

整形外科インプラント用発泡チタン  
および発泡ステンレス鋼の研究

**Titanium and Stainless Steel Foam  
for Orthopaedic Implants**

2014年2月

加藤 公明

整形外科インプラント用発泡チタンおよび  
発泡ステンレス鋼の研究

**Titanium and Stainless Steel Foam  
for Orthopaedic Implants**

2014年2月

早稲田大学大学院 基幹理工学研究科

加藤 公明

# 目次

<b>第1章 序章</b>	<b>1</b>
1.1 緒言	1
1.1.1 高齢化と健康寿命	1
1.1.2 整形外科用インプラントとインプラント材料	4
1.2 従来の研究	6
1.2.1 インプラント表面用多孔体の従来研究	7
1.3 インプラント用多孔体評価の従来技術	31
1.3.1 高気孔率多孔体の機械的特性評価方法	31
1.3.2 金属の細胞適合性評価方法	32
1.3.3 金属の耐食性評価方法	33
1.4 本研究の目的	33
1.4.1 インプラント表面用発泡 Ti の研究	34
1.4.2 インプラント構造用発泡 Ti の研究	35
1.4.3 インプラント表面用発泡 SUS316L の研究	35
1.5 本論文の波及効果	35

1.5	本論文の構成	36
第1章	参考文献	39
<b>第2章</b>	<b>インプラント表面用発泡 Ti の研究</b>	<b>47</b>
2.1	緒言	47
2.2	スラリー発泡法の原理と製造プロセス	49
2.2.1	スラリー発泡法の原理と製造プロセス	49
2.2.2	スラリー発泡法の孔径制御	52
2.3	発泡 Ti の物理的・化学特性および顕微鏡写真	54
2.3.1	発泡 Ti の化学分析結果	54
2.3.2	発泡 Ti の結晶組成	55
2.3.3	発泡 Ti の光学顕微鏡および SEM 画像	56
2.4	試験方法と試験片	57
2.4.1	引張試験と圧縮試験方法および試験片	57
2.4.2	耐食試験片と試験方法	63
2.4.3	細胞適合性試験片と試験方法	66
2.5	試験結果および考察	70
2.5.1	引張試験と圧縮試験結果	70

2.5.2	引張試験と圧縮試験結果の考察	76
2.5.3	耐食試験結果および考察	82
2.5.4	細胞増殖試験結果および考察	85
2.6	まとめ	89
第2章	参考文献	90
第3章	インプラント構造用発泡 Ti の研究	93
3.1	緒言	93
3.2	試験方法と試験片	94
3.2.1	引張試験と圧縮試験方法および試験片	94
3.2.2	細胞侵入試験方法および試験片	100
3.2.3	細胞石灰化試験方法および試験片	101
3.3	試験結果および考察	105
3.3.1	引張試験と圧縮試験結果	105
3.3.2	引張試験と圧縮試験結果の考察	109
3.3.3	細胞侵入試験結果および考察	114
3.3.4	細胞石灰化試験結果および考察	117
3.4	まとめ	120

第3章 参考文献	121
<b>第4章 インプラント表面用発泡 SUS316L の研究</b>	<b>123</b>
4.1 緒言	123
4.2 試験方法と試験片	124
4.2.1 引張試験と圧縮試験方法および試験片	125
4.2.2 細胞適合性試験の方法と試験片	127
4.3 試験結果と考察	133
4.3.1 引張試験と圧縮試験結果および考察	133
4.3.2 細胞適合性試験結果および考察	136
4.4 まとめ	143
第4章 参考文献	143
<b>第5章 総括</b>	<b>145</b>
5.1 本論文の総括	145
5.2 今後の課題と展望	149

<b>研究業績</b>	<b>151</b>
1 論文	151
2 その他論文および解説	152
3 講演	153
4 国家プロジェクト委員	154
5 特許	155
<b>謝辞</b>	<b>157</b>

# 第1章 序章

## 1.1 緒言

### 1.1.1 高齢化と健康寿命

2010年度日本人の平均寿命は男性 79.6 歳，女性 86.4 歳であり世界有数の長寿国である．高齢化率（65 歳以上人口比率）も 2010 年 23%であり欧州各国を抜き世界トップである．高齢化社会は一般的に高齢化率によって呼称分けされており，7%以上を高齡化社会，14%以上を高齡社会，そして 21%以上を超高齡社会と呼ばれている．日本は 1970 年に高齡化社会となり，1994 年に高齡社会，2007 年に超高齡社会を迎えている．

Fig. 1.1 は 1950 年から 2060 年までの先進国，アジア諸国および日本の高齢化率推移と予測を示したものである<sup>(1)</sup>．日本は 20 世紀終盤に欧米先進国と高齢化率で肩を並べ，21 世紀に世界一の高齢化率に達した．いかに高齢化の進展が世界に類をみない速さであったかがグラフの傾きからも見て取れる．しかしながら社会の高齢化は先進国固有の問題ではなく，アジア諸国をはじめ発展途上国も 21 世紀なかばまでに高齡社会を迎えると予測されており，人類の課題と考えられる．

先進国における 20 世紀の人口増加と高齢化は工業化による人口動態の変換と考察されている．すなわち食糧供給改善と感染症対策とともに出生と死亡の関係が多産多死型→多産少死型→少産少死型と変化し（人口転換）高齡化社会がもたらされるのである．日本の高齡化は Fig. 1.2 に見られるように出生率の低下による 19 歳以下の年齢層の減少による人口転換と考えられ，人類の課題に世界に先駆けて向かい合っていると考えられる．日本の対応は人類のモデルともなりうる可能性がある．



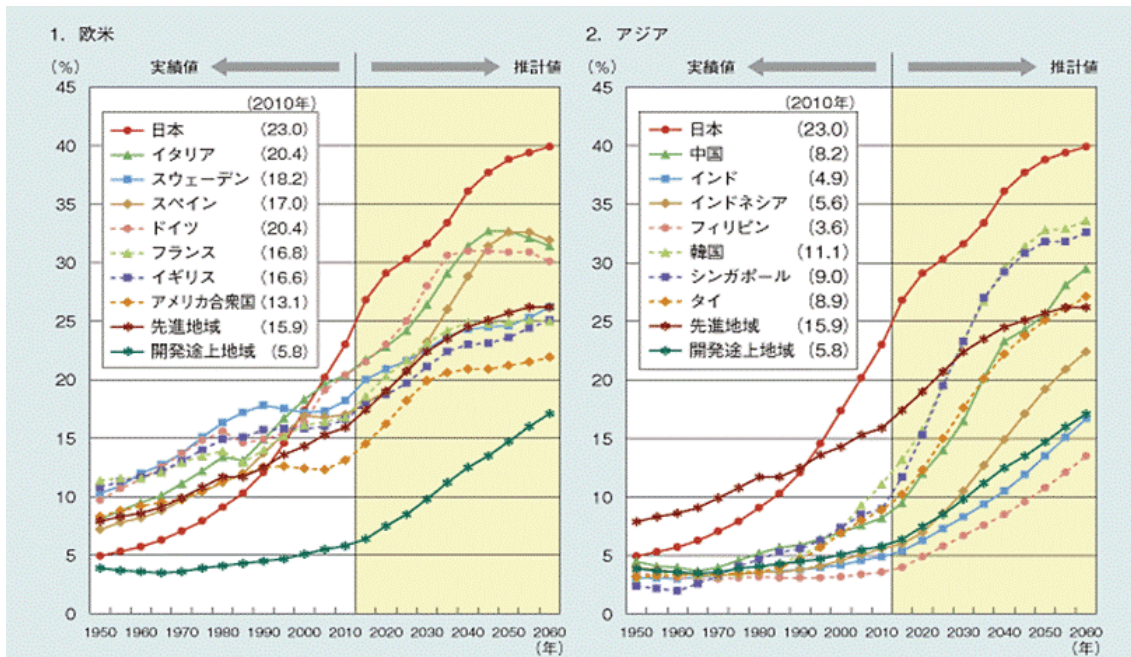


Fig. 1.1 Population aging rates in the advanced countries and the Asian countries<sup>(1)</sup>.

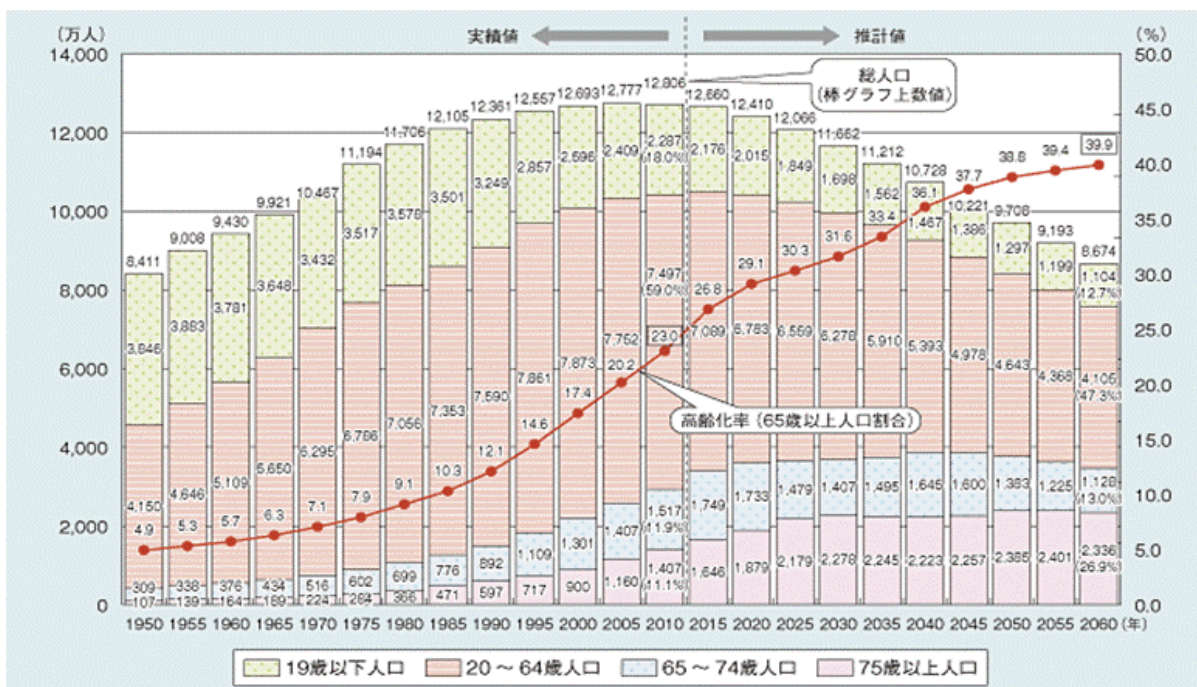
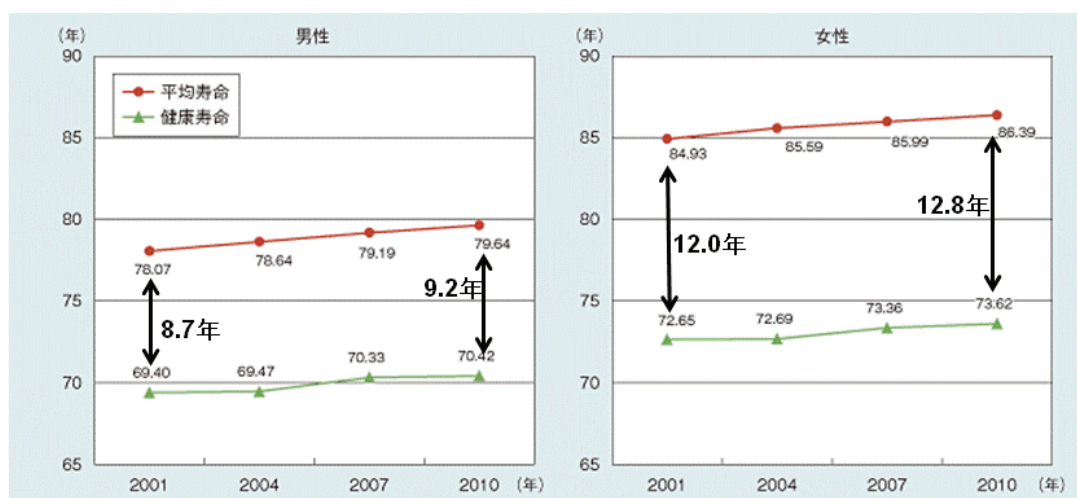


Fig. 1.2 Japanese population prospects and aging rates<sup>(1)</sup>.

1970年から2005年までは高齢化率は増加したが、総人口も増加傾向であった。2010年以降については、総人口が減少していく中、負担増に対しどこまで財政的に負担できるか、社会的課題といえる。

このような状況において高齢者の社会的負担を減らす施策の一つは、高齢者の健康寿命を延ばすことと考えられている。健康寿命とは自立して健康な日常生活を送れる生存期間であり、世界保健機関（WHO）によって2000年に設定された健康状態を評価する指標である。日本人の健康寿命はWHOの2004年レポートで世界1位と報告されている。最近の日本人の健康寿命の推移をFig. 1.3に示す<sup>(2)</sup>。この図から最近10年で平均寿命の伸びに比較して健康寿命の伸びが少なく、自立して健康な日常生活を送ることが出来ない期間が増加したことが見て取れる。高齢者の健康寿命を損なう要因の一つは腰や膝といった運動器に支障をきたす運動器疾患である。運動器疾患治療により健康寿命を延ばすことは、高齢者の生活の質(QOL, Quality of Life)を保ち、同時に社会的負担を減らすことにつながると言えよう。



**Fig. 1.3 Average life span and healthy life span of the Japanese men and women in 2001–2010<sup>(2)</sup>.**

### 1.1.2 整形外科用インプラントとインプラント材料

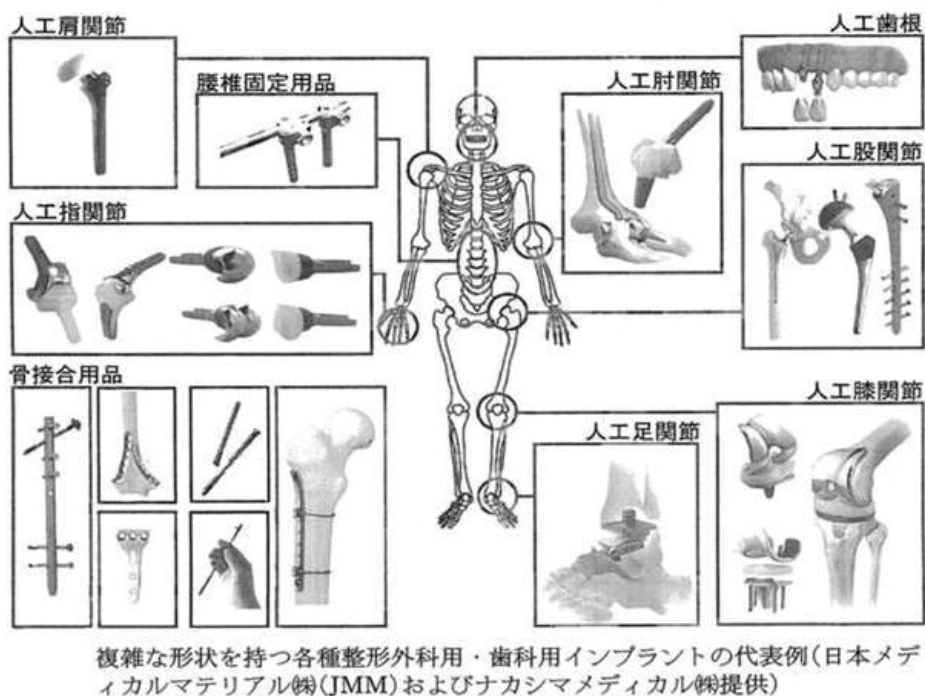
加齢に伴う腰や膝の疼痛は日常生活における運動障害となり QOL の低下をもたらす。高齢者の健康寿命を損なう要因の一つが運動器疾患であり、健康寿命を延ばすには腰や膝といった運動器を支障なく使い続けられることが求められる。運動器疾患には変形性関節疾患などの変性疾患、転倒による骨折、骨粗鬆症あるいは骨肉腫などの疾患がある。従来多くの運動器疾患治療は保存療法であるが、疼痛を伴うことで日常生活に支障をきたすケースでは手術療法が選択される。高齢者が転倒により足の付け根を骨折するような場合、長期の骨折治癒期間が必要になる。高齢者に対する長期の保存治療は筋力低下と運動機能低下による寝たきりに陥るリスクが高いため高齢者であっても手術療法を患者自ら選択する割合が増加している。

脊椎脊髄疾患に関してみると、1980年代までは椎間板ヘルニアで2-3週間入院することを当然のこととして社会的に認められてきた。現在では、手術技術の進歩により椎間板ヘルニアも即入院・手術、数日後退院といったコースを取ることが多くなってきた。内視鏡、手術用顕微鏡、開創器といった手術機器の進歩による低侵襲手術治療はマスコミで大きく取り上げられており、脊椎脊髄疾患手術に対する患者の恐怖感が低減されている。そのため手術を選択し早期社会復帰を目指す患者が増加してきたと考えられている。

整形外科用インプラントは骨組織および軟骨組織の損傷にともなう骨あるいは関節の代用品として身体を支持し日常生活を可能とする機能が求められている。インプラントは近接した骨と結合させることにより、近接した骨と一体となりその機能を果たすことができる。インプラントには人工関節、骨折固定器具、脊椎内固定器具、椎体スペーサー、椎間

スペーサーなどがあり，それらの例を Fig1.4 に示す<sup>(3)</sup>。

インプラントを製造する医療機器産業は国際競争力が十分とはいえず大幅な輸入超過となっている．整形外科用インプラントの世界市場規模は 2.4 兆円に対し，国内市場規模は 1.500 億円である．日本メーカーの国内シェアは 15%あまりのため，85%を輸入に依存しなければならず大幅な輸入超過となっている．欧米のインプラントメーカーの販売規模と比較すると，日本のメーカーは 2 桁の大きな規模の差がつけられており国際競争において厳しい状況に陥っている<sup>(4)</sup>。



**Fig.1.4 Typical implants for orthopaedics and dentistry<sup>(3)</sup>.**

インプラントには力学的要請から金属材料が多く使われている。インプラント用の金属材料は歴史的に一般産業用 Ti および航空機用 Ti 合金あるいはステンレス鋼（耐食性から **SUS316L**）を医療用に転用，改良され利用されてきた。生体材料（インプラント材料）は比較的新しい材料分野であり，求められる固有な特性として生体適合性が挙げられる。生体適合性とは生体材料が体内に埋植された際，生物学のおよび力学的に生体組織に適合する性質を意味している。その具体的内容は生体安全性（細胞非毒性，非アレルギー性，非発ガン性），生体親和性（力学的適合性，細胞適合性），耐久性（疲労強度，耐食性）などから構成されている<sup>(4)</sup>。運動器疾患に用いられる整形外科用インプラント材料は体内に埋植されるため，特に生体親和性が問題とされる。すなわち骨と結合する細胞適合性および骨と同等な強さで身体を支え日常生活を可能とする力学的適合性である。インプラント材料として広く使用されているノンポーラス Ti および Ti 合金は骨に比べ高ヤング率であり力学的適合性問題を指摘されてきた。ノンポーラス材料の生体親和性改善を目的とした Ti 多孔体研究が近年盛んに行われている。

本論文は運動器疾患の治療に用いられるインプラント材料の生体親和性の課題にかんがみ，インプラント用 Ti 多孔体の実用化を最終目的とし，独自開発した量産性に優れた発泡 Ti および発泡 **SUS316L** の生体親和性（力学的適合性，細胞適合性）を研究，評価した結果をまとめたものである。

## 1.2 従来の研究

### 1.2.1 インプラント用多孔体の従来研究

#### A インプラント表面用多孔体の従来研究

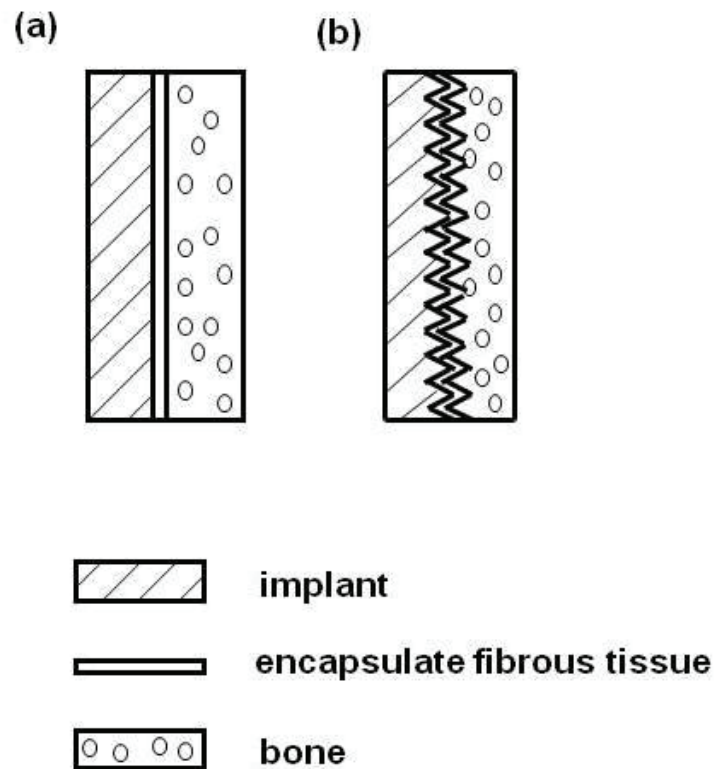
##### A.1 セメント固定とセメントレス固定

先に述べたようにインプラント材料は体内に埋植されるため、生体親和性が問題とされる。Ti 多孔体研究には、インプラント表面の骨と結合する細胞適合性にかかわる研究およびインプラント構造材として骨と同等な強さで身体を支え日常生活を可能とする力学的適合性にかかわる研究がある。インプラント表面用多孔体の従来研究について述べる。

骨との結合に関する技術は、20 世紀後半に整形外科分野において進展した。大きな発展は 1958 年イギリス人医師チャンレー卿による人工股関節ステムへの骨セメント採用よってもたらされた。骨セメントとは、19 世紀後半から生産が開始されたアクリル樹脂（polymethylmethacrylate, PMMA）であり、第二次世界大戦以降歯科、医科で広く使用されるようになった。骨セメントは数分で硬化し扱いやすいが、骨と結合するのではなく一層の繊維組織を介して骨表面の凹凸に骨セメントが陥入する錨着効果によって材料を骨に固定している。またチャンレー卿は人工股関節に超高分子ポリエチレン（UHMWPE）とステンレス鋼を骨頭部に組み合わせた低摩擦性関節形成術を導くプロトタイプを 1962 年にはじめて開発した。チャンレー卿による人工関節はセメント固定と低摩擦性関節形成術の成功によって、1970 年代から世界に急速広まった。その後、さまざまな機種が登場したにもかかわらず現在でも最も臨床に使用されている機種である。

セメント固定の課題としては高い重合熱、未重合モノマーの溶出など

が指摘されているが，骨との固定が短期間で完成させられるため現在も広く利用されている．しかしながら長期間の使用に対して，この界面にせん断力が加わることで繊維組織の厚みが増し，弛みにつながるとの指摘もあった．そのため，セメントレス固定の人工関節の開発が促された．セメントレス固定の原理を Fig.1.5 に示す<sup>(5)</sup>．



**Fig. 1.5 Schematic explanation of the interface, (a) flat implant surface and (b) concavo-convex surface<sup>(5)</sup>.**

一般的に Fig.1.5(a)に示すような表面平滑なインプラントは骨内に挿入されると線維組織によって被包される。Fig.1.5(b)のように凹凸をつけたインプラント表面は凹凸による骨芽細胞付着表面積増加（アンカリング効果；anchoring effect）および凹凸に沿った骨芽細胞の侵入（ボーンイングロース；bone in-growth）を促すため、インプラントとの結合（機械的嵌合）が促進される<sup>(5)</sup>。

## A.2 インプラント表面用多孔体の従来研究，その1（1970-1990）

1970年頃から人工関節と骨との長期安定結合を目的とした骨セメントを使用しない、セメントレス人工関節開発が活発に開始された<sup>(6)</sup>。それは金属粉末あるいは金属細線を既存加工技術である溶射、金属ビーズ焼結等の手法を用いインプラント表面に Fig.1.5(b)のように凹凸形状を意図的に付与することで骨との結合を促進させる技術である。

初期の研究として、HahnらはTi粉と酸化Ti粉の混合粉をプラズマスプレー法によってTi製ピンに溶射し、気孔率40–50%、気孔径50–130 $\mu\text{m}$ 、厚さ0.13mmの開孔をもつコーティング層を作製した<sup>(7)</sup>。羊の大腿骨に埋植し、コーティング層のフリーのコントロール用ピンとトルク試験を行い、コントロールの20倍のせん断強度があることを示した。また9ヶ月経過後も炎症反応などの異常な生体反応を示さないことを報告し、表面コーティング層の有効性を示した。ここで気孔率は(1.1)式である。

$$P = \{1 - (\rho^* / \rho_s)\} \times 100 \quad (1.1)$$

$P$  : 気孔率 (%)

$\rho^*$  : 多孔体のみかけ密度 ( $\text{gcm}^{-3}$ )

$\rho_s$  : バルク材Tiの密度 ( $\text{gcm}^{-3}$ )

また Bobyn らは Co–Cr–Mo 合金（ASTM F75, 商品名 Vitallium）の 4



種類異なる孔径をもつガスアトマイズ粉末をビーズ焼結法により同じ合金の鋳造棒に非酸化雰囲気中で焼結し試験片を作製した。ビーズ焼結したコーティング層は気孔率30-35%、気孔径A-Dの4種類(A:20-50 $\mu\text{m}$ , B:50-200 $\mu\text{m}$ , C:200-400 $\mu\text{m}$ , D:400-800 $\mu\text{m}$ )であり、層厚さは0.15-1.8mmである。試験片寸法は4.5 $\phi$ ×9mmである。ビーグル犬の大腿骨に4種類の試験片を埋植し、4, 8, および12週後のせん断強度を測定した。その結果をFig.1.6に示す。試料B, Cのせん断強さは試料AおよびDに比較し大きく優れた骨との結合を示している。

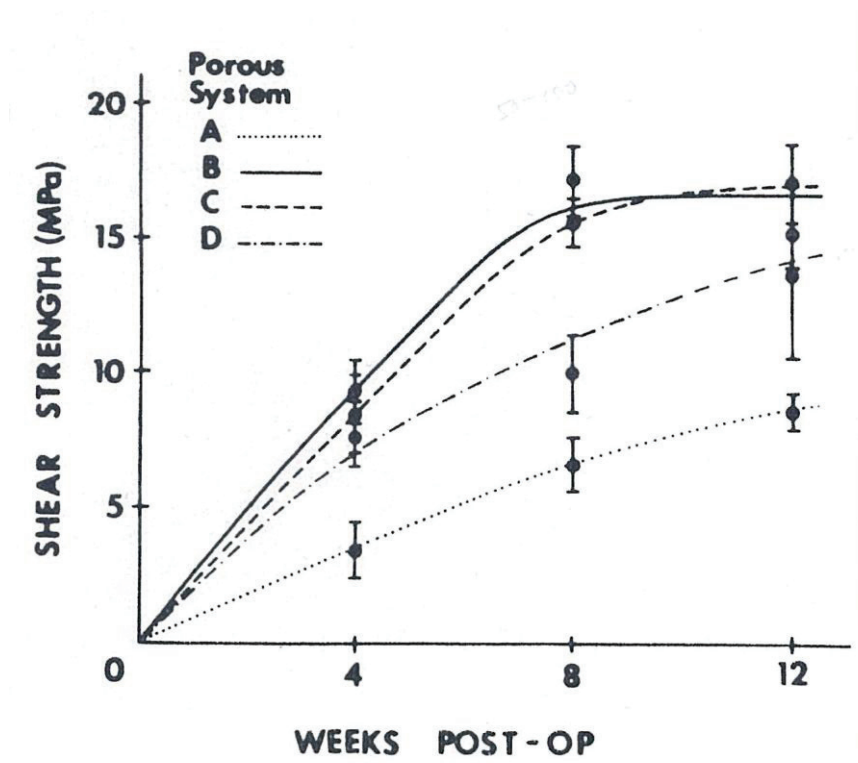
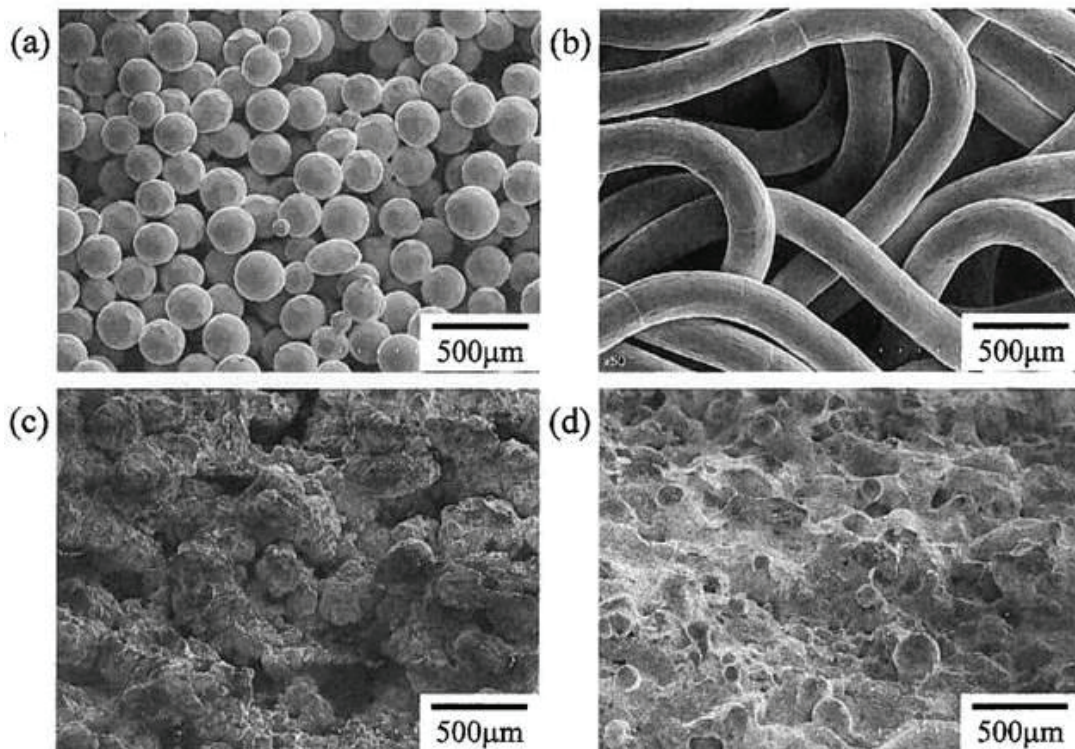


Fig.1.6 Shear strength of sample A-D against weeks<sup>(8)</sup>.

すなわち表面コーティング層の孔径には，早く骨と結合させる最適寸法域  $50-400\mu\text{m}$  があることを示していた．試料 B，C の 12 週後の到達せん断強さ  $17\text{MPa}$  は，計算されるせん断強さと一致することも示した．すなわち，犬の皮質骨のせん断強さが約  $60\text{MPa}$  であり，試料の気孔率  $30\%$  から  $(60 \times 0.3) 18\text{MPa}$  となるため計算値と実験値はほぼ一致していた．

1970-1990 年に開発されたインプラン表面処理技術は，改良を加えられ，現在も広く人工関節に使われている<sup>(9)</sup>．それら表面処理の写真，(a) Co-Cr 合金のビーズ処理，(b) Ti ファイバーメッシュコーティング，(c) Ti 粉プラズマ溶射，(d) Ti 粉アーク溶射を Fig.1.7 に示す．



**Fig.1.7 Surface coatings on artificial joints<sup>(9)</sup>.**  
(a) Co-Cr alloy beads sintering (porosity 30-50%)  
(b) CP-Ti mesh sintering (porosity 40-50%)  
(c) CP-Ti powder plasma spray (porosity 40%)  
(d) CP-Ti arch spray (porosity under 1%)

しかしながら、それらの表面処理方法には、骨との結合という観点から検討すると、孔形状のサイズ、連通性および気孔率に対し変動が大きく、均一性の点で改善が求められた。

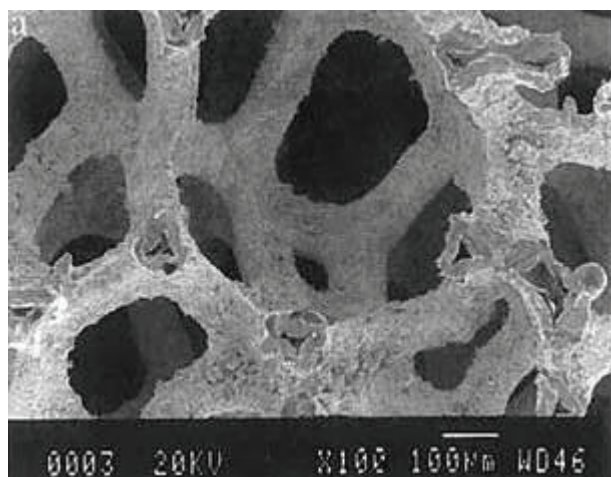
1970年代に始められたセメントレス人工関節の表面処理技術の問題を整理すると、次の2点が挙げられる。

(1) 凹凸形状あるいは孔寸法の変動が大きい

(2) 気孔率が50%以下と低く、連通孔を均一にすることに限界がある  
これらの問題を克服し、より早く安定した骨との結合を促す表面処理技術の研究開発が望まれた<sup>(10)</sup>。

### A.3 インプラント表面用多孔体の従来研究、その2 (1990-2013)

上記(1)、(2)の課題を改善するため、1990年代後半から気孔形状を改善し積極的にボーンイングロースを促す、連続した3次元貫通孔を持つタンタル(Ta)多孔体の開発評価が行われた<sup>(11,12)</sup>。その製造方法はレプリカのグラスカーボン多孔体上に Chemical vapor infiltration(CVI) による純 Ta 被覆を厚さ 40-50 $\mu\text{m}$  行い焼結したものである。Fig.1.8 にその Ta 多孔体を示す。気孔率は 75-85% と高气孔率であり、孔径は 550 $\mu\text{m}$  である。技術的には一般産業分野の多孔質金属製造技術を医療用に応用した用途開発であるが、表面処理技術の課題(1)、(2)を克服した画期的な開発であった。Ta 多孔体の圧縮試験の耐力は 35MPa、ヤング率は 1.5GPa、引張試験の耐力は 47MPa、ヤング率は 8GPa と荷重方向差が報告されている。表面処理の材料として Ta 多孔体は十分な強度（海綿骨と皮質骨の中間の値）を示しており、整形外科、股関節インプラント臼蓋部表面処理用において良好な初期固定が報告された<sup>(13)</sup>。しかしながら、Ta 多孔体は CVI プロセスコストが高いという問題も抱えていた。



**Fig.1.8 SEM Micrograph showing porous Ta<sup>(11)</sup>.**

2000 年以降，上で述べた Ta 多孔体の開発成功の影響をうけ，純 Ti (CP-Ti) を中心として，多孔体製造プロセス研究開発が活発に実施され，またレビュー論文も発表された<sup>(14,15)</sup>．レビューではインプラント表面用多孔体にとって最適な気孔率，孔径について次のようにまとめられている．気孔率については各種動物実験の結果，気孔率が低いほうが骨形成に効果があったという報告が存在しないことから，高い方が良いと結論づけた．気孔率の上限は負荷される機械的特性が制限するとした．孔径については動物実験および細胞増殖試験等の試験によって最適径を 100-500 $\mu\text{m}$  としていた．下限寸法は骨芽細胞の侵入を確保する寸法であり，上限寸法は繊維組織に被覆されない寸法と考えられている．しかしながらそれらの研究は気孔率が比較的低い 30-60% の多孔体に関するものであり材質も Ti 合金等が含まれていた．インプラント表面用 Ti 多孔体用途に必要な高気孔率 Ti 多孔体について，孔径を 100-500 $\mu\text{m}$  の範囲で変量させ細胞増殖に適した孔径を評価する研究は課題であった．

主な多孔体のプロセス開発としては，本論文に用いたスラリー発泡法<sup>(16-18)</sup>，スペースホルダー法<sup>(19-23)</sup>，さきに Ta で示した CVI のかわりにス

ラリーを塗布するレプリカ法<sup>(24)</sup>, ラピッド・プロトタイピング法(RP)<sup>(25-28)</sup>などが研究されてきた。いずれの製法も海綿骨と同等あるいは同等以上の圧縮試験特性を有していた。材料としては先に述べたインプラント設計から見込まれる設計強度を満たす必要があるが、インプラント表面 Ti 多孔体の強度は海綿骨と同等にするのが最適な基準、という考えも生物模倣原理 (biomimetic principle) から一般的に認められている<sup>(15)</sup>。

Fig.1.9 に主要なプロセスを模式図で図解するとともに、Table 1.1 にそれらの特徴、課題を一覧表で示す。A.2 において提起された課題(1), (2) は改善された。しかしながら CVI 法をはじめ各プロセスとも何らかの改善すべき点があることも指摘されている<sup>(15)</sup>。その改善すべき点を考察すると下記①-③の全ての条件を満たす必要があることが判明した。そして Fig.1.9(d) に示すスラリー発泡多孔体は全ての条件を満たす可能性が高かった。

- ① 気孔率が 70%以上であり連通孔が 100-500 $\mu\text{m}$  の範囲
- ② 海綿骨強度を有す
- ③ 低コストプロセスで製造できる

材質は Ti が中心であり、歴史的に多くの実績がある SUS316L に関する多孔体研究は少なく、スペースホルダー法<sup>(29)</sup>, ロータス法<sup>(30,31)</sup>が近年報告されていた。SUS316L は MRI 検査におけるゴースト発生および Ni アレルギー問題から Ni フリー合金も研究されているが<sup>(32,33)</sup>, 強度が高く, 入手性, 加工性のよい汎用材であり, 生体適合性も確認されている。医療における材料選択の多様性を確保する観点では歴史的に実績のある SUS316L の多孔体の研究が限られているのは問題であり, 上記の条件を満たす SUS316L 多孔体の研究が待たれている。

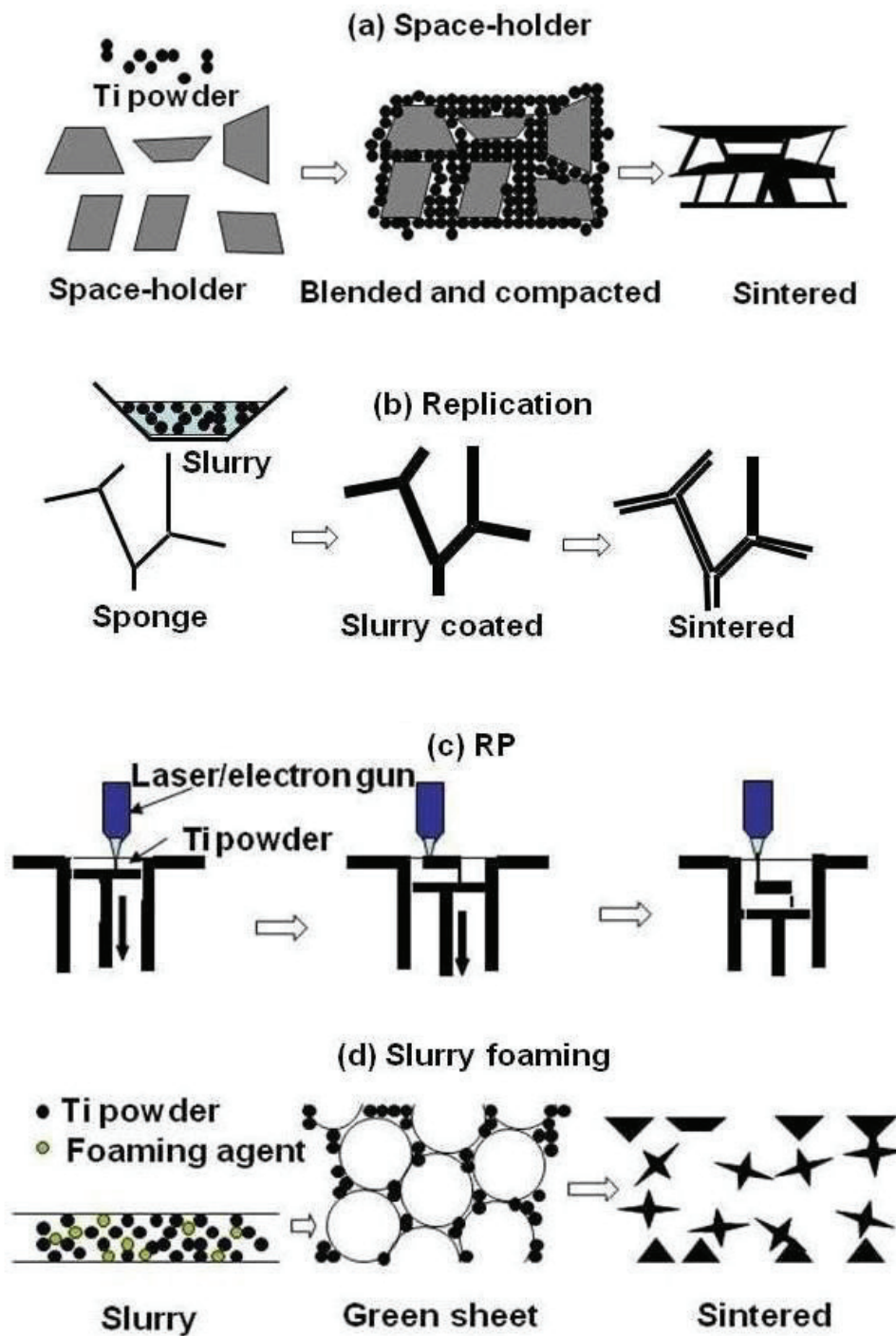
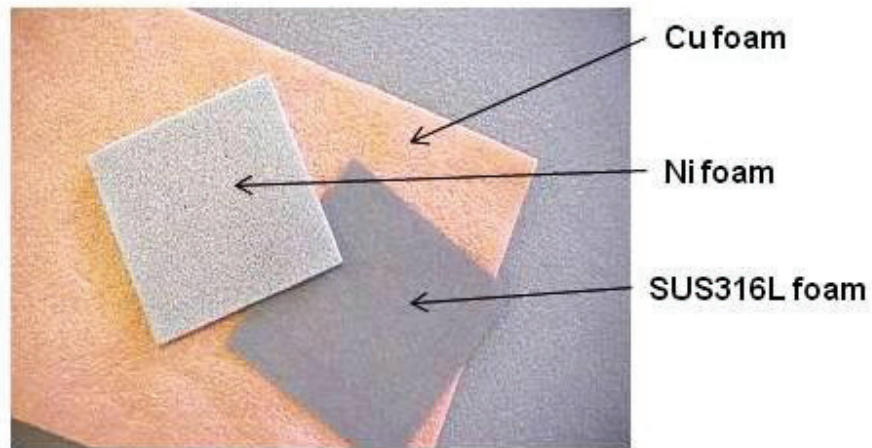


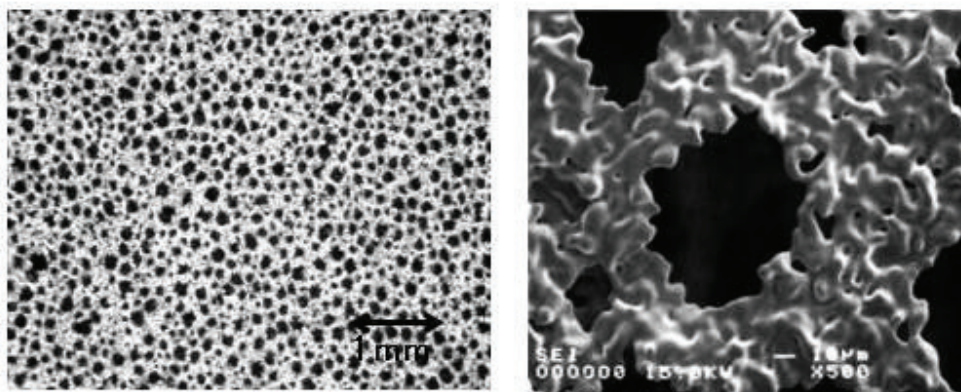
Fig.1.9 Illustration of Ti foam fabrication processes<sup>(14)</sup>.

