FPB処理の医療用途への応用

FPB Treatment for Bio-Medical Application

小茂鳥 潤** 亀山雄高***

Jun KOMOTORI and Yutaka KAMEYAMA

Key words Biomaterials, Bio-medical Materials, Cell Toxicity, Surface Treatment, Corrosion Resistance

1. はじめに

近年、『生体材料 (Biomaterials)』という語を、日常の生活のなかでも耳にすることが時々ある。生体材料という言葉の定義はあいまいであるが、我々の分野では、生体組織の代替を目的として使用される人工材料のことを指している。例えば、人工関節などに使用される材料のことであり、チタン合金をはじめとする金属やセラミクス、高分子材料のことを指している。実際には、これらの材料はその使用部位に応じて使い分けられている。例えば、人工股関節を対象とした場合には、関節運動をつかさどる部位にはセラミクスや高分子材料などが、また、体重を支えるシステム部分にはチタン合金などが多く利用されている。

人工物を生体内に埋入する場合、材料が生体に対して悪影響を及ぼさないことがもっとも重要な条件となる。例えば、それが生体に対して毒性を持つような材料であった場合には、優れた機能を有したとしても利用することはできない。また人工関節に用いられる材料に関しては、近年では、生体に対して悪影響を及ぼさないだけではなく、生体骨組織と積極的に結合するような性質、すなわち生体活性も求められるようになってきた。チタン合金は、通常の状態では生体活性を有するものではない。しかしながら、その表面にアルカリ処理^{1)~3)}や陽極酸化処理^{4) 5)}などの化学的な表面処理を施すことにより、チタン合金に対して生体活性を付与することに近年成功しており、近年注目を集

めている。

2. ブラスト処理を利用した表面改質の応用

人工関節は主として整形外科分野で利用されるものであるが、歯科分野においても、近年虫歯や歯周病の治療を目的として人工歯根 (歯科インプラント) が利用されるようになってきた。人工歯根は、顎骨に直接埋め込まれるインプラント体と歯の代替をする上部構造とで構成される。治療の際にとくに重要となるのが、インプラント体がいかに早く、骨組織と結合するかという点である。特に、その結合の際に、骨とインプラントとの間に、繊維性結合組織を介在することなく直接接触すること (オッセオインテグレーション Osseointegration) が重要との認識に最近ではいたっている⁶⁾。

この状態を実現するためには、金属の表面に対して微視的な凹凸を形成させることが重要と考えられている。とくにブラスト加工が微視的な凹凸の作製手段として着目されており、それによって作製された面における骨組織形成の挙動について観察・分析した報告^{7)~9)}がある。Bowers ら⁷⁾は研削やエッチングによって形成した粗面と粒径 50 μm 程度のアルミナグリットを投射した面について、骨組織を形成する際に重要な働きを担う骨芽細胞の初期接着性を比較評価している。その結果、播種した後およそ 30 ~ 120 分後に接着している細胞の割合が、アルミナグリッドを投射した表面においてもっとも高くなることを報告している。しかしながら、投射加工面へ接着した細胞は、伸展・成長はするものの、表面の凹凸に対して完全に追従して密着することはないとも述べている。これに対して、Mustafa ら⁸⁾は、粒径を系統的に変化させた二酸化チタン粒子を用いてブラスト処理を施した面を準備し、その表面に対する細胞の付着性や骨形成の活発さに及ぼす投射粒子の粒度の影響について検討している。その結果、微視的な凹凸は、細胞の増殖や分化を促進させるが、接着挙動にはほとんど影響を及ぼさないと結論付けている。また、Berry ら⁹⁾は、種々の径の浅い孔を、その間隔を系統的に変化させながら加工した基盤上で線維芽細胞の培養を行い、細

*原稿受付 平成 18 年 7 月 19 日

**正 会 員 慶應義塾大学理工学部機械工学科 (横浜市港北区日吉 3-14-1)

***慶應義塾大学理工学部機械工学科 (横浜市港北区日吉 3-14-1)

小茂鳥 潤

慶應義塾大学大学院理工学研究科修了、工学博士、現在同大学助教授。主として、金属の疲労破壊メカニズムに関する研究、生体材料の表面

改質プロセスの開発に従事。日本材料学会、日本バイオマテリアル学会などに所属。

亀山雄高

2004 年慶應義塾大学大学院理工学研究科修士課程修了、現在同大学院後期博士課程に在学中、修士 (工学)、微粒子ピーニング処理を用いた摺動部材や生体材料の表面改質に関する研究に従事。

