

線維芽細胞共存環境が生体用金属材料の 腐食挙動へ及ぼす影響

工学院大学[院] ○昼間健史 工学院大学[工] 木村雄二 埼玉大学[工] 森田真史

Effects of Existing Fibroblasts upon Corrosion Behavior of Metallic Implants

Takeshi HIRUMA, Yuji KIMURA and Masafumi MORITA

1. 緒言

高齢化が進む近年、患者の日常生活や社会復帰を支援し QOL (Quality of life, 生活の質) の向上を考慮した治療が求められている。そのため骨や関節が十分に機能せず人工的に代替材料を体内に埋入する治療や医療技術の向上により人工材料を用いた治療法が確立されている。これらに用いる材料はインプラント材料と呼ばれる。このインプラント材料が使用目的を達成するために、生体適合性が必要である。生体適合性は非毒性、界面適合性、耐食性が挙げられる。過酷な生体環境下でインプラントに用いる金属材料は不動態皮膜を形成することにより生体内で親和性を保ち、存在する。しかし生体内の Cl⁻イオンの存在による孔食の発生や溶存酸素濃度の低下による腐食促進などで不動態皮膜の破壊が問題となっている。これらのことから擬似生体内環境中での耐食性の検討は必要不可欠である。また生体環境中には細胞などが存在するため材料の耐食性に対してこれらが影響を及ぼすと考えられているが細胞などが存在する環境でのインプラント材料の耐食性評価は未だ統一的な見解を得るに至っていない。

本研究では、インプラント材料に用いる金属材料の擬似生体環境での腐食挙動を電気化学的手法により検討する。さらに生体環境中に存在する細胞の線維芽細胞との共存による腐食挙動を同様に電気化学的手法により検討したのでこれらの結果を報告する。

2. 実験方法

腐食挙動の評価には、Fig.1 の三電極方式の電気化学装置を用いて行った。今回、供試材料として形状記憶特性や超弾性特性を有しこれらの特性が医療分野に応用されると期待されている Ni-Ti 形状記憶合金を用い、生体内に近い環境溶液として乳酸リンゲル溶液と線維芽細胞の培養液であるイーグル MEM 溶液での腐食挙動の評価を行った。試料片は 10mm × 10mm × 2mm のサイズのものを使用し、310K に保持した乳酸リンゲル溶液およびイーグル MEM 溶液中において掃引速度は 20mV/min、掃引電位は -1V ~ 2V として JIS T0302 に基づく電位掃引試験を実施した。また線維芽細胞を付着させた状態で行うため試料片をシリコンで加工したものの金属表面に線維芽細胞を 24 時間培養させたものを同様に電位掃引試験を実施した。また細胞密度は飽和状態のコンフルエントで行った。また測定後の試験片の腐食形態を観察するため SEM による表面観察を行った。

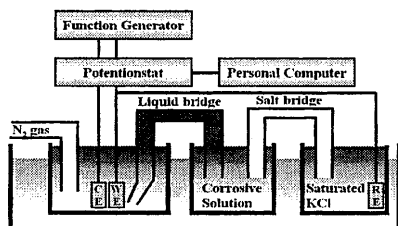


Fig.1 Electrochemical measurement system of corrosion

3. 結果および考察

3-1. アノード分極測定による耐食性評価

Ni-Ti 合金の乳酸リンゲル溶液とイーグル MEM 溶液でのアノード分極測定を行った結果を Fig.2 に示す。その結果、不動態皮膜が保持される電流密度および孔食電位を比較すると 2 つの溶液では劣化に顕著な差異は認められなかったが、タンパク質を含むイーグル MEM 溶液で行う方ではタンパク質による薄膜が形成され、これによる隙間腐食により劣化が進行するため過不動態領域で電流密度が急激に上昇したと考えられる。

