

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 8 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23560108

研究課題名(和文)高機能骨細胞再生用三次元スキャフォールドの設計と組織制御プロセスの提案

研究課題名(英文) Proposal of design of highly functional 3D structured scaffold for rebuilding bone tissue and process for its structure control

研究代表者

京極 秀樹 (KYOGOKU, Hideki)

近畿大学・工学部・教授

研究者番号：10258056

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生体親和性および強度に優れるチタンあるいはチタン合金を用いて、細胞付着・増殖を促進する新たなスキャフォールドの創製を行うため、レーザ積層造形などの加工プロセスによる骨細胞再生促進型スキャフォールド構造とその組織制御プロセスを提案することを目的とした。骨細胞再生促進型スキャフォールド構造の提案を行うとともに、レーザ積層造形技術による組織制御および積層造形プロセス条件の検討を行うことにより、チタン製スキャフォールドを作製した。また、生体適合性に優れるTi-Nb系合金の材料特性に及ぼす第三元素添加の影響を検討し、パルス通電焼結法により骨の弾性率に近い低弾性合金を作製できた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research is to propose the design of highly functional 3D structured scaffold for rebuilding bone tissue and the process for its structure control to fabricate the new structured scaffold by using titanium and titanium alloys which have superior biocompatibility and strength. The design of highly functional 3D structured scaffold for rebuilding bone tissue was proposed. The titanium scaffold could be fabricated by investigating the fabrication conditions of direct laser melting process. And also, the effect of the third element on the biocompatibility and deformation behavior of the Ti-Nb alloys was investigated. The alloy having the elasticity near human bone could be fabricated by using pulse-current sintering method.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・機械材料・材料力学

キーワード：材料加工・処理 生体材料

1. 研究開始当初の背景

次世代医療の大きなテーマである「生体組織再生」には、次の大きな2つのテーマがある。

(1) 組織再生を促進する薬剤と生物製剤の開発

(2) 再生細胞のスキヤフォールドの開発

このうち、(2)のスキヤフォールドに求められる主要な機能は、

生体親和性および安全性に優れること

細胞との再生を誘導する細胞・組織への

栄養を供給し得る透過性に優れること

骨芽細胞の侵入・再生と破骨細胞の侵入防止を可能とするフィルター機能を有すること

細胞再生を誘導しやすいスペースを有すること

一定の強度と延性を有すること

である。これらの機能を満足するためには、(a)材料設計、(b)構造設計および(c)加工法をシステム化する必要がある。

現在、高齢化社会の課題である口腔(歯科)の問題の中に歯槽骨の再生用スキヤフォールドや高機能歯科用インプラント利用などの課題がある。このような中、上述したように、スキヤフォールドに関しては、現状では高分子材料膜が利用されているが、強度不足のため再生スペースが十分に確保されず歯槽骨の再生が不十分であり、生体親和性も悪いという問題がある。このため、新たな骨組織再生促進型スキヤフォールドの材料設計を含めた構造設計・加工技術を確立する必要がある。

2. 研究の目的

本研究では、強度および生体親和性に優れたチタンあるいはチタン合金を用いて、細胞付着・増殖を促進する新たなスキヤフォールドの創製を行うもので、透過性と骨芽細胞を導入し、破骨細胞を排除するフィルター機能、さらには細胞再生を誘導しやすいスペースを有する骨細胞再生促進型スキヤフォールド構造とレーザ積層造形による組織制御プロセス

を提案することを目的としている。

3. 研究の方法

本研究の目的を達成するために、以下の内容について検討を行った。

(1)レーザ積層造形技術による三次元スキヤフォールドの設計・試作

本研究においては、Ybファイバーレーザ(最大出力:50W,波長:1090nm)を有するレーザ積層造形装置を使用した。粉末には、平均粒径24.5 μ mのTi粉末を用いた。装置内は酸化防止のためアルゴンガス雰囲気とし、レーザ出力、走査速度、走査ピッチおよび積層ピッチを変化させて実験を行った。この際、走査ピッチを変化させて造形体の空隙形状を制御した。なお、酸素量は1%以下とした。レーザ出力は20~50W、走査速度は5~30mm/sとした。走査ピッチは、0.1~0.3mmとした。積層造形体の造形状況および表面性状については、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察した。

