

千葉工業大学

博士学位論文

生体材料用金属イオン固溶

$\beta$  型リン酸三カルシウム of 材料化学的研究

平成 22 年 3 月

松 本 尚 之

# 平成 21 年度 博士学位論文

## 目次

### 第 1 章 緒言

1.1 本研究の背景と目的	・・・1
1.2 $\beta$ 型リン酸三カルシウム	・・・3
1.2.1 バイオセラミックス	
1.2.2 リン酸三カルシウム	
1.2.3 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの結晶構造	
1.3 金属イオン固溶リン酸三カルシウムに関する既往の研究とその課題	・・・7
1.4 本研究の概要	・・・11
文 献	

### 第 2 章 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性

2.1 はじめに	・・・29
2.2 実 験	・・・30
2.2.1 試 料	
2.2.2 評 価	
2.3. 結果および考察	・・・35
2.3.1 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性	
2.3.2 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性	
2.4 おわりに	・・・52
文 献	・・・53

### 第 3 章 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質

3.1 はじめに	・・・55
3.2 実 験	・・・56
3.2.1 作 製	
3.2.2 評 価	
3.3. 結果および考察	・・・62
3.3.1 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の結晶相と固溶形態	
3.3.2 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質	
3.4 おわりに	・・・79
文 献	・・・80

第 4 章	一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの溶解機構	
4.1	はじめに	・・・82
4.2	実 験	・・・83
4.2.1	試 料	
4.2.2	溶解性試験	
4.3	結果および考察	・・・85
4.3.1	一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの溶解性	
4.3.2	一価金属イオンの固溶が溶解性に及ぼす影響	
4.4	おわりに	・・・99
文 献		・・・100
第 5 章	バナジン酸イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質	
5.1	はじめに	・・・103
5.2	実 験	・・・103
5.2.1	作 製	
5.2.2	評 価	
5.3	結果および考察	・・・111
5.3.1	バナジウムイオン( )イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの物性	
5.3.2	バナジン酸イオンの固溶形態	
5.3.3	バナジン酸イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質	
5.4	おわりに	・・・139
文 献		・・・141
第 6 章	一価および二価金属イオン同時固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム抗菌剤の 創製	
6.1	はじめに	・・・143
6.2	実 験	・・・144
6.2.1	試 料	
6.2.2	評 価	
6.3	結果および考察	・・・151
6.3.1	抗菌性金属イオンの固溶形態と色相	
6.3.2	抗菌性とそのメカニズム	
6.3.3	細胞毒性	
6.4	おわりに	・・・172
文 献		・・・ 174

## 第 7 章 錯体重合法による金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの合成

7.1 はじめに	・・・176
7.2 実 験	・・・177
7.2.1 原 料	
7.2.2 錯体重合法による $\beta$ 型リン酸三カルシウムの合成	
7.2.3 評 価	
7.3 結果および考察	・・・182
7.3.1 $\beta$ 型リン酸三カルシウム前駆体の生成	
7.3.2 $\beta$ 型リン酸三カルシウム前駆体の加熱挙動	
7.3.3 加熱試料の粒子形態と粒子径	
7.4 おわりに	・・・215
文 献	・・・217

## 第 8 章 総括

・・・219

## 研究業績

## 謝辞

# 第 1 章 緒言

## 1.1 本研究の背景と目的

21 世紀に入り ,わが国日本における 65 歳以上の人口の割合は ,図 1.1 に示したように ,米国や欧州諸国のそれよりも高くなり ,世界的にみても急速に少子高齢化社会へ移行している <sup>1)</sup> .少子高齢化社会を迎えるにあたり ,人類の抱える多くの重篤な疾病を克服し ,肉体的にも精神的にも健康な体の維持が求められ ,それらの治療に使用される生体材料に関する研究が世界的に行われている .また ,高齢者だけでなく ,食生活などの生活スタイルの変化により ,メタボリック症候群や糖尿病などの成人病を患う中若年層の患者数も増加傾向を示し ,近年では ,その診断 ,治療 ,および疾病の予防や子供や乳児などの治療にも生体材料を使用するケースが増えている .したがって ,わが国だけでなく ,世界中の人々の健康的で安心・安全な社会実現のためには ,生体材料の研究が重要となり ,今後の発展が望まれる研究分野である <sup>2)~6)</sup> .

生体材料のなかでも ,高齢化にともなう骨折や骨粗鬆症を発症する患者数の増加から ,それらにともなう骨欠損部の補填や修復に使用される骨修復材料(人工骨)の重要性が高まっている <sup>5),6)</sup> .

$\beta$  型リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)は ,骨置換性や新生骨誘導能のある生体吸収性セラミックスとして ,骨腫瘍の摘出や骨折などによる骨欠損部の補填材料に現在臨床応用されているが , $\beta$ -TCP 単身では十分な機械的強度の焼結体を作製することは困難であり ,生体内における溶解・吸収速度も新生骨生成速度にくらべて速いことから ,現在は金属材料や高分子材料とともに使用している <sup>7)~15)</sup> .しかし ,金属材料は生体内埋入後の感染症の発症や毒性の発現を ,高分子材料の場合では強度が低くクリープ現象による材料の寸法変化を ,それぞれ引き起こす危険性がある <sup>3)</sup> .したがって , $\beta$ -TCP 単身で ,低い機械的強度や高い溶解性を解決することが求められている .

$\beta$ -TCP 構造中の Ca(4)および Ca(5)サイトに鉄 ,マンガ ,マグネシウムなどの金属イオンや水素イオンを置換固溶した構造は ,whitlockite(天然鉱物)の結晶構造と一致する <sup>16),17)</sup> .これは , $\beta$ -TCP の Ca サイトに金属イオンが置換固溶することを示している .また ,同じく骨修復材料として用いられる水酸アパタイト(HAp)の場合でも ,その結晶構造中の Ca サイトや  $\text{PO}_4$  サイトへの金属イオンの固溶が ,熱安定性や溶解性などの材料特性に影響を与えることを金澤らは報告している <sup>18)</sup> .

本論文では ,これらの観点から  $\beta$ -TCP の機械的強度や溶解性などの問題を解決するために ,金属イオンをその結晶構造中に固溶させ ,その物性改善をめざした .

また ,臨床応用の段階で埋入部位や患者にあわせた材料設計をするためには ,固溶させる金属イオンの種類や添加量の違いで ,どの程度機械的強度の向上や溶解性の制御が可能であるかという基礎データがまず必須になる .しかし ,金属イオン添加  $\beta$ -TCP の材料化学

的性質に関する報告はあるが、 $\beta$ -TCP への金属イオン固溶が、どのようなファクターに作用し、その材料特性にどの程度影響を与えるのかということはこれまでに明らかにされていない。

一方、 $\beta$ -TCP については、一般照明用蛍光体、イオン交換体、触媒、イオンカラム充填材など生体材料以外の機能性材料にも使用される HAp にくらべて生体材料以外の用途に関する研究は少ない<sup>19)</sup>。

近年、生体材料の材料設計による生体内での特性制御について少しずつ明らかにされている<sup>20)~23)</sup>。 $\beta$ -TCP は、一般に固相法で合成されることから、材料設計に必要な粒子形態や粒子径の制御は困難である<sup>3)</sup>。したがって、 $\beta$ -TCP の粒子形態や粒子径制御のために液相法による  $\beta$ -TCP 合成を求められているが、実験条件の制御や長時間の熟成が必要であるため<sup>3)</sup>、新たな合成方法の検討が望まれている。

そこで、本論文では、金属イオン固溶  $\beta$ -TCP を合成し、その熱安定性、機械的強度および溶解性を評価し、 $\beta$ -TCP への金属イオン固溶がそれらの特性に対して及ぼす効果やメカニズムを、結晶構造などの観点から材料化学的に解明することを目的とした。一方で、骨補填材以外の  $\beta$ -TCP の使用範囲の拡大をめざした抗菌性金属イオンを固溶させた  $\beta$ -TCP 抗菌剤の開発や、液相法による  $\beta$ -TCP や金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の新たな合成方法についても検討した。

## 1.2 $\beta$ 型リン酸三カルシウム

### 1.2.1 バイオセラミックス

#### 1.2.1.1 バイオセラミックスの定義と特徴

生体材料(バイオマテリアル)とは、1989 年 3 月のヨーロッパバイオマテリアル会議において、「医薬品を除く、合成または天然もしくはその複合材料で、一定期間、人体の組織、器官またはその機能の一部もしくは全部を代替もしくは促進する材料」と定義された<sup>24)</sup>。

また、生体材料の一種であるバイオセラミックスについては、現代の医療技術の発達にともないそれを定義することが困難となっているが、広義には「臨床検査分野や生体計測分野で酵素の固定化やウイルスの分離にも臨床応用されているセラミックス[生化学関連セラミックス(バイオテクノロジーセラミックス)]」と定義されている。しかし、狭義には、「生体内に埋入または生体と接触させて使用することにより、生体機能の回復や増進を目的としたセラミックス[生体関連セラミックス(インプラントセラミックス)]」と定義される<sup>7), 8), 25)~27)</sup>。

人工歯や人工骨などの生体硬組織代替材料は、無機材料(セラミックス)、金属材料や高分子材料の三種類に大別される。きびしい化学的腐食環境下にある生体内で使用する生体硬組織代替材料には、以下の条件が求められる<sup>28)</sup>。

- ・ 生体との親和性および適合性にすぐれる
- ・ 毒性、免疫反応、催奇性および発がん性など生体へ悪影響を及ぼさない
- ・ 長期間の使用に耐えられる機械的強度をもつ
- ・ 生体との作用によって劣化しない

セラミックスは一般に電気絶縁性であることから、金属材料のように生体内において異種金属同士が電解質溶液中で接触したときに生じる急激な腐食(電蝕)などは起きない。また、高温および化学的耐久性が高く、生体内で周囲組織に溶出することがないため、生体内安定性も高く、金属材料や高分子材料にくらべてすぐれた生体親和性を示す。それと同時に、図 1.2 と表 1.1 に示したように硬く、高い圧縮強度などすぐれた力学的性質をもつ<sup>27), 28)</sup>。したがって、バイオセラミックスは、上記の必要条件を満たす、すぐれた生体硬組織代替材料である。

#### 1.2.1.2 バイオセラミックスの種類<sup>9), 29~35)</sup>

バイオセラミックスは、その表面性質によって生体とさまざまな反応を起こすが、現在では生体反応という観点から、表 1.2 のように分類される。現在臨床応用されている代表的なバイオセラミックスについて以下に概説する。

##### (1) 生体不活性セラミックス

生体内不活性材料とは、すぐれた生体内安定性と機械的強度とをもち、生体組織と材

料とで化学反応や相互作用を起こさないバイオセラミックスである。

### アルミナ ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )

多結晶アルミナと単結晶アルミナとが存在するが、医用材料として用いるアルミナは多結晶体である。アルミナは硬く(モース硬度 9)、高強度であり、耐磨耗性が高く、また耐食性にもすぐれていることから、骨接合用材料や人工関節などの荷重部位におもに用いられる。また、ポリエチレン製臼蓋部との摩擦により生じる磨耗粉の低減が可能であるため、人工股関節の骨頭として臨床応用される。

### ジルコニア ( $\text{ZrO}_2$ )

臨床応用されるジルコニアは、高温焼結時にクラックの原因となる結晶相の相転移による体積変化を防ぐために  $\text{Y}_2\text{O}_3$  を一部固溶させたイットリア部分安定化ジルコニア(Y-PSZ)である。PSZ は、多結晶アルミナの約 3 倍の曲げ強度を示し、破壊じん性も高い。さらに耐衝撃性にもすぐれていることから、臼歯部ブリッジや人工関節の摺動部材として使用される。

### カーボン (C)

カーボン材料は、生体適合性にすぐれ、生体内安定性の高い材料であり、軽く、潤滑性や耐疲労特性にすぐれる。そのなかでも、パイロライトカーボンは、抗血栓性および耐磨耗性にすぐれた高強度材料であり、人工心臓弁の可動部分などに用いる。しかし、C/C 複合で幅広い特性をもつが、疎水性のため応用部位が限定され、材料表面からの炭素粒子や繊維が離脱するという問題点もある。

## (2) 生体内活性材料

生体内活性材料とは、生体内で硬組織と直接結合して材料と骨との間に強固な結合を形成するバイオセラミックスである。これに分類される材料は、一般にその材料組成にカルシウムとリンを含み、硬組織の無機成分と同一である。また、機械的強度は生体内不活性セラミックスのそれとくらべて一般的に低い。

### 水酸アパタイト [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ; HAp]

アパタイトは、その組成や結晶構造が歯や骨の無機成分のそれらと同様であることから、すぐれた生体適合性をもつ。生体埋入後に骨組織と直接接合するため、硬組織置換材料(骨補填材やスパーサー)として注目され、インプラント材料以外でも歯科分野で歯科用セメントや歯磨剤などとして幅広く利用される。一方、もろく割れやすいなど機械的強度が不十分であるため、機械的性質にすぐれた金属材料表面にコーティングして人工関節や人工歯根として臨床応用される。

### バイオガラス (Bioglass®)

バイオマテリアルとして用いられているリン酸カルシウム系ガラスは、ケイ酸系ガラスにカルシウムとリンを大量にくわえたガラスである。リン酸カルシウム系ガラス



は生体内で、まずその表面から  $\text{Na}^+$  や  $\text{Ca}^{2+}$  イオンなどを溶出し、ガラス表面にシリカの多いゲル層を形成する。一方で、自家骨からはコラーゲン繊維が産生され、このコラーゲン繊維が形成したシリカゲル層に定着する。また、骨の無機成分である HAp 結晶はガラス表面に生成し、人工骨と骨組織とが化学的に結合する。しかし、機械的強度は他のバイオセラミックスにくらべ劣るため、水酸アパタイトと同様に金属材料と複合化して使用される。

### (3) 生体吸収性材料

生体吸収性材料とは、生体活性材料の HAp にくらべて溶解性が高く、生体内でしだいに溶解しながら新生骨と置換し、最終的には完全に骨置換することから、すぐれた骨補填材や骨セメントとして応用されている、リン酸三カルシウムに代表されるバイオセラミックスである。リン酸三カルシウムについては次節に詳しく示す。

#### 1.2.2 リン酸三カルシウム <sup>3),9)~18),26)~41)</sup>

リン酸三カルシウム [ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ; TCP] には、低温から  $\beta$ 、 $\alpha$ 、 $\alpha'$  および  $\gamma$  の四つの相が存在する。 $\beta$ -TCP (理論密度  $3.07\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) は、 $1150\pm 30^\circ\text{C}$  で高温型の  $\alpha$ -TCP (理論密度  $2.86\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) に相転移する。 $\alpha'$ -TCP および  $\gamma$ -TCP は、 $1430^\circ\text{C}$  以上および高圧下でそれぞれ生成し、低温域で準安定相を生成することから、 $\alpha'$ -TCP および  $\gamma$ -TCP 単相で合成することは困難である。天然には  $\beta$ -TCP 構造に水素、鉄、マンガンおよびマグネシウムイオンが微量に固溶した whitlockite [ $\text{Ca}_{18}(\text{Mg,Fe})_2\text{H}_2(\text{PO}_4)_{14}$ ] が存在し、植物の栄養源である化学肥料への応用も期待される材料である。

TCP のなかでは、上記したように  $\alpha$ -TCP および  $\beta$ -TCP がともに合成しやすいため、生体吸収性バイオセラミックスとして臨床応用されている。 $\alpha$ -TCP または  $\beta$ -TCP の溶解度は、それぞれ HAp の約 2 倍、約 10 倍であることから、これらバイオセラミックスの生体内における性質は異なる。

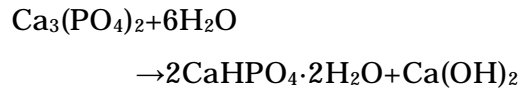
HAp は、生体内で溶解度が低いことや体液中の  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  イオンが HAp を結晶の核として沈着するため、生体埋入後も長期間そのまま残存する。

それに対して  $\beta$ -TCP は、他のリン酸カルシウム系セラミックスとくらべて生体内の溶解および吸収速度が大きく、さらに生体内環境下 ( $37^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH } 7.4$ ) において不安定であることから、しだいに生体内で吸収されながら新生骨が生成し、自家骨へと置換する。

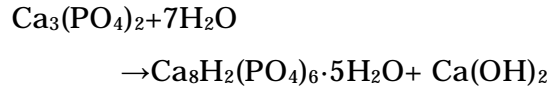
一方の  $\alpha$ -TCP は、その結晶構造が HAp のそれとわけて類似していることから、水和反応で HAp に転化し、そのとき生成した HAp 結晶同士は、からみ合いながら連結するため硬化する。

以下に、 $\alpha$ -TCP の硬化反応を  $\text{pH}$  ごとにそれぞれ示す。

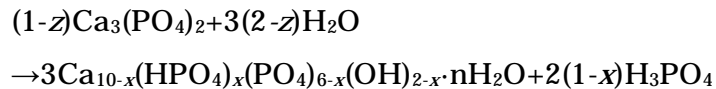
### 酸性



### 中性



### 塩基性



この水和して硬化する性質を利用した  $\alpha$ -TCP と水とを混合した骨セメント(ペースト)が現在臨床応用されている。  $\alpha$ -TCP と水を混合した直後はペースト状のため、複雑な骨欠損部への補填も容易である。しかし、水のみによる硬化では、硬化時間が生体用セメントの使用条件に比べて長いことから、通常は硬化促進のためにクエン酸、ポリアクリル酸などの酸性硬化剤を添加する。しかし、これらの酸性硬化剤を用いた場合には、充填部位周辺に炎症反応が生じることから、酸性硬化剤を使用しない、もしくは酸を積極的に中和させる骨セメントも開発されている。

### 1.2.3 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの結晶構造

Whitlockite および  $\beta$ -TCP の結晶構造については、1974 年にそれぞれ Gopal<sup>16),17)</sup> および Dickence<sup>42),43)</sup> がはじめて報告し、近年では、中性子回折および結晶構造解析ソフトである RIETAN を用いて Yashima らが  $\beta$ -TCP の結晶構造解析を行い、より精度の高い  $\beta$ -TCP の結晶構造(結晶学データ)を報告している<sup>44)</sup>。

$\beta$ -TCP の結晶系は菱面体晶系に属し、その空間群および格子充填は、それぞれ  $R3c$  および  $Z=21$  である。また、六方格子設定で格子定数は  $a = b = 1.04352(2)\text{nm}$  および  $c = 3.74029(5)\text{nm}$  であり、 $\alpha = \beta = 90^\circ$ 、 $\gamma = 120^\circ$  である。

図 1.3 および図 1.4 には、空間群  $R3c$ <sup>45)</sup>、および Yashima らが報告している  $\beta$ -TCP 結晶構造をもとに作成した  $\beta$ -TCP 単位格子の模式図を、それぞれ示した。図 1.4 において、(a)は[001]方向から見た  $\text{PO}_4$  四面体のみを示し、B カラムが A カラムを囲むように配置していることがわかる。(b)は  $c$  軸方向からの A および B カラムをそれぞれ示し、 $\beta$ -TCP 単位格子には、 $c$  軸方向に 2 本の結晶学的に独立した A カラムおよび B カラムが存在する。A カラムは、 $[-\text{P}(1)\text{O}_4-\text{Ca}(4)\text{O}_3-\text{Ca}(5)\text{O}_6-]$  で構成されて三回軸上に存在し、B カラムは  $[-\text{P}(3)\text{O}_4-\text{Ca}(1)\text{O}_7-\text{Ca}(3)\text{O}_8-\text{Ca}(2)\text{O}_8-\text{P}(2)\text{O}_4-]$  で構成され、三つの Ca は一直線とならずに折れ線を形成する。

表 1.3 には、 $\beta$ -TCP 単位格子内中の各カラムに存在する Ca サイトおよび  $\text{PO}_4$  サイトの席占有率、原子位置、酸素配位数、結晶学データから算出した bond valence sum (BVS)、

および各サイトの単位格子中における数と割合とを示した。A カラムに存在する Ca(4) サイトは、酸素の配位数が 3、席占有率は 0.43(4)の結晶学的に特異的な Ca サイトである。また、Ca(4)サイトと酸素[Ca(4)-O]の距離も大きいことから、他の Ca サイトにおける Ca-O の結合にくらべてその結合は弱いと推測され、これより BVS(0.7)および等方熱パラメーターも低い。一方、Ca(5)-O の距離は、Dickence<sup>42),43)</sup>らによって報告されている値より小さく、BVS も 2.7 と他の Ca サイトにくらべて高い。

### 1.3 金属イオン固溶リン酸三カルシウムに関する既往の研究とその課題

生命活動に必要となる元素、すなわち生体必須元素および微量必須元素には、さまざまな金属が含まれている。それら金属イオンは、触媒作用のあるものが多く、生体内ではそれらの金属をタンパク質や酵素分子などに取り込んで、生体反応に利用している<sup>45)</sup>。一方、 $\beta$ -TCP と類似した結晶構造をもつ whitlockite 結晶構造中には、上記したように水素、鉄、マンガンおよびマグネシウムが微量に固溶している<sup>16),17)</sup>。これらの観点から、これまでに数多くの研究者が、生体反応に關与する金属イオンをはじめ、さまざまな金属イオンを固溶した  $\beta$ -TCP を作製し、その特性を評価している。表 1.4 には、これまでに報告された金属イオン固溶  $\beta$ -TCP における金属イオンおよびそのイオン半径と報告されている固溶限界とをそれぞれ示した<sup>45)</sup>。本節では、金属イオン固溶  $\beta$ -TCP に関する既往の研究を、合成方法、結晶構造(固溶形態)、熱安定性、機械的性質、および溶解性(生体吸収性)とわけて、以下に概説する。

#### 1.3.1 合成方法

金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の合成方法は、固相法と液相法とに大別できる。固相合成としては、 $\text{CaHPO}_4$  または  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  と  $\text{CaCO}_3$  とに金属イオン源となる酸化物( $\text{MgO}$  など)や炭酸塩( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  など)を混合し、これらを  $900^\circ\text{C}$  以上で焼成している<sup>45),46)</sup>。また、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  と金属リン酸塩[ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$  など]とを混合、焼成した報告もある<sup>45),46)</sup>。

液相合成では、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$  または  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  と  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  や  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  に、金属イオン源となる硝酸塩[ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  など]や水酸化物塩[ $\text{Mg}(\text{OH})_2$  など]を液相中で反応させ、その合成粉末をさらに加熱して金属イオン固溶  $\beta$ -TCP を合成している<sup>45),46)</sup>。また、 $\text{Mg}^{2+}$  イオンまたは  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP は、とくに酸性領域において、 $60\sim 90^\circ\text{C}$ 、 $\text{Mg}/\text{Ca}$  モル比 $>0.20$  または  $\text{Zn}/\text{Ca}$  モル比 $>0.20$  の条件下で、加水分解生成物(加水分解法)や沈殿物(均一沈殿法)として低温合成が可能であるが、これら低温合成した粉末は、厳密には  $\beta$ -TCP でなく whitlockite である<sup>45),46)</sup>。また、Lee らは、 $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  を 30 分間熱水処理し、ナノサイズ( $<100\text{nm}$ )の  $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP を合成している<sup>47)</sup>。また、 $\text{Ca}(\text{OEt})$ 、 $\text{H}_3\text{PO}_4$  および  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Zn}$  を原料として、ゾルゲル法を用いた  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の合成も行われている<sup>45),46)</sup>。

その他の合成方法としては、Loher らは、上記のバッチ処理ではなく、2-メチルヘキサン酸カルシウム-トリブチリン酸-ナフテン酸亜鉛を  $\text{CH}_4/\text{O}_2$  炎中における噴霧熱分解法で  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP を合成している<sup>48)</sup>。

しかし、これらの合成方法には、厳密な実験条件の制御や長時間の熟成が必要となる場合が多く、また、粒子径や粒子形態を制御した報告は少ない。したがって、粒子径や粒子形態などの制御が可能で、簡便な金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の合成方法が求められている。

### 1.3.2 結晶構造

金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 構造中における金属イオンの固溶する Ca サイト(すなわち金属イオンの固溶形態)は、図 1.5 のように、これまでに Yoshida らが、その格子定数変化より明らかにしている<sup>49)</sup>。

すなわち、一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  イオン)の場合は、 $\text{Ca}(4)$  サイトおよび空孔に  $2\text{M} = \text{Ca}^{2+}$  イオン + ( : 空孔) の形で固溶し、その固溶限界は 9.09mol% である。二価金属イオン( $\text{Mg}^{2+}$  イオン)の場合は、まず二価金属イオン添加量 9.09mol% まで  $\text{Ca}(5)$  サイトに固溶し、その後 13.64mol%(固溶限界)まで  $\text{Ca}(4)$  サイトに  $\text{M} = \text{Ca}^{2+}$  イオンの形で固溶する。また、三価金属イオン( $\text{Al}^{3+}$  イオン)の場合は、 $\text{Ca}(5)$  サイトに  $3\text{M} = 2\text{Ca}^{2+} +$  の形で 9.09mol% まで固溶すると報告している。

一方、Bigi らは、 $\text{Ca}^{2+}$  イオンよりもイオン半径の大きい  $\text{Sr}^{2+}$  イオンが  $\beta$ -TCP に固溶した場合、その固溶限界は 13.64mol% ではなく、約 80mol% であることを明らかにしている<sup>50)</sup>。したがって、イオン半径が大きい二価金属イオンは、イオン半径の小さい  $\text{Mg}^{2+}$  や  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの固溶する  $\text{Ca}(5)$  および  $\text{Ca}(4)$  サイトではなく、 $\text{Ca}(1)$ ,  $\text{Ca}(2)$  および  $\text{Ca}(3)$  サイトに固溶すると考えられる。

金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の結晶構造については、Lazoryak らの研究グループがこれまでに数多く報告している。これまでに報告されている結晶構造には、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP [ $\text{Ca}_{10}\text{M}(\text{PO}_4)_7$ :  $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ ]<sup>51)</sup>、二価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP [ $\text{Ca}_9\text{M}(\text{PO}_4)_7$ :  $\text{M}=\text{Fe}, \text{Cu}, \text{Mn}, \text{Co}$ ]<sup>52)~57)</sup>、三価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP [ $\text{Ca}_9\text{M}(\text{PO}_4)_7$ :  $\text{M}=\text{Fe}, \text{Eu}, \text{Y}, \text{Bi}, \text{In}$ ]<sup>58)~61)</sup> などがある。さらに、一価および二価金属イオン同時固溶  $\beta$ -TCP [ $\text{Ca}_9\text{M}_2(\text{PO}_4)_7$ :  $\text{M}_1=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}, \text{M}_2=\text{Mg}, \text{Mn}, \text{Co}$ ] の結晶構造も Lazoryak らによって報告されている<sup>62)~66)</sup>。また、Mayer らは、単結晶 X 線回折および電子常磁性共鳴(ERP)測定を用いて  $\text{Mn}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の結晶構造解析を行い、上記と同様の結晶構造データを報告している<sup>67)</sup>。一方、Wei らは、中性子回折を用いて  $\text{Zn}^{2+}$  イオンおよび  $\text{SiO}_4^{4-}$  イオン同時固溶  $\beta$ -TCP の結晶構造解析を行っている<sup>68)</sup>。

### 1.3.3 熱安定性

上記したように TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度は  $1150 \pm 30^\circ\text{C}$  である。金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の

熱安定性については、二価金属イオン、とくに  $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の報告が多く、Ando は、 $\text{MgO}$  を 4.0at.% 焼結助剤として  $\beta$ -TCP に添加した場合、 $1485^\circ\text{C}$  まで  $\beta$ -TCP が安定に存在すると報告している<sup>69),70)</sup>。また、Marchi らも、4.5mol% $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\beta$  相は、 $1300^\circ\text{C}$  まで安定であるとしている<sup>71)</sup>。Ryu らは、 $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP/HAp 複合材料における TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度は  $1300^\circ\text{C}$  であることを明らかにしている<sup>72)</sup>。さらに、Carrodegua らは、これらの  $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性の結果と Palatnik-Landau's contact 則から、図 1.6 の  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  二成分系状態図を示している<sup>73)</sup>。

一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性の向上としては、Lin らは、Ca 欠損型 HAp に  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  を添加して合成した  $\text{Na}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\alpha$  相転移温度が、 $1180^\circ\text{C}$  から  $1300^\circ\text{C}$  まで向上すると報告している<sup>74)</sup>。また、Kannan らは、 $\text{K}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP/HAp 複合材料における  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度は  $1200^\circ\text{C}$  としている<sup>75)</sup>。

一方、三価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP としては、 $\text{AlPO}_4$  を添加して合成した  $\text{Al}^{3+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP においても  $\beta$  相が熱安定化することを門間らは報告している<sup>76)</sup>。

また、 $\text{SiO}_2$  および  $\alpha$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  の添加は、 $\beta$  相の熱安定化に効果がなく、 $\text{Sr}(\text{OH})_2$  および  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  を添加した場合には、 $\beta$ - $\alpha$  相転移温度の低下も鳥山らによって報告されている<sup>77)</sup>。

しかし、これらの金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性については、 $\beta$ -TCP と一種類の金属イオンが固溶した  $\beta$ -TCP の比較であり、その金属イオン添加量も統一されていないことから、熱安定性における金属イオンの種類および添加量の依存性、およびそのメカニズム解明には至っていない。

### 1.3.4 機械的性質

金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の機械的強度に関して鳥山らは、 $\text{MgO}$  の添加は少量の添加で焼結体の曲げ強度を増加させるが、さらなる  $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶はその機械的強度に効果がないとしている<sup>78)</sup>。この結果については Itatani らも、 $\text{MgO}$  添加量 4mol% までは焼結体の  $\text{Mg}^{2+}$  イオンの固溶にともない物質移動が促進することから、相対密度が増加し、それ以上の添加では空気中の水分により HAp が生成し、その体積変化にともない物質移動が遅くなるため、相対密度は低下することを報告している。さらに、鳥山らは、 $\beta$ -TCP に  $\text{Al}_2\text{O}_3$  および  $\text{SiO}_2$  の同時添加した焼結体の場合には、 $\text{Al}_2\text{O}_3$  を 2mass% および  $\text{SiO}_2$  を 6mass% 添加した成形体を  $1280^\circ\text{C}$  焼成すると、高強度  $\beta$ -TCP 焼結体(曲げ強度が 271MPa)がえられることを報告している<sup>79)</sup>。

それ以外の金属イオン添加について Itatani らは、一価金属酸化物( $\text{Li}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ )、二価金属酸化物( $\text{CaO}$ ,  $\text{SrO}$ ,  $\text{BaO}$ )、または三価金属酸化物( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )のそれぞれの添加は、 $\beta$ -TCP 焼結体の相対密度を低下させるが、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$  添加の場合は、相対密度が増加することを報告している。さらに、四価の金属酸化物( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{ZrO}_2$ )添加で相対密度がわずかに低下

し、TiO<sub>2</sub> 添加は、添加量に関わらず相対密度に影響のないことを明らかにしている<sup>79)</sup>。また、Bandyopadhyay らは、ZnO を添加して 1250°C 焼成した場合、ZnO 添加量 2.5mass% まで焼結体はち密化し、その微小硬度も増加するが、それ以上の焼成温度および ZnO 添加量の場合は、それぞれ減少することを報告している<sup>80)</sup>。門間らは、AlPO<sub>4</sub> を  $\beta$ -TCP に添加した場合、その焼結体の機械的強度に影響のないことを報告している<sup>76)</sup>。さらに、Min らは、DyPO<sub>4</sub> を添加した  $\beta$ -TCP 焼結体の相対密度は、1300°C で 97%、1350~1400°C で 98%以上あり、その焼結体はマシナブル性をもつことを明らかにしている<sup>81),82)</sup>。

これらの金属塩(イオン)添加  $\beta$ -TCP 焼結体に関する報告では、すべて  $\beta$ -TCP に対して金属イオンは外配合であったが、Yoshida らは、金属イオンを内配合した  $\beta$ -TCP 焼結体の機械的性質を評価している。ホットプレス法により作製した一価金属イオン(Li<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>イオン)または二価金属イオン(Mg<sup>2+</sup>イオン)固溶  $\beta$ -TCP 焼結体については、Mg<sup>2+</sup>イオン添加量 7.6mol%のときに最大曲げ強度 160MPa を示し、さらに Mg<sup>2+</sup>イオン添加量 9.6mol% 以下および少量の一価金属イオン固溶でも機械的性質の向上することを明らかにしている<sup>83)</sup>。また、常圧焼結法の場合、Na<sup>+</sup>イオンおよび Mg<sup>2+</sup>イオンを  $\beta$ -TCP に同時固溶させた焼結体の場合は、Na<sup>+</sup>イオンおよび Mg<sup>2+</sup>イオンをともに 9.09mol%添加したとき最大曲げ強度を示すことも報告している<sup>84)</sup>。

しかし、これら金属イオン、とくに一価金属イオンを単独で内配合して常圧焼結法により作製した焼結体の機械的性質については、焼成温度の影響も含めて、これまでに検討されていない。

### 1.3.4 溶解性(生体吸収性)

金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性については、二価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP に関する報告が多い。Ito らは、Zn<sup>2+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP の pH5.0~7.0 における溶解性が Zn<sup>2+</sup>イオン添加で抑制し、細胞毒性を示さない Zn<sup>2+</sup>イオン添加量(<0.63mass%)の場合は、 $\beta$ -TCP のそれにくらべて 52~92%抑制し、さらにその溶解度積( $K_{sp}$ )は、以下の式であらわせるとしている<sup>85),86)</sup>。

$$pK_{sp} = 28.686 + 1.7414C - 0.42239C^2 + 0.063911C^3 - 0.0051037C^4 + 0.0001595C^5$$

さらに、Ito らは、25°C、pH5.50 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を用いて Mg<sup>2+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP の生体吸収性(溶解性)も評価している。その結果、Mg<sup>2+</sup>イオン添加量 10.1mol%まで、その添加量の増加にともない溶解性は抑制すると報告している。また、Mg<sup>2+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性が、以下に示した溶解度積であらわせ、Zn<sup>2+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP とくらべて Mg<sup>2+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれは高いことを明らかにしている<sup>87)</sup>。

$$pK_{sp} = 28.87432 + 1.40348C - 0.3163C^2 + 0.04218C^3 - 0.00275C^4 + 0.0000681659C^5$$

Wei らは、 $Zn^{2+}$  イオンと  $SiO_4^{4-}$  イオンとの同時固溶  $\beta$ -TCP の擬似体液(SBF)中における溶解性を報告しており、 $Zn^{2+}$  イオンおよび  $SiO_4^{4-}$  イオン添加量の増加で、その溶解性を抑制し、また  $Zn^{2+}$  イオン添加では HAp 生成についても抑制するとしている<sup>88)</sup>。また、鳥山らは、 $Ba^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の溶解度が HAp の約 1.7 倍であると報告している<sup>77)</sup>。

## 1.4 本研究の概要

本論文の構成は以下のとおりであり、図 1.7 にその流れを示した。

第 1 章「緒言」では、 $\beta$ -TCP をはじめとする生体材料について概説および従来の研究を概観し、本研究の背景や目的を記した。

第 2 章「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの熱安定性」では、一価金属イオン( $Li^+$ 、 $Na^+$ および  $K^+$ イオン)の固溶した  $\beta$ -TCP( $Li$ -TCP、 $Na$ -TCP および  $K$ -TCP)について、一価金属イオン固溶が  $\beta$  相の熱安定性に及ぼす影響を明らかにする。さらに、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP と  $Mg^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP( $Mg$ -TCP)との熱安定性を比較し、金属イオンの固溶する Ca サイトの違いがそれに及ぼす影響、および金属イオン固溶による  $\beta$  相の熱安定性向上のメカニズムを結晶学的観点から明らかにする。

第 3 章「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質」では、 $Li$ -TCP、 $Na$ -TCP および  $K$ -TCP 焼結体の機械的性質を評価し、 $\beta$ -TCP への一価金属( $Li^+$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$ )イオンの固溶が機械的性質に及ぼす影響について検討する。

第 4 章「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの溶解機構」では、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP( $Li$ -TCP、 $Na$ -TCP および  $K$ -TCP)の溶解性や溶解挙動を、37°C の生理食塩水を用いて評価し、一価金属イオン固溶が溶解機構に及ぼす影響を検討する。

第 5 章「バナジン酸イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質」では、バナジン酸イオン( $VO_4^{3-}$ イオン)を、その添加量および配合組成を変化させて  $\beta$ -TCP に添加した焼結体の機械的性質を評価し、その固溶形態や、機械的性質に及ぼす仮焼粉末の配合組成や  $VO_4^{3-}$  イオン添加の影響などを考察する。

第 6 章「一価および二価金属イオン同時固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム抗菌剤の創製」では、 $\beta$ -TCP の骨補填材以外での使用の検討、ならびに生体内外で使用可能な抗菌材料の開発をめざした。一価金属イオンには  $Ag^+$  イオン、二価金属イオンには  $Cu^{2+}$  イオンまたは  $Zn^{2+}$  イオンを同時固溶した  $\beta$ -TCP を作製後、それら金属イオンの固溶形態、およびその抗菌性や細胞毒性を評価し、新たな抗菌剤としての有用性を検討する。

第 7 章「錯体重合法による金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム粉末の合成」では、カルシウム源に  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  を、リン源にホスホノブタントリカルボン酸 (2-phosphonobutane-1,2,4-tricarboxylic acid; PBTA)を、それぞれ用いた錯体重合法で

$\beta$ -TCP を作製し，調製した前駆体の形成機構や加熱挙動，および合成粒子の粒子形態や粒子径などを評価する．さらに，上記出発原料と，硝酸ナトリウム( $\text{NaNO}_3$ )または硝酸マグネシウム六水和物 $[\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ を用いて，金属イオン添加前駆体，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP を合成し，金属イオン添加が前駆体や合成粒子の物性に及ぼす影響を検討する．

第 8 章「総括」では，本研究のまとめおよび将来の展望について記す．



## 文 献

- 1) 国立社会保障・人口問題研究所，“日本の将来推計人口(平成 19 年 1 月推計)”。
- 2) 赤池敏宏，“生体機能材料学”，コロナ社 (2005) p. 1.
- 3) 日本セラミックス協会，“環境調和型新材料シリーズ生体材料”，日刊工業新聞社 (2009) p. 24, 29, 273.
- 4) 三宅淳，松井高広，“再生医療ビジネス最前線”，日刊工業新聞社 (2004) 1, p. 77.
- 5) 中野貴由，田畑泰彦，馬越佑吉，金属，**77**，173 (2007)。
- 6) 小久保正，松下富春，川井貴裕，工業材料，**55**，56 (2007)。
- 7) 日本機械学会編，“生体材料学”，オーム社 (1993) p. 6。
- 8) 青木秀希，丹羽滋郎，“バイオセラミックスの開発と臨床”，クインテッセンス出版 (1987) p. 86。
- 9) 井奥洪二，*J. Inorg. Mater. Japan*，**3**，412 (1996)。
- 10) 小久保正，セラミックス，**30**，223 (1995)。
- 11) 赤尾勝，セラミックス，**20**，1096 (1985)。
- 12) L. L. Hench, *J. Am. Ceram. Soc.*, **81**, 1705 (1998).
- 13) R. Z. LeGeros, “Calcium phosphate in Oral Biology and Medicine”, Karger, Basel (1991).
- 14) L. L. Hench, J. Wilson, “An Introduction to Bioceramics. Adv. Series in Ceramics. Vol. 1”, World Scientific, USA (1998).
- 15) S. Kotani, Y. Fujita, T. Kitsugi, T. Nakamura, T. Yamamuro, C. Ohtsuki, T. Kokubo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **25**, 1303 (1991).
- 16) R. Gopal, C. Calvo, J. Ito, W. K. Brown, *Can. J. Chem.*, **52**, 1155 (1974).
- 17) C. Calvo, R. Gopal, *Am. Mineral.*, **60**, 120 (1975).
- 18) 金澤孝文，セラミックス，**10**，461 (1975)。
- 19) J. Okazaki, G. Embery, R. C. Hall, D. T. Hughes Wassell, R. J. Waddington, A. Kamada, *Biomaterials*, **20**, 309 (1999).
- 20) T. Okuda, K. Ioku, I. Yonezawa, H. Minagi, G. Kawachi, Y. Gonda, H. Murayama, Y. Shibata, S. Minami, S. Kamihira, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Biomaterials*, **28**, 2612 (2007).
- 21) K. Ioku, M. Kamitakahara, N. Watanabe, O. Kawaguchi, S. Murakami, T. Ikeda, *Key Eng. Mater.*, **396-398**, 645 (2008).
- 22) T. Okuda, K. Ioku, I. Yonezawa, H. Minagi, Y. Gonda, G. Kawachi, M. Kamitakahara, Y. Shibata, H. Murayama, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Biomaterials*, **29**, 2719 (2008).

