純金属の耐食性とマウス線維芽組織由来 L929 細胞の相対細胞増殖率

岡崎 義光* 許 健司**†
Sethumadhavan Rao* 立石 哲也***

*通産省工業技術院機械技術研究所

**日本工業大学工学部機械工学科

***産業技術融合領域研究所

J. Japan Inst. Metals, Vol. 61, No. 7 (1997), pp. 656-661

Corrosion Resistance and the Relative Growth Ratios of Mouse Fibroblasts L929 Cells for Various Pure Metals

Yoshimitsu Okazaki*, Kenji Kyo**†,
Sethumadhavan Rao* and Tetsuya Tateishi***

*Mechanical Engineering Laboratory, Agency of Industrial Science and Technology,
Ministry of International Trade and Industry, Tsukuba 305

**Department of Mechanical Engineering, Nippon Institute of Technology, Miyashiro, Saitama 345

***National Institute for Advanced Interdisciplinary Research, Tsukuba 305

The total expenditure incurred in the import of materials for artificial bones and joints is increasing every year in Japan. Keeping this in view, anodic polarization of various metals like Ti, Al, V, Zr, Sn, Nb, Ta, Pd, Mo, Si, Co, Ni, Cr and Fe and cytocompatibility of these metallic powders by using L929 cell line were investigated. The corrosion resistance for Ti, Ta, Nb and Si in Eagle's medium solution was excellent. In the case of Zr, Sn, Cr and Mo the passive films on the surface of these metals were formed, but tends to break as the potential increased. On the other hand the corrosion resistance was not very satisfactory for Al, V, Pd, Ni, Co and Fe. The results were similar in 1% lactic acid solution except that, the passive film formed on the surface of Zr and Al are stable as compared with that in Eagle's medium. The relative growth ratios of L929 cells for Ti, Sn, Ta, Nb, Zr, and Cr powders extraction was equal to unity. The relative growth ratios for Al, V, Co, Ni, Pd, Fe, Si and Mo powders extraction decreased as the metallic concentration increased in the Eagle's medium. Also, the effect of relative growth ratio of L929 cells for various metals was examined with the corrosion potential and the potential at $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$ obtained by the anodic polarization curve. It was found that the relative growth ratio of L929 cells tends to be low for metals less than 0 V and high for metals more than 0 V at a current density of $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$. Moreover, the relative growth ratio of L929 cells for $\text{Al}(\text{OH})_3$ powder extraction and $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolution from Al powder extraction was estimated in order to understand the chemical configuration of Al in Eagle's medium solution. It was found that the relative growth ratio of L929 cells almost became equal to 0 for Al powder at a metallic concentration of 0.4 mass ppm. On the contrary, the relative growth ratio of L929 cells for $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolution was equal to unity up to a fairly high concentration of 50 mass ppm. Based on the results obtained, cytocompatibility of the various metals was compared with the Mandeleef's periodic table.

(Received December 2, 1996)

Keywords: various metals, corrosion resistance, anodic polarization curve, cytocompatibility, relative growth ratio, released ions

I. 緒 言

21世紀初頭には、総人口の25%以上が65才以上の高齢者となることが予測され、長期間安全に使用できるインプラ

ント材料の開発が特に重要となる。薬事工業生産動態統計⁽¹⁾に基づくインプラント総額および輸入額の変化によると、人工骨・関節の使用総額は、人工心臓および人工血管などに比べ大きい輸入品がほとんどである。金属系インプラント材料は、強度と靱性を兼ね備え、加工性に優れ、整形外科および歯科領域では、セラミックスおよび高分子材料に比べ使用量が多い。SUS316L ステンレス鋼、Co-Cr 合金、純 Ti およ

† 日本工業大学大学院生 (Graduate Student, Nippon Institute of Technology, Miyashiro, Saitama)