図1 酸化タンゲステンを用いてFPB処理を施したチタン合金の電子顕微鏡写真

胞の増殖に適した孔の寸法や間隔が存在することを報告している。

以上の研究は、細胞を利用した実験室内における *in vitro* 試験という位置づけである。これに対して Buserら¹⁰⁾ は、表面処理を施した材料の周囲において実際に骨組織が形成される様子を評価するために、生体内へ材料を埋込む *in vivo* 試験を行っている。具体的には、純Ti製のインプラントに対して投射加工やエッチング、溶射などの手法で微細な凹凸を形成させた試験片を豚の脛骨・大腿骨へ埋入し、その周囲に形成された骨組織の顕微鏡観察を行っている。その結果、投射加工により比較的低周波の凹凸パターンを形成した後に酸エッチングにより高周波の凹凸パターンを形成した場合に、インプラントと骨とが直接結合された部位がもっとも広範囲に及ぶことを示している。

これらの内容をまとめると、プラスト処理などにより形成した凹凸面が、骨形成を何らかの形で促進するという結論を得られている。しかしながら、その詳細なメカニズムについては必ずしも統一的な見解がないため、どのような凹凸を形成させればより最適なものに近づくかということに関する議論は行われていないようである。

3. 微粒子ピーニング処理を用いた生体適合表面の創製

著者らは最近、微粒子ピーニングを利用することにより、基盤表面への凹凸の形成のみならず、投射粒子の表面への拡散を利用することにより、細胞がその表面で活性を維持しやすいような表面創製を最終目的とした研究を行っている^{11)~13)}。本章ではその一部について概要を紹介することにする。

図1は酸化タンゲステンの粒子を用いてチタン合金の表面にFPB処理を施し、その表面を走査電子顕微鏡により観察したものである。インプラント表面への凹凸の形成は、すでに人工股関節システムなどに実用化されている通り、アンカー効果により骨組織との機械的な噛み付きを向上させる。著者らは、それに加え、投射粒子の拡散を利用した耐

図2 アノード分極試験による電気化学特性の比較

図3 分極試験後の溶液に溶出した金属イオンの比較

食性の向上や拡散に伴う細胞毒性の抑制、さらには凹凸形成により細胞の活性化などをもちたらしめたいと考えている。なお、ここで紹介する論文^{11) 13)}のなかでは、酸化タンゲステン粒子のほかにアルミナやハイドロキシアパタイトの粒子を用いたFPB処理も行っているが、本稿では紙面の都合上その内容は割愛することとする。

図2は酸化タンゲステンの粒子を用いてFPB処理を施した表面の電気化学特性を未処理材のそれと比較したものである。基材表面の耐食性を向上させるということは、単に基材の劣化を抑制するのみならず、生体に対しては、金属イオンの溶出を抑制するという観点からも良い効果をもたらすものといえる。

このような観点から、基本的な電気化学特性を比較することにする。まず、印加する電位が1V vs. SCE付近において、電流密度の急激な上昇が観察される。これは表面に存在する凹凸部において濃淡電池が形成され、アノード反応が一時的に促進されたことによるものと考えられる。その後は安定し、3Vを超えても低い値を保っている。このことは、通常のチタン合金と比較して、酸化タンゲステン粒子を用いてFPB処理を施した材料の耐食性が大きく劣るものではないことを示すものである。

次に、このようなアノード分極試験終了後に溶液を回収し、そこに溶出しているTi, V, Alのイオン濃度を原子吸光光度計により測定した。その結果が図3である。ここで

図 4 酸化タンゲステン粒子により FPB 処理を施した表面の X 線光電子分光法 (XPS) による分析結果

図 6 細胞培養試験に用いる試験セル

図 5 酸化タンゲステン粒子により FPB を施した表面近傍の傾斜組成構造の模式図

図 7 試料表面の細胞毒性の比較

は、チタン合金を構成する主成分である 3 種類の金属イオンの溶出量を測定したが、いずれの場合にも、未処理材と比較してその溶出濃度は低下していることがわかる。

この理由を調べるために、酸化タンゲステン粒子を投射した試験片の表面近傍について X 線光電子分光法 (XPS) による分析を行った (図 4)。図 5 は、分析結果を模式的に示したものであり、最表面には酸化タンゲステンの付着層が形成され、その直下にはタンゲステンの拡散層が傾斜

的に形成されることを示している¹²⁾。これらの形成層の影響により、チタン合金の腐食特性は向上するものと考えている。

以上に述べてきた耐食性の変化が、細胞適合性に及ぼす影響を検討するために、本研究では、未処理材と酸化タンゲステン粒子を用いて FPB 処理を施した試験片表面上で、細胞培養試験を行った。具体的には図 6 に示すテフロン製の容器に設置した試験片表面に接するよう状態で、5 日間