- 23) Y. Gonda, K. Ioku, Y. Shibata, T. Okuda, G. Kawachi, M. Kamitakahara, H. Murayama, K. Hideshima, S. Kamihira, I. Yonezawa, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Biomaterials*, **30**, 4390 (2009).
- 24) 相澤守, 明治大学リバティーアカデミー “これからの医療と健康を考える - 医学と工学の連携 - ” 第一回講義テキスト (2008) .
- 25) 日本セラミック協会編, “これだけは知っておきたいセラミックスのすべて”, 日刊工業新聞社 (1996) p. 4 .
- 26) 筏義人, “生体適合材料<その機能と応用>”, 日本規格協会 (1993) p. 62 .
- 27) 中村美穂, “セラミックス大学2008 テキストB”, 日本セラミックス協会編 (2008) p. 87 .
- 28) 日本セラミックス協会編, “はじめて学ぶセラミック化学” (2003) p. 124 .
- 29) 堤定美, 材料, **38**, 458 (1989) .
- 30) 人工結晶工学会編, “人工結晶と先端デバイス技術”, 三共出版 (1988) p. 10 .
- 31) 筏義人, “バイオマテリアル入門”, 学会出版センター (2002) p. 155.
- 32) 宮入裕夫, “生体材料の構造と機能”, 養賢堂 (2001) p. 49.
- 33) 筏義人, “生体材料学”, 産業図書株式会社 (1994) p. 72.
- 34) 日本エム・イー学会, “バイオマテリアル”, コロナ社 (1999) p. 54.
- 35) 堀内孝, “医用材料工学”, コロナ社 (2006) p. 12.
- 36) 山下仁大, 片山恵一, 大倉利典, 橋本和明, “工学のための無機化学”, サイエンス社 (2000) p. 142.
- 37) S.M. Best, A.E. Porter, E.S. Thian, J. Huang, *J. Eur. Ceram. Soc.*, **28**, 1319 (2008).
- 38) J. E. Lemons, *Bone*, **19**, 121 (1996).
- 39) A. J. Salinas, M. V. Regi, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **633**, 1762 (2007).
- 40) K. de Groot, *J. Ceram. Soc. Japan*, **99**, 943 (1991).
- 41) J. Marchi, A. C. S. Dantas, P. Greil, J. C. Bressiani, A. H. A. Bressiani, F. A. Muller, *Mater. Res. Bull.*, **42**, 1040 (2007).
- 42) B. Dickens, L. W. Schroeder, W. E. Brown, *J. Solid State Chem*, **10**, 232 (1974).
- 43) L. W. Schroeder, B. Dickens, W. E. Brown, *J. Solid State Chem.*, **22** 253 (1977).
- 44) M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa, *J. Solid State Chem.*, **175**, 272 (2003).
- 45) 伊藤敦夫, *J. Japanese Soc. Biomaterials*, **27**, 84 (2009).
- 46) A. Ito, R. Z. LeGeros, “Magnesium- and Zinc-substituted beta-tricalcium phosphate as potential bone substitute biomaterials. Progress in bioceramics”,

Trans Tech Publication, Stafa-Zurich, Switzerland, (1991).

- 47) D. Lee, C. Sfeir, P. N. Kumta, *Mater. Sci. Eng. C*, **29**, 69 (2009).
- 48) S. Loher, W. J. Stark, M. Maciejewski, A. Baiker, S. E. Pratsinis, *Chem. Mater.*, **1**, 134 (2005).
- 49) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).
- 50) A. Bigi, E. Foresti, M. Gandolfi, M. Gazzano, M. Roveri, *J. Inorg. Biochem.*, **66**, 259 (1997).
- 51) V. A. Morozov, A. A. Belik, V. N. Kotov, L. A. Presnyakov, S. S. Khasanov, B. I. Lazoryak, *Crystallogr. Rep.*, **45**, 13 (2000).
- 52) B. I. Lazoryak, V. A. Morozov, A. A. Belik, S. S. Khasanov, S. Shekhtman, *J. Solid State Chem.*, **122**, 15 (1996).
- 53) N. Khan, V. A. Morozov, S. S. Khasanov, B. I. Lazoryak, *Mater. Res. Bull.*, **32**, 1211 (1997).
- 54) A. A. Belik, V. A. Morozov, S. S. Khasanov, B. I. Lazoryak, *Mater. Res. Bull.*, **33**, 987 (1998).
- 55) B. I. Lazoryak, A. A. Belik, V. A. Morozov, *Solid State Sci.*, **6**, 185 (2004).
- 56) B. I. Lazoryak, N. Khan, V. A. Morozov, A. A. Belik, S. S. Khasanov, *J. Solid State Chem.*, **145**, 345 (1999).
- 57) A. A. Belik, O. V. Yanov, B. I. Lazoryak, *Mater. Res. Bull.*, **36**, 1863 (1998).
- 58) B. I. Lazoryak, V. N. Kotov, R. Salmon, *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.*, **26**, 455 (1989).
- 59) B. I. Lazoryak, S. Y. Oralkov, V. N. Golubev and A. N. Zhdanova, *Zh. Neorg. Khim.*, **34**, 1710 (1989).
- 60) V. A. Morozov, A. A. Belik, B. I. Lazoryak, *J. Solid State Chem.*, **165**, 278 (2002).
- 61) V. N. Golubev, B. I. Lazoryak, *Neorg. Mater.*, **27**, 576 (1991).
- 62) B. I. Lazoryak, S. V. Khoina, V. N. Golubev, *Zh. Neorg. Khim.*, **36**, 702 (1991).
- 63) A. A. Belik, V. A. Morozov, S. S. Khasanov, B. I. Lazoryak, *Mater. Res. Bull.*, **34**, 883 (1999).
- 64) A. Y. Romanenko, V. A. Morozov, O. V. Yanov, B. I. Lazoryak, *Inorg. Mater.*, **35**, 864 (1999).
- 65) V. A. Morozov, I. A. Presnyakov, A. A. Belik, B. I. Lazoryak, *Kristallografiya*, **42**, 825 (1991).
- 66) A. A. Belik, V. B. Gutan, L. N. Ivanov, B. I. Lazoryak, *Zh. Neorg. Khim.*, **46**,

885 (2001).

- 67) I. Mayer, S. Cohen, S. Gdalya, O. Burghaus, D. Reinen, *Mater. Res. Bull.*, **43**, 447 (2008).
- 68) X. Wei, M. Akinc, *J. Am. Ceram. Soc.*, **90**, 2709 (2007).
- 69) J. Ando, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **31**, 196 (1958).
- 70) J. Ando, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **31**, 201 (1958).
- 71) J. Marchi, A.C.S. Dantas, P. Greil, J.C. Bressiani, A.H.A. Bressiani, F.A. Muller, *Mater. Res. Bull.*, **42**, 1040 (2007).
- 72) H. S. Ryu, K. S. Hong, J. K. Lee, D. J. Kim, J. H. Lee, B. S. Chang, D. H. Lee, C. K. Lee, S.S Chung, *Biomaterials*, **25**, 393 (2004).
- 73) R. G. Carrodegua, A. H. D. Aza, X. Turrillas, J.P. Penay, S. D. Aza, *J. Am. Ceram. Soc.*, **91**, 1281 (2008).
- 74) F. Lin, C. Liao, K. Chen, J. Sun, *Biomaterials*, **19**, 1101 (1998).
- 75) S. Kannan, J.M. Ventura, J.M.F. Ferreira, *Ceram. Int.*, **33**, 1489 (2007).
- 76) 門間英毅 , 金澤孝文 , 窯業協会誌 , **86** , 378 (1978) .
- 77) 鳥山素弘 , 川村資三 , 伊藤ゆかり , 長江肇 , 遠山郁男 , 窯業協会誌 , **96** , 837 (1988).
- 78) 鳥山素弘 , 川村資三 , 長江肇 , 石田浩一 , 窯業協会誌 , **95** , 68 (1987).
- 79) K. Itatani, M. Takahashi, F. S. Howell, M. Aizawa, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **13**, 707 (2002).
- 80) A. Bandyopadhyay, E.A. Withey, J. Moore, S. Bose, *Mater. Sci. Eng. C*, **27**, 14 (2007).
- 81) W. Min, K. Daimon, Y. Doi, T. Suzuki, Y. Hikichi, M. Miyamoto, *J. Alloys Compounds*, **311**, 79 (2000).
- 82) 引地康夫 , 安田一浩 , 宮沢賢一 , 半田一彰 , 大田敏孝 , 材料 , **44** , 899 (1995).
- 83) K. Yoshida, N. Kondo, H. Kita, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **88**, 2315 (2005).
- 84) K. Yoshida, Y. Fukuhara, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Inorg. Mater. Japan*, **16**, 165 (2009).
- 85) A. Ito, K. Senda, Y. Sogo, A. Oyane, A. Yamazaki, R. Z. LeGeros, *Biomed. Mater.*, **1**, 134 (2006).
- 86) A. Ito, H. Kawamura, S. Miyakawa, P. Layrolle, N. Kanzaki, G. Treboux, K. Onuma, S. Tsutsumi, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **60**, 224 (2002).
- 87) X. Li, A. Ito, Y. Sogo, X. Wang, R. Z. LeGeros, *Acta Biomaterialia*, **5**, 508 (2009).
- 88) X. Wei, O. Ugurlu, A. Ankit, H. Y. Acar, M. Akinc, *Mater. Sci. Eng. C*, **29**, 126

(2009).

- 89) R. A. Terpstra, F. C. M. Driessens, H. G. Schaeken, R. M. H. Verbeeck, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **507**, 206 (1983).
- 90) S. L. Rowles, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1797 (1968).
- 91) S. S. Romdhane, G. Bonel, G. Bacquet, *Mater. Res. Bull.* **18**, 559 (1983).
- 92) E. R. Kreidler, F. A. Hummel, *Inorg. Chem.*, **6**, 524 (1967).
- 93) L. Obadia, P. Deniard, B. Alonso, T. Rouillon, S. Jobic, J. Guicheux, M. Julien, D. Massiot, B. Bujoli, J. M. Bouler, *Chem. Mater.*, **18**, 1425 (2006).
- 94) H. Bauer, J. Blanc, D. L. Ross, *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 5125 (1964).

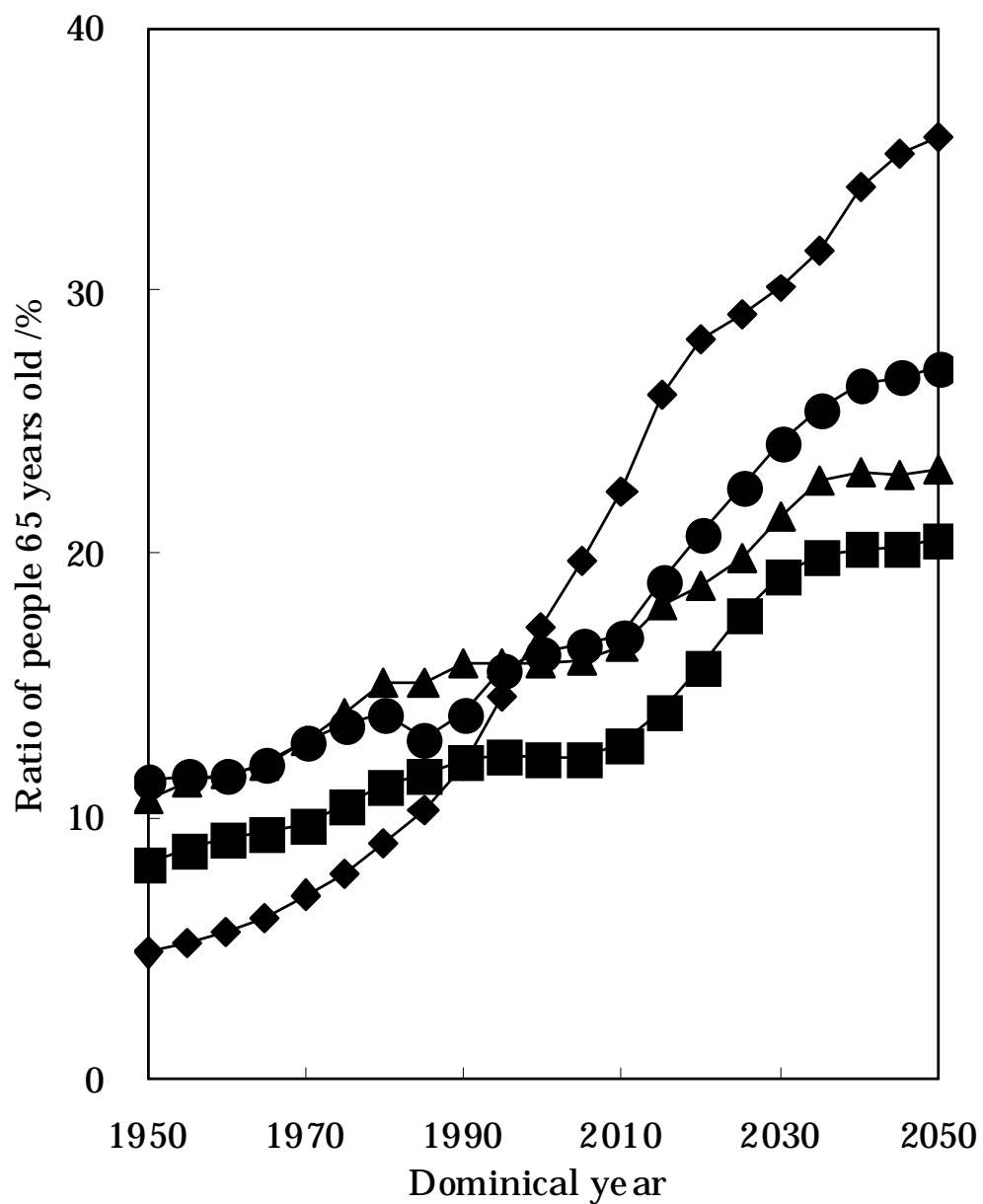


Fig. 1.1 Population ratios of the people over 65 years old against the entire population in different countries <sup>1)</sup>. Rhombus: Japan, square: America, triangle: England, circle: France.

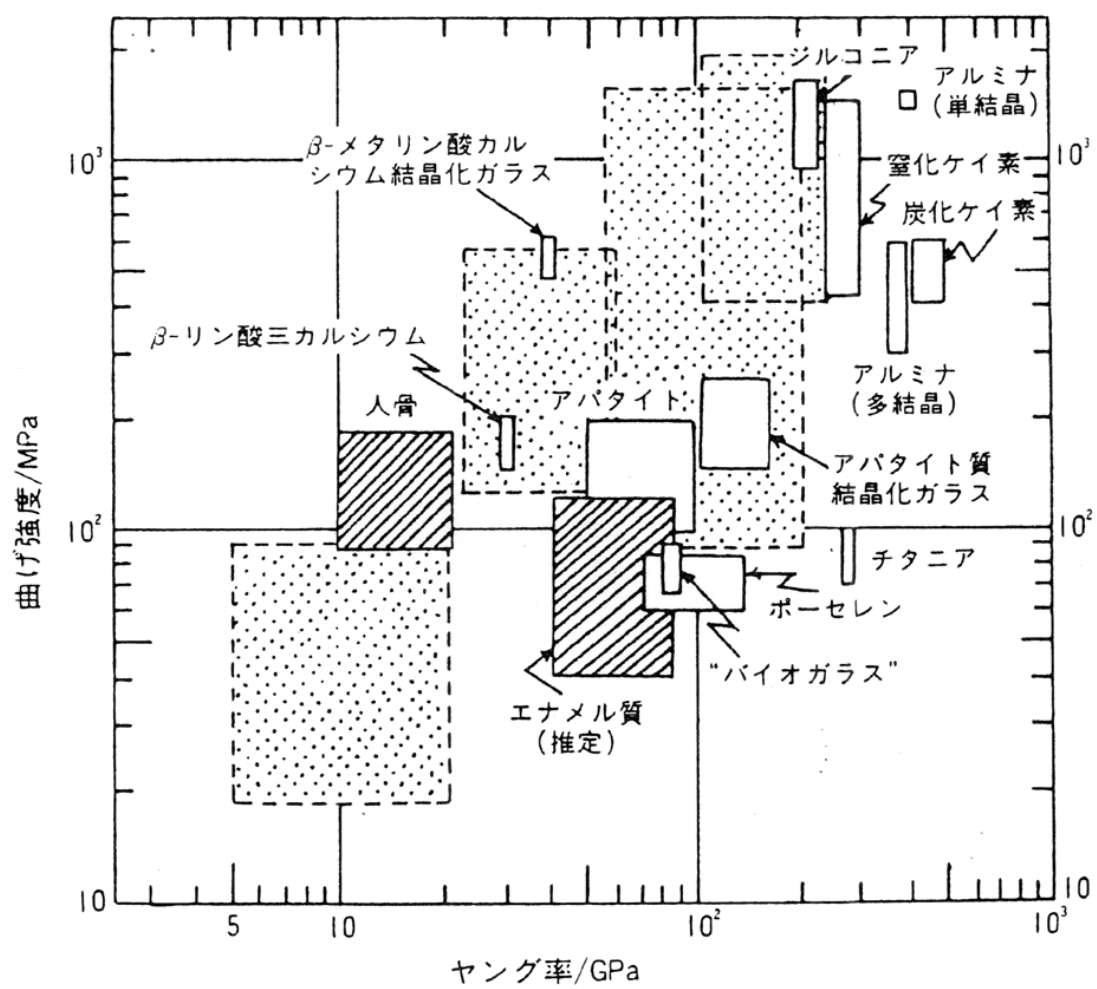


Fig. 1.2 Mechanical properties of several bioceramics <sup>18)</sup>.

Table 1.1 Mechanical properties of biomaterials, bone, and tooth <sup>28)</sup>.

	Bending strength /MPa	Compressive strength /MPa	Young's modulus /GPa	Fracture toughness /MPa·m <sup>1/2</sup>
Alumina				
Polycrystal	210~380	1000	371	3.1~5.5
Single crystal	210~1300	3000	385	-2.3
Hydroxyapatite	113~196	510~920	35~120	0.7~1.2
Tricalcium phosphate	140~160	470~700	34~84	1.1~1.3
Pyrolytic carbon	520		28	
Carbon fiber	2550		240	
Magnesium oxide	98~140	780	215	
Titanium oxide	56	650		
Quartz glass	69~108	2000	68	
Bioglass	85		79	0.54
Crystallized glass	180~210	900	120	2.0~2.6
Zirconia	900~1400	210	140~200	3.0~10.0
Bone	compact bone	160~180	90~165	16
	sponging bone	0.4	1.9~7.0	0.18~0.33
Tooth	dentine	300	19	
	enamel	390	84	



Table 1.2 Classification of bioceramics <sup>31</sup>).

Biologic process	Material	
Bioninert	Oxide	Alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )
		Zirconia ( $\text{ZrO}_2$ )
		Partially-stabilized zirconia
		Calcium alminate ( $\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$ )
		Aluminosilicate ( $\text{Na}_2\text{O-Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$ )
	Nonoxide	Carbon (vitrourous , pyrolytic , graphite)
		Silicon nitride ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ )
		Silicon carbide ( $\text{SiC}$ )
Bioactive	Bioglass	Bioglass ( $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ )
		Cerabtable ( $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-K}_2\text{O-MgO}$ )
		CPSA glass fiber ( $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ )
	Crystallized glass	Mica crystallized glass ( $\text{SiO}_2\text{-B}_2\text{O}_3\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-MgO-K}_2\text{O-F}$ )
		A-W crystallized glass ( $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ )
		$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ crystallized glass ( $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ )
	Calcium phosphate	Hydroxyapatite [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ]
Biodegradable	Tricalcium phosphate	Tricalcium phosphate [ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ]
		Tetracalcium phosphate [ $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ ]
	Calcium alminate	Soluble calcium alminate ( $\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$ )

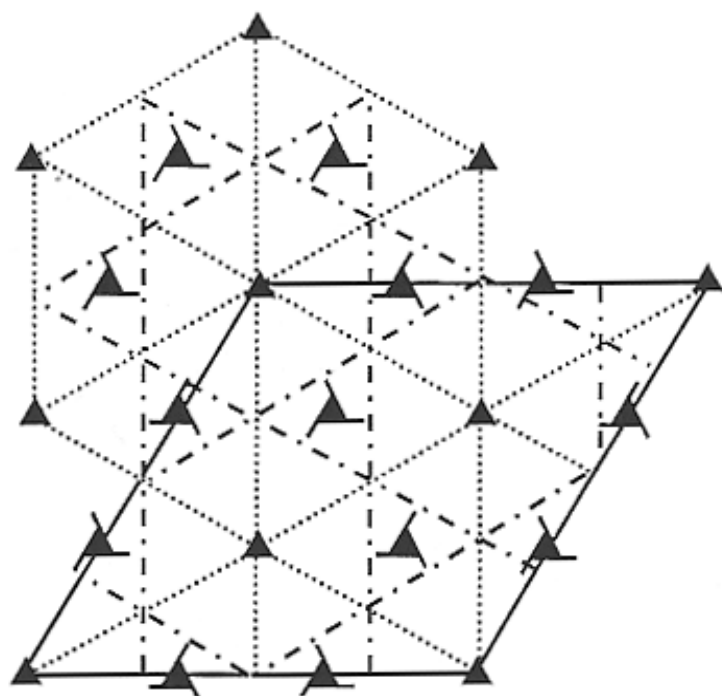
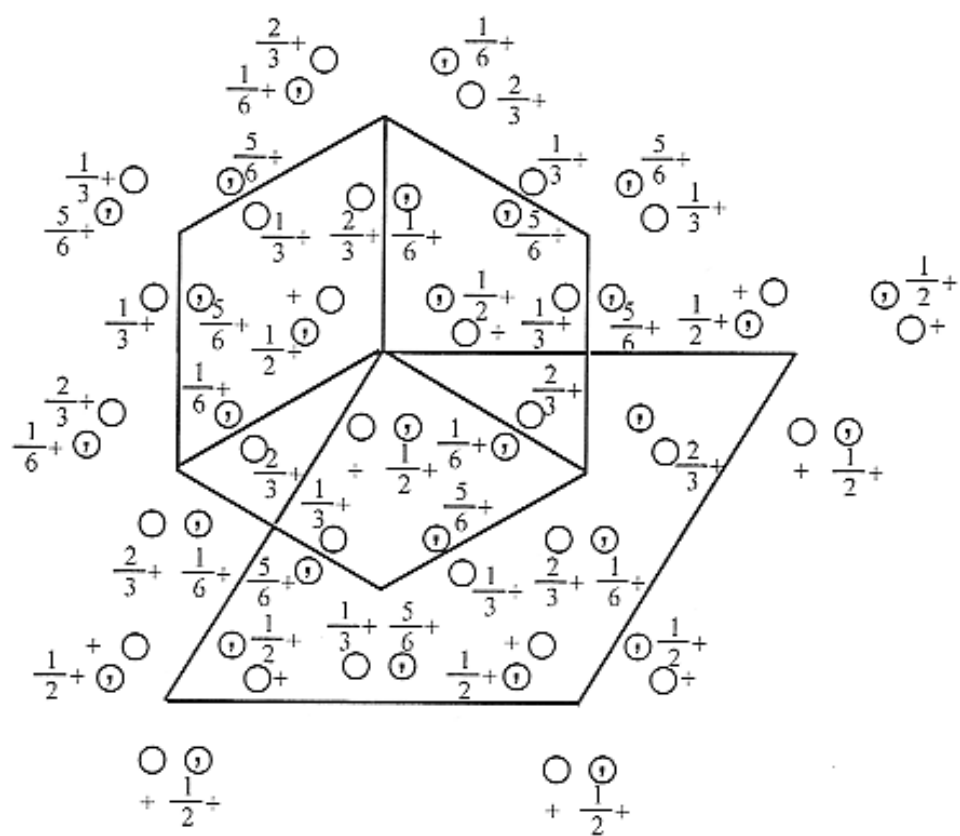


Fig. 1.3 Space group  $R\bar{3}c$  <sup>44)</sup>.

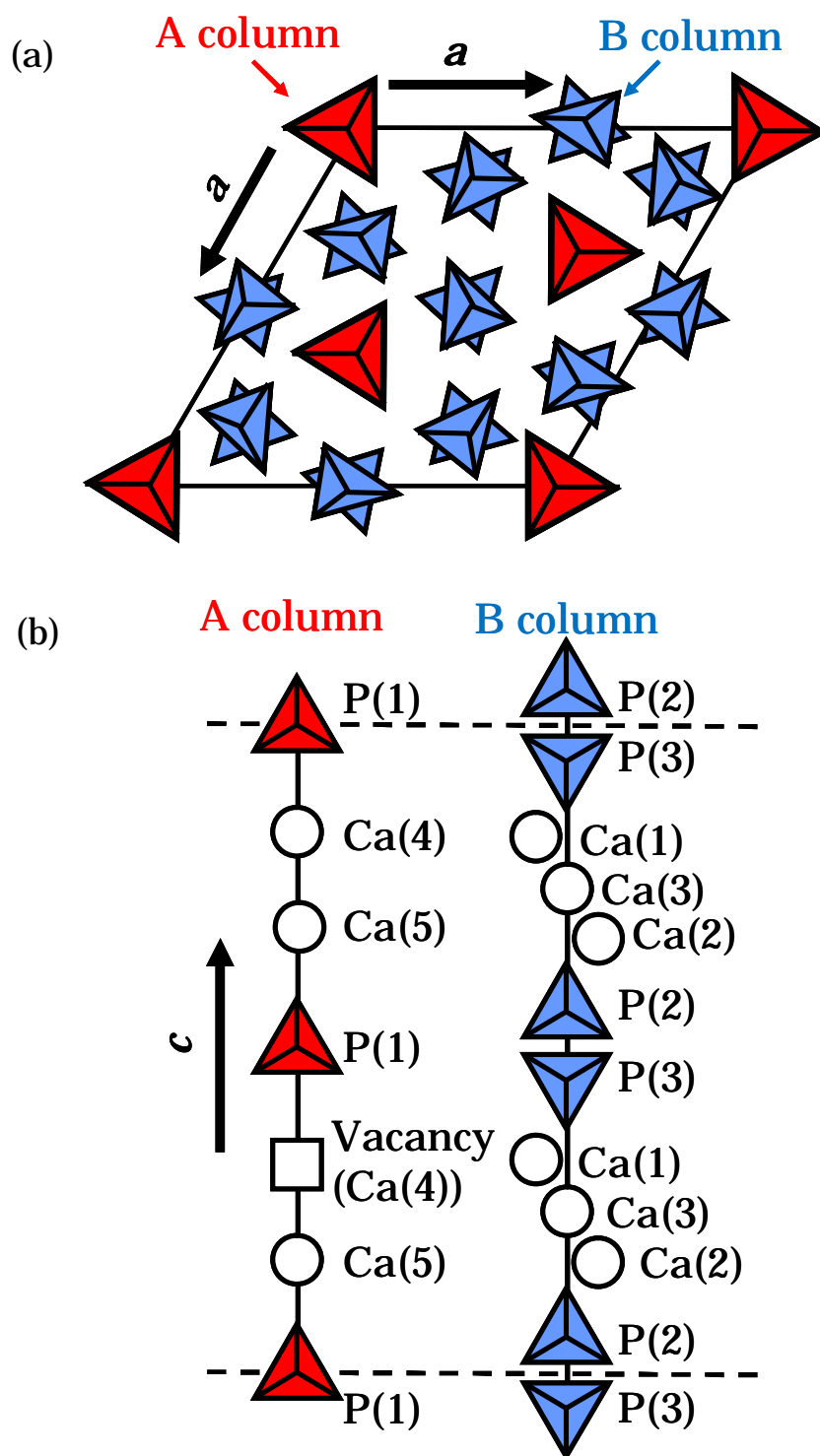


Fig. 1.4 Crystal structure of  $\beta$ -tricalcium phosphate viewed from  $[001]$  (a) and along  $c$ -axis (b) <sup>44</sup>.

Table 1.3 Positional parameters, CN, BVS, and ratio of site of  $\beta$ -tricalcium phosphate <sup>44</sup>).

	Site	Ocupancy	$x$	$y$	$z$	CN	BVS	Ratio of site / %
Ca(1)	18b	1.0	-0.2741(6)	-0.1382(7)	0.1663(2)	7	2.0	27.27
Ca(2)	18b	1.0	-0.3812(6)	-0.1745(6)	-0.0332(2)	8	2.1	27.27
Ca(3)	18b	1.0	-0.2734(4)	-0.1486(5)	0.0611(2)	8	1.8	27.27
Ca(4)	6a	0.43(4)	0.0	0.0	-0.0851(6)	3	0.65	9.09
Ca(5)	6a	1.0	0.0	0.0	-0.2664(3)	6	2.7	9.09
P(1)	6a	1.0	0.0	0.0	0.0	4	4.9	14.20
P(2)	18b	1.0	-0.3128(4)	-0.1394(5)	-0.1315(2)	4	5.0	42.90
P(3)	18b	1.0	-0.3470(5)	-0.1536(5)	-0.2332(2)	4	5.0	42.90

Table 1.4 Previous reports of  $\beta$ -tricalcium phosphate doped with several metal ions <sup>45)</sup>.

