

Ti-6Al-4V 積層造形体表面上へのナノアパタイトコーティングによる
生体活性能の改善

Nano-hydroxyapatite Coating Improves Bioactivity of Additively
Manufactured Ti-6Al-4V Alloy Surface

渡邊稜太・高橋広幸・上向井 徹

小粥康充・松垣あいら・中野貴由

Ryota WATANABE, Hiroyuki TAKAHASHI, Toru UEMUKAI,
Yasumichi KOGAI, Aira MATSUGAKI and Takayoshi NAKANO

Ti-6Al-4V 積層造形体表面上へのナノアパタイトコーティングによる 生体活性の改善

Nano-hydroxyapatite Coating Improves Bioactivity of Additively Manufactured Ti-6Al-4V Alloy Surface

渡邊稜太***・高橋広幸*・上向井 徹***
小粥康充***・松垣あいら**・中野貴由**
Ryota WATANABE, Hiroyuki TAKAHASHI, Toru UEMUKAI,
Yasumichi KOGAI, Aira MATSUGAKI and Takayoshi NAKANO

(Received 15 March 2021, Accepted 15 March 2021)

The metal implant fixation with bone tissues is an important factor for excellent clinical outcomes in total joint arthroplasty. Various porous surfaces produced by additive manufacturing have been developed to enhance bone-implant fixation, and clinically used. However, in some cases, poor fixation of the additively manufactured implants has been reported, because they are not bioactive. In the present study, we focused on the nano-hydroxyapatite as a promising coating material for additively manufactured metal implants. Regardless of surface topographies, nano-hydroxyapatite could be coated on additively manufactured metal surfaces, and nano-hydroxyapatite coated Ti-6Al-4V alloys had high bioactivity.

Key Words: Nano-hydroxyapatite, Additive Manufacturing, Orthopedic Implants, Bioactivity, Simulated Body Fluid

1. 緒言

現在、日本では、65歳以上の高齢者人口が25%を超える超高齢社会に突入しており、今後も増加することが予測されている¹⁾。高齢者人口の増加に伴い、変形性関節症のような関節疾患による運動機能の低下や骨折リスクの向上が懸念されており、関節疾患の治療に適用される人工関節の需要は高まっている。

人工関節の寿命は、一般的に約15年～20年とされているが、術後早期に再置換に至る症例も報告されている。そのため、人工関節には、より長期間安定して体内において関節機能を発揮することが求められている。人工関節の長寿命化のための重要課題の一つに、「人工関節と骨組織との固定」がある。これまで、人工関節と骨組織を固定するために、グリットブラストによる粗面化や純チタン製メッシュの接合による多孔質化などの表面形状を制御する方法や、骨組織との親和性が高い材料をコーティングする方法などが開発・臨床応用されてきた²⁻⁴⁾。しかしながら、人工関節の骨との固定不良にともなう「人工関節の緩み」は再置換の主な要因の一つとして未だ報告されており⁵⁾、さら

なる骨固定力の獲得が可能な人工関節の開発が求められている。

近年、金属の三次元積層造形 (Additive Manufacturing: AM) 技術の発展に伴い、AM技術を用いた人工関節の研究開発が盛んに行われている。AM技術では、機械加工のような除去加工では実現困難であった、高い気孔率・連通性を有した複雑な三次元多孔構造を作製することが可能である。そこで、AM技術を利用した、従来よりも強固な骨固定力を獲得できる表面形状の実現が期待されている。現在、AM技術を用いて制御された表面形状は、主に人工股関節の寛骨臼カップに臨床応用されており、優れた臨床成績が報告されている⁶⁻⁸⁾。一方、術後中期において、X線画像上で人工関節と骨との隙間 (radiolucent line) が観察される症例も一部報告^{9),10)}されている。これは、人工関節周囲における骨形成が乏しいことを示唆しており、再置換に至る症例は少ないものの、長期的には人工関節の緩みに繋がる懸念される。こうした radiolucent line の発生を抑制するためには、AM技術により造形された表面に、骨形成を誘導できるような生体活性表面処理を適用する必要がある。

* 帝人ナカシマメディカル株式会社 R&D センター (〒701-1221 岡山県岡山市北区芳賀 5322)

R&D Center, Teijin Nakashima Medical Co., Ltd. (5322 Haga, Kita-ku, Okayama, Okayama 701-1221, Japan)