(2)パルス通電焼結法による三次元スキヤフォールドの組織制御と骨再生機構

パルス通電焼結装置を用いて、平均粒径45 μ mの純チタン粉末に空隙を設ける微粒子を混合した後、各種作製条件で焼結した。焼結体を約500 μ m厚に薄切し試料とした。生体親和性試験として、研究協力機関である東北大学歯学研究科において、ヒト由来細胞による培養試験を行った。試作した多孔質チタン材試料に樹立細胞を播種して培養を行い、播種後72時間後において2.5%グルタルアルデヒドにて細胞ごと試験試料を固定、その後、脱水・乾燥・スパッタ処理を実施後、SEM観察を行った。

(3)Ti系生体適合性材料の開発

生体適合性に優れた低弾性率材料であるTi-Nb系合金について、パルス通電焼結法および金属粉末射出成形法による作製条件の検討を行うとともに、作製した材料の組織及び機械的性質について、SEM/EDX、引張試験

機等により調査した。

4. 研究成果

(1) レーザ積層造形技術による三次元スキャフォールドの設計・試作

Ti 粉末を用いて、レーザ積層造形技術による三次元スキャフォールドの設計・試作を目的として、まず詳細な積層造形条件について調査した。また、一例としてスキャフォールド用メッシュの作製条件についても検討した。

積層造形条件の検討

レーザ積層造形体を作製するためには、まず滑らかな連続したトラックを作製できる条件を見出す必要がある。Fig. 1 にレーザ出力と走査速度を変化させた場合のプロセスマップを示す。なお、マップ上の数値は、エネルギー密度である。このマップからわかるように、走査速度が 20 mm/s 以上すなわちエネルギー密度が約 15 J/mm² 以下では、連続した滑らかなトラックが得られにくいことがわかる。レーザ出力に関してみると、30 W および 40 W において連続した滑らかなトラックが得られている。このように、レーザ出力 30 ~ 40 W、走査速度 5 ~ 10 mm/s、エネルギー密度 20 ~ 50 J/mm² 近傍で滑らかな線状のトラックを作製できることがわかった。

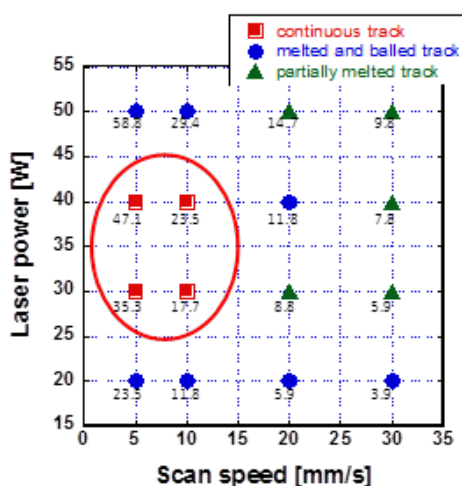


Fig.1 Process map of laser-sintered Ti specimens

メンブレンメッシュの作製

医用材料の一例としてスキャフォールドを作製するために、メンブレンメッシュの作製を試みた。上記プロセスマップの条件をもとに、レーザ出力を変化させ、走査速度を 5 mm/s または 10 mm/s とし、走査ピッチを 1 mm ~ 5mm の間で変化させることにより、メッシュ間隔がどのように変化するかを検討した。その結果、延性のある格子状のメッシュを作製できた。

得られた結果は、次のとおりである。

レーザ出力と走査速度の関係を示すプロセスマップを作成することにより、滑らかに連続したトラックを作製できる積層造形条件を見出すことができた。エネルギー密度とトラック幅の関係を検討した結果、安定して作製できるトラック幅は、約 450 μm であることがわかった。

滑らかな面は、レーザ出力 30 W ~ 50 W、走査速度 5 mm/s ~ 10 mm/s で走査ピッチを考慮することにより作製できることがわかった。

作成したレーザ出力と走査速度の関係を示すプロセスマップから、ポアの大さや分布などの表面性状への影響について明らかにした。

スキャフォールド用メッシュは、レーザ出力、走査速度および走査ピッチを検討することにより作製できることがわかった。

今後は、新たな装置による骨組織再生促進型スキャフォールドの詳細な作製条件の検討を行うとともに、作製した三次元スキャフォールドのヒト由来細胞による培養試験を行う予定である。

(2) パルス通電焼結法による三次元スキャフォールドの組織制御と骨再生機構

パルス通電焼結法による多孔質三次元スキャ

スキャフォールドの作製について検討するとともに、ヒト細胞による培養試験を行った。

まず、パルス通電によるTi製多孔質体を作製するために、多孔質構造とするための添加剤について検討した。この中で、NaCl粉末を用いて、パルス通電焼結条件を詳細に調査することにより、多孔質構造を有するTi多孔質体を作製することができた。