Metal ions	Ion radius / pm	Maximum substitution / mol%	Reference
$\text{Mg}^{2+}$	72	14.3	R. A. Terpstra (1983) <sup>89)</sup>
		14.3	S. L. Rowles (1968) <sup>90)</sup>
$\text{Fe}^{2+}$	61		J. Ando (1958) <sup>69),70)</sup>
$\text{Cu}^{2+}$	73		S. S. Romdhane (1983) <sup>91)</sup>
$\text{Zn}^{2+}$	74		E. R. Kreidler (1967) <sup>92)</sup>
		20	A. Bigi (1997) <sup>50)</sup>
$\text{Mn}^{2+}$	67	20	I. Mayer (2006) <sup>67)</sup>
$\text{Al}^{3+}$	54	9.09	K. Yoshida (2006) <sup>49)</sup>
$\text{Ba}^{2+}$	135	3.33	J. Ando (1958) <sup>69),70)</sup>
$\text{Sr}^{2+}$	118	80	A. Bigi (1997) <sup>50)</sup>
$\text{Cd}^{2+}$	95	18.3	S. S. Romdhane (1982) <sup>91)</sup>
$\text{Li}^{+}$	76	9.09	K. Yoshida (2006) <sup>49)</sup>
$\text{Na}^{+}$	102		K. Yoshida (2006) <sup>49)</sup>
		9.09	L. Obadia (2006) <sup>93)</sup>
		3.33	J. Ando (1958) <sup>69),70)</sup>
$\text{K}^{+}$	138	9.09	K. Yoshida (2006) <sup>49)</sup>
$\text{Zn}^{2+} + \text{SiO}_4^{4-}$			X. Wei (2007) <sup>68)</sup>
$\text{B}^{3+}$	11		H. Bauer (1964) <sup>94)</sup>

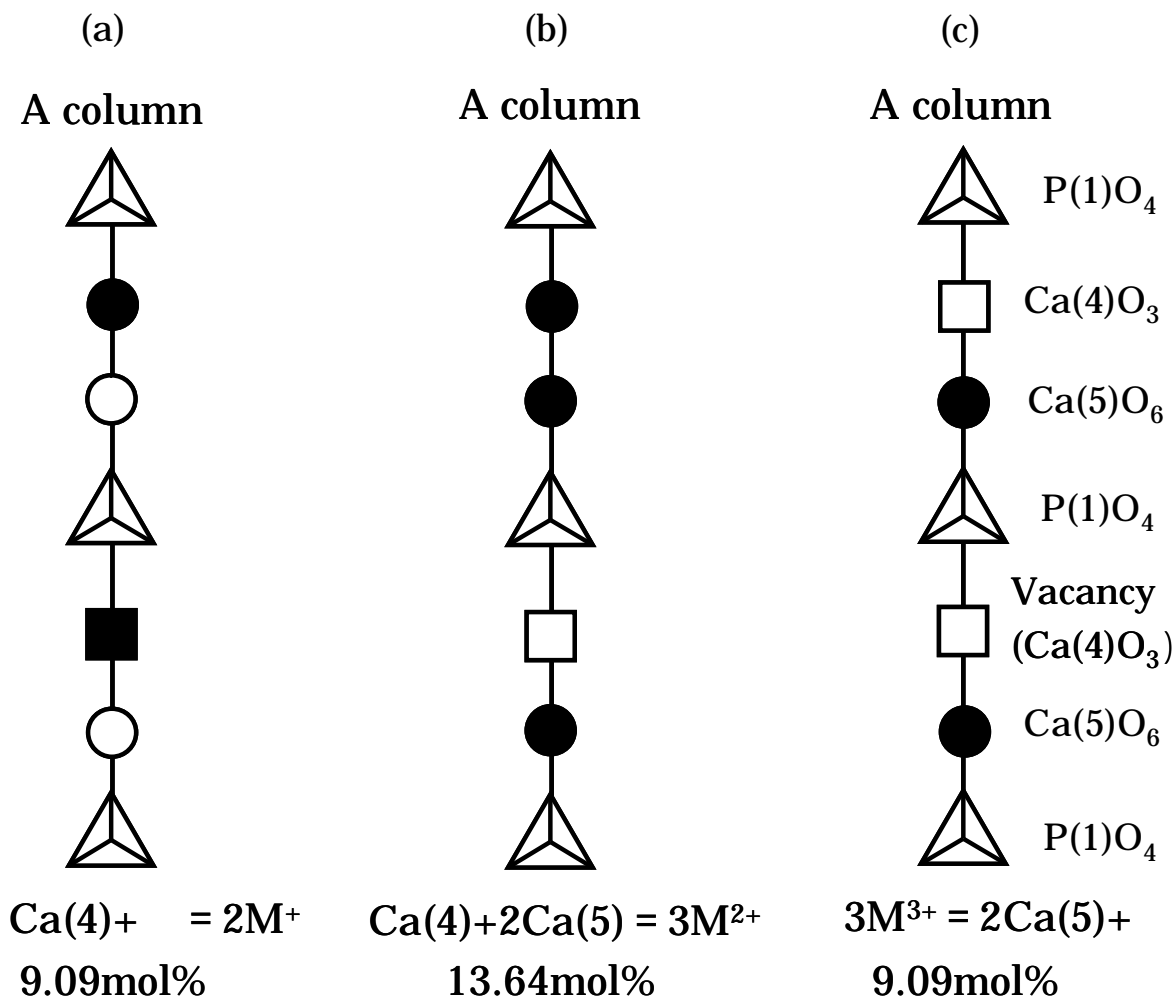


Fig. 1.5 Schematic substitution model and maximum substitution of (a) monovalent, (b) divalent, and (c) trivalent metal ions for  $\beta$ -tricalcium phosphate <sup>49</sup>).

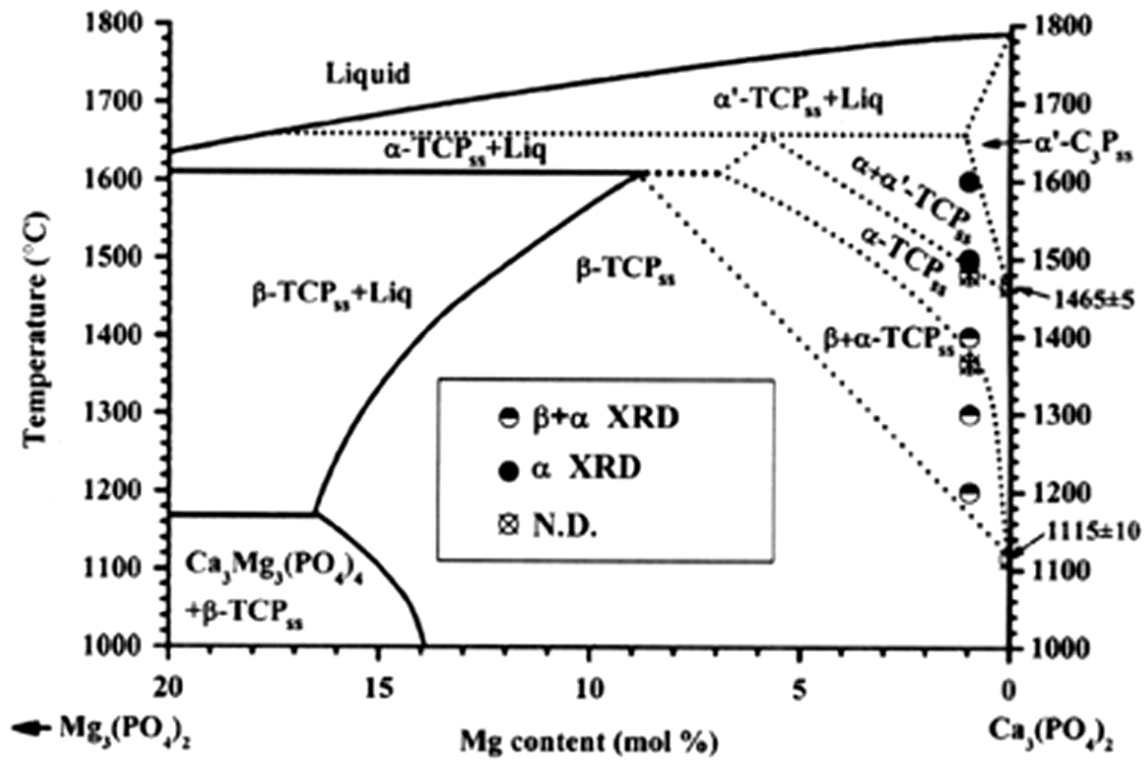


Fig.1.6 Tentative phase equilibrium diagram of the tricalcium phosphate-rich region of the system  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  <sup>73</sup>).

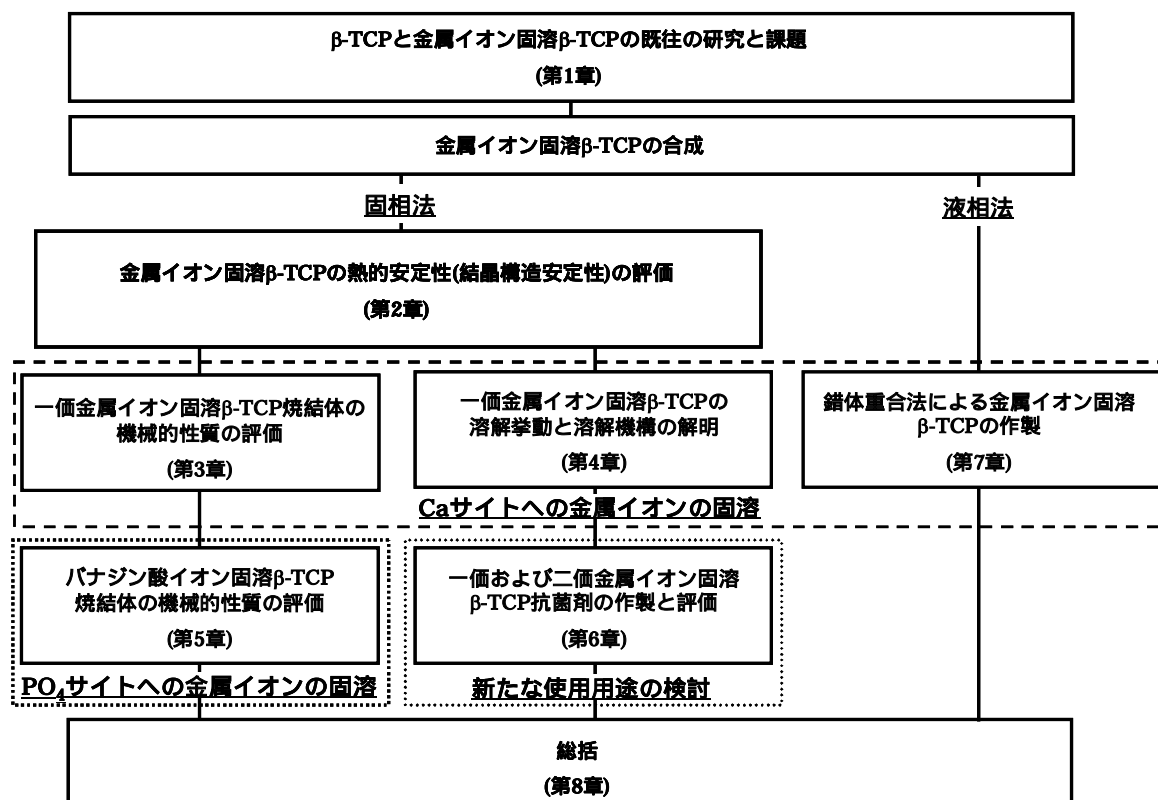


Fig. 1.7 Flow chart of the outline in this study.



## 第2章 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性 <sup>C)</sup>

### 2.1 はじめに

リン酸三カルシウム(TCP)の四つの結晶相( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha'$ ,  $\gamma$ )のなかで生体材料として現在用いられるのは  $\alpha$ -TCP と  $\beta$ -TCP である <sup>1)~7)</sup>。 $\alpha$ -TCP については、生体内で高い反応性や溶解性(吸収性)を示すため、その適用範囲に制限があり、現在ではおもに骨セメントとして臨床使用される。それに対して、 $\beta$ -TCP の場合は、生体吸収性や骨置換性のある硬組織代替セラミックス材料として幅広く臨床応用されている <sup>8)~13)</sup>。しかし、この場合、 $\beta$ - $\alpha$  相転移温度( $1150\pm 30^\circ\text{C}$ )以下で焼成した焼結体はもろく、機械的強度も低い。また、相転移温度以上で焼成した場合も  $\alpha$ -TCP と  $\beta$ -TCP の体積膨張率の違いからクラックが発生することなどの潜在的な問題点がある <sup>14)~17)</sup>。そのため、機械的強度の必要とされる硬組織代替材料として適用制限がある。したがって、硬組織代替材料としてさまざまな部位で  $\beta$ -TCP を臨床応用するためには、高温焼成で機械的強度を向上させる必要であり、そのためには  $\beta$  相の熱安定化が重要になる。

これまで、 $\beta$ -TCP に微量の金属イオンを添加すると、その化学的および生物学的性質の変化することが明らかにされている。たとえば、Ca 欠損アパタイトを焼成して  $\beta$ -TCP を合成する場合、Ca 欠損アパタイトに微量の  $\text{Mg}^{2+}$  イオンを添加すると  $\beta$ -TCP の生成温度が低下することが報告されている <sup>18)</sup>。また、 $\text{Mg}^{2+}$  イオンの添加は、骨形成や石灰化の促進だけでなく、骨強度や骨密度を増加させる効果も期待できる <sup>19)~22)</sup>。したがって、 $\beta$ -TCP に微量の金属イオンを添加して  $\beta$ -TCP の熱安定性を改善させる方法は、化学的および生物学的観点からも有効な方法であると考えられ、 $\text{Mg}^{2+}$  イオンを  $\beta$ -TCP や  $\beta$ -TCP/HAp 複合材料などに添加することで  $\beta$ -TCP の熱安定性の向上することがこれまでに報告されている <sup>6), 14), 15), 23)~26)</sup>。実際、前章で示したように  $\text{MgO}$  を焼結助剤として  $\beta$ -TCP に添加した場合は  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度が  $1485^\circ\text{C}$  まで上昇し、 $\text{Mg}^{2+}$  イオンを固溶した HAp/TCP 複合材料の  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度も上昇することが報告されている <sup>27)~29)</sup>。また、Carrodegua らは  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  二成分系の状態図から  $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶で  $\beta$ -TCP の熱安定性が向上することを明らかにしている <sup>26)</sup>。

$\beta$  相の熱安定化は、 $\beta$ - $\alpha$  相転移温度以上での焼結体の焼成を可能にし、高強度焼結体が作製できる。また、Li らは相転移温度の向上、すなわち結晶構造の安定化で生体吸収性(溶解性)も抑制できると報告している <sup>20)</sup>。このように  $\beta$ -TCP の熱安定性(結晶安定性)を評価することは、機械的性質および生体吸収性(溶解性)を決定するために重要になる。

そこで本章では、固溶形態が明らかな一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  および  $\text{K}^+$  イオン)固溶  $\beta$ -TCP ( $\text{Li-TCP}$ ,  $\text{Na-TCP}$  および  $\text{K-TCP}$ ) を作製し <sup>30)</sup>、一価金属イオンの  $\beta$ -TCP への固溶が  $\beta$  相の熱安定性に及ぼす影響を  $\alpha$ -TCP 転化率、および反応速度定数を用いて検討した。

さらに、 $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP ( $\text{Mg-TCP}$ ) についても、 $\beta$ - $\alpha$  相転移における反応速度定

数を一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれと比較し，金属イオンの固溶する Ca サイトの違いが熱安定性に及ぼす影響を明らかにする．

## 2.2 実 験

### 2.2.1 試 料

一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の出発原料は，リン酸水素カルシウム二水和物 ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 一級，98%，キシダ化学製)，炭酸カルシウム ( $\text{CaCO}_3$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製) および一価金属イオン源として炭酸リチウム ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ; 特級，99%，キシダ化学製)，炭酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製)，炭酸カリウム ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製) を用いた． $\beta$ -TCP 構造中の全  $\text{Ca}^{2+}$  イオンサイトに対する各一価金属イオン添加量については，あらかじめ予備実験より決定した下記に示す Johnson-Mehl-Avrami 式の成立する最適な金属イオン添加量である 0，0.05，0.20mol% とし， $(\text{Ca}+2\text{M})/\text{P}=1.50$  ( $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ ) の組成で出発原料を調合した．一方，Mg-TCP の作製については， $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  と  $\text{CaCO}_3$  とに酸化マグネシウム ( $\text{MgO}$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製) を， $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加量 0.05，0.20mol%， $(\text{Ca}+\text{Mg})/\text{P}$  モル比=1.50 の組成で配合した．出発原料の配合比を表 2.1 に示した．

各配合試料とも，めのう乳鉢で乾式混合を 1 時間行った後，大気雰囲気下で 1000°C，12 時間焼成し，再度同条件で混合と焼成を行い，熱安定性評価の試料とした．

### 2.2.2 評 価

#### 2.2.2.1 X 線回折による結晶相同定

試料の結晶相を同定では，あらかじめめのう乳鉢を用いて試料を粉碎し，以下の測定条件で X 線回折装置 (RAD-2C, Rigaku) を用いて X 線回折した．

管球: Cu (Cu- $K\alpha$  線)

走査範囲:  $2\theta=10\sim60^\circ$

スキャンスピード:  $8.000^\circ/\text{min}$

スキャンステップ:  $0.020^\circ$

管電圧: 40kV

管電流: 30mA

#### 2.2.2.2 格子定数の精密化

試料の格子定数の精密化には，回転対陰極型 X 線回折装置 (RINT-1500, Rigaku) を使用した．まず，試料と内部標準試料のケイ素 (4N-Grade, 99.99%，三津和化学薬品工業製) とをめのう乳鉢を用いて混合し，以下の条件で X 線回折した (標準測定) ．

管球: Cu (Cu- $K\alpha$  線)

走査範囲: 2 $\theta$ =25~70°

スキャンスピード: 10.000°/min

スキャンステップ: 0.020°

管電圧:40kV

管電流:200mA

標準測定 of X 線回折図における  $\beta$ -TCP(ICDD: 09-0169)の回折線(2 0 10), (2 1 8), (2 2 0), (3 2 8), (2 0 20)面の 5 本と, ケイ素(Si, ICDD: 27-1402)の(1 1 1), (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0)面の 4 本の回折線を付属のソフトウェアにより切り出し, 付属ソフトの指定する最適な条件下で X 線回折を再度行った(予備測定)。

予備測定 of X 線回折図について, まず格子定数精密化のソフトウェアを用いて内部標準法による角度補正した後, 格子定数を最小二乗法で精密化した。なお, 格子定数の精密化における  $\beta$ -TCP の格子定数の初期値には, Dickence らの報告した格子定数<sup>31),32)</sup>を用いた。

### 2.2.2.3 熱安定性の評価

試料を電気炉で焼成後に炉内で放冷した場合, 冷却過程で  $\alpha$ -TCP から  $\beta$ -TCP への相転移が起こるため正確な  $\alpha$ -TCP 転化率が測定できない。そこで, 熱安定性評価時の焼成には図 2.1 の縦型管状炉を用いた。試料の焼成条件については, Johnson-Mehl-Avrami 式が成立すること, および  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度が 1150 $\pm$ 30°Cであることを考慮して決定した。金属イオン無添加  $\beta$ -TCP の焼成条件は, 大気雰囲気下, 1100, 1150, 1170 および 1200°C, 0~240 分間焼成であり, Li-TCP, Na-TCP, K-TCP の場合は, 大気雰囲気下, 1200, 1250 および 1300°C, 0~40 分間焼成とした。

各所定温度まで炉内を加熱後, ふるいで 75 $\mu$ m 以下に分級した試料(2.0g)を充填した白金るつぽを縦型管状炉の中心に配置し, 配置した時点から焼成時間を測定した。所定時間焼成後, 試料はただちに氷水中で急冷した。

熱安定性の評価には, 下記に示した X 線回折図の回折ピークの積分強度より算出した  $\alpha$ -TCP 転化率と, その値から Johnson-Mehl-Avrami の式により算出した反応速度定数とを用いた。

まず, 焼成した試料をめのう乳鉢で粉碎し, 前節の格子定数精密化と同条件で RINT-1500 を使用して X 線回折した。えられた X 線回折図における  $\alpha$ -TCP(ICDD: 09-0395)の(1 7 0)面の回折ピークを付属ソフトウェアにより切り出し, 付属ソフトの指定する最適条件で X 線回折し, 積分強度を算出した。そして, あらかじめ  $\alpha$ -TCP と  $\beta$ -TCP との配合比が既知の試料の X 線回折図における  $\alpha$ -TCP の回折線(1 7 0)の積分強度から作成した検量線と測定した積分強度とから, 焼成した試料の  $\alpha$ -TCP 転化率を求めた。

Johnson-Mehl-Avrami の式において,  $\beta$ - $\alpha$  相転移における反応速度定数( $k$ )と  $\alpha$ -TCP 転化率( $f$ )には以下のような関係が成立する。

$$f = 1 - \exp(-kt^n). \quad (1)$$

さらに，この式は以下のように書き換えることができる．

$$\ln[-\ln(1-f)] = \ln k + n \ln t, \quad (2)$$

上式において， $t$  は焼成時間(h)， $n$  は Avrami 指数である． $\beta$ -TCP，Li-TCP，Na-TCP，K-TCP および Mg-TCP の各反応速度定数( $k$ )については， $y$  軸を  $\ln[-\ln(1-f)]$ ， $x$  軸を  $\ln t$  とした図を作成し，その図における各プロットを結んだ直線の  $y$  切片( $\ln k$ )から算出した

33)–35) ．

Table 2.1 Chemical compositions of pure  $\beta$ -TCP, and  $\beta$ -TCP doped with several monovalent metal ions or  $\text{Mg}^{2+}$  ions.

	Amount of metal ions / mol%	Composition / mol		
		$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCO}_3$	$\text{Li}_2\text{CO}_3$ $\text{Na}_2\text{CO}_3$ $\text{K}_2\text{CO}_3$  $\text{MgO}$
$\beta$ -TCP <sup>a)</sup>		1.000	0.500	
Li-TCP <sup>b)</sup>	0.05	1.000	0.499	0.001
	0.20	1.000	0.498	0.003
Na-TCP <sup>c)</sup>	0.05	1.000	0.499	0.001
	0.20	1.000	0.498	0.003
K-TCP <sup>d)</sup>	0.05	1.000	0.499	0.001
	0.20	1.000	0.498	0.003
Mg-TCP <sup>e)</sup>	0.05	1.000	0.499	0.001
	0.20	1.000	0.497	0.003

<sup>a</sup>  $\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders

<sup>b</sup> Li-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing  $\text{Li}^+$  ions

<sup>c</sup> Na-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing  $\text{Na}^+$  ions

<sup>d</sup> K-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing  $\text{K}^+$  ions

<sup>e</sup> Mg-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing  $\text{Mg}^{2+}$  ions

- : Platinum wire
- : Platinum crucible
- : Heating element (SiC)
- : Thermocouple (R type)

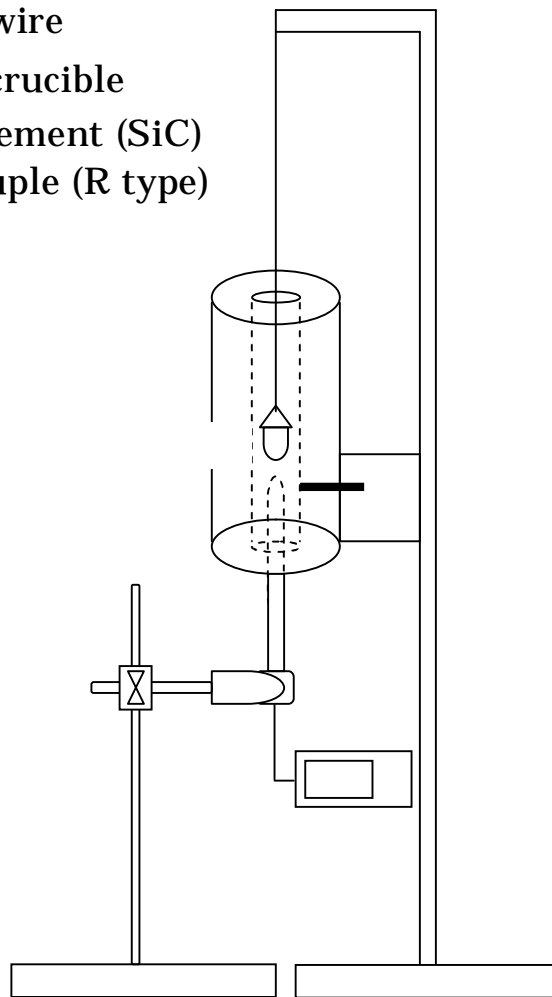


Fig. 2.1 Vertical tubular furnace for thermal stability evaluation.

## 2.3 結果および考察

### 2.3.1 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性

図 2.2 には、焼成温度を変化させて  $\beta$ -TCP を 240 分間焼成した試料の X 線回折図を示した。1100°C 焼成試料の X 線回折図は、 $\beta$ -TCP の回折線と一致した。一方、1130、1150°C 焼成試料は、 $\beta$ -TCP と  $\alpha$ -TCP との混合相であった。さらに、1170°C 以上の試料は、すべて  $\alpha$ -TCP 単相であった。これらの結果は、Monma らの報告<sup>36)</sup>と一致した。

つぎに 1100~1200°C における  $\alpha$ -TCP 転化率変化を図 2.3 に示した。1100°C 焼成試料以外の試料における  $\alpha$ -TCP 転化率は焼成時間の増加で増加し、さらにその値は焼成温度に関わらず対数的に増加した。Ca 欠損アパタイトから焼成にともなう  $\beta$ -TCP への転化率についても焼成温度に対して対数的に増加し、その反応は不均一核成長反応であると報告されている<sup>37)</sup>。したがって、TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移反応についても同様に不均一核成長反応であることを認めた。

図 2.4 は、図 2.3 の  $\alpha$ -TCP 転化率と焼成時間とを 2.2.2 に示した式(2)の  $f$  および  $t$  にそれぞれ代入し、求めた  $\ln[-\ln(1-f)]$  を  $\ln t$  に対してプロットした図である。図 2.4 における結果は、Johnson-Mehl-Avrami の式が熱平衡状態前、すなわち図 2.3 における対数的に増加した段階で成立するため、この図における  $t$  (焼成時間)を 30 分から 150 分間にした。また、1100°C 焼成試料は、図 2.3 において  $\alpha$ -TCP 転化率が 0 であったため、図 2.4 では除外した。なお、図 2.4 の各プロットを結んだ直線の  $y$  切片から算出した反応速度定数を焼成温度別に表 2.2 に示した。TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移時の反応速度定数は焼成温度の上昇にともない増加した。

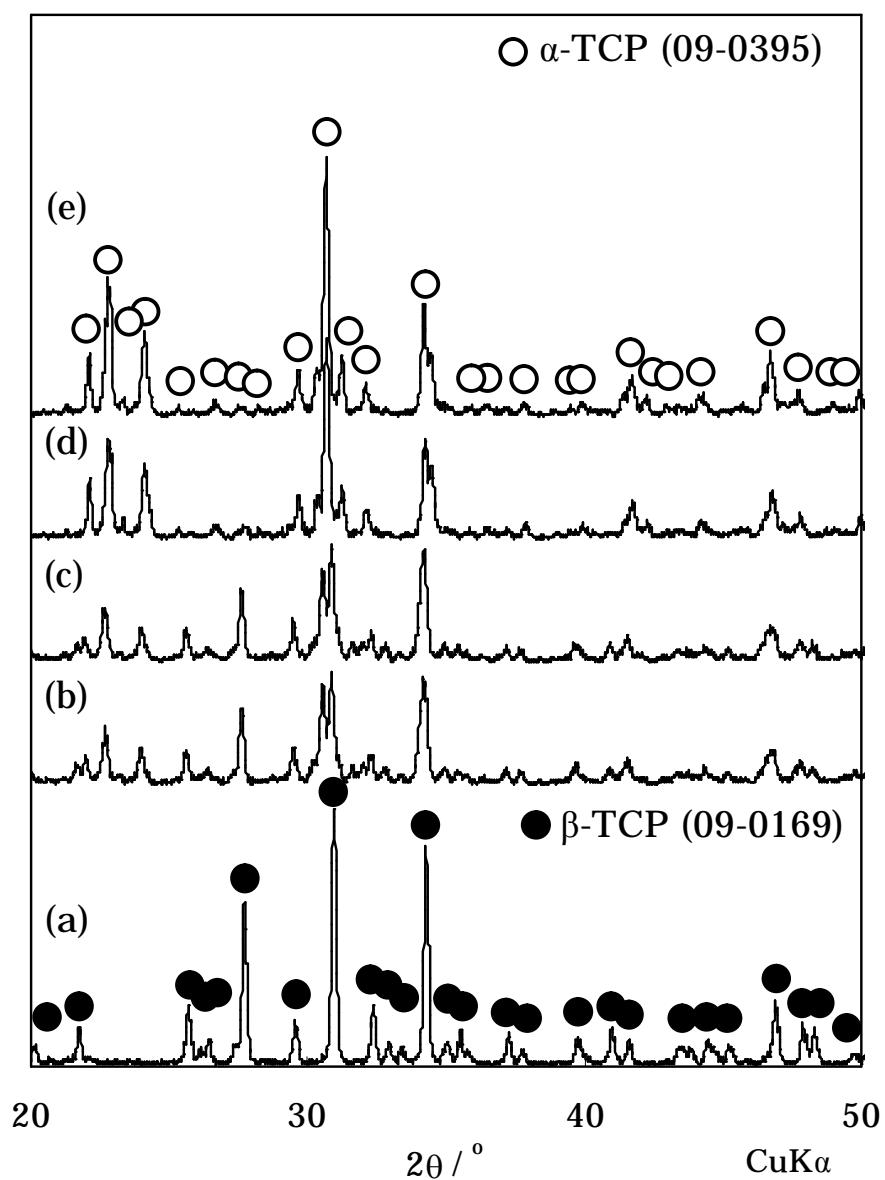


Fig. 2.2 XRD patterns of the samples of pure  $\beta$ -TCP heated at various temperatures for 240 min. (a) 1100°C, (b) 1130°C, (c) 1150°C, (d) 1170°C, (e) 1200°C.



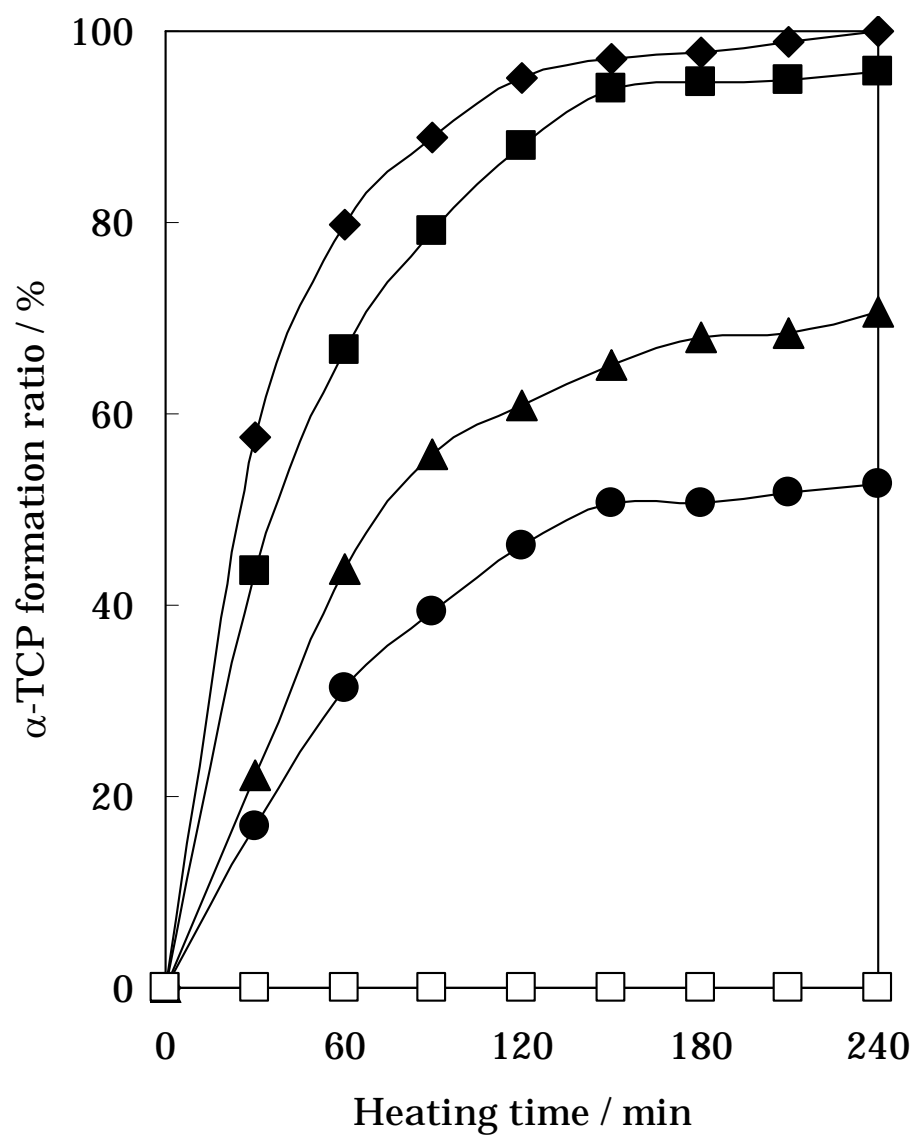


Fig. 2.3  $\alpha$ -TCP formation ratio of samples of pure  $\beta$ -TCP heated at various temperatures as a function of heating time. : 1100°C, : 1130°C, : 1150°C, : 1170°C, : 1200°C.

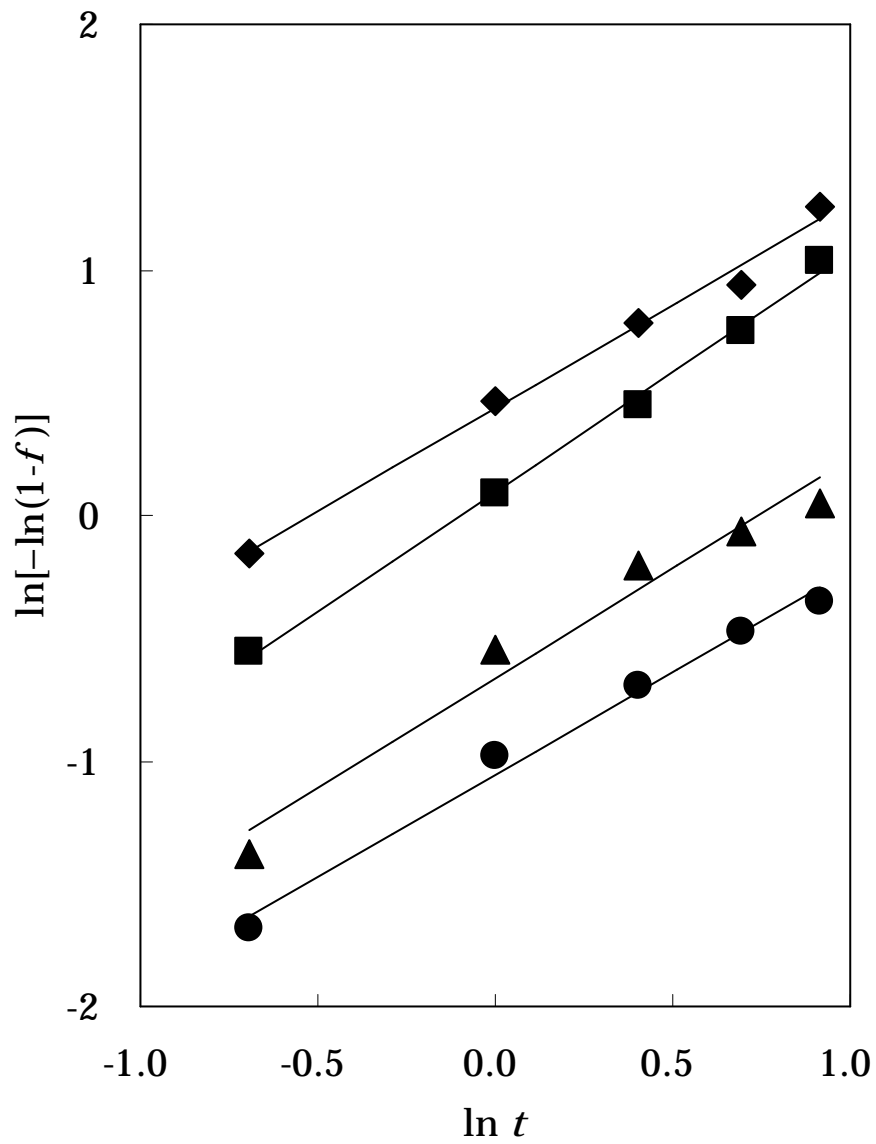


Fig. 2.4  $\ln[-\ln(1-f)]$  in Johnson-Mehl-Avrami equation of the samples of pure  $\beta$ -TCP heated at various temperatures as a function of  $\ln t$ . : 1130°C, : 1150°C, : 1170°C, : 1200°C.

Table 2.2 Rate constant ( $k$ ) of phase transformation from  $\beta$ -TCP to  $\alpha$ -TCP for pure  $\beta$ -TCP.

