

# 細胞接着による金属インプラントの通気差腐食の可能性 - 細胞接着面における溶存酸素濃度の計測 -

埼玉大学 ○森田真史 埼玉大学[院] 橋本季子

## A Study of Differential Aeration Corrosion with Adhesion Cells on the Implant Metal -Measurement of Dissolved Oxygen Levels of the Contact Area-

Masafumi MORITA and Tokiko HASHIMOTO

### 1 緒 言

金属材料は生体材料の70%以上を占め、整形外科用や歯科用としてだけではなく、循環器系や他の用途に広く使用されている。生体材料は常に生きた生体組織と接触した状態で使用されるため、生体機能金属の開発には金属表面と細胞との反応の解明は必須である。

金属を生体内に埋植すると表面に細胞が接着し、細胞/金属間の隙間において隙間腐食が生じる可能性がある。著者らはNi平板上でL929線維芽細胞を接着させた際に強い腐食作用が発現することを確認した。<sup>1, 2)</sup> その腐食促進因子として、細胞の代謝活動が金属の腐蝕に強く関与する可能性が示唆された。細胞接着面隙間部分を占める体液の溶存酸素濃度低下による通気差腐食が考えられる。そこで本研究の目的として細胞/金属間の溶存酸素濃度を計測することにより、細胞による隙間部分での酸素消費速度と隙間腐食の可能性について検討した。

### 2 実験方法

#### 2.1 細胞/金属間隙間溶存酸素濃度等価モデルの作製

細胞/金属間の溶存酸素濃度を計測するためにFig.1に示す細胞/金属間溶存酸素濃度等価モデルを作製した。Fig.1のMedium AとMedium Bとの間は孔径0.45 μmのミリポアフィルタで仕切った。予めフィブロネクチンを被覆したPTFEフィルタ（日本ミリポア（株））上に接着性細胞であるマウス線維芽細胞（L929）及び非接着性細胞であるヒト単球様細胞（U937）を200×10<sup>4</sup> cells/well播種し24時間インキュベータ内で培養した。その後、フィルタをFig.1の実験装置にセットし、Medium A及びB

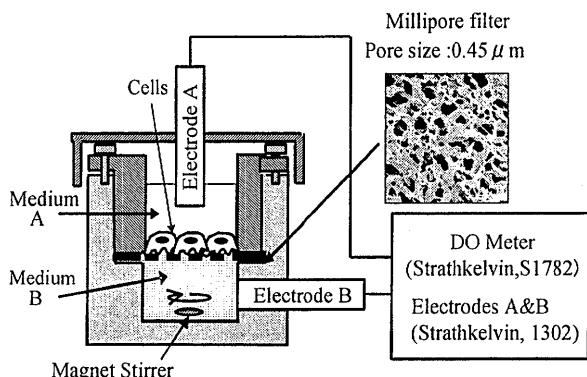


Fig.1 Measurement system of DO concentration in the medium between adhesion cells and metal surface.

の溶存酸素濃度を24時間計測した。Medium Bの溶存酸素濃度を隙間における溶存酸素濃度、Medium Aを細胞非接着面における溶存酸素濃度と見做した。溶存酸素計測にはStrathkelvin社製のModel-S1782を、電極は同社製の1302を用いた。

#### 2.2 溶液体積の違いによる細胞の酸素消費速度の計測

Fig.1に示す実験装置を用いて、体積（隙間の大きさ）の違いによるL929細胞の酸素消費速度の計測を行った。Fig.1のMedium Bの体積を3, 1.5, 1.0, 0.3, 0.1mlと変化させた時の溶存酸素濃度を24時間計測し、酸素消費速度を計算した。

#### 2.3 溶存酸素濃度による金属の分極電位の測定

Fig.2の装置を用いて、Mediumの溶存酸素の違いによって生じる金属間の電位差を計測した。Mediumをガラスフィルタ（北斗電工（株）HX-P108）でA側とB側に分断し、A側をN<sub>2</sub>ガスバーピング法で溶存酸素濃度を制御し、金属平板間に生じる電位差を高入力抵抗型電圧計（北斗電工（株）HE-106）で計測した。

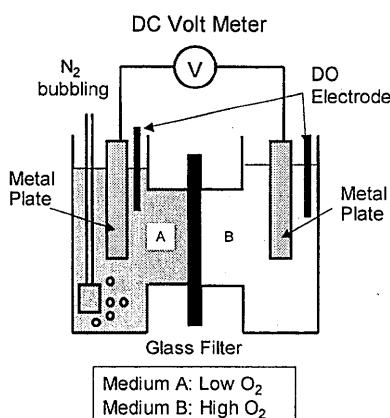


Fig.2 Measurement apparatus of the potential difference between metals A and B

### 3 結果および考察

#### 3.1 細胞接着性による酸素消費速度

Fig.3及び4はFig.1の装置を用いて測定した細胞の代謝によるMediumの溶存酸素濃度の変化を示す。Fig.3は非接着性細胞であるので、溶液AとBの溶存酸素濃度の経時的变化に違いはない。Fig.4は接着性細胞の場合の溶存酸素濃度変化を示す。細胞層で閉じ込められた培地Bは顕著な溶存酸素濃度の低下が観られた。Medium Bの酸素濃度は金属表面に細胞が着床する際、必ずしも全