**Table 1.1 Comparison of typical Ti foam fabrication methods<sup>(15)</sup>.**

Process	Porosity P/%	Average pore dia. D/ $\mu$ m	Benefits	Drawbacks
Space-holder	50-77	inhomogeneous	Wide range of pore size/shape	Wide range of wall thickness
Replication	75<	500<	High porosity exact replica of precursor foam	Very difficult to produce fine porosity (<500 $\mu$ m) foam
RP technique	49-65	400-1000	Precise pore size and shape is possible	Costly High porosity cannot be produced
Slurry foaming	70-95	50-600	Small pore size is possible	Pore size control is difficult



(a) Cu, Ni, SUS316L foam.



(b) Microscopic and SEM image of SUS316L foam with average of 50  $\mu\text{m}$  pore diameter.

**Fig. 1.10 Metal foam fabricated by slurry foaming.**

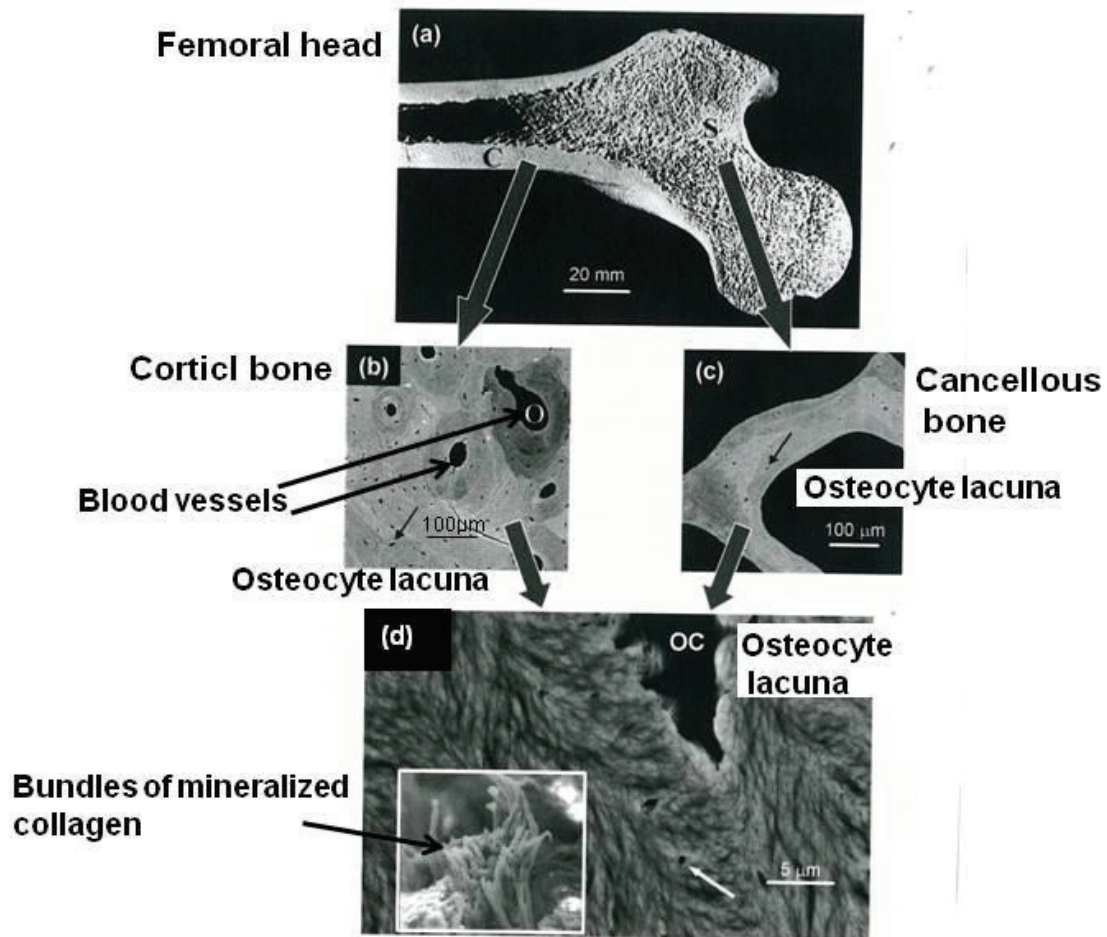


## B インプラント構造用多孔体の従来研究

### B.1 骨の構造と機械的特性の特徴

Aにおいてインプラント表面多孔体の従来研究を述べた。Bはインプラント構造材用のTi多孔体従来研究について述べる。骨の機械的特性の特徴とインプラント金属材料の力学的適合性から述べる。

骨は緻密な外殻の皮質骨と、内部の多孔質で低密度の海面骨のサンドイッチ構造をしている。この構造をとることで骨の比重を最小にし、かつ荷重支持面積を最大にする（関節への負荷を最小にする）ことができる<sup>(32)</sup>。Fig.1.11(a)に大腿骨骨頭の断面写真を示す。Cは外殻の皮質骨、Sは内側の多孔質な海面骨である<sup>(33)</sup>。CとSの反射電子顕微鏡写真(BEI)をFig.1.11(b),(c)に示す。Fig.1.11(b)の孔Oはハッバース管と呼ばれる30-50 $\mu\text{m}$ 径の血管流路であり、Oを中心に骨細胞は厚さ10-20 $\mu\text{m}$ の同心円状に5-10層点在し積層したオステオンと呼ばれる骨単位を構成する。Fig.1.11(b)は数百 $\mu\text{m}$ の径をもつオステオンの断面であり、図の矢印は骨細胞の腔(Osteocyte lacuna)ある。ハッバース層はFig.1.12に示すようなコラーゲン繊維ピッチ間64nmに生体パタイトを自己組織化させた複合材繊維をから構成されている。その複合材繊維は束ねられ一つの方向性を持って層ごとに方向を変え、撚りあわされている。周囲の生体パタイトを脱灰処理した骨細胞をFig.1.13に示す<sup>(34)</sup>。ハッバース層近傍の骨細胞から枝を互いに伸ばし周辺の骨細胞に養分を供給し骨の石灰化を行っている。Fig.1.11(c)は海綿骨にハッバース管がないことも示している。Fig.1.11(d)はFig.1.11(b),(c)の黒矢印で示す骨小腔周囲の拡大写真であり、ハッバース層の基質であるコラーゲン繊維が束になったものが1本毎の繊維として観察されている。Fig.1.14にここで述べた骨構造の全体を模式図として示す<sup>(35)</sup>。



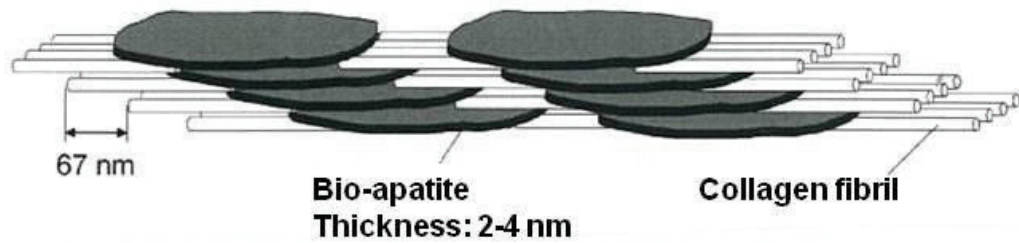
**Fig. 1.11 Bone structure of a femoral head.**

(a) A cross section of a femoral head showing the cortical bone C and the cancellous bone S inside.

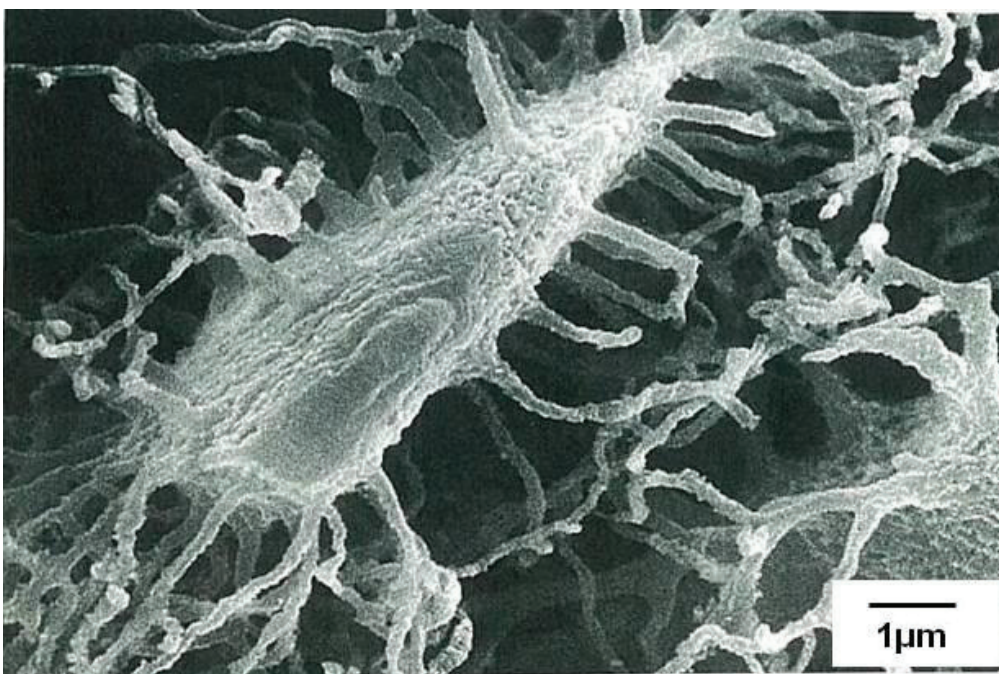
(b) Cortical bone by backscattered electron imaging (BEI), revealing several osteocyte lacuna.

(c) BEI picture of a trabeculum from the cancellous bone.

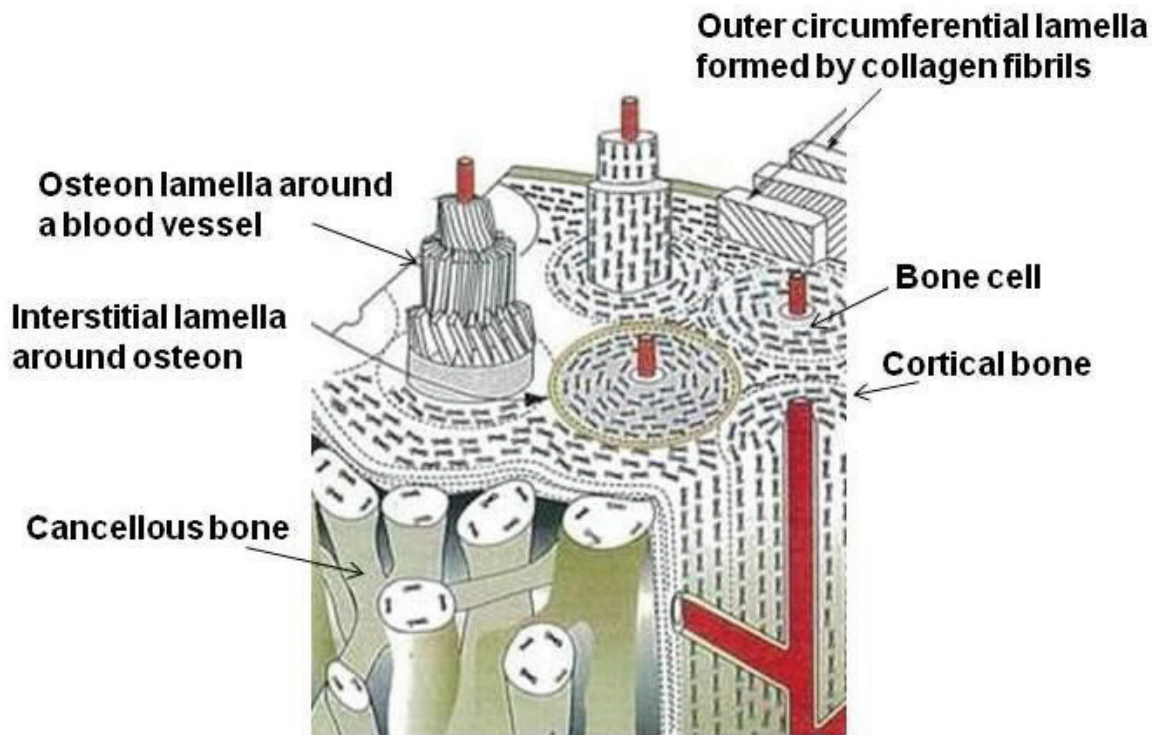
(d) The lamellar and fibrillar material matrix texture around an osteocyte lacuna (OC) as visible in SEM (white arrow)<sup>33</sup>.



**Fig.1.12 Sketch of the arrangement of mineral particles (bio-apatite) in collagen fibrils. Particles are believed to be nucleated at sites which in resister with the 67 nm period of the axial stagger of collagen molecules<sup>(33)</sup>.**



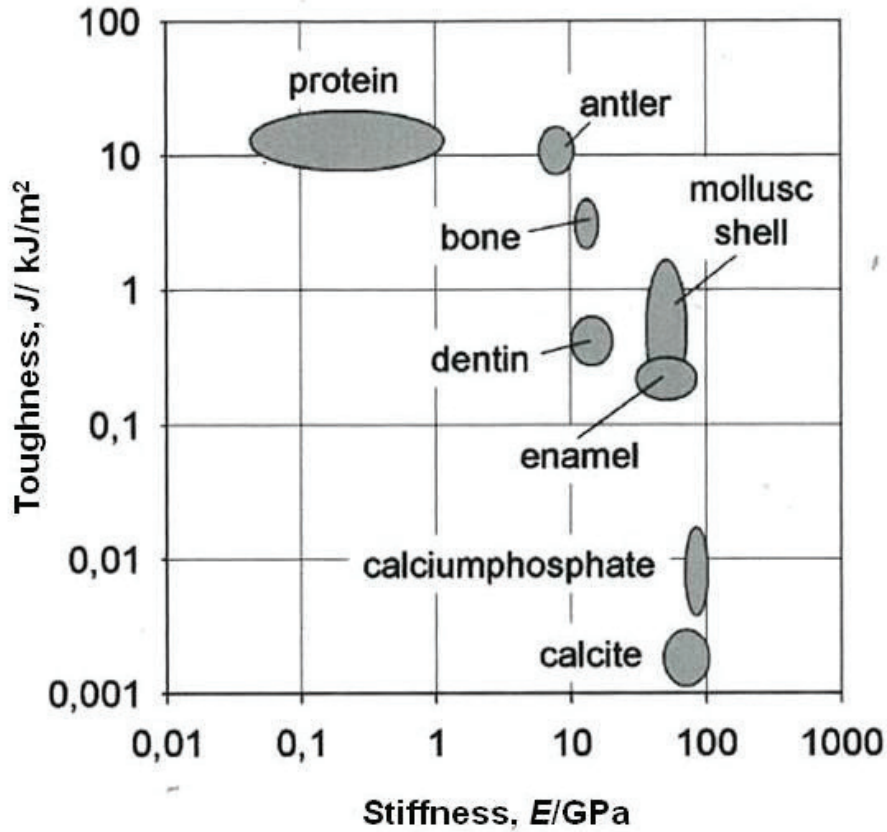
**Fig.1.13 A bone cell after decalcification treatment<sup>(34)</sup>.**



**Fig.1.14 Bone structure<sup>(35)</sup>.**

骨の機械的特性の特徴は骨構造で述べた生体アパタイトとコラーゲンの自己組織化による複合化によって生み出されている。Fig.1.15 に生体の構成要素とその複合された骨，歯などのヤング率と破壊靱性値の関係を示す。骨はリン酸カルシウム（生体アパタイト）とプロテイン（コラーゲン）の複合した特性を示している<sup>(33)</sup>。インプラントは弾性域で使用される。従って骨との力学的親和性を考える上ではヤング率が重要視されている。骨が低ヤング率を示す理由は，複合化でありノンポーラス Ti

および Ti 合金の多孔質化によるヤング率低下が期待される。



**Fig.1.15 Toughness versus stiffness for a number of biological materials<sup>(33)</sup>.**

皮質骨、海面骨および Ti のヤング率を Table1.2 に示す。骨はここに示すように 10-30GPa と Ti に比べ低ヤング率である。生体アパタイトとコラーゲンの複合材効果から金属材料と比較すると柔らかくしなやかな特性である。このヤング率の差は次に述べるストレスシールドイング（応力遮断）を発生させていると考えられている。

**Table1.2 Young's modulus of bones and Ti and its alloys.**

<b>Material</b>	<b>Young's modulus, <i>E</i>/GPa</b>	<b>References No.</b>
<b>Cortical bone</b>	<b>10–30</b>	<b>36-39</b>
<b>Cancellous bone</b>	<b>0.2–3</b>	<b>40,41</b>
<b>Ti and Ti alloys</b>	<b>100–110</b>	<b>42-44</b>

## **B.2 ストレスシールドイングと低ヤング率 Ti 合金開発**

インプラント金属材料の大きな課題のひとつは、ストレスシールドイング（応力遮断）に起因する骨吸収、骨質劣化である。骨質劣化はインプラントの長期寿命を損なう原因の一つであるルーシングを引き起こすといわれている。ストレスシールドイングとはインプラント構造材料の高ヤング率により骨にかかるべき応力の大部分をインプラントが受け、周囲の骨への応力が少なくなること（力学的刺激の不足）を意味している<sup>(39)</sup>。Fig.1.16 に人工股関節におけるストレスシールドイング模式図を示す<sup>(45)</sup>。Fig.1.17 に人工股関節大腿骨の骨吸収 X線写真を例にあげた<sup>(5)</sup>。Fig. 1.16 のステム先端 A 部が強く固定されると、ステム材は高ヤング率のため、B 部近くのステムひずみ量が骨より小さくなる。その結果、大腿骨 B 部に伝わる応力が小さくなり、Fig. 1 17(b) の骨吸収が起こると考えられている。

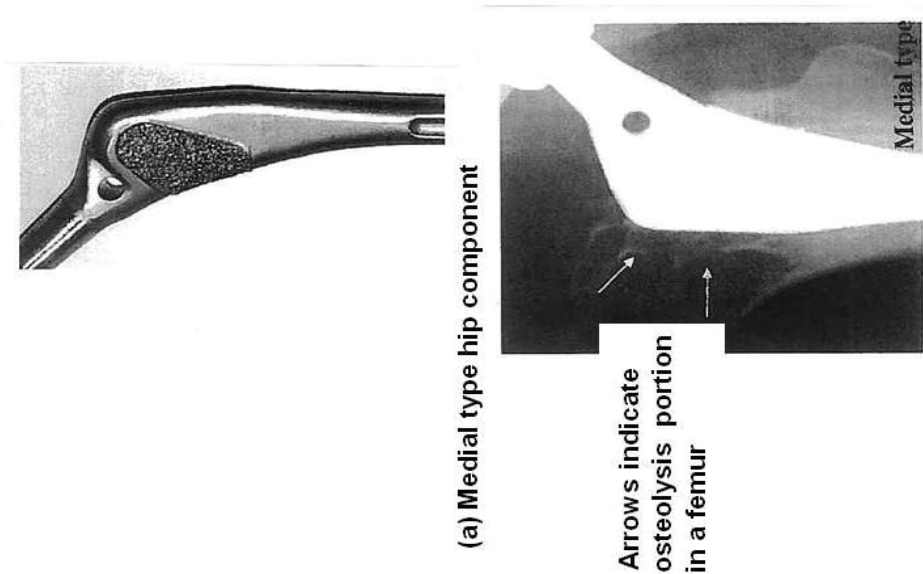


Fig. 1.17 Photograph of hip component implant and X-ray image of osteolysis (arrows) in a femur<sup>(5)</sup>.

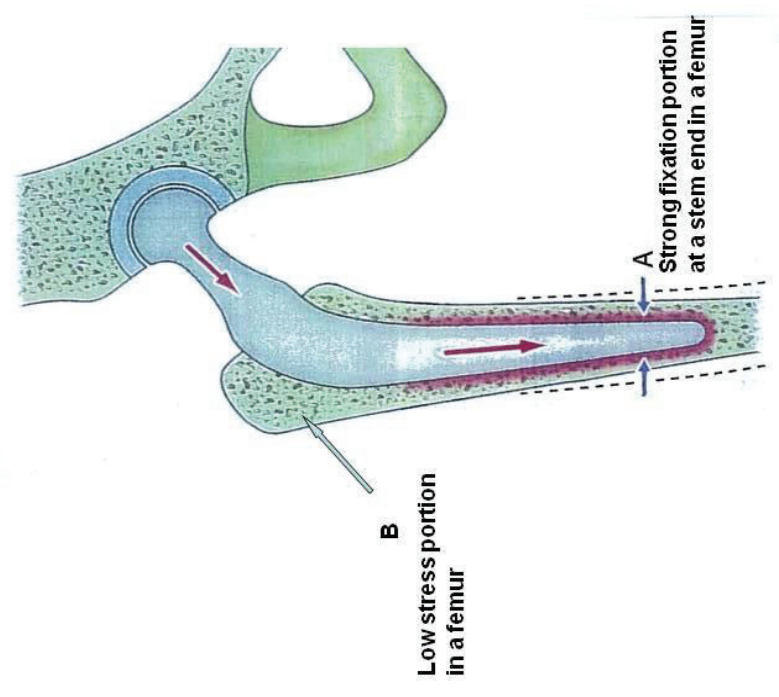


Fig. 1.16 Illustration of stress shielding in a femur<sup>(45)</sup>.

ストレスシールドイングの対策は、二つの方向から改善が検討されてきた。一つの方法はインプラントの形状および表面コーティング層位置、大きさといった設計要素であり、二つ目の方向が低ヤング率材料開発である。本論文は後者を扱う。

インプラント材料と骨の引張試験、応力—歪線図の模式図 Fig. 1.18 に示す<sup>(46)</sup>。Table 1.2 に示したように、骨の応力—歪線図の傾きを示すヤング率は小さいことが示されている。皮質骨の低ヤング率は先に述べたようにコラーゲン線維と生体アパタイトの自己組織化によるが、骨全体の弾性には海綿骨のブリッジングも寄与すると考えられている<sup>(33,39,46)</sup>。

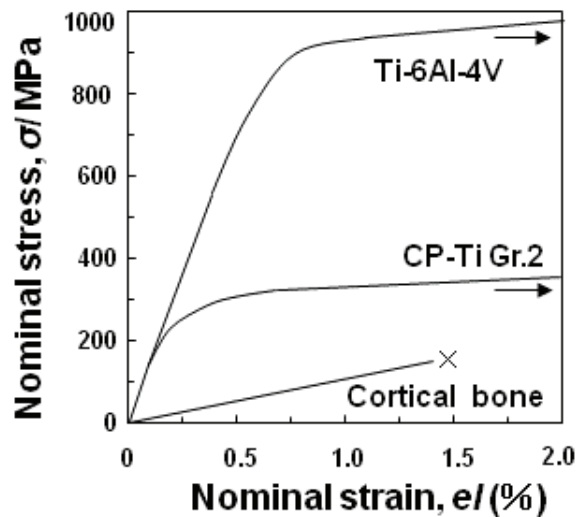


Fig. 1.18 Tensile stress-strain curve of Ti-6Al-4V, CP-Ti Gr.2 and cortical bone<sup>(46)</sup>.



Fig.1.16 および Fig.1.17 に示したステムは代表的な股関節インプラントの部材であり，材料としての低ヤング率化が求められている．そこでインプラント材料の低ヤング率材開発について述べる．ステムには，ネック部で体重を支えて圧縮・曲げ・捩じりなど複雑な応力を繰り返し受けるため高強度，高疲労強度材料が求められる．そのため実用高強度合金 Ti-6Al-4V が生体用に転用されてきた．一方ステムの大腿骨髓腔に挿入固定する部分ではストレスシールドを回避するため骨に近い低ヤング率が望まれているため，結果として高強度かつ低ヤング率という特性が必要とされている．しかし Ti-6Al-4V 合金は生体用を目指した Ti 合金設計開発ではなかったため，生体用途では構成元素である V の毒性がまず指摘され，V フリー合金の開発が促された<sup>(47-49)</sup>．そして低ヤング率であり高強度材の合金設計が精力的に行われた．そして TNTZ

(Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr 合金) が設計開発され，プロセス開発をおこなうことで TNTZ の低ヤング率 40-60GPa を達成した<sup>(50-54)</sup>．他に工業用合金である Ni-Ti 合金の低ヤング率<sup>(55-60)</sup>，および原子力材料である Zr-Nb 合金の低磁化率<sup>(61,62)</sup>も注目され生体適合性の研究が行われている．合金開発による骨とのヤング率の差は 5 倍から，2-3 倍までに低減されてはきたが，解消するまでに至っていなかった．










### B.3 インプラント構造用多孔体の従来研究

低ヤング率を達成する方法として多孔質材料研究が，合金開発とならんで着目されている<sup>(54)</sup>，ここで脊椎固定用インプラントの事例を参考に低ヤング率材料開発のもう一つの手法である多孔体化について述べる．

近年，脊椎脊髄外科においては椎体固定にケージ（自家骨を入れる籠状インプラント）を使用する，椎体間固定術の長期経過観察例が報告さ

れ、その生体に対する安全性がほぼ確立した。ケージ材料は強度とヤング率のバランスから、バルク材の Ti および Ti 合金あるいは PEEK 材（ポリエーテル・エーテル・ケトン）、カーボン材、PEEK カーボン材（カーボン繊維強化ポリエーテル・エーテル・ケトン）等が主に使われている。

**Table 1.3 Typical samples of cages<sup>(65)</sup>.**

Category	Brand name	Material	Application	Samples*
Open Box cage	Brantigan I/F Cage (Robert Reid)	carbon fiber PEEK composite	lumbar, PLIF	
	TELAMON PLIF Cage (Medtronic Sofamor Danek)	titanium	lumbar, PLIF	
	ROI (LDR medical)	PEEK composite, Optima® (Radiolucent)	PLIF	
Threaded cage	BAK/Proximity (Sulzer, Zimmer)	titanium	lumbar	
Mesh cage	Vertebral body replacement (Biomet Merck)	titanium	cervical, thoracic, lumbar	
Allograft	VG2 Ramp (Depuy Spine)	cortical bone		
	Puros® Allografts (Zimmer)	cancellous bone		
	CORNERSTONE-Select™ cortical wedge (Medtronic Sofamor Danek)	cortical Bone	cervical	
	MD™ series threaded Bone Dowels (Medtronic Sofamor Danek)	cortical Bone		

\*Each sample photograph was put on the vender website.

荷重があまりかからない部位にはセラミックスも使われている<sup>(3,63,64)</sup>。各種ケージの代表例を **Table 1.3** に示す<sup>(65)</sup>。さきに述べたように Ti はヤング率が高く、PEEK カーボン<sup>(65)</sup>は、ヤング率は同等だが生体適合性が劣る課題をもっている。現在主に使われているケージは、内とその周囲に椎骨と結合させるための自家腸骨を挿入する必要がある<sup>(65)</sup>。そのため脊椎脊髄外科における低侵襲治療の観点からは、自家腸骨採取を必要としない皮質骨と同じヤング率をもち、骨結合性の優れた Ti 多孔体の材料開発ニーズは高い。Ti 多孔体は A.2, A.3 に述べたように骨との結合性が優れている、さらに機械的特性として皮質骨と同等の強度とヤング率を付与させることが可能なら、構造用インプラント材にとり待望の材料といえよう。

Ti 多孔体のヤング率制御技術の従来研究を述べる。Ti 多孔体を粉末焼結法により気孔率をパラメーターとした圧縮試験結果が報告された。報告された気孔率とヤング率および耐力の関係を **Fig. 1.19**, **Fig. 1.20** に示す<sup>(66)</sup>。その関係は限定された気孔率の範囲において最小二乗法で直線近似できると報告された。**Fig. 1.19** に示すように、骨のヤング率に相当する 20GPa 近傍の気孔率は 30-35%であった。**Fig.1.20** の気孔率と 0.2%圧縮耐力の関係から、その範囲の圧縮 0.2%耐力は 50-80MPa となり、皮質骨の 0.2%圧縮耐力、150-220MPa<sup>(36-38)</sup> と比較すると低い値であった。粉末焼結法以外の Ti 多孔体の製造プロセスである、RP 法<sup>(25)</sup>、スペースホルダー法<sup>(20)</sup>、およびプラズマ溶射法<sup>(67)</sup>による圧縮試験結果を **Table 1.4** にまとめた<sup>(68)</sup>。RP 法は気孔率を低い領域では骨に近い特性がでることを示したが、気孔率は 30%近くまで低くする必要がある。A.3 で述べた(A) 気孔率が 70%以上、の要望と比較すると改善が望まれる。即ち、従来研究から判断して、皮質骨と同等の強度とヤング率付与し、気孔率 70%以

上を確保することは困難であり，強度向上と気孔率アップは矛盾する要求であった．実用 Ti ケージでは，Fig. 1.21(a)に示すスペースホルダー法による Ti 多孔体が初めて椎体スペーサー，椎間スペーサーとして提案された<sup>(20)</sup>．構造設計を検討し，Ti 多孔体とノンポーラス材を組合わせた Fig. 1.21(b)に示す椎間スペーサーも研究され臨床試験された<sup>(69,70)</sup>．

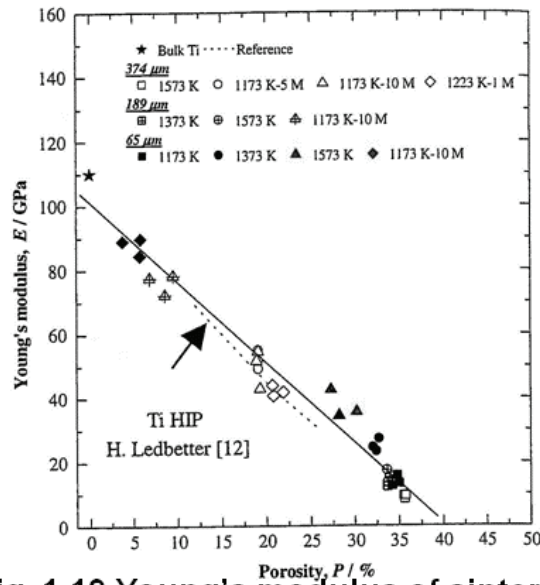


Fig. 1.19 Young's modulus of sintered Ti compacts as a function of porosity<sup>(66)</sup>.

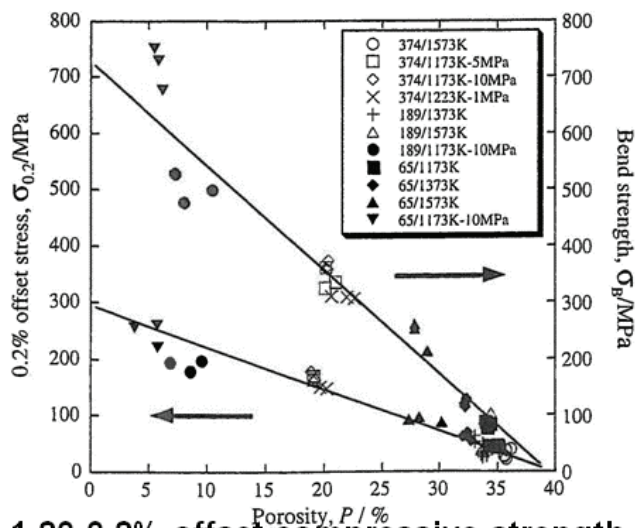


Fig. 1.20 0.2% offset compressive strength and three-point bending strength of sintered Ti as a function of porosity<sup>(66)</sup>.

**Table 1.4 Compression test results for bone and Ti foam produced by rapid prototyping, space holder, and plasma-spray methods<sup>(68)</sup>.**

Methods	Porosity (%)	Pore diameter ( $\mu\text{m}$ )	Yield strength (MPa)	Young's modulus (GPa)	Ref.
Cortical bone	-	-	150-220	10-30	36-39
Rapid prototyping	33-40	700	100-210	13-20	25
Space holder	50	100-500	130-140	16-18	20
Plasma-spray	40	300-500	85	4-6	67



(a) PlivioPore<sup>TM</sup>(20)



(b) Osakayakinkogyo Co. Ltd<sup>(69)</sup>.

**Fig. 1.21 Ti foam cages for interbody fusion of the lumbar spine<sup>(20,69)</sup>.**

低ヤング率を達成する方法として、Ti 多孔体の従来研究を調査した結果、皮質骨同等のヤング率及び圧縮耐力は、RP 法により気孔率を 30-40%に制御することで可能であることが判明した。Ti 多孔体はストレスシールド対策として有望な材料であった。しかし骨との結合の観点では先に述べたように 70%以上の気孔率と 100-500 $\mu\text{m}$  連通孔が望まれている。これらを両立する材料ニーズはあるが多孔体にとっては矛盾する要求であることがわかった。気孔率は、ヤング率、圧縮耐力を皮質骨同等に確保する領域に無いこと事を Fig. 1.19, Fig. 1.20 に示した。材料としての限界を克服する方法として、Ti 多孔体とバルク材を組合せた設計のインプラントも提案されている。しかしインプラントに広く利用するには限界を克服した材料が待望されている。

### 1.3 インプラント用多孔体評価の従来技術

#### 1.3.1 高気孔率多孔体の機械的特性評価方法

多孔体の機械的特性評価は通常圧縮試験で行われている。圧縮試験方法は 2008 年にポーラス金属の圧縮試験方法、JIS H 7902 として JIS 規格に制定された。

多孔体の引張試験は試験片をドッグボーン<sup>(71)</sup>、あるいは ASTM E8 試験片に加工し、負荷－除荷－再負荷を繰り返し、その除荷の際の応力－歪曲線からヤング率を測定する方法が紹介されている<sup>(72)</sup>。その際歪ゲージは通常の引張試験と同じように取り付けられている。しかし、80%を超える高気孔率の場合、歪ゲージの取り付け自体が局所的拘束をあたえ計測に影響してしまう恐れと、設置した部位の局所的歪を計測してしまう恐れが考えられる。また伸び計の設置はその重さが発泡 Ti に影響を与え

てしまい計測に影響がでることも明らかであった。本論文では高気孔率多孔体用に特別設計した引張試験片及び方法を発泡 Ti に適用することにより均一な応力分布のもと正確な計測を可能にした<sup>(73,74)</sup>。

### 1.3.2 金属の細胞適合性評価方法

#### A.1 金属の細胞毒性評価と生体安全性

インプラント用金属材料は、水銀、カドミウム、鉛といった金属のように生体に毒性（為害性）<sup>(75,76)</sup>を示さないことが基本であり細胞毒性試験、及び動物試験により評価される<sup>(77)</sup>。細胞毒性試験の試験方法は抽出法、直接接触法、粉末法がある。厚生労働省のガイドラインでは抽出法を採用しており、直接接触法は追加試験として推奨している<sup>(78)</sup>。

抽出法の試験方法は、有機溶媒、生理食塩水、培養液等を用いて試料から分解生成物を抽出し、培養液にその抽出液を添加し細胞を培養しコントロール（無添加培養液の細胞群）と比較し毒性を判断する。使用する株化細胞はマウス類の繊維芽細胞（L929, Balb/3T3, V79）から選ぶが<sup>(79)</sup>、それらは理研セルバンクなどの細胞銀行から購入できる。また直接接触法は材料上で直接培養して材料が細胞に及ぼす毒性の影響を調べる方法である。

細胞毒性試験結果は、動物を用いた埋植試験による炎症反応の強さや急性毒性試験結果と関連性があるため生体安全性評価試験の一つとして規定されている<sup>(39)</sup>。Ti が細胞毒性を示さないことは確認されている<sup>(80)</sup>。

#### A.2 金属の細胞適合性評価

細胞適合性評価は培養した細胞を材料に播種し金属への接着、増殖、

侵入などの状態を観察・比較することによって行う。観察には、位相差顕微鏡，走査型電子顕微鏡，蛍光顕微鏡などを用いる必要があるが，観察には固定や染色などの試料処理が必要である。硬組織適合性評価に使用する骨芽細胞としては，マウス由来の MC3T3-E1 や，ヒト由来の MG-63，SaOS-2 が有名である。骨芽細胞の石灰化の評価では，アリザリン・レッド S 染色や，フォン・コッサ染色により石灰化部位を染色して観察・比較する方法が広くとられている<sup>(39,81)</sup>。

### 1.3.3 金属の耐食性評価方法

生体材料の生体内での耐食性評価は ISO 10993-15（医療用具の生物学的評価—第 15 部，金属及び合金からの分解性生成物の同定及び評価）に指定されている。生理食塩水を用いた動電位測定法（アノード分極試験）及び浸漬試験が規定されている。Ti は生体材料として優れた耐食性を示すことが認められており，Ti 合金の耐食性については Ti との比較において報告されている<sup>(82,83)</sup>。Ti 多孔体の耐食性についての報告もなされている<sup>(84,85)</sup>。

## 1.4 本研究の目的

超高齢社会を持続可能な活力あるものへ導くためには，健康寿命を伸ばし高い QOL を享受できる社会とすることが重要である。高齢者の健康寿命を阻害するものの一つが運動器疾患である。運動機能を回復させるため人工関節，椎体スペーサー，椎間スペーサーなどのインプラントが近年広く使用されており，多孔体 Ti はインプラントと骨を結合させるた



め広く採用され医療に貢献してきた。しかし Ti 多孔体に求められる高気孔率，小孔径，低プロセスコストを併せ持つ材料研究は十分とはいえない状況であった。それらの条件を満たす Ti 多孔体の細胞増殖性の最適孔径の研究開発，あるいは異材に接合された場合の細胞増殖性や耐食性の研究評価が待たれていた。また長い医療使用実績を有す SUS316L については，その多孔体の生体材料としての研究が極めて少なく医療材料選択の多様性確保するため材料研究が待たれていた。

またストレスシールド対策として多孔体金属材料開発が活発に行われているが，皮質骨と同等のヤング率，圧縮強度をもち，かつ骨との結合に必要な高気孔率を有する材料は，いまだ開発されず材料開発が待望されている。

本論文は運動器疾患治療に用いられる整形外科インプラント表面用および構造用金属多孔体の実用化を最終目標とし，それらを成立させるために必要な材料研究として発泡 Ti および発泡 SUS316L の生体親和性研究を行うことを目的とした。

#### 1.4.1 インプラント表面用発泡 Ti の研究

整形外科インプラントは骨と結合し一体となり身体を支える必要がある。長期的な安定した骨との結合を確保するため，セメントレス固定が着目され多孔体によるインプラント表面コート技術が開発され実用化されてきた。しかしそれらの表面用多孔体は，小孔径化，孔径の均一性，低コスト化などの材料への要求に対し，どれかに弱点をかかえている。そこで，2章の目的は発泡 Ti がインプラント表面多孔体として海綿骨との力学的適合性および細胞適合性を満たすか研究することである。

### 1.4.2 インプラント構造用発泡 Ti の研究

整形外科インプラントの大きな課題のひとつが、ストレスシールドディングに起因する骨吸収、骨質劣化である。インプラント長期寿命の主因の一つであるルーシングを引き起こすといわれている。その発生原因はインプラント構造材料の高ヤング率により骨にかかるべき応力をインプラントが受けるためであった。そこで低ヤング率化の手法として有望視されているのが多孔質化である。しかし低ヤング率化は発泡 Ti の気孔率を下げることであり細胞適合性を阻害する。3 章の目的はこの課題を解決するインプラント構造用発泡 Ti を研究することである。

### 1.4.3 インプラント表面用発泡 SUS316L の研究

インプラント表面用材料は CP-Ti が主流であり、現在もインプラント材料として使用されている SUS316 についての多孔体の研究は少なく実用化されていない。そこで 4 章の目的は実用材料である SUS316L インプラント表面用に発泡 SUS316L の海綿骨との力学的適合性および細胞適合性について研究することである。

## 1.5 本論文の波及効果

高齢化社会とともに日本人、アジア人は生活習慣に起因する欧米人との骨格の差があるため、それに合わせた生体材料、整形外科インプラントの開発が待望されている。整形外科インプラント材料は比較的新しい材料分野であり近年 Ti 多孔体の活発な生体親和性研究が行われている。しかし高気孔率 Ti 多孔体の生体親和性研究は十分とはいえず、材料研究が待望されている。またインプラント材料として広く使用されているノンポーラス Ti および Ti 合金は骨に比べ高ヤング率であり力学的適合性