	Rate constant ( $k$ ) / min <sup>-1</sup>			
	1130°C	1150°C	1170°C	1200°C
$\beta$ -TCP	0.348	0.515	1.033	1.548

## 2.3.2 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性

本節では，一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性を評価し，一価金属イオン固溶が  $\beta$  相の熱安定性に及ぼす影響を考察した．また，一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性と，これまでに  $\beta$ -TCP の熱安定性向上の報告がある Mg-TCP の熱安定性とを比較し，金属イオンが固溶する Ca サイト(金属イオンの価数)の違いが  $\beta$ -TCP の熱安定性に及ぼす影響を明らかにし，熱安定性に起因するファクターを検討した．

### 2.3.2.1 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性

熱安定性評価に用いた一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ イオン)を 0.05 および 0.2mol% 固溶した  $\beta$ -TCP の X 線回折図を図 2.5 に示した．また，各試料の格子定数と過去の各種一価金属イオンが 0.05 または 0.2mol% 固溶した  $\beta$ -TCP の格子定数<sup>30)</sup>とを表 2.3 に示した．作製した試料はすべて  $\beta$ -TCP 構造であった．また，これら試料の格子定数は，これまで報告している格子定数と一致した．

図 2.6 には，0.05 または 0.2mol% 一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP 粉末をそれぞれ 1200, 1250 および 1300°C で 40 分間焼成した試料の X 線回折図を示した．1200°C で焼成した 0.05mol% 各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の X 線回折図には，金属イオンの種類に関わらず  $\beta$ -TCP と低い回折強度の  $\alpha$ -TCP の回折線を確認した．それに対して，0.2mol% 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれは， $\beta$ -TCP 単相であった．1300°C 以上で焼成した試料の結晶相は，金属イオンの種類および固溶量に関わらず  $\alpha$ -TCP と微量の  $\beta$ -TCP との混合相であった．

図 2.7 に，図 2.6 の X 線回折図における  $\alpha$ -TCP の回折線の積分強度から求めた  $\alpha$ -TCP 転化率と焼成時間の関係を示した．焼成温度や焼成時間の増加にともない各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\alpha$ -TCP 転化率は増加した．この結果は， $\beta$ - $\alpha$  相転移が，焼成温度，金属イオンの種類や固溶量に関わらず不均一核成長反応であることを示した．なお，0.05mol% 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\alpha$ -TCP 転化率は，0.20mol% 固溶した  $\beta$ -TCP のそれにくらべて高かった．

図 2.8 には，図 2.7 の焼成時間( $t$ )における  $\alpha$ -TCP 転化率( $f$ )を，それぞれ Johnson-Mehl-Avrami 式に代入して算出した  $\ln[-\ln(1-f)]$ と  $\ln t$ の関係を示した．なお，図 2.8 の場合も Johnson-Mehl-Avrami 式が熱平衡前の段階で成立するため，焼成時間( $t$ )を Na-TCP および K-TCP の場合は 5~40 分間，Li-TCP の場合は 5~20 分間とした．さらに，各プロットを結んだ直線の y 軸切片より算出した反応速度定数( $k$ )を表 2.4 に示した．また，0.05 または 0.2mol%  $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の同焼成条件における反応速度定数も合わせて示した．

表 2.2，表 2.4 から，1200°C における  $\beta$ -TCP と一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP との反応速度定数を比較した場合，後者の反応速度定数が，金属イオンの種類および固溶量に関わらず前者のそれよりも低かった．これは，一価金属イオンが固溶で TCP の  $\beta$  相の熱安定性

が向上したことを示している．なお，金属イオン固溶量が同じ場合，一価金属イオンの種類の違いは反応速度定数に対して影響がなかった．

$\beta$ -TCP の結晶構造は，独立した A カラム $[-P(1)O_4-Ca(4)O_3-Ca(5)O_6-]$ および B カラム $[-P(3)O_4-Ca(1)O_7-Ca(3)O_8-Ca(2)O_8-P(2)O_4-]$ から構成され<sup>38)</sup>，一価金属イオンの場合，A カラムの Ca(4)と空孔とに， $Ca^{2+}$ イオンと一価金属イオンとの電荷を補正しながら  $2M^I = Ca^{2+} +$  (空孔)の形態で固溶する<sup>30)</sup>．したがって，一価金属イオンが  $\beta$ -TCP に固溶する場合， $\beta$ -TCP 構造中の空孔を含む全 Ca サイトが一価金属イオンと  $Ca^{2+}$ イオンとで占有されるため，結晶構造が安定化，つまり  $\beta$  相の熱安定性が向上したと考えた．

つぎに式(2)における  $n$  値(Avrami 指数)は，相転移機構に依存する値であり，その数値で表 2.5 のように相転移機構は分類できる<sup>39)</sup>．表 2.6 には， $\beta$ -TCP および一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $n$  値(図 2.3 および図 2.8 の各プロットを結んだ直線の傾きに相当)を示した．一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $n$  値は， $\beta$ -TCP の  $n$  値より低く，また焼成温度  $1200^\circ C$  の場合でも， $\beta$ -TCP のそれより低かった．したがって，表 2.5 より一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移は， $\beta$ -TCP のそれにくらべて diffusion-controlled growth が支配的であり，この結果は， $\beta$ -TCP と一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP との  $\beta$ - $\alpha$  相転移機構が異なることを示した．

### 2.3.2.2 二価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの熱安定性

表 2.4 の  $1200^\circ C$  における Mg-TCP の相転移における反応速度定数は表 2.2 に示した  $\beta$ -TCP の  $1200^\circ C$  焼成時の値より低く，一価金属イオン  $\beta$ -TCP と同様に， $\beta$ -TCP への  $Mg^{2+}$ イオン固溶で熱安定性は向上した．さらに，一価イオン固溶  $\beta$ -TCP と Mg-TCP との反応速度定数を比較した場合，後者のほうがその値は低く， $\beta$  相の熱安定性は，一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP より二価( $Mg^{2+}$ )イオン固溶  $\beta$ -TCP のほうが高いことを認めた．

二価金属イオンは 9.09mol%まで A カラムの Ca(5)サイトに，その後 13.64mol%まで Ca(4)サイトに固溶する<sup>30)~32)</sup>．図 2.9 に， $\beta$ -TCP，一価金属イオンまたは  $Mg^{2+}$ イオン固溶  $\beta$ -TCP それぞれの結晶構造中における各 Ca サイトの(酸素)配位数と M-O の結合距離( $M = Li, Na, K, Ca, Mg$ )の関係を示した．図中の M-O の結合距離については，すでに報告されている結晶構造解析データ<sup>31),32),38),40)</sup>を参考にした．また，図 2.9 の塗りつぶしてある  $M^{II}-O$  の理論結合距離( $M^{II} = Ca^{2+}, Mg^{2+}$ イオン)については， $O^{2-}$ ， $Ca^{2+}$ ， $Mg^{2+}$ イオンのイオン半径(6 配位)<sup>41)</sup>を用いて算出した．

$\beta$ -TCP の Ca(5)-O 結合距離(6 配位)は，イオン半径から求めた理論結合距離よりも小さいのに対して，Mg-TCP の Mg(5)-O 結合距離(6 配位)は理論結合距離とほぼ一致することがわかった．一方，Ca(4)サイトにおける  $M^I-O$  結合距離( $M^I = Li^+, Na^+, K^+$ イオン)については， $\beta$ -TCP への一価金属イオン固溶によってほとんど変化せず，さらに理論結合距離(図 2.9 における直線)にくらべて大きいため，前記したように，一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP に

において金属イオンの種類の違いが熱的安定性に対して影響を及ぼさないと考えた。

また上記の結果は、 $\beta$ -TCP にイオン半径の小さい二価金属イオン( $\text{Mg}^{2+}$ イオン)を固溶した場合、 $\beta$ -TCP の Ca(5)サイトおよび Ca(4)サイトへの二価金属イオン固溶にともない  $\beta$ -TCP 結晶構造(結合距離)が最適化したため、TCP の  $\beta$  相の熱安定性が向上したことも示し、 $\beta$ -TCP への一価金属イオン固溶による結晶構造安定化のメカニズム(空孔を含む全 Ca サイトを占有したことによる構造安定化)と二価金属イオン固溶によるそのメカニズムとは異なることを明らかにした。

さらに、二価( $\text{Mg}^{2+}$ )イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\beta$  相の熱安定性については、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれより高かったことから、二価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の構造安定性は、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれにくらべて高いとわかった。

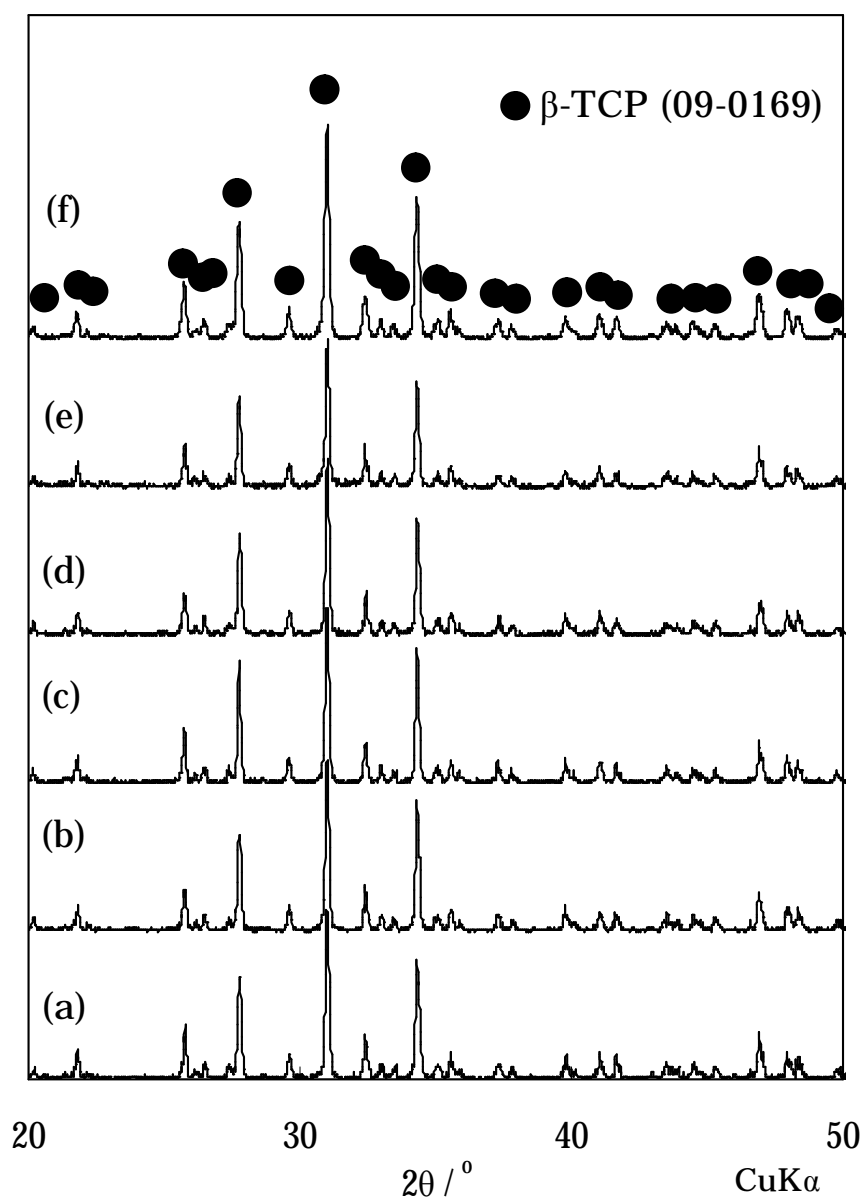


Fig. 2.5 XRD patterns of  $\beta$ -TCP powders containing various amounts of monovalent metal ions used for thermal stability evaluation (sintering condition: 1000  $^\circ\text{C}$ , 24 h, in air). (a) 0.05 mol%  $\text{Li}^+$  ions, (b) 0.05mol%  $\text{Na}^+$  ions, (c) 0.05mol%  $\text{K}^+$  ions, (d) 0.20mol%  $\text{Li}^+$  ions, (e) 0.20mol%  $\text{Na}^+$  ions, (f) 0.20mol%  $\text{K}^+$  ions.

Table 2.3 Lattice constants of  $\beta$ -TCP doped with monovalent metal ions used for thermal stability test and in previous study (sintering condition: 1000°C, 24h, in air).

	Amounts of metal ions / mol%	Lattice constants / nm			
		This study		Previous study <sup>30)</sup>	
		<i>a</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>c</i>
Li-TCP <sup>a</sup>	0.05	1.0438(7)	3.7387(3)	1.0438(9)	3.7387(1)
	0.20	1.0438(4)	3.7384(4)	1.0438(6)	3.7384(2)
Na-TCP <sup>b</sup>	0.05	1.0441(1)	3.7386(8)	1.0441(0)	3.7386(5)
	0.20	1.0440(9)	3.7384(0)	1.0441(0)	3.7384(2)
K-TCP <sup>c</sup>	0.05	1.0440(9)	3.7383(7)	1.0440(8)	3.7383(4)
	0.20	1.0441(5)	3.7381(0)	1.0441(8)	3.7381(4)

<sup>a</sup> Li-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing Li<sup>+</sup> ions

<sup>b</sup> Na-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing Na<sup>+</sup> ions

<sup>c</sup> K-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate powders containing K<sup>+</sup> ions



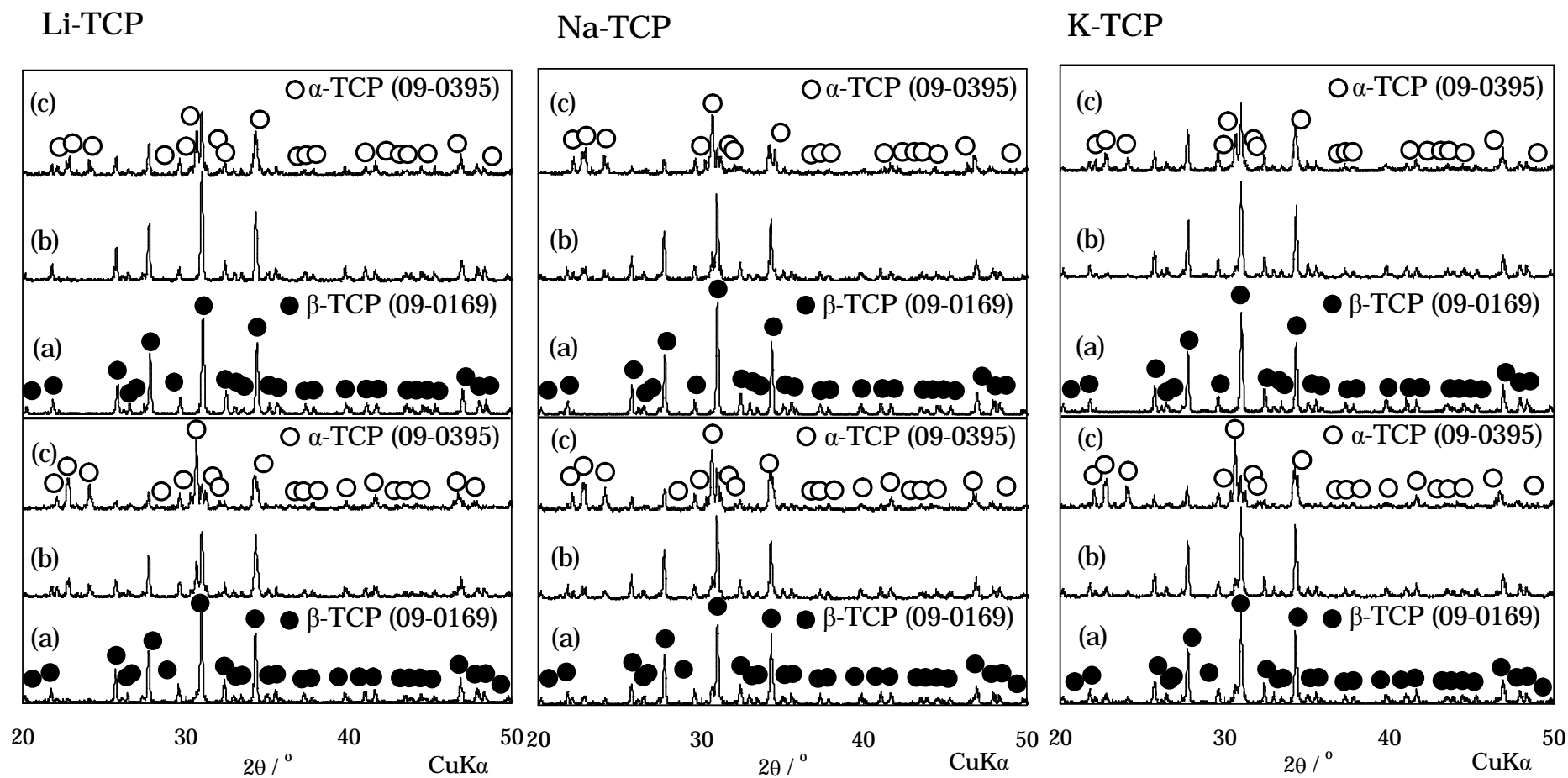


Fig. 2.6 XRD patterns of the samples after heating  $\beta$ -TCP doped with 0.05mol% (Lower) or 0.2mol% (Upper)  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions at various temperatures for 60 min. (a) 1200°C, (b) 1250°C, (c) 1300°C.

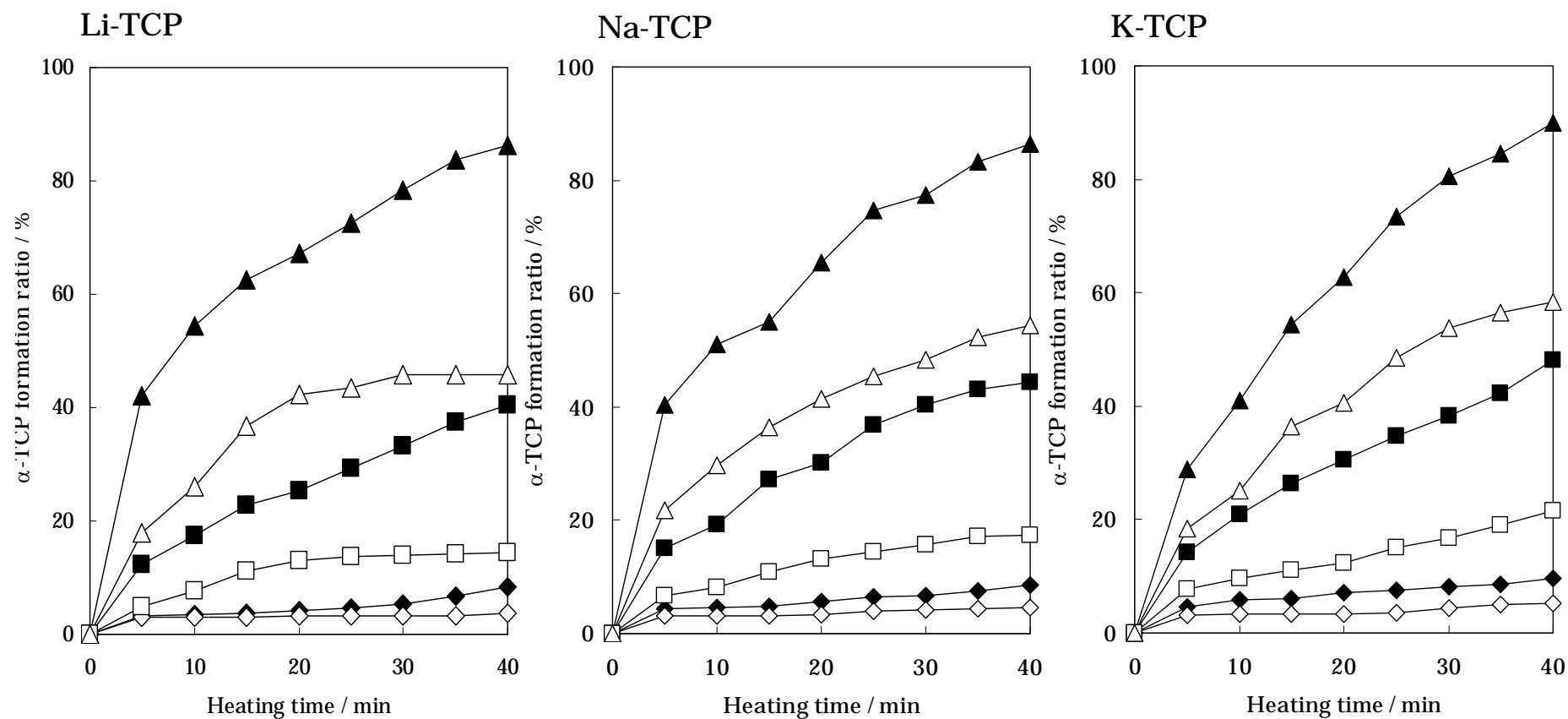


Fig. 2.7 Formation ratio of  $\alpha$ -TCP of the samples after heating  $\beta$ -TCP doped with 0.05 mol% or 0.2 mol%  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions at various temperatures.  $\triangle$ : 0.05mol%, 1200 °C,  $\blacktriangle$ : 0.20mol%, 1200 °C,  $\square$ : 0.05mol%, 1250 °C,  $\blacksquare$ : 0.20mol%, 1250 °C,  $\diamond$ : 0.05mol%, 1300 °C,  $\blacklozenge$ : 0.20mol%, 1300 °C.

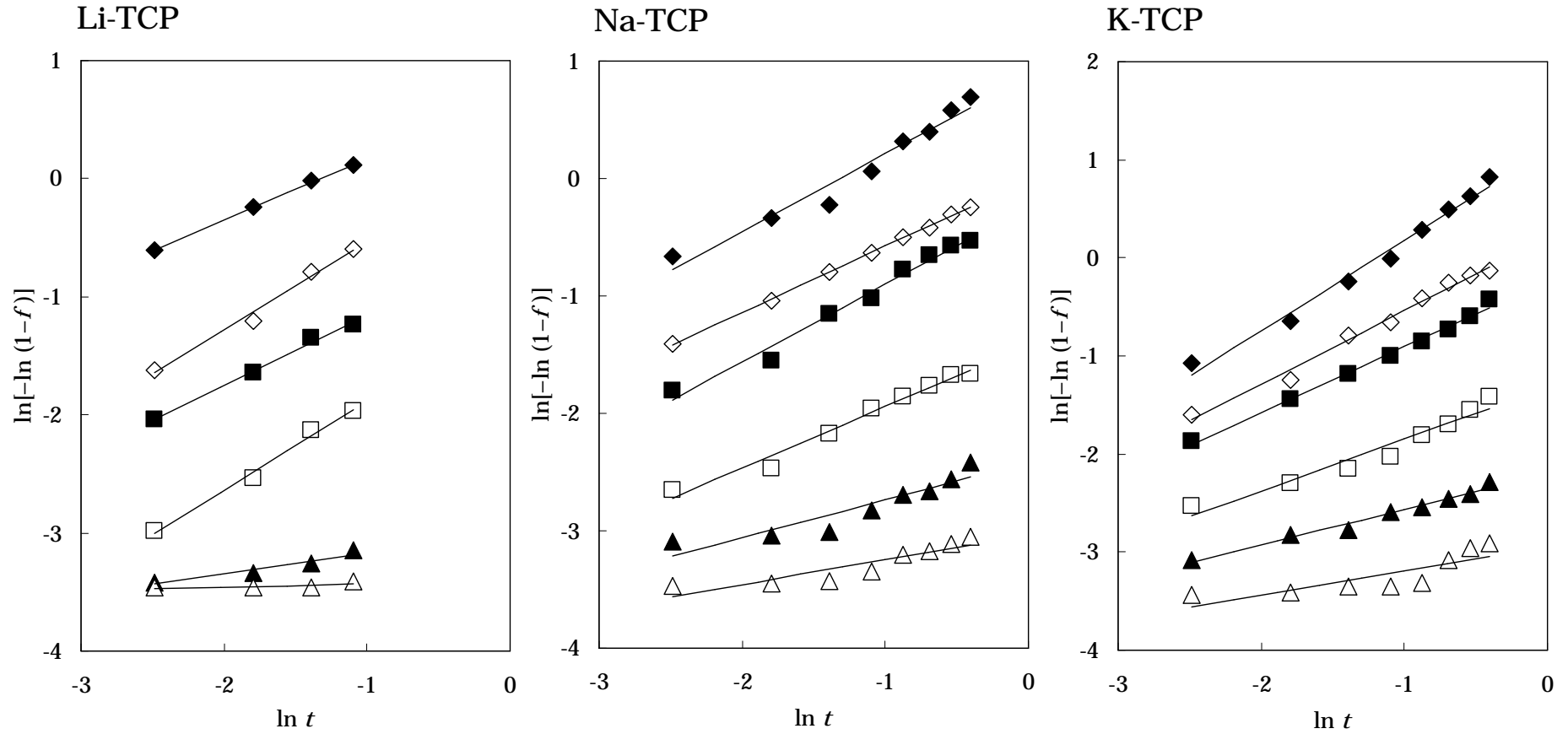


Fig. 2.8  $\ln[-\ln(1-f)]$  in Johnson-Mehl-Avrami equation of the samples after heating  $\beta$ -TCP doped with 0.05mol% or 0.2mol%  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions at various temperatures.  $\blacklozenge$  : 0.05mol%, 1200 °C,  $\blacklozenge$  : 0.20mol%, 1200 °C,  $\blacksquare$  : 0.05mol%, 1250 °C,  $\blacksquare$  : 0.20mol%, 1250 °C,  $\blacktriangle$  : 0.05mol%, 1300 °C,  $\blacktriangle$  : 0.20mol%, 1300 °C.

**Table 2.4 Rate constant ( $k$ ) of transformation from  $\beta$ -TCP to  $\alpha$ -TCP for  $\beta$ -TCP doped with various amounts of monovalent metal ions or  $\text{Mg}^{2+}$  ions.**

	Rate constant ( $k$ ) / $\text{min}^{-1}$					
	0.05 mol%			0.20 mol%		
	1200°C	1250°C	1300°C	1200°C	1250°C	1300°C
Li-TCP	0.068	0.626	2.080	0.033	0.224	0.891
Na-TCP	0.083	0.679	2.282	0.046	0.242	0.988
K-TCP	0.107	0.754	2.860	0.049	0.267	1.234
Mg-TCP	0.028	0.167	0.655	0.017	0.064	0.320

Table 2.5 Theoretical values of Avrami exponent,  $n$  <sup>39)</sup>.

		Interface-controlled growth	Diffusion-controlled growth
3D	Constant nucleation rate	$n=4$	$n=2.5$
	Instantaneous nucleation	$n=3$	$n=1.5$
	Decreasing nucleation rate	$n=3\sim4$	$n=1.5\sim2.5$
2D	Constant nucleation rate	$n=3$	$n=2$
	Instantaneous nucleation	$n=2$	$n=1$
	Decreasing nucleation rate	$n=2\sim3$	$n=1\sim2$
1D	Constant nucleation rate	$n=2$	$n=1.5$
	Instantaneous nucleation	$n=1$	$n=0.5$
	Decreasing nucleation rate	$n=1\sim2$	$n=0.5\sim1.5$

Table 2.6 Avrami exponent ( $n$ ) of  $\beta$ -TCP, and  $\beta$ -TCP doped with monovalent metal ions obtained from Figs. 2.3 and 2.8.

Avrami exponent, $n$				
	1150°C	1150°C	1170°C	1200°C
$\beta$ -TCP	0.66	0.73	0.95	0.99

Avrami exponent, $n$						
	0.05 mol%			0.20 mol%		
	1200°C	1250°C	1300°C	1200°C	1250°C	1300°C
Li-TCP	0.18	0.59	0.52	0.03	0.75	0.75
Na-TCP	0.16	0.59	0.50	0.07	0.50	0.56
K-TCP	0.32	0.62	0.77	0.07	0.56	0.71

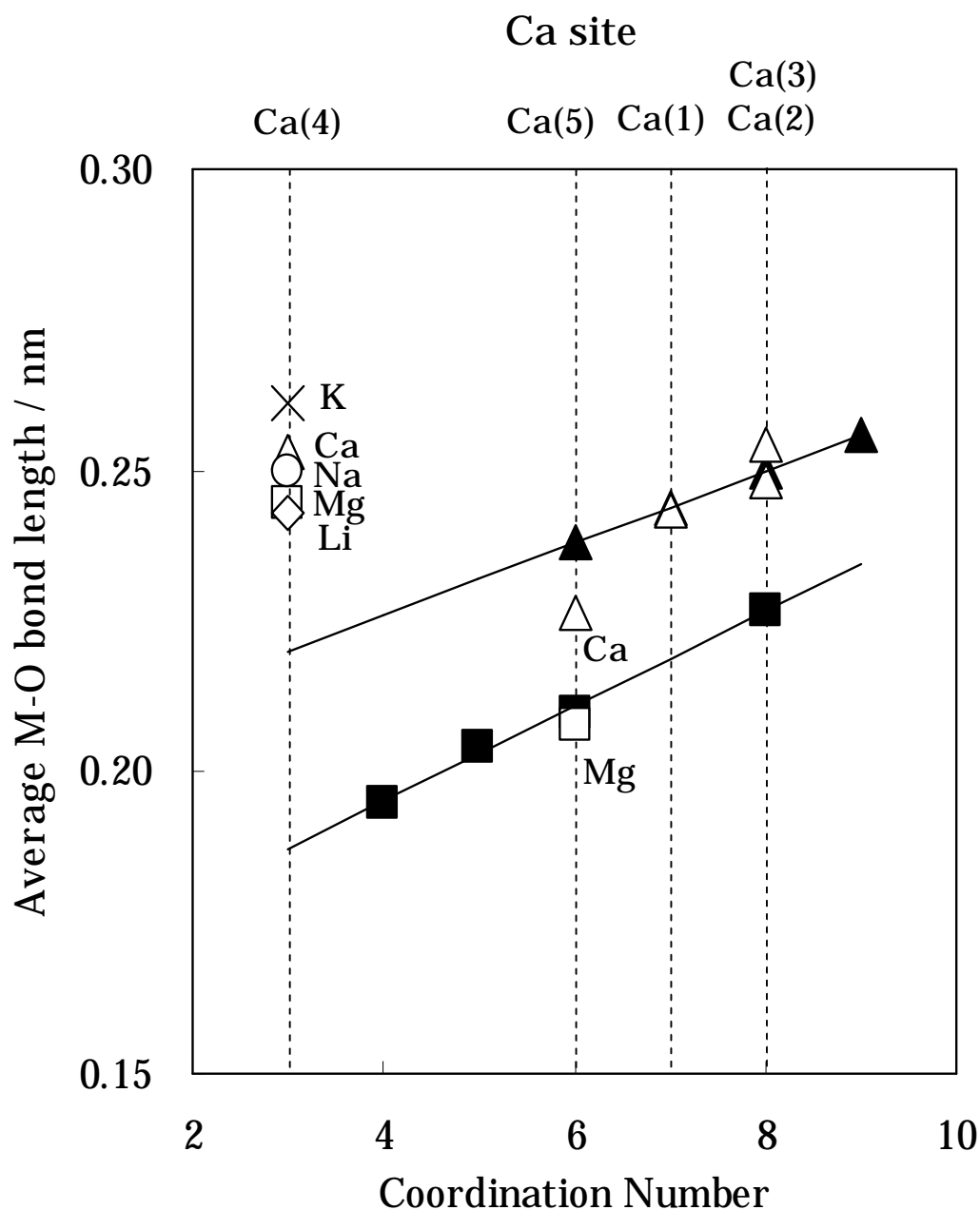


Fig. 2.9 Relationship between the coordination number and average M-O bond lengths in pure  $\beta$ -TCP, and  $\beta$ -TCP doped with monovalent metal ions or  $\text{Mg}^{2+}$  ions ( $M = \text{Ca}, \text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ , and  $\text{Mg}$ ). The average M-O bond length obtained by the refined crystal parameters in the previous reports<sup>31),32),38),40)</sup> and the theoretical distances for M-O bond lengths [ $M = \text{Ca}$  ( ),  $\text{Mg}$  ( )] are calculated using the ionic radii<sup>41)</sup>. :  $\beta$ -TCP, : Mg-TCP, : Li-TCP, : Na-TCP,  $\times$ : K-TCP.

## 2.4 おわりに

本章では、 $\beta$ -TCP、一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP の高温焼成時における熱安定性を、 $\alpha$ -TCP 転化率や  $\beta$ - $\alpha$  相転移時の反応速度定数などを用いて評価した。また、二価金属( $\text{Mg}^{2+}$ )イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移時の反応速度定数とも比較し、固溶する金属イオンの価数(金属イオンが固溶する  $\beta$ -TCP 構造中の Ca サイト)が熱安定性に及ぼす影響を検討し、以下の結論をえた。

(1) 1100°C 以上での  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移は、焼成温度に関わらず不均一核成長反応であった。また、 $\beta$ - $\alpha$  相転移時の反応速度定数は、焼成温度の増加にともない増加した。

(2) 一価金属イオン固溶した  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移については、焼成温度、金属イオンの種類や添加量に関わらず不均一核成長反応であった。また、一価金属イオンの固溶で、 $\beta$  相の熱安定性は向上したが、固溶量が同じ場合、一価金属イオンの種類の違いは反応速度定数に対して影響がなかった。一価金属イオン固溶による熱安定性向上については、 $\beta$ -TCP 構造中の空孔を含む全 Ca サイトが一価金属イオンと  $\text{Ca}^{2+}$ イオンとで占有されたことで結晶構造が安定化したためと考えた。

(3)  $\beta$ -TCP への  $\text{Mg}^{2+}$ イオン固溶で熱安定性は向上し、これは、 $\beta$ -TCP 構造中の Ca(5)サイトへの二価金属イオンの固溶で結晶構造が最適化したためと考えた。また、Mg-TCP の熱安定性は、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の場合より高かったことから、二価金属イオン固溶による構造安定性は、一価金属イオン固溶におけるそれより高いこともわかった。

(4) 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移については、 $\beta$ -TCP にくらべて diffusion-controlled growth が支配的であり、これらの  $\beta$ - $\alpha$  相転移機構が異なることを明らかにした。

以上の結果より、一価金属イオンの  $\beta$ -TCP への固溶で  $\beta$  相の熱安定性は向上し、TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移温度以上における焼結体の高温焼成が可能であることが明らかになった。また、結晶構造の安定化は、生体吸収性にも影響を与えるため、その制御についてもこの構造の安定化が影響を与えるのではないかと考えた。これらについては、第 3 章と第 4 章にそれぞれ示す。



## 文 献

- 95) M. Yashima, A. Sakai, *Chem. Phys. Lett.*, **372**, 779 (2003).
- 96) K. Sugiyama, *Phys. Chem. Miner.*, **15**, 125 (1987).
- 97) 青木秀希, 丹羽滋郎, “バイオセラミックスの開発と臨床”, クインテッセンス出版 (1987) p. 86 .
- 98) H. Wang, *J. Biomed. Mater. Res. A.*, **67**, 599 (2003).
- 99) X. Wei, O. Ugurlu, A. Ankit, H. Y. Acar, M. Akinc, *Mater. Sci. Eng. C.*, **29**, 126 (2009).
- 100) J. Marchi, A. C. S. Dantas, P. Greil, J. C. Bressiani, A. H. A. Bressiani, F. A. Muller, *Mater. Res. Bull.*, **42**, 1040 (2007).
- 101) S. N. Radin, P. Ducheyne, *J. Biomed. Mater. Res.*, **27**, 35 (1993).
- 102) D. S. Metsger, T. D. Driskell, J. R. Paulsrud, *J. Am. Dent. Assoc.*, **105**, 1035 (1982).
- 103) L. L. Hench, J. Wilson, “An Introduction to Bioceramics. Adv. Series in Ceramics. Vol. 1”, World Scientific, USA (1998).
- 104) R. Z. LeGeros, “Calcium phosphate in Oral Biology and Medicine”, Karger, Basel (1991).
- 105) S. Kotani, Y. Fujita, T. Kitsugi, T. Nakamura, T. Yamamuro, C. Ohtsuki, T. Kokubo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **25**, 1303 (1991).
- 106) H. Yonezaki, T. Hayashi, T. Nakagawa, H. Kurosawa, K. Shibuya, K. Ioku, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **9**, 381 (1998).
- 107) C. P. A. T. Klein, A. A. Driessen, K. de Groot, *Biomaterials*, **5**, 157 (1984).
- 108) R. Enderle, F. Gotz-Neunhoeffler, M. Gobbels, F. A. Muller, P. Greil, *Biomaterials*, **26**, 3379 (2005).
- 109) F. Lin, C. Liao, K. Chen, J. Sun, *Biomaterials*, **19**, 1101 (1998).
- 110) H. Ryu, H. Youn, K. S. Hong, B. Chang, C. Lee, S. Chung, *Biomaterials*, **23**, 909 (2002).
- 111) K. Itatani, T. Nishioka, S. Seike, F. S. Howell, A. Kishioka, M. Kinoshita, *J. Am. Ceram. Soc.*, **77**, 801 (1994).
- 112) A. Ito, R. Z. LeGeros, “Magnesium- and Zinc-substituted beta-tricalcium phosphate as potential bone substitute biomaterials. Progress in bioceramics”, Trans Tech Publication, pStafa-Zurich, Switzerland (1991).
- 113) A. Ito, K. Senda, Y. Sogo, A. Oyane, A. Yamazaki, R. Z. LeGeros, *Biomed. Mater.*, **1**, 134 (2006).