** 大阪大学大学院工学研究科 マテリアル生産科学専攻 (〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1)

Division of Materials and Manufacturing Science, Graduate School of Engineering, Osaka University (2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan)

*** 株式会社ソフセラ R&D センター (〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7-7-20 彩都バイオイノベーションセンター 102 号)

R&D Center, SofSera Corporation (102 Saito Bio-Innovation Center, 7-7-20 Saito Asagi, Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan)

人工関節における生体活性表面処理としては、ハイドロキシアパタイト (HA) のコーティングが広く知られており、数十年間にわたって臨床使用されている。近年の研究では、HA コーティングを施された人工股関節寛骨臼カップは、電子ビーム積層造形法を用いて作製された寛骨臼カップよりも radiolucent line の出現頻度が少ないことが報告⁹⁾されており、人工関節周囲における骨形成促進には、HA コーティングが有効であることを示している。しかしながら、AM 技術により作製された三次元多孔表面に、従来使用されているプラズマ溶射法を用いた HA コーティングを適用すると、三次元多孔構造の孔が HA 粒子で埋まってしまい、多孔体の連通性が低下する。そこで、我々は、AM 技術により作製された三次元多孔構造を維持したまま生体活性性能を付与するための方策として、HA ナノ粒子 (ナノアパタイト) コーティングに着目した。

本研究では、AM 技術による複雑形状を有するインプラント表面の高機能化制御法として、ナノアパタイトの有用性について検討を行った。さらにはその生体活性性能の評価を行うことで、ナノアパタイトコーティングによる骨形成促進効果について知見を得ることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 擬似体液浸漬による生体活性性能の評価

ナノアパタイトコーティングの有無による生体活性性能の変化を評価するために、小久保らが提唱^{11), 12)}する擬似体液 (SBF; Simulated Body Fluid) を作製した。SBF は、ヒト血漿中の無機イオン濃度とほぼ等しくなるように調整された水溶液であり、材料表面の生体活性性能を評価できる方法として広く用いられている。本研究では、バレル研磨によって平滑表面に仕上げた Ti-6mass%Al-4mass%V (Ti-6Al-4V) 鍛造材試験片 (Polished: 直径 14 mm × 厚さ 2 mm) と、Polished にナノアパタイトをコーティングした試験片 (Polished + nano-HA) を用意した。

Polished および Polished + nano-HA を、36.5℃ の SBF に 1、3、5 日間浸漬させた。SBF 浸漬前後における試験片表面の結晶構造および表面構造の変化を、X 線回折法 (XRD; SmartLab, Rigaku) および電界放出型電子顕微鏡 (FE-SEM; S-4800, HITACHI) にて評価した。XRD では、線源に Cu-K α を用い、走査軸 2θ 、管電圧・電流 45 kV/200 mA、測定範囲 $2\theta = 20^\circ \sim 40^\circ$ 、入射角 0.5° 、スキャンスピード $0.02^\circ/\text{秒}$ にて測定した。FE-SEM の観察条件は加速電圧 5 kV、フィラメント電流 10 μA とした。

2.2 AM 試料表面へのナノアパタイトコーティング

本研究では、Ti-6Al-4V ELI 合金粉末を出発原料として、電子ビーム積層造形法 (Electron Beam Powder Bed Fusion; EB-PBF, Arcam S12, Sweden) を用いて、二種類の試験片を作製した。一方は、直径 14 mm、厚さ 2 mm の円板状試験片を、直径方向が積層方向に対して平行になるように造形

した。もう一方は、10 mm × 10 mm × 1 mm の多孔体を有する直方体試験片 (全体: 20 mm × 20 mm × 1 mm) を造形した。

得られた試験片に対して、以下の手順でナノアパタイトのコーティングを行った。試験片を 2-プロパノールにて洗浄した後、300℃、30 分間の熱処理を施した。熱処理を施した試験片を、シランカップリング剤 (γ -メタクリロキシプロピルトリエトキシシラン) を含有したトルエン溶液に浸漬させることでシランカップリング処理を施した。その後、平均粒径約 40 nm の球状ナノアパタイト粒子を分散させたエタノール溶液に試験片を浸漬させた後、減圧下での熱処理 (120℃、60 分間) を施した。熱処理後、エタノールによる超音波洗浄を行った。