問題を指摘されてきた。ノンポーラス材料の生体親和性改善を目的とした Ti 多孔体研究が近年盛んに行われているが十分な成果を挙げるにいたっておらず、皮質骨との生体親和性研究は喫緊の課題である。本論文は整形外科インプラント材料として発泡 Ti の生体親和性を研究し、その課題を解決することで整形外科インプラントの発展を担うものである。

## 1.6 本論文の構成

本論文の構成を Fig. 1.22 に示すとともに、概略について以下説明する。

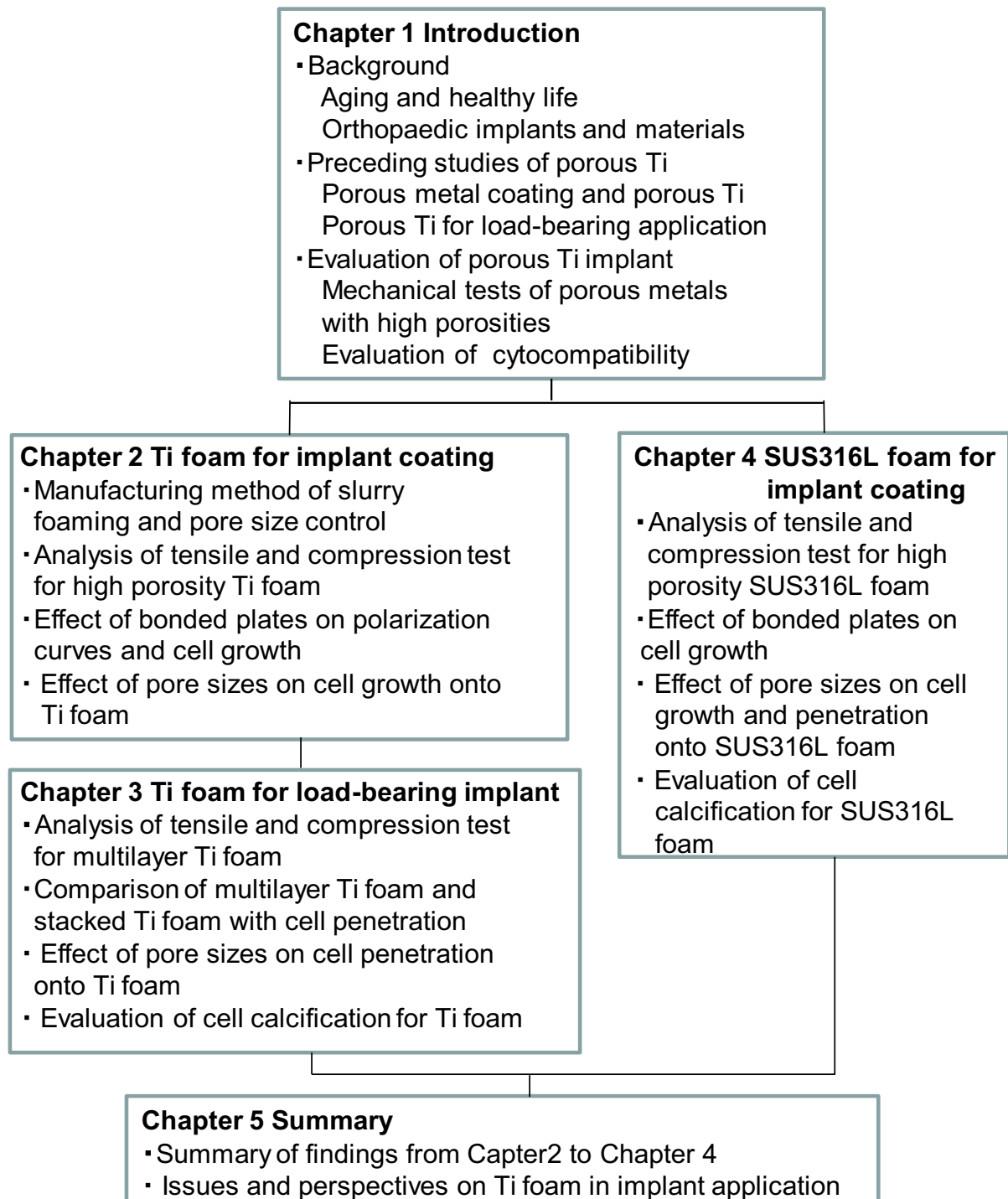
第 1 章「序章」では、はじめに日本および各国の高齢化の進展と健康寿命の重要性を述べた。そして健康寿命をのばすため、運動器疾患治療に用いる整形外科インプラントおよびインプラント材料としての Ti 多孔体研究の課題を述べた。次いで 1.2 従来の研究では、本研究に関わるインプラント表面用および構造用 Ti 多孔体の従来の研究について調査し課題を明らかにした。インプラント用多孔体の材料評価技術についても従来研究を調査し、機械的特性、細胞適合性、耐食性の評価技術を述べた。

第 2 章「インプラント表面用発泡 Ti の開発」では低コストプロセスであり量産性を備えたスラリー発泡法の発泡法の原理、製造プロセスと製造条件および孔径制御について述べた。そしてインプラント表面用に 500 $\mu\text{m}$  以下の小気孔径、80–84% の高気孔率発泡 Ti を作製し、海綿骨との力学的適合性および細胞適合性について研究した。また整形外科で利用されている各種インプラント構造材料の表面層として異材接触の可能性があることから、Ti, Ti–6Al–4V 及び Zr–2.5Nb との接合材を作製し、表面層材としての細胞増殖性および耐食性を研究した。

第3章「インプラント構造用発泡 Ti の研究」では、構造材料に求められる骨の強さと高気孔を両立させる発泡 Ti の開発を行った。開発コンセプトは強さを担う低気孔率層(17%)と、細胞が侵入する高気孔率層(80%)を交互に積層する複合構造体（複層発泡 Ti）の開発である。（骨と結合する機能と強さを担う機能を分けた複層発泡 Ti）本開発はスラリー発泡法の発泡 Ti が、0.2–2mm の薄いシート状であり、シート状であるため、積層構造体が容易に重ね合わせ作製できる特徴を利用したものである。複層発泡 Ti の皮質骨との力学的適合性および細胞適合性について3章で検討し、さらに発泡 Ti の細胞石灰化についても評価した。

第4章「インプラント表面用発泡 SUS316L の研究」では、Ti の表面用材料の研究は盛んに行われてきたが実用材の SUS316L については多孔質材の研究が少数であり、実用化されていないためその研究開発を行った。気孔率 85%、孔径の異なる4種類の発泡 SUS316L に対し、海綿骨との力学的適合性、細胞適合性および石灰化について研究した。また、表面層材として、基材あるいは、下地に発泡層を追加接合した場合の表面層発泡 SUS316L の細胞侵入性の影響も評価した。

第5章「総括」では総括と今後の展望を示した。



**Fig. 1.22 Chapters and main contents of the present thesis.**

## 第 1 章 参考文献

- (1) 内閣府, 平成 22 年度高齢化の状況及び高齢化社会対策の実施状況.  
[www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2012/zenbun/pdf/1s1s\\_1.pdf](http://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2012/zenbun/pdf/1s1s_1.pdf)
- (2) 内閣府, 平成 24 年版高齢社会白書 (概要版)  
[www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2012/zenbun/24pdf\\_index.html](http://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2012/zenbun/24pdf_index.html)
- (3) 塙隆夫編 : 医療用金属材料概論, 日本金属学会 (2010) 185.
- (4) 長谷川正 : 塑性と加工, 51,3 (2010) 177.
- (5) 越智隆弘, 菊地臣一編集 : NEW MOOK 整形外科 股関節外科 No.13  
(2003) 245.
- (6) 大森健一 : まてりあ, 48 (2009) 51.
- (7) H. Hahn, W. Palich : J. Biomed. Mater. Res. 4 (1970) 571.
- (8) J. D. Bobyn, R. M. Pilliar, H. U. Cameron, G. C. Weatherly : Clin.  
Orthop. Relat. Res. 150 (1980) 263.
- (9) 石水敬大 : まてりあ, 4 (2010) 148.
- (10) M. Mour, D. Das, T. Winkler, E. Hoeing, G. Mielke, M. M. Morlock,  
A. F. Schilling : Materials, 3 (2010) 2947.
- (11) L.D. Zardiackas, D.E. Parsell, L.D. Dillon, D.W. Mitchell, L.A.  
Nunnery, R. Poggie : J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.). 58  
(2001) 180.
- (12) D. A. Shimko, V. F. Shimko, E. D. Sander, K. F. Dickson, E. A.  
Nauman : J. Biomed. Mater. Res. 73 (2005) 315.
- (13) M. Mulier, B. Rys, L. Moke : Acta Orthop. Belg. 72 (2006) 326.
- (14) D.C. Dunand : Adv. Eng. Mater. 6 (2004) 369.
- (15) R. Singh, P. D. Lee, R. J. Dashwood, T. C. Lindley : Mater. Tech.

25 (2010) 127.

- (16) 和田正弘 : 化学と工業, 54 (2001) 811.
- (17) R.M. Wazen, L.P. Lefebvre, E. Baril, A. Nanci : J. Biomed. Mater. Res. 94B (2010) 64.
- (18) Y. Chen, B. Feng, Y. Zhu, J. Wang, X. Lu : J. Mater. Sci. Mater. Med. 22 (2011) 839.
- (19) C. E. Wen, Y. Yamada, K. Shimojima, Y. Chino, T. Asahina, M. Mabuchi: J. Mater. Sci. Mater. Med. 13 (2002) 397.
- (20) T. Imwinkelried: J. Biomed. Mater. Res. 81A (2007) 964.
- (21) T. F. Hong, Z. X. Guo and R. Yang : J Mate Sci. Mater. Med. 19 (2008) 3489.
- (22) N. Tuncer, G. Arslan : J. Mater. Sci. 44 (2009) 1477.
- (23) L.M.R.de Vasconcellous, F.N. Oliveira, D.de O. Leite, L.G.O.de Vasconcellous, R.F.do Pardo, C.J. Ramos, M.L.de A. Graça, C.A.A. Cairo, Y.R. Carvalho : J Mate Sci. Mater. Med. 23 (2012) 357.
- (24) J.P. Li, S.H. Li, C.A.Van Blitterswijk, K. de Groot : J. Biomed. Mater. Res. 73A. (2005) 223.
- (24) B.V. Krishna, S. Bose, A. Bandyopadhyay : Acta Biomaterialia. 3 (2007) 997.
- (25) G. E. Ryan, A. S. Pandit, D. S. Apatsidis : Biomaterials. 29 (2008) 3625.
- (26) M.A.L-Heredia, J. Sohier, C. Gaillard, S. Quillard, M. Dorget ,P. Layrolle : Biomaterials. 29 (2008) 2608.

- (27) L. Mullen, R.C. Stamp, W.K. Brooks, E. Jones, C. J. Sutcliffe :  
J.Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 89B (2009) 325.
- (28) V.K. Balla, Z. Bodhak, S. Bose, A. Bandyopadhaya : Acta  
Biomaterialia. 6 (2010) 3349.
- (29) S.F.F. Mariotto, V. Guido, L.Y. Cho, C.P. Soares, K.R. Cardoso : Material  
Research. 14 (2011) 146.
- (30) T. Nakano, T. Kan, T. Ishimoto, Y. Ohashi, W. Fujitani, Y.  
Umakoshi, T. Hattori, Y. Higuchi, M. Tane, H. Nakajima : Mater.  
Trans. 47 (2006) 2233.
- (31) K. Alvarez, S.K. Hyun, T. Nakano, Y. Umakoshi, H. Nakajima :  
Mater. Sci. Eng. C, 29 (2009) 1182.
- (32) 大塚正久訳, L.J.Gibson, M.F.Ashby 著 : セル構造体, 内田老鶴圃  
(1993) 431.
- (33) P. Fratzl, H.S. Gupta, E.P. Paschalis, P. Roschger : J. Mater. Chem.  
14 (2004) 2115.
- (34) 山科正平 : 新細胞を読む (Blue Backs) , 講談社 (2006) 161.
- (35) A.L. Kierszenbaum 著, 内山安男 監訳 : 組織細胞生物学, 南江堂  
(2006) 119.
- (36) D.T. Reilly, A.H. Burstein : Bone Joint Surg, 1974; 56-A:1001.
- (37) K. Alvarez, H. Nakajima : Materials, 2 (2009) 790.
- (38) A. Butscher, M. Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler, R. Müller : Acta  
Biomaterialia, 7 (2011) 920.
- (39) 埜隆夫編 : 医療用金属材料概論, 日本金属学会, (2010)  
6,97,173,184,223,238.



- (40) D.R. Cater, G.H. Schwab, M. Spengler : Acta Orthop. Scand. 51 (1980) 733.
- (41) L.M. McNamara, A.G.H. Ederveen, C.G. Lyons, C. Price, M.B. Schaffler, H. Weinans, P. J. Prendergast : Bone, 39 (2006) 392.
- (42) R.P. Kusy : Angle Orthodontist, 72 (2002) 501.
- (43) 山本章夫, 国枝知徳 : チタン, 58 (2010) 215.
- (44) M. Navarro, A. Michiardi, O. Castaño, J. A. Planell : J. Roy. Soc. Interface, 5 (2008) 1137.
- (45) 国分正一, 鳥巢岳彦監修 : 標準整形外科学(第 10 版) 医学書院, (2008) 174.
- (46) 花田修治 : まてりあ, 47 (2008) 242.
- (47) 中野貴由, 馬越佑吉 : 生命医工学, 44 (2006) 503.
- (48) K. Maehara, K. Doi, T. Matushita, Y. Sasaki : Mater Trans, 43, (2002) 2942.
- (49) 新家光雄 : まてりあ, 46 (2007) 198.
- (50) 新家光雄, 福井壽男, 服部友一, 許健司, 鈴木昭弘 : まてりあ, 41 (2002) 221.
- (51) T. Akahori, M. Niinomi, Y. Koyanagi, T. Kasuga, H. Toda, H. Fukui, M. Ogawa : Mater Trans, 46, (2005) 1564.
- (52) T.Q. Zhou, G. Itoh, Y. Motohashi, M. Niinomi : Mater Trans, 47, (2006) 90.
- (53) H. Tsutsumi, M. Niinomi, T. Akahori, M. Nakai, T. Takeuchi, S. Katsura : Mater Trans, 51, (2010) 136.
- (54) 新家光雄 : まてりあ, 52 (2013) 219.
- (55) S. B. Kang, K. S. Yoon, J. S. Kim, T. H. Nam, V. E. Gjunter : Mater

- Trans, 43, (2002) 1045.
- (56) M. Okuyama, J. Kobayashi, S. Take, Y. Itoi : Mater Trans, 45 (2004) 1045.
- (57) J. Kasuga, T. Yoneyama, E. Kobayashi, T. Hanawa, H. Doi : Mater Trans, 46, (2005) 1555.
- (58) M. Morita, T. Hashimoto, K. Yamauchi, Y. Suto, T. Homma, Y. Kimura : Mater Trans, 48 (2007) 352.
- (59) A. Yamamoto, Y. Kohyama, H. Hosoda, S. Miyazaki, T. Hanawa : Mater Trans, 48 (2007) 361.
- (60) 宮崎修一 : まてりあ 51 (2012) 219.
- (61) N. Nomura, Y. Tanaka, Suyalatu, R. Kondo, H. Doi, Y. Tsutsumi, T. Hanawa : Mater Trans, 50 (2009) 2466.
- (62) F. Rosalbino, D. Macciò, P. Giannoni, R. Quarto, A. Saccone : J. Mater. Sci. Mater. Med. 22 (2011) 1293.
- (63) S. Aggazi, A. Reverdin, D. May : J Neurosurg (Spine 2) 91 (1999) 186.
- (64) 鈴木信正 : 脊椎脊髓, 17, (2004) 260.
- (65) 敷波保夫 : バイオマテリアル, 24, (2006) 423.
- (66) I.H. Oh, N. Nomura, N. Masahashi, S. Hanada : Scr Mater. 49 (2003) 1197.
- (67) M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, J. Suzuki, T. Kokubo, T. Nakamura : Biomaterials, 26, (2005) 6014.
- (68) K. Kato, S. Ochiai, A. Yamamoto, Y. Daigo, K. Honma, S. Matano ,K. Omori : Acta Biomaterialia, 9, (2013) 5802.
- (69) 松下富春, 小久保正, D. K. Pattanayak, 山口誠二, 竹本充, 藤林

- 俊介, 中村孝志, 土井研児, 北垣壽 : 生命健康科学研究所紀要, 5, (2009) 20.
- (70) S. Fujibayashi, M. Takemoto, M. Neo, T. Matsushita, T. Kokubo, K. Doi, T. Ito, A. Shimizu, T. Nakamura : Eur Spine J, 20, (2011) 1486.
- (71) K.Y.G. McCullough, N.A. Fleck, M.F. Ashby : Acta. Mater. 47, (1999) 2323.
- (72) M.F. Ashby, A.G. Evans, N.A. Fleck, L.J. Gibson, J.W. Hutchinson, H.N.G. Wadley : Metal Foams: A Design Guide, Butterworth-Heinemann, (2000) 29.
- (73) S. Ochiai, S. Nakano, Y. Fukazawa, M. S. Aly, H. Okuda, K. Kato, T. Isobe, K. Kita, K. Honma : Mater. Trans. 51 (2010) 925.
- (74) S. Ochiai, S. Nakano, Y. Fukazawa, M. S. Aly, H. Okuda, K. Kato, T. Isobe, K. Kita, K. Honma : Mater. Trans. 51 (2010) 699.
- (75) 内山巖男 : まてりあ, 43 (2004) 636.
- (76) 山本玲子 : まてりあ, 43 (2004) 639.
- (77) 岡崎義光 : まてりあ, 37 (1998) 838.
- (78) 厚生労働省医薬局審査管理課長 : 医薬審発第 0213001 号, 平成 15 年 2 月 13 日.
- (79) 厚生労働省医薬局審査管理課 : 事務連絡, 医療機器審査 No.36, 平成 15 年 3 月 19 日.
- (80) 岡崎義光 : まてりあ, 36 (1997) 966.
- (81) 永井亜希子 : まてりあ, 51 (2012) 323.
- (82) 岡崎義光 : まてりあ, 36 (1997) 1092.
- (83) 小林郁夫 : まてりあ, 41 (2002) 553.

- (84) 小幡亜希子, 桑折仁, 矢ヶ崎隆義, 木村雄二 : SCE 2nd Three-Branch Joint Meeting (Kitakyushu), (2009) E205.
- (85) M. Simon, C. Lagneau, J. Moreno, M. Lissac, F. Dalard, B. Grosogeat : Eur J Oral Sci, 113 (2005) 537.

## 第2章 インプラント表面用発泡 Ti の研究

### 2.1 緒言

従来の研究で述べたように整形外科インプラント表面用 Ti 多孔体に求められる基本的要求は次の条件を全て満たすことであった。

- ① 気孔率が 70%以上であり連通孔が 100-500 $\mu\text{m}$  の範囲
- ② 海綿骨強度を有す
- ③ 低コストプロセスで製造できる

スラリー発泡法による発泡 Ti はその要求に応えられる可能性が高い。整形外科インプラント表面用途を検討するためには、基本的な材料特性として発泡 Ti の化学成分および結晶構造を調べる必要がある。上記①は細胞適合性からの要求であるが、特に高気孔率発泡 Ti に対し②を満たすか引張強さを研究するには、特別な引張試験方法を検討する必要がある。またインプラント表面材は基材となるノンポーラス材と同一材質であることが好ましいが、実用の人工関節では必ずしもそうではない。また体内環境における異材接触はガルバニック腐食とそれに伴う金属イオンの流出を招く可能性がある。そこで発泡 Ti が異材の表面処理用途として使用される場合を想定した生体材料としての特性評価が必要になる。

本章では上述した背景を踏まえ、準備した発泡 Ti がインプラント表面用 Ti 多孔体に求められる材料特性、生体親和性を満たすことができるか下記項目の検討を行う。

#### (1) スラリー発泡法の原理と製造プロセス

スラリー発泡法の原理、製造プロセスおよび孔径の制御について検討する。

## (2) 発泡 Ti の物理化学的特性

発泡 Ti の化学成分および結晶構造を原料粉末と比較評価する。

## (3) 発泡 Ti の機械的特性

高気孔率発泡 Ti に対し特別な引張試験を初めて行う。海綿骨との力学的適合性および理論的解析を実施する。また圧縮試験結果を他の製法の結果と比較する。インプラント表面に接合される観点から、積層された場合の引張特性に異方性があるのか、あるいは破壊が接合部でおきるのか評価する。

## (4) 耐食性

生体材料の耐食性評価は ISO 10993-15 で規定されており、指定された動電位測定法を行う。インプラント表面材は基材となるバルク材と同一材であることが好ましいが、実用の人工関節では必ずしもそうではない。体内環境における異材接触はガルバニック腐食とそれに伴う金属イオンの流出を招く可能性があるためインプラント表面用に接合される場合を想定し、材質 CP-Ti, Ti-6Al-4V, Zr-2.5Nb の板材と発泡 Ti の接合材を試験片とし、その動電位測定試験を行う。

## (5) 細胞適合性

細胞適合性評価として細胞増殖性評価を行う。高気孔率発泡 Ti の細胞増殖性に関する最適孔径を検討するため 3 種類の孔径(180,320,500 $\mu\text{m}$ )の発泡 Ti を試験片として細胞増殖性評価を行う。また高気孔率発泡 Ti の細胞増殖性をより正確に行うため、試験方法は特別に工夫して行う。インプラント表面用に接合される観点から(4)と同じ試験片を準備し細胞増殖性を評価する。

## 2.2 スラリー発泡法の原理と製造プロセス

### 2.2.1 スラリー発泡法の原理と製造プロセス

スラリー発泡法の簡略化したプロセス図および発泡金属の例は示した。ここではスラリー発泡法の原理，製造プロセス，製造条件および孔径の制御の仕組みについて述べる。スラリー発泡法の原理図を Fig.2.1 に示す<sup>(1)</sup>。スラリー全体が発泡する量の発泡剤（疎水性の揮発性有機溶剤）を金属粉，バインダーおよび界面活性剤とともに水に混ぜ合わせ混錬し水系スラリーを作製する。発泡剤は界面活性剤の働きにより細かな液滴とし，スラリー全体に分散させる。発泡剤の気化温度以上に温度上昇させ発泡剤を気化させると，Fig.2.1 (a) のように不均質核生成による発泡を開始すると考えられる<sup>(2)</sup>。発泡した小気泡はより大きな気泡に吸収され Fig.2.1 (b) のように成長する。所定の時間気泡成長を行い，乾燥させることで気泡成長を停止させる。各気泡は界面活性剤の膜に覆われた気泡の集合体となり，Fig.2.1 (c) のように，その界面にスラリーが凝集する。気泡界面は三次元網目状のスポンジ構造を形成するため，金属粉末は網目に凝集され三次元網目状のスポンジ構造（グリーンシートと呼ばれる多孔体）を形成する。その後，真空炉において脱脂し，焼結させる。

本章および次章で試験する発泡 Ti 素材の製造条件を示す。平均粒径 20 $\mu\text{m}$  の CP-Ti 粉末約 30wt%，水約 60 wt% を含む水系スラリーにバインダー，界面活性剤，発泡剤（疎水性の揮発性有機溶剤）を各数% 添加して作製する。そのスラリーをドクターブレード法によりキャリアシートに薄膜塗布し一定の速度で 70 $^{\circ}\text{C}$  以下の発泡室に導き発泡剤を気化させ気泡を成長させ 100 $^{\circ}\text{C}$  以下の乾燥室において気化を完了させグリーンシートを作製する。そのグリーンシートを真空炉において脱脂し，その後

昇温し 1000°C 以上に 1 時間以上保持し焼結する。

製造プロセスの全体を Fig.2.2 に示す。上記 Fig.2.1 (a)-(c) の発泡工程 (Foaming) は Fig.2.2 の発泡室 (Foaming chamber) で行われる。

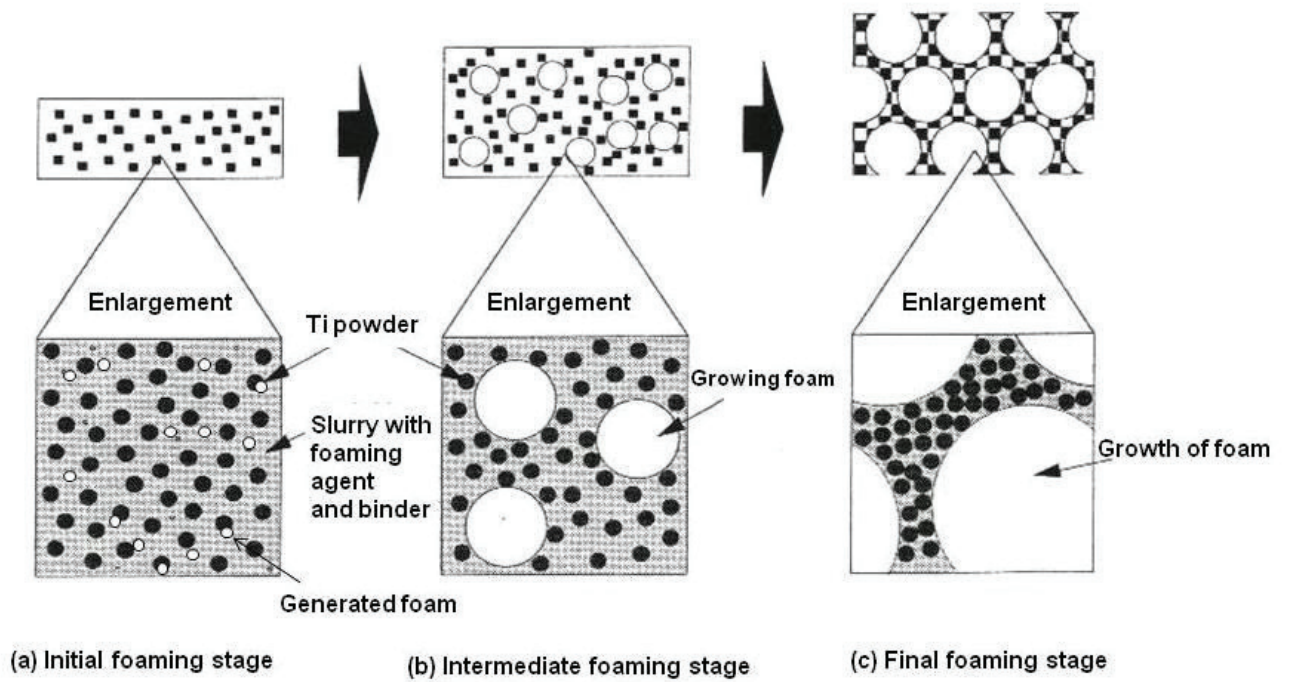


Fig. 2.1 Illustration of foaming mechanism<sup>(1)</sup>.



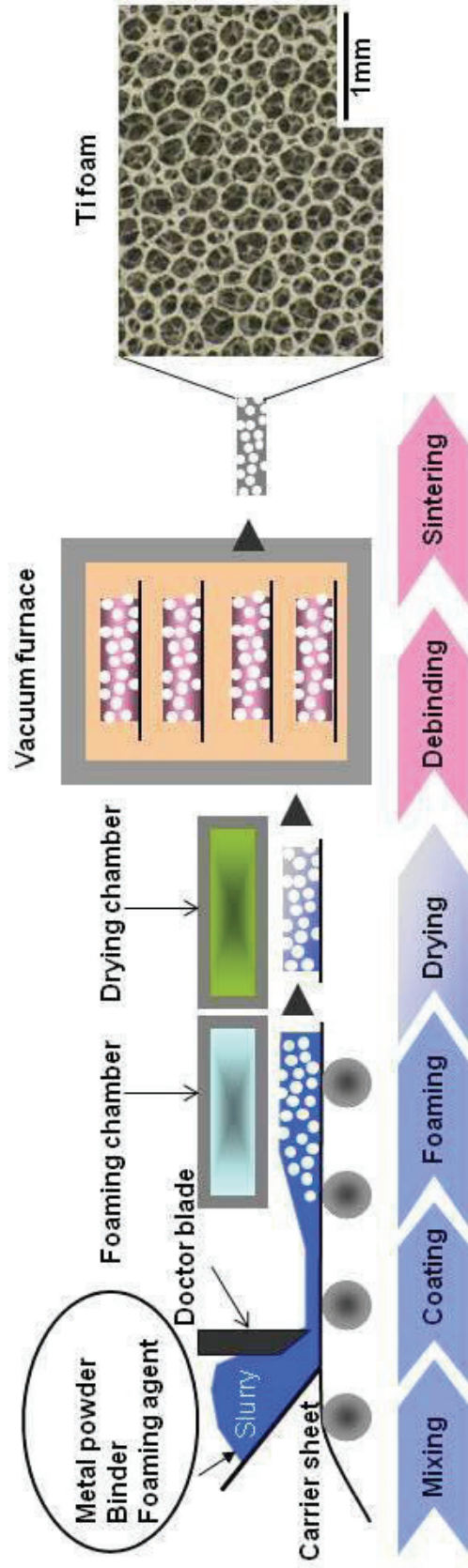


Fig. 2.2 Illustration of the slurry foaming method<sup>(1)</sup>.

### 2.2.2 スラリー発泡法の孔径制御

気泡成長に関して，単独気泡についてはポリマー中の成長理論<sup>(3)</sup>がある．あるいは厳密な証明はないが，液層体積率一定条件で気泡の構造は統計的に変化のない状態となり，そこでは平均気泡半径  $R$  のみが時間  $t$  とともに成長するものとして(2.1)式が紹介されている<sup>(4)</sup>．

$$R \propto t^{1/2} \quad (2.1)$$

ここでは工業的な観点から，ポリマー中の気泡成長を実験的に求めたものを示す．仮定として，発生した気泡は合体せずそのまま成長するとする．その仮定では発泡厚さからスラリー塗布直後の厚さを引いた厚さは気泡半径と比例すると考えられる．そこで発泡時間経過ごとに試験片の厚さ増分を測定し最後に焼結後の孔径を計測すれば気泡の成長が予測できる．結果を

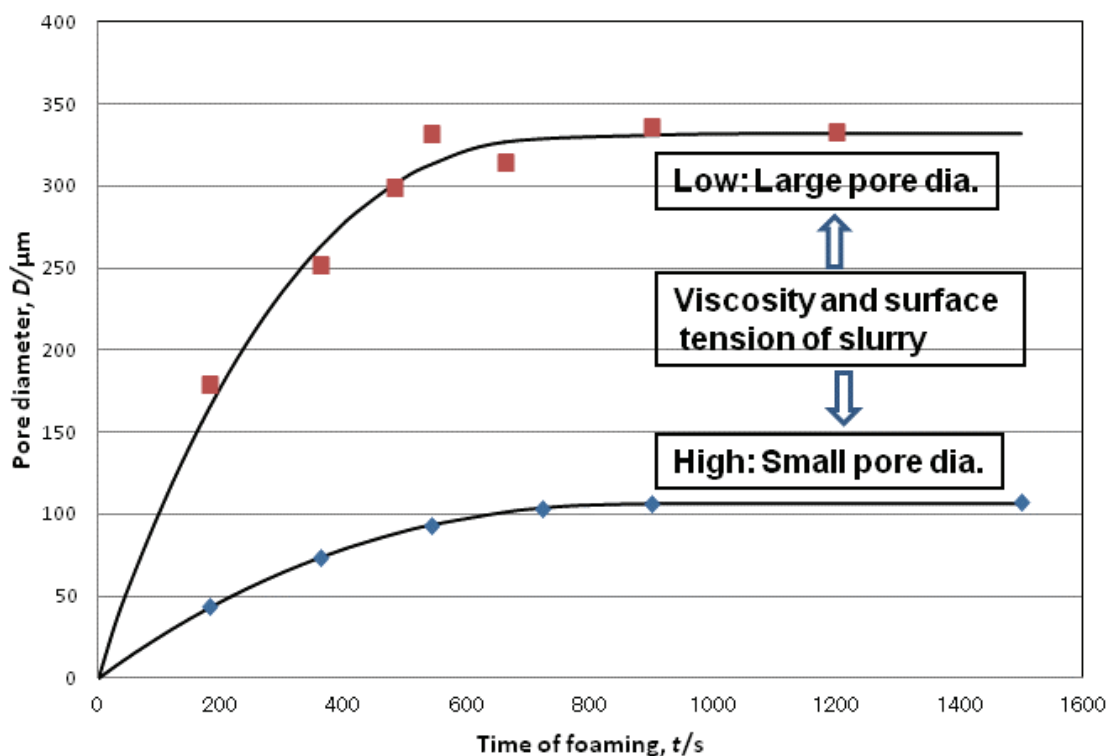
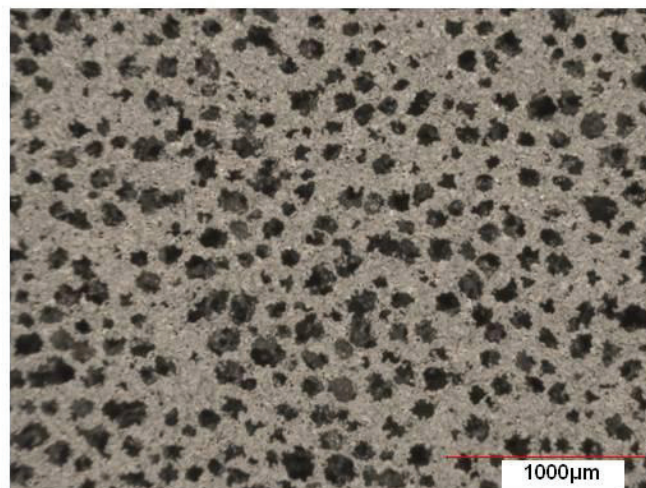
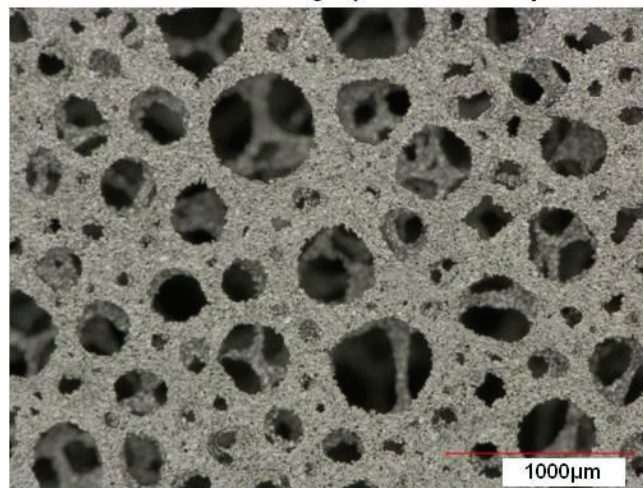


Fig. 2.3 Typical Ti foam growth in the slurry foaming process.

Fig.2.3, Fig.2.4 に示す. 発泡剤を一定とすれば, 気泡径は発泡時間, 粘度, 界面張力をパラメーターとして制御できる事が判明した. パラメーターである発泡時間は Fig.2.2 の発泡ゾーンの送り速度により規定でき, 粘度および界面張力は 2.2.1 に述べたバインダー, 界面活性剤の配合によって設定できる<sup>(1)</sup>. 発泡プロセスでは発泡剤の量もパラメーターとして気泡径の制御に使用した. こうして成形されたグリーンシートの構造は脱脂工程でも維持され焼結工程で固定され発泡 Ti となる.



Average pore dia. 106µm



Average pore dia. 334µm

**Fig. 2.4 Optical microscopic images of the surface of Ti foam for after foam growth test.**

## 2.3 発泡 Ti の物理化学特性および顕微鏡写真

### 2.3.1 発泡 Ti の化学分析結果

Table 2.1 に原料 Ti 粉末と発泡 Ti の化学分析結果を示す。原料粉は平均粒径 20 $\mu$ m とし、成分は Table 2.1 に示す ISO 5832-2 規格(外科用インプラントー金属材料ー第 2 部：純チタニウム)を満たす仕様である。C は発泡 Ti 製造プロセス中に増加したが成分規格上限の値であった。H は原料粉に比較して大幅に減少しており、真空焼結により脱水素されたと考えられる。その他の成分については原料粉の値と同等であった。

**Table 2.1 Chemical composition of Ti powder and foam (mass %)<sup>(5)</sup>.**

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>Fe</b>	<b>O</b>	<b>N</b>
<b>Ti powder</b>	<b>under 0.01</b>	<b>0.034</b>	<b>0.065</b>	<b>0.23</b>	<b>0.01</b>
<b>Ti foam</b>	<b>0.10</b>	<b>0.008</b>	<b>0.054</b>	<b>0.27</b>	<b>0.01</b>
<b>ISO 5832-2 Grade4. max.</b>	<b>0.10</b>	<b>0.015</b>	<b>0.50</b>	<b>0.40</b>	<b>0.05</b>

### 2.3.2 発泡 Ti の結晶組成

原料 Ti 粉末及び発泡 Ti の X 線解析 (XRD) を行いその結晶構造の差の有無を確認した. XRD 計測範囲は  $2\Theta = 30-100^\circ$  である. Fig.2.5(a) に発泡 Ti の XRD 結果を, Fig.2.5(b) に原料 Ti 粉末の XRD 結果を示す. CP-Ti 材の結晶構造は  $\alpha$  層 (六方最密格子, hcp) であり<sup>(6)</sup>, 発泡製造プロセスによる結晶構造変化は見られなかった.

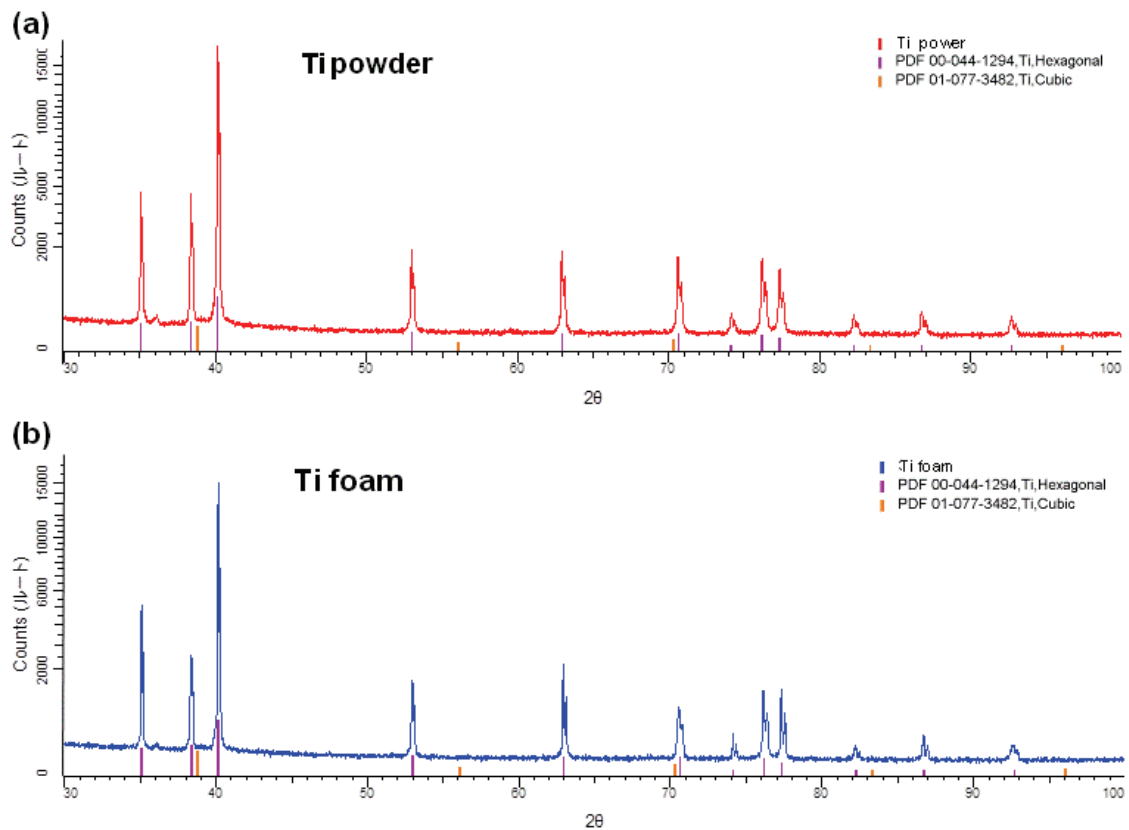
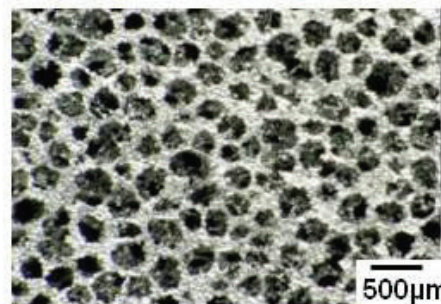


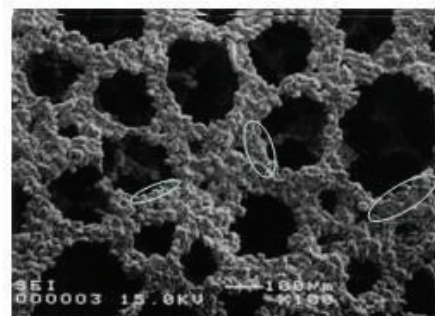
Fig. 2.5 X-ray diffraction pattern of (a) Ti powder and (b) Ti foam.