- 114) X. Li, A. Ito, Y. Sogo, X. Wang, R. Z. LeGeros, *Acta Biomaterialia*, **5**, 508 (2009).
- 115) A. Ito, H. Kawamura, S. Miyakawa, P. Layrolle, N. Kanzaki, G. Treboux, K. Onuma, S. Tsutsumi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **60**, 224 (2002).
- 116) S. Kannan, J.M. Ventura, J. M. F. Ferreira, *Ceram. Int.*, **33**, 637 (2007).
- 117) I. Manjubala, T. S. S. Kumar, *J. Mater. Sci. Lett.*, **20**, 1225 (2001).
- 118) I. R. Gibson, W. Bonfield, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, **13**, 685 (2002).
- 119) S. Nakamura, K. Yamashita, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **177**, 2255 (2005).
- 120) R. G. Carrodegua, A. H. D. Aza, X. Turrillas, J.P. Penay, S. D. Aza, *J. Am. Ceram. Soc.*, **91**, 1281 (2008).
- 121) J. Ando, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **31**, 196 (1958).
- 122) J. Ando, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **31**, 201 (1958).
- 123) S. Kannan, I. A. F. Lemos, J. H. G. Rocha, J. M. F. Ferreira, *J. Solid State Chem.*, **178**, 3190 (2005).
- 124) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).
- 125) L. W. Schroeder, B. Dickens, W. E. Brown, *J. Solid State Chem.*, **22**, 253 (1977).
- 126) B. Dickens, L. W. Schroeder, W. E. Brown, *J. Solid State Chem.*, **10**, 232 (1974).
- 127) M. Avrami, *J. Chem. Phys.*, **7**, 1103 (1939).
- 128) M. Avrami, *J. Chem. Phys.*, **8**, 212 (1940).
- 129) M. Avrami, *J. Chem. Phys.*, **9**, 177 (1941).
- 130) H. Monma, M. Goto, *J. Ceram. Soc. Japan. (Yogyo-Kyokai-Shi)*, **91**, 473 (1983).
- 131) S. C. Liou, S. Y. Chen, *Biomaterials*, **23**, 4541 (2002).
- 132) M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa, *J. Solid State Chem.*, **175**, 272 (2003).
- 133) S. F. Hulbert, *J. Br. Ceram. Soc.*, **6**, 11 (1969).
- 134) V. A. Morozov, I. A. Presnyakov, A. A. Belik, S. S. Khasanov, B. I. Lazoryak, *Crystallography Reports*, **42**, 825 (1997).
- 135) R. D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, **A32**, 751 (1976).

## 第3章 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質

### 3.1 はじめに

$\beta$ 型リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)は、自家骨としたいに置換する生体吸収性セラミックスとして臨床応用されている<sup>1),2)</sup>。しかし、 $\beta$ -TCP ち密体の機械的強度は、ヒトのち密骨のそれにくらべて低く、それより使用範囲の制限や生体埋入後に再骨折の危険性などの問題があるため、現在臨床応用されている  $\beta$ -TCP はおもに多孔体である<sup>1)~9)</sup>。したがって、 $\beta$ -TCP の使用範囲の拡大などを目的として、水酸アパタイト(HAp)のようにち密体での使用を可能にするためには  $\beta$ -TCP のみの機械的強度を向上させることが重要であり、実際臨床応用の場でも機械的強度のすぐれた  $\beta$ -TCP 骨補填材が求められている<sup>10)</sup>。

$\beta$ -TCP の機械的強度を改善する方法の一つとして、金属酸化物を  $\beta$ -TCP に添加する方法がある。鳥山らは、MgO または  $Al_2O_3$  および  $SiO_2$  を添加した  $\beta$ -TCP 焼結体を作製し、その最大曲げ強度がそれぞれ 199MPa または 271MPa であることを報告している<sup>11),12)</sup>。また、Akao らは、 $ZrO_2$  を添加した  $\beta$ -TCP 焼結体の曲げ強度が最大 199MPa であることを報告している<sup>13)</sup>。しかし、これら金属酸化物添加による機械的強度の増加については、液相の生成によるち密化の促進、 $\beta$ -TCP 相の熱安定化、およびガラス相生成の抑制( $AlPO_4$  の存在する場合)に起因するとされているが、金属イオン固溶のみによる機械的強度への影響については明らかにされていない<sup>11)~14)</sup>。

金属イオンの固溶が機械的性質に及ぼす影響については、Yoshida らが、ホットプレスで作製した一価金属イオン( $Li^+$ 、 $Na^+$ および  $K^+$ イオン)または二価金属イオン( $Mg^{2+}$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP 焼結体について報告している<sup>15)</sup>が、焼成温度が  $1100^\circ C$  と一定であり、焼成温度変化についての検討は行っていない。さらに Yoshida らは、常圧焼結法で作製した一価および二価金属イオン同時固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の機械的性質についても報告している<sup>16)</sup>が、常圧焼結法による一価金属イオン単独固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の機械的性質については、これまでに報告がない。

一般に機械的強度の高い焼結体を作製するには、高温焼成が必要だが、 $\beta$ -TCP は  $1150\pm 30^\circ C$  焼成で機械的強度の低い  $\alpha$ -TCP に相転移する<sup>17)</sup>。前章で  $\beta$ -TCP への一価金属イオン( $Li^+$ 、 $Na^+$ および  $K^+$ イオン)固溶が結晶構造を安定化させ、 $\beta$ - $\alpha$  相転移温度も上昇することを示した。したがって、一価金属イオン固溶では、より高温での焼結体作製が可能になる。

そこで本章では、薬剤(坑うつ剤)と使用されている  $Li^+$ イオン、および骨形成を促進するとされる  $Na^+$ または  $K^+$ イオンを固溶した  $\beta$ -TCP( $Li$ -TCP、 $Na$ -TCP、 $K$ -TCP)焼結体を作製後、一価金属( $Li^+$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$ )イオン固溶や焼成条件が機械的性質に及ぼす影響について検討する。

## 3.2 実 験

### 3.2.1 作 製

一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の作製では、リン酸水素カルシウム二水和物 ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 一級, 98%, キシダ化学製), 炭酸カルシウム ( $\text{CaCO}_3$ ; 特級, 99.5%, キシダ化学製) および一価金属イオン源として炭酸リチウム ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ; 特級, 99%, キシダ化学製), 炭酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; 特級, 99.5%, キシダ化学製), 炭酸カリウム ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; 特級, 99.5%, キシダ化学製) を出発原料にした。各一価金属イオン添加量については、 $\beta$ -TCP 構造中の空孔を考慮した全 Ca サイトに対して 0, 2.0, 4.0, 6.0, 9.09, 12, 14 mol% とし、 $(\text{Ca}+2\text{M})/\text{P}=1.50$  ( $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ ) の組成となるように出発原料を調合した。出発原料の配合比を表 3.1 に示した。各配合試料については、エタノール中、アルミナボールを用いたボールミルで 48 時間湿式混合後、ロータリーエバポレーター (N-1000, EYELA 製) を用いてエタノール除去した。えられた各混合試料は大気雰囲気下、900°C, 5 時間仮焼した。

仮焼粉末は 75  $\mu\text{m}$  以下に分級後、7.0g 秤量し、金型 (45×20mm) およびハンドプレス機 (CDM-20M-100, リケン製) を用いて一軸加圧成形 (32MPa, 1 分間) した。一軸加圧成形した成形体を真空包装した後、手動水圧ポンプ (WUP-21-057, リケン製) を用いて、乳化油 (hydrolube, 日機装社製) を微量に添加した水溶媒中で冷間静水圧プレス成形 (200MPa, 1 分間) した。成形体は大気雰囲気下、1100°C, 24 時間焼成した。

### 3.2.2 評 価

作製した焼結体については、2.2.2 に示した方法で X 線回折や格子定数の精密化を行った。また、その機械的性質の評価には、三点曲げ試験、開気孔率、かさ密度や平均粒子径の各測定および微構造観察を以下の方法で行った。

#### 3.2.2.1 三点曲げ試験

作製した焼結体は、低速切断機 (ISOMET<sup>tm</sup>, BUEHLER 製) を使用して切断後、研磨機 (ダイアラップ ML-150, マルトー製) を用いて 200 番と 400 番の耐水研磨紙で研磨と面取りを行い、3.0×4.0×35mm (ともに  $\pm 0.1\text{mm}$ ) の試験片を作製した。作製した試験片について JIS R 1601 に基づき下記の条件で、オートグラフ (AG-1kN, 島津製作所製) を用いた三点曲げ試験を行った。

支点間距離: 30mm

クロスヘッド速度: 0.5mm·min<sup>-1</sup>

試料片本数: 5~10 本

試験温度: 室温

試験雰囲気: 大気雰囲気

三点曲げ試験における最大荷重および試験条件を次式に代入し、曲げ強度を算出した。

$$\sigma = \frac{3PL}{2Wt^2}$$

ここで， $\sigma$  は三点曲げ強さ(MPa)， $P$  は試験片が破壊したときの最大荷重(N)， $L$  は支点間距離(mm)， $w$  は試験片の幅(mm)， $t$  は試験片の厚さ(mm)である．

### 3.2.2.2. アルキメデス法によるかさ密度および開気孔率測定

焼結体のかさ密度および開気孔率については，アルキメデス法(JIS R 2205)を用いて測定した．このときの溶媒には蒸留水を用いた．かさ密度と開気孔率については下記の式より算出した．

かさ密度:  $D_b / \text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$

$$D_b = \frac{W_1}{(W_3 - W_2)} \times S$$

開気孔率:  $P_0 / \%$

$$P_0 = \frac{(W_3 - W_1)}{(W_3 - W_2)} \times 100$$

ここで， $W_1$  は試料の乾燥重量(g)， $W_2$  は飽水試料の水中重量(g)， $W_3$  は飽水試料の質量(g)， $S$  は水(蒸留水)の密度( $1.0 \text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ )である．

### 3.2.2.3 微構造観察

焼結体の微構造の観察には，走査型電子顕微鏡(SEM，VE-7800，KEYENCE 製)を使用した．作製した焼結体については，研磨機(ダイアラップ ML-150，マルトー製)を使用し，200，400，800，1500 番の耐水研磨紙，およびラッピングダイヤ液(MM-130)やポリシングダイヤ液(MM-140)を用いて鏡面研磨した後，大気雰囲気下，1000°C，5 時間焼成でサーマルエッチングを行った．サーマルエッチング後の試料をイオンスパッタ装置(0.75kV，35mA，FINE CORT FC-1100，真空デバイス製)で金蒸着を行い検鏡試料にした．

### 3.3.3.4 平均粒子径測定<sup>18)~20)</sup>

前節の微構造 SEM 写真をもとにインターセプト法で焼結体の平均粒子径を求めた．焼結体は結晶粒子の集合体のため微構造を観察すると，図 3.1 のように切断した面によって結晶粒子の大きさは異なって見えるため，それを補正する必要がある．まず，SEM 写真上に等間隔で直線を引き，これらの直線と結晶粒界との交点から図 3.2 のような見掛けの結晶粒子径( $d_1, d_2, d_3 \dots d_{200}$ )を求め，この大きさに統計的な補正值( $\pi/2$ )をかけて実際の粒子径( $G_{true}$ )を以下の式で算出した．

$$G_{true}=d_n\times C$$

ここで、 $d_n$ は見掛けの結晶粒子径、 $C$ は定数( $=\pi/2$ )である。また、焼結体一試料当たり 200 個以上の結晶粒子を測定した。

Table 3.1 Chemical composition of  $\beta$ -TCP ceramics containing several amounts of monovalent metal ions.

	Amount of metal ions / mol%	Composition / mol		
		$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCO}_3$	$\text{Li}_2\text{CO}_3$ $\text{Na}_2\text{CO}_3$ $\text{K}_2\text{CO}_3$
$\beta$ -TCP <sup>a)</sup>		1.000	0.500	
	2.00	1.000	0.485	0.030
	4.00	1.000	0.470	0.060
Li-TCP <sup>b)</sup>	6.00	1.000	0.455	0.090
Na-TCP <sup>c)</sup>	9.09	1.000	0.432	0.136
K-TCP <sup>d)</sup>	12.0	1.000	0.410	0.180
	14.0	1.000	0.395	0.210

<sup>a</sup>  $\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate ceramics

<sup>b</sup> Li-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate ceramics containing  $\text{Li}^+$  ions

<sup>c</sup> Na-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate ceramics containing  $\text{Na}^+$  ions

<sup>d</sup> K-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate ceramics containing  $\text{K}^+$  ions

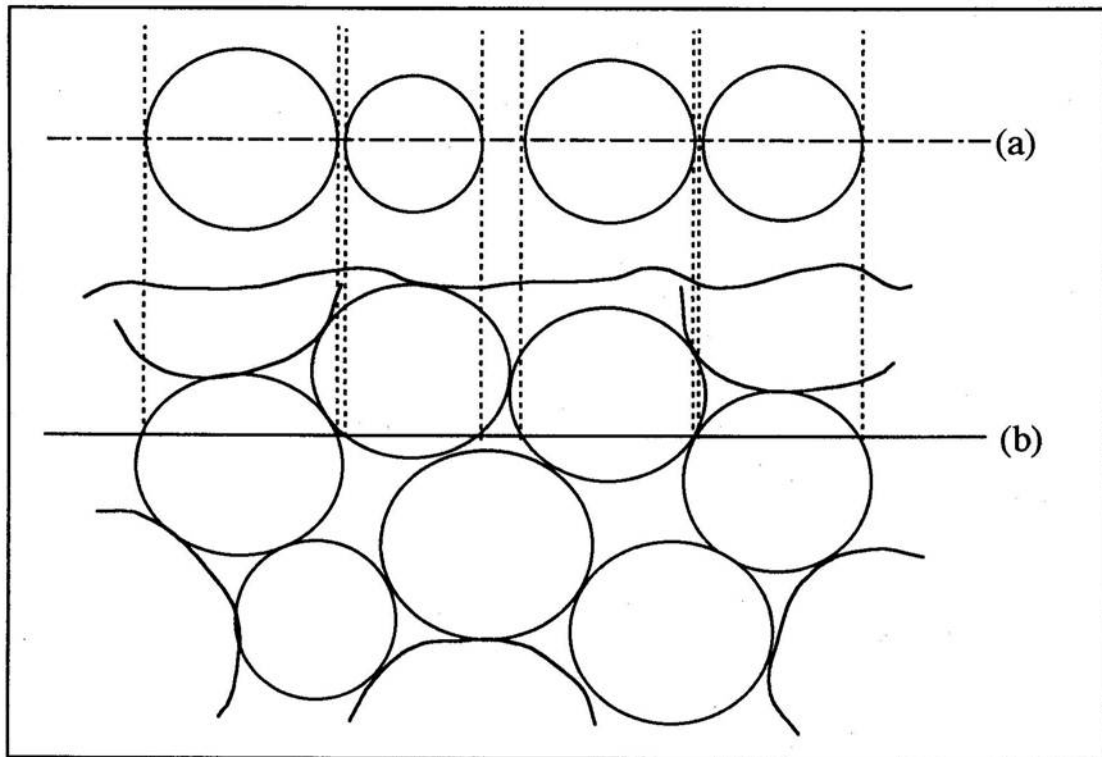


Fig. 3.1 Microstructure of the sintered body observed from directly above (a) and cross-section (b).



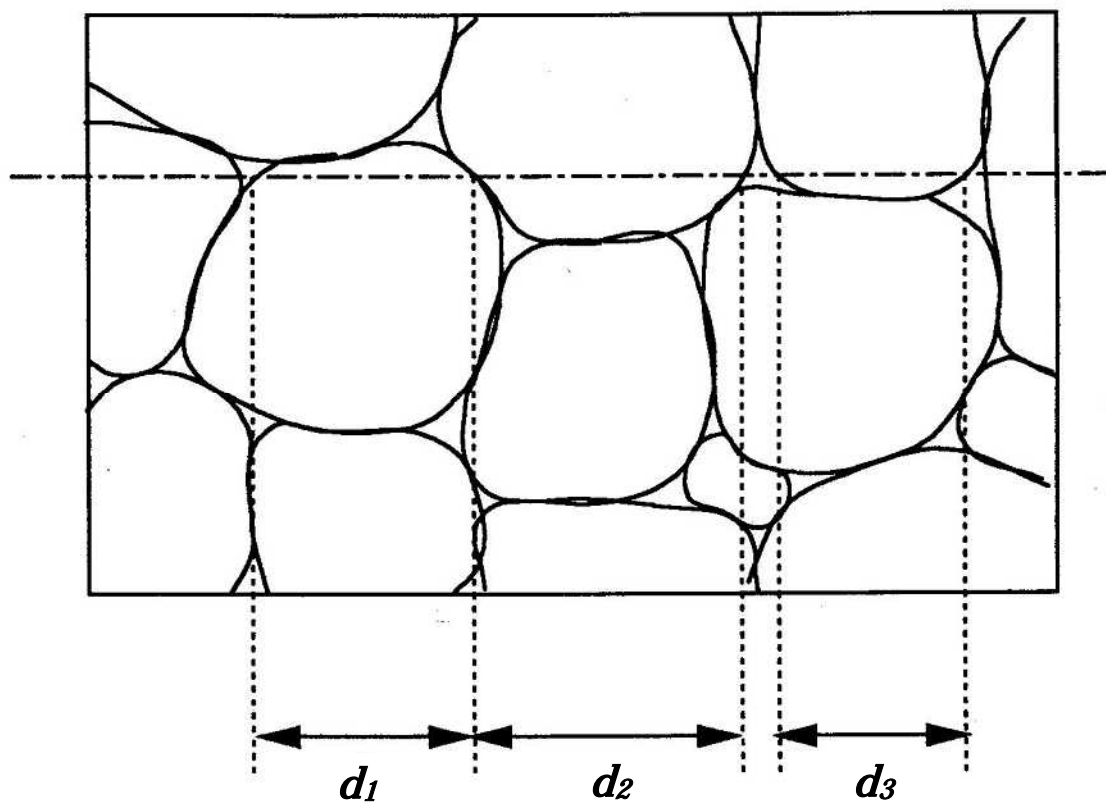


Fig. 3.2 Calculation method of the average grain size from the microstructure of the sintered body.

### 3.3 結果および考察

#### 3.3.1 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の結晶相と固溶形態

図 3.3~図 3.5 には、一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ イオン)添加量と焼成温度とを変化させた  $\beta$ -TCP 焼結体の X 線回折図を示した。金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 焼結体の結晶相は、1100°C 焼成で  $\beta$ -TCP 単相, 1150°C 焼成で  $\beta$ -TCP と  $\alpha$ -TCP の混合相, 1200°C では  $\alpha$ -TCP 単相であった。しかし、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体のそれは、焼成温度、および金属イオンの種類や添加量に関わらず金属イオン添加量 9.09mol%まで、すべて  $\beta$ -TCP 単相であった。一方、金属イオン添加量が 9.09mol%を超えると、 $\beta$ -TCP にくわえ添加金属イオンに応じた微量の  $\text{CaLiPO}_4$ ,  $\text{CaNaPO}_4$ ,  $\text{CaKPO}_4$  の生成をそれぞれ認めた。

図 3.6~図 3.8 には、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の金属イオン添加量変化に対する格子定数を示した。 $\text{Li}^+$ イオン固溶  $\beta$ -TCP (Li-TCP)の場合、 $\text{Li}^+$ イオン添加量に関わらず  $c$ 軸は一定であったが、 $a$ 軸は 9.09mol%まで直線的に減少し、その後一定であった。 $\text{Na}^+$ イオン固溶  $\beta$ -TCP (Na-TCP)の場合は、 $\text{Na}^+$ イオン添加量が増加しても  $a$ 軸は一定であったが、 $c$ 軸は 9.09mol%まで直線的に減少し、その後一定となった。また、 $\text{K}^+$ イオン固溶  $\beta$ -TCP (K-TCP)の場合は、9.09mol%まで  $a$ 軸は増加、 $c$ 軸は減少した後、ともに一定値であった。

この格子定数変化は、Yoshida らの報告した 1000°C 焼成した一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP 粉末のそれと一致した<sup>21)</sup>。これより、一価金属イオンは、焼成温度に関わらず  $\beta$ -TCP 構造中の  $\text{Ca}(4)$  サイトと空孔とに 9.09mol%まで固溶したことを認めた。また、これらの格子定数の違いについては、 $\text{Ca}^{2+}$ イオン[0.100nm(6 配位)]と各一価金属イオン[ $\text{Li}^+$ イオン: 0.076nm,  $\text{Na}^+$ イオン: 0.102nm,  $\text{K}^+$ イオン: 0.138nm (すべて 6 配位)]のイオン半径比の違いに起因すると考えた。

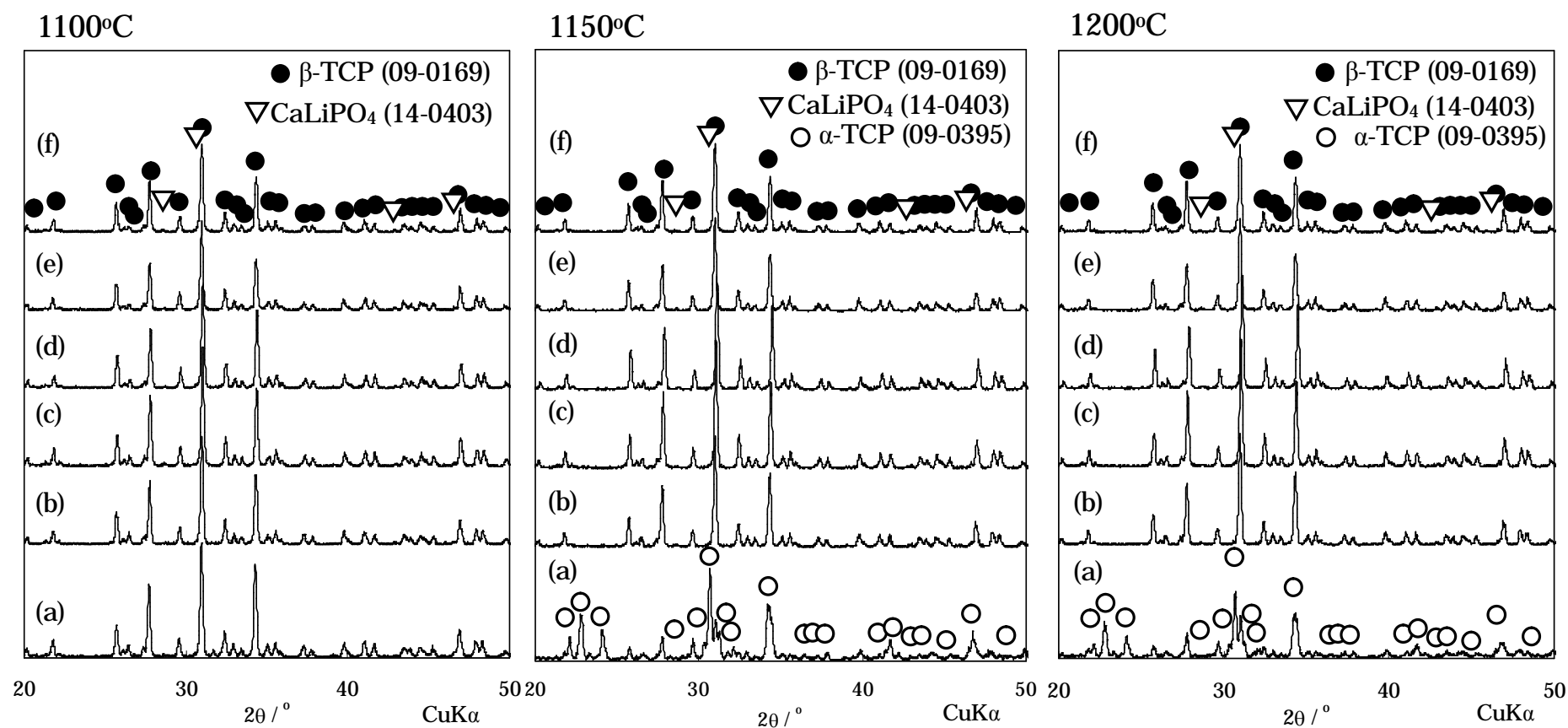


Fig. 3.3 XRD patterns of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions. Sintering condition: 1100°C, 1150°C, 1200°C for 24h, in air. (a) 0mol%, (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 9.09mol%, (e) 12mol%, (f) 14mol%.

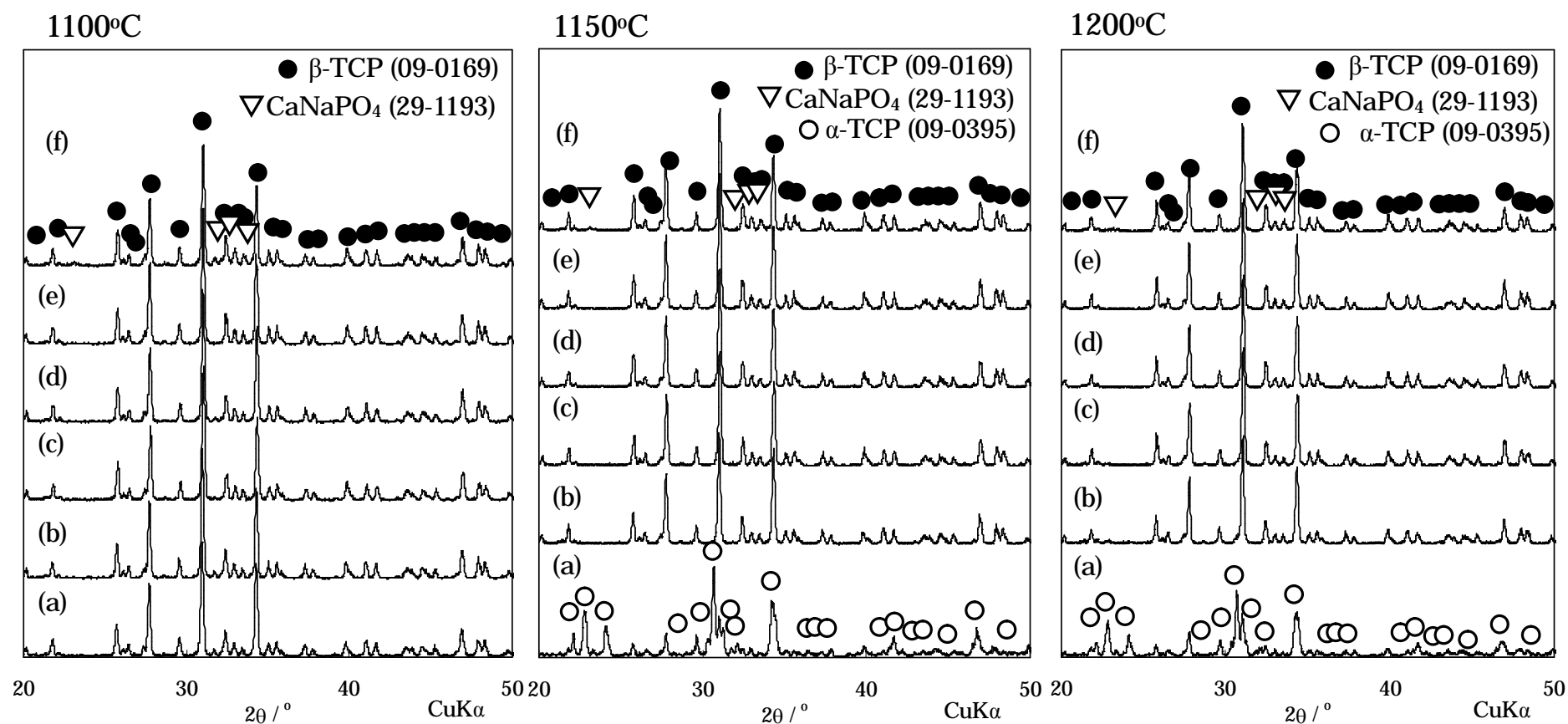


Fig. 3.4 XRD patterns of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Na}^+$  ions. Sintering condition: 1100°C, 1150°C, 1200°C for 24h, in air. (a) 0mol%, (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 9.09mol%, (e) 12mol%, (f) 14mol%.

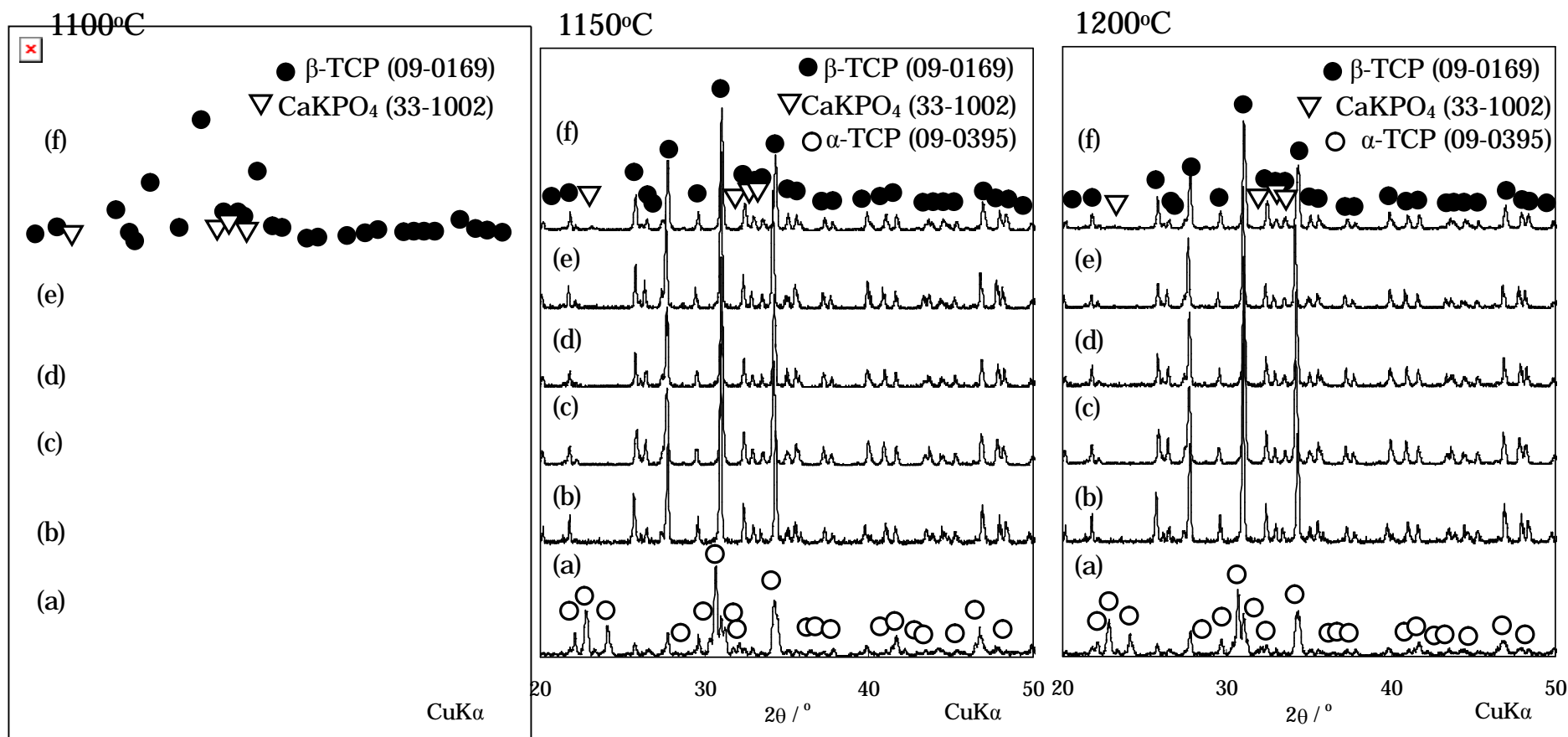


Fig. 3.5 XRD patterns of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $K^+$  ions. Sintering condition: 1100°C, 1150°C, 1200°C for 24h, in air. (a) 0mol%, (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 9.09mol%, (e) 12mol%, (f) 14mol%.

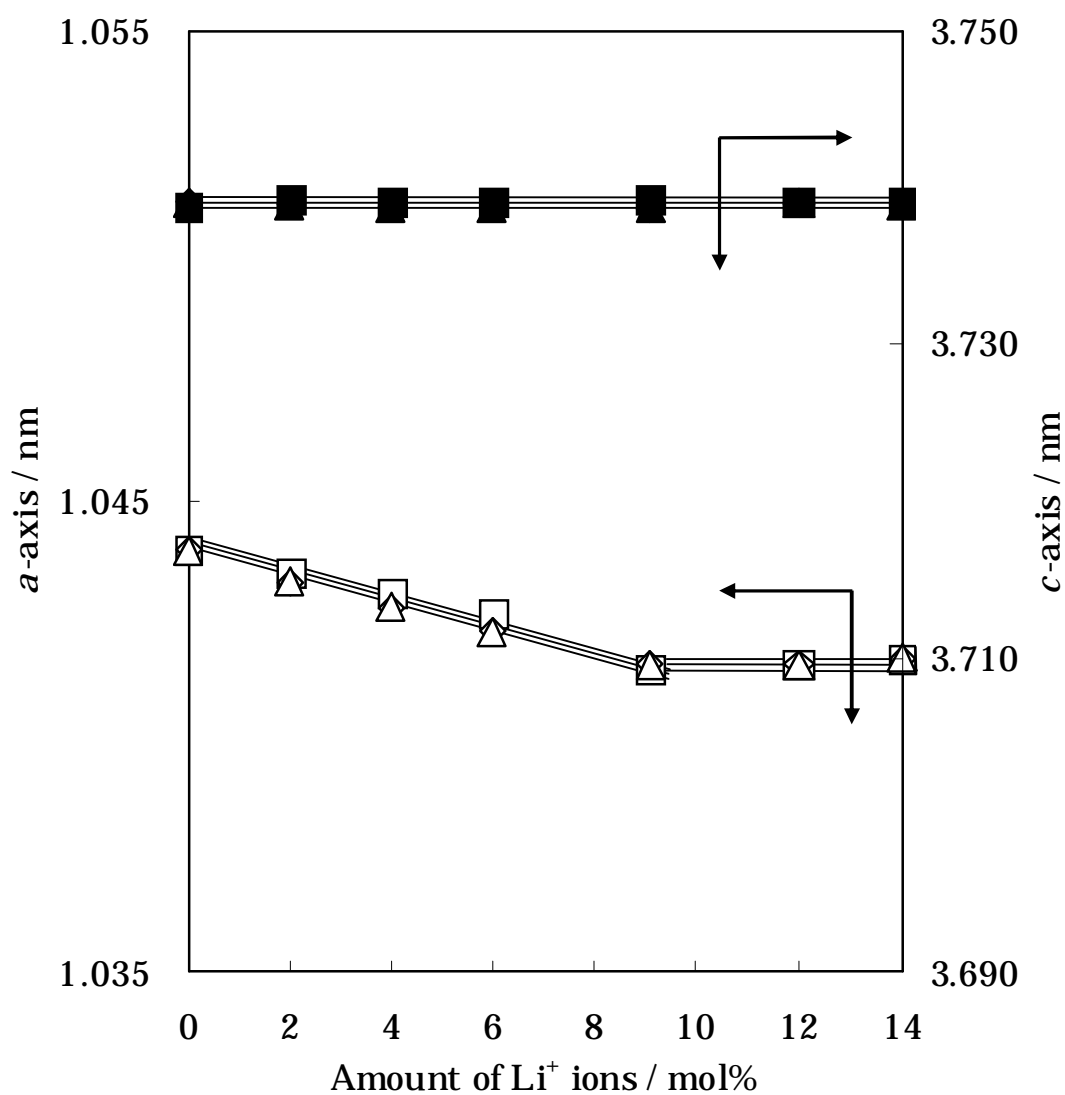


Fig. 3.6 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions sintered at several temperatures. : 1100°C, : 1150°C, : 1200°C.