び Ti 合金が使用され、最近では、Ti-6%Al-4%V ELI (Extra Low Interstitial) 合金の使用割合が高い。V イオンの強い細胞毒性、Al の神経毒性が欧米を中心に懸念され、新合金の開発が行われている⁽²⁾⁻⁽⁵⁾。同様に著者らも Ti-15%Zr-4%Nb-4%Ta-0.2%Pd および Ti-15%Sn-4%Nb-2%Ta-0.2%Pd 合金の開発を行っている⁽⁶⁾⁻⁽¹³⁾。一方、純金属プレートの細胞への影響が川原ら⁽¹⁴⁾および Steinemann⁽¹⁵⁾によって検討されている。最近では、各種金属塩の細胞への影響が山本らによって詳細に検討されている⁽¹⁶⁾。金属粉末を用い培養液中の Al, V, Ti, Zr, Sn, Nb, Ta, Pd, Mo, Si, Co, Ni, Cr, Fe 濃度と相対細胞増殖率の関係を前報および前々報にて報告した⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。また、純金属の生体への影響を検討することは環境問題の観点からも今後重要となると考えられる。本研究では、生体内模擬環境下での各種純金属の耐食性を電気化学的に評価し、耐食性と相対細胞増殖率の関係を検討したのでその結果について報告する。

II. 実験方法

直径 8 mm, 長さ 5 mm の高純度金属丸棒試験片(添川理化学(株)製: JIS H4600 2 種純 Ti, Al, V, Zr, Sn, Nb, Ta, Pd, Mo, Si, Co, Ni, Cr, Fe)およびニラコ製高純度金属粉末を供試材とした。これらの供試材の純度および粒子径を Table 1 にまとめて示した。各種金属丸棒を用いて、Eagle's MEM 溶液(ニッスイ製粉末, 超純水 1 dm³ 中に NaCl: 6.8 g, C₆H₁₂O₆: 1 g, KCl: 0.4 g, CaCl₂: 0.2 g, NaHPO₄: 0.1 g を主成分とし、各種無機塩類, カナマイシン(抗生物質)などを含有)に、7.5%NaHCO₃(2.4 vol%) および成牛血清(10

vol%)を加えた Eagle's MEM(Eagle's Minimum Essential Medium)培養液(pH=7.4~7.6)と 1 mass% 乳酸(pH=2.5)溶液中でのアノード分極試験を行い、生体内模擬環境下での耐食性を評価した。アノード分極試験用試料は、試料表面を 0.8 cm² だけ残し、その他の部分をエポキシ樹脂で被覆し、#120 から #600 までの耐水研磨後、エタノール中で約 0.9 ks(15 min)の超音波洗浄を行った。アノード分極試験には全自動分極試験装置(北斗電工製: HZ-1A)を用い、測定溶液を 3.33×10⁻⁶ m³·s⁻¹(200 cm³·min⁻¹)の流量で、0.9 ks(15 min)間高純度窒素脱気した後、-1.0 V で 300 s 保持した。-1.0 V から最大 5 V まで、6.67×10⁻⁴ V·s⁻¹(40 mV·min⁻¹)の掃引速度でアノード分極試験を行った。この際、対極には白金電極、参照電極には飽和甘こう電極(Saturated Calomel Electrode: SCE)を用いた。ただし、測定中は測定溶液表面に高純度窒素ガスを吹き付けることにより、酸素の混入を防いだ。アノード分極試験は、試験片を変え 3~5 回繰り返し行った。

各種金属粉末と Eagle's MEM 培養液を 1:10 の割合でメジューム瓶に入れ、310 K, 95% Air-5% CO₂ 雰囲気のインキュベータ内で 86.4~432 ks(1~5 d)間培養液中で抽出を行った。抽出培養液を用い、7 d ごとに継代した L929 細胞の相対細胞増殖率に及ぼす各種金属の影響を検討した。粉末を用いた細胞適合性評価方法の詳細はすでに示した通りである⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。粉末を入れずにインキュベータ内に保持した培養液をコントロール(比較対照群)とし、相対細胞増殖率(=粉末抽出した培養液で 4 d 間培養後の各シャーレの細胞数/4 d 間培養後のコントロールの細胞数の平均値)を用いた。1 回の細胞培養試験でのシャーレ数は、4~6 シャーレとし 15 シャーレ以上の平均値と標準偏差を算出することにより金属の影響を検討した。