各種試験片の表面構造およびナノアパタイトのコーティング後の表面構造については、FE-SEM を用いて観察した。

3. 実験結果と考察

3.1 ナノアパタイトコーティングによる生体活性性能付与

Fig. 1 に、SBF 浸漬前後における試験片表面の FE-SEM 像を示す。SBF 浸漬前では、ナノアパタイトコーティングにより、試験片の表面形状に大きな変化は認められなかった。Polished (バレル研磨された Ti-6Al-4V 鍛造材) では 5 日間の SBF 浸漬後においても、試験片表面に析出物は確認

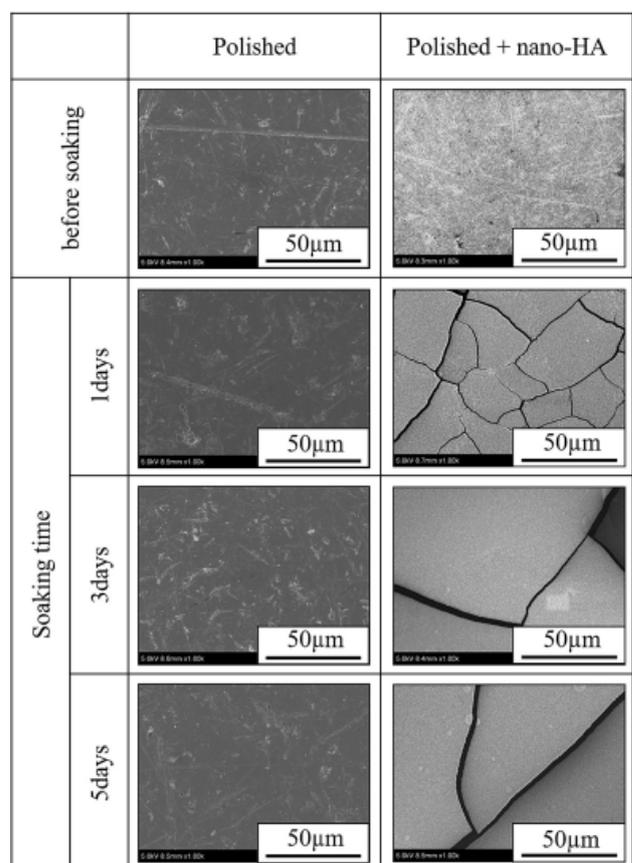


Fig. 1 FE-SEM images of Ti-6Al-4V alloy surface coated with and without nano-hydroxyapatite before and after SBF soaking (1-5 days).

されなかった。一方、Polished + nano-HA (バレル研磨表面にナノアパタイトがコーティングされたTi-6Al-4V鍛造材)については、SBF浸漬により表面に析出物の形成が観察された。Fig. 2に、SBF浸漬前後におけるXRDパターンを示す。Polishedでは、いずれの浸漬期間においても、チタンに帰属される回折ピークのみしか確認されなかった。一方、ナノアパタイトコーティングした試験片については、チタンに加えて、アパタイトに帰属される回折ピークも認められた。また、SBFへの浸漬時間が長くなるにつれて、チタンの回折ピークが減少するとともに、アパタイトの回折ピークが大きくなる傾向を示した。これは、ナノアパタイトコーティングに由来して、SBF浸漬中にアパタイト結晶が継続して析出・成長していることを意味している。

SBF浸漬により、アパタイトが形成される材料表面の多くは、一般に、高い生体活性を有しており、生体界面と結合することで、優れた骨固定力を発揮する。例えば、アルカリ加熱処理されたチタンおよびチタン合金は、SBFに浸漬すると表面にアパタイトが形成されることが報告¹³⁻¹⁵⁾