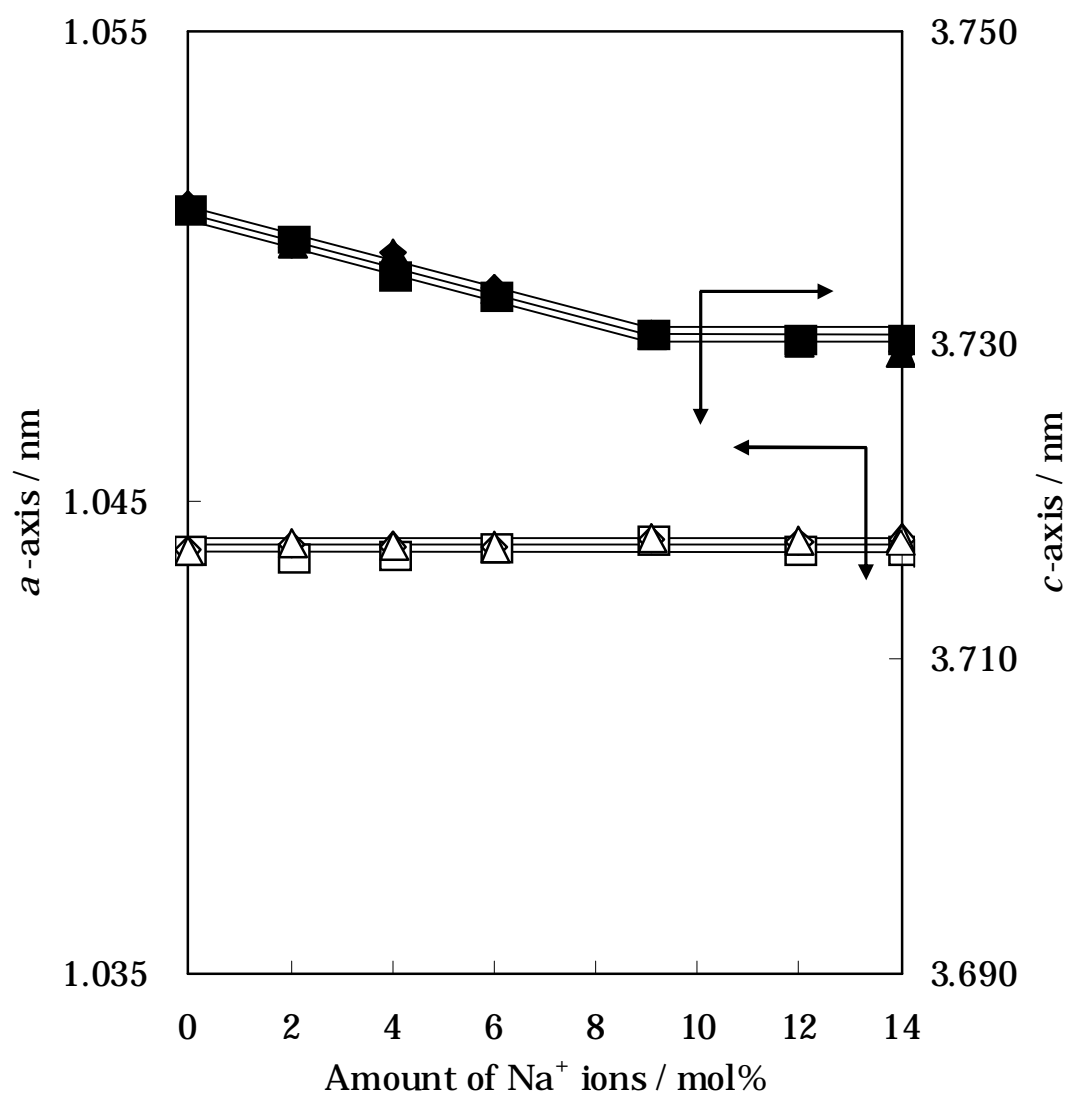


Fig. 3.7 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Na}^+$  ions sintered at several temperatures. : 1100°C, : 1150°C, : 1200°C.

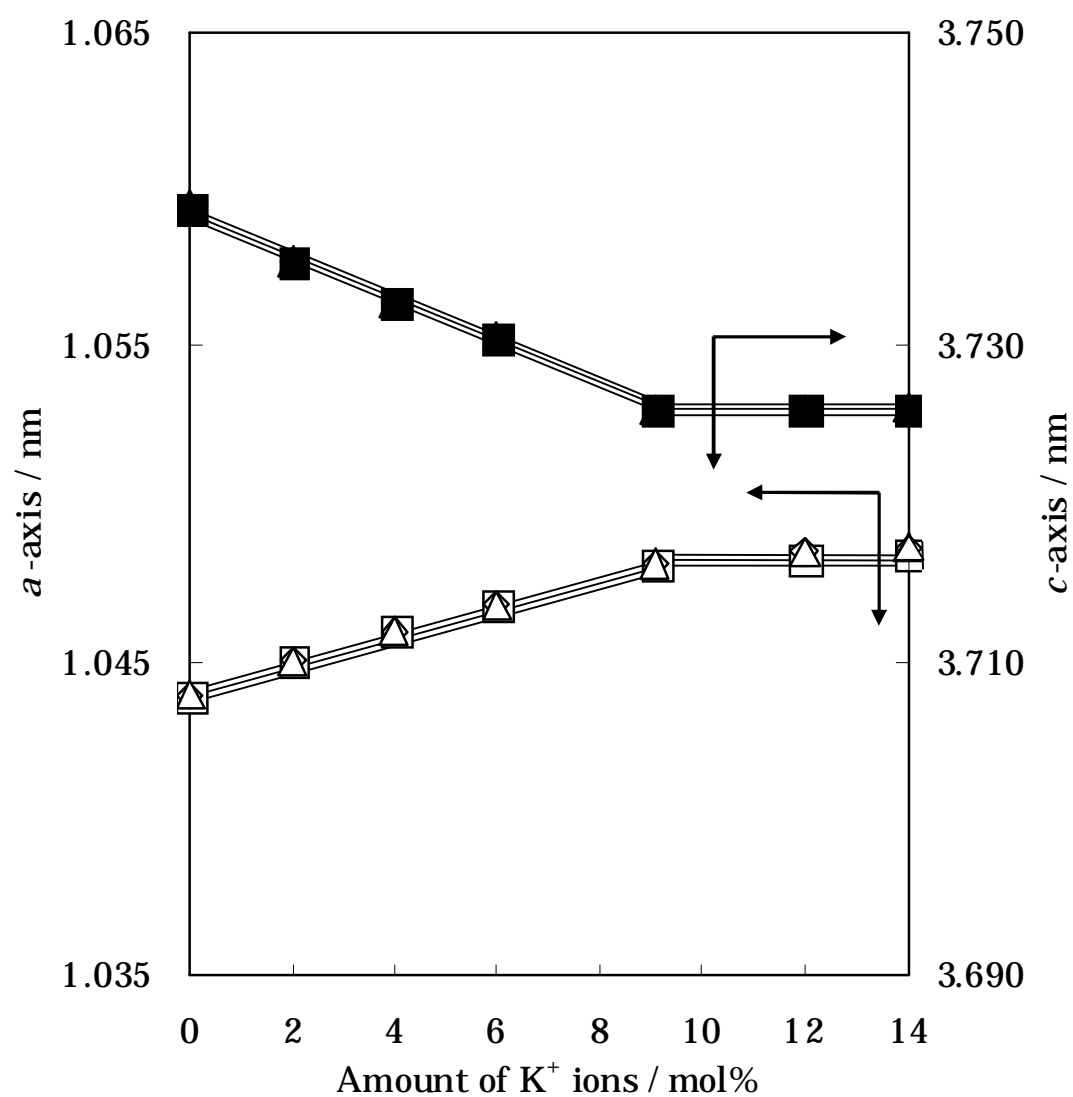


Fig. 3.8 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $K^+$  ions sintered at several temperatures. : 1100°C, : 1150°C, : 1200°C.



### 3.3.2 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの機械的性質

図 3.9 に、 $\text{Li}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ イオンの各添加量と焼成温度とを変化させた焼結体の曲げ強度を示した。Li-TCP 焼結体の場合、焼成温度に関わらず曲げ強度は  $\text{Li}^+$ イオン添加量 2.0mol%まで増加した後、9.09mol%まで緩やかに減少し、それ以上の添加量では急激に低下した。それに対して、Na-TCP および K-TCP 各焼結体の曲げ強度の場合は、Li-TCP の場合とは異なり、それぞれ最大固溶量の 9.09mol%まで増加し、それ以後急激に低下する傾向を示した。なお、いずれの試料も焼成温度が高くなると曲げ強度は減少し、金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 焼結体の場合には 1150°C 以上で機械的強度の低い  $\alpha$ -TCP を形成したため、曲げ強度が減少した。

図 3.10 および図 3.11 には、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の開気孔率とかさ密度をそれぞれ示した。Li-TCP 焼結体の場合、かさ密度は  $\text{Li}^+$ イオン固溶量 2.0mol%まで増加し、その後 9.09mol%まで一定で、それ以上の添加量では減少し、開気孔率はその逆の傾向を示した。一方、Na-TCP および K-TCP 焼結体の場合は、金属イオン添加量の増加でいずれも 9.09mol%までかさ密度は増加し、開気孔率はそれに対して減少した。なお、いずれの焼結体も 9.09mol%を超えると、かさ密度は減少し、開気孔率は増加した。

Li-TCP、Na-TCP および K-TCP 各焼結体の微構造を図 3.12~図 3.14 に、それらから求めた平均粒子径を図 3.15 に、それぞれ示した。Li-TCP 焼結体の場合、 $\text{Li}^+$ イオン固溶量 2.0mol%で焼結体における粒子径は増加、気孔は減少し、焼結性が少量の  $\text{Li}^+$ イオン添加でいちじるしく向上したことを認めた。2.0mol%以上の場合、粒子径はさらに増加し、粒界面積が減少したため、曲げ強度がゆるやかに減少した。また、最大固溶量の 9.09mol%を超えると粒子径がいちじるしく増加し、それにともない粒内気孔(閉気孔)も増加し、さらにクラックも発生したため、曲げ強度は急激に減少した。

一方の Na-TCP および K-TCP の各焼結体の場合は最大固溶量の 9.09mol%まで粒子径は増加したが、Li-TCP の場合にくらべて気孔は多く、焼結性も低かった。しかし、いずれの場合も金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 焼結体の場合とくらべると粒子径は増加し、焼結性は向上した。また、9.09mol%をこえると、Li-TCP 焼結体の場合と同様に、クラックの発生や気孔(閉気孔)の増加を認めたため、曲げ強度は急激に低下した。

また、各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体について、金属イオンの種類に関わらず焼成温度の増加にともない粒子径は増加したため、粒界面積の減少から、曲げ強度は減少したと考えた。

焼結体の焼結性は、さまざまな要因に依存する。Yoshida らは、 $\beta$ -TCP 構造の理論密度が焼結性に影響し、格子体積の低下で密度は増加し、焼結性は向上するとしている。<sup>15)</sup> 図 3.16 には、各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の格子定数より算出したそれぞれの格子体積を示した。なお、各格子定数は焼成温度に依存しなかったため、格子体積は 1100°C 焼成した焼結体の格子定数から算出した。図 3.16 より、 $\beta$ -TCP にくらべて小さい格子体

積の Li-TCP および Na-TCP の焼結性では向上することは考えられたが、K-TCP の場合、格子体積は増加したにも関わらずその焼結体の焼結性は向上した。また、Li-TCP と Na-TCP の格子体積にほとんど違いはなかったが、Li-TCP の焼結性は Na-TCP のそれより向上したことから、焼結体の焼結性と理論密度との関連性を明らかにするまでに至らなかった。

一方で、焼結体の焼結性は、焼結過程での初期、中期、終期焼結の速度式から、表面エネルギー、拡散係数、および粒径に依存する<sup>22)</sup>。また、セラミックスの焼結については、金属イオンの固溶がその焼結過程、とくに拡散係数に影響を及ぼし、それより焼結性が変化する。一般に拡散係数の大きな物質ほど焼結過程における表面拡散や体積拡散などが進行し、焼結性は向上する。

したがって、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の場合には、金属イオン固溶によりそれらの拡散係数は増加し、焼結性が向上したことから、機械的性質も向上したと考えた。

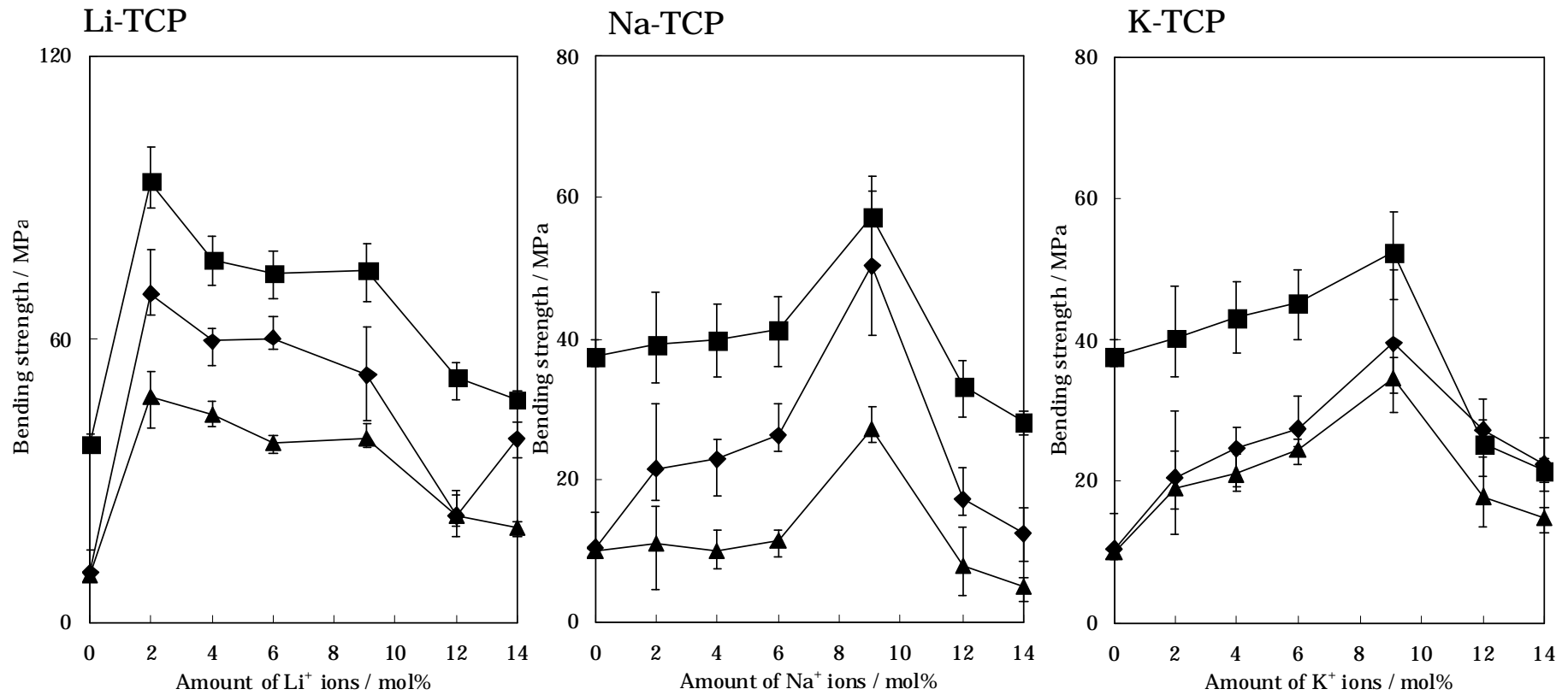


Fig. 3.9 Bending strength of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of Li<sup>+</sup> ions, Na<sup>+</sup> ions, and K<sup>+</sup> ions sintered at several temperatures for 24h in air. : 1100°C, : 1150°C, : 1200°C.

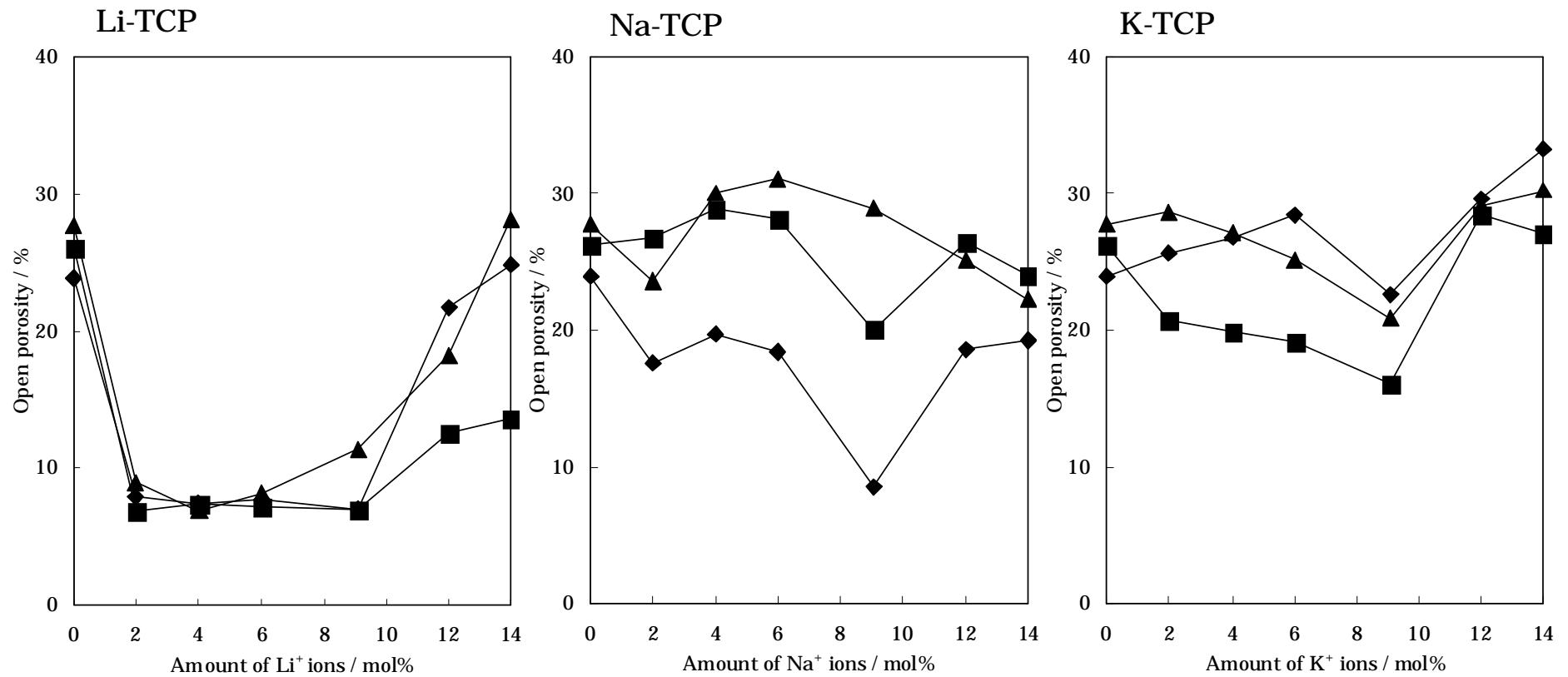


Fig. 3.10 Open porosity of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions sintered at several temperatures for 24h in air.  $\blacktriangle$  : 1100°C,  $\blacksquare$  : 1150°C,  $\blacklozenge$  : 1200°C.

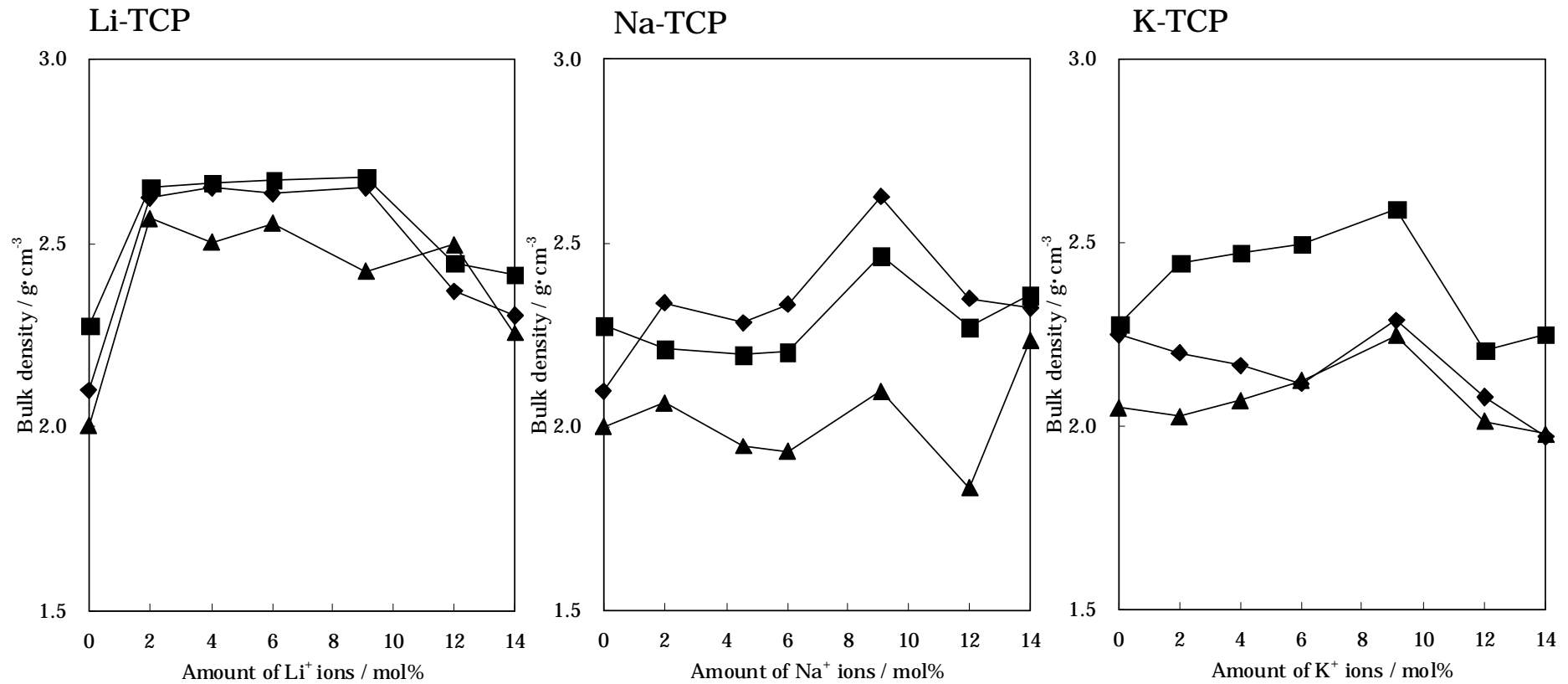


Fig. 3.10 Bulk density of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of Li<sup>+</sup> ions, Na<sup>+</sup> ions, and K<sup>+</sup> ions sintered at several temperatures for 24h in air. : 1100°C, : 1150°C, : 1200°C.

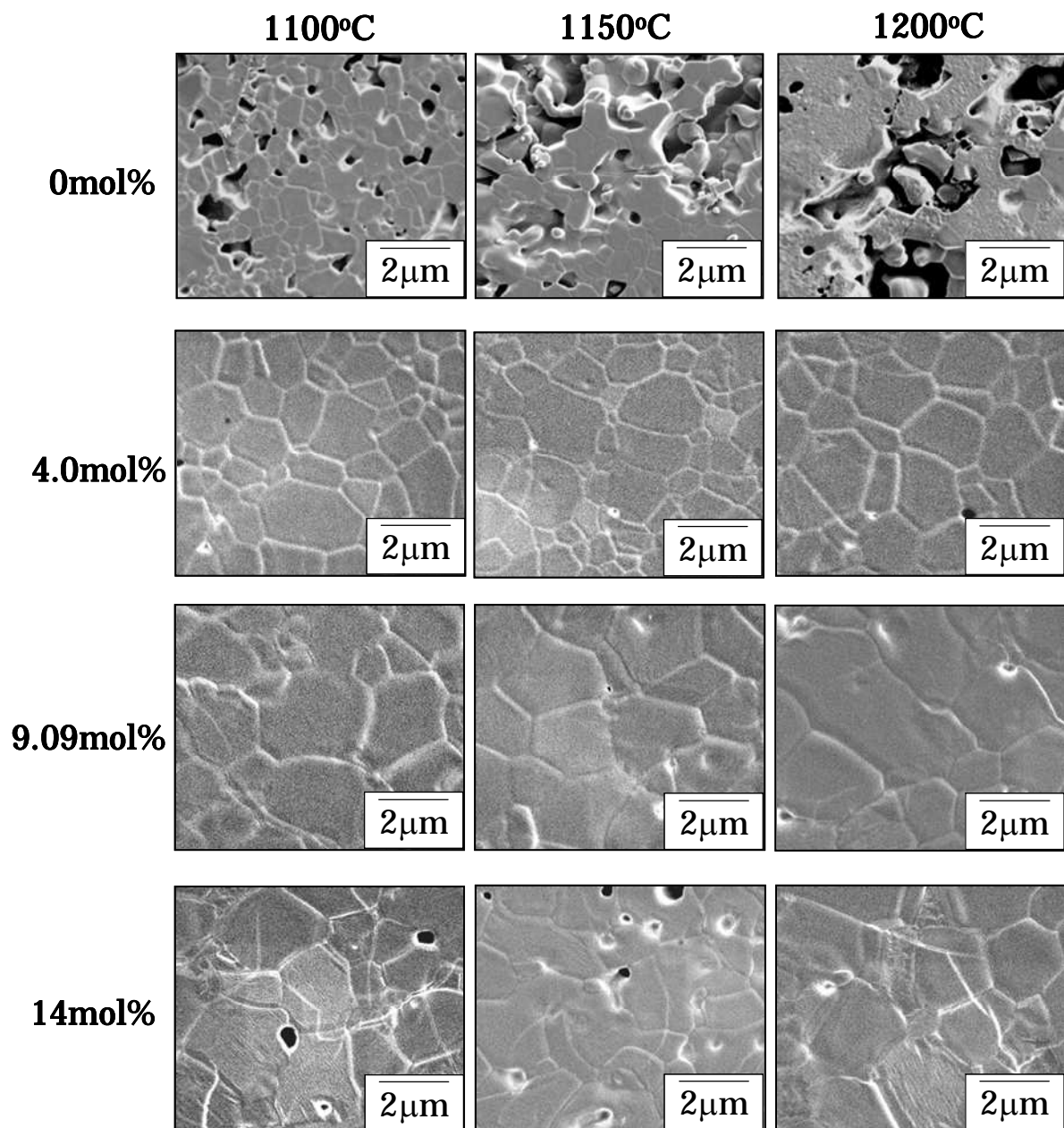


Fig. 3.11 Microstructure of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions sintered at several temperatures.

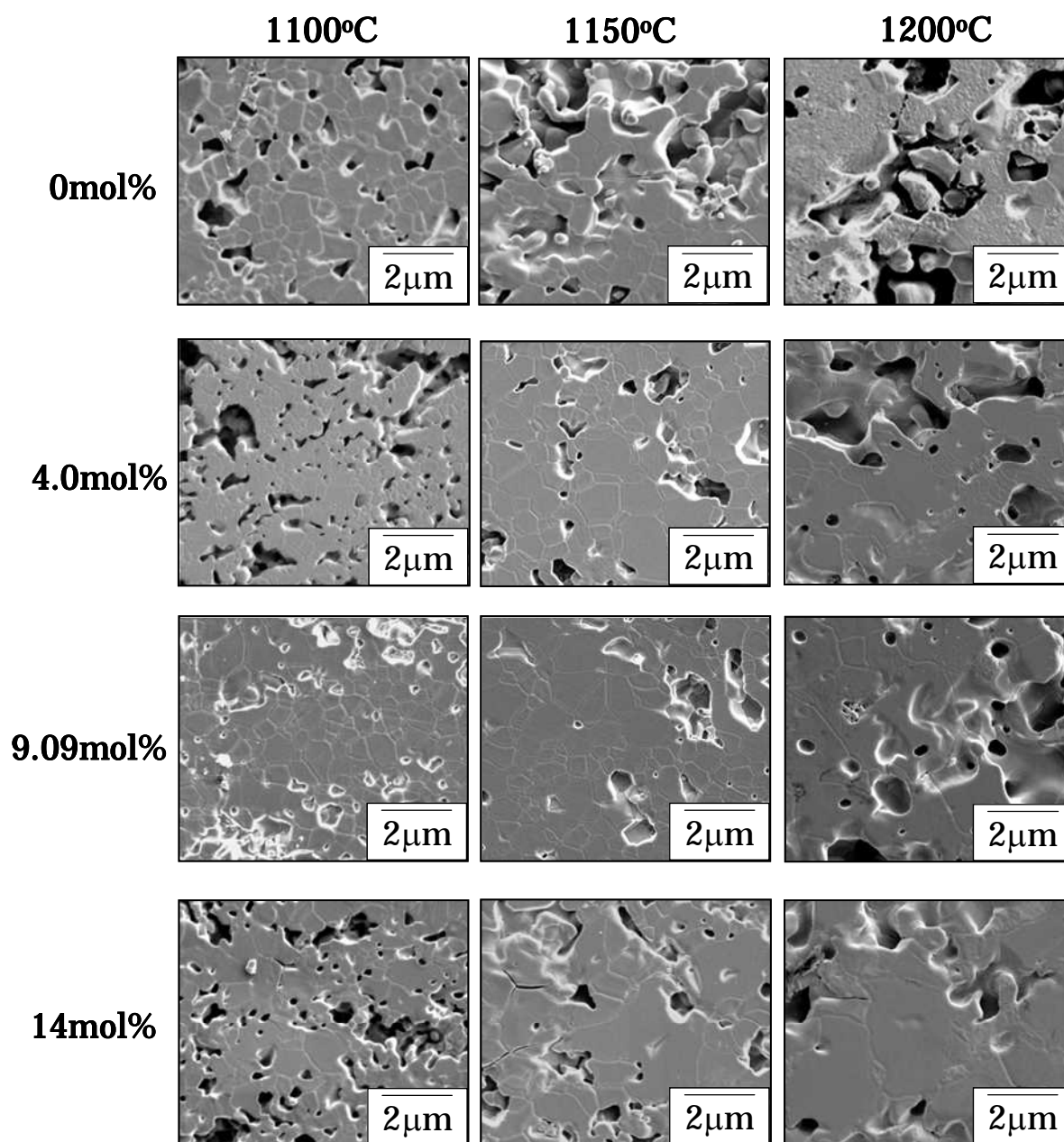


Fig. 3.12 Microstructure of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{Na}^+$  ions sintered at several temperatures.

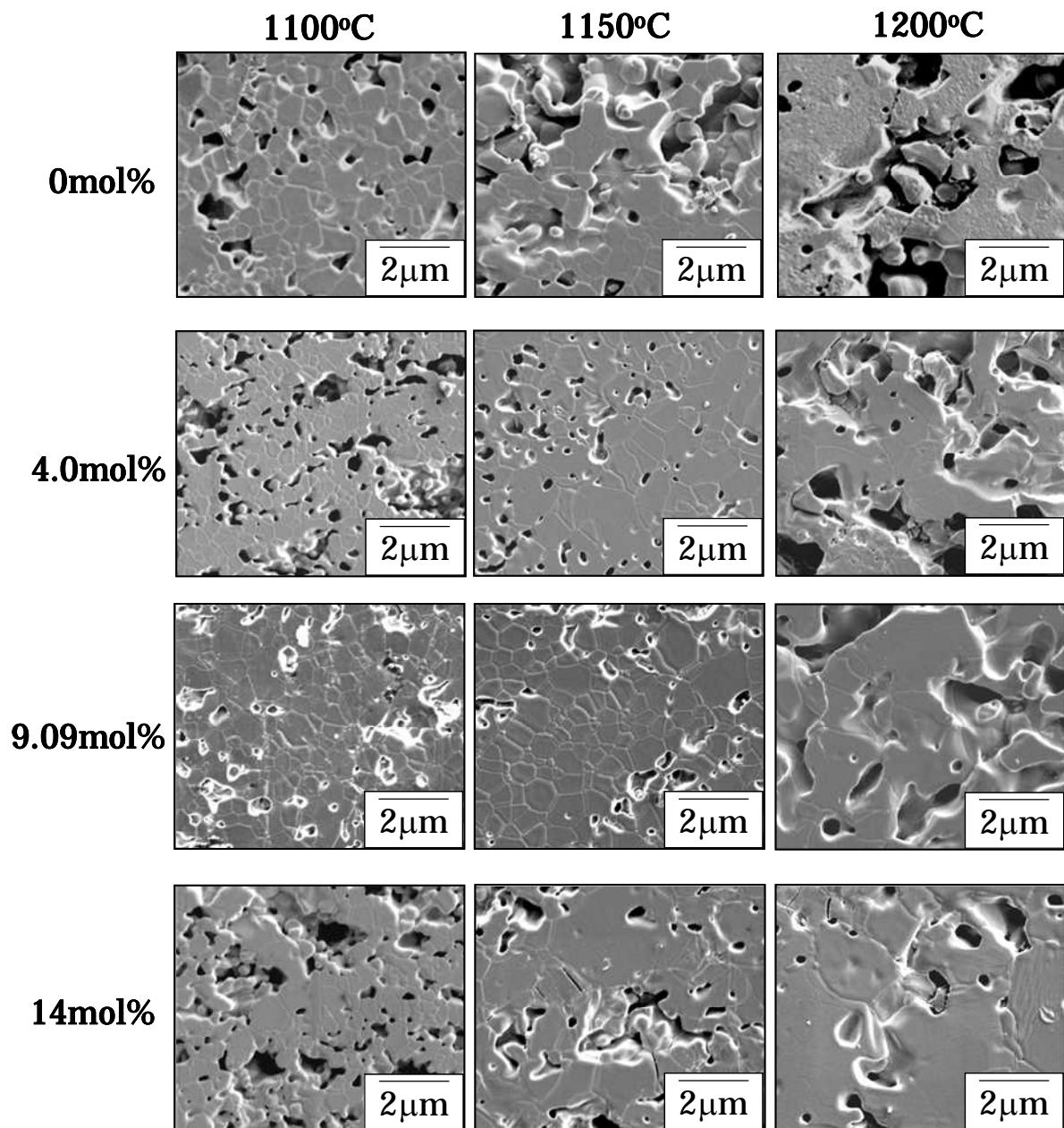


Fig. 3.14 Microstructure of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $K^+$  ions sintered at several temperatures.