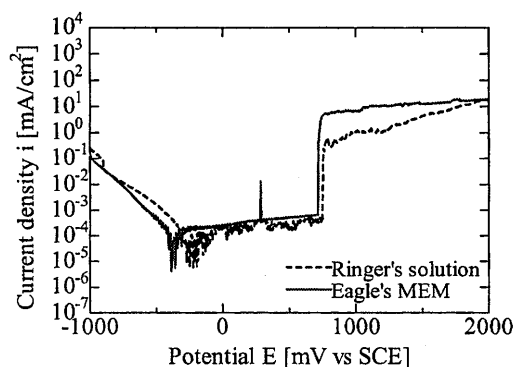


Fig.2 Polarization curves of Ni-Ti alloy in lactic Ringer's solution and Eagle's MEM at 310K

また Ni-Ti 合金をイーグル MEM 溶液に 24 時間予浸漬させた状態のもののアノード分極測定を行った。イーグル MEM 溶液に 24 時間の予浸漬の有無の比較を Fig.3 に示す。予浸漬させないで試験を行ったものはタンパク質による薄膜の密着性が弱く、これが剥がれやすくなり急激に劣化が促進される。これに対し予浸漬させた状態のものではタンパク質による薄膜の密着性が向上したと考えられるため緩やかに劣化が進行すると考えられる。つまりイーグル MEM 溶液に予浸漬させることによりタンパク質膜の密着性が向上し耐食性が向上すると考えられる。

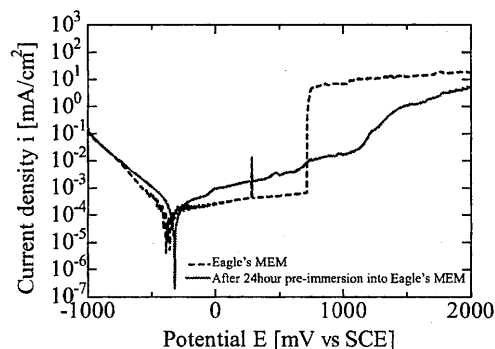


Fig.3 Polarization curves of NiTi alloy in Eagle's MEM and after 24hour pre-immersion into Eagle's MEM at 310K

次に Ni-Ti 合金の線維芽細胞を 24 時間付着させた状態のものとのアノード分極測定を行った。イーグル MEM 溶液に 24 時間浸漬させた状態のものとのアノード分極測定結果の比較を Fig.4 に示す。不動態皮膜が保持される電流密度および孔食電位を比較すると線維芽細胞を付着させたものの方が、耐食性が優れることが明らかとなった。これは線維芽細胞がコラーゲン繊維を産出することにより金属表面とタンパク質膜の密着性をさらに向上させ不動態皮膜を安定化させたため耐食性が向上したものと考えられる。

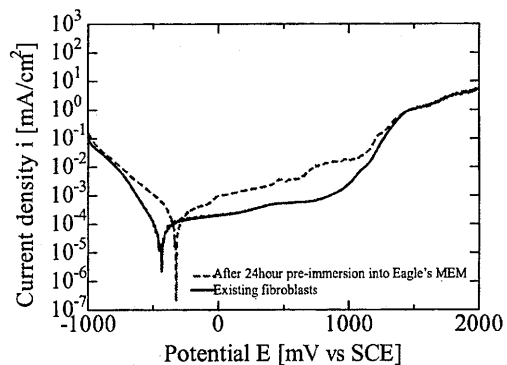
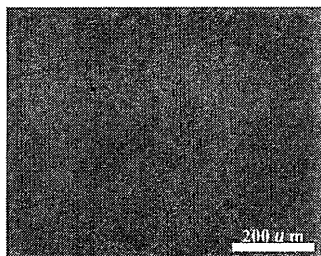


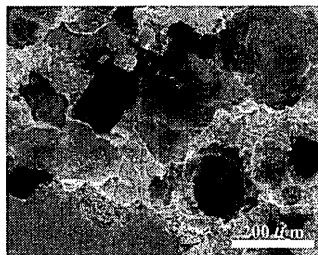
Fig.4 Polarization curves of Ni-Ti alloy after 24hour pre-immersion into Eagle's MEM at 310K with and without fibroblasts