培養液中の金属の濃度を誘導結合プラズマ質量分析(Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer), 黒鉛炉原子吸光分析(Electrothermal Atomic Absorption Spectrometer), 誘導結合プラズマ発光分光分析(Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometer)および原子吸光分析(Atomic Absorption Spectrometer)により測定した。分析方法の詳細はすでに報告した通りである⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾。ただし、分析時までの濃度変化を避けるため細胞培養と同時に分析溶液を分取し濃塩酸を 0.2 vol%(pH<2)添加して保存した。

III. 実験結果および考察

Eagle's MEM 培養液中で 3 回測定した時の平均的なアノード分極曲線の比較を Fig. 1 に示す。JIS H4600 2 種純 Ti の不動態皮膜は培養液中でも安定であるが、Al と V では培養液中ではほとんど不動態化せず電流密度が直線的に増加する。Nb, Ta および高純度 Si では、5 V の高電位域まで電流密度が低く不動態皮膜は安定である。Zr と Sn の不動態化電流密度(不動態化のための電流密度のピーク値)は低い値を示

Table 1 Purity and Particle size of various metals and metallic powders.

	Metallic rod	Metallic powder			
		Purity (mass%)	Particle diameter (μm)		
			Minimum	Mean	Maximum
Ti	99.85	99.3	3.8	72	313
Al	99.8	99.9	7.4	82	676
V	99.9	99.5	1.1	17	167
Zr	98	94+4%HF	0.3	4	21
Sn	99.9	99.999	14.1	73	336
Nb	99.9	99.9	17.2	39	125
Ta	99.9	99.9	14.4	244	2000
Pd	99.9	99.9	0.5	43	276
Mo	99.9	99.95	1.1	8	140
Si	99.999	99.9	0.4	16	125
Co	99.9	99	0.6	17	84
Ni	99.9	99.9	0.6	14	125
Cr	99.9	99	17.2	45	152
Fe	99.9	99	17.2	48	152

Fig. 1 Comparison of the anodic polarization curves for various pure metals in Eagle's medium solution at 310 K.

Fig. 2 Comparison of the anodic polarization curves for various pure metals in 1 mass% lactic acid solution at 310 K.

すが、それぞれ約 0.4 V および -0.2 V で不動態皮膜が破壊する。ほぼ同様の傾向が Fig. 1(b) に示した Cr と Mo でもみられる。Pd と Ni では、不動態化電流密度が高く、アノード分極電位の上昇に伴い不動態皮膜はすぐに破壊する。Fe と Co では、Al および V と同様にはほとんど不動態化しない。pH が低い 1% 乳酸溶液中で測定したアノード分極曲線を Fig. 2 に示す。Eagle's MEM 培養液中に比べ自然浸漬(腐食)電位が高くなる。Ti, Nb, Ta に関しては、Eagle's MEM 培養液中と同様 5 V まで電流密度が低くなっている。Zr と Al では、5 V まで電流密度がかなり低く培養液に比べ不動態皮膜は安定である。Pd と Sn でも Eagle's MEM 培養液中に比べ高電位域まで電流密度が低くなっている。Zr と Al でみられるように pH が低い 1% 乳酸溶液 (pH=2.5) の方が培養液中 (pH=7.5) に比べ酸化皮膜 (ZrO_2 , Al_2O_3)⁽⁸⁾ が安定となるため、1% 乳酸溶液中に比べ培養液の方が苛酷な環境となることが考えられる。

歯科用矯正患者の金属修復物および金属義歯床の口腔内における電位は、アマルガムで -0.65~0.07 V, Au-Ag-Pd 合金で -0.35~0.09 V で、Co-Cr 系合金で -0.3~0.01 V (vs. SCE)⁻¹ となることが報告されている⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾。この点を参考にして Fig. 3 に示した腐食電位およびアノード域において電流密度が $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$ を示す電位 ($E_{0.1}$ vs. SCE) を代表値とし、相対細胞増殖率に及ぼす金属の影響を検討する。各種純金属の腐食電位および $E_{0.1}$ の変化を Fig. 4 に示す。Al の腐食電位が最も低く、Co, Ni の腐食電位が高い。また、Eagle's MEM 培養液に比べ、1% 乳酸溶液中での金属 Mo

Fig. 3 Schematic illustration of anodic polarization properties used to estimate cytocompatibility of pure metals used in this work.