面で金属と接触しているわけではない。細胞で覆われた金属表面には極微量ではあるが Medium が閉じ込められる。このような僅かな間隙は周囲と遮断されるので細胞の代謝によって酸素が消費されると溶存酸素濃度が低下する。細胞で覆われない Medium A は外部からの酸素供給が可能なので溶存酸素濃度は一定に保たれた。一方、Medium B で著しい溶存酸素の低下が認められた。

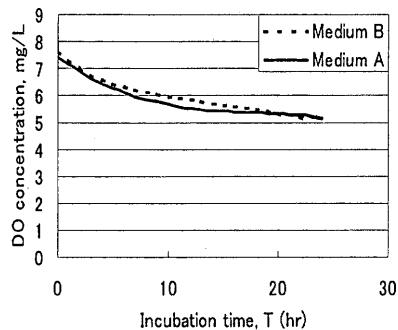


Fig.3 DO concentration change with non adhesion cell metabolic activity in the mediums A and B

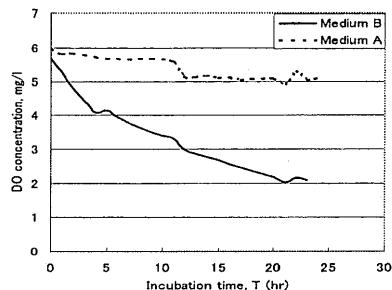


Fig.4 DO concentration change with adhesion cell metabolic activity in the mediums A and B.

### 3.2 細胞接着間隙の溶存酸素低下速度の推定

Fig.5 は接着性細胞の L929 細胞と非接着性細胞である U937 細胞の金属表面への接着形態を示す。L929 細胞は金属表面に接着、伸展するが U937 細胞は金属表面には接着せずに溶液中に浮遊して存在する。L929 細胞は播種後 24 時間でフィルタ表面にコンフルエントに着床し、培地を細胞接着膜を介して A と B に分割された。

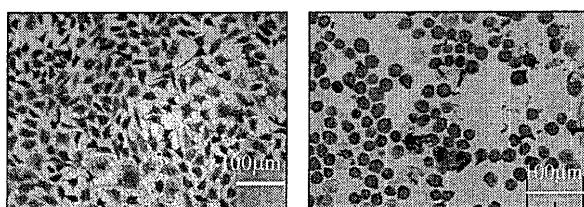


Fig.5 Optical images of L929 adhesion cells (Right) and U937 non adhesion cells (Left) on the metal surfaces

Fig.6 は Medium B の容積と溶存酸素濃度低下率の関係を示す。Fig.5 の写真より、L929 細胞 1 個の接着面積は約  $1000\mu\text{m}^2$ 、平均隙間を約  $1\mu\text{m}$  と仮定すると、隙間容積は

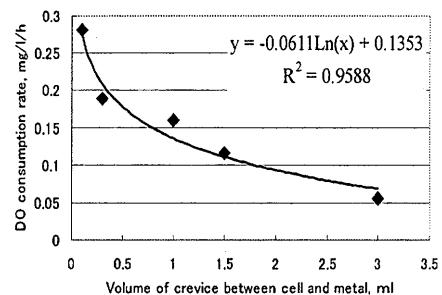


Fig.6 DO level change depended by the volume of Medium (B)

$10^{-9}\text{ml}/\text{cell}$  程度である。従って、細胞間隙の酸素濃度低下率は毎時  $1.41\text{mg/L}$  であり、細胞が接着すると溶存酸素はすぐに平衡状態に達すると推定された。

### 3.3 酸素濃淡電池の可能性

Fig.2 の装置にそれぞれ  $100\text{ml}$  の Medium を満たし、純 Ni 板を装着して A 側のみを  $\text{N}_2$  ガスバーリングして金属間の電位差を測定した。Fig.7 はその結果を示す。 $\text{N}_2$  ガスをバーリングすることで Medium A の溶存酸素濃度は  $1\sim 2\text{mg/L}$  に低下した。その結果、Medium A に浸した Ni の電位はバーリングを施さない Medium B に浸した Ni に対して約  $+120\text{mV}$  (vs.SSE) 貴化した。バーリングを施さない場合の電位差は  $20\text{mV}$  (vs.SSE) を示した。

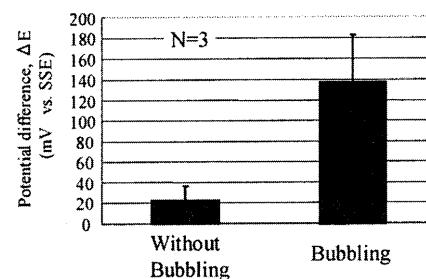


Fig.7 Potential differences between Ni plates in medium A and B. Medium A was prepared  $\text{N}_2$  gas bubbling through the test.

## 4 結 論

一般に、金属表面上で溶存酸素濃度に差が生じると局部電池が形成されて腐食が促進することが知られている。インプラント金属を体内に埋植した場合も同様に材料と組織が接触する。細胞または組織の代謝活動により接着間隙に閉じ込められた体液中の溶存酸素が消費され、前述のような溶存酸素濃度差による通気差腐食が生じる可能性が示唆された。

## 参考文献

- 1) 橋本季子, 森田真史, 日本機械学会予稿集 203-206, 2004.
- 2) T.Hashimoto, M.Morita, Mater. Sci. Forum. Vol.475-479, 2075-2079, 2004.