### 2.3.3 発泡 Ti の光学顕微鏡および SEM 画像

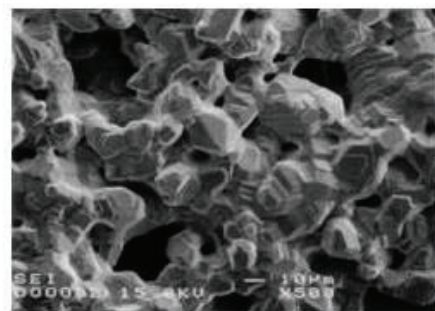
Fig.2.6(a) に気孔率 87%，孔径  $180\mu\text{m}$  ( $H_{180}$ ) の上部からの光学顕微鏡観察を，Fig. 3.6(b), (c) にその SEM 観察画像を示す<sup>(5)</sup>。(c)の高倍率画像からは原料 Ti 粉末（平均直径  $20\mu\text{m}$ ）の焼結している様子を観察できる。孔径計測には，デジタル・イメージ・プロセッシングを用いた。



(a) Optical image of the  $H_{180}$  Ti foam



(b) SEM image of the  $H_{180}$  Ti foam



(c) Enlargement SEM image of the  $H_{180}$  Ti foam

**Fig. 2.6 Ti foam images.**  
Typical webs are marked in (b)<sup>(5)</sup>.

## 2.4 試験方法と試験片

### 2.4.1 引張試験と圧縮試験方法および試験片

多孔体の引張試験, 圧縮試験の具体的な試験条件, 試験片を説明する.  
特別に設計した引張試験片及び方法を Fig.2.7 に示す<sup>(5,73,74)</sup>.

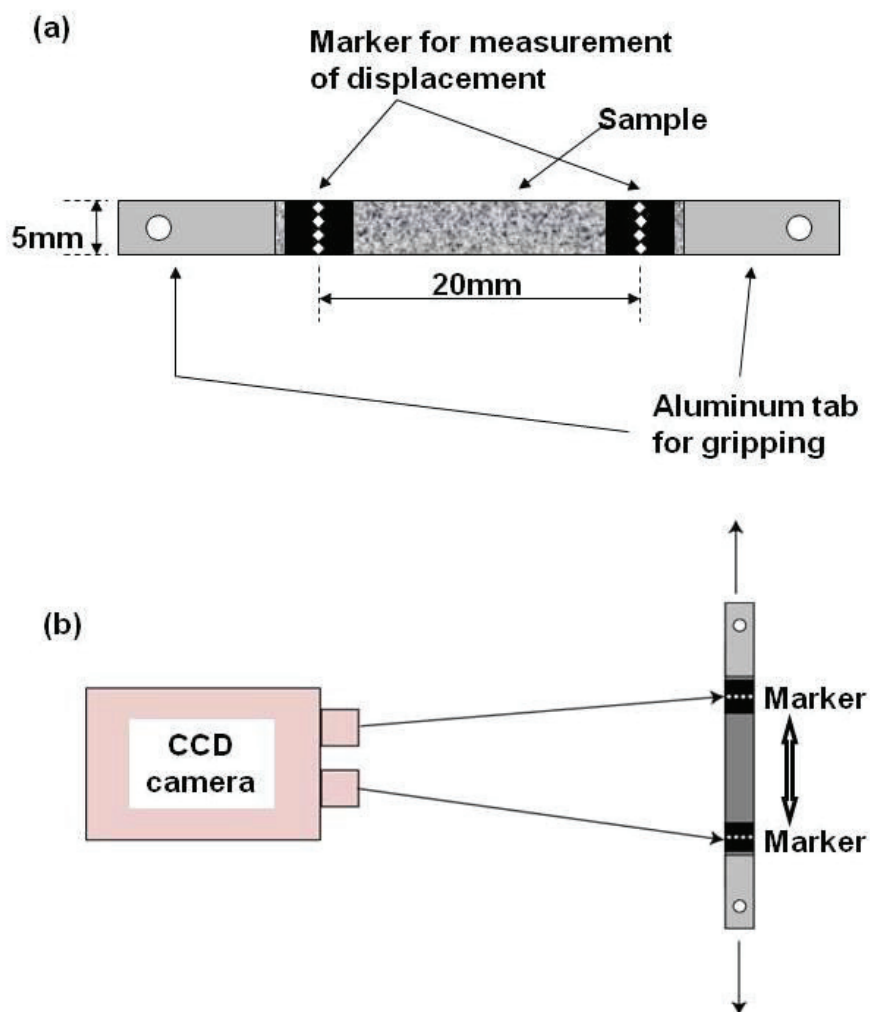


Fig. 2.7 Schematic representation of  
(a) specimen configuration for tensile test and  
(b) non-contact extensometer system for  
measurement of displacement of specimen<sup>(5)</sup>.

試験片のグリップ部は応力集中を避けるため樹脂により固め Fig.2.7 (a) に示すように Al でタブ付けし均一な応力が付加できるように工夫してある。この特別に設計した試験方法により高気孔率多孔体の引張試験はより均一な応力分布のもと正確な計測が可能になったと考えられる。引張試験は負荷－除荷－再負荷法で応力－ひずみ曲線を測定した。引張試験機はねじ式万能引張試験機（株島津製作所製 Autograph AG 50kNG, 容量 50kN）を用い、大気室温中でクロスヘッド速度  $8.3 \times 10^{-6}$  m/s で行った。ひずみは Fig.2.7 (b) に示すようにグリップ部から離れた位置で 2 台の CCD カメラを用いた非接触伸び計（株島津製作所製 DVE-200）により測定した。試験片表面の標点間距離 20mm の位置に貼付けしたシール式標線（Fig.2.7 Marker）の負荷荷重増に伴う移動標線画像を計測して変化量を求めた。ひずみは計測した変化量を標点間距離で除することで得られる。非接触伸び計のアナログ出力と引張試験機からの負荷荷重信号はパーソナルコンピュータに接続し、自動的に制御し、荷重－変位関係の測定および記録を行い、データ処理を AUTOGRAPH/UH 用データ処理システム ShiKiBu（株島津製作所製）を用いて行った。今回は除荷－再負荷をゲージ長  $80 \mu\text{m}$  ごとに除荷してクロスヘッドを  $30 \mu\text{m}$  戻し、そこから再負荷した。

引張試験片の仕様を Table 2.2 に、試験方向を Fig.2.8 に示した。発泡 Ti はシート状であり、重ねて使われるケースも想定されるので接合試験片を真空焼結で作製し、異方性、接合面の破壊の有無を調べた。Fig.2.9 は Table 2.2, No. 2 接合試験片 (Fig.2.8(b), A-A) の断面写真を示す。Fig.2.9(b) に楕円状にマークしたウェブは、矢印で示す接合面として観察される。Fig.2.8-Fig.2.10 に示す座標軸の X 方向はシート状発泡 Ti の表面と並行方向を、Y 方向は表面と垂直な方向を示している。Fig.2.9 の

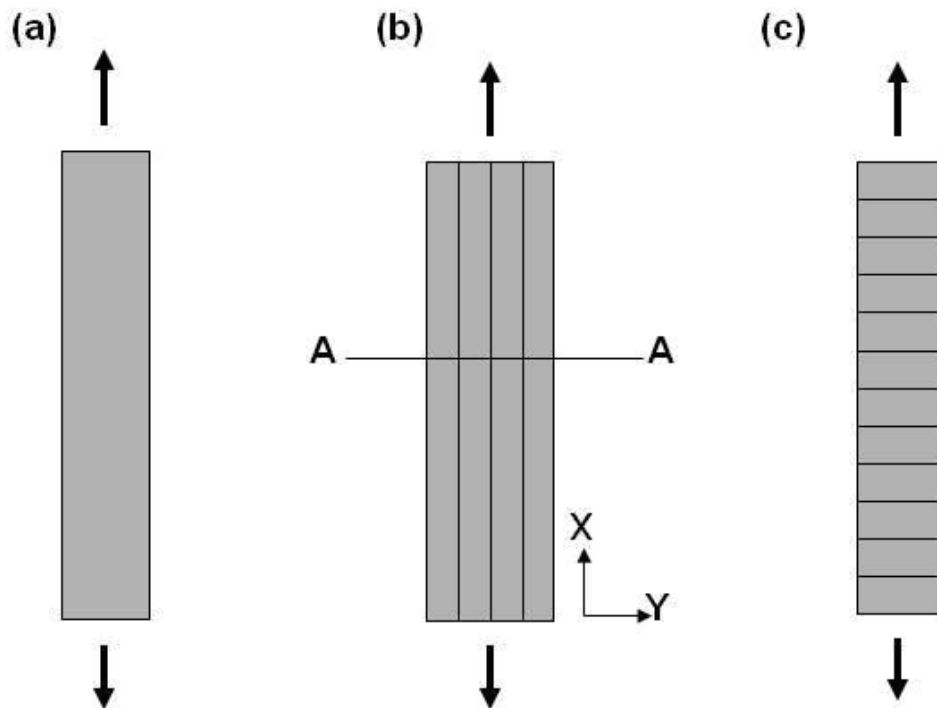


観察から、発泡 Ti を積層した試験片は X 方向と Y 方向では構造的に異方がみられた。

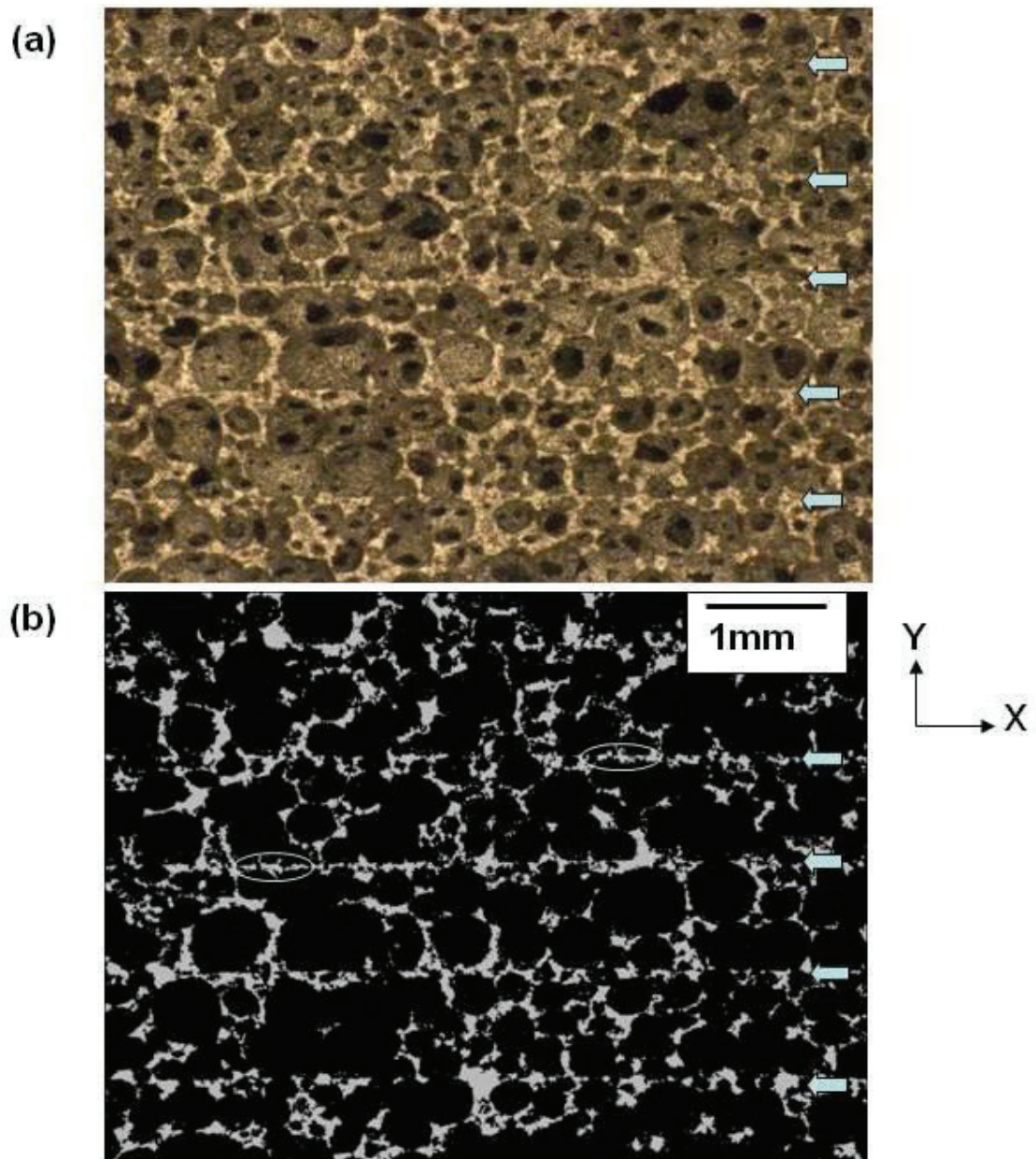
圧縮試験は大気室温で行い、クロスヘッド速度は 0.5 mm/min で測定した。試験機はミネベアの TG-20kN を用い、ひずみ計測には変位計 AT-010 (株キーエンス製) を 3 ケ使用し荷重方向との垂直方向性も確認した。圧縮試験片の仕様は Table 2.3 に、圧縮方向を Fig.2.10 に示す。引張試験、圧縮試験は各 3 回試験した。

**Table 2.2 Specification of the Ti foam for tensile test<sup>(5)</sup>.**

No.	Av. pore dia.	Porosity	Test sample dimensions
	$D/\mu\text{m}$	$P/\%$	Width $W$ , Thickness $T$ , Length $L$ ,/mm
1	300	84	$W 5 \times T 2 \times L 45$ (a single sheet)
2	380	81	$W 5 \times T 11 \times L 45$ (12 sheets stacked)
3	300	81	$W 5 \times T 2 \times L 54$ (27 sheets stacked)



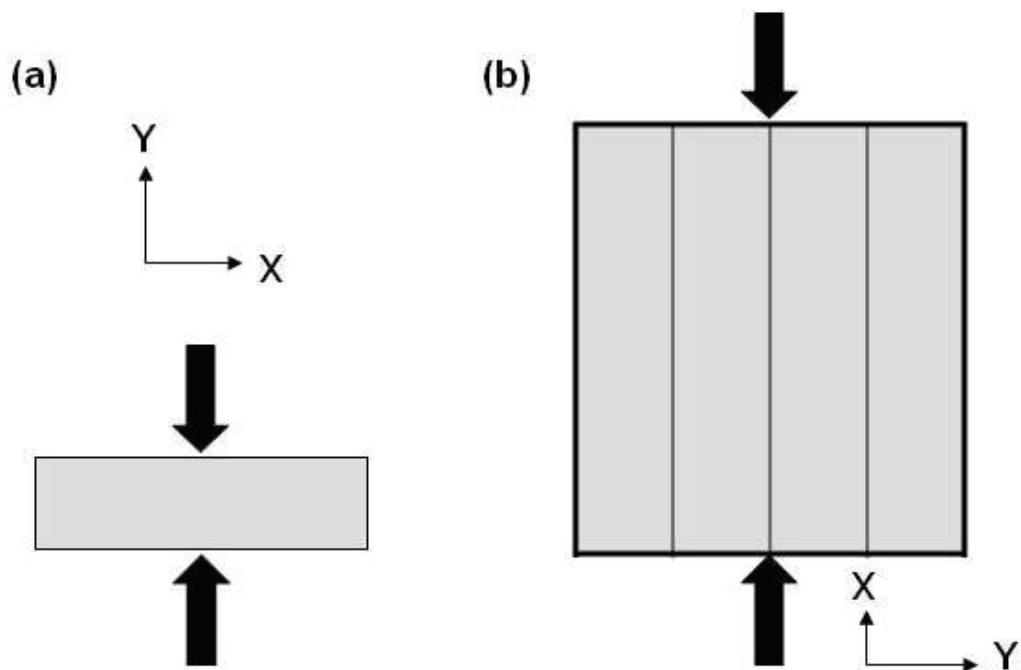
**Fig. 2.8** Illustration of tension test samples. The arrows show the tensile direction. (a), (b), and (c) refer to No.1 of single layer sample, No.2 of bonded sample to which tensile strain parallel to interface was applied, and No.3 of bonded sample to which tensile strain perpendicular to interface was applied, respectively. A-A is the transverse cross-section of No.2, whose optical microscopic image is shown in Fig. 2.9<sup>(5)</sup>.



**Fig. 2.9** Transverse cross-section image of No. 2 in Fig. 2.8 A-A . The optical microscopic image of (b) is produced by digital image processing. The webs of the bonded surface are marked. Stacking interfaces are marked in arrows<sup>(5)</sup>.

**Table 2.3 Specification of the Ti foam for compression test<sup>(5)</sup>.**

No.	Av. pore dia.	Porosity	Test sample dimensions
	D/ $\mu\text{m}$	P/ %	Width <i>W</i> , Thickness <i>T</i> , Length <i>L</i> ,/mm
4	300	84	<i>T</i> 2 x <i>W</i> 10 x <i>L</i> 10 (a single sheet)
5	300	80	<i>T</i> 10 x <i>W</i> 11 x <i>L</i> 10 (6 sheets bonded)



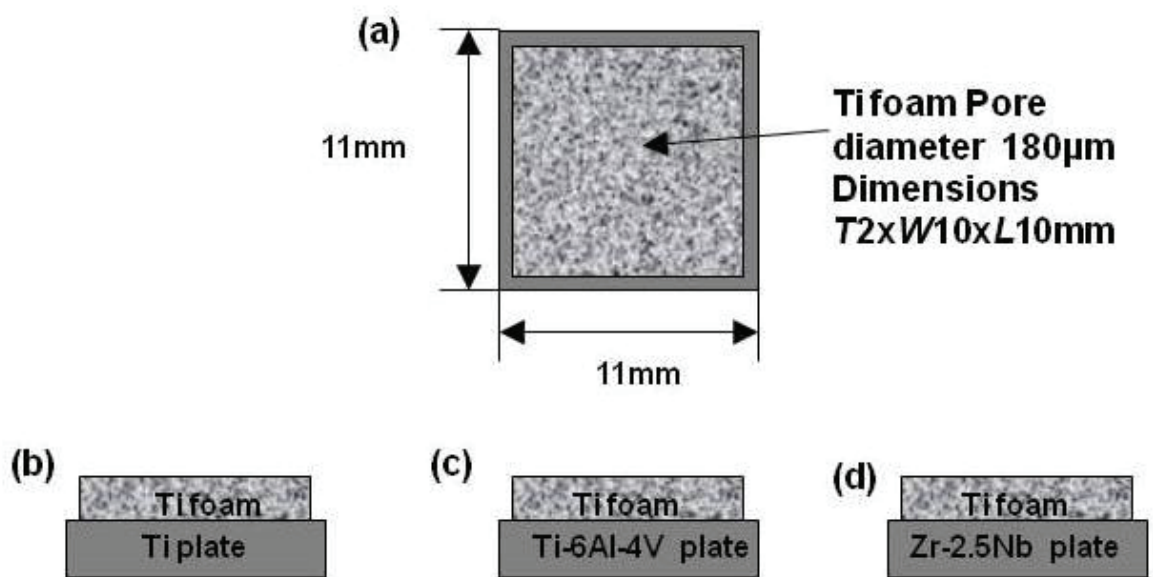
**Fig. 2.10 Illustration of compression test samples. The arrows show the compression direction. (a) and (b) refer to the sheet test sample of No.4 and bonded sheet test sample of No.5<sup>(5)</sup>.**

## 2.4.2 耐食試験片と試験方法

生体用 Ti および Ti 合金の耐食試験方法は 1.3.3 で述べた。Ti 多孔体は 1.2.1 で述べたように整形外科で使用されるノンポーラス材料の表面に接合されて使用される場合が多い。そこで発泡 Ti と Ti 板を拡散接合した試験片に加え、整形外科で使われている Ti-6Al-4V, Zr-2.5Nb の板材との拡散接合試験片を作製し、耐食性評価をおこなった。発泡 Ti と板材の接合試験片は真空焼結により作製した。Fig.2.11 に試験片形状を示す。試験方法は 1.3.3 で述べた動電位測定法（アノード分極試験）であり、試験条件を Table 2.4 に、試験方法を Fig.2.12 に示す。

**Table 2.4 Potentiodynamic polarization test condition<sup>(5)</sup>.**

<b>Item</b>	<b>Condition</b>
<b>Test solution</b>	<b>Saline (0.9mass%NaCl)</b>
<b>Test temperature</b>	<b>37°C</b>
<b>Reference electrode</b>	<b>Ag / AgCl</b>
<b>Counter electrode</b>	<b>Carbon electrode</b>
<b>Potential scan rate</b>	<b>1mV / sec</b>
<b>Bubbling condition</b>	<b>100cm<sup>3</sup>/min. × 30 min.</b>



**Fig. 2.11 Schematic explanation of the joined samples. (a) refers to top view and (b)–(d) refer to side view. Each plate dimension is T2.5xW11xL11 mm<sup>(5)</sup>.**

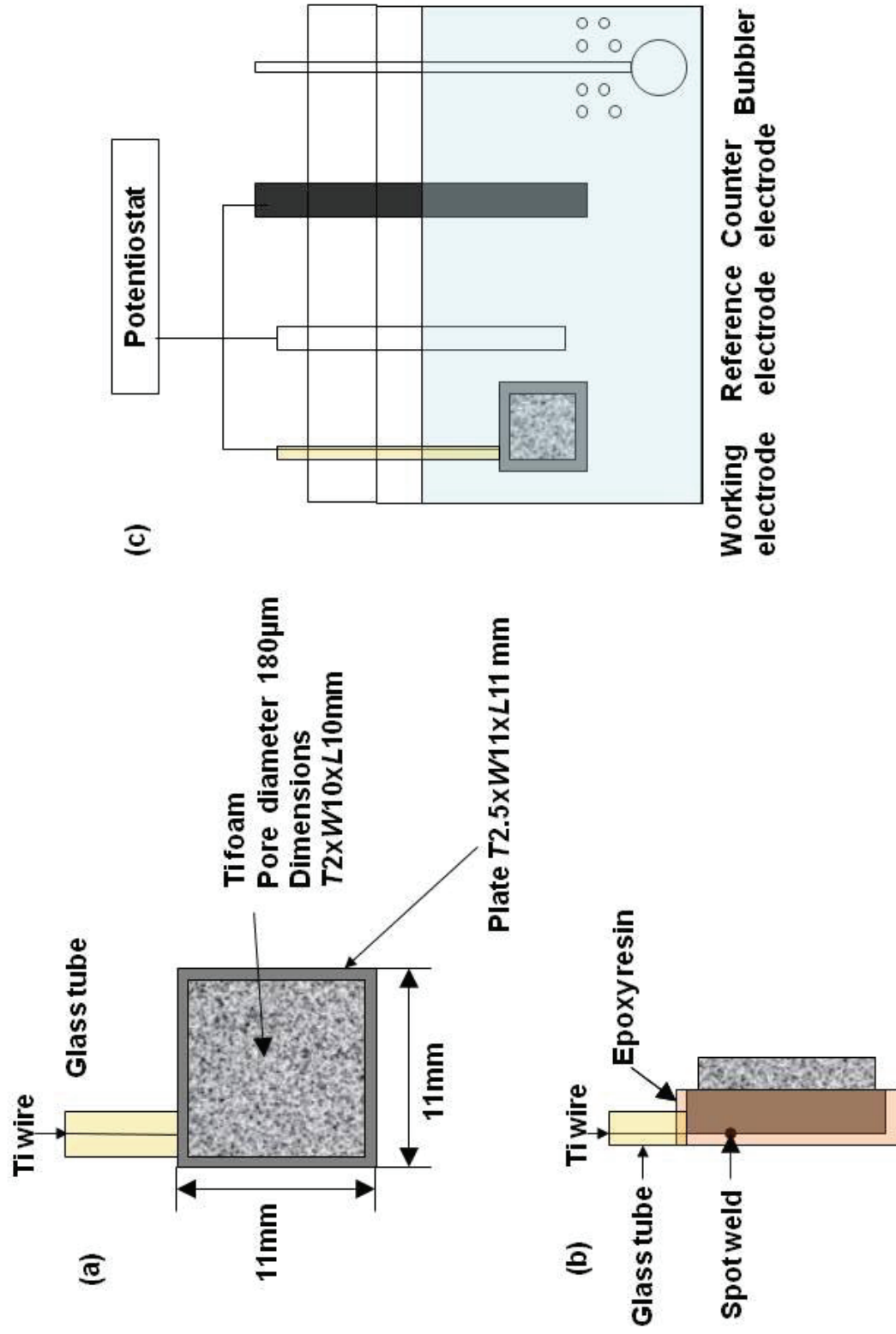


Fig. 2.12 Potentiodynamic polarization illustration. (a) refers to front view of test sample and (b) refers to side view of test sample. (c) is system illustration<sup>(5)</sup>.

### 2.4.3 細胞適合性試験片と試験方法

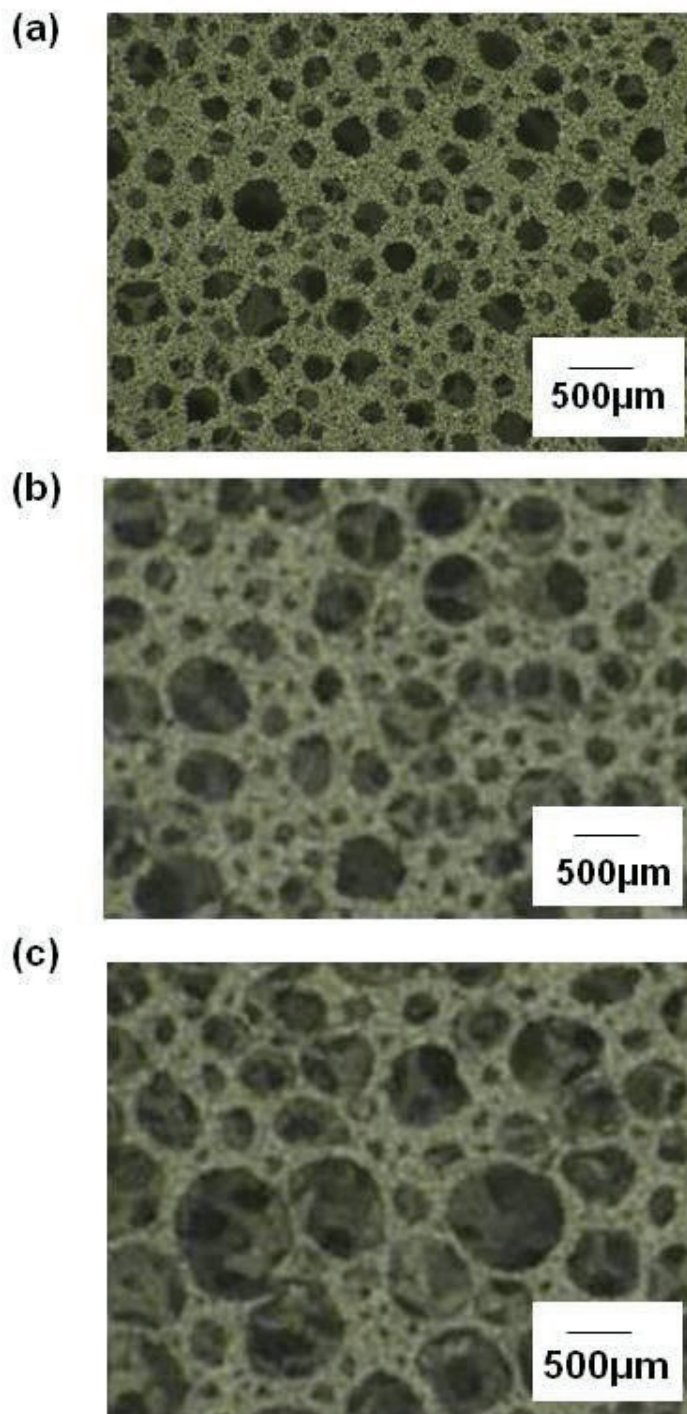
#### A.1 細胞増殖試験（WST-1 法）試験片

発泡 Ti の細胞適合性試験の試験片および試験方法について述べる．生体材料の細胞適合性試験については 1.3.2 で述べた．発泡 Ti の硬組織適合性評価用細胞種には，A.2 で述べたヒト骨肉腫由来細胞 SaOS-2 を用いた．初めに発泡 Ti 孔径が細胞増殖性に及ぼす影響を評価する目的で，*in vitro* 細胞適合性試験として，細胞増殖試験（WST-1 法）を行った<sup>(7)</sup>．孔径の異なる 3 種類の試験片仕様を Table 2.5 に，外観写真を Fig.2.13 に示す．各試験片の寸法は  $10 \times 10 \times 2t$  mm である．記号 H<sub>180</sub> は高気孔率の孔径 180 $\mu$ m を示す．試験片 H<sub>180</sub> の表面写真と SEM 画像は Fig.2.6 に示した．孔径については 2.2.2 で述べた方法により制御した．

**Table 2.5 Specification of Ti foam for cell proliferation<sup>(5)</sup>.**

Designation	Average pore diameter	Porosity
	<i>D</i> / $\mu$ m	<i>P</i> / %
H <sub>180</sub>	180	87
H <sub>320</sub>	320	85
H <sub>500</sub>	500	85



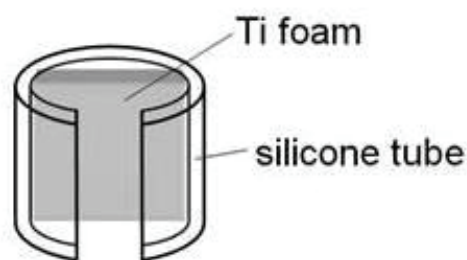


**Fig. 2.13** Optical microscopic images of the surface of Ti foam for cell proliferation.

(a)  $H_{180}$ , (b)  $H_{320}$ , (c)  $H_{500}$ .

## A.2 細胞増殖試験（WST-1 法）の試験方法

各試験片は Fig.2.14 に示すように試験片が培養容器底面に接触しないようシリコンチューブ製ホルダーにセットした。試験片はホルダーごと 120°C で 30 分 オートクレーブ滅菌し，12 穴のマイクロプレートに静地した。ブランクとしてホルダーのみ使用した。各穴には  $1.875 \times 10^5$  個の SaOS-2 細胞を 2.8mL 培養液（D-MEM+FBS ; Dulbecco's modified minimum essential medium に 10%ウシ胎児血清を添加したもの）中に播種し，37°C，5%CO<sub>2</sub> 下で 1,4,7 日間 1 次培養した。培養期間中は毎日 6 時間 300rpm でマイクロプレートを回転させ培養液を発泡 Ti 内部へ循環させた。加えて 1 日おきに培養液交換を行った。試験は 3 回行った。



**Fig. 2.14 Schematic explanation of the Ti foam set into a silicone holder for the evaluation of cell Growth in the foam<sup>(5)</sup>.**

細胞増殖数測定は WST-1 法を用いた。WST-1 法の要点を説明する。その原理は生細胞中のミトコンドリア脱水素酵素によるテトラゾリウム塩(WST-1, 淡赤色)のホルマザン色素(濃赤色)への変換を利用している。生細胞数とミトコンドリア脱水素酵素の代謝活性, すなわち生成したホルマザン色素の濃度が相関することから色素を吸光度により比色定量することで細胞数を評価できる。具体的には SaOS-2 を 1,4,7 日培養した試料をリン酸緩衝塩類溶液[PBS(-), Dulbecco's phosphate buffered saline]で洗浄した後, あらかじめ 2.5mL の D-MEM+FBS, 0.1mM の WST-1 および 0.2mM の 1-methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate(1-methoxy-PMS)を含む PBS(-)溶液 280  $\mu$  L を添加した未使用の 12 穴のマイクロプレートに移す。ブランク用として発泡 Ti を保持していないホルダーも同様に未使用の培養容器に移す。この 12 穴のマイクロプレートを 1 次培養と同じ条件で 10 分間回転させ, その後 4 時間培養した。その後, 各穴の上清み 200  $\mu$  L を 96 穴マイクロプレートに分注しマイクロプレートリーダー (Thermo Scientific, Multiskan FC) によって 450nm の吸光度を測定した。各試料につき, 上清みを 3 穴ずつ分注し, 吸光度測定を行った。相対細胞生存率 (RCV ; relative cell viability) は下記の式で計算した。

$$RCV = A_{sample} - A_{blank} \quad (2.2)$$

### A.3 発泡 Ti および板接合品の細胞増殖試験 (WST-1 法)

発泡 Ti を表面処理材として用いる場合に想定される下地材の細胞増殖に及ぼす影響を評価する。耐食試験と同じ 2.4.2, Fig.2.11 に示す試験片を用い、細胞増殖性に及ぼす下地バルク材の影響を評価した。上で述べた細胞増殖試験と同じ方法により相対細胞生存率(RCV; relative viability)を測定した。但し試験片とそのホルダーが少し大きくなるため、液量を次のように増加した。1 次培養の D-MEM+FBS を 4mL に、2 次培養の D-MEM+FBS を 3.6mL に、そして WST-1 と 1-methoxy-PMS の混合液を 400 $\mu$ L とした。

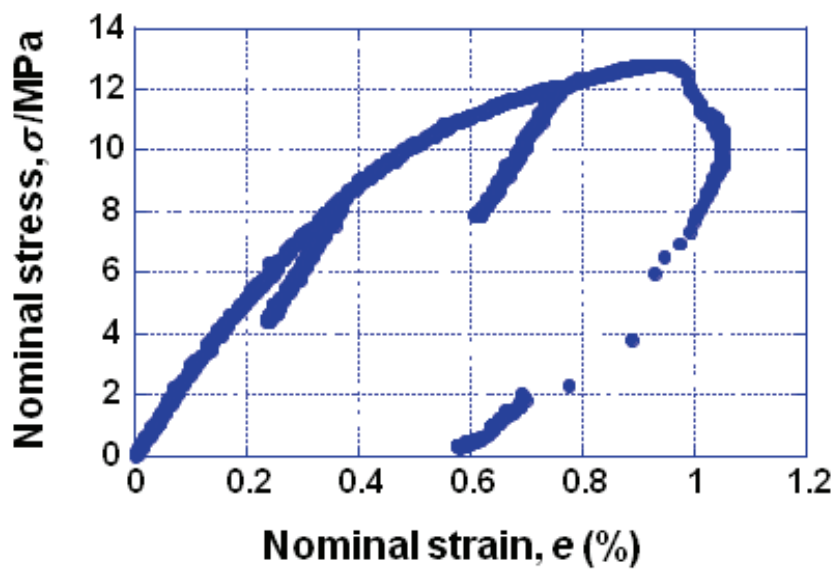
## 2.5 試験結果および考察

### 2.5.1 引張試験と圧縮試験結果

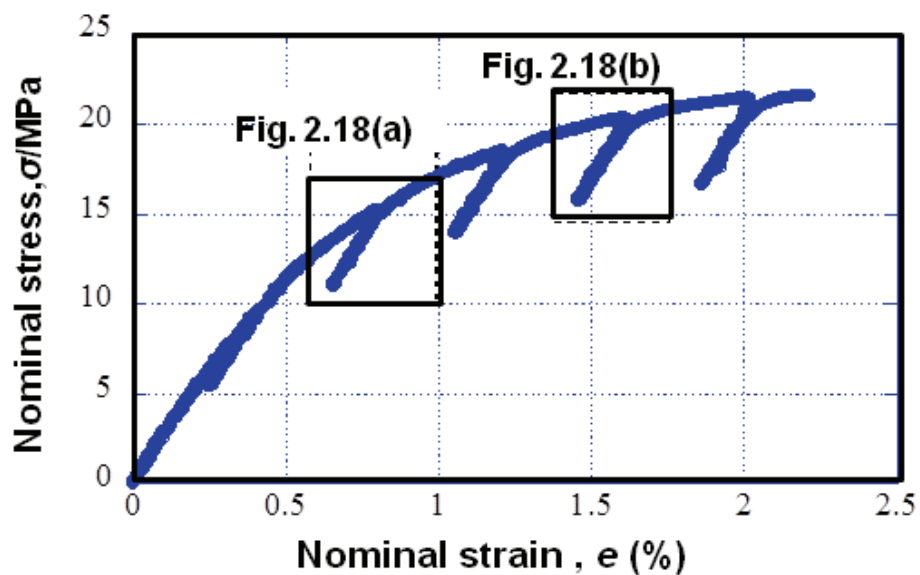
引張試験の結果を Table 2.6 に示す。その代表的な応力-ひずみ曲線を Fig.2.15-Fig.2.17 に示す。ヤング率は初期負荷の値および公称ひずみ 0.4%における再負荷(reload)の値を比較するために示したが同等の値であった。また Fig.2.16 の 0.8%と 1.6%ひずみにおける除荷-再負荷曲線を四角で囲ってあるが、その部位を Fig.2.18 に詳細に示した。その除荷-再負荷曲線から unload と reload におけるヤング率の差は見られなかった。No.1 と No.2 を比較すると気孔率の差はあるとしても、積層で引張強さは大きくなった。No.2 と No.3 から積層方向による引張特性異方性もみられた。

**Table 2.6 Tensile test results<sup>(5)</sup>.**

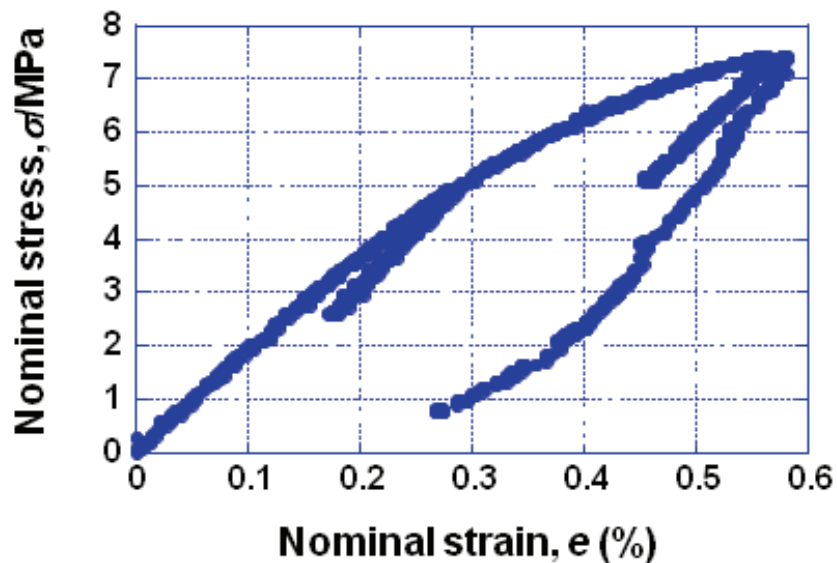
<b>No.</b>	<b>Porosity <i>P</i> / %</b>	<b>Tensile strength <i>TS</i> / MPa</b>	<b>Nominal fracture strain <i>e<sub>f</sub></i> (%)</b>	<b>Young's modulus reloaded <i>E</i> / GPa</b>
<b>1</b>	<b>84</b>	<b>11.1 ± 4.0</b>	<b>0.73 ± 0.28</b>	<b>2.8 ± 0.5</b>
<b>2</b>	<b>81</b>	<b>20.2 ± 2.1</b>	<b>1.35 ± 0.86</b>	<b>3.8 ± 1.2</b>
<b>3</b>	<b>81</b>	<b>8.7 ± 1.7</b>	<b>0.58 ± 0.11</b>	<b>2.4 ± 0.7</b>



**Fig. 2.15 Tensile stress-strain curve of No. 1 under repeated loading-unloading process<sup>(5)</sup>.**



**Fig. 2.16 Stress-strain curve of No.2 under repeated loading- unloading process.**

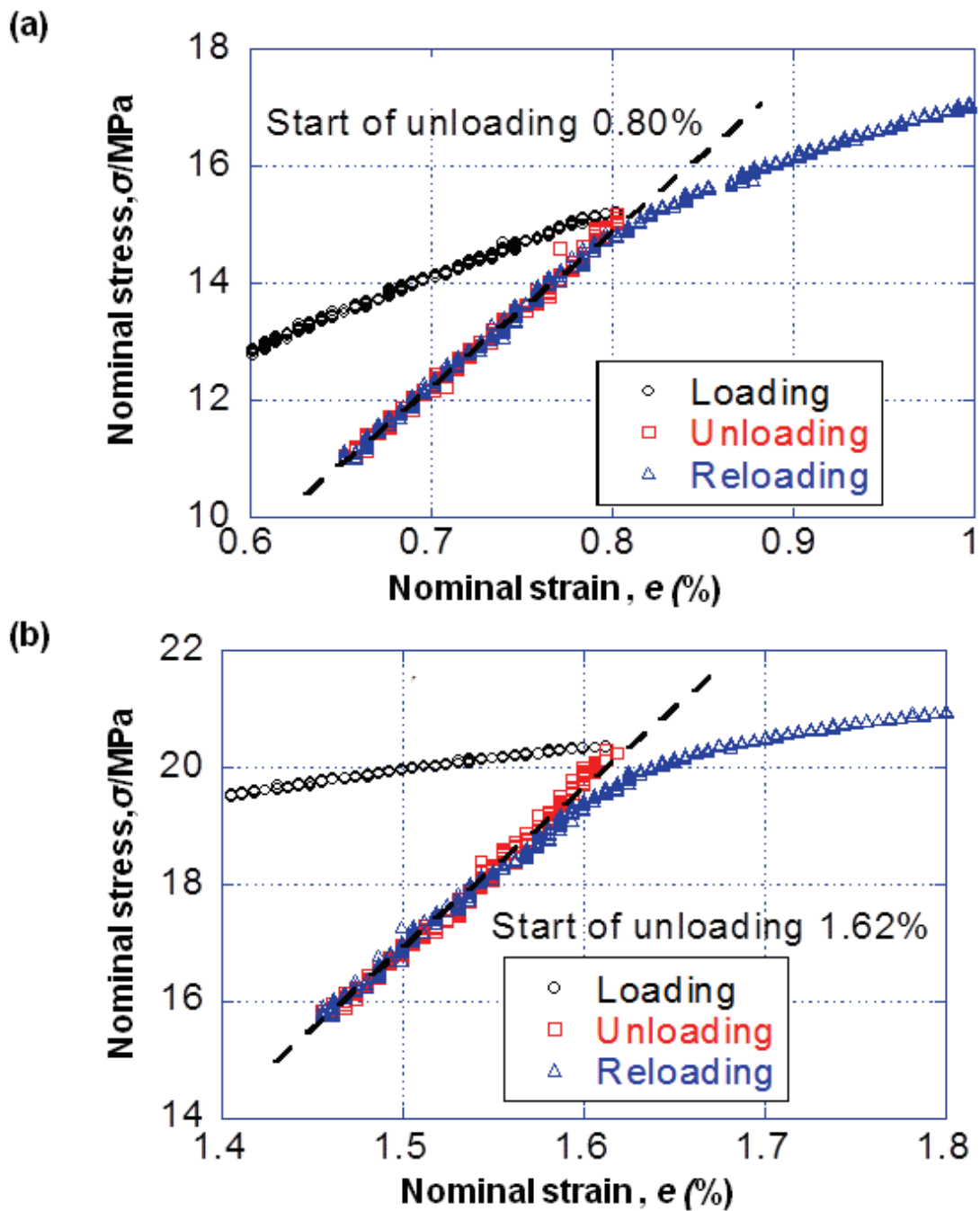


**Fig. 2.17 Tensile stress-strain curve of No. 3 under repeated loading-unloading process<sup>(5)</sup>.**

圧縮試験の結果を Table 2.7 に示す, その応力-ひずみ曲線を Fig.2.19 に示す. 圧縮試験片 No. 4 と No. 5 のヤング率, 0.2%圧縮耐力を比較すると, 試験方向によって異方性を示していた. Fig.2.10 で示す X 方向 (表面層に平行) は Y 方向 (表面層に垂直方向) より高いヤング率, 0.2% 圧縮耐力を示した.