にわたり KM 102 ヒト骨髄間質細胞の培養を行い、試験後の溶液に含まれる乳酸脱水酵素 (LDH) の量を測定することにより細胞の死亡率を評価した。図 7 にその結果を示す。同図の縦軸は溶液の吸光度の値であり、死亡した細胞数に対応している。すなわち、その値が小さいほど試料表面の細胞に対する毒性が少ないことを示している。同図から、酸化タンゲステンの粒子を用いて FPB 処理を施すことにより、細胞に対する毒性の少ない表面を形成することが可能ながわかる。なお、この理由に関しては表面の耐食性の向上も 1 つの要因と言えるが、凹凸の形成と細胞活性の関連性という観点からもさらなる検討を行うことが必要と考えている。

4. お わ り に

FPB (微粒子ピーニング) 処理は、古くて新しい表面処理として、その使用用途の拡大が期待されている。もともと機械部品を対象として開発された技術であるが、とくに投射粒子の拡散をより積極的に促すようなプロセスが開発できれば、医療分野においてもさらなる用途拡張が可能ではないかと考えている。

参 考 文 献

- 1) H.M.Kim, F.Miyaji, T.Kokubo, T.Nakamura: Apatite-Forming Ability of Alkali-Treated Ti Metal in Body Environment, 日本セラミックス協会学術論文誌, **105**, 2 (1997) 111.
- 2) K.Nishio, M.Neo, H.Akiyama, S.Nishiguchi, H.M.Kim, T.Kokubo, T.Nakamura: The effect of alkali- and heat-treated titanium and apatite-formed titanium on osteoblastic differentiation of bone marrow cells, J.Biomed.Mater.Res, **52**, 4 (2000) 652.
- 3) 久森紀之, 高井健一, 丸山裕治: アルカリ処理による骨類似アパタイトコーティングチタン合金の微細構造と破壊特性の向上, 材料, **53**, 1 (2004) 101.
- 4) X.X.Wang, W.Yan, S.Hayakawa, K.Tsuru, A.Osaka: Apatite deposition on thermally and anodically oxidized titanium surfaces in a simulated body fluid, Biomaterials, **24**, 25 (2003) 4631.
- 5) B.Yang, M.Uchida, H.M.Kim, X.Zhang, T.Kokubo: Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment, Biomaterials, **25**, 6 (2004) 1003.
- 6) 井上孝, 吉成正雄, 鮎川保則, 田中輝男, 下野正基: 歯科インプラントと生体骨組織との界面 —表面構造の影響—, 表面技術, **49**, 7 (1998) 682.
- 7) K.T.Bowers, J.C.Keller, B.A.Randolph, D.G.Wick, C.M.Michaeis: Optimization of Surface Micromorphology for Enhanced Osteoblast Responses In Vitro, Int. J. Oral Maxillofac Implants, **7**, 3 (1992) 302.
- 8) K.Mustafa, A.Wenneberg, J.Wroblewski, K.Hultenby, B.S.Lopez, K.Arvidson: Determining optimal surface roughness of TiO₂ blasted titanium implant material for attachment, proliferation and differentiation of cells from human mandibular alveolar bone, Clin. Oral. Impl. Res., **12** (2001) 515.
- 9) C.C.Berry, G.Campbell, A.Spadiccino: The influence of microscale topography on fibroblast attachment and mobility, Biomaterials, **25**, 26 (2004) 5781.
- 10) D.Buser, R.K.Schenk, S.Steinemann, J.P.Fiorellini, C.H.Fox, H.Stich: Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs, J. Biomed. Mater. Res., **25** (1991) 889.
- 11) K.Murai, J.Komotori, Y.Kameyama, T.Yamada, E.Shimodaira: Biocompatibility of Ti-6Al-4V alloy modified by Fine Particle Bombardment (FPB), Ti-2003 Science and Technology - Proceedings of 10th World Conference on Titanium Ti-2003, 2003, **5** (2003) 3361.
- 12) Y.Kameyama, J.Komotori, E.Shimodaira: Diffusion Induced by Fine Particles Bombardment (FPB) Treatment, Journal of Material Testing Research Association of Japan, **48**, 4 (2003) 241.
- 13) 亀山雄高, 小茂島潤, 山田健人: 微粒子ピーニング処理を用いた生体親和表面の創製, 砥粒加工学会誌, **49**, 2 (2005) 86.