作製した多孔質体の細胞培養後の状況をFig.2に示す。これから、Aの矢印で示すように、ヒト歯根膜由来培養細胞(PDLC)が付着・遊走し、偽足を伴いながら表面上を旺盛に伸展し、それらの細胞の中には多孔質部の空隙および貫通孔に進入するものが見られる。このように、スキャフォールドへの適用の可能性が高いことがわかる。

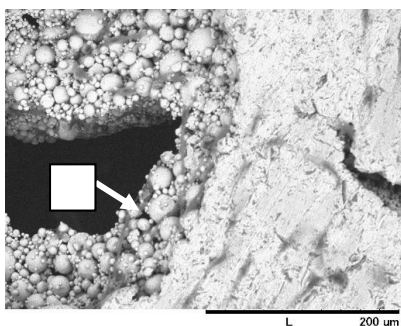


Fig.2 SEM micrograph of osteogenic cells derived from human alveolar bone cultured on sintered porous Ti for 2 days

得られた結果は、次のとおりである。

パルス通電焼結による多孔質体の作製条件を明らかにすることができた。

多孔質構造を作製するための添加剤として、NaCl粉末の利用が最適であることがわかった。

NaCl粉末による試料では、三次元多孔質構造が形成され、緻密なチタン粒子結合をもつマトリクスと空隙で構成された。

多孔質体においては、ヒト歯根膜由来培養細胞(PDLC)が付着・遊走し、偽

足を伴いながら表面上を旺盛に伸展し、それらの細胞の中には多孔質部の空隙および貫通孔に進入するものが見られ、スキャフォールドへの適用の可能性が高いことがわかった。

(3) Ti系生体適合性材料の開発

まず、生体適合性に優れたTi-Nb系合金のうち、Ti-22at%Nbについて、パルス通電焼結による作製条件を検討するとともに、組織、機械的性質ならびに形状記憶特性についても検討した。Fig.3に、焼結後、圧延加工し、熱処理を施した場合の負荷除荷試験の結果を示す。これから、常温において優れた超弾性を示すことがわかる。このように、焼結体をインゴットとしても、溶製材と同様に優れた超弾性特性を有する合金を作製できた。

つぎに、すでに低弾性率を有する生体材料として利用されているTi-Nb-Ta-Zr(TNTZ)合金を金属粉末射出成形(MIM)法およびパルス通電焼結(PAS)法により作製し、その作製条件およびその機械的性質について検討した。

MIM法では、脱バインダ条件、焼結条件の検討を行い、試験片を作製した。その結果、引張強さ約700 MPa、伸び約12%、弾性率約100 GPaの特性を有する合金を作製できた。

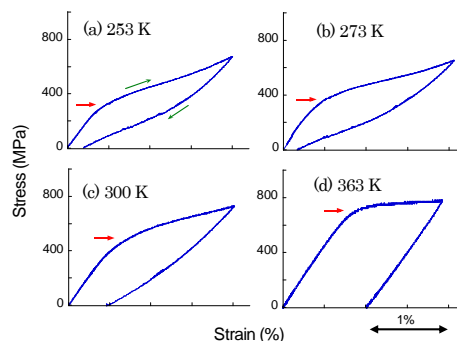


Fig.3 Stress-strain curves of the cold-rolled and annealed Ti-22at%Nb alloy under various temperatures

つぎに、Ti-Nb系合金に第三元素として、Al、Cu、SnおよびTaが材料特性に及ぼす影響について検討した結果、常温において超弾性特性を示すことがわかった。ただし、AlおよびCuについては、生体への毒性が懸念されるため、SnおよびTa添加による合金系について検討を行うこととした。

PAS法では、焼結条件および溶体化処理条件を検討し、1573 Kでの焼結温度においてほぼ均質な焼結体を得られることがわかった。溶体化処理を施した試験片を用いて引張試験を行った結果、引張強さ、伸びとも低かったが、骨の弾性率に近い約20 MPaの低弾性体を作製できた。

これらの内容については、今後論文として投稿する予定である。

さらに、生体材料としてはほとんど研究されていないTi-Sn-Cr系合金では、PASによる作製条件を検討するとともに、その組織および機械的性質について検討した。また、形状記憶特性を発現する組成についても検討を行った。Ti-3at%Sn-Xat%Crにおいて、組成の影響について検討した結果、7at%Crにおいては、常温でも超弾性挙動を示すことを明らかにした。