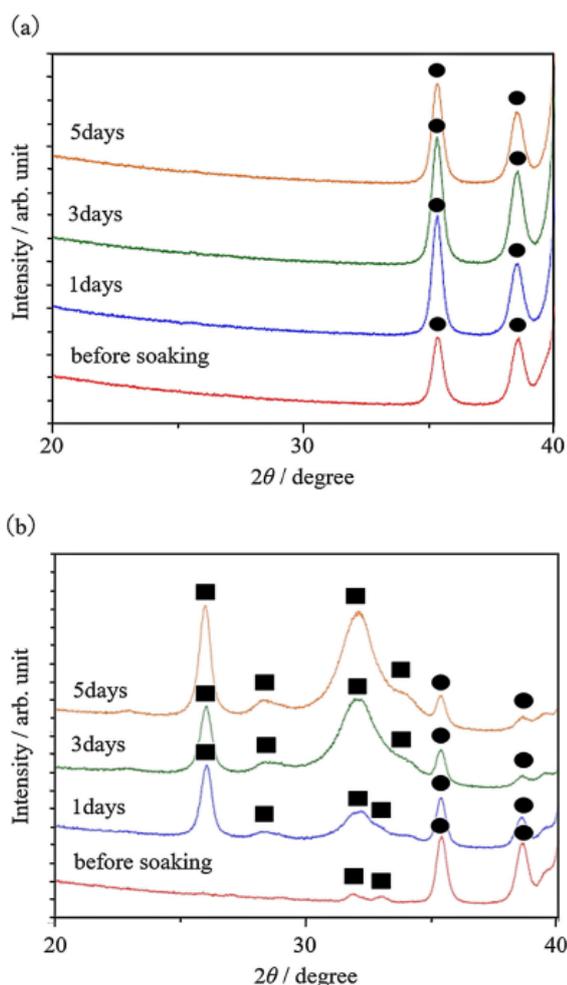


Fig. 2 XRD patterns of (a) Polished and (b) Polished + nano-hydroxyapatite after 0, 1, 3 and 5 days of SBF soaking. The marks of ■ and ● correspond to the diffraction peaks of apatite and titanium, respectively.

されており、ウサギ脛骨やイヌ大腿骨への埋植試験により高い骨固定力を獲得できることが明らかになっている^{16), 17)}。加えて、アルカリ加熱処理を施した人工股関節では、手術直後に認められた radiolucent line は1年以内に消失することが報告¹⁸⁾されており、人工股関節周囲への骨形成促進が示唆される。本研究では、Ti-6Al-4V合金表面でのナノアパタイトコーティングにより、擬似体液中では1日というわずかな時間で材料表面でのアパタイト析出が促進されることを見出した。つまり、ナノアパタイトコーティングは、Ti-6Al-4V合金表面に生体活性を付与し、生体内で骨形成を促進することで、骨固定力の向上に寄与することが期待される。

3.2 ナノアパタイトコーティングによる表面構造への影響

Fig. 3には、ナノアパタイトコーティング前後における円板状EB-PBF造形体表面のFE-SEM像を示す。ナノアパタイトコーティングにより、造形体の表面構造に大きな変化は認められず、AM技術による表面構造制御を損なうことなく、生体活性を有するナノアパタイトコートを作成している。Fig. 4には、異なる造形体表面上にナノアパタイトをコーティングした際のFE-SEM像を示す。EB-PBF法により造形された粗面および多孔体表面のいずれにも、ナノオーダーのアパタイト粒子がコーティングされていることが確認される。

AM技術により作製された人工関節は、造形方向やスキャンストラテジーに応じた固有の表面構造を有している。とりわけ、造形方向に依存して、造形体表面の粗度が大きく変化する^{19), 20)}ことから、多様な表面構造に適用可能なコーティング技術が求められる。本研究で採用したナノアパタイトコーティングは、金属表面に導入されたシランカップリング剤を介したアパタイト微粒子の結合に基づく²¹⁾ことから、コーティング溶液が侵入可能な表面構造であれば、複雑表面形状を維持しつつ、ナノアパタイトの導入が可能である。本研究では、最も表面粗度の高い、造形方向に対して平行な表面に対して、その構造を維持しつつナノアパタイトコーティングが可能であることを示した。

以上より、ナノアパタイトコーティングは、高い生体活性を付与するだけでなく、AM技術による造形インプラ

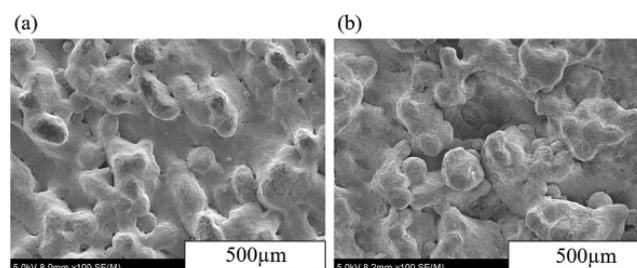


Fig. 3 FE-SEM images of the rough surfaces of Ti-6Al-4V alloy fabricated by EB-PBF method; (a) before and (b) after nano-hydroxyapatite coating.