の腐食電位が高くなっている。Fig. 4(b) に示した $E_{0.1}$ 値でも Al が最も低く、高純度 Si, Ti, Ta, Zr の $E_{0.1}$ 値が高く、耐食性の優れた元素であることがわかる。

各種高純度金属粉末をインキュベータ内で 86.4~432 ks (1~5 d) 間培養液中で抽出を行った時の粉末抽出時間と相対細胞増殖率の関係を Fig. 5 に示す。Zr, Sn, Nb, Ta, Cr, Si では抽出時間を変化させても相対細胞増殖率は 1 になっている。Pd については、抽出時間の増加に伴い溶出するイオンの量が増加し相対細胞増殖率は減少する。イオンの溶出量が多い Mo, Ni, Co, Fe の相対細胞増殖率はほぼ 0 になっている。粉末抽出培養液を新しい培養液で希釈することにより、培養液中の金属濃度を変化させ、培養液中の金属濃度と L929 細胞の相対細胞増殖率の関係を検討した。その結果を

Fig. 4 Comparison of corrosion potential (a) and potential at $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$ vs. SCE (b) estimated by the anodic polarization tests for various metals in Eagle's medium and 1 mass% lactic acid solutions at 310 K.

Fig. 6 にまとめて示す。Fig. 6(a) に示した Ti, Zr, Sn, Nb, Ta, Cr では、培養液中に溶出するイオンの濃度が低く相対細胞増殖率への影響はほとんどみられない。Fig. 6(b) から明らかなように Al と V の細胞増殖阻害作用は大きく、約 0.4 mass ppm で相対細胞増殖率は 0 になっている。溶出イオン量が多い Co, Ni, Pd, Fe では、約 20 mass ppm で 0 に近づく。さらに、イオンの溶出量が多い Mo では、約 50 mass ppm から L929 細胞への影響がみられる。

アノード分極測定によって得られた純金属の腐食電位および電流密度が $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$ を示す電位 ($E_{0.1}$ vs. SCE) と 173 ks (2 d) 間粉末抽出により得られた相対細胞増殖率との関係を Fig. 7 にまとめて示す。Fig. 7(a) に示されているように純金属の種類により二つのグループに分かれ、腐食電位の増加により相対細胞増殖率はやや減少する傾向がみられる。また、Fig. 7(b) に示したように、 $E_{0.1}$ 値が 0 V より低い純金属の細胞相対増殖率が低く、0 V より高い純金属の細胞相対増殖率は 1 になっている。図には、川原によって報告されている金属プレートを用いた L929 細胞の接触毒性の結

Fig. 5 Change in the relative growth ratio of L929 for various metals as a function of extraction time in Eagle's medium at 310 K.

Fig. 6 Change in the relative growth ratio of L929 cells as a function of various metallic concentration in Eagle's medium at 310 K.

Fig. 7 Relationship between relative growth ratio of L929 cells and corrosion potential (a) and potential at $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$ vs. SCE (b) estimated by the anodic polarization tests for various metals in Eagle's medium and 1 mass% lactic acid solutions at 310 K.

果⁽¹⁴⁾も同時に示したが、Al 以外は粉末抽出によって得られた結果とはほぼ一致している。この Al の結果をさらに検討するため、 0.05 dm^3 の Eagle's MEM 培養液と 1~5 g の $\text{Al}(\text{OH})_3$ 粉末(ナカライテスク(株)製)をメジウム瓶に入れ、310 K, 95% Air-5% CO_2 雰囲気インキュベータ内で 173 ks (2 d) 間 Eagle's MEM 培養液中で抽出を行った。抽出後 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 粉末を $0.2 \mu\text{m}$ メンブレンフィルターを用いて除去した。さらに、Eagle's MEM 培養液中の Al 濃度が 300 mass ppm となるように $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 粉末(ナカライテスク(株)製)を溶解した。新しい Eagle's MEM 培養液で希釈することにより、培養液中の Al 濃度を変化させ、L929 細胞の細胞培養試験を行った。細胞培養前後での培養液中の Al 濃度を ICP-MS を用いて測定した。Eagle's MEM 培養液中の Al 濃度と L929 細胞の相対細胞増殖率の関係を Fig. 8 に示す。Al(OH)₃ 粉末からの Al の溶出量は少なく、細胞への影響はほとんどみられない。これに対して、 $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 粉末を Eagle's MEM 培養液に溶解した場合には、Al 粉末抽出に比

Fig. 8 Comparison of the relative growth ratio of L929 cells as a function of Al concentration in the medium with Al powder extraction, $\text{Al}(\text{OH})_3$ powder extraction and $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dissolution.