得られた結果は、次のとおりである。

Ti-22at%Nb合金では、焼結体からのインゴットでも、常温で優れた超弾性挙動を示すことがわかった。

Ti-Nb系合金における第三元素として、Al、Cu、SnおよびTaが材料特性に及ぼす影響について検討した結果、AlおよびCu添加では、常温において超弾性特性を示すことがわかった。ただし、AlおよびCuについては、生体への毒性が懸念されるため、SnおよびTa添加による合金系について検討を行うこととした。

Ti-Nb系では、生体材料として利用されているTi-Nb-Ta-Zr(TNTZ)合金を金

属粉末射出成形(MIM)法およびパルス通電焼結(PAS)法により作製し、その作製条件およびその機械的性質について検討した。その結果、MIM法では、引張強さ約700 MPa、伸び約12%、弾性率約100 GPaの特性を有する合金を作製できた。これに対して、PAS法では、引張強さ、伸びとも低かったが、骨の弾性率に近い約20 MPaの低弾性体を作製できた。

Ti-Sn-Cr系合金では、PASによる作製条件を検討するとともに、その組織および機械的性質について検討した結果、Ti-3at%Sn-7at%Crにおいて、常温でも超弾性挙動を示すことを明らかにした。

本合金については、さらに詳細な検討を行う予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

- (1) A. Terayama, N. Fuyama, Y. Yamashita, I. Ishizuka, H. Kyogoku, "Fabrication of Ti-Nb alloys by Powder Metallurgy Process and their Shape Memory Characteristics", Journal of Alloys and Compounds, Vol. 577S, (2013), pp.S408-S412、査読有
- (2) H. Kyogoku, Y. Shimizu, K. Yoshikawa, "Surface Morphology of Selective Laser-Melted Titanium", Proceedings of Solid Freeform Fabrication Symposium 2013, (2013), pp.846-852、査読有
- (3) H. Kyogoku, D. Ohishi, A. Terayama, "Effect of Cu Addition on Shape Memory Characteristics of Ti-Nb Based Alloy Fabricated by Pulse Current Sintering", Proceedings of the

2012 Powder Metallurgy World
Congress and Exhibition (CD-ROM),
(2013)、査読有

- (4) S. Ashida, H. Kyogoku, H.
Hosoda, “Fabrication of Ti-Sn-Cr Shape
Memory Alloy by PM Process”,
Materials Science Forum, Vols.706-709,
(2012), pp.1943-1947、査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

- (1) H. Kyogoku, Y. Shimizu, K. Yoshikawa,
“Surface Morphology of Selective
Laser-Melted Titanium”, Solid
Freeform Fabrication Symposium 2013,
平成25年8月12日 The University of
Texas at Austin, (Austin TX)
- (2) 石幡浩志, 岩間張良, 小林洋子, 佐々木
啓一, 島内英俊, 吉川研一, 京極秀樹, “純
チタンの各種成形法による表面微細形状
がヒト由来培養細胞に及ぼす影響”, 粉体
粉末冶金協会平成25年度春季大会 平
成25年5月29日 早稲田大学(東京)
- (3) 芦田真一, 京極秀樹, “MA粉末を利用した
Ti-Sn-Cr合金の形状記憶特性”, 日本機械
学会第20回機械材料・材料加工部門技術
講演会 平成24年12月1日 大阪工業大
学(大阪)
- (4) H. Kyogoku, D. Ohishi, A. Terayama,
“Effect of Cu Addition on Shape
Memory Characteristics of Ti-Nb Based
Alloy Fabricated by Pulse Current
Sintering”2012 Powder Metallurgy
World Congress and Exhibition 平成
24年10月17日 Pacifico Yokohama
(Yokohama)
- (5) 京極秀樹, 寺山朗, “粉末冶金法により作
製したTi-Nb-Cu合金の形状記憶特性”, 日
本機械学会2012年度年次大会 平成24年
9月11日 金沢大学(金沢)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
○出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

- (1) <http://WWW.hiro.kindai.ac.jp>
(2) 近畿大学次世代基盤技術研究所報告

6. 研究組織

(1) 研究代表者

京極 秀樹 (KYOGOKU, Hideki)
近畿大学・工学部・教授
研究者番号：10258056

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

吉川 研一 (YOSHIKAWA, Kenichi)
独立行政法人理化学研究所・素形材工学研
究室・共同研究員
研究者番号：30525902