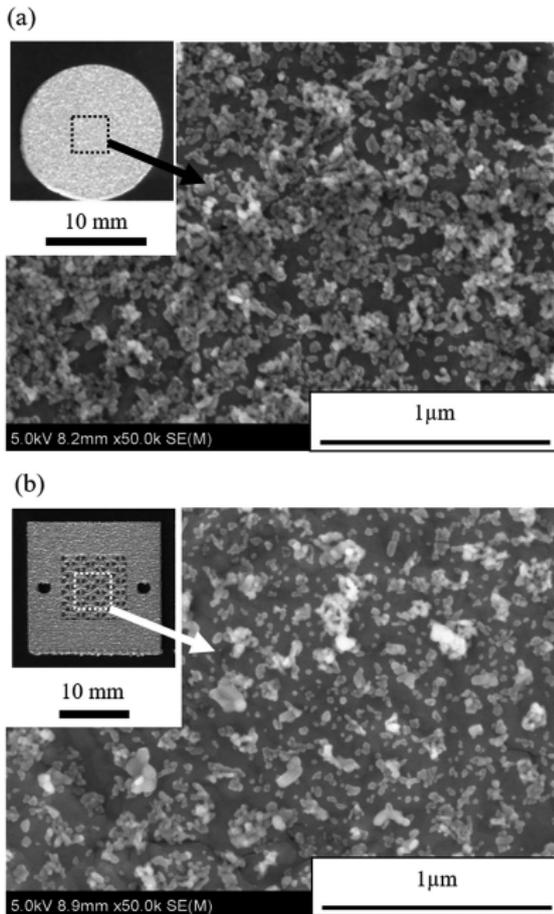


Fig. 4 FE-SEM images of (a) rough and (b) porous surfaces of nano-hydroxyapatite coated Ti-6Al-4V samples fabricated by EB-PBF method.

ントの複雑表面形状に対しても、大きな表面形状の変化を伴うことなく適用できることが実証された。

4. 結論

本研究では、Ti-6Al-4V 合金における平滑表面、ならびに AM 技術 (EB-PBF 法) による複雑形状を有する造形体表面へのナノアパタイトのコーティングを実施し、以下の知見を得た。

- 1) Ti-6Al-4V 合金平滑表面へのナノアパタイトコーティングは、SBF 浸漬 1 日目からアパタイト結晶の析出・成長を誘導することから、高い生体活性性能を付与できる優れたコーティング技術である。
- 2) ナノアパタイトコーティングは、AM 技術による外・内部での複雑表面形状を維持しつつ、生体機能化を誘導できるインプラント表面処理方法として有望である。

謝辞

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (S) (JP18H05254) の支援を受けて実施された。ここに謝意を示します。