引張試験と圧縮試験における X 方向の積層品のヤング率を比較すると, 引張方向が 3.7GPa, 圧縮方向が 3.2GPa と平均値は引張方向が高くだが統計的に有意差があるとは言えなかった.

引張試験と圧縮試験における X 方向の積層品のヤング率を比較すると, 引張方向が 3.7GPa, 圧縮方向が 3.2GPa と平均値は引張方向が高くだが統計的に有意差があるとは言えなかった. 発泡 Ti のヤング率は 1-4 GPa, 引張強さ, 圧縮耐力は, 8-20 MPa であった.

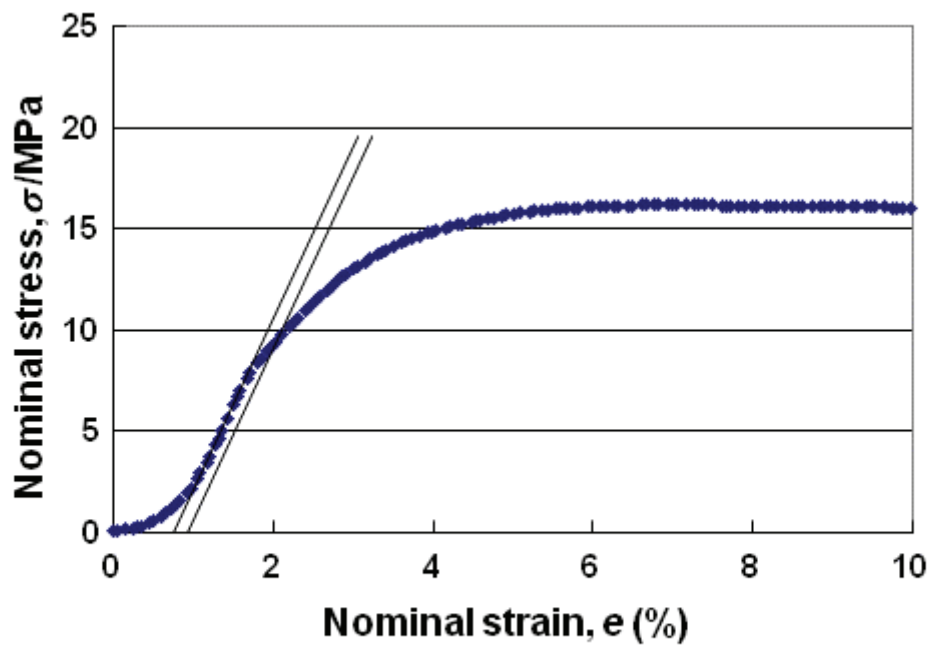


**Fig. 2 18 Loading, unloading and reloading curves of No.2 at the parts indicated in Fig. 2.16.**



**Table 2.7 Compression test results<sup>(5)</sup>.**

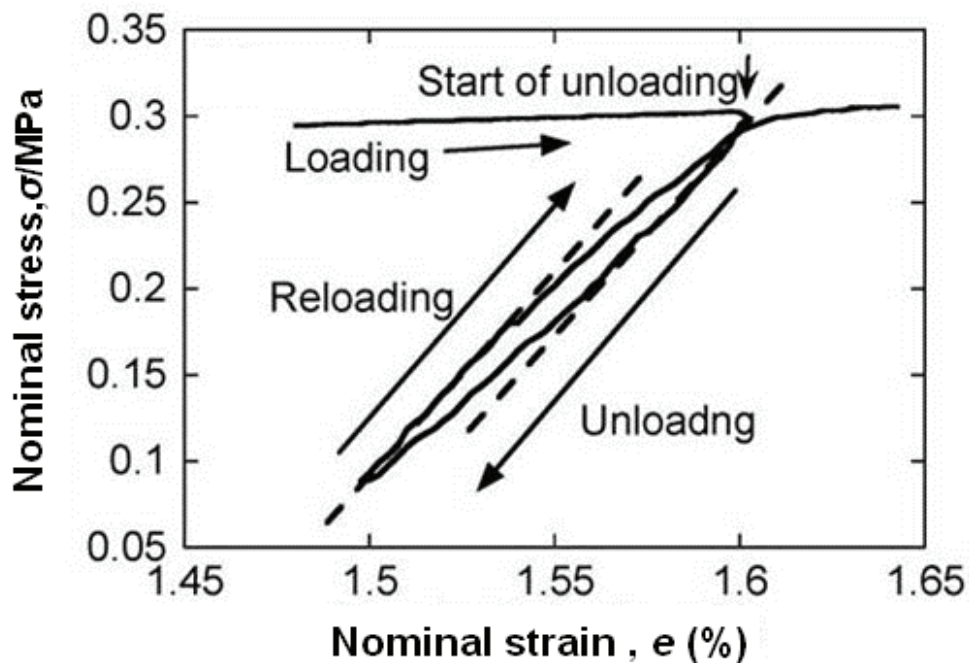
No.	Porosity	Yield strength	Young's modulus
	<i>PI</i> %	YS/MPa	<i>E</i> /GPa
4	84	12.8 ± 2.8	1.3 ± 0.2
5	80	19.4 ± 4.1	3.2 ± 0.6



**Fig. 2.19 Compression stress-strain curve of No. 4<sup>(5)</sup>.**

## 2.5.2 引張試験と圧縮試験結果の考察

多孔体の引張試験，圧縮試験では負荷－除荷－再負荷を一定の伸び毎に繰り返すことにより，発泡構造の形態変化や部分損傷がヤング率に影響を与えると考えられている<sup>(8)</sup>．Table2.6およびFig.2.15-Fig.2.17から，0.4%ひずみまでの引張試験において発泡Ti構造は安定していると考えられる．発泡銅の引張試験では除荷－再負荷に対しFig.2.20に示す塑性変形に伴うヒステリシスが観察されたことを報告した<sup>(9)</sup>．ヒステリシスの模式図をFig.2.21に示す．



**Fig. 2.20 Detailed stress-strain behavior of the copper foam in the unloading-reloading process<sup>(9)</sup>.**

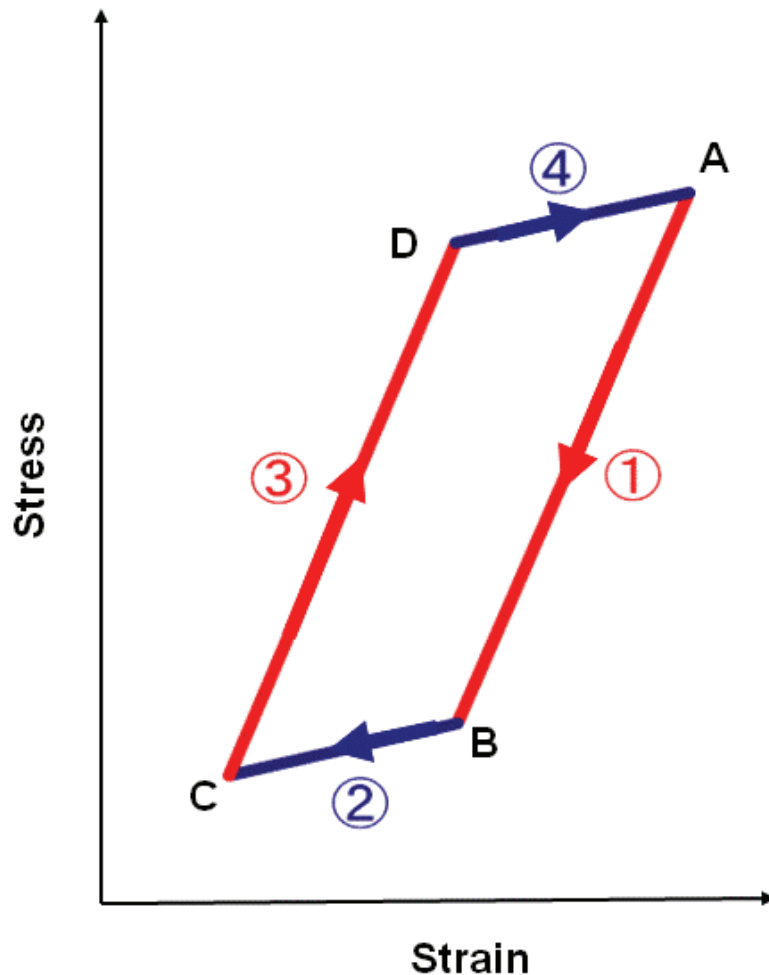


Fig. 2.21 Plastic deformation-induced hysteresis in the unloading-reloading process. ①, ②, ③ and ④ refer to “elastic deformation in unloading”, “plastic deformation in unloading”, “elastic deformation in reloading” and “plastic deformation in reloading”. A, B, C and D refer to “start of unloading”, “onset of plastic deformation during unloading”, “start of reloading” and “onset of plastic deformation during reloading”.

本試験ではヒステリシスが現れないように除荷量を  $30\mu\text{m}$  と少なくすることで Fig.2.18 に見られるように弾性変形のみを出現させた。この工夫により精度よくヤング率を測定できたと考える。

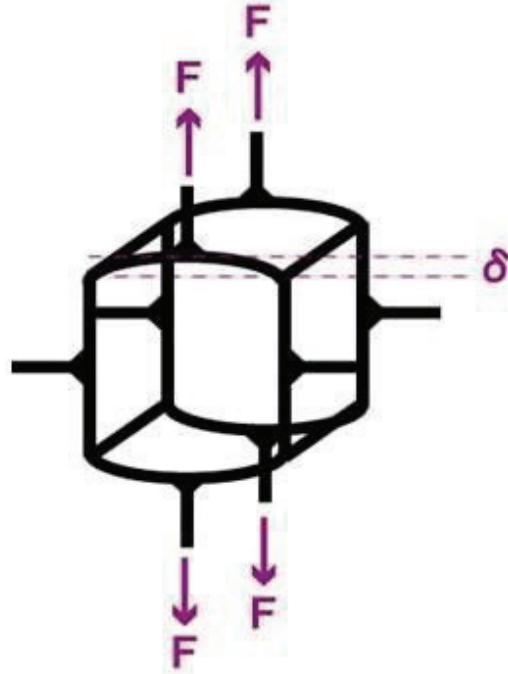
試験方向（X 方向（表面層に平行），Y 方向（表面層に垂直方向））による引張試験，圧縮試験の異方性は Fig.2.6, Fig.2.9 に示した表面層の web の影響であると考えられる。No.2 の引張強さが No.3 より大きい理由は表面層と水平方向に荷重が負荷されるため表面層が強度を支えること，及び各層の最弱部で破断が起ころっても，表面層で破断の連鎖を断ち他のより強い層が外力を負担してさらに変形することができるためと考えられる。そして No.3 では表面層が荷重に対し水平方向であるため表面層が強度に寄与できないと考える。

オープンセル多孔体の圧縮試験におけるヤング率および耐力は，Gibson と Ashby によって材料力学における梁の理論を用いたモデルが提案され，(2.24)式，(2.25)式が使われてきた。 $E_s$  は金属のヤング率， $E^*$  は多孔体のヤング率， $C_1, C_2$  は比例定数， $\rho^*/\rho_s$  は相対密度， $\sigma_{ys}$  は金属の耐力， $\sigma_{pl}^*$  は多孔体の耐力である。

$$E^* / E_s = C_1 \times (\rho^*/\rho_s)^2 \quad (2.24)$$

$$\sigma_{pl}^* / \sigma_{ys} = C_2 \times (\rho^*/\rho_s)^{3/2} \quad (2.25)$$

多くのデータとの合わせ込みから， $C_1, C_2$  は，1 と 0.3 が妥当な値として求められている<sup>(10,11)</sup>。引張試験においても Fig.2.22 に示す圧縮と同じモデルを適用すれば弾性領域では同じ式が成立すると考えられることから，(2.26)式，(2.27)式が求められる。



**Fig. 2.22 Model of the loaded and distorted cell structure.**

$$E^* / E_s = 1 \times (\rho^* / \rho_s)^2, \quad (2.26)$$

$$\sigma^*_{pl} / \sigma_{ys} = 0.3 \times (\rho^* / \rho_s)^{3/2} \quad (2.27)$$

ここで CP-Ti の  $E_s$  を 110GPa, 耐力を 650MPa として<sup>(8)</sup>, 上式に代入する. 気孔率 84%の発泡 Ti のヤング率  $E^*$ は 2.8GPa, 耐力  $\sigma^*_{pl}$ は 12.5 MPa, 気孔率 81%の発泡 Ti のヤング率  $E^*$ は 4 GPa, 耐力  $\sigma^*_{pl}$ は 16.4 MPa と計算された. これらの値は X 方向の測定値 Table 2.6 の No.1, No.2 および

Table 2.7 の No.5 と整合する値と考えられる。しかし Y 方向の測定値と計算値を比較すると測定値は低い値となり乖離が見られ、予測式としては X 方向に使うのが妥当であった。

多孔体の機械的試験は一般的に圧縮試験で実施される。(2.26)式、(2.27)式で示されるようにヤング率、圧縮耐力は気孔率で決まると考えられている。そこで発泡 Ti および他の製法の間で同等の気孔率の場合強度面に差があるかを比較した。Table 2.8 に、RP 法、スペースホルダー法などによる Ti 多孔体圧縮耐力を、一覧表として比較した。スラリー発泡法による発泡 Ti は理論式 (2.26)式、(2.27)式とよく整合していた。これは他の製法による Ti 多孔体と比較し孔構造が均一なことが寄与していると考えられる。

発泡 Ti のヤング率は 1.3-3.7 GPa であり、その値と海綿骨ヤング率 0.2-3GPa (2.1.2.1,Table 2.2) を比較すると同等以上と考えられる範囲にあった。発泡 Ti の引張強さは 9-20 MPa (Table 2.6) および圧縮耐力は 13-19MPa (Table 2.7) であるが、海綿骨の引張強さは 3-20 MPa および圧縮耐力は 5-30 MPa であり海綿骨の範囲内であった<sup>(14)</sup>。海綿骨の引張強さ、および圧縮耐力はその相対密度に依存しており、その相対密度は 0.2-0.7g/cm<sup>3</sup> と幅があることも報告されている<sup>(14)</sup>。

発泡 Ti のヤング率、引張強さおよび圧縮耐力は海綿骨のそれと比較し同等の値であり力学的適合性を満たしていた。

**Table 2.8 Compression test results of high porosity Ti foam made by various methods<sup>(5)</sup>.**

<b>Methods</b>	<b>Porosity P/%</b>	<b>Pore dia. D/<math>\mu</math>m</b>	<b>Yield strength YS/MPa</b>	<b>Young's modulus E/GPa</b>	<b>Ref.</b>
<b>Slurry foaming</b>	<b>80</b>	<b>300</b>	<b>19.4</b>	<b>3.2</b>	<b>5</b>
<b>Rapid prototyping</b>	<b>75</b>	<b>800</b>	<b>20</b>	<b>-</b>	<b>12</b>
<b>Space holder</b>	<b>80</b>	<b>200-500</b>	<b>25-30</b>	<b>2.9</b>	<b>13</b>
<b>Space holder</b>	<b>80</b>	<b>100-500</b>	<b>8</b>	<b>0.5</b>	<b>8</b>
<b>Gibson-Ashby modeling</b>	<b>80</b>	<b>-</b>	<b>16.4</b>	<b>4</b>	<b>10</b>

### 2.5.3 耐食試験結果および考察

2.4.2 に具体的な発泡 Ti の耐食試験としてアノード分極試験条件，試験片形状を示した．発泡 Ti 単体の試験片寸法は  $10 \times 10 \times 2 \text{mm}$  であり，板との接合試験片形状は Fig.2.11, Fig.2.12 に示した．発泡 Ti，板材および，その接合試験片等のアノード分極曲線結果を Fig.2.23 に示す．

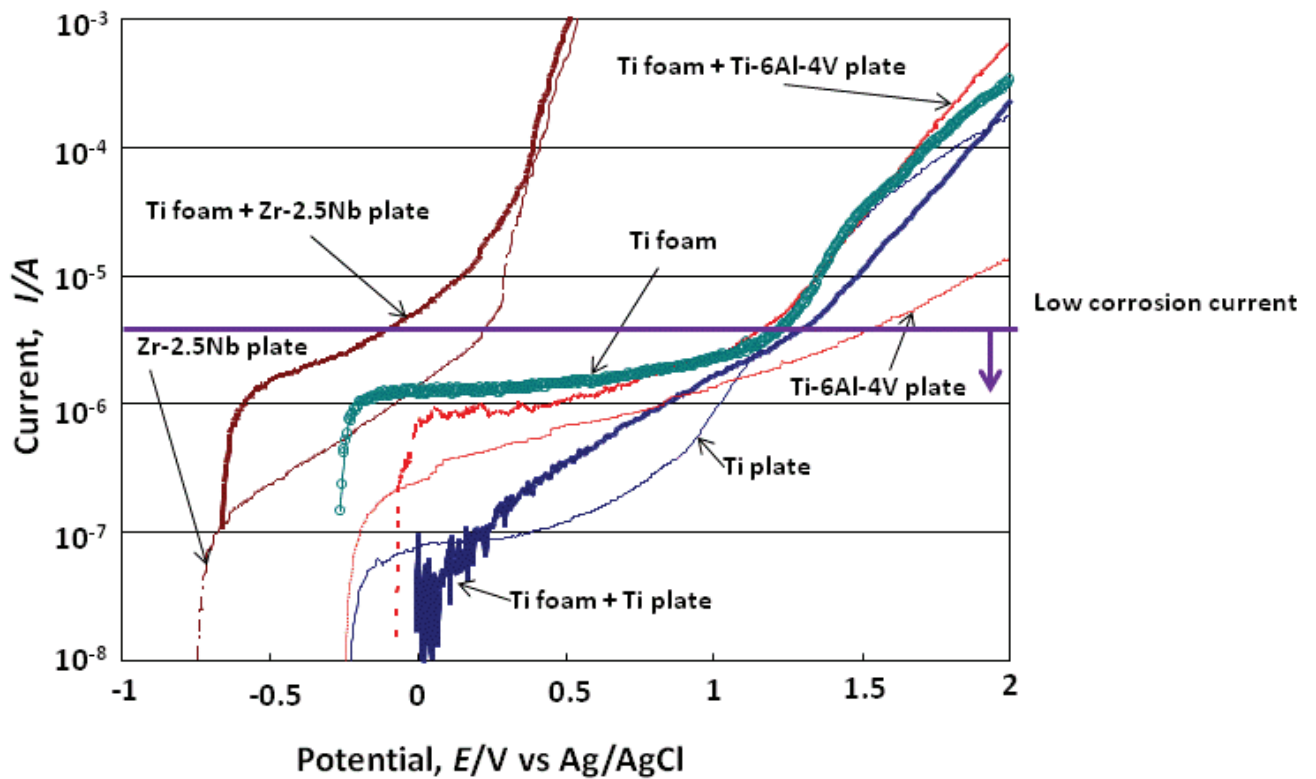


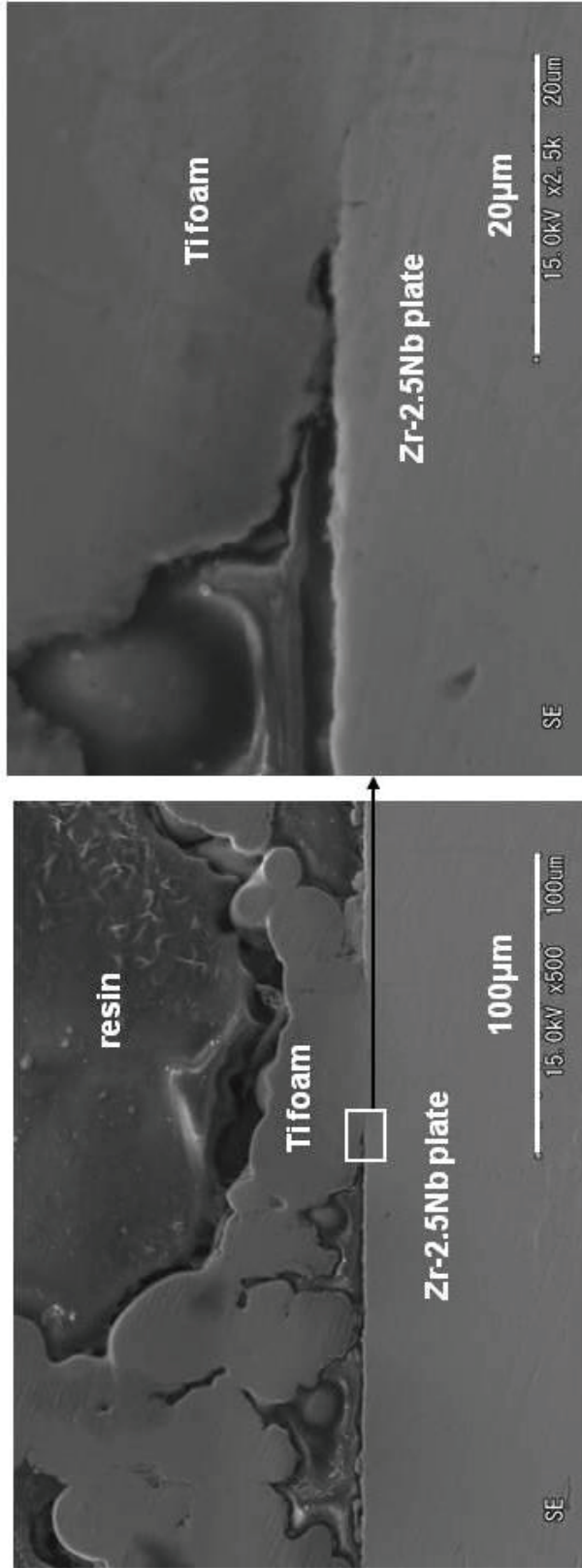
Fig. 2.23 Polarization curves of Ti foam, plates and Ti foam bonded with plates<sup>(5)</sup>.

Fig.2.23 から，板材に発泡 Ti を接合した試験片はどの材質でも板単独より電流値が大きくなっている．電流値が大きくなった原因としては発泡体表面積増大と接合による耐食性低下が可能性として挙げられる．接合により耐食性に変化が無いと仮定すると，接合試験片の電流値は板試験



片電流値に発泡 Ti の電流値を加えた値とほぼ同じ値となるはずである。Ti 板と Ti-6Al-4V 板との接合試験片の電流値は発泡 Ti の電流値とほぼ同等もしくは低い値を示しているので、耐食性の劣化は起きていないことが明らかになった。また Fig.2.23 で示した Ti 板、発泡 Ti の分極曲線は、従来研究で行われた 3%NaCl 水溶液における Ti 板、Ti 多孔体のアノード分極曲線と同様な傾向を示した<sup>(15)</sup>。発泡 Ti の表面積は BET 法 (QUANTACHROME 社製, AUTOSORB-1MP クリプトンガス吸着, 200°C 脱気×1h)により測定し 0.026 m<sup>2</sup>/g であった。発泡 Ti の表面積は 3.1 cm<sup>2</sup>, 板の面積は 1.1cm<sup>2</sup> であった。

Zr-2.5Nb 接合体は、発泡 Ti の腐食電位よりも低い電位でも、板単独よりも電流値が高くなっている。この電位域では、発泡体がアノード電流値を押し上げる事はできない。したがって、接合による耐食性劣化の可能性が考えられる。分極測定後の接合界面の SEM 観察像を Fig.2.24 に示す。界面付近に腐食は観察されなかった。したがって、Ti との接合界面周辺で選択的に耐食性が劣化したのではなく、全体的に耐食性が低下したと推察される。Zr は塩素イオンを含む酸性水溶液中では、不動態皮膜が破壊されるとの指摘がある<sup>(12)</sup>。しかし、電流値は使用実績のある Ti 板の **passivation current** と同程度であり、使用上問題ないと考えられる。一般的な耐食性良好の目安として 10<sup>-6</sup>A/cm<sup>2</sup> の線を Fig.2.24 に示した。生理食塩水中アノード分極試験による発泡 Ti 耐食性は整形外科用インプラント材として使用実績があり、生体材として一定の評価を受けている板材の Ti, Ti-6Al-4V および Zr-2.5Nb 材と同程度であり、整形外科用インプラント材として使用可能であった。



**Fig. 2.24 Micro structure of Ti foam bonded with Zr-2.5Nb plate after polarization test<sup>(5)</sup>.**

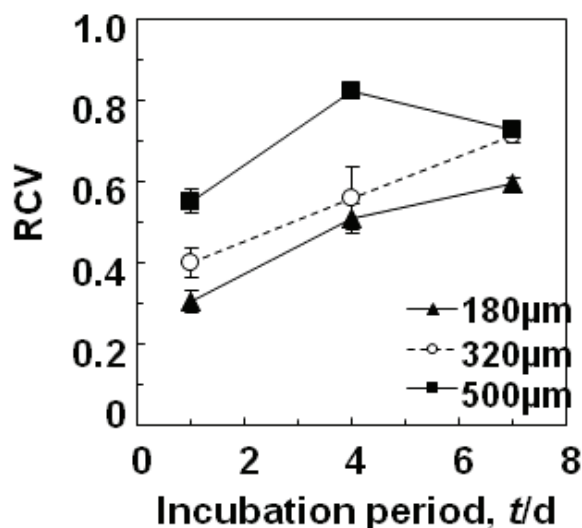
## 2.5.4 細胞増殖試験結果および考察

### A.1 細胞増殖試験（WST-1 法）結果および考察

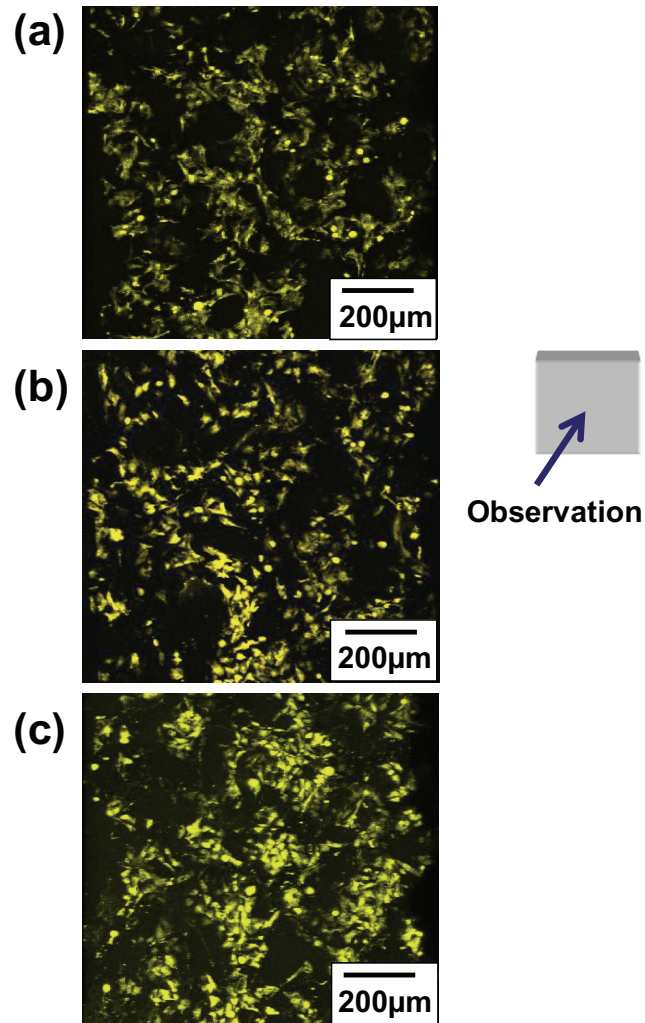
発泡 Ti はバルク材に比較し大きな比表面積を持つことは 2.5.3 で述べた。大きな比表面積を持つ多孔体の生体適合性への影響を評価するため、細胞適合性試験が従来研究されてきた。Chen *et al.* は Ti-6Al-4V 粉末焼結多孔体の粉末粒径を 3 種に篩い分けし各粒径ごとに焼結することで孔径を 100, 130, 150  $\mu\text{m}$  の 3 種類に制御した。また市販材から 180 $\mu\text{m}$  を準備しそれらの孔径の異なる多孔体にヒト骨肉腫細胞の増殖試験を 9 日間にわたり実施し試料表面を評価した。その結果、孔径 150  $\mu\text{m}$  品の細胞増殖が最も良好であり、130  $\mu\text{m}$  が次いだ<sup>(17)</sup>。しかし内部への増殖性評価は行われていなかった。Xue *et al.* は RP 法により、Ti 多孔体を孔径 100  $\mu\text{m}$  未満、300, 450, 550, 800 $\mu\text{m}$ 、気孔率 41-47% の Ti 多孔体試験片を作製した。ヒト胎児骨芽細胞系 h-FOB を用い、それら Ti 多孔体試験片の増殖試験を実施した。150 $\mu\text{m}$  未満の孔径では骨芽細胞が孔を越えて増殖し内部に増殖しなくなるが、200 $\mu\text{m}$  以上の孔径では孔に沿って内部に増殖が進むことを明らかにした<sup>(18)</sup>。Ryan *et al.* は RP 法により、空孔を円柱異形状の孔径 465 $\mu\text{m}$ 、気孔率 45% の Ti 多孔体試験片を作製した。SaOS-2 細胞を用い、その細胞増殖性を確認した<sup>(19)</sup>。

しかしながら従来の細胞適合性試験は、マイクロプレートウエルの底に細胞をまき、そこに試験片を平置きする手法で行ってきた。その場合試験片は底のすべての面を覆うわけではなく試験片上ではなく底部で増殖する細胞が培養中に試験片に侵入していくケースも考えられる。このような試験片外での増殖の影響を発泡金属のような多孔質材料評価するために切り分けることは困難である。特に気孔率が高く、連通孔をもつ発泡金属の細胞増殖を試験する場合には無視できない影響がある。しか

し従来の試験評価では先に述べたように底部の発泡金属と接していないところで増殖した細胞も評価に加えてしまっている。本研究では Fig.2.14 に示すようなシリコン製ホルダーを作製することで直接接触していない部位からの細胞侵入効果が発生しない構造を設計した。評価する発泡 Ti の試験片気孔率は Table 3.5 に示すように 85%, 87% と高いため特に有効な細胞増殖評価方法である。発泡 Ti 孔径の細胞増殖性試験結果を Fig.2.25, Fig.2.26 に示す。Fig.2.25 において時間の経過とともに孔径 180  $\mu\text{m}$  と 320  $\mu\text{m}$  試験片の細胞増殖は進行していったが、500  $\mu\text{m}$  では、その傾向が明確ではなかった。Fig.2.26 は試験片 H<sub>180</sub> における SaOS-2 培養 1, 4, 7 日後の、共焦点レーザー走査顕微鏡写真であり、日数経過とともに SaOS-2 の増殖が観察された。高気孔率発泡 Ti では、気孔径が大きくなるに従い細胞増殖性がよくなる傾向がみられた。



**Fig. 2.25 Cell growth onto Ti foam with different open pore size evaluated by WST-1 assay<sup>(5)</sup>.**



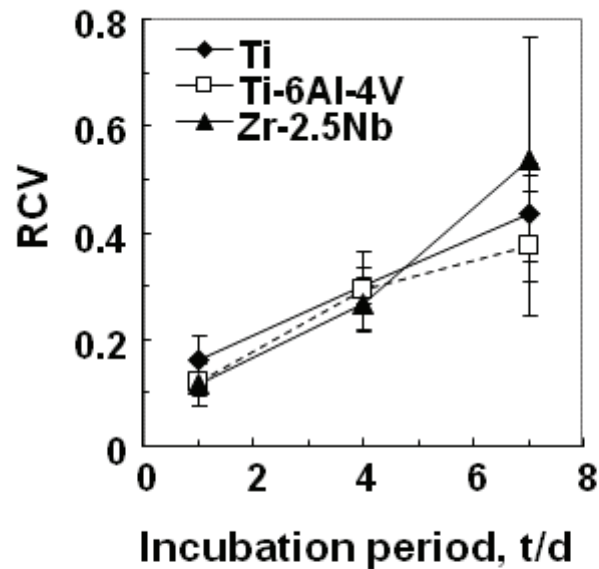
**Fig. 2.26 Typical confocal laser scanning microscopic images of SaOS-2 cultured with the Ti foam No.1. (a), (b), and (c) refer culture days of 1d, 4d, and 7d<sup>(5)</sup>.**

本研究では培養液が内部の気孔に行き渡るよう毎日 6h 攪拌している。この実験条件は *in vivo* を模擬したものであり、酸素と栄養の供給に関しては、大孔径品が小孔径品より有利になると推定できる。そのため Fig.2.25 に見られるように孔径 180 $\mu\text{m}$  より 320 $\mu\text{m}$ , 500 $\mu\text{m}$  孔径試料が細胞増殖性に優れている傾向が現われたと考えられる。

従来の *in vivo* 研究では、骨芽細胞が付着し良好な増殖侵入する多孔体気孔径は当初 100 $\mu\text{m}$  以上必要と考えられてきた。異なる孔径のハイドロキシアパタイト多孔体をネズミに挿入し最適孔寸法を比較し、孔径 300-400 $\mu\text{m}$  の増殖がもっともよく、それを超えると繊維組織が見られるとの結果であった<sup>(16)</sup>。Fig.2.25 の結果はこの *in vivo* 研究結果と孔径の効果として合致するものであった。

## A.2 発泡 Ti と板接合品の細胞増殖試験結果および考察

3.4.3.3 で述べたように発泡 Ti が異材の表面処理用途として使用される場合を想定し、CP-Ti 板、Ti-6Al-4V 板、Zr-2.5Nb 板と発泡 Ti の接合材を耐食試験片と同じ仕様で作製し A.2 で述べた細胞増殖試験を同様に実施した。その試験結果を Fig.2.27 に示す。どの組み合わせでも日数の経過とともに RCV は増加し細胞の増殖が順調に行われ、この期間では接合された基材の影響はなく、Ti 同士の組み合わせと同等の結果を得た。本試験結果と耐食試験の結果を合わせることで、発泡 Ti は基材が Ti-6Al-4V や Zr-2.5Nb のバルク材であったとしても、その表面処理材として使用できる可能性を示した。



**Fig. 2.27 Cell growth onto Ti foam bonded with various metal plates evaluated by WST-1 assay<sup>(5)</sup>.**

## 2.6 まとめ

多孔体 Ti の主用途の一つは、プレスフィット法による人工股関節，人工膝関節の表面処理である．本研究では，ISO 5832 Grade 4 規格をみたし，(a) 高い気孔率 80-87%，(b)小孔径に制御 100-500 $\mu$ m，(c)量産性があり，工業製品として実績のあるスラリー発泡法による発泡 Ti について，生体材料に求められる力学的適合性，耐食性，細胞適合性を評価し，インプラント表面材として生体親和性を確認した．機械的特性評価にお

いて、高気孔率多孔体引張試験方法を発泡 Ti に対し初めて適用し、気孔率 80% の発泡 Ti が海綿骨同等の引張、圧縮試験特性を有し力学的適合性を満たしていることを明らかにした。発泡 Ti の耐食性は生理食塩水におけるアノード分極試験により評価し、CP-Ti 板材と同等の耐食性を有することを示した。細胞増殖性試験では孔径の異なる 3 種類の発泡 Ti を用いて孔径が細胞増殖性に及ぼす影響を確認し孔径 320 $\mu\text{m}$ 、500 $\mu\text{m}$  試験片が孔径 180 $\mu\text{m}$  品より優れた初期細胞増殖性および細胞適合性を有することを明らかにした。力学的適合性も満たしていることから生体親和性を満たしていることを明らかにした。

インプラント表面材は基材となるバルク材と同一材であることが好ましいが、実用の人工関節では必ずしもそうではない。実用材では人工股関節において Ti-6Al-4V ステム材に多孔体 Ti の表面処理を施したり、人工膝関節において Co-Cr 製大腿骨部材に多孔体 Ti 表面処理を利用したりする例がある。体内環境における異材接触はガルバニック腐食とそれに伴う金属イオンの流出を招く可能性がある。そこで発泡 Ti が異材の表面処理用途として使用される場合を想定し、CP-Ti 板、Ti-6Al-4V 板、Zr-2.5Nb 板と発泡 Ti の接合材を試験片として作製し耐食性をアノード分極試験により、生体適合性を細胞増殖性により評価し、異材の表面処理用途としても使用できる可能性が高いことを明らかにした。



## 第 2 章 参考文献

- (1) 和田正弘：化学と工業， 54 (2001) 811.
- (2) 加藤榮一：金属， 70 (2000) 53.
- (3) 石井淑夫編：泡のエンジニアリング，(株)テクノシステム (2005) 155.
- (4) 大塚正久，佐藤英一，北菌幸一共訳：泡の物理，内田老鶴圃 (2004) 23,97.
- (5) K. Kato, A. Yamamoto, S. Ochiai, Y. Daigo, T. Isobe, S. Matano, K. Omori : Mater Trans. 53 (2012) 724.
- (6) 鈴村暁男，浅川基男編著：基礎機械材料，培風館，(2005) 160.
- (7) 塙隆夫編：医療用金属材料概論，日本金属学会，(2010) 244.
- (8) T. Imwinkelried : J. Biomed. Mater. Res. 81A (2007) 964.
- (9) S. Ochiai, S. Nakano, Y. Fukazawa, M. S. Aly, H. Okuda, K. Kato, T. Isobe, K. Kita, K. Honma : Mater. Trans. 51 (2010) 925.
- (10) L.J.Gibson, M.F.Ashby 著，大塚正久訳：セル構造体，内田老鶴圃 (1993) 431.
- (11) 小橋眞：軽金属， 55 (2005) 327.
- (12) L. Mullen, R. C. Stamp, W. K. Brooks, E. Jones, C. J. Sutcliffe : J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 89B (2009) 325.
- (13) C. E. Wen, Y. Yamada, K. Shimojima, Y. Chino, T. Asahina, M. Mabuchi : J. Mater. Sci. Mater. Med. 13 (2002) 397.
- (14) D.R. Cater, G.H. Schwab, M. Spengler : Acta Orthop. Scand. 51 (1980) 733.
- (15) A. Obata, H. Koori, T. Yagasaki and Y. Kimura: SCE 2nd Three-Branch Joint Meeting (Kitakyushu 2009) E205.

- (16) 下平三郎 : 腐食・防食の材料科学, アグネ技術センター, (1995) 263.
- (17) J. Chen, E. Paetzell, J. Zhou, L. Lyons and W. Soboyejo: Mater. Sci. Eng. C 30 (2010) 647.
- (18) W. Xue, B. V. Krishna and A. Bandyhopadhyay, S. Bose: Acta Biomaterialia. 3 (2007) 1007.
- (19) G. E. Ryan, A. S. Pandit and D. S. Apatsidis: Biomaterials. 29 (2008) 3625.
- (20) V. Karageorgiou and D. Kaplan: Biomater. 26 (2005) 5474.