	IVa	Va	VIa	VIIa	VIII	Ib	IIb	IIIb	IVb
3								X	(Si)
4	(Ti)	•X V	•(Cr)	Mn	Fe	•X Co	•X [Ni]	* Cu	* [Zn]
5	(Zr)	(Nb)	(Mg)	Tc	Ru	Rh	△ Pd	* Ag	* [Cd]
6	Hf	(Ta)	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg
									TI
									[Pb]

○ : Good cell growth • : Allergy causing elements reported by Inoue and Sato
 △ : Fair cell growth □ : Cancer causing elements reported by Sato.
 × : Poor cell growth * : Poor cell growth elements using L929 cells reported by Kawahara.

Fig. 9 Comparison of cytocompatibility for various metals with the Mandeleef's periodic table.

べ 50 mass ppm の高濃度まで細胞への影響はみられない。以上の結果により、Al は培養液中での存在形態の違いにより細胞への影響が著しく変化することが考えられる。この原因は、今後さらに詳細に検討したい。各種粉末抽出培養液を用いた細胞への影響を周期律表を用いて整理した結果を Fig. 9 に示す。図には、井上と浜野および佐藤によって報告されている金属アレルギー元素⁽²¹⁾⁽²²⁾、発癌性元素⁽²²⁾も同時に示した。Cu, Zn, Cd, Hg, Pd に関しては、川原らの結果⁽¹⁴⁾を示している。V 以外の V を取り巻く Ti, Zr, Nb, Ta, Mo, Cr の細胞への影響が小さい。また、本研究で得られた Al 以外の元素については川原らの結果⁽¹⁴⁾とはほぼ一致している。純金属の細胞への影響は、純金属のイオン化エネルギーおよび原子半径などでは説明できなかった。今後、細胞への影響を整理できるパラメータの検討を行いたい。

IV. 結 言

生体内模擬環境下での各種純金属の耐食性を電気化学的に評価し、耐食性と相対細胞増殖率の関係を検討し、以下の結論を得た。

(1) Eagle's MEM 培養液中では, Al と V はほとんど不動態化せず電流密度が直線的に増加する. Ti, Nb, Ta, 高純度 Si では, 高電位域まで電流密度が低く耐食性が高い. Zr, Sn, Cr, Mo では, 不動態化電流密度が低いが, 分極電位の上昇により不動態皮膜が破壊する. Pd, Co, Fe の不動態化電流密度はかなり高い. Al と Zr に関しては, pH が低い 1% 乳酸溶液では, 5 V の高電位域までの電流密度が低く, 細胞培養液中に比べ不動態皮膜が安定となる.

(2) Ti, Zr, Sn, Nb, Ta, Cr では, 培養液中に溶出するイオンの濃度が低く相対細胞増殖率への影響はほとんどみられない. Al と V の細胞増殖阻害作用は大きく, 約 0.4 mass ppm で相対細胞増殖率は 0 になっている. 培養液中へ溶出するイオンの量が多い Co, Ni, Pd, Fe では, 約 20 mass ppm で L929 の相対細胞増殖率は 0 に近づく. さらに, イオンの溶出量が多い Mo では, 約 50 mass ppm から L929 細胞への影響がみられた.

(3) アノード分極測定によって得られた腐食電位および電流密度が $0.1 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$ を示す電位 ($E_{0.1}$ vs. SCE) と細胞相対増殖率の関係は, 金属の種類により 2 つのグループに分かれ, 腐食電位の増加により相対細胞増殖率はやや減少する傾向がみられた. また, $E_{0.1}$ 値が 0 V より低い純金属で細胞相対増殖率が低く, 0 V より高い純金属の細胞への影響がほとんどみられなかった. Al 以外の高純度粉末を用いて得られた結果と金属プレートを用いた細胞への影響はほぼ一致していた. Al 粉末抽出, $\text{Al}(\text{OH})_3$ 粉末抽出および $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を溶解し培養液中の Al 濃度を变化させた場合, 細胞への影響が異なり, 培養液中での存在形態の違いにより細胞への影響が著しく変化することがわかった.