参考文献

- 1) 内閣府: “令和2年度版高齢社会白書”, (2020).
- 2) S. A. Hacking, J. D. Bobyn, M. Tanzer and J. J. Krygier: “The osseous response to corundum blasted implant surfaces in a canine hip model”, *Clin. Orthop. Relat. Res.*, **364** (1999), 2440-253.
- 3) J. Galante, W. Rostoker, R. Lueck and R. D. Ray: “Sintered fiber metal composites as a basis for attachment of implants to bone”, *J. Bone Joint Surg. Am.*, **53-A** (1971), 101-114.
- 4) C. P. A. T. Klein, P. Patka, H. B. van der Lubbe, J. G. C. Wolke and K. de Groot: “Plasma sprayed coating of tetracalcium phosphate, hydroxyapatite and α -knight on titanium alloy: An interfacial study”, *J. Biomed. Mater. Res.*, **1** (1991), 53-65.
- 5) Australian Orthopaedic Association National Joint Replacement Registry: “Annual Report 2020”, AOA, (2020).
- 6) L. Massari, A. Bistolfi, P. P. Grillo, A. Borré, G. Gigliofiorito, C. Pari, A. Francescotto, P. Tosco, D. Deledda, L. Ravera and A. Causero: “Periacetabular Bone Densitometry after Total Hip Arthroplasty with Highly Porous Titanium Cups: A 2-Year Follow-Up Prospective Study”, *Hip Int.*, **27-6** (2017), 551-557.
- 7) L. Perticarini, G. Zanon, S. M. P. Rossi and F. M. Benazzo: “Clinical and radiographic outcomes of a trabecular titanium™ acetabular component in hip arthroplasty: results at minimum 5 years follow-up”, *BMC Musculoskelet. Disord.*, **16** (2015), 375.
- 8) F. Castagnini, B. Bordini, S. Stea, P. P. Calderoni, C. Masetti and L. Busanelli: “Highly porous titanium cup in cementless total hip arthroplasty: registry results at eight years”, *Int. Orthop.*, **43-8** (2019), 1815-1821.
- 9) H. Imai, J. Miyawaki, T. Kamada, A. Maruishi, J. Takeba and H. Miura: “Radiolucency around highly porous sockets and hydroxyapatite-coated porous sockets in total hip arthroplasty for hip dysplasia”, *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.*, **29-3** (2019), 611-618.
- 10) N. Sodhi, A. Khlopas, Z. Berliner, K. Dushaj, J. E. Minter, B. Naylor, R. Marchand, M. S. Hepinstall and M. A. Mont: “Survivorship and radiographic analysis of highly porous acetabular cups designed for improved osseointegration potential”, *Surg. Technol. Int.*, **34** (2019), 425-429.
- 11) T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi and T. Yamamuro: “Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W”, *J. Biomed. Mater. Res.*, **24-6** (1990), 721-734.
- 12) T. Kokubo and H. Takadama: “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?”, *Biomaterials*, **27** (2006), 2907-2915.
- 13) T. Kokubo, F. Miyaji, H. M. Kim and T. Nakamura: “Spontaneous Formation of Bonelike Apatite Layer on Chemically Treated Titanium Metals”, *J. Am. Ceram. Soc.*, **79** (1996), 1127-1129.
- 14) H. M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo and T. Nakamura: “Preparation of bioactive Ti and its alloys via sample chemical surface treatment”, *J. Biomed. Mater. Res.*, **32** (1996), 409-417.
- 15) H. M. Kim, T. Kokubo, S. Fujibayashi, S. Nishiguchi and T. Nakamura: “Bioactive macroporous titanium surface layer on titanium substrate”, *J. Biomed. Mater. Res.*, **52** (2000), 553-557.
- 16) S. Nishiguchi, T. Nakamura, M. Kobayashi, H. M. Kim, F. Miyaji and T. Kokubo: “The effect of heat treatment on bone-bonding

- ability of alkali-treated titanium”, *Biomaterials*, **20** (1999), 491-500.
- 17) S. Nishiguchi, H. Kato, M. Neo, M. Oka, H. M. Kim, T. Kokubo and T. Nakamura: “Alkali- and heat-treated porous titanium for orthopedic implants”, *J. Biomed. Mater. Res.*, **54** (2001), 198-208.
- 18) K. Kawanabe, K. Ise, K. Goto, H. Akiyama, T. Nakamura, A. Kaneuji, T. Sugimori and T. Matsumoto: “A new cementless total hip arthroplasty with bioactive titanium porous-coating by alkaline and heat treatment: average 4.8-year results”, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, **90** (2009), 476-481.
- 19) M. Suard, G. Martin, P. Lhuissier, R. Dendievel, F. Vignat, J.J. Blandin and F. Villeneuve: “Mechanical equivalent diameter of single struts for the stiffness prediction of lattice structures produced by electron beam melting”, *Addit. Manuf.*, **8** (2015), 124-131.
- 20) V. Weißmann, P. Drescher, H. Seitz, H. Hansmann, R. Bader, A. Sevfarth, A. Klinder and A. Jonitz-Heincke: “Effects of build orientation on surface morphology and bone cell activity of additively manufactured Ti6Al4V specimens”, *Materials*, **11** (2018), 915-928.
- 21) M. Okada, M. Masuda, R. Tanaka, K. Miyatake, D. Kuroda and T. Furuzono: “Preparation of hydroxyapatite-nanocrystal-coated stainless steel, and its cell interaction”, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **86A** (2007), 589-596.

代表者メールアドレス

渡邊稜太 r.watanabe@teijin-nakashima.co.jp