## 第3章 インプラント構造用発泡 Ti の研究

### 3.1 緒言

従来の研究で述べたように、整形外科インプラントの大きな課題のひとつが、ストレスシールドに起因する骨吸収、骨質劣化でありインプラントのルーズニングを引き起こすといわれている。その発生原因はインプラント材料の高ヤング率であった。骨（皮質骨）と同等のヤング率を持つ Ti 合金開発が活発に行われてきたが、骨のヤング率の領域まで低減させるには限界も見られている。合金開発以外の低ヤング率化手法として、多孔質化が有望視されている。しかし先に述べたように、多孔体気孔率を上げることによる低ヤング率化は、ヤング率と強度をバランスさせたとしても骨との早期結合に必要な高気孔率と両立できない問題を抱えていた。本研究はこの問題を解決するために、材料面からヤング率と強度をバランスさせ、加えて骨との早期結合に必要な高気孔率を同時に満たす初めての Ti 多孔体材料を開発・研究するものである。高強度と高気孔率という異なる材料特性要求にこたえるため、発泡 Ti がシート形状であることを利用した。すなわち荷重を担う低気孔率 Ti 層と、骨の固定を担う 2 章で述べた高気孔率発泡 Ti 層を一層ごとに接合させた複層発泡 (Multilayer Ti foam) を検討し想定した特性がえられるのかが大きな課題である。

本章は上述した背景を踏まえ、複層発泡 Ti が高強度と高気孔率という異なる材料特性要求を生体材料として満たしているか下記項目について検討を行う。

#### (1) 複層発泡 Ti の機械的特性

荷重を担う低気孔率 Ti 層と骨の固定を担う高気孔率発泡 Ti 層の厚さ比率

を変化させた試験片を作製しそれらの引張試験，圧縮試験を行いその影響を検討するとともに皮質骨と機械的特性を比較する．また厚さ比率によって強度が制御できるのか解析する．

## (2) 細胞適合性

複層発泡 Ti は高気孔率発泡 Ti を積層しただけものと細胞侵入性に差があるのか検討する．また発泡 Ti の硬組織適合性評価として石灰化について評価する．

## 3.2 試験方法と試験片

### 3.2.1 引張試験と圧縮試験方法および試験片

試験素材は 2 章で述べたスラリー発泡法による発泡 Ti から作製した．基本的な発泡 Ti 構成層の材料設計は，高圧縮耐力が予測される 17%気孔率多孔質 Ti 層，そして骨と結合する層を第 2 章で研究した発泡 Ti 層（孔径 300–400 $\mu$ m）から構成した．17%気孔率の多孔質層はスラリー発泡法から発泡剤を添加しないことで作製した．例として Fig. 3.1 に作製した試料の外観写真を示す．2mm 厚さの気孔率 80%発泡 Ti 層と 1mm 厚さの気孔率 17%Ti 多孔体層を 4 枚ずつ計 8 層重ね真空拡散接合して作製した試験片である．試験片の仕様は Table 3.1 に示す．試験片呼称の H, M, L は気孔率の値が High, 80%, Middle, 62-63%, Low, 17%を示す．添字の数字は厚さ mm を示す．Fig. 3.1 の試料は Table 3.1 の H2L1 試験片である．



**Fig. 3.1 Photograph of a Multilayer Ti foam H2L1<sup>(1)</sup>.**

Table 3.1 から具体的に説明する． H2L1 の H2 は Ti foam A の孔径 320  $\mu\text{m}$ ，気孔率 80%，厚さ 2mm 発泡 Ti であり， L1 は Ti foam B の気孔率 17%，厚さ 1mm の Ti 多孔体層から構成されており， No. of repetition は 4 層ずつ繰り返し積層させた構成であることを示している． それら各 4 層は真空熱処理炉を用いて拡散接合され一体となる． Total porosity はその試験片全体の気孔率を表し， H2L1 では 57%となっている． 材料としての呼称は複層発泡 Ti(Multilayer Ti foam)とした． Table 3.1 に示す M2 試験片は Ti foam A の孔径 340  $\mu\text{m}$ ，気孔率 62%，厚さ 2mm の発泡 Ti を 6 層積層して真空熱処理炉を用いて拡散接合して作製した試験片である． 材料としての呼称は積層発泡 Ti(Stacked Ti foam)とした．

代表的化学分析結果を Table 3.2 に示す． 原料の Ti 粉末に比較して炭素はスラリーの構成成分の影響から増加しているが， 水素は真空焼結により脱水素されていた．

**Table 3.1 Specifications of multilayer and stacked Ti foam samples<sup>(1)</sup>.**

Designation	Type	Total porosity <sup>*1</sup> P (%)	No. of repetition	Ti foam A <sup>*2</sup>				Ti foam B <sup>*2</sup>			
				D <sub>A</sub> /μm	P <sub>A</sub> (%)	T <sub>A</sub> /mm	D <sub>B</sub> /μm	P <sub>B</sub> (%)	T <sub>B</sub> /mm		
H1M1	multilayer	72	6	320	80	1	320	63	1		
H2L1	multilayer	57	4	320	80	2	- <sup>*3</sup>	17	1		
H1L1	multilayer	42	6	380	80	1	- <sup>*3</sup>	17	1		
M2L2	multilayer	38	3	340	62	2	- <sup>*3</sup>	17	2 <sup>*4</sup>		
H2	stacked	80	6	300	80	2	-	-	-		
M2	stacked	62	6	340	62	2	-	-	-		

D: average pore diameter, P: porosity, and T: thickness. Designation letters indicate Ti foam with high (H), middle (M) or low (L) volumetric porosity. Designation numbers indicate the approximate thickness of the corresponding Ti foam in the stacked sheet. <sup>\*1</sup>Total porosity of multilayer and stacked foam was slightly lower than the initial porosity of Ti foam A and B, because of the stacking sintering process. <sup>\*2</sup>Properties of Ti foam A and foam B are measured in the sheet condition. <sup>\*3</sup>Pore diameter of the foam with low porosity was difficult to measure by optical microscopy. <sup>\*4</sup>Ti foam L was stacked using two sheets of L1.

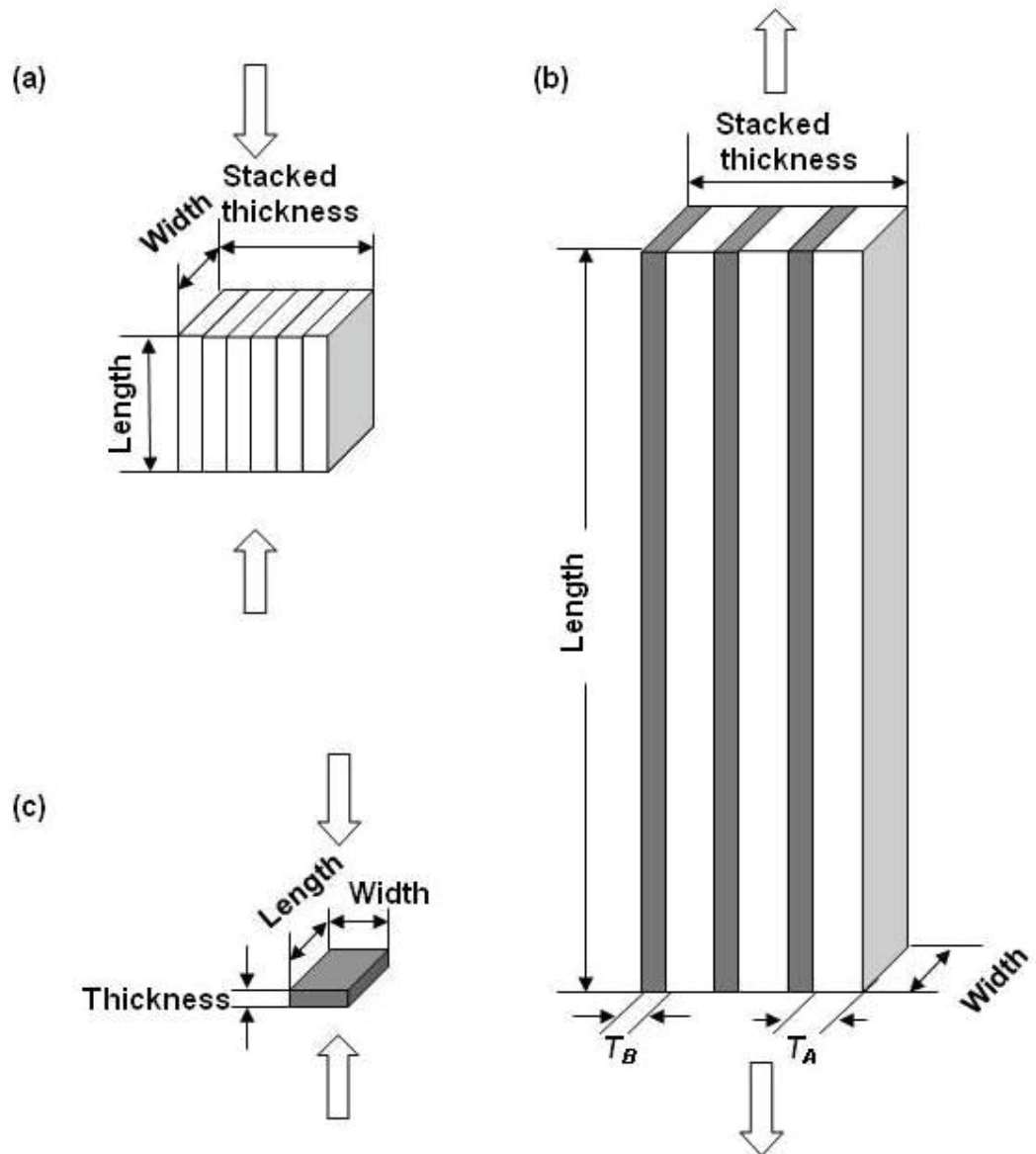
**Table 3.2 Typical chemical composition of Ti powder and Ti foam (mass %)<sup>(1)</sup>.**

	<b>C</b>	<b>H</b>	<b>Fe</b>	<b>O</b>	<b>N</b>
<b>Ti powder*</b>	<b>&lt; 0.01</b>	<b>0.034</b>	<b>0.065</b>	<b>0.23</b>	<b>0.01</b>
<b>Ti foam A</b>	<b>0.10</b>	<b>0.008</b>	<b>0.054</b>	<b>0.27</b>	<b>0.01</b>
<b>Ti foam B</b>	<b>0.13</b>	<b>&lt; 0.001</b>	<b>0.040</b>	<b>0.30</b>	<b>0.01</b>

**(Porosity 80%)**

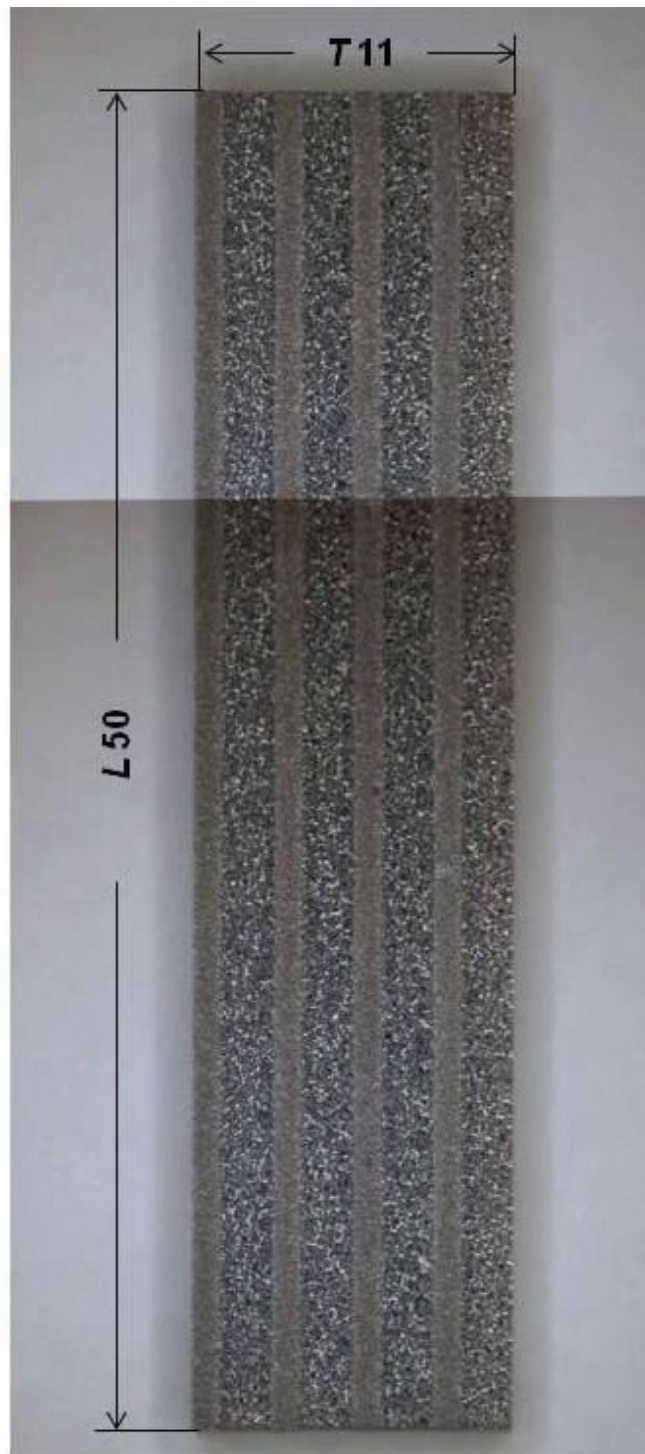
**\* Mill certificate**

試験方法は 2.4 で説明した方法によるが Table 3.1 の試験片に対する荷重方向は Fig. 3.2 に、引張試験材料 H2L1 の外観写真を Fig. 3.3 に示す。Fig.3.2(a)で示す圧縮試験片寸法は積層厚さ 11-12mm，長さ 10mm，幅 12mm，であり，Fig. 3.2 (b) の引張試験片寸法は積層厚さ 11-12mm，長さ 50mm，幅 5mm である。積層厚さが 11-12mm となるように積層枚数を選定した。Fig. 3.2 (c) の圧縮試験片は Table 3.1 の Ti foam B，17%気孔率シートに対する試験であるが，等方性を仮定し単層で圧縮した。各試験片は 3 個用意し試験を行った。



**Fig. 3.2** Illustration of compression and tension test samples. Arrows show the compression and tension directions. (a) Stacked Ti foam sample, (b) multilayer Ti foam sample, and (c) single Ti foam sheet.  $T_A$  and  $T_B$  represent the thickness of the Ti foam sheets A and B in the multilayer foam.





**Fig. 3.3 Microscopic image of sample H2L1 for tensile test.**

### 3.2.2 細胞侵入試験方法および試験片

インプラントの初期固定には骨との接触面から，骨芽細胞がインプラント内部に速やかに侵入することが重要である．そこで3章に発泡 Ti の細胞増殖性を評価してあるので，本章では発泡 Ti への細胞侵入性をヒト骨肉腫由来細胞 SaOS-2 を用いて2段階で評価を行った．第一に発泡 Ti の孔径が細胞侵入性に及ぼす影響をしらべるため2章と同じく Table 3.3 に示す発泡 Ti 試験片として作製した．第二に積層発泡 Ti, H2 と複層発泡 Ti, H2L1 の細胞侵入性を比較し複層の影響を評価した．H2 と H2L1 の寸法は積層厚さ 11-12mm，長さ 10mm，幅 2mm であり，Fig.3.4 に示す．

細胞侵入性試験方法を Fig.3.5 に示す．多孔体の細胞適合性試験の多くは，細胞を直接多孔体上部から播種する方法が取られている．その結果，播種された細胞は多孔体の表面上にとどまるものと，孔の内部に最初から落ち込んでしまうものとに別れてしまい細胞播種段階から誤差要因を持ち込む結果となっている．本研究ではこの誤差要因を排除するため細胞侵入性試験を Fig.3.5 のような方法で行った．すなわち，SaOS-2 を滅菌したシリコーンシート(15mm 角，0.1mm 厚さ)に， $1.85 \times 10^5$  個を 6mL 培養液 (D-MEM+FBS) 6mL 中に播種し 37°C，5%CO<sub>2</sub> 下で 4 日間培養し，ほぼコンフルエントにした．ついで SaOS-2 で覆われたシリコーンシートを Fig.3.5 に示すように細胞増殖面を下に向け試験片に載せ，シリコーンシートが動かないように直径 9mm のガラス管をその上に置いた．37°C，5%CO<sub>2</sub> 下で，7，14，21 日間培養し，その後 10vol.%ホルマリン-10vol.%メタノール混液で固定した．Fig.3.5 で示すように試料を切断後，sulforhodamine 101 acid chloride (Texas Red) で染色した．再現性は同一試験を繰り返して確認した．

細胞侵入性の測定は蛍光顕微鏡 (MVX-10，オリンパス) を用い，試験

片表面から最も深い位置の細胞の侵入距離を測定した。各試験片につき4視野(3.52×2.68mm) 観察し計測した。有意差検定は、孔径の異なる3種の発泡 Ti 試験片については Tukey (または Turkey-Kramer) 法で解析した。H2 と H2L1 の結果については、*t* 検定 (または Welch 検定) により解析した。

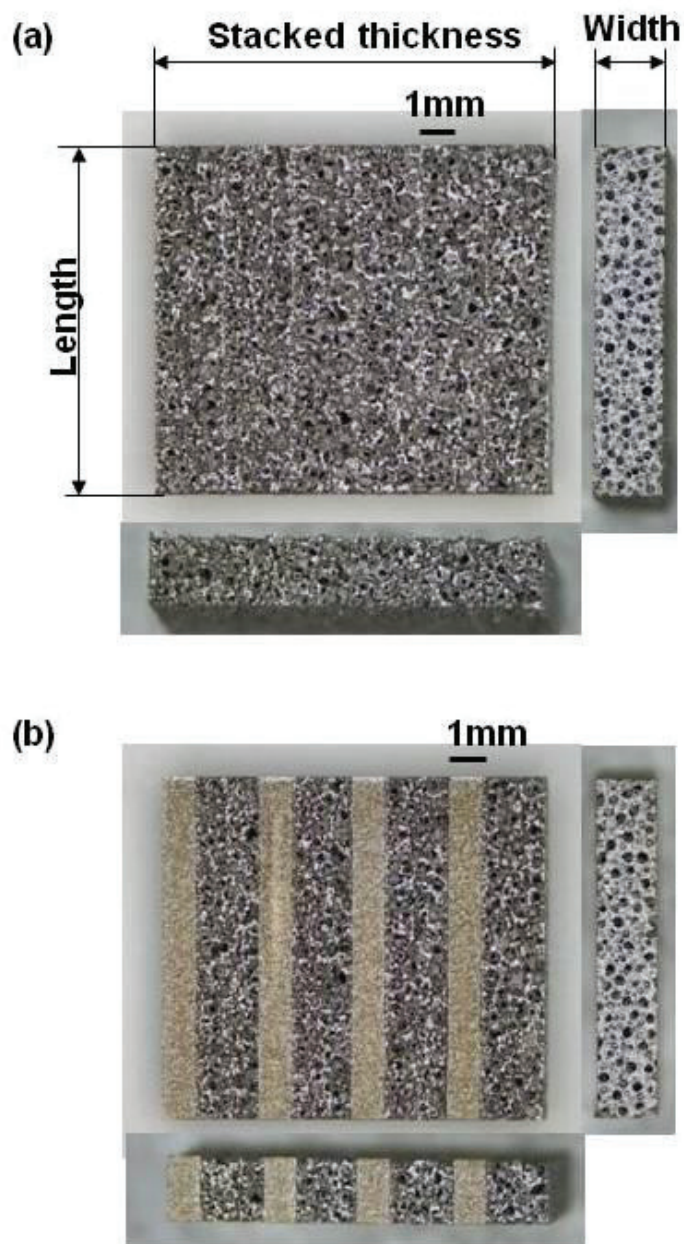
### 3.2.3 細胞石灰化試験方法および試験片

細胞石灰化試験には Table 3.3 下段に示す試験片を用いた。養容器底面との接触を避けるため、試験片をシリコーン O リングにセットした後、オートクレーブ滅菌し細胞培養用に表面処理を行っていない12穴マイクロプレートに静置した。各穴には  $1 \times 10^6$  個の SaOS-2 細胞を 0.1mL 培養液 (D-MEM+FBS) に播種した。20 分後、2mL の培養液を追加し3日間培養しほぼコンフルエントにした。次に培養液を石灰化培養液 (D-MEM+FBS に 0.5 mM  $\beta$ -glycerophosphate 及び 50  $\mu$ g/mL L-ascorbic acid を添加したもの) に石灰化培養液を1日おきに交換しながら、7, 14, 21, 28 日間培養した。そして、蛍光指示薬である calceine を、その濃度が 1  $\mu$ g/mL になるように添加し、さらに4時間培養後、固定し、calceine 及び Texas Red で染色した。細胞観察は共焦点レーザー顕微鏡 (LSM-510, Carl Zeiss Japan) により、各試験片3箇所以上行った。また再現性は同じ試験を繰り返して確認した。

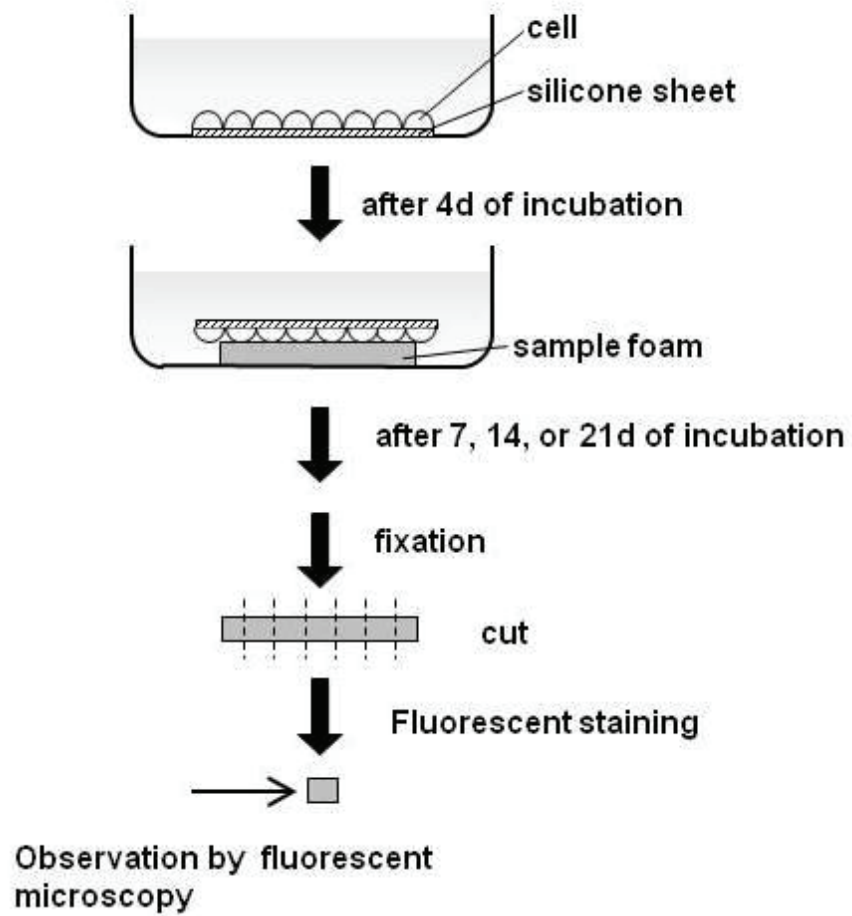
**Table 3.3 Specification of Ti foam sheet samples<sup>(1)</sup>.**

Designation	Average pore diameter* <i>D</i> /μm	Porosity <i>P</i> (%)	Dimensions Width <i>W</i> , Length <i>L</i> , Thickness <i>T</i> /mm	Type	Assay
H <sub>180</sub>	180	87	T12, L10, W2	single sheet	penetration
H <sub>320</sub>	320	85	T12, L10, W2	single sheet	penetration
H <sub>500</sub>	500	85	T12, L10, W2	single sheet	penetration
H <sub>150</sub>	150	89	W11, L11, T0.5	single sheet	calcification

\* Average pore diameter was measured by a digital image processing.



**Fig. 3.4 Appearance of a stacked Ti foam sample and a multilayer Ti foam sample<sup>(1)</sup>. (a) H2 and (b) H2L1.**

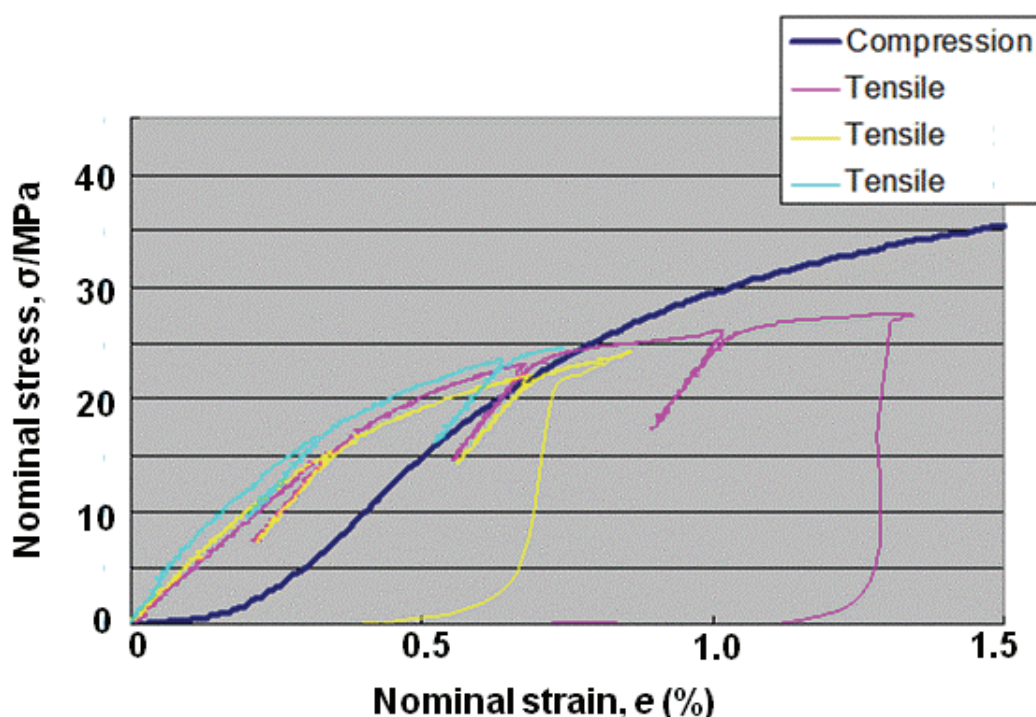


**Fig. 3.5 Schematic explanation of cell penetration assay<sup>(1)</sup>.**

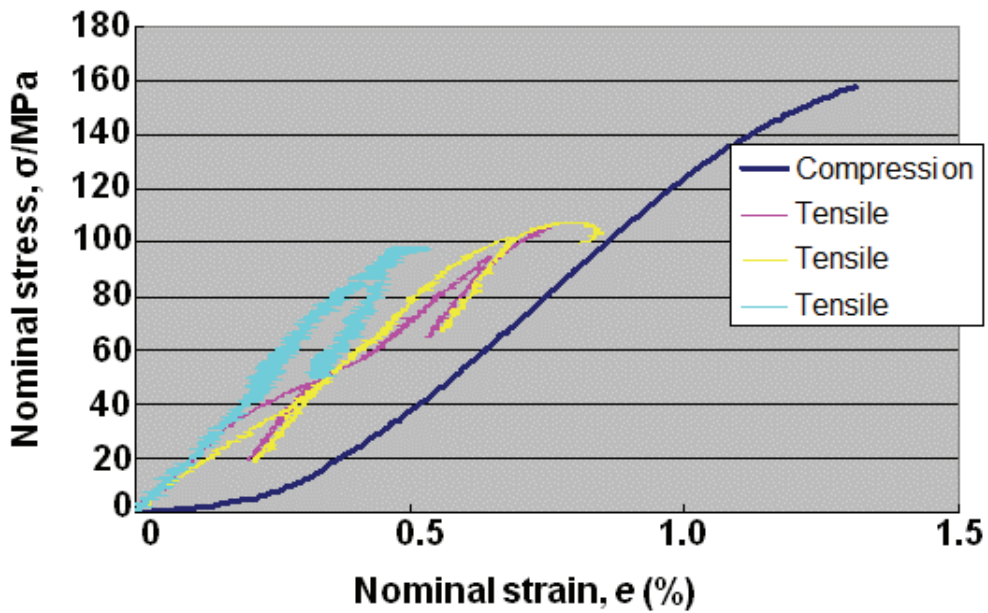
### 3.3 試験結果および考察

#### 3.3.1 引張試験と圧縮試験結果

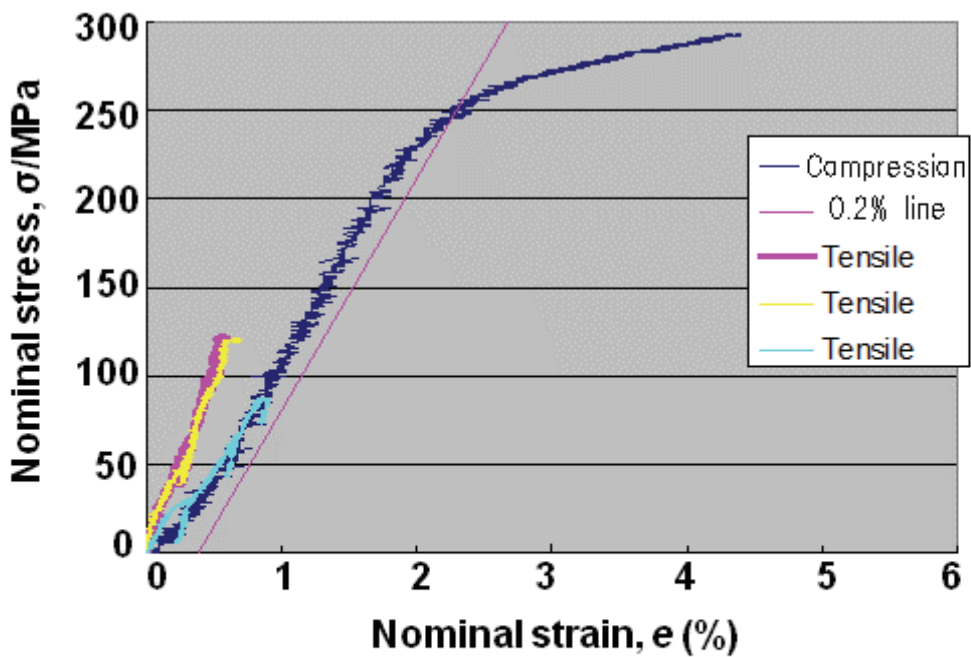
複層発泡 Ti の引張試験および圧縮試験における応力-ひずみ曲線を Fig. 3.6-Fig. 3.9 に示す。引張、圧縮試験結果を Table 3.4 に示すが、試験片の気孔率の増加に伴って圧縮試験では 0.2% 耐力は増加しているが、引張試験では L 層を含む場合増加傾向は顕著ではなく誤差範囲であった。引張と圧縮のヤング率を比較すると、圧縮試験に比較して引張試験のヤング率値が高かった。引張試験ヤング率は L 層を含む試験片において、初期の値に比べ始めの負荷-除荷-再負荷における再負荷の値が大きい値であった。L 層を含む複層発泡 Ti の圧縮試験結果は、ヤング率が 11GPa、耐力が 150-250MPa である。



**Fig. 3.6 Tensile stress-strain curves of H1M1 under repeated loading-unloading process and compression stress-strain curve of H1M1.**

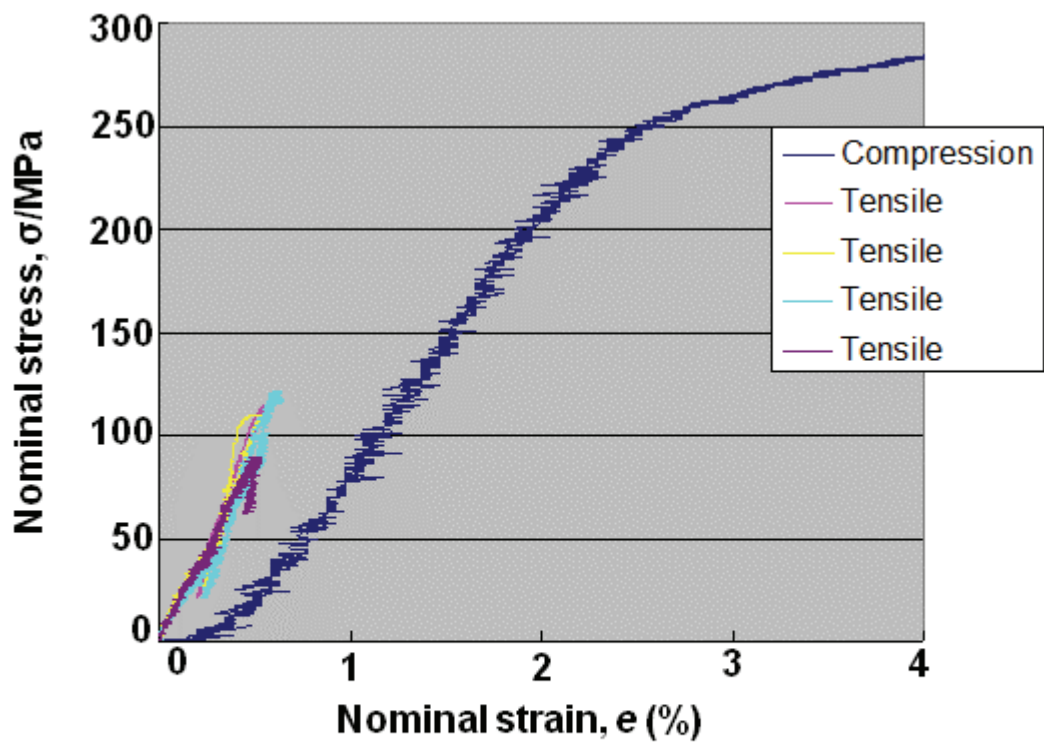


**Fig. 3.7 Tensile stress-strain curves of H2L1 under repeated loading-unloading process and compression stress-strain curve of H2L1.**



**Fig. 3.8 Tensile stress-strain curves of H1L1 under repeated loading-unloading process and compression stress-strain curve of H1L1.**





**Fig. 3.9 Tensile stress-strain curves of M2L2 under repeated loading-unloading process and compression stress-strain curve of M2L2.**

**Table 3.4 Compression and tensile test results of multilayer and stacked Ti foam<sup>(1)</sup>.**

Designation	Porosity P/%	Compression yield strength YS / MPa	Compression Young's modulus Ec / GPa	Tensile strength TS /MPa	Tensile Young's modulus, initial E/GPa	Tensile Young's modulus, 0.4% E/GPa	Nominal tensile fracture strain of tensile test e <sub>f</sub> / %
H1M1	72	34.3 ± 0.6	2.8 ± 0.2	25.5 ± 1.8	5.8 ± 1.2	5.9 ± 0.5	0.98 ± 0.31
H2L1	57	158.3 ± 14.6	11.1 ± 2.3	103.7 ± 4.9	17.6 ± 1.2	24.1 ± 3.6	0.68 ± 0.17
H1L1	42	240.0 ± 10.0	11.5 ± 1.4	110.1 ± 19.3	21.7 ± 6.7	25.7 ± 5.4	0.72 ± 0.15
M2L2	38	251.7 ± 2.9	11.1 ± 0.5	113.8 ± 6.5	19.1 ± 2.7	30.5 ± 5.1	0.58 ± 0.05
H2 <sup>*1</sup>	80	19.4 ± 4.1	3.2 ± 0.6	20.2 ± 2.1	3.8 ± 1.2		1.35 ± 0.86
M2	62	47.8 ± 0.2	6.4 ± 0.2	-	-		-
L <sup>*2</sup>	17	431.0 ± 28.2	17.1 ± 1.1	-	-		-

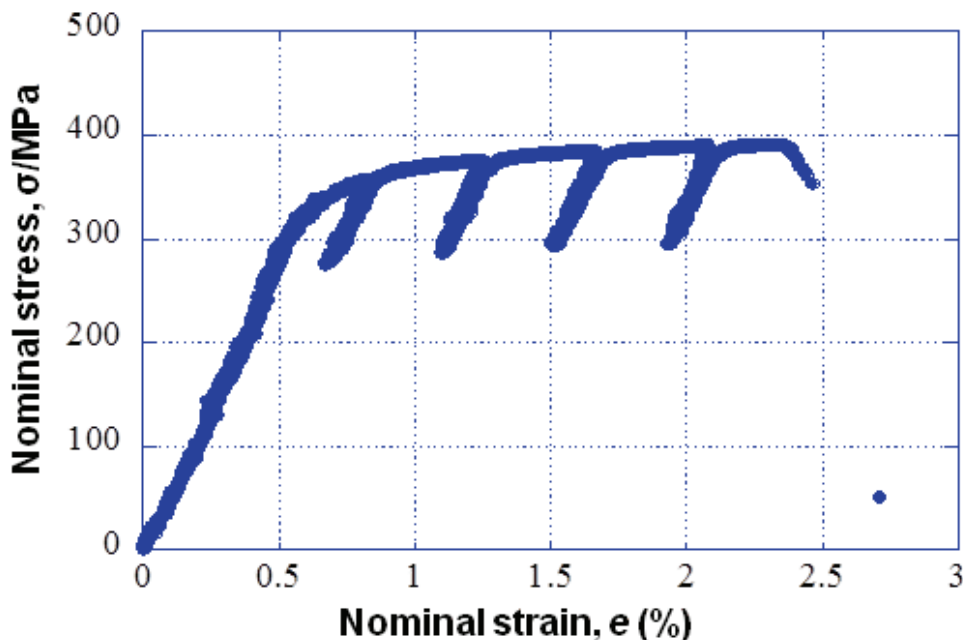
**Test results are mean ± standard deviation.**

<sup>\*1</sup> obtained by our previous work [2].

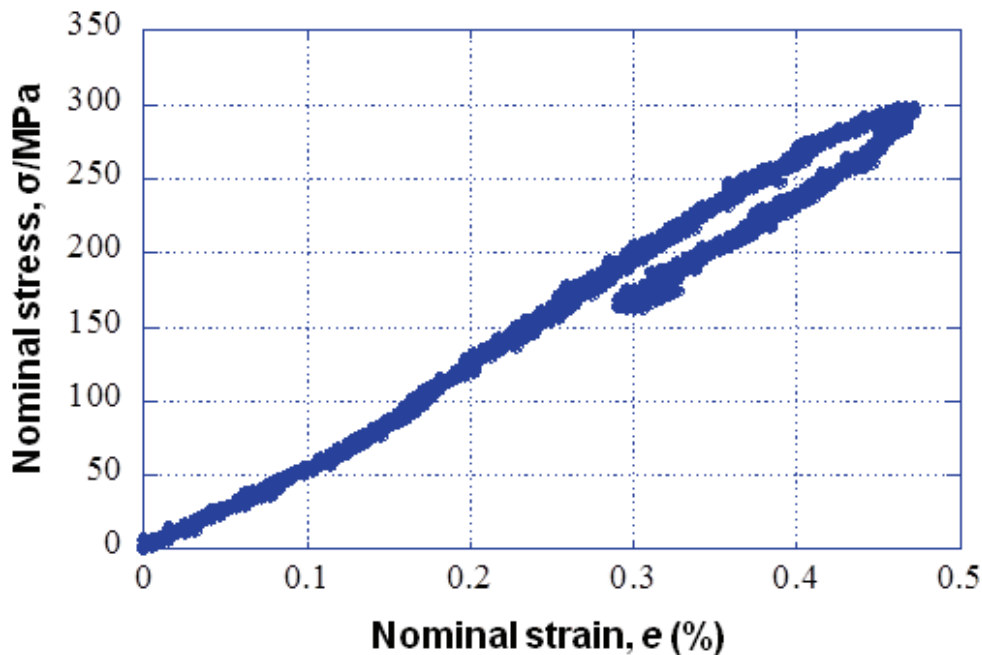
<sup>\*2</sup> single Ti foam sheet. Compression test was loaded in the direction of the sheet thickness, assuming isotropy of the foam sheet L.

### 3.3.2 引張試験と圧縮試験結果の考察

Table 3.4 の引張試験破断伸びを比較すると L 層を含む試験片では伸びが 0.6–0.7% であり, L 層を含まない発泡 Ti は 1-1.4% と差が出ている. また圧縮試験においては数%のひずみを加えても破壊することなく緻密化し, L 層の影響は見られなかった. 引張試験では L 層を含む場合引張強さの増加傾向は圧縮試験に比べ顕著ではなく誤差範囲であった. そこで L 層単独での引張試験を 3 本追加した. その応力–ひずみ曲線を Fig. 3.10, Fig. 3.11 に示す, 1 本は試験に失敗した. L 層引張試験は圧縮試験にくらべ安定した強度を示せなかった. 気孔率の低い試験片 L においては, 引張試験においては空孔の大きさ, 形状の不均一なことによる応力集中による破壊のため安定した引張特性が示さないと考えられる.



**Fig. 3.10 Tensile stress-strain curve of sheet L under repeated loading-unloading process.**



**Fig. 3.11 Tensile stress-strain curve of sheet L under repeated loading-unloading process.**

Table 3.4 の引張と圧縮のヤング率は、圧縮試験に比較して引張試験のヤング率値が高かった。この現象は引張試験においては全断面が引張荷重を受けるのに比較し、圧縮試験では表面の凹凸の影響があるため全断面で圧縮荷重を受けないためと推定した。複層発泡 Ti のヤング率は初期の値に比較し、ひずみ 0.4%における除荷—再負荷における値は低くなっていた。複層発泡 Ti においてはひずみ 0.4%において初期に比較し構造の塑性変形があった可能性を示唆している。

文献で報告される多孔質材料の機械的性質の多くは圧縮試験結果であるため、気孔率を合わせた範囲の圧縮耐力を他の製造方法と比較したものを Table 3.5 に示す。H1L1 は他の製造方法による多孔質材料より大きな圧縮耐力を示した。この耐力の優位性は Table 3.4 で示すようにその L 層が耐力 431MPa を有することに起因すると推定できる。H1 層の圧縮耐

力は 19.4MPa にすぎない。

これらの測定値の理論的考察するため，Fig. 3.12 に Table 3.4 および Table 3.5 の測定値を気孔率で整理し示す。

**Table 3.5 Compression test results of Ti foam produced by slurry foaming-, rapid prototyping-, space holder-, and plasma spray-methods<sup>(1)</sup>.**

Methods	Porosity (%)	Pore diameter $D/\mu\text{m}$	Yield strength YS/MPa	Young's modulus E/GPa	Ref.
Slurry foaming, Multilayer Ti foam	42	380	230-250	10-13	1
Rapid prototyping	33-40	700	100-210	13-20	3
Space holder	50	100-500	130-140	16-18	4
Plasma-spray	40	300-500	85	4-6	5

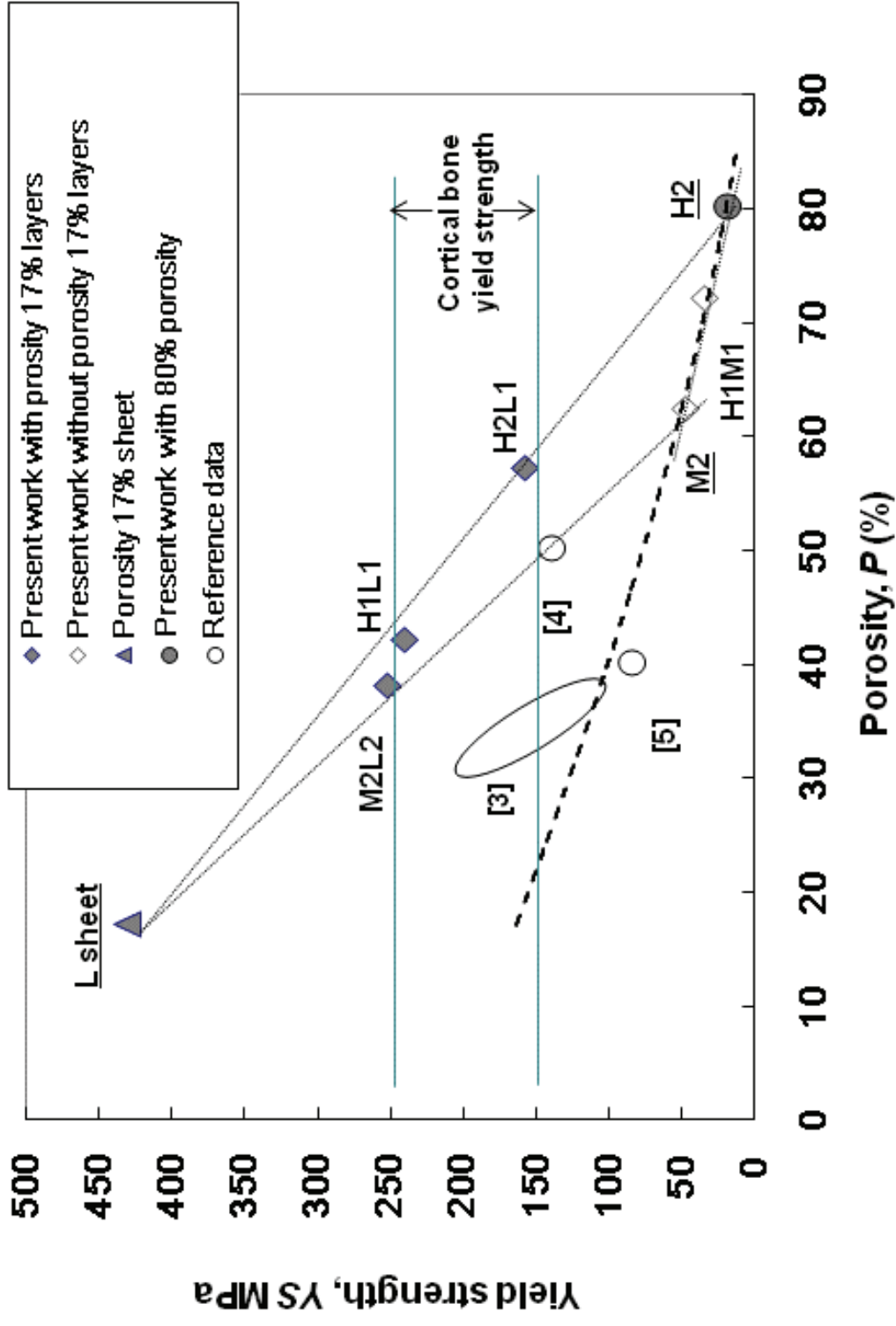


Fig. 3.12 Compression 0.2% yield strength plotted against porosity<sup>(1)</sup>.