3-2. 分極測定後の試験片表面の腐食形態の観察

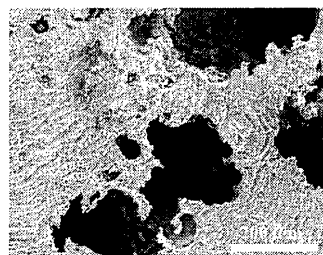
乳酸リンゲル溶液とイーグル MEM 培養液で電位掃引試験を行った後の試験片の表面を SEM により観察した結果の画像を Fig.5 に示す。イーグル MEM 溶液で腐食試験を行ったものの方が、孔食が大きくなっており、腐食が促進してしまうことが明らかである。これはイーグル MEM 溶液に含まれている L-グルタミンなどのタンパク質が材料表面に付着し、そのことによる隙間腐食が発生し劣化が促進されてしまうためであると考えられる。



a) Before corrosion test



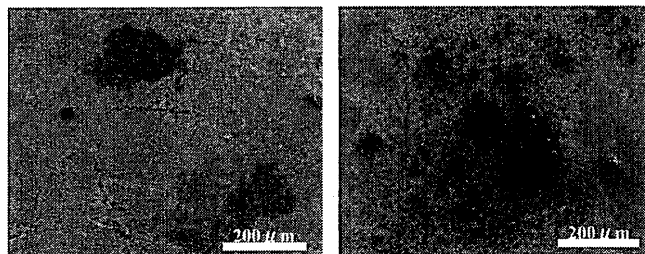
b) After corrosion test in Ringer's solution



c) After corrosion test in Eagle's MEM

Fig. 5 SEM micrograph of the surface morphologies

線維芽細胞を 24 時間付着させた状態のものとの Ni-Ti 合金をイーグル MEM 溶液に 24 時間予浸漬させた状態のもので電位掃引試験を行った後の試験片の表面を SEM により観察した結果の画像を Fig. 6 に示す。両者とも電位掃引試験による孔食は確認できなかった。しかし金属表面上に電位掃引試験前には確認できなかった付着物が確認できた。これは培養液に含まれるタンパク質が金属表面に付着したのではないかと考えられる。

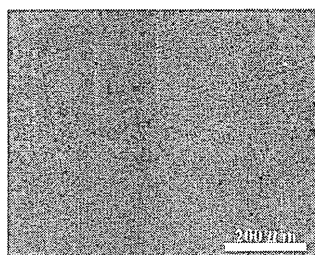


a) After 24hour pre-immersion into Eagle's MEM

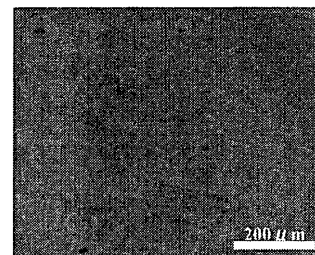
b) After 24hour pre-immersion into Eagle's MEM with fibroblasts

Fig. 6 SEM micrograph of the surface morphologies

またこの付着物を取り除き再び SEM により表面を観察した。その画像を Fig. 7 に示す。電位掃引試験前と比べて目立った孔食は確認できなかった。これはタンパク質による皮膜が形成されることにより不動態皮膜が安定的に保持され孔食ができにくくなったのではないかと考えられる。さらに線維芽細胞が付着することによりコラーゲン繊維を産出し、さらに密着性の高いタンパク質皮膜が形成されたのではないかと考えられる。そのことにより耐食性が向上させると考えられる。



a) After 24hour pre-immersion into Eagle's MEM



b) After 24hour pre-immersion into Eagle's MEM with fibroblasts

Fig. 7 SEM micrograph of the surface morphologies

4. 結 言

乳酸リンゲル溶液とイーグル MEM 溶液では同程度の耐食性を示したが、イーグル MEM 溶液で腐食試験を行う場合は、タンパク質膜の隙間腐食により劣化が進行されるため過不動態領域で電流密度が急激に上昇した。またイーグル MEM 溶液に予浸漬させることによりタンパク質膜の密着性が向上し耐食性が向上することが明らかとなった。さらに線維芽細胞を付着させたことにより、コラーゲン繊維を産出することによって金属表面との密着性を向上させ不動態皮膜を安定化させたため耐食性が向上したことが明らかとなった。

[参考文献, 謝辞省略]