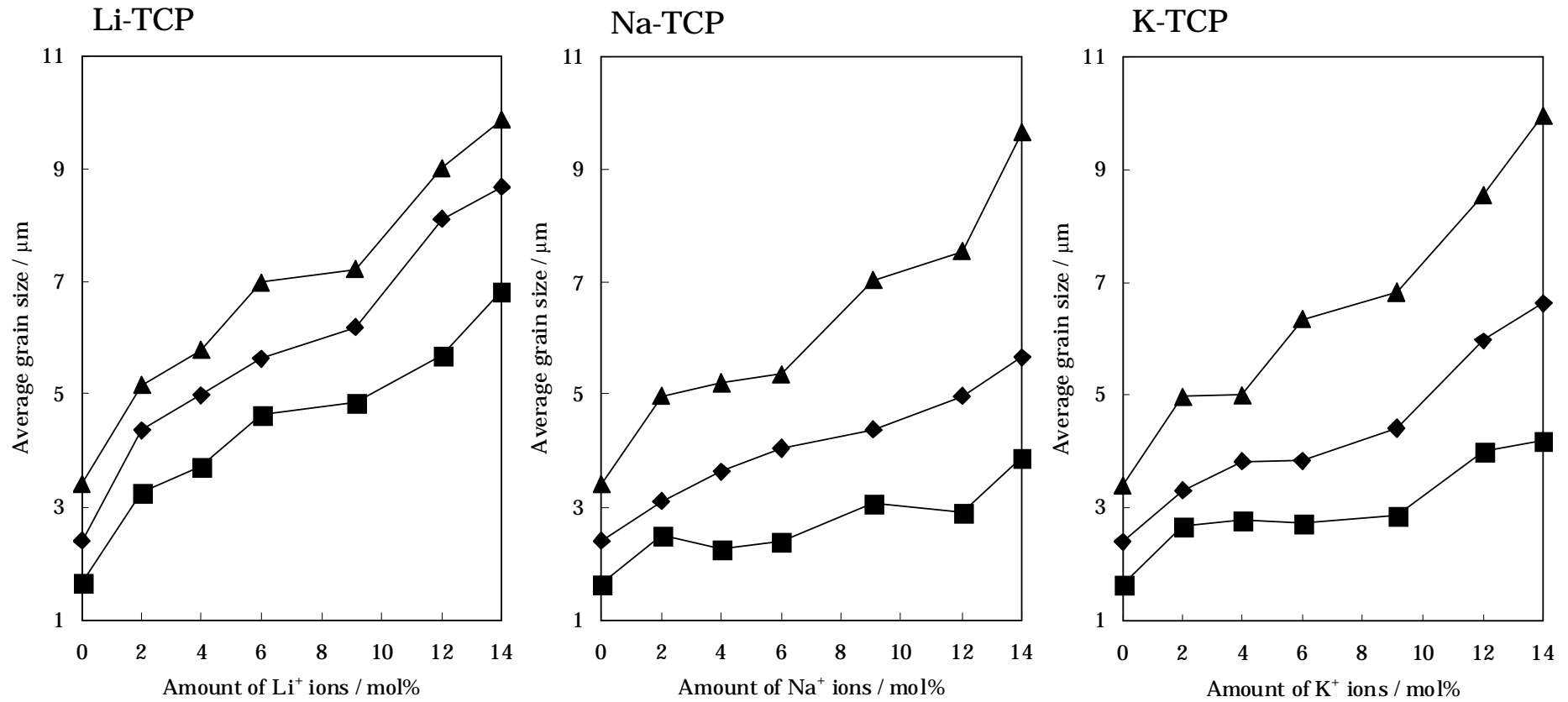


Fig. 3.15 Average grain size of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of Li<sup>+</sup> ions, Na<sup>+</sup> ions, and K<sup>+</sup> ions sintered at several temperatures for 24h in air. : 1100°C, : 1150°C, : 1200°C.

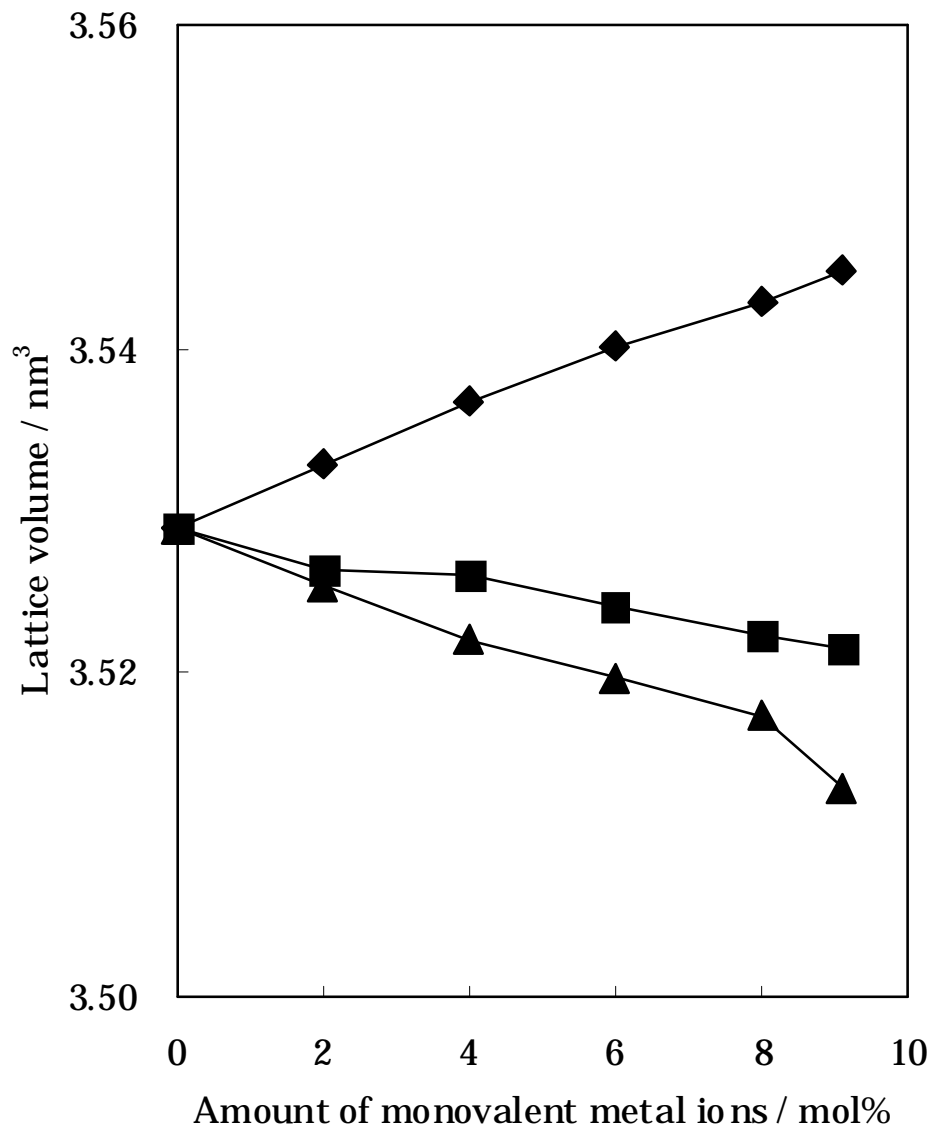


Fig. 3.16 Lattice volume of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of monovalent metal ions sintered at 1100°C for 24h in air.  $\blacklozenge$  : Li<sup>+</sup> ions,  $\blacksquare$  : Na<sup>+</sup> ions,  $\blacktriangle$  : K<sup>+</sup> ions.

### 3.4 おわりに

本章では、一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の機械的強度を評価した後、機械的性質に及ぼす一価金属イオン固溶の影響を検討し、以下の結論をえた。

(1) 金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 焼結体の結晶相は、1000°C 焼成で  $\beta$ -TCP 単相、1150°C 焼成で  $\beta$ -TCP と  $\alpha$ -TCP の混合相、1200°C では  $\alpha$ -TCP 単相であった。一方、各一価金属イオンは  $\beta$ -TCP 構造中の Ca(4)サイトと空孔とに 9.09mol%まで固溶し、各一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の結晶相は、その金属イオンの種類と添加量、および焼成温度に関わらず  $\beta$ -TCP 単相であった。

(2) Li-TCP 焼結体の場合、 $\text{Li}^+$ イオン固溶量 2.0mol%まで焼結性が向上し、曲げ強度も増加した。なお、最大固溶量の 9.09mol%までは、焼結体粒子の粒子径が増加し、粒界面積が減少するため、曲げ強度は徐々に減少した。また、最大固溶量 9.09mol%を超えると、クラックの発生や気孔の増加の影響から、曲げ強度は急激に減少した。

(3) Na-TCP および K-TCP 焼結体の場合は、固溶限界量の 9.09mol%までは焼結性が向上し、曲げ強度も 9.09mol%で最大値を示したが、Li-TCP のそれより低かった。また、最大固溶量 9.09mol%を超えた場合のそれらの曲げ強度は、Li-TCP と同様の傾向を示した、

(4) 焼成温度の増加にともない焼結体の粒子径は増加、粒界面積は減少したため、曲げ強度は減少した。一方、金属イオン無添加  $\beta$ -TCP の場合は、1150°C 以上で機械的強度の低い  $\alpha$ -TCP が形成したため、曲げ強度は減少した。

以上の結果より、一価金属イオンの  $\beta$ -TCP への固溶は焼結時の拡散係数を増加させて焼結性が向上したため、機械的性質は向上すると考えた。しかし、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体自体の拡散係数について測定していないため、今後測定する必要がある。一方、焼結性に影響を与えるその他の要因(表面エネルギーや粒径)の影響についてもさらに検討を重ねたい。

## 文 献

- 136) L. L. Hench, J. Wilson, "An Introduction to Bioceramics. Adv. Series in Ceramics. Vol. 1", World Scientific, USA (1998).
- 137) R. Z. LeGeros, "Calcium phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basel (1991).
- 138) S. Zachary, B. Amit, B. Susmita, *Mater. Sci. Eng. C*, **28**, 11 (2008).
- 139) W. Xiang, U. Ozan, A. Agarwal, Y. A. Havva, A. Mufit, *Mater. Sci. Eng. C*, **29**, 126 (2009).
- 140) S. Langstaff, M. Sayer, T. J. N. Smith, S. M. Pugh, *Biomaterials*, **22**, 135 (2001).
- 141) D. S. Metsger, T.D. Driskell, J.R. Paulsrud, *J. Am. Dent. Assoc.*, **105**, 1035 (1982).
- 142) S. Kotani, Y. Fujita, T. Kitsugi, T. Nakamura, T. Yamamuro, C. Ohtsuki, T. Kokubo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **25**, 1303 (1991).
- 143) H. Yonezaki, T. Hayashi, T. Nakagawa, H. Kurosawa, K. Shibuya, K. Ioku, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **9**, 381 (1998).
- 144) C. P. A. T. Klein, A. A. Driessen, K. de Groot, *Biomaterials*, **5**, 157 (1984).
- 145) 名井陽, "臨床医から見た整形外科領域セラミックス人工骨の現状と未来", 第 11 回生体関連セラミックス討論会招待講演スライド (2007).
- 146) 鳥山素弘, 川村資三, 長江肇, 石田浩一, 窯業協会誌, **95**, 68 (1987).
- 147) 鳥山素弘, 川村資三, 伊藤ゆかり, 長江肇, 遠山郁男, 窯業協会誌, **96**, 837 (1988).
- 148) A. Akao, H. Aoki, K. Tachimoto, T. Yamamoto, *J. Ceram. Soc. Japan (Yogyo-Kyokai-Shi)*, **95**, 819 (1985).
- 149) K. Itatani, M. Takahashi, F. S. Howell, M. Aizawa, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **13**, 707 (2002).
- 150) K. Yoshida, N. Kondo, H. Kita, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **88**, 2315 (2005).
- 151) K. Yoshida, Y. Fukuhara, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Inorg. Mater. Japan*, **16**, 165 (2009).
- 152) H. Monma, M. Goto, *J. Ceram. Soc. Japan (Yogyo-Kyokai-Shi)*, **91**, 473 (1983).
- 153) 浜野健也, セラミックス, **11**, 565 (1976).
- 154) R. L. Fullman, *Trans. AIME*, **197**, 447 (1972).
- 155) 相澤守, 平成 8 年度上智大学博士論文 (1996).
- 156) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K.

Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).

157) 守吉佑介，笹本忠，植松敬三，伊熊泰郎，門間英毅，池上隆康，丸山俊夫，“セラミックスの焼結”，内田老鶴圃，(1995) p.35, 99.

## 第4章 一価金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの溶解機構<sup>F)</sup>

### 4.1 はじめに

$\beta$ 型リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)は生体親和性や骨誘導能にすぐれ、生体内で生体吸収されると同時に新生骨を生成する生体吸収性セラミックスである<sup>1)~4)</sup>。一般に生体内におけるリン酸カルシウム化合物の生体吸収性(溶解性)については、骨の無機主成分である水酸アパタイト(HAp)の化学量論組成(Ca/P モル比=1.67)に対する組成(Ca/P モル比)の絶対値が大きいほど増加する<sup>5)</sup>。実際に、 $\beta$ -TCP の Ca/P モル比は 1.50 であり、HAp の溶解度積( $K_{sp}$ )が  $5.5 \times 10^{-118}(\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3})$ <sup>18)</sup> に対して、 $\beta$ -TCP の  $K_{sp}$  は  $2.8 \times 10^{-29}(\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3})$ <sup>5)</sup> であり、pH=7.0 における溶解性は HAp の約 2 倍になる<sup>5)~8)</sup>。生体環境下において、骨芽細胞や破骨細胞の活性および機械的強度を保持させることは、 $\beta$ -TCP をはじめ硬組織代替材料にとって重要であるが<sup>3),9)</sup>、 $\beta$ -TCP の高い溶解性には、炎症反応や  $\beta$ -TCP の強度低下にともなう再骨折を引き起こす危険性がある<sup>8)</sup>。したがって、 $\beta$ -TCP を *in vivo* で硬組織代替材料、とくに骨補填材として使用するためには、 $\beta$ -TCP の溶解性制御が必須になる。

リン酸カルシウム化合物の溶解性制御については、これまでにさまざまな手法が提案されている。たとえば、溶解性の高い  $\beta$ -TCP と低い HAp との複合材料(HAp/ $\beta$ -TCP)はすぐれた機械的性質を示し、HAp を複合化するため溶解性も抑制する<sup>10)~13)</sup>。しかし、焼成時の HAp と  $\beta$ -TCP との熱膨張率の違いなどから、*in vivo* 埋入時および試料作製時に HAp/ $\beta$ -TCP 界面での離れが起こりやすく、それによる強度低下や再骨折の危険性がある。

一方、リン酸カルシウム化合物への金属イオン添加による溶解性制御についてもこれまでに数多く報告されている<sup>14)~26)</sup>。実際、HAp にハロゲンイオン(F<sup>-</sup>および Cl<sup>-</sup>)または炭酸イオン(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)をそれぞれ固溶した場合、HAp 構造が前者は安定、後者は不安定になることから、溶解性も前者は低くなり、後者は増加する<sup>14)~16)</sup>。 $\beta$ -TCP についても、Mg<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオンの固溶でその生体吸収性(溶解性)の抑制することを Ito らが報告している<sup>27)~29)</sup>。しかし、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性については、これまでに報告がない。

一方、Na<sup>+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>および Si<sup>4+</sup>などの各イオンは、新生骨形成を促進する元素として知られており<sup>30)~33)</sup>、なかでも Zn<sup>2+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP の場合は、*in vivo* で骨形成細胞の細胞活性(分化)や細胞成長を促進させると Kawamura らが報告している<sup>34)</sup>。それに対して、Cd<sup>2+</sup>、Cr<sup>3+</sup>、Cr<sup>6+</sup>や Ni<sup>2+</sup>の各イオンは高い細胞毒性をもち、骨形成も阻害する<sup>35),36)</sup>。したがって、骨形成細胞のことを考慮する場合、埋入する生体材料の溶解機構、とくに生体材料からの金属イオンの溶出機構を明らかにすることは、金属イオン溶出などによる細胞挙動の検討や臨床応用のためには重要になる。

そこで本章では、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性を評価し、その溶解機構や一価金属イオン固溶が溶解性に及ぼす影響などを検討する。固溶させる一価金属イオンについて

は生物学的要因などを考慮し， $\text{Li}^+$ ， $\text{Na}^+$ および  $\text{K}^+$ イオンを選択する．また，これまでに報告されているさまざまな緩衝液，金属イオンやタンパク質などを含有した溶液を溶解性試験に用いた場合，それらの影響でリン酸カルシウム化合物の沈殿やタンパク質の吸着が起こり，溶解機構の解明が困難になる．そのため本章では試験溶液に *in vivo* 環境下と同じ浸透圧の生理食塩水を使用し，生体環境下を再現するために  $37^\circ\text{C}$  で溶解性評価する．

## 4.2 実 験

### 4.2.1 試 料

一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の出発原料には，リン酸水素カルシウム二水和物 ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 一級，98%，キシダ化学製)，炭酸カルシウム ( $\text{CaCO}_3$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製)および一価金属イオン源に炭酸リチウム ( $\text{Li}_2\text{CO}_3$ ; 特級，99%，キシダ化学製)，炭酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製)，炭酸カリウム ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; 特級，99.5%，キシダ化学製)を用いた． $\beta$ -TCP 結晶構造中の空孔を考慮した全 Ca サイトに対する各一価金属イオン添加量は 0，2.0，4.0，6.0 および最大固容量の 9.09mol%とし， $(\text{Ca}+2\text{M})/\text{P}=1.50$  ( $\text{M}=\text{Li}$ ， $\text{Na}$ ， $\text{K}$ )になるように調合した．なお，出発原料の配合比は表 3.1 と同様である．

各配合試料について，エタノールを溶媒にアルミナボールを用いたボールミルで 48 時間湿式混合後，ロータリーエバポレーター(N-1000，EYELA 製)を用いてエタノール除去した．混合粉末を，大気雰囲気下で  $1000^\circ\text{C}$ ，24 時間焼成して溶解性試験用評価試料を合成し，その後粒径(比表面積)の溶解性に対する影響を除くために各合成粉末を  $64\sim 75\mu\text{m}$  に分級した．

### 4.2.2 溶解性試験

分級後の  $\beta$ -TCP および各種金属イオン固溶  $\beta$ -TCP(2.0g)を  $40\text{cm}^3$  の生理食塩水(0.85% NaCl 水溶液)中に浸せきし， $37^\circ\text{C}$  の恒温槽中で 1，3，7，14 日間振とうした．所定期間振とうした溶液を吸引ろ過し，ろ液と残さとにわけた．ろ液については，pH 測定， $\text{Ca}^{2+}$  イオンおよび金属イオン溶出量は原子吸光光度法， $\text{PO}_4^{3-}$  イオン溶出量はモリブデン吸光光度法で，それぞれ定量した．一方，残さについては，X 線回折および FT-IR 測定で結晶相の同定し，格子定数も精密化した．X 線回折および格子定数の精密化については第 2 章に示した方法で行った．その他の評価について以下に示す．

#### 4.2.2.1 原子吸光度分析

溶解試験後のろ液中に含有する  $\text{Ca}^{2+}$  イオンおよび添加金属イオンの定量には，原子吸光分光光度計(AA-6200，島津製作所製)を用いた．1000ppm の  $\text{Ca}^{2+}$  イオンまたは各一価金属イオン標準溶液(すべて MERCK 製)を蒸留水で希釈し，2，5，10ppm の標準溶液をそれぞれ調製した．調製した標準溶液を炎中に噴霧し，各種金属イオン濃度と吸光度の関係を示す検量線を作成した．検量線作成後，溶解性試験後のろ液の吸光度を標準溶液と同様の

方法で測定し、その吸光度と検量線から  $\text{Ca}^{2+}$  イオンおよび各種金属イオンのモル濃度と  $\text{M}/(\text{Ca}+\text{M})$  モル比( $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ )とを算出した。

#### 4.2.2.2 モリブデン原子吸光度分析

溶解試験後のろ液中に含まれる  $\text{PO}_4^{3-}$  イオンの定量には、モリブデン青[塩化スズ( )還元]の吸光光度法(JIS K 0102)を用いた。1000ppm のリン標準溶液(キシダ化学製)を  $\text{PO}_4^{3-}$  イオン濃度が 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ppm になるようにそれぞれ調製した。この調製溶液に  $8.09\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  の  $(\text{NH}_4)_6[\text{Mo}_7\text{O}_{24}]$  水溶液  $10\text{cm}^3$  と  $88.6\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  の  $\text{SnCl}_2$  水溶液  $0.5\text{cm}^3$  をくわえた後、イオン交換水で  $100\text{cm}^3$  とし、水溶液を青色発色させた。発色 15 分後に、紫外可視分光光度計(UV-1600, 島津製作所製)を用いて 700nm における吸光度を測定し、 $\text{PO}_4^{3-}$  イオン濃度と 700nm における吸光度の関係を示す検量線を作成した。溶解性試験後のろ液  $10\text{cm}^3$  を  $100\text{cm}^3$  メスフラスコに分取し、標準溶液と同様の方法で青色発色させた後、吸光度を測定した。その吸光度と検量線から  $\text{PO}_4^{3-}$  イオンのモル濃度を算出した。また、原子吸光度分析でえた  $\text{Ca}^{2+}$  イオンおよび各種金属イオンのモル濃度より、 $(\text{Ca}+\text{M})/\text{P}$  モル比( $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ )も算出した。

#### 4.2.2.3 赤外吸収スペクトル(FT-IR)

溶解性試験後の残さの定性分析は、フーリエ変換赤外分光(FT-IR)光度計(FT/IR-230, JASCO 製)を用いた FT-IR 測定で行った。残さと KBr(赤外スペクトル用, キシダ化学製)とを 1:20 となるように混合して、測定範囲  $400\sim 4000\text{cm}^{-1}$ , 積算回数 68 回の測定条件で拡散反射法により FT-IR スペクトルを測定した。



## 4.3 結果および考察

### 4.3.1 一価金属イオン固溶 $\beta$ -TCP の溶解性

図 4.1 には,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  および  $\text{K}^+$  イオンをそれぞれ固溶した  $\beta$ -TCP から溶出した金属イオン量( $\text{Ca}^{2+}$  イオン+各種一価金属イオン)と浸せき日数との関係を示した. 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP より溶出した金属イオン量は, 金属イオンの種類および添加量に関わらず浸せき日数 1 日目まで増加し, その後 14 日目まで徐々に増加した.

$\beta$ -TCP をウサギの大腿骨に埋入した場合, HAp は次第に吸収されるが,  $\beta$ -TCP は埋入 1 日目までに急激に吸収されることが小澤らによって報告されている<sup>37)</sup>. したがって, *in vivo* における溶出挙動と生理食塩水中における金属イオンとの溶出挙動は一致した.

また,  $\beta$ -TCP の溶出量にくらべて一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれは低く, 一価金属イオンの固溶が溶解性を抑制したことを認めた. さらに,  $\text{Na}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP (Na-TCP) および  $\text{K}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP (K-TCP) の金属イオン溶出量は, 金属イオン固溶量の増加で減少した. しかし,  $\text{Li}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP (Li-TCP) の場合, Na-TCP と K-TCP の場合にくらべて金属イオン溶出量は高く,  $\text{Li}^+$  イオン固溶量に依存しなかった.

図 4.2 に, 各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP から溶出した全金属イオン量( $\text{Ca}^{2+}$  イオン+金属イオン溶出量)に対する一価金属イオン溶出量のモル比  $[2M/(\text{Ca}+2M)]$ ;  $M=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$  を示した.  $\beta$ -TCP 構造中の空孔を考慮した場合, 一価金属イオンを 0, 2.0, 4.0, 6.0 または固溶限界の 9.09mol% 固溶した  $\beta$ -TCP の  $2M/(\text{Ca}+2M)$  モル比は, その化学量論組成から, それぞれ 0.020, 0.042, 0.064 および 0.100 となる. したがって, Na-TCP および K-TCP の場合は, 化学量論組成どおりに溶解したが, Li-TCP の場合の  $2M/(\text{Ca}+2M)$  モル比は, 化学量論組成の  $2M/(\text{Ca}+2M)$  モル比にくらべて高いことから, Li-TCP から溶出した  $\text{Li}^+$  イオンは  $\text{Ca}^{2+}$  イオンよりも優先的に溶出したことを認めた.

図 4.3 には, 各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP から溶出した  $\text{PO}_4^{3-}$  イオン量を示した. 金属イオンの溶出挙動と同様,  $\text{PO}_4^{3-}$  イオン溶出量についても, 1 日目まで急激に増加し, その後 14 日目まで徐々に増加した. さらに, 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\text{PO}_4^{3-}$  イオン溶出量については, 金属イオン無添加  $\beta$ -TCP のそれにくらべて抑制したが, Na-TCP および K-TCP の溶出量にくらべると Li-TCP のそれは高かった. また, Na-TCP と K-TCP の  $\text{PO}_4^{3-}$  イオン溶出量は金属イオン固溶量の増加で減少したが, Li-TCP の場合には固溶量に依存しなかった.

図 4.4 には, 上記の各金属イオン溶出量と  $\text{PO}_4^{3-}$  イオン溶出量とから算出した  $(\text{Ca}+2M)/P$  モル比を示した. 各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP における溶解試験後の溶液中の  $(\text{Ca}+2M)/P$  モル比については, 金属イオンの種類やその固溶量, および浸せき日数に関わらず 1.50 であり, 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の化学量論組成  $[(\text{Ca}+2M)/P \text{ モル比}=1.50]$  と一致した. したがって, 一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解は, これまでに報告されている  $\beta$ -TCP や二価金属イオン ( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  イオン) 固溶  $\beta$ -TCP<sup>27)~29)</sup> と同様, 均一溶解である.

ことを明らかにした。

つぎに各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP を所定期間生理食塩水中に浸せきした溶液の pH を図 4.5 に示した。Li-TCP の場合、溶液の pH は  $\text{Li}^+$  イオン添加量の増加で上昇したが、Na-TCP および K-TCP の場合、金属イオンの種類や固溶量に関わらず pH 変化はなかった。

図 4.6 には、溶解性試験後の残さの格子定数を示した。もし、Li-TCP の場合の生理食塩水への浸せきによる pH の上昇が急激な  $\text{Li}^+$  イオンの溶出にともなう  $\text{Li}^+$  イオンと水溶液中のプロトン( $\text{H}^+$ イオン)とのイオン交換に起因する場合、それらのイオン交換で格子定数は変化することが考えられる。しかし、Li-TCP を含めたすべての一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の格子定数は変化なかった。

また、尾上らは、アルカリ金属イオンが水中に溶解すると、水溶液中における電荷を補正するために水の電離反応( $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$ )が促進され、 $\text{OH}^-$  イオン濃度が上昇することから、水溶液の pH も上昇するとしている<sup>38)</sup>。したがって、Li-TCP の場合には、Na-TCP や K-TCP にくらべて  $\text{Li}^+$  イオンが  $\text{Ca}^{2+}$  よりも優先的に溶出したことから、水の電離反応が進行して  $\text{OH}^-$  イオン濃度が上昇したため pH が上昇したと考えた。

図 4.7 には、9.09mol% $\text{Li}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP( $\text{Li}_{9.09}$ -TCP)の溶解性試験後の残さの FT-IR スペクトルを、表 4.1 には X 線回折や FT-IR 測定から同定したすべての試料の残さの結晶相を、それぞれ示した。 $\text{Li}_{9.09}$ -TCP を 7 日間以上浸せきした場合、その残さの FT-IR スペクトルには  $3570\text{cm}^{-1}$  付近に O-H 伸縮振動に帰属の吸収を認めたことから HAp の生成を確認したが、X 線回折図にはその回折線を認めなかった。

Li らは、 $\text{Mg}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP( $\text{Mg}$ -TCP)の場合、溶解にともない whitlockite の生成することを FT-IR 測定で認めたが、X 線回折では確認できなかったことから、whitlockite は粒子表面に生成するとしている<sup>28)</sup>。したがって、9.09mol% $\text{Li}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の場合についても、生理食塩水中への浸せきで Li-TCP 粒子表面に HAp が形成したと考えた。なお、HAp は pH9~11 において安定に生成する<sup>39)</sup>。したがって、Li-TCP 表面への HAp の形成については、浸せき溶液中の pH の上昇に起因していると考えられる。

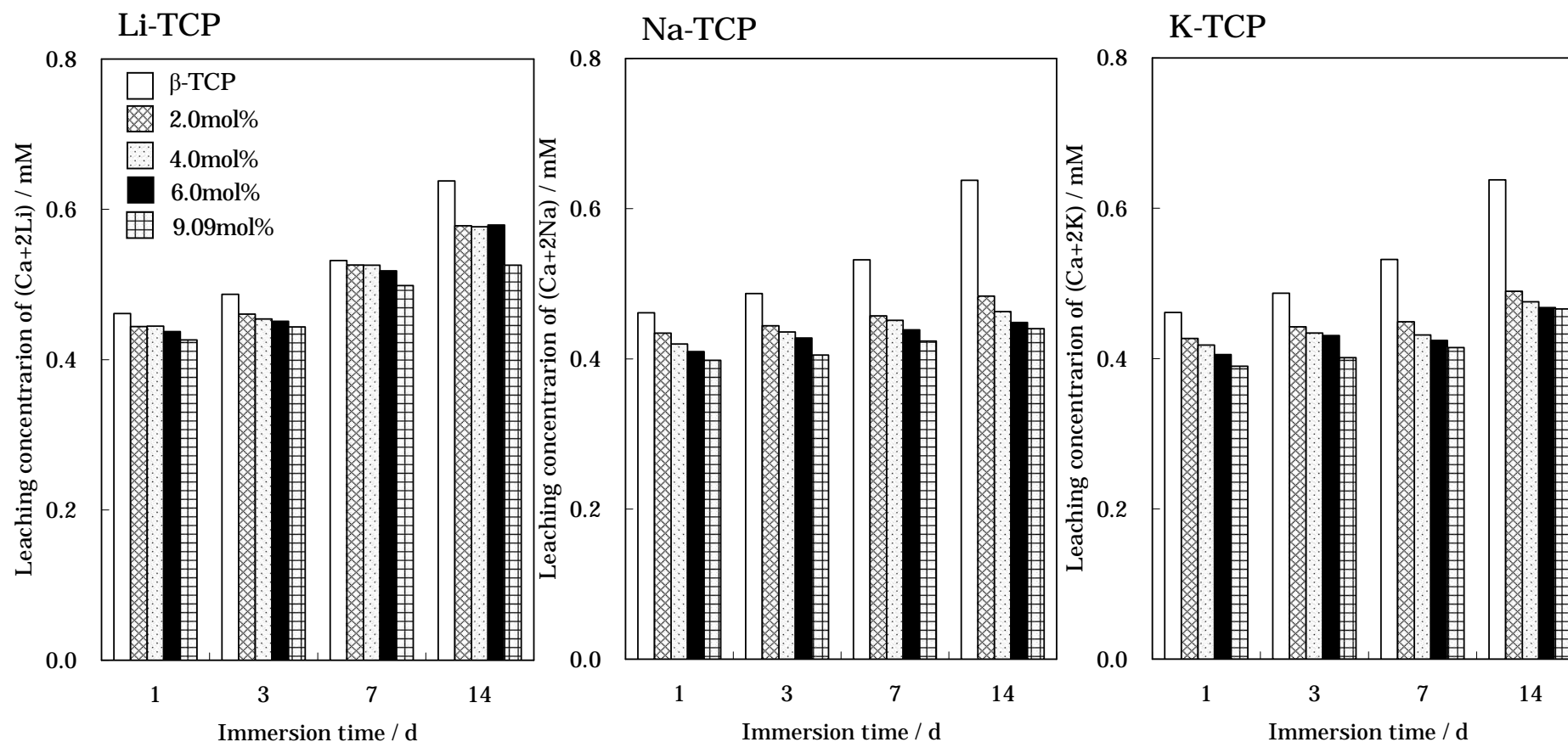


Fig. 4.1 Concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$  and monovalent metal ions leached from  $\beta$ -TCP containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions in saline after dissolution test.

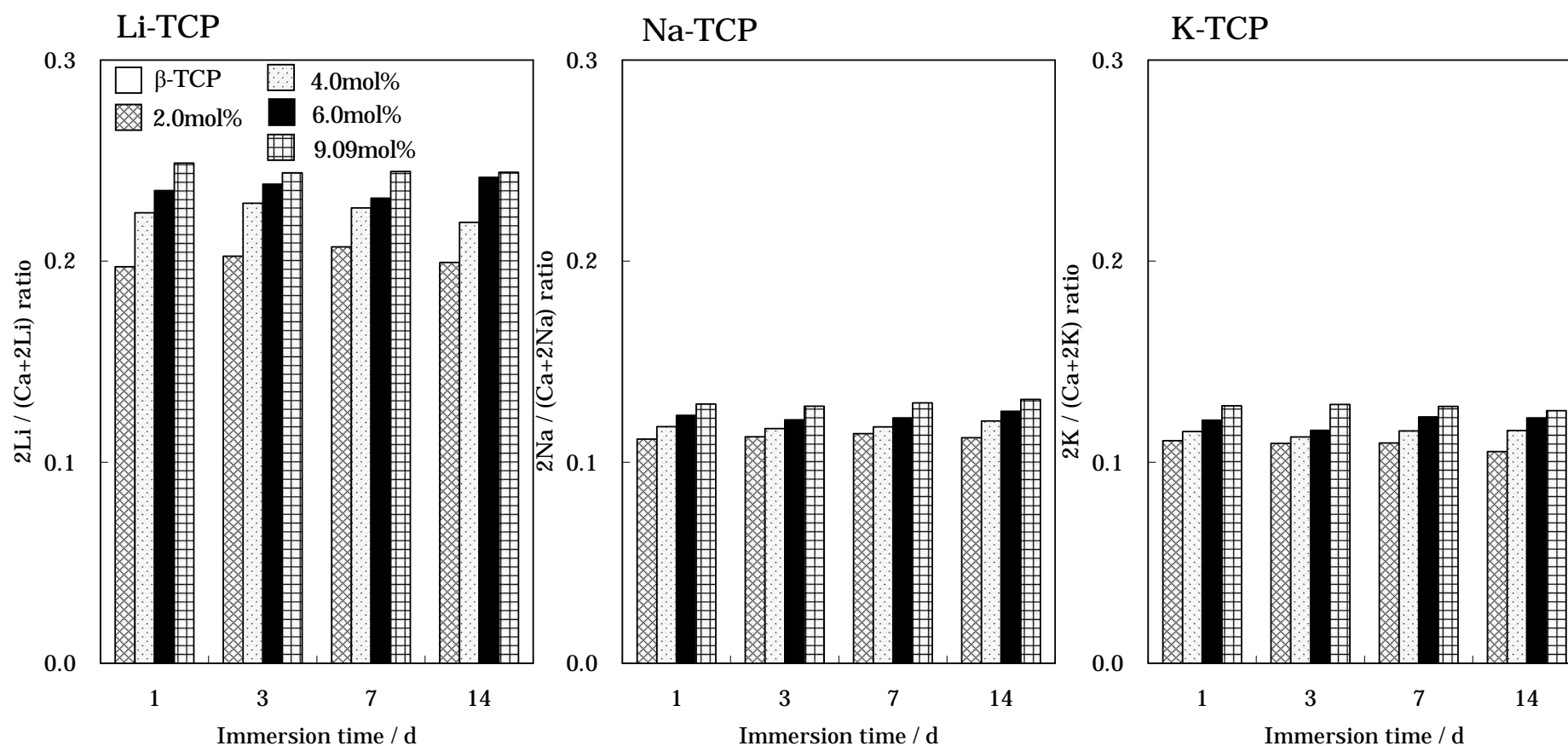


Fig. 4.4 Dissolution ratio of metal ions against  $\text{Ca}^{2+}$  ions and metal ions [ $2\text{M}/(\text{Ca} + 2\text{M})$  molar ratio] leached from  $\beta$ -TCP containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions in saline after dissolution test.

