせん断接着強度の増加は認められるが、TNTZの表面水酸基量の違いによるTNTZ/silan/SPU界面のせん断接着強度の変化は認められない。これは、 H_2O_2 濃度の増加に伴い、TNTZの表面水酸基量が減少するだけでなく、TNTZの表面粗さが増加するため、TNTZの表面水酸基量がTNTZ/silane/SPU界面のせん断接着強度に影響を与えないように見えたと考えられる。 γ -MPTSを用いた場合、超純水中に30 days浸

漬後もTNTZ/ γ -MPTS/SPU界面のせん断接着強度は低下せず、20 MPa程度であり、 H_2O_2 処理を施さない場合に比べ、高い値を得ることができる。一方、APSおよび γ -MPSを用いた場合、5 v/v%の H_2O_2 溶液で72 h浸漬した試料は、超純水中に30 days浸漬後も、TNTZ/silane/SPU界面のせん断接着強度は統計的には低下せず、 H_2O_2 処理を施していない試料と比べ高い。しかし、TNTZの表面水酸基量が少ない、10v/v%および30v/v%の H_2O_2 溶液で処理した試料では、超純水へ30 days浸漬後、TNTZ/silane/SPU界面のせん断接着強度は低下し、 H_2O_2 処理を施していない試料と統計的な差異はなかった。これらの結果より、TNTZの表面水酸基量が増えたことで、TNTZ表面でシランカップリング層が密なネットワーク構造を形成し、TNTZとSPUの接着界面への水の侵入を防ぎ、高い耐湿性を得ることができたと考えられる。

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. Junko Hieda, Mitsuo Niinomi, Masaaki Nakai, Hiroyuki Kamura, Harumi Tsutsumi, Takao Hanawa, Effect of terminal functional groups of silane layers on adhesion strength between biomedical Ti-2.9Nb-14Ta-Zr alloy and segment polyurethanes, Surface and coatings technology, 206, 3137-3141 (2012). 査読有
10.1016/j.surfcoat.2011.12.044

[学会発表] (計8件)

1. 稗田純子, 新家光雄, 仲井正昭, 堤 晴美, 嘉村浩之, 塙 隆夫, 生体用高分子/Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr合金界面における接着性の改善, 2011年秋期大会(第149回)日本金属学会講演大会, 2011年11月8日, 沖縄コンベンションセンター.
2. 稗田純子, 新家光雄, 仲井正昭, 嘉村浩之, 堤 晴美, 塙 隆夫, 生体用 β 型チタン合金/高分子接着性へのシランカップリング剤官能基の影響, 生体用 β 型チタン合金/高分子接着性へのシランカップリング剤官能基の影響, 2011年10月23日, 奥羽大学.
3. Junko Hieda, Mitsuo Niinomi, Masaaki Nakai, Hiroyuki Kamura, Harumi Tsutsumi, Takao Hanawa, Fabrication of biofunctionalized Ti-2.9Nb-14Ta-Zr alloy with biocompatible segment polyurethane coating, Workshop on Materials Science in Tianjin University Day, 2011年10月11日, Institute for Materials Research, Tohoku University, Sendai, Japan.
4. Masaaki Nakai, Mitsuo Niinomi, Hiroyuki Kamura, Takao Hanawa, Dependence of silan

e coupling agent on shear bonding strength between titanium alloy and segmented polyurethane after immersion in water, International Dental Materials Congress 2011 (IDMC2011) in conjunction with the 2011 Annual Meeting of the Korea Research Society for Dental Materials Devices (KRSD) and the 57th anniversary of the General Session of the Japanese Society for Dental Materials and Devices (JSDMD), 2011年5月28日, Yonsei University, Seoul, Korea.

5. 嘉村浩之, 新家光雄, 仲井正昭, 堤 晴美, 埜隆夫, シランカップリング処理によるTi-29Nb-13Ta-4.6Zr合金とセグメント化ポリウレタン複合材料の創出, 東北大学金属材料研究所第120回 所内(秋季)講演会, 2010年11月24日, 東北大学金属材料研究所.

6. 嘉村浩之, 新家光雄, 仲井正昭, 堤 晴美, 埜隆夫, シランカップリング処理によるTi-29Nb-13Ta-4.6Zr合金とセグメント化ポリウレタンとの接着性の改善, 第56回日本歯科理工学会学術講演会, 2010年10月9日, 朝日大学.

7. 嘉村浩之, 新家光雄, 仲井正昭, 堤 晴美, 埜隆夫, シランカップリング剤を用いたTi-29Nb-13Ta-4.6Zr合金への生体機能性の付与, 日本金属学会2010年(第147回)度秋期大会, 2010年9月26日, 北海道大学.

8. 嘉村浩之, 新家光雄, 堤 晴美, 赤堀俊和, 仲井正昭, シランカップリング剤を用いたTi-29Nb-13Ta-4.6Zr合金への生体機能性の付与, 東北大学金属材料研究所第119回 所内(春季)講演会, 2010年5月27日, 東北大学金属材料研究所.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新家 光雄 (NIINOMI MITSUO)
東北大学・金属材料研究所・教授
研究者番号 : 50126942

(2) 研究分担者

仲井 正昭 (NAKAI MASA AKI)
東北大学・金属材料研究所・准教授
研究者番号 : 20431603
堤 晴美 (TSUTSUMI HARUMI)
東北大学・金属材料研究所・助教

研究者番号 : 50509023

(H22.7.21 : 辞退)

稗田 純子 (HIEDA JUNKO)

東北大学・金属材料研究所・助教

研究者番号 : 40566717

(H23 : 研究分担者)

(3) 連携研究者

赤堀 俊和 (AKAHORI TOSHIKAZU)

名城大学・理工学部・准教授

研究者番号 : 00324492

埜 隆夫 (HANAWA TAKAO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号 : 90142736