Fig. 3.12 には 2 つの式を曲線と直線で示した。曲線は 2.5.2 で述べた Gibson と Ashby の式<sup>(6)</sup>による曲線であり(3.1)に示す。連通孔から構成される金属多孔体の耐力 ( $\sigma^*_{pl}$ ) は、相対密度 ( $\rho^*/\rho_s$ ) の関数として表せることを材料力学的に導出したものである。 $\sigma_{ys}$  は金属の耐力、 $C$  は比例定数、 $\rho^*$  は多孔体のみかけ比重、 $\rho_s$  は金属の比重を示す。

$$\sigma^*_{pl} / \sigma_{ys} = 0.3 \times (\rho^*/\rho_s)^{3/2} \quad (3.1)$$

ここで CP-Ti (4 種) の耐力、650MPa<sup>(4)</sup>を(4.1)式に代入し、H2 の  $\sigma^*_{pl}$  を計算すると 17.4MPa となり、測定値  $19.4 \pm 4.1$ MPa と整合する値となった。次に Fig. 3.12 の L と H2, M2 を結ぶ直線について説明する。これらの直線は(3.2) 式で示す複合則を示している。

$$\sigma^*_m = \sigma^*_A \times T_A / (T_A + T_B) + \sigma^*_B \times T_B / (T_A + T_B) \quad (3.2)$$

$\sigma^*_m$  は複層多孔体の耐力、 $\sigma^*_A$ ,  $\sigma^*_B$  は複層を構成している A 層, B 層の各々の耐力を示す。Fig. 3.12 に示した実験測定値と (3.1) 式, (3.2) 式から以下の結論を導くことができた。

- (1) (3.1) 式は高気孔多孔体の耐力をおおよそ推定することができる。  
(積層であるか複層であるかに関わらず気孔率から推定できる)
- (2) (3.2) 式は複層多孔体の耐力をおおよそ推定できる。  
(このことは閉塞気孔を持つ L 層を含む複層多孔体の耐力と L 層を含まない複層多孔体, 積層多孔体の耐力とは異なる機構で制御されていることを示唆している)
- (3) L 層を有す(3.2) 式は、連通孔から構成される金属多孔体の耐力を表す(3.1) 式より大きな耐力を示す。  
(このことは L 層を有す複層多孔体は同じ気孔率であっても積層

多孔体,あるいはL層を含まない複層多孔体より大きな耐力を持つことを示している)

- (4) 複層多孔体の耐力は, Table 3.1 の A 層と B 層の厚さ比率を変化させることにより制御できる.

L層を含む複層発泡 Ti はヤング率と強度をバランスさせ, 加えて骨との早期結合に必要な高気孔率を同時に満たす初めての Ti 多孔体であり材料面から多孔質材料の課題を解決する成果を上げることができた. また L 層を含む複層発泡 Ti の機械的特性が人の皮質骨同等であった. 圧縮試験結果は, ヤング率が 11GPa, 耐力が 150-250MPa であり, 皮質骨のそれらは, 10-30GPa と 150-220MPa<sup>(7-9)</sup> である. 引張試験結果はヤング率が 17-22GPa, 引張強さが 100-110MPa であり, 同じく人の皮質骨のそれらは, 10-25GPa と 90-170MPa<sup>(7-9)</sup> である. L 層を含む複層発泡 Ti は皮質骨との力学的適合性を満たしかつ制御可能であることは特筆すべき成果である.

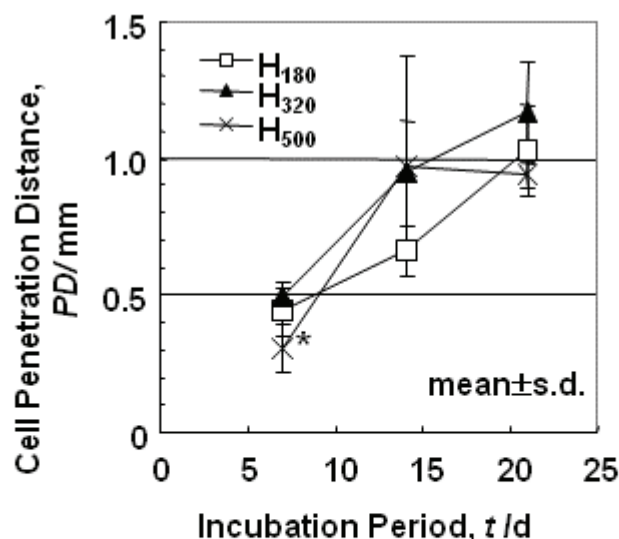
### 3.3.3 細胞侵入試験結果および考察

Fig. 3.13 に, 3 種類の異なる孔径が細胞侵入性に及ぼす影響を示した. このような多孔質体の孔径の差と細胞侵入性影響をしらべた研究はいままで無く, 初の試験結果である. H<sub>180</sub>, H<sub>320</sub> は時間経過とともに細胞が発泡 Ti に侵入し, 21 日培養で 1.2mm まで侵入していた. 一方 H<sub>500</sub> は 14 日培養までは H<sub>320</sub> と同じ侵入距離であったが, 21 日培養では約 1mm の侵入にとどまっていた. 結果として H<sub>320</sub> が最も安定した細胞侵入性を示した. その理由は細胞がシリコンシートから孔のある多孔体表面に移動する機会と多孔体の柱を伝わって侵入していく効率のバランスの問題ではないかと推測した. 即ち H<sub>500</sub> では, 柱が長いので効率的に柱を伝わって細胞が侵入できるが, 逆に大きな孔があるため多孔体表面に移動す



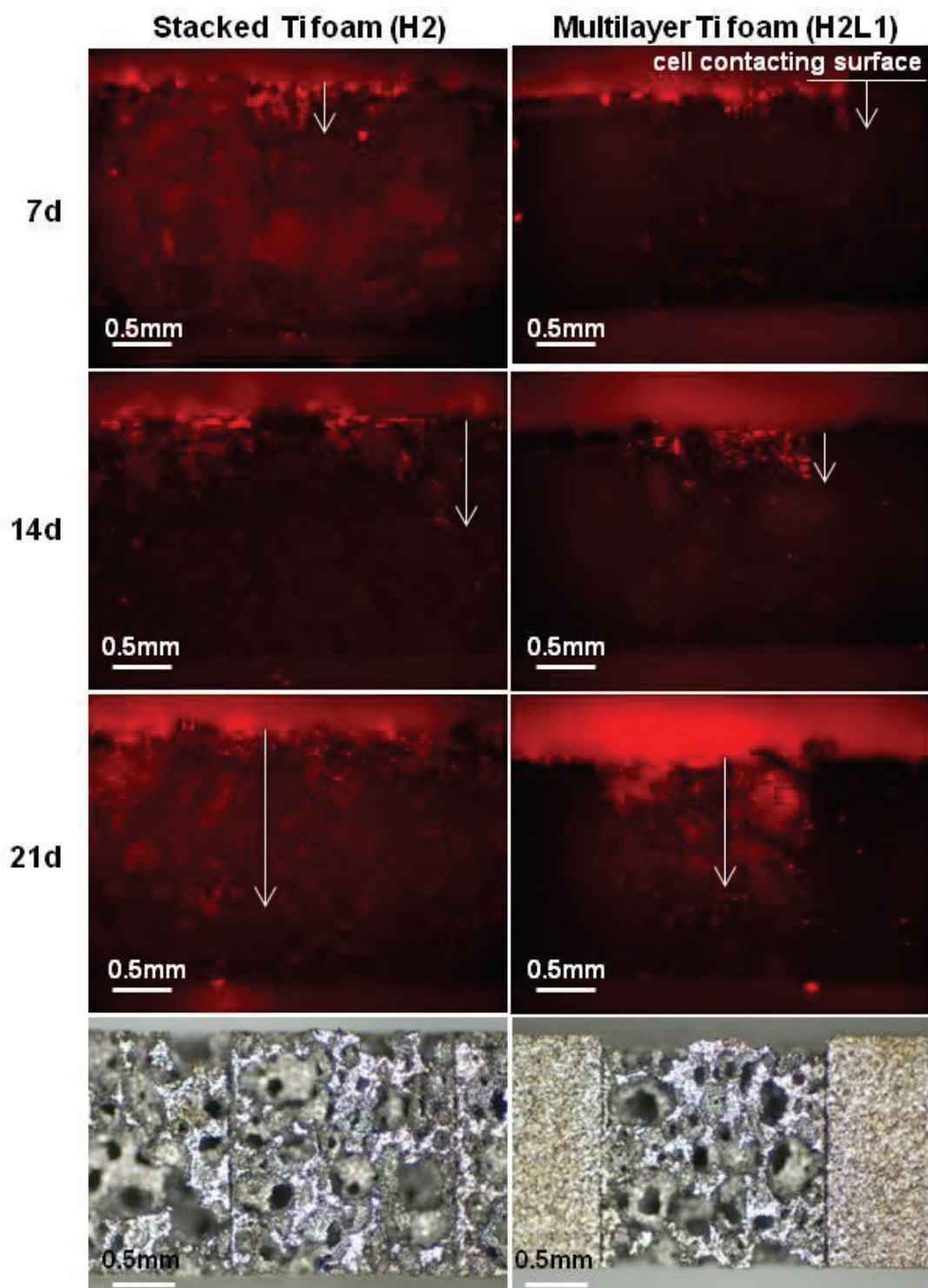
る機会は少なくなる。H<sub>320</sub>はこの細胞侵入性試験において多孔体表面に移動する機会と多孔体の柱を伝わって侵入していく効率のバランスが最もよいためであろう。低気孔率多孔品の動物実験によると、

ボーン・イングロース (bone in-growth) には最低でも、おおよそ 100 $\mu$ m 以上の孔径が必要と一般的に考えられている。しかし、骨形成には 300 $\mu$ m 以上の孔径が望ましいとの説もある。理由は骨形成には血管新生と酸素供給のため大きい孔径が必要なためである<sup>(10)</sup>。しかしながら、1mm を超えた孔径では繊維組織が増え骨形成は阻害される<sup>(11)</sup>。

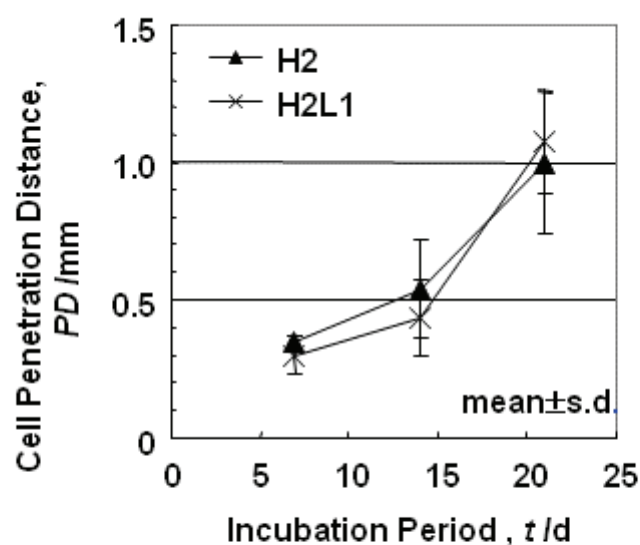


**Fig. 3.13 Cell penetration into Ti foam sheets with different open pore sizes. Subscripts in the graph indicate mean pore diameter<sup>(1)</sup>(see Table 3.3). \*Significant difference is only observed between H<sub>320</sub> and H<sub>500</sub> after 7d incubation (p<0.05).**

積層発泡 Ti, H2 と複層発泡 Ti, H2L1 の細胞侵入性の結果を Fig. 3.14, Fig. 3.15 に示す。H2 の孔径は 300 $\mu$ m である。



**Fig. 3.14** Fluorescence microscopy images of cells penetrated into samples H2 and H2L1. Arrows indicate furthest cell penetration distance in the imaged area. The bottom images show the longitudinal cross-sections of both samples<sup>(1)</sup>.



**Fig. 3.15 Cell penetration into samples H2 and H2L1. No significant difference was observed between H2 and H2L1 for all incubation periods<sup>(1)</sup>.**

細胞侵入性距離は培養期間とともに大きくなっており， Fig. 3.15 に示すように H2 と H2L1 の差は無かった．このことから，最大細胞侵入距離は複層発泡 Ti の高気孔率層によって得ることができ，かつ低気孔率層 L1 の影響を受けていないことが確認できた．複層発泡 Ti, H2L1 は高気孔率積層発泡 Ti と同等の細胞侵入性である．また試験日数については初期（数週間経過）の細胞侵入が重要視されている．

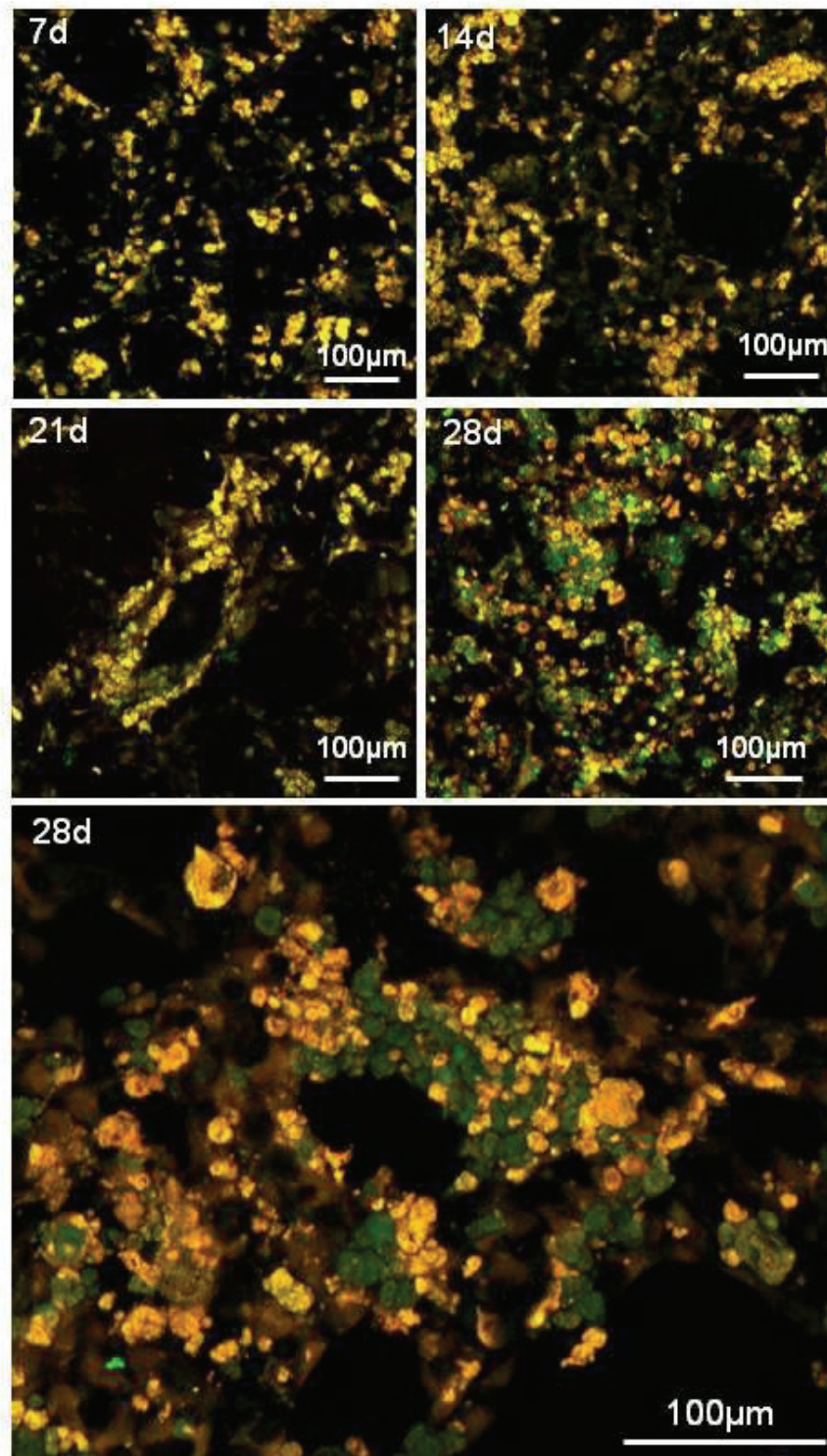
### 3.3.4 細胞石灰化試験結果および考察

Fig. 3.16 に calceine および Texas Red により染色した，細胞の蛍光像を示す．緑色(515nm)の部分は calceine 結合部であり，リン酸カルシウム生成，すなわち石灰化部を示している． Fig. 3.16 の培養 28 日後の蛍光像

は、石灰化培養期間の増加に伴い緑色部が顕著に増加したことを示しており、発泡 Ti 内での SaOS-2 の石灰化増進が確認された。Fig. 3.16 中の黄色あるいはオレンジ色に観察される部分は、Texas Red による赤色 (615nm) および calceine による緑色の両蛍光を示すである。Fig. 3.16 の拡大写真 (下図) では、Texas Red にのみに染色されていることを示す赤色の細胞も認められた。

石灰化は *in vivo* における骨形成初期に見られ、骨芽細胞の骨化を示す指標の一つである。そのため *in vitro* においても骨芽細胞の骨細胞への成熟度や骨形成を調べる試験として行われてきた。Fig. 3.16 の石灰化が強く生じている部位は SaOS-2 細胞の侵入した部位であった。この観察結果は、骨形成には発泡 Ti 内部への骨芽細胞の侵入が重要であることを示唆している。またヒト骨芽細胞の 300-1000 $\mu\text{m}$  の機械加工孔への侵入距離は石灰化に重要であることが報告されている<sup>(12)</sup>。発泡体内部における骨形成能を評価する手法としても、細胞侵入試験は有効であることを示している。

本試験の結果から複層発泡 Ti は良好な細胞侵入性および石灰化が期待できる細胞適合性に優れた材料であることが確認され、骨固定を必要とするインプラントに有望な材料と考えられる。



**Fig. 3.16** Calcification of Saos-2 on a single Ti foam sheet, H<sub>150</sub>. Green indicates densely calcified areas and orange part indicates cells<sup>(1)</sup>.

### 3.4 まとめ

整形外科で使われる構造用インプラント材料には、骨と同等のヤング率、引張、圧縮試験特性と、骨との固定に必要な高気孔率が求められる。しかし、開発ニーズは高いにも関わらずこれらの特性を同時にみたす金属材料は、両立できない要求特性のため、いまだ開発に成功していなかった。両立しない要求特性を有すインプラント材料を開発するため、異なる気孔率の発泡 Ti に特性を分担させる複層発泡 Ti を開発した。複層発泡 Ti の機械的特性は皮質骨と同じ機械的性質を示し、その圧縮耐力の制御メカニズムも解明できた。複層発泡 Ti の高気孔率層の細胞侵入性は、高気孔率の積層発泡 Ti と同等であり、インプラント初期固定に有効であることを示すことができた。さらに発泡 Ti の石灰化も確認することで、高気孔層の固定機能を示唆する結果もえた。

複層発泡 Ti は低気孔率が必要な皮質骨と同等の機械的特性と高低気孔率が必要な良好な細胞侵入性という矛盾する材料要求を両立させた、皮質骨との生体親和性に優れた初めての Ti 多孔体である。

### 第 3 章 参考文献

- (1) K. Kato, S. Ochiai, A. Yamamoto, Y. Daigo, K. Honma, S. Matano, K. Omori : *Acta Biomaterialia*, 9 (2013) 5802.
- (2) K. Kato, A. Yamamoto, S. Ochiai, Y. Daigo, T. Isobe, S. Matano, K. Omori : *Mater Trans.* 53 (2012) 724.
- (3) G.E. Ryan, A.S. Pandit, D.S. Apatsidis : *Biomaterials.* 29 (2008) 3625.
- (4) T. Imwinkelried : *J Biomed. Mater. Res.* 81A (2007) 964.
- (5) M. Takemoto, S. Fujibayashi, M. Neo, J. Suzuki, T. Kokubo, T. Nakamura : *Biomaterials.* 26 (2005) 6014.
- (6) L.J. Gibson, M.A. Ashby. *Cellular solids: Structures and properties*, 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge University Press, Cambridge, (1997) 204.
- (7) D. T. Reilly, A. H. Burstein : *J Bone Joint Surg*, 56-A (1974) 1001.
- (8) K. Alvarez, H. Nakajima : *Materials*, 2 (2009) 790.
- (9) A. Butscher, M. Bohner, S. Hofmann, L. Gauckler, R. Muller : *Acta Biomaterialia*, 7 (2011) 907.
- (10) V. Karageorgiou, D. Kaplan : *Biomaterials* 26 (2005) 5474.
- (11) G. Ryan, A. Pandit, D.P. Apatsidis : *Biomaterials.* 27 (2006) 2651.
- (12) K.H. Frosch, F. Barvencik, V. Viereck, C.H. Lohmann, K. Dresing, J. Breme, E. Brunner, K.M. Stürmer : *J. Biomed. Mater. Res.* 68A (2004) 325.





## 第4章 インプラント表面発泡 SUS316L の研究

### 4.1 緒言

従来の研究に述べたように、整形外科インプラント表面多孔体の開発は材質としてTi中心であり、実用材であるSUS316L(SS)の表面多孔体の開発は少数に限定され、また実用化もされていなかった<sup>(1-3)</sup>。そこで、整形外科治療の材料選択肢を広げるため、実用材SSのインプラント表面用多孔体として発泡SSを検討することとした。インプラント表面多孔体については、従来の研究に述べたように

- ① 気孔率が70%以上であり連通孔が100-500 $\mu$ mの範囲
- ② 海綿骨強度を有す
- ③ 低コストプロセスで製造できる

全ての要求に応えることが求められる。第2章で述べたインプラント表面発泡Tiと同様にスラリー発泡法をもちいた発泡SSを試験片として作製した。インプラント表面用発泡SSは海綿骨との生体親和性を検討する必要がある。

本章はこれらの背景を踏まえて発泡SSの生体親和性として力学的適合性と細胞適合性を満たしているか、下記項目について検討を行う<sup>(4)</sup>。

#### (1) 機械的特性

発泡SSは高気孔率であり発泡Tiと同様な特別な引張試験を行う。

#### (2) 細胞適合性

細胞適合性試験として細胞増殖性試験、細胞侵入性試験、石灰化試験を行う。細胞侵入性については合金の下地および下層の発泡SS層が表面層への細胞侵入に影響するかも検討する。

## 4.2 試験方法と試験片

使用原料粉末と発泡 SS の化学成分を Table 4.1 に示す. スラリー発泡法については 2.2 で述べた. ここでは発泡 SS の製造条件を示す. 平均粒径 9 $\mu\text{m}$  の SS 粉末 50wt% あたり, 水 30 wt% 以上を含む水系スラリーに, バインダー, 界面活性剤, 発泡剤 (疎水性の揮発性有機溶剤) を各数% 添加して作製する. そのスラリーをドクターブレード法により薄膜成形後, 70 $^{\circ}\text{C}$  以下の発泡室において発泡剤を気化させ気泡を形成させる. 100 $^{\circ}\text{C}$  以下の乾燥室において気化を完了させ, その後, 真空炉において脱脂し, 1200 $^{\circ}\text{C}$   $\times$  5H 保持し焼結させる. 薄膜成形品であるので 3 次元連通気孔をもつ薄板形状の発泡 SUS316 となる.

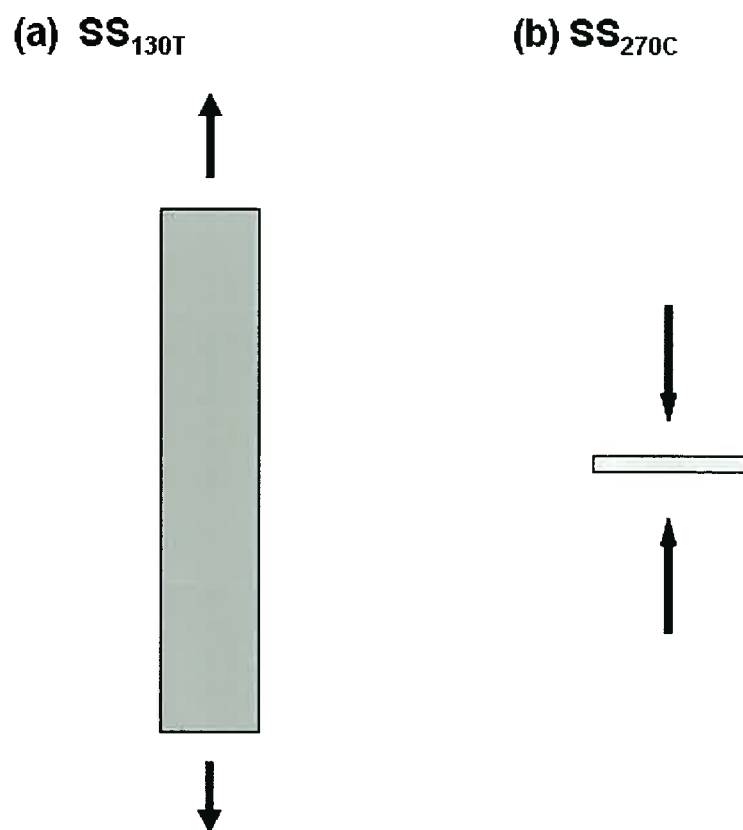
**Table 4.1 Chemical composition of the SS powder and SS foam (mass %)<sup>(4)</sup>.**

	Cr	Ni	Mo	C	O	P	S	Si	Mn	Fe
powder	17.1	12.5	2.39	0.022	0.53	0.023	0.020	0.61	0.65	Bal.
foam*	—	—	—	0.010	0.07	—	—	—	—	—

\*The chemical analysis was conducted on compositional components that were sensitive to fabrication contamination.

#### 4.2.1 引張試験と圧縮試験の方法と試験片

引張試験，圧縮試験は高気孔率であるので 2.4 に述べた高気孔率多孔体用の試験方法を用いた．試験片の試験方向を Fig.4.1 に示し，仕様を Table 4.2 に示した．略称の添え字 130T は孔径 130 $\mu\text{m}$  引張試験を，270C は孔径 270 $\mu\text{m}$  圧縮試験を示す．試験回数は引張試験 2 回，圧縮試験は 3 回である．



**Fig. 4.1 Illustration of tensile and compression test samples. The arrows show the loading direction.**

**Table 4.2 Specifications of SS foam sheet samples<sup>(4)</sup>.**

Abbreviation	Average pore diameter* $D/\mu\text{m}$	Porosity $P/\%$	Thickness $T/\text{mm}$	Assay	Dimensions
SS <sub>130T</sub>	130	84	0.67	tensile	5mm wide, 50mm long
SS <sub>270C</sub>	270	85	0.63	compression	10mm square

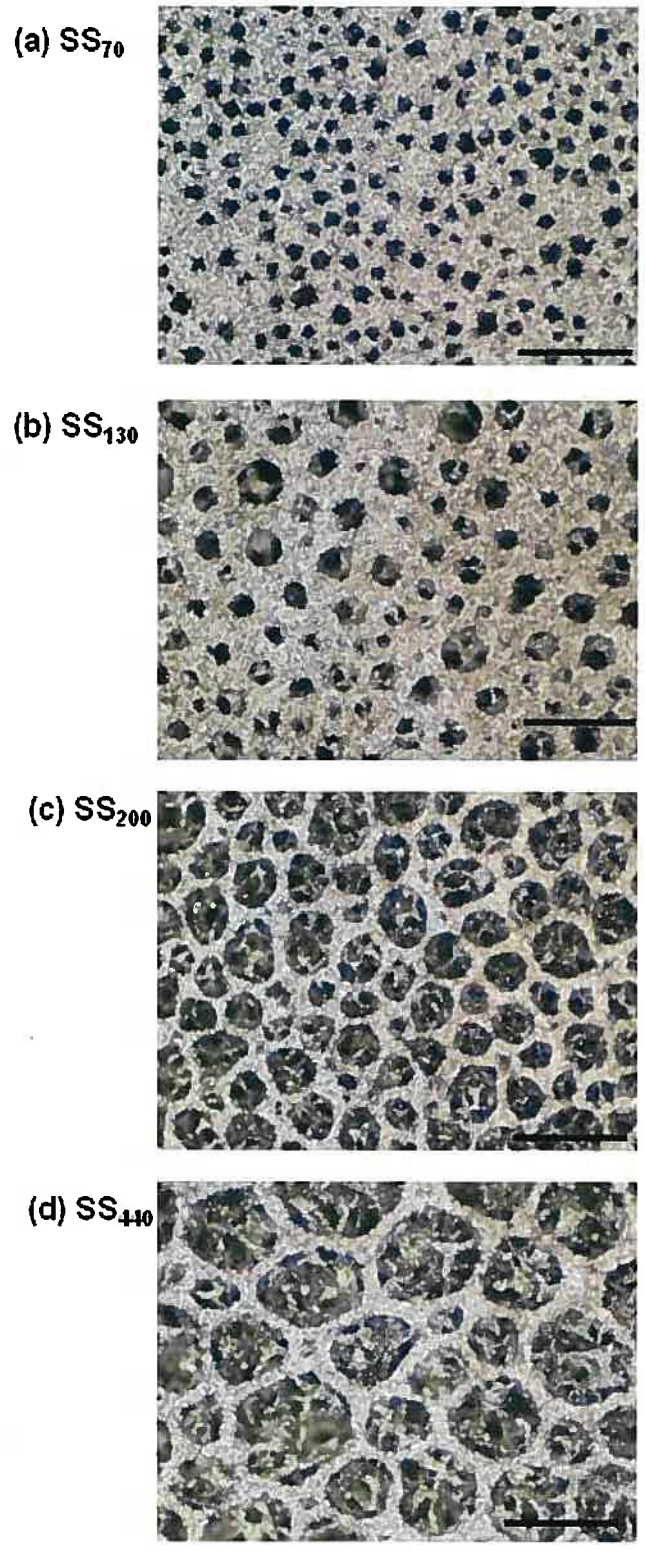
\*Average pore diameters were measured by digital image processing.

## 4.2.2 細胞適合試験の方法と試験片

発泡 SS の細胞適合性試験として、2.4.3, 細胞増殖試験 (WST-1 法), 3.2.2, 細胞侵入試験および 3.2.3, 細胞石灰化試験を行った。試験片の仕様を Table 4.3 に、孔径 70-440 $\mu\text{m}$  の試験片 4 種類の光学顕微鏡写真を Fig. 4.2 に、積層試験片と各試験方法を Fig.4.3 に示す。細胞種は発泡 Ti と同じくヒト骨肉腫由来細胞 SaOS-2 を用いた。

### A.1 発泡 SS の細胞増殖試験 (WST-1 法) の方法と試験片

発泡 SS の孔径が細胞増殖性に及ぼす影響を評価する目的で、Fig.4.2 および Table 4.3 に示す孔径 70-440 $\mu\text{m}$  の 4 種類の試験片を作製した。気孔率をあわせるため冷間圧延で厚さを調整した。試験方法は基本的に 2.4.3 で述べた方法であるが培養液量等が少し異なるので以下に述べる。各試験片の寸法は 11×11×0.31-0.63t mm であり、試験片が培養容器底面に接触しないよう Fig. 4.3(b) に示すシリコンチューブ製ホルダーにセットした。試験片はホルダーごと 120℃で 30 分オートクレーブ滅菌し、12 穴のマイクロプレートに静置した。ブランクとしてはホルダーのみを使用した。各穴には  $1.875 \times 10^5$  個の SaOS-2 細胞を 2.5mL 培養液 (D-MEM+FBS; Dulbecco's modified minimum essential medium に 10% ウシ胎児血清を添加したもの)中に播種し、37℃, 5%CO<sub>2</sub> 下で 1,4,7 日間 1 次培養した。培養期間中は毎日 6 時間 300rpm でマイクロプレートを回転させ培養液を発泡 SS 内部へ循環させた。加えて 1 日おきに培養液交換を行った。細胞増殖数評価は WST-1 法を用いた。SaOS-2 を 1,4,7 日培養した試料を、リン酸緩衝塩類溶液 [PBS(-), Dulbecco's phosphate buffered saline]で洗浄した後、2.25mL の D-MEM+FBS, 及び 0.25mL, PBS(-)溶液中に 1mM の WST-1,



**Fig. 4.2. Optical microscopic images of the surface of the SS foam sheet<sup>(4)</sup>. Bar; 500µm.**

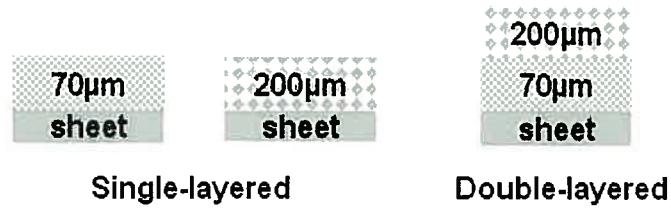
**Table 4.3 Specifications of SS foam samples<sup>(4)</sup>.**

Abbreviation	Average pore diameter <sup>†</sup> D/ $\mu\text{m}$	Porosity P/%	Thickness T/mm	Assay	Comments
SS <sub>70</sub>	70	85	0.31	proliferation, penetration	11mm square
SS <sub>130</sub>	130	85	0.63	proliferation, penetration	11mm square
SS <sub>200</sub>	200	85	0.43	proliferation, penetration	11mm square
SS <sub>440</sub>	440	85	0.46	proliferation, penetration	11mm square
SS <sub>270</sub>	270	85	0.63	calcification	11mm square
SS <sub>70</sub> +SS	70	85	0.31	penetration	11mm square, bonded with 316 sheet (11mm square, 50 $\mu\text{m}$ $\tau$ )
SS <sub>200</sub> +SS	200	85	0.43	penetration	11 mm square, bonded with 316 sheet (11mm square, 50 $\mu\text{m}$ $\tau$ )
SS <sub>200+70</sub> +SS <sup>**</sup>	200, 70	85	0.43, 0.31	penetration	11mm square, double layered, and bonded with 316 sheet (11mm square, 50 $\mu\text{m}$ $\tau$ )

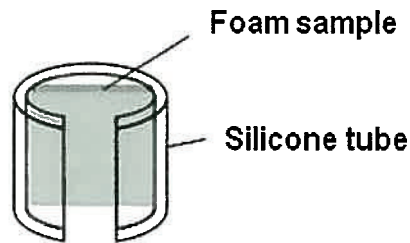
<sup>†</sup>Average pore diameters were measured by digital image processing.

<sup>\*\*</sup> SS<sub>200</sub> was bonded to SS<sub>70</sub>+SS.

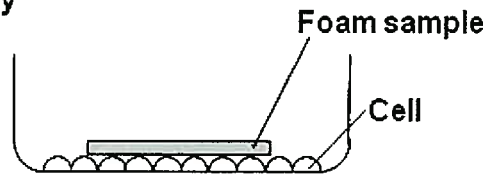
(a) Single-, ( $SS_{70}+SS$ ,  $SS_{200}+SS$ ) and double-layered ( $SS_{200+70}+SS$ ) samples bonded to the sheet



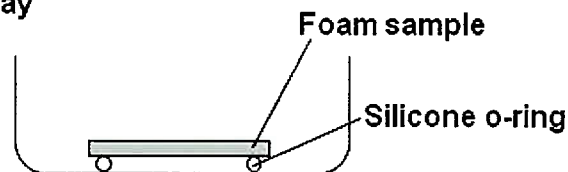
(b) Proliferation assay



(c) Penetration assay



(d) Calcification assay



**Fig. 4.3** Schematic explanation of the single- and double-layered samples and the sample set-up for the cell proliferation, cell penetration and calcification assay<sup>(4)</sup>.



0.2mM、1-methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate (1-methoxy-PMS) を加えた培養液 入り，12 穴のマイクロプレートに移す。ブランク用として発泡 SS を保持していないホルダーも同様に未使用の培養容器に移す。この 12 穴のマイクロプレートを 1 次培養と同じ条件で 10 分間回転させ，その後 4 時間培養した。その後，各穴の上清み 200  $\mu$ L を 96 穴マイクロプレートに分注しマイクロプレートリーダー (Thermo Scientific, Multiskan FC) によって 450nm の吸光度を測定した。各試料につき，上清みを 3 穴ずつ分注し，吸光度測定を行った。相対細胞生存率 (RCV, relative cell viability) は下記の式で計算した。

$$RCV = A_{sample} - A_{blank} \quad (4.1)$$

ここで， $A_{sample}$ ， $A_{blank}$  は試験片とブランクの吸光度である。各試料の厚さが異なるので，(4.1)の RCV を厚さで割り，正規化した。

## A.2 発泡 SS の細胞侵入性試験の方法と試験片

発泡 SS の孔径が細胞侵入性に及ぼす影響を評価する目的で，Table 4.3 に示す孔径 70-440  $\mu$ m の 4 種類の試験片を作製した。気孔率をあわせるため冷間圧延で厚さを調整した。3.2.2 で述べた誤差要因を排除するため，本研究でも細胞侵入性試験を Fig.4.3 (c) に示す方法で行った。すなわち，SaOS-2,  $1.2 \times 10^5$  個を 12 ウェルのマイクロプレートの 2mL 培養液 (D-MEM+FBS) 中に播種し，37 $^{\circ}$ C，5%CO<sub>2</sub> 下で 3 日間培養し，ほぼコンフルエントにした。その上に滅菌した試験片を載せ，動かないように直径 9mm のガラスリングをその上に置いた。37 $^{\circ}$ C，5%CO<sub>2</sub> 下で，5，10，

15 日間、培養液を毎日交換し培養した。その後 10vol.%ホルマリンー10vol.%メタノール混液で固定し染色した。染色液は、3.2.2 と同じ sulforhodamine 101 acid chloride (Texas Red) である。細胞侵入性の測定は共焦点レーザー顕微鏡 (CSLM, LSM-50, Carl Zeiss Japan, Tokyo, Japan) を用い、試験片表面から最も深い位置の細胞侵入距離を測定した。

細胞侵入性に下地バルク材が影響するか、また 2 層に気孔径を傾斜させた場合に下層の気孔径が細胞侵入性に影響するかを評価するため、Fig.4.3 (a) に示す試験片を用い、細胞侵入性を測定した。試験方法は、上で述べた方法と同じ方法である。各試験片につき 3 視野以上 (921.4×921.4 μm) 観察し計測した。有意差検定は *t* 検定により解析した。

### A.3 発泡 SS の細胞石灰化試験の方法と試験片

細胞石灰化試験には Table 4.3 の SS<sub>270</sub> を用いた。養容器底面との接触を避けるため、Fig.4.3 (d) に示すように、試験片をシリコン O リングにセットした後、オートクレーブ滅菌し細胞培養用に表面処理を行っていない 12 穴マイクロプレートに静置した。各穴には  $1 \times 10^6$  個の SaOS-2 細胞を 0.1mL 培養液 (D-MEM+FBS) に播種した。20 分後、2mL の培養液を追加し 37°C, 5%CO<sub>2</sub> 下で 5 日間培養しほぼコンフルエントにした。次に培養液を石灰化培養液 (D-MEM+FBS に 0.5 mM β-glycerophosphate 及び 50 μg/mL L-ascorbic acid を添加したもの) に交換した。石灰化培養液を 1 日おきに交換しながら、37°C, 5%CO<sub>2</sub> 下で 7, 14, 21, 28 日間培養し、その後 10vol.%ホルマリンー10vol.%メタノール混液で固定した。試験片は蒸留水で洗浄し、アリザリンレッド S で 5 分間染色した。アリザリンレッド S は希釈した水酸化アンモニウム (pH 6.3-6.4) に 5mg/mL 溶かした。試験片は蒸留水で洗浄し、ドライエアーで乾燥させた後、光

学顕微鏡 (Axiotech 100, Carl Zeiss Japan) を使い観察した。

## 4.3 試験結果と考察

### 4.3.1 引張試験と圧縮試験結果及び考察

引張試験と圧縮試験の結果を Table 4.4 に示す。比較のため、発泡 Ti の各試験の結果である Table 2.6, No.1 及び Table 2.7, No.4 の発泡 Ti の結果を併記した。発泡 SS の引張試験結果は、ヤング率 4GPa と破断伸び 2.1% であり発泡 Ti と比べ大きな値であった。材料的に SS のヤング率は 205GPa<sup>(6)</sup> と Ti の倍あるので、その効果とも考えられるが、圧縮試験においてのヤング率 0.13GPa と Ti より極端に小さな値となった点からみると発泡 SS の異方性のためと考えられる。発泡 Ti の異方性は 2.5.2 で述べたように表面層の web の影響であり発泡 SS の試験片外観を調査した。断面と表層を観察した結果を、Fig.4.4 に示す。Fig.4.4 (a) に web が観察できることから発泡 SS の異方性も表面層 web の影響と考えられる。圧縮試験結果でも 0.2% 圧縮耐力が 1.7MPa と発泡 Ti に比べ小さな値となり異方性が顕著な結果であった。

2.5.2 同様に(4.2), (4.3)式を用いて試験結果と照らしあわせる。

$$E^*/E_s = 1 \times (\rho^*/\rho_s)^2, \quad (4.2)$$

$$\sigma_{pl}^*/\sigma_{ys} = 0.3 \times (\rho^*/\rho_s)^{3/2} \quad (4.3)$$

引張試験のヤング率を計算する。  $E_s = 205 \text{ GPa}$ ,  $\rho^*/\rho_s = 0.16$  を(4.2)式に代入すると  $E^* = 5 \text{ GPa}$  となり、Table 4.4 の試験結果 4GPa と整合する結果がえられた。圧縮試験の耐力を計算する。  $\sigma_{ys} = 170 \text{ MPa}$ <sup>(6)</sup>,  $\rho^*/\rho_s = 0.15$

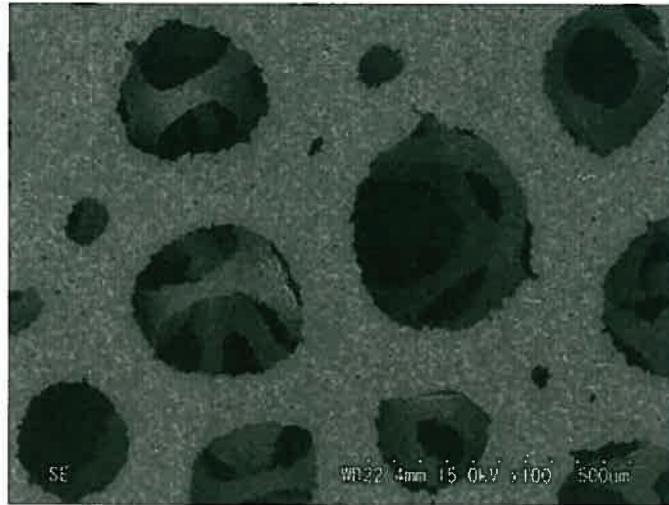
を(4.3)式に代入すると  $\sigma_{pl}^* = 3.0$  MPa となり, Table 4.4 の試験結果 1.7 MPa より少し大きめの値がえられた.