(4) 各種粉末抽出培養液を用いた細胞への影響を周期律表を用いて整理した結果, V 以外の V を取り巻く Ti, Zr, Nb, Ta, Mo, Cr の細胞への影響が小さかった. 今後, 細胞への影響を整理できるパラメータの検討が重要となる.

文 献

- (1) 薬事工業生産動態統計年報, 厚生省薬務局, 1985~1995.
- (2) M. Semlitsch, F. Staub and H. Weber: Biomedizinische Technik., **30**(1985), 334.
- (3) K. K. Wang, L. J. Gustavason and J. H. Dumbleton: *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Materials and Biological Issues*, Ed. by S. A. Brown and J. E. Lemons, ASTM STP 1272, (1996), 76.
- (4) S. K. Bhambri, R. H. Shetty and L. N. Gilbertson: *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Materials and Biological Issues*, Ed. by S. A. Brown and J. E. Lemons, ASTM STP 1272, (1996), 88.
- (5) A. K. Mishra, J. A. Davidson, R. A. Poggie, P. Kovacs and T. J. Fitz Gerald: *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Materials and Biological Issues*, Ed. by S. A. Brown and J. E. Lemons, ASTM STP 1272, (1996), 96.
- (6) 岡崎義光, 伊藤喜昌, 伊藤敦夫, 立石哲也: 日本金属学会誌, **57**(1993), 332.
- (7) 岡崎義光, 伊藤喜昌, 立石哲也, 伊藤敦夫: 日本金属学会誌, **59**(1995), 108.
- (8) 岡崎義光, 太田 学, 伊藤喜昌, 立石哲也: 日本金属学会誌, **59**(1995), 229.
- (9) 岡崎義光, 許 健司, 伊藤喜昌, 立石哲也: 日本金属学会誌, **59**(1995), 1061.
- (10) 岡崎義光, 許 健司, 伊藤喜昌, 立石哲也: 日本金属学会誌, **59**(1995), 1078.
- (11) Y. Okazaki, Y. Ito and T. Tateishi: Mater. Trans., JIM, **37**(1996), 843.
- (12) Y. Okazaki, Y. Ito, A. Ito and T. Tateishi: *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Materials and Biological Issues*, Ed. by S. A. Brown and J. E. Lemons, ASTM STP 1272, (1996), 45.
- (13) Y. Okazaki, Y. Ito, K. Kyo and T. Tateishi: Materials Science and Engineering, **A213**(1996), 138.
- (14) 川原春幸, 越智茂三, 種谷克巳, 加藤邦雄, 磯貝満彦, 水野善雄, 山本広之, 山上哲賢: 歯科理工学雑誌, **4**(1963), 65.
- (15) S. G. Steinemann: *Evaluation of Biomaterials*, Ed. by G. D. Winter, J. L. Leray, K. de Goot, John Wiley & Sons Ltd., (1980), 1.
- (16) 山本玲子, 本間理恵子, 角田方衛: 生体材料, **14**(1996), 167.
- (17) 岡崎義光, Sethumadhavan Rao, 麻尾茂夫, 立石哲也, 勝田真一, 古木裕子: 日本金属学会誌, **60**(1996), 890.
- (18) 岡崎義光, 麻尾茂夫, Sethumadhavan Rao, 立石哲也: 日本金属学会誌, **60**(1996), 902.
- (19) 祇園白信仁, 山本克之, 山口研一, 井上恵司, 山田雅昭, 森谷良彦, 野元成晃: 日本補綴歯科学会雑誌, **24**(1980), 389.
- (20) 木内一弘, 杉 英子, 中澤 敏, 薄永哲也, 納村晋吉, 野元成晃: 日大歯学, **66**(1992), 302.
- (21) 井上昌幸, 浜野英也: 金属, **62**(1992), No. 12, 18.
- (22) 佐藤温重: 臨牀透析, **5**(1989), 1717.