発泡 SS の引張試験結果は骨(海綿骨)の, ヤング率 0.2-3GPa<sup>(7)</sup>, 引張強さ 3-30 MPa<sup>(7)</sup> とほぼ同等であった.

**Table 4.4 Tensile and compression test results for SS and Ti foam<sup>(4)</sup>.**

Test	Abbreviation	Porosity P%	Tensile strength TSIMPa	Compression yield strength YSIMPa	Nominal fracture strain $\epsilon_f$ (%)	Young's modulus EIGPa	Ref.
Tensile	SS <sub>130T</sub>	84	11.2 ± 0.2	—	2.1 ± 0.3	4.0 ± 0.6	4
Tensile	Ti <sub>300T</sub>	84	11.1 ± 4.0	—	0.73 ± 0.28	2.8 ± 0.5	5
Compression	SS <sub>270C</sub>	85	—	1.7 ± 0.2	—	0.13 ± 0.02	4
Compression	Ti <sub>300C</sub>	84	—	12.8 ± 2.8	—	1.3 ± 0.2	5

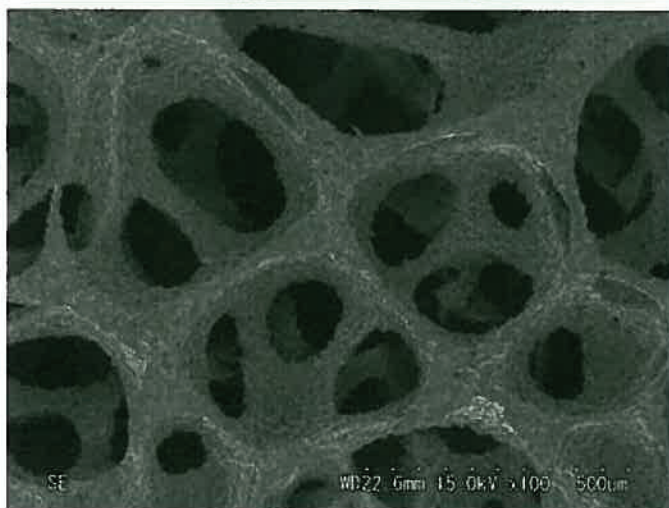
(a)  
Top view



(b)  
Cross section view



(c)  
Bottom view



**Fig. 4.4. Scanning electron microscopic images of SS<sub>270</sub> <sup>(4)</sup>.**

## 4.3.2 細胞適合性試験結果および考察

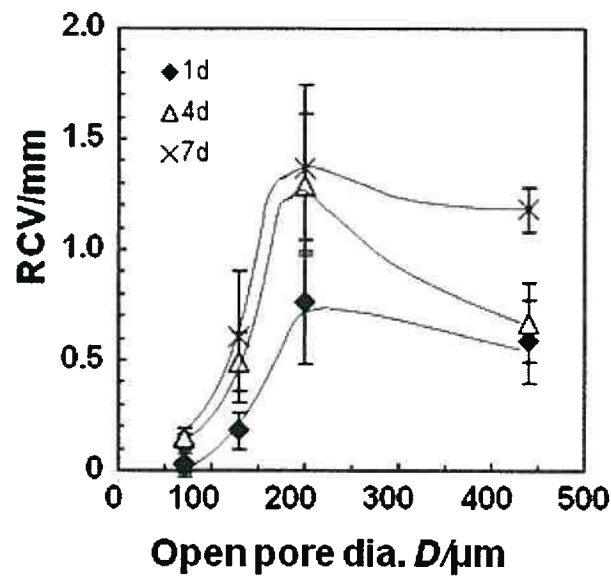
### A.1 発泡 SS の細胞増殖試験 (WST-1 法) 結果と考察

Fig.4.5 に孔径に対する細胞増殖試験結果を示す。全試料について、相対細胞生存率 (RCV, relative cell viability) を厚さで除することで正規化した (RCV/mm)。その RCV/mm は日数の増加に伴い、増加していることがわかる。その増加は孔径に依存しており、孔径 200 $\mu$ m において細胞増殖が一番大きかった。

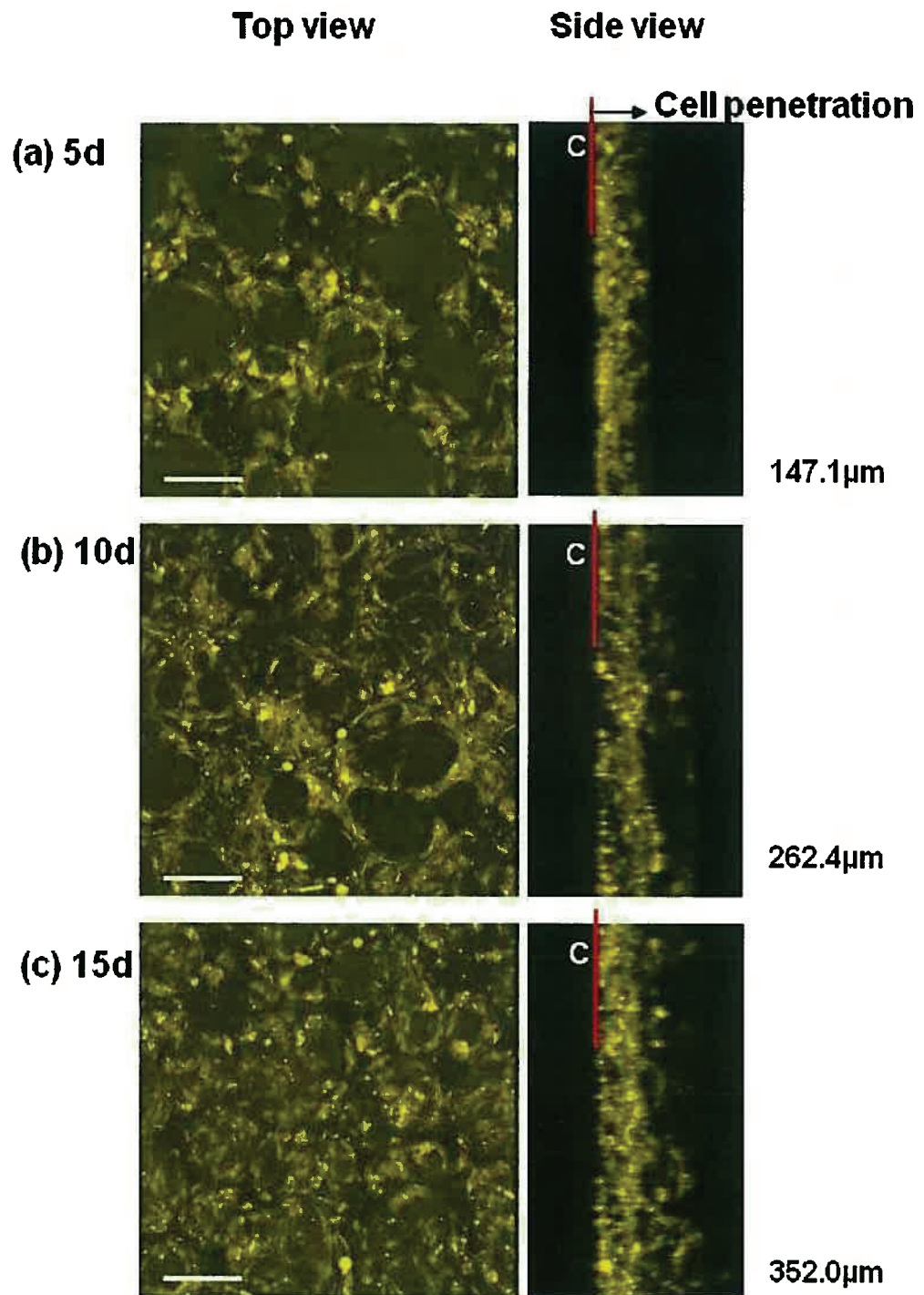
SS は長年、生体材料として医療に使用されてきた実績があり、バルク材として細胞適合性試験も行われてきた<sup>(8-13)</sup>。しかし、発泡 SS はバルク材に比較しはるかに大きな比表面積を有するためイオンの溶出を増加させる因子を持つことになる。しかしながら、SUS 多孔体に関する細胞適合性試験研究はほとんど報告されていない。Mariotto *et al.* は、マウス由来線維芽細胞 (L929 細胞) を 72h まで培養し発泡成分のその細胞増殖の影響を調べたが、多孔体の細胞増殖性への影響は明確ではなかった<sup>(14)</sup>。本論文ではヒト骨肉腫由来細胞 SaOS-2 を用い、気孔率 85% の発泡 SS に対し Fig.4.5 に見られるような日数の増加に伴う増殖傾向と孔径 200 $\mu$ m における細胞増殖最大化を示した。2.5.4, A.1 で発泡 Ti の細胞増殖性を示したが、日数の増加に伴う増殖傾向は発泡 SS も同じ傾向であった。

### A.2 発泡 SS の細胞侵入試験結果と考察

Fig.4.6 に細胞侵入試験の共焦点レーザー顕微鏡観察の例として、SS<sub>130</sub> の SaOS-2 培養 5, 10, 15 日の写真を示す。日数の経過とともに SaOS-2 が増殖し、柱を伝って内部に侵入していくことが観察され注目される。

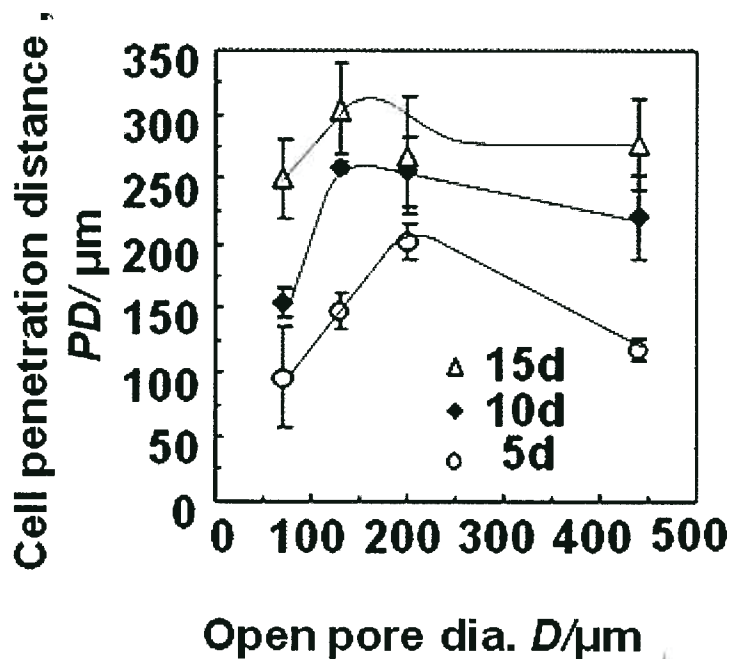


**Fig. 4.5. Cell proliferation in the SS foam sheets with different open pore sizes evaluated by WST-1 assay. Statistical significance ( $p < 0.05$ ) was observed except  $\text{SS}_{200}\text{-SS}_{440}$  (day 1 and 7), and  $\text{SS}_{130}\text{-SS}_{440}$  (day 4) <sup>(4)</sup>.**



**Fig. 4.6. Examples of superimposed confocal laser scanning microscopic images of SaOS-2 penetrating into SS<sub>130</sub>. The cells were marked as yellow by a fluorescent dye. Figures next to the right column indicate the maximum cell penetration distance. C; the SS foam sheet surface contacted to the cell layer at the bottom of the culture dish<sup>(4)</sup>. Bar; 200  $\mu$ m.**





**Fig. 4.7. Maximum cell penetration distance into SS foam sheet with open pore sizes up to 15d of incubation. Statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) was observed between  $SS_{70}$ - $SS_{200}$ ,  $SS_{130}$ - $SS_{200}$ ,  $SS_{130}$ - $SS_{440}$ , and  $SS_{200}$ - $SS_{440}$  at day 5, and  $SS_{70}$ - $SS_{130}$ ,  $SS_{70}$ - $SS_{200}$ ,  $SS_{70}$ - $SS_{440}$  at day 10. Statistically significant difference ( $p < 0.1$ ) was observed between  $SS_{70}$ - $SS_{130}$  at day 5 and 15<sup>(4)</sup>.**

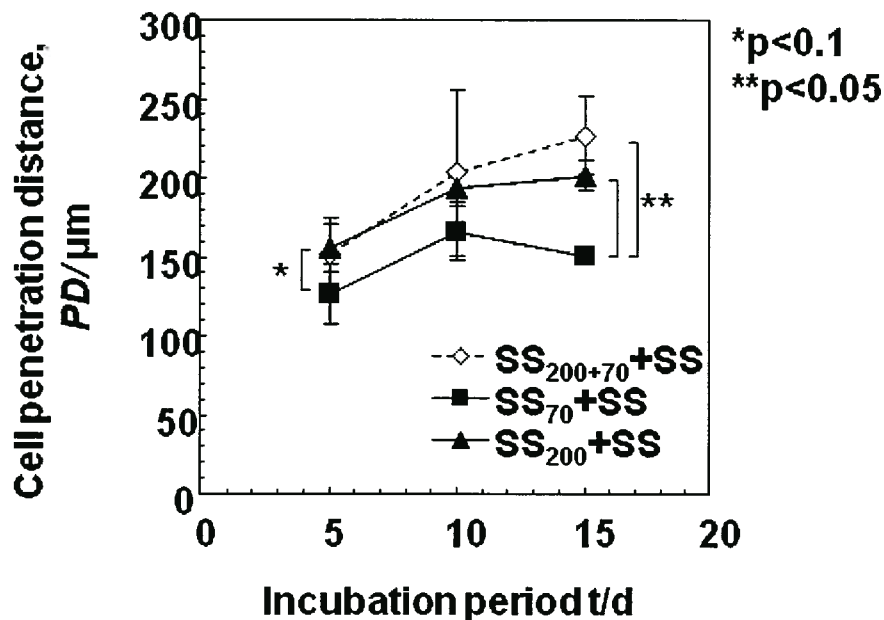
Fig.4.7 は、発泡 SS の孔径に対する、SaOS-2 細胞の細胞侵入距離（最大到達距離）を示した。5 日後の細胞侵入距離は、孔径  $200\ \mu\text{m}$  が最大であり、次いで  $130\ \mu\text{m}$  となっている。すべての孔径について時間経過とともに侵入距離は増加する傾向を示した。15 日後の細胞侵入距離はおしなべて  $250\text{--}300\ \mu\text{m}$  の範囲に収まっている。3.3 において本試験方法は細胞侵

入距離を孔から観察するため、観察できる距離は直線的に孔を通じ観察できる幾何的形狀によって制限されると考察した。本試験の細胞侵入距離は孔径 70-440 $\mu\text{m}$  の発泡 SS について 250-300 $\mu\text{m}$  であり、3.3 の孔径 180-500 $\mu\text{m}$  の発泡 Ti について細胞侵入距離は 1mm と深く観察可能であった。試験方法の限界という考察は発泡 SS に対し適用できない。

発泡 SS は一定の細胞侵入性を持つが発泡 Ti と比較すると細胞適合性に限界があることが明らかになった。

Fig.4.8 は、細胞侵入性に対し下地バルク材が影響、および 2 層に気孔径を傾斜させた場合下層の気孔径の影響を試験した結果を示す。5 日後の SS<sub>70</sub>+SS は SS<sub>200</sub>+SS より細胞侵入距離が短かった、この結果は Fig.4.7 の細胞増殖性試験結果と一致した。発泡層を 2 層とした SS<sub>200+70</sub>+SS と単層の SS<sub>200</sub>+SS の 5 日後の細胞侵入距離は同等であった。これら結果は初期の細胞侵入性は細胞と接している発泡 SS の構造によって決められていることを示しており、その下のバルク材や発泡体の影響を受けていないことを意味している。

SS<sub>70</sub>+SS と SS<sub>200</sub>+SS の 15 日後の細胞侵入距離は 150 と 202  $\mu\text{m}$  であったが、SS<sub>70</sub> は SS<sub>200</sub> のそれは、250 と 269  $\mu\text{m}$  であった。このことは、接合した下地の SUS 層が、細胞侵入に対し 15 日経過では抑制的な影響を及ぼしたことを意味している。SS<sub>200+70</sub>+SS は SS<sub>200</sub>+SS より若干細胞侵入性が平均値で見るとよくなっているため、SS<sub>70</sub> 層の存在は下地層の抑制を緩和する方向に影響していることを示唆している。



**Fig. 4.8. Cell penetration into single and double layered SS foam sheet bonded with SS foil. Statistically significant difference was observed between SS<sub>70</sub>+SS-SS<sub>200</sub>+SS ( $p < 0.1$  at day 5 and  $p < 0.05$  at day 15) and SS<sub>70</sub>+SS-SS<sub>200+70</sub>+SS ( $p < 0.05$  at day 15)<sup>(4)</sup>.**

### A.3 発泡 SS の石灰化試験結果と考察

Fig. 4.9 は、アリザリンレッド S 染色した SS<sub>270</sub> の顕微鏡写真である。(a)は 14 日、(b)は 28 日石灰化培養後であるが、7,14 日では濃く赤色に染色された石灰化の促進された部位はまれにしか観察されなかった。しかし、28 日培養後では濃く赤色に染色された部位が明らかに増加し、石灰化の促進が観察された。Fig.4.9 (b) のはっきりした赤色は、石灰化された部位が増加するとともに厚くなったことを示した。発泡 SS の石灰化は確認できたが 3.3.4 の発泡 Ti と比較すると遅いことが明らかになった。

(a) 14 d



(b) 28 d



**Fig. 4.9. Calcification of SaOS-2 on a single SS foam sheet with open pore size of 270  $\mu\text{m}$ . The calcified area was stained by Alizarin red S<sup>(4)</sup>. Bar; 200  $\mu\text{m}$ .**

## 4.4 まとめ

本研究では (a) 気孔率 84,85%, (b) 気孔径 70-440 $\mu$ m, (c) 量産性があり, 工業製品として実績のあるスラリー発泡法による発泡 SS の生体親和性を評価した. 生体材料に求められる力学的適合性として機械的特性, 細胞適合性を評価し, 海綿骨と一定の生体親和性があることを明らかにした. 発泡 SS の細胞適合性は細胞侵入性試験および石灰化試験において発泡 Ti と比較し限られたものであることが明らかになった. 発泡 SS はインプラント長い実績を持つ SS 材の整形外科インプラント表面処理用材料としての可能性があることを示した.

## 第 4 章 参考文献

- (1) S.F.F. Mariotto, V. Guido, L.Y. Cho, C.P. Soares, K.R. Cardoso :  
Material Research. 14 (2011) 146.
- (2) T. Nakano, T. Kan, T. Ishimoto, Y. Ohashi, W. Fujitani, Y. Umakoshi,  
T. Hattori, Y. Higuchi, M. Tane, H. Nakajima : Mater. Trans. 47  
(2006) 2233.
- (3) K. Alvarez, S.K. Hyun, T. Nakano, Y. Umakoshi, H. Nakajima : Mater.  
Sci. Eng. C29 (2009) 1182.
- (4) K. Kato, A. Yamamoto, S. Ochiai, M. Wada, Y. Daigo, T. K. Kita, K.  
Omori : Materials Science and Engineering C. DOI  
10.1016/j.msec.2013.02.038.

- (5) K. Kato, A. Yamamoto, S. Ochiai, Y. Daigo, T. Isobe, S. Matano, K. Omori : *Mater Trans.* 53 (2012) 724.
- (6) M. Navarro, A. Michiardi, O. Castaño, J. A. Planell : *J. Roy. Soc. Interface*, 5 (2008) 1137.
- (7) D. R. Cater, G. H. Schwab, M. Spengler : *Acta Orthop. Scand.* 51 (1980) 733.
- (8) M. Seyama : *J. Jpn. Soc. Biomater.* 8 (1990) 73.
- (9) R. Olivares, S.E. Rodil, H. Arzate : *Surf. Coat Tech.* (2004) 177,758.
- (10) C.R. Howlett, M.D.M Evans, W.R. Walsh, G. Johnson, J.G. Steele : *Biomater.* 15 (1994) 213.
- (11) C. Schmidt, A.A. Ignatius, L.E. Claes, J. Biomed. Mater. Res. 54 (2001) 209.
- (12) M. Morita, T. Hashimoto, K. Yamauchi, Y. Suto, T. Homma, Y. Kimura : *Mater. Trans.* 48 (2007) 352.
- (13) D. Kubies, L. Himmlová, T. Riedel, E. Chánová, K. Balík, M. Douděrová, J. Bártová, V. Pešáková : *Physiol. Res.* 60 (2011) 95.
- (14) S.F.F. Mariotto, V. Guido, L.Y. Cho, C.P. Soares, K.R. Cardoso, *Material Research.* 14 (2011) 146.

## 第 5 章 総括

### 5.1 本論文の総括

第 1 章において述べたように、21 世紀に入り日本を始めとする先進国のみならず発展途上国も高齢社会を迎えるものと予測されている。世界的な高齢社会を持続可能な活力あるものへ導くためには、高齢者の健康寿命を伸ばし高い QOL を享受できる社会とすることが重要である。高齢者の健康寿命を阻害するものの一つが運動器疾患であり、運動機能を回復させるため人工関節、椎体スペーサー、椎間スペーサーなどの欧米製インプラントが多く輸入され整形外科治療に使用されている。しかしインプラントおよび生体材料の開発の歴史は浅く、整形外科用インプラント材料には生体親和性（力学的適合性や界面親和性）の課題がある。また日本人およびアジア人は生活習慣に起因する欧米人との骨格の差があるため、日本人およびアジア人の骨格に合わせたインプラントの開発も待望されている。超高齢化社会を迎えている日本社会にとって生体親和性に優れたインプラント材料開発と最終的には日本人およびアジア人の骨格に適した日本製インプラント開発は、産業政策における成長産業育成の観点からも推進すべきものと考えられている。

そこで本論文では日本人およびアジア人の骨格に合わせたインプラント開発を最終目標として、インプラント材料としての金属多孔体を次の 2 つの観点から生体親和性（力学的適合性や界面親和性）の課題研究を行った。第一の観点は金属多孔体がセメントレス固定として採用され整形外科治療に貢献してきたことから、インプラント表面用に高気孔率発泡 Ti および発泡 SS の海綿骨との生体親和性（特に孔径の影響）を研究した。すなわち、機械的特性、インプラント材料と接合した場合の耐食性、および細胞適合

性（特に孔径の影響）について検討した。第二の観点はインプラント構造用低ヤング率材料として着目されている Ti 多孔体はヤング率，強度，といった低気孔率が求められる力学的適合性および骨との固定に適した高気孔率の細胞適合性の間にトレードオフの関係を持っていることから，新たに複層発泡 Ti 材料を検討した。その生体親和性として力学的適合性および細胞適合性についてトレードオフの関係解決を目的とした。これら2つの観点から発泡 Ti, 発泡 SS を検討し以下の結論を得た。

第一のインプラント表面用に高気孔率発泡 Ti については，2章において ISO 5832 Grade 4 規格をみたし，(a) 高い気孔率 80-87%，(b)小孔径に制御 180-500 $\mu\text{m}$ ，(c)量産性があり，工業製品として実績のあるスラリー発泡法による発泡 Ti について，いままで実施されていない高気孔率材の引張試験，圧縮試験特性を比較し材料力学的に解析するとともに，異材の表面処理用途として使用される場合を想定し，CP-Ti 板，Ti-6Al-4V 板，Zr-2.5Nb 板と発泡 Ti の接合材を試験片として作製し耐食性をアノード分極試験により，生体適合性を細胞増殖性により評価検討し以下の点を明らかにした。

- ① 気孔率 80%の発泡 Ti は海綿骨と同等の引張，圧縮試験特性を持つ。
- ② 発泡 Ti の引張，圧縮試験特性は表面層の面方向に関して異方性を持ち，表面層と並行方向の測定値は Gibson-Ashby の梁モデル計算値と同等であり，垂直方向の測定値は計算値より低い値であった。
- ③ 発泡 Ti は生理食塩水におけるアノード分極試験により評価し，CP-Ti 板材と同等の耐食性を有することを示した。
- ④ CP-Ti 板，Ti-6Al-4V 板，Zr-2.5Nb 板と発泡 Ti の接合材を試験片として作製し耐食性をアノード分極試験により評価し，それら材料の表面処理用途として適切な耐食性を有することを示した。



- ⑤ 孔径の異なる3種類の発泡Tiを用いて孔径が細胞増殖性に及ぼす影響を確認し孔径320 $\mu\text{m}$ 、500 $\mu\text{m}$ 試験片が孔径180 $\mu\text{m}$ 品より優れた初期細胞増殖性を有することを示した。
- ⑥ CP-Ti板、Ti-6Al-4V板、Zr-2.5Nb板と発泡Tiの接合材を試験片として作製し、生体適合性を細胞増殖性により評価し、発泡Tiと組み合わせても細胞増殖性が同等であることを示した。

これにより気孔率80%の発泡TiはCP-Ti、Ti-6Al-4VおよびZr-2.5Nbを基材とするインプラントの表面材料用途に利用できることを示すことが出来た。

インプラント表面用高気孔率発泡Tiは海綿骨との生体親和性を満たす材料であることを示した。

第二のインプラント構造用発泡Tiについては、3章においてトレードオフの関係がある特性を克服し生体親和性を実現するため、異なる気孔率の発泡Tiに特性を分担させる複層発泡Ti(17%気孔率層および80%気孔率層)について引張試験、圧縮試験特性を比較するとともに、細胞侵入性を積層発泡Tiと比較検討した。さらに発泡Tiの細胞石灰化について検討した。

以下の点を明らかにした。

- ① 複層発泡Tiの引張、圧縮特性は皮質骨と同等の特性を示し皮質骨との力学的適合性を達成した。
- ② 複層発泡Tiの圧縮耐力は同一気孔率Ti多孔体より高い値を示した。
- ③ 複層発泡Tiの圧縮耐力は17%気孔率層と80%気孔率層の厚さ比率を変化させることで制御できることを示した。
- ④ 複層発泡Tiと気孔率80%積層発泡Tiは同じ細胞侵入性を有することを示し細胞適合性を達成した。
- ⑤ 発泡Tiは細胞石灰化を示した。

複層発泡 Ti はヤング率，強度，および骨との固定に適した気孔率の間のトレードオフの関係を複合化により克服し，皮質骨との生体親和性を達成した．同時に，その圧縮耐力を制御する手法も明らかにした．

複層発泡 Ti はストレスシールドディングを克服し早期の初期固定を可能とする生体親和性に優れたインプラント構造用材料であることを明らかにした．

また SUS316L は材料として長い使用実績を持つが多孔質研究が少ない点を考慮し，第一の観点から 4 章においてインプラント表面用高気孔率発泡 SS について検討した．(a) 高い気孔率 80-87%，(b) 小孔径に制御 70-440 $\mu\text{m}$ ，(c) 量産性があり，工業製品として実績のあるスラリー発泡法を用い，高気孔率材の引張試験，圧縮試験特性とともに細胞適合性を検討し以下の点を明らかにした．

- ① 気孔率 84-85% の発泡 SS 引張試験特性は海綿骨と力学的適合性を達成した．
- ② 発泡 SS は発泡 Ti と同様に表面層の方向と負荷方向について異方性を持ち，表面層と並行方向測定値は Gibson-Ashby の梁モデル計算値と同等であった．
- ③ 発泡 SS の細胞増殖性および細胞侵入性は孔径範囲 70-440 $\mu\text{m}$  において，孔径 200 $\mu\text{m}$  試料が最大の値を示した．
- ④ 発泡 SS の SUS316L 板材との接合品の細胞侵入性は板材が侵入に対し抑制的に働くこと，及び板最表面の孔径が侵入に対し支配的であることを示した．
- ⑤ 発泡 SS においても細胞石灰化は確認されたが，発泡 Ti と比較すると石灰化の速度は遅かった．

これにより気孔率 84-85% の発泡 SS は海綿骨との生体親和性を有すインプ

ラント表面材料であることを示すことが出来た。SUS316L 材利用のインプラント治療に対し材料の選択肢を加えられた。

インプラント表面用発泡 Ti の動物実験の結果は、実用化に向け今後海外および国内の医学系学会において発表される予定である。

## 5.2 今後の課題と展望

インプラント表面用発泡 Ti は、日本人の骨格に合わせたインプラント品目ごとに動物実験を実施することで、最終目標である実用化することが可能となる。

複層発泡 Ti は構造用インプラント材料として、従来トレードオフとなっていた課題をブレークスルーした生体親和性に優れた開発材料である。疲労試験による動的機械特性を行い、インプラント設計データを積み重ねるとともに、動物実験による実用化データ蓄積が求められる。

インプラント表面用発泡 SUS316L は、基礎データが取れ、実用化が可能であることを示した。インプラントニーズと合わせ動物実験を開始することが課題となる。

開発したインプラント用発泡 Ti を通じ、日本人およびアジア人の骨格に合わせた国産インプラント開発が促進され、高齢者の健康寿命を伸ばし、日本の医療機器産業に貢献することが期待される。



# 研究業績

## 1. 論文（筆頭著者にアンダーライン，査読あり）

	題目	掲載雑誌名	連名者	対応箇所
<u>1</u>	Cell Proliferation, Corrosion Resistance and Mechanical Properties of Novel Titanium Foam with Sheet Shape	Materials Transactions, 53,4(2012) 724	<u>K.Kato</u> ,A.Yamamoto ,S. Ochiai , Y.Daigo , T. Isobe, S. Matano, K.Omori	2章
<u>2</u>	Novel Multilayer Ti Foam with Cortical Bone Strength and Cytocompatibility	Acta Biomaterialia, 9, (2013) 5802.	<u>K. Kato</u> , S. Ochiai, A. Yamamoto, Y. Daigo , K. Honma, S. Matano, K.Omori	3章
<u>3</u>	Cytocompatibility and Mechanical Properties of Novel Porous 316L Foam	Materials Science and Engineering C 33,(2013)2736	<u>K.Kato</u> ,A.Yamamoto ,S. Ochiai ,M. Wada, Y. Daigo ,K. Kita, K.Omori	4章
4	Tensile Deformation and Failure Behavior of Open Cell Nickel and Copper Foams	Materials Transactions 51, 4 (2010) 699.	S. Ochiai,S.Nakano, Y. Fukazawa, M.S. Aly, H. Okuda, <u>K. Kato</u> , T. Isobe, K.Kita, K. Honma	2章 4章
5	Change of Young's Modulus with Increasing Applied Tensile Strain in Open Cell Nickel and Copper Foams	Materials Transactions 51 (2010) 925.	S. Ochiai,S.Nakano, Y. Fukazawa, M.S. Aly, H. Okuda, <u>K. Kato</u> , T. Isobe, K. Kita , K. Honma	2章 4章
6	Determination of the stress acting upon the individual celled of open-cell stainless steel foams.	MetFoam 2007:Canada, DEStech Publications Inc. Pennsylvania. (2008) 157.	M.S. Aly, H. Okuda, S. Ochiai, Y. Fukazawa, K. Morishita, <u>K. Kato</u> , K. Kita, K. Honma	4章

## 2 その他論文及び解説（筆頭著者にアンダーライン）

	題目	掲載雑誌名	連名者	対応箇所
1	金属材料の高機能化および複合化, [1]チタン	体内埋め込み医療材料の開発とその理想的な性能・デザインの要件, 技術情報会, (2013) 394.	<u>加藤公明</u> , 共著	3章
2	高効率廃棄物発電ボイラー過熱器管用Ni-Cr-Mo系合金の機械的特性	日本金属学会誌, 66, 6 (2002) 544.	松井孝憲, <u>加藤公明</u> , 堂谷安生, 川原雄三, 城田良康	—
3	高強度耐熱銅合金の鍛造条件による結晶粒の粗大化防止	熱処理 No3019, 36-396	浜井升平, 深堀修, 大東弘幸, <u>加藤公明</u> , 菊池弘明	—
4	高強度耐熱銅合金の粗粒化防止鍛造法案の検討	熱処理 No3157, 38-327	深堀修, 大東弘幸, <u>加藤公明</u> , 菊池弘明, 浜井升平	—
5	環境管理システム ISO14001 の受審と実施の実態	伸銅技術研究会誌 38 (1999) 19.	<u>加藤公明</u>	—
6	ASTM B10 委員会出張報告	新金属工業 39, 384 (1994) 17.	<u>加藤公明</u>	—
7	ISO 9002 で品質体制を強化	標準化と品質管理 52, 47 (1994), 3.	<u>加藤公明</u>	—
8	ISO 9000 (JIS Z 9900) シリーズの受診	社内標準化便覧 (3版, 1995), 日本規格協会, 1311.	<u>加藤公明</u>	—

### 3 講演

	題目	学会名	発表年月	連名者	対応箇所
1	環境管理システム ISO14001の 受審と実施の実態	日本伸銅協会	1998, 11	<u>加藤公明</u>	—
2	スーパーヒーターチューブ用 Ni 合金の強度特性	鉄鋼協会	2002, 3	松井孝憲, <u>加藤公明</u> , 堂谷安生, 川原雄三, 城田良康	—
3	多孔質層の細胞侵入性に及ぼす開孔径の効果	日本金属学会	2006, 9	山本玲子, 神山祐子, <u>加藤公明</u> , 喜多晃一	2章 4章
4	多孔質金属薄板の細胞適合性および細胞侵入性評価	日本バイオマテリアル学会	2006, 11	山本玲子, 神山祐子, <u>加藤公明</u> , 喜多晃一	2章 4章
5	基調講演 新世代タービンディスク材料開発の現状と将来展望	日本金属学会 春季大会 2007, S9・12	2007,3	谷月峰, 原田広史, 藤岡順三, <u>加藤公明</u>	—
6	次世代タービンディスク用 TMW 合金の実規模パンケーキディスク試作	日本金属学会 春季大会 2007, S9・13	2007,3	福田正, 三橋章, <u>加藤公明</u>	—

#### 4 特許

	文献番号	タイトル	出願国	対応箇所
1	特許 4911565 号	医療用デバイスの表面改質方法および医療用デバイス	日本	2,4 章
2	WO2007/066669	医療用デバイスの表面改質方法および医療用デバイス	世界知的所有権機関	2,4 章
3	2009/0162235	MEDICAL DEVICE AND SURFACE MODIFICATION METHOD FOR MEDICAL DEVICE	アメリカ合衆国	2,4 章
4	1958650	MEDICAL DEVICE AND SURFACE MODIFICATION METHOD FOR MEDICAL DEVICE	欧州特許庁	2,4 章
5	101336115	MEDICAL DEVICE AND SURFACE MODIFICATION METHOD FOR MEDICAL DEVICE	中華人民共和国	2,4 章
6	特許 4911566 号	医療用デバイスおよび医療用デバイスの表面改質方法	日本	2,4 章
7	特願 2010-252228	椎体スペーサー	日本	3 章
8	WO2012/063863	椎体スペーサー	世界知的所有権機関	3 章
9	特願 2010-252229	椎体スペーサー	日本	3 章
10	WO2012/063865	椎体スペーサー	世界知的所有権機関	3 章
11	特願 2010-252230	椎体スペーサー	日本	3 章
12	WO2012/063868	椎体スペーサー	世界知的所有権機関	3 章
13	特願 2010-252231	椎体スペーサー	日本	3 章
14	WO2012/063871	椎体スペーサー	世界知的所有権機関	3 章
15	特開 2012-100845	多孔質インプラント素材	日本	3 章



16	WO2012/063904	多孔質インプラント素材	世界知的所 有権機関	3章
17	特開 2012-100846	多孔質インプラント素材	日本	3章
18	WO2012/063905	多孔質インプラント素材	世界知的所 有権機関	3章
19	特開 2012-100847	多孔質インプラント素材	日本	3章
20	WO2012/063906	多孔質インプラント素材	世界知的所 有権機関	3章
21	特開 2012-100848	多孔質インプラント素材	日本	3章
22	WO2012/063907	多孔質インプラント素材	世界知的所 有権機関	3章
23	特願 2012-123797	多孔質インプラント素材	日本	3章
24	特願 2012-123798	多孔質インプラント素材	日本	3章
25	特願 2012-123799	多孔質インプラント素材	日本	3章

## 5 国家プロジェクト，公的プロジェクト委員

	プロジェクト名称	主催	年	参加機関	委員
1	宇宙関連材料強度特性データ整備委員会	JAXA—NIMS	2002— 2008	NIMS， JAXA， MHI, IHI, 神鋼, 新日鉄, 九州大 学, MMTL	検討 委員
2	超大型鍛造用プレス機を利用した革新的部材開発に関する調査研究—革新的部材開発調査 (WG 1)	NEDO	2002	阪大, 東大, IHI JSW, MHI, KHI NIMS, JRCM, MMTL	委員
3	Zr-Ni 系アモルファス膜利用メタノール改質水素製造装置の開発	関東経済産業局, 地域 新生コンソ ーシアム研 究事業	2003— 2004	産総研, 三菱化 工機, JRCM, MMTL	副総括 研究代 表者
4	高温タービンディスク製造技術開発に関する先導調査	NEDO	2005— 2006	東大, IHI, KHI, MHI, 本田技術 研究所, 全日 空, JAXA, NIMS , MMTL, JRCM	委員

## 謝辞

本論文をまとめるにあたり，懇切かつ的確なご指導，ご鞭撻を頂戴いたしました早稲田大学基幹理工学部機械科学・航空学科教授 鈴木進補博士に深く感謝申し上げます。

学位論文審査において，貴重なご助言とご指導を頂戴いたしました早稲田大学基幹理工学部機械科学・航空学科教授 浅川基男博士に心より感謝申し上げます。

早稲田大学理工学部金属工学科旧加藤研究室の先輩として変わらぬ暖かい激励，ご指導を賜りました早稲田大学創造理工学部環境資源工学科教授 不破章雄博士に心より感謝申し上げます。

本研究の端緒となる基礎的研究をご指導いただいた京都大学名誉教授 落合庄治郎博士に心より感謝申し上げます

本論文執筆を薦めていただきました早稲田大学名誉教授 本村貢博士ならびに中江秀雄博士に心より感謝申し上げます。

細胞適合性試験に際しまして貴重なご指導，ご尽力を頂戴いたしました独立行政法人 物質・材料研究機構主任研究員 山本玲子博士，特別専任職 大森健一様に心より感謝申し上げます。

発泡金属の研究を立ち上げ，開発に導いた三菱マテリアル株式会社 中央研究所金属材料研究部 星野孝二部長補佐，技術開発部開発企画室 黛良享技術主幹，高機能製品事業部開発戦略部 和田正弘主任研究員，MMC スーパーアロイ株式会社 渋谷巧総合職，神田栄子専任職に深く感謝申し上げます。

腐食試験に際し尽力くださいました MMC スーパーアロイ株式会社 太期雄三博士に心より感謝申し上げます。

機械的試験の実施に際しご尽力くださいました三菱マテリアル株式会社 高機能製品事業部 本間圭一総合職，大森信一総合職に心より感謝申し上げます。

機械的試験の試験結果解析に貴重なご指導をいただきました日本工業大学 機会工学科准教授 瀧澤英男博士に心より感謝申し上げます。

圧縮試験の試験結果解析に際し貴重な助言をいただきました三菱マテリアル株式会社中央研究所，河野肇主任研究員に感謝申し上げます。論文作成にあたり暖かい支援をいただきました三菱マテリアル株式会社 中央研究所金属材料研究部部長 三橋章博士，喜多晃一主任研究員，高機能製品事業部開発戦略部部長 磯部毅博士に心より感謝申し上げます。

最後に、小生に大学教育をうけさせてくれた母、亡父、妹、義弟、励義父母、そして家庭を守り常に暖かく支えてくれた妻と二人の息子たちに心から深く感謝します。たいへんありがとうございました。