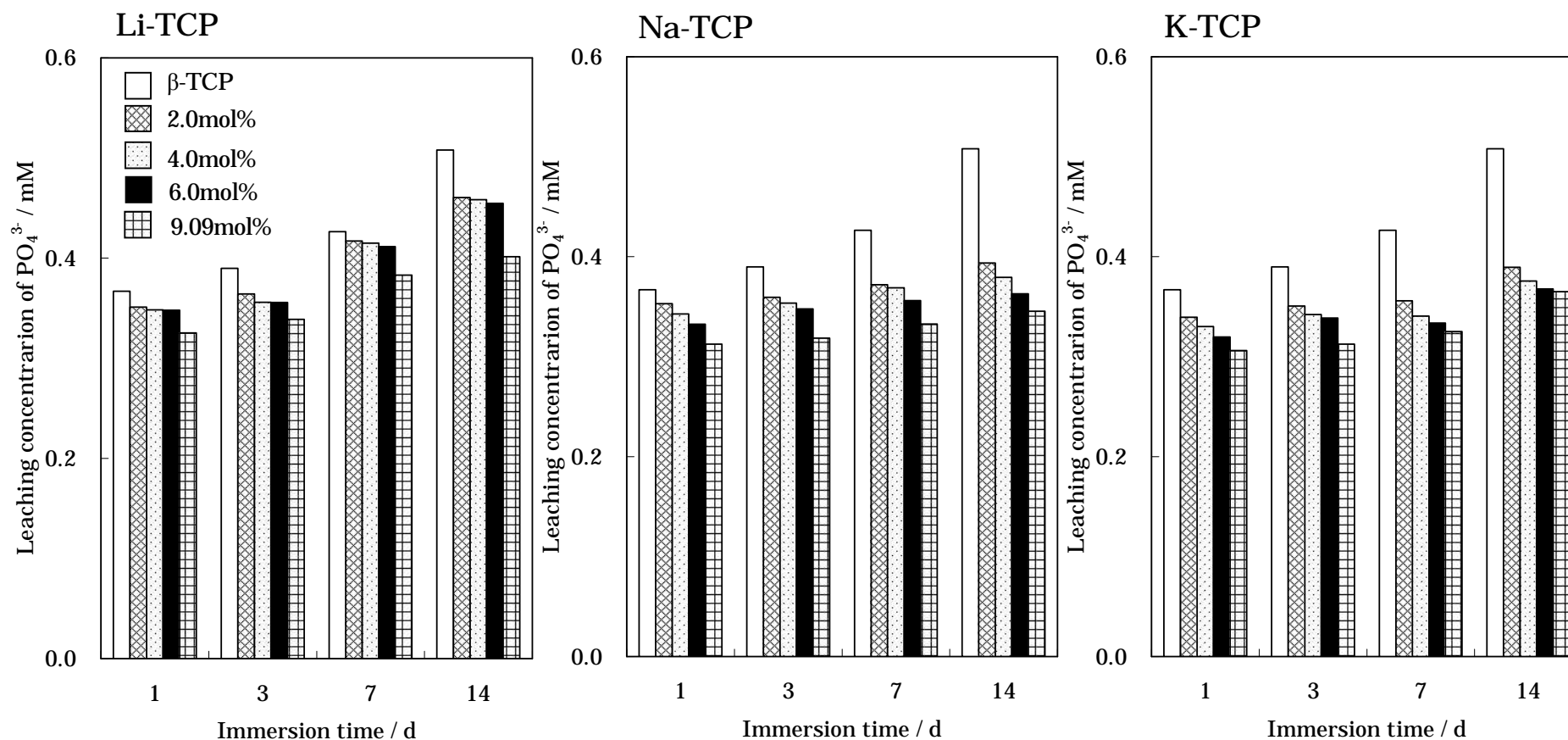


Fig. 4.3 Concentrations of  $\text{PO}_4^{3-}$  ions leached from  $\beta$ -TCP containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions in saline after dissolution test.

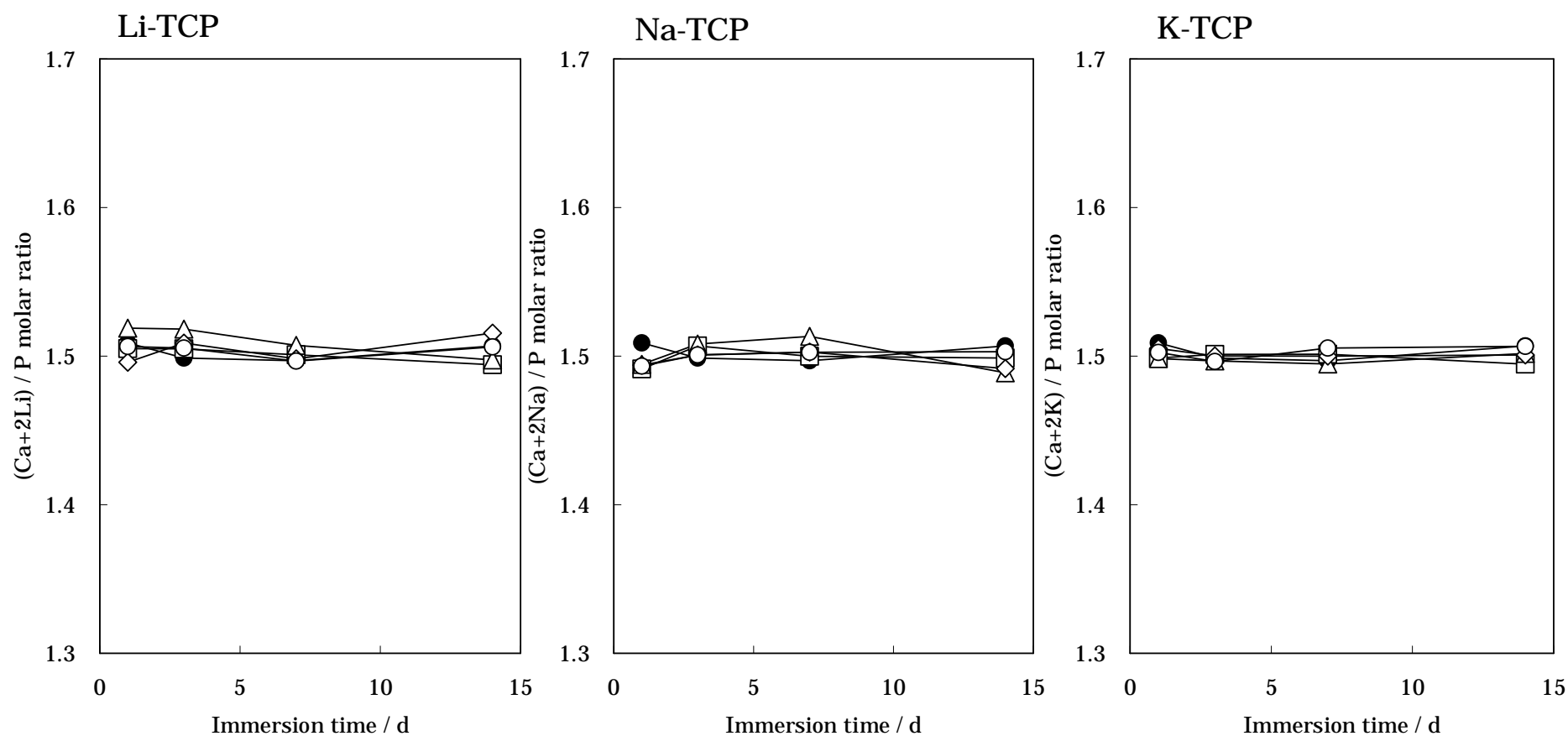


Fig. 4.4 Dissolution ratio of  $\text{Ca}^{2+}$  ions and metal ions against  $\text{PO}_4^{3-}$  ions [(Ca+2M)/P molar ratio] leached from  $\beta$ -TCP containing various amounts of  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions in saline after dissolution test.  $\beta$ -TCP, : 2.0 mol%, : 4.0 mol%, : 6.0 mol%, : 9.09 mol%.

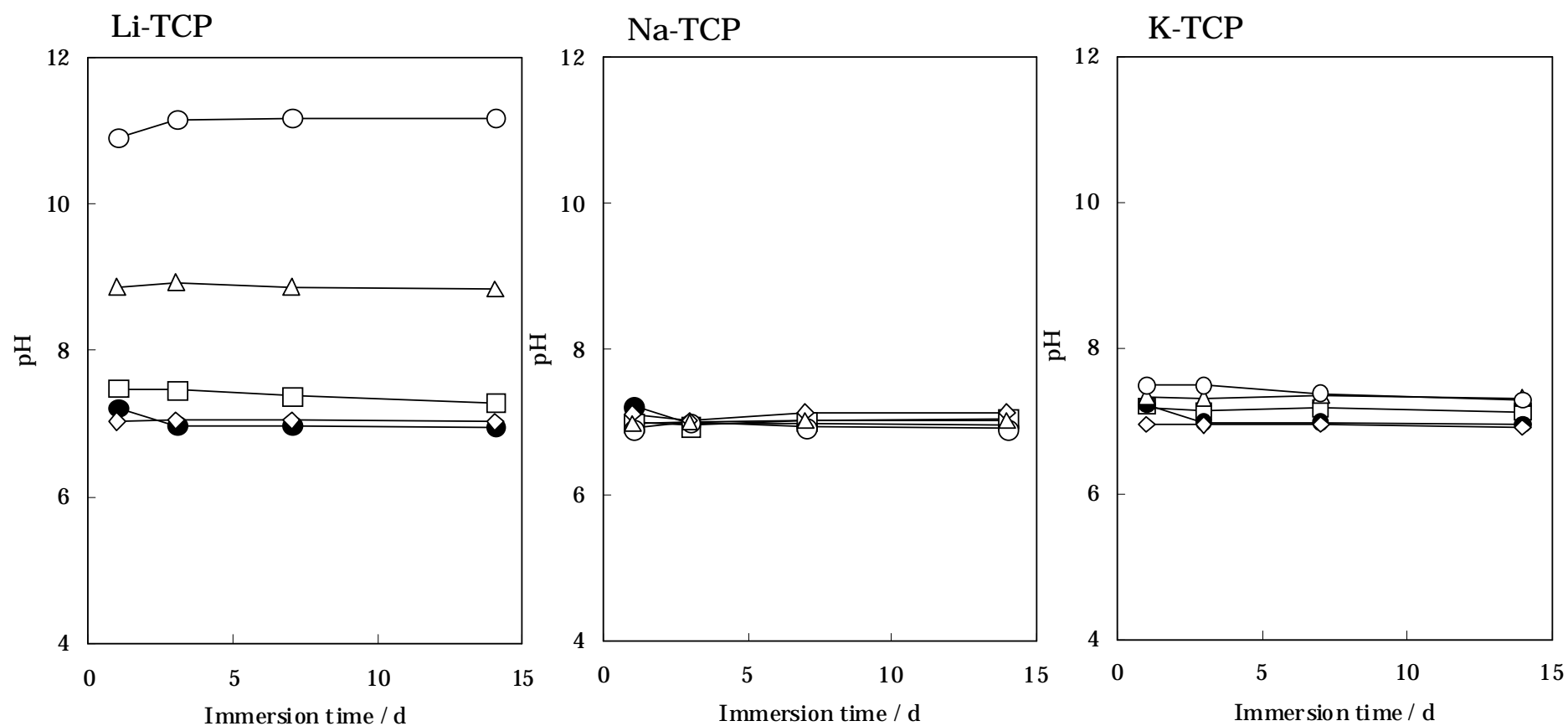


Fig. 4.5 pH change in saline during the dissolution tests for  $\beta$ -TCP doped with various amounts of  $\text{Li}^+$  ions,  $\text{Na}^+$  ions, and  $\text{K}^+$  ions.  $\circ$  :  $\beta$ -TCP,  $\square$  : 2.0 mol%,  $\triangle$  : 4.0 mol%,  $\bullet$  : 6.0 mol%,  $\blacklozenge$  : 9.09 mol%.

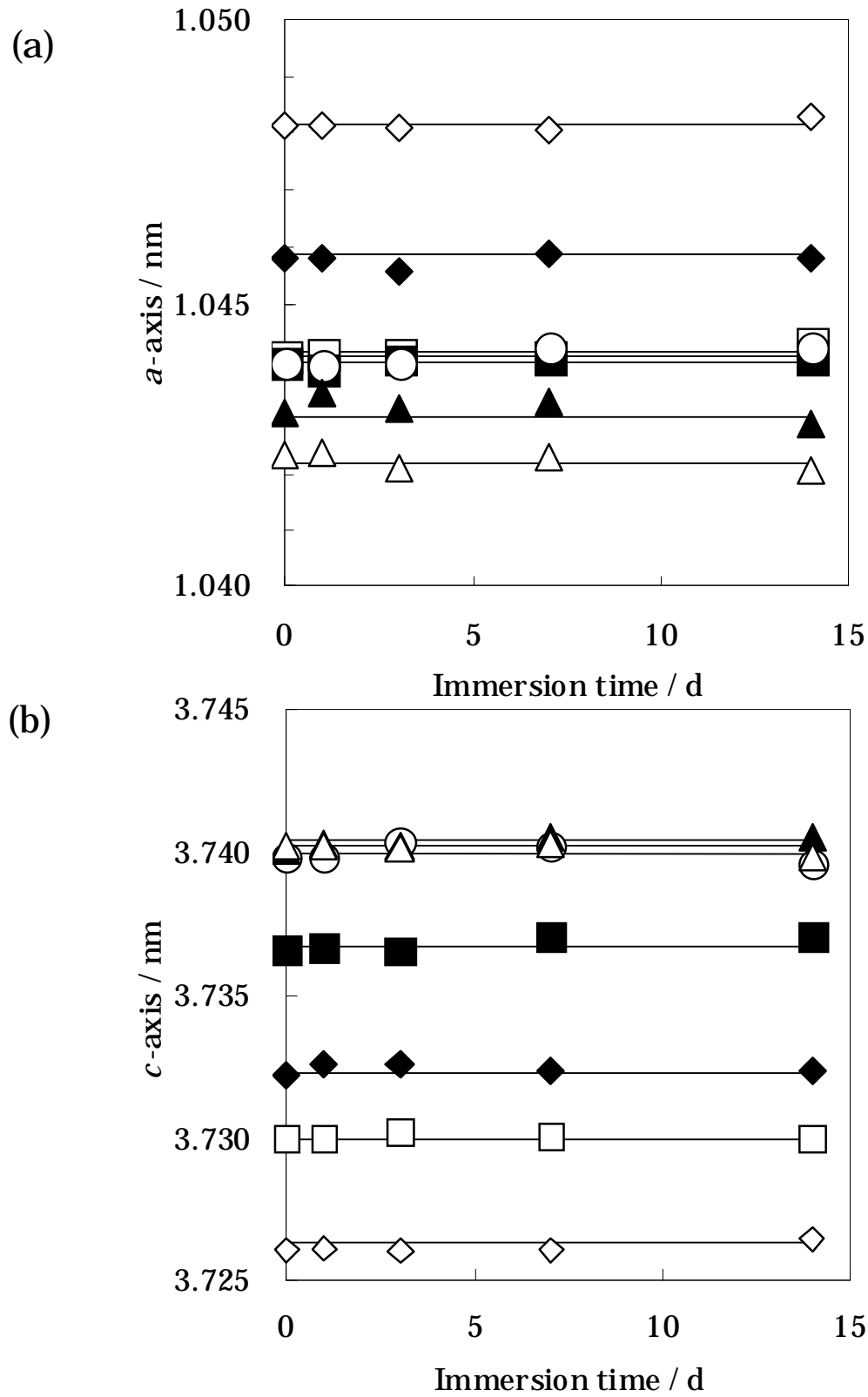


Fig. 4.6 Lattice constant changes of the filtrated powder after immersing in saline for predetermined times. (a)  $a$ -axis and (b)  $c$ -axis.  $\diamond$ :  $\beta$ -TCP,  $\blacklozenge$ : Li-TCP, 4.0mol%,  $\square$ : Li-TCP, 9.09mol%,  $\circ$ : Na-TCP, 4.0mol%,  $\blacktriangle$ : Na-TCP, 9.09mol%,  $\triangle$ : K-TCP, 9.09mol%,  $\blacklozenge$ : K-TCP, 4.0mol%.



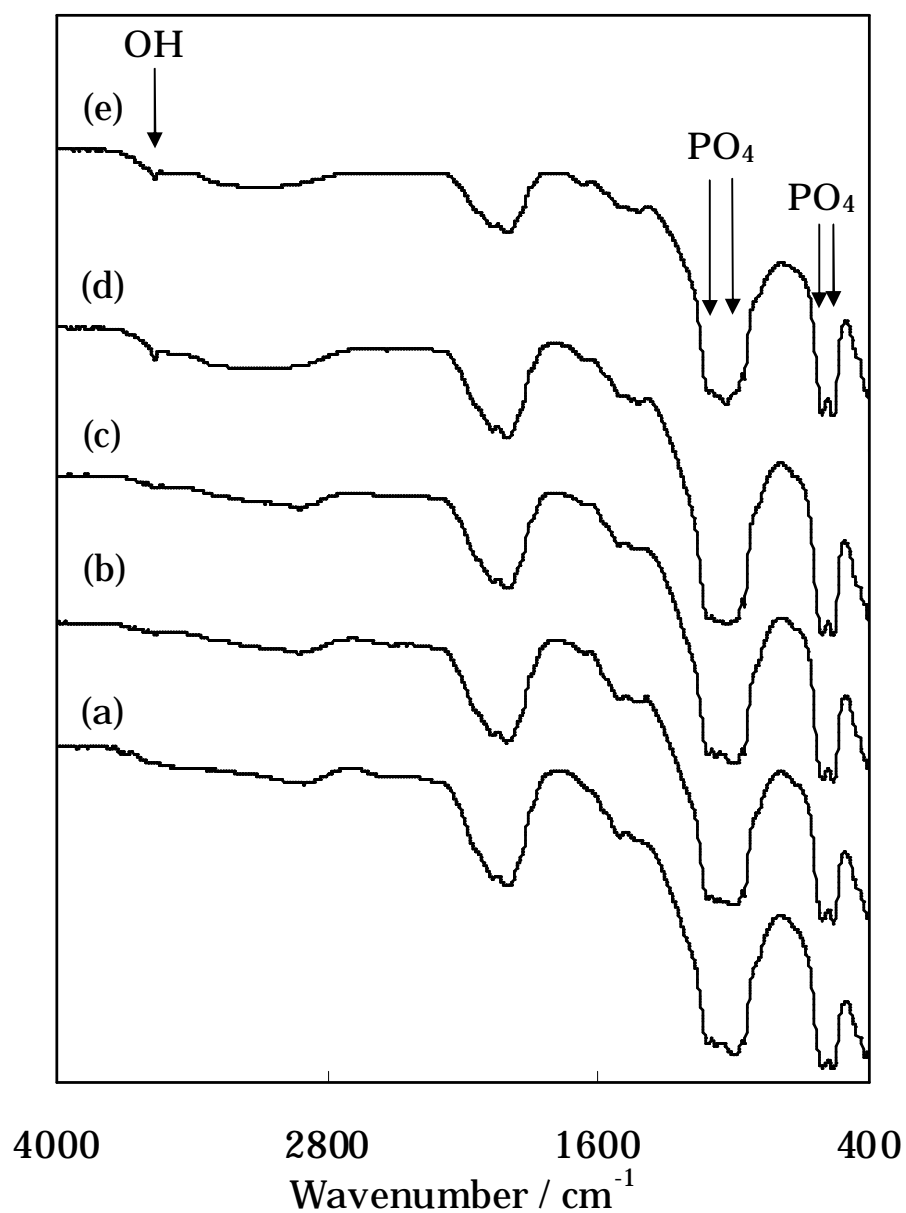


Fig. 4.7 FT-IR spectra of the filtrated powders obtained after immersing Li-TCP (9.09 mol%) in saline for different amounts of time: (a) 0 d, (b) 1 d, (c) 3 d, (d) 7 d, and (e) 14 d.

Table 4.1 Crystal phase of the powder obtained after immersion in saline for predetermined times.

	Amount of metal ions / mol%	Immersion time / d				
		0	1	3	7	14
$\beta$ -TCP <sup>a</sup>		$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
Li-TCP	4.00	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
	9.09	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP + HAp <sup>b</sup>	$\beta$ -TCP + HAp
Na-TCP	4.00	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
	9.09	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
K-TCP	4.00	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
	9.09	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP

<sup>a</sup>  $\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate

<sup>b</sup> HAp: Hydroxyapatite

#### 4.3.2 一価金属イオンの固溶が溶解性に及ぼす影響

Bigi らは ,金属イオンが HAp 構造中の Ca サイトに固溶した場合 ,それにとまなう HAp 構造中の原子配置の変化が ,熱安定性や結晶構造安定性に影響を与えること報告している<sup>17)</sup> .また , $\beta$ -TCP の場合にも ,その溶解性に影響を与える結晶構造や組成などが金属イオンの固溶で変化することを Wei らは明らかにしている<sup>24)</sup> .したがって ,本章の各種一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の一価金属イオンの固溶が溶解性に及ぼす影響を明らかにするためには ,溶解性に影響を与える因子 ,とくに結晶構造中の原子配置について検討する必要がある .

一価金属イオンは ,電荷を補正しながら  $\beta$ -TCP 構造中の Ca(4)サイトと空孔とにそれぞれ 4.55mol%ずつ固溶することから ,空孔を含むすべての Ca サイトに金属イオンと  $\text{Ca}^{2+}$  イオンとが占有し ,結晶構造が  $\beta$ -TCP より安定化した .Li らは , $\text{Mg}^{2+}$  イオンの  $\beta$ -TCP 構造中への固溶でその構造安定性が向上し ,溶解性も抑制するとしている<sup>28)</sup> .したがって ,一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性の抑制についても ,一価金属イオンの固溶で  $\beta$ -TCP 構造の安定性が向上したためと考えた .

Li-TCP の溶解については ,Na-TCP や K-TCP のそれとは異なった .すなわち Li-TCP 中の  $\text{Li}^+$  イオンは ,化学量論組成どおりに溶解せず , $\text{Ca}^{2+}$  イオンよりも優先的に溶解した .Morozov らは ,一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP [ $\text{Ca}_{10}\text{M}(\text{PO}_4)_7$  ( $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ )]の結晶構造を報告している<sup>40)</sup> .図 4.8 には , $\beta$ -TCP や一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の一価金属イオンが固溶する Ca(4)サイトまたは空孔を[001]方向から見た原子配置を示した .一価金属イオンの固溶する Ca(4)サイトは ,三つの酸素[O(21)]に囲まれる配位数 3 の原子配置をとる .

$\text{Li}^+$  ,  $\text{Na}^+$  ,  $\text{K}^+$ および  $\text{Ca}^{2+}$  イオンのイオン半径は ,それぞれ 0.076 , 0.102 , 0.138 および 0.100nm(6 配位)<sup>41)</sup>であることから ,Li-TCP の場合は ,Li と O とからなる結晶学的な空間が Na-TCP , K-TCP および  $\beta$ -TCP のそれに比べて広い(図 4.8) .また ,図 4.9 に示したように ,Li-TCP における  $\text{Li}^+$  イオンのような小さいイオンが三つの大きい原子(酸素)に囲まれた配置は ,Na-TCP , K-TCP および  $\beta$ -TCP におけるイオン半径の大きな  $\text{Na}^+$  ,  $\text{K}^+$ および  $\text{Ca}^{2+}$  イオンが囲まれた原子配置に比べて不安定である<sup>42)</sup> .したがって ,Li-TCP の溶解挙動が , $\beta$ -TCP , Na-TCP , K-TCP のそれと異なったのは ,金属イオンの固溶した  $\beta$ -TCP 構造中の Ca(4)サイトにおける  $\text{Ca}^{2+}$  イオンや一価金属イオンとそれを取り囲む酸素との原子配置の違いに起因したと考えた .

一方 , $\text{Li}^+$  イオンとほぼ同じイオン半径である  $\text{Mg}^{2+}$  イオンまたは  $\text{Zn}^{2+}$  イオン[それぞれ 0.072 および 0.074nm(6 配位)<sup>41)</sup>]が固溶した  $\beta$ -TCP(Mg-TCP および Zn-TCP)の溶解については ,それぞれ化学量論組成比どおりに溶解することが ,Ito らによって明らかにされており<sup>24),27)</sup> ,その溶解挙動は Li-TCP の場合とは異なった .また ,Mg-TCP および Zn-TCP の溶解性についても , $\beta$ -TCP や一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれと比べて抑制した .

二価金属イオンである  $\text{Mg}^{2+}$  イオンまたは  $\text{Zn}^{2+}$  イオンは ,一価金属イオンとは異なり ,

$\beta$ -TCP 構造中の Ca(5)および Ca(4)サイトに固溶し、Ca(5)サイトの配位数は 6 である。また、第 2 章で示したが、Ca(5)サイトへの二価金属イオン固溶で二価金属と酸素の原子間距離(原子配置)が最適化し、結晶構造は安定化することから、その安定性は、一価金属イオンの場合に比べて高かった。これより、一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP に比べて二価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性のほうが抑制されたと考えた。

以上の結果から、 $\beta$ -TCP の Ca サイトおよび空孔への金属イオン固溶による結晶構造の安定化がその溶解性にも影響を与えることを認めた。すなわち、金属イオンのイオン半径、種類や添加量および固溶した Ca サイト(空孔)の違いで、その溶解性や溶解挙動は変化し、これらの要因を考慮することで、 $\beta$ -TCP の溶解性を制御可能であることを明らかにした。

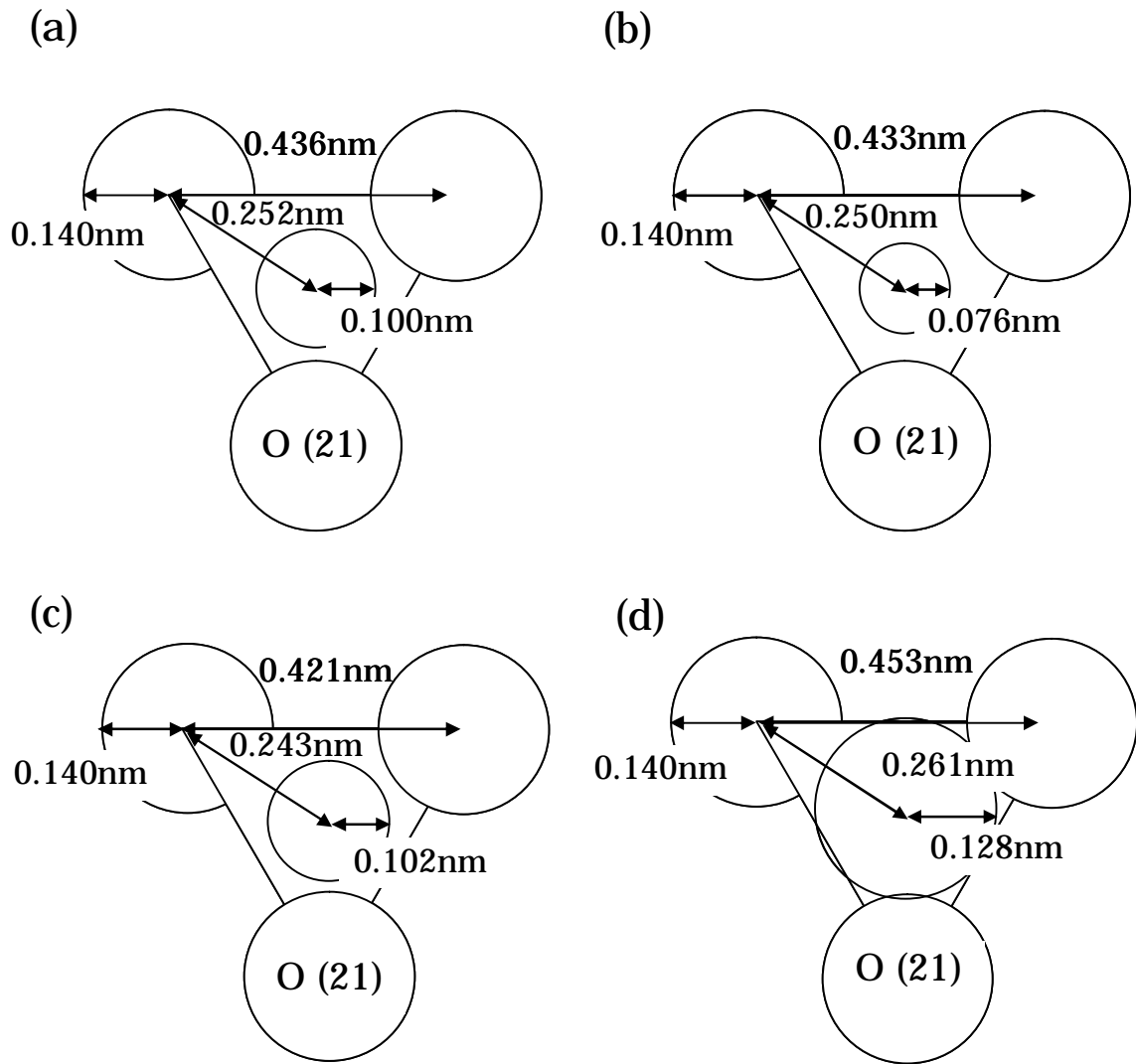


Fig. 4.8 Atomic coordination around the O (21) and M (4) sites in  $\beta$ -TCP doped with monovalent metal ions <sup>40)</sup>. (a) pure  $\beta$ -TCP, (b)  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Li}^+$  ions, (c)  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Na}^+$  ions, (d)  $\beta$ -TCP doped with  $\text{K}^+$  ions.

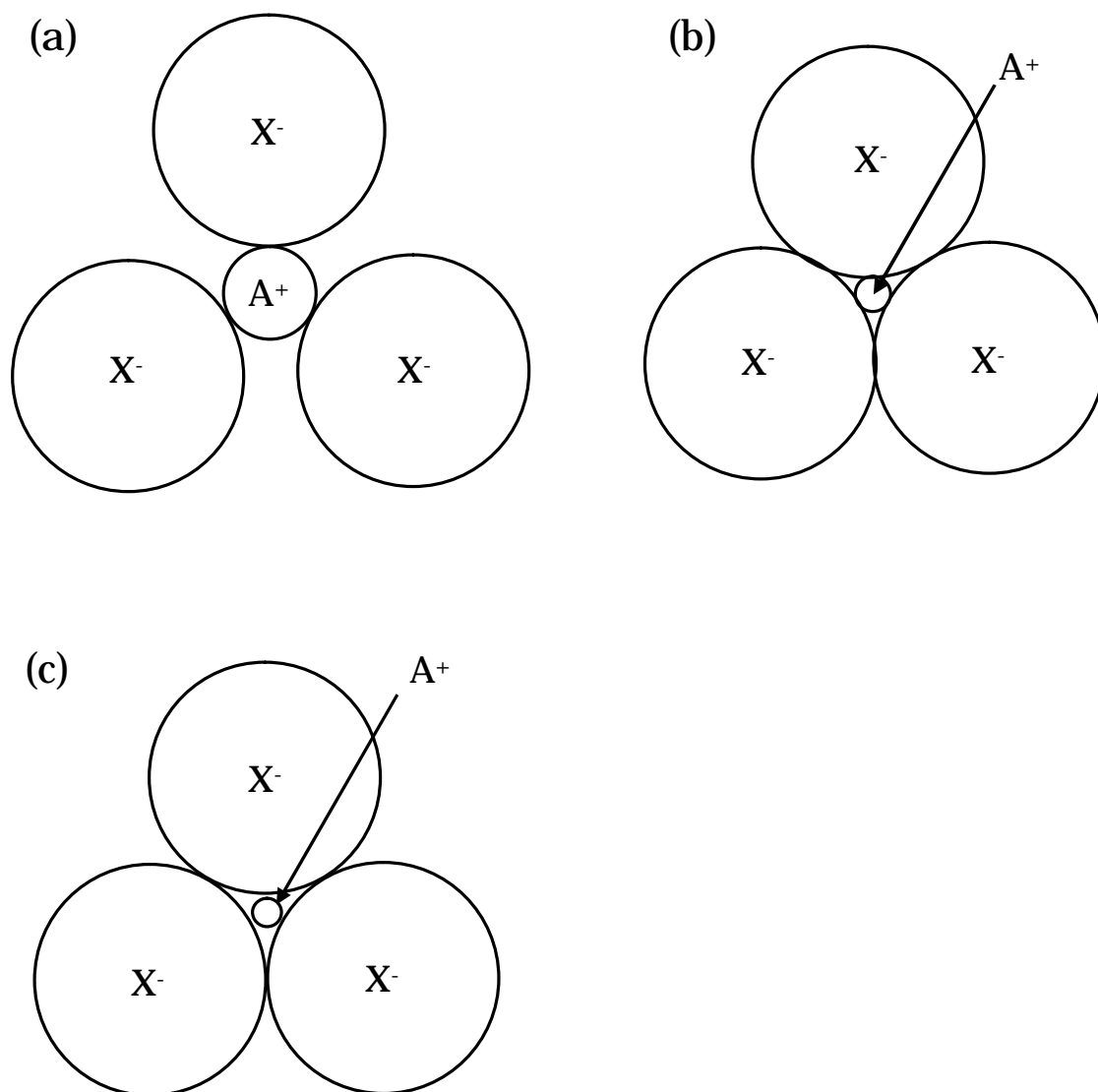


Fig. 4.9 Atomic coordination stability at three-fold coordinates. (a) and (c) unstable coordination, (b) stable coordination <sup>42)</sup>.

#### 4.4 おわりに

本章では，生理食塩水を用いて  $\beta$ -TCP や一価金属イオンまたは二価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性を評価し，一価金属イオンの固溶が溶解性に及ぼす影響やその溶解機構を検討し，つぎの結論をえた．

(1)  $\beta$ -TCP および一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP は，金属イオンの種類や固溶量に関わらず  $(Ca+M)/P$  モル比が 1.50 と一定で均一溶解した．一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性については，金属イオンの種類に関わらず  $\beta$ -TCP のそれより抑制された．なお，Na-TCP，K-TCP の場合，金属イオン固溶量の増加で溶解性は抑制されたが，Li-TCP の場合には，固溶量の影響はなかった．一価金属イオンの固溶による溶解性の抑制については， $\beta$ -TCP 構造中の空孔を含む Ca サイトをすべて一価金属イオンと  $Ca^{2+}$  イオンとが占有し，結晶構造が安定化したためと認めた．

(2) Li-TCP の構造安定性は，Na-TCP と K-TCP のそれと違いはほとんどなかったが，その溶解挙動は異なった．これは，イオン半径の小さい  $Li^+$  イオンと三つの酸素イオンの原子配置が，イオン半径の大きい他のイオン ( $Na^+$ ， $K^+$  および  $Ca^{2+}$  イオン) と三つの酸素イオンの場合に比べて不安定であったことに起因したと考えた．

(3)  $Mg^{2+}$  イオンや  $Zn^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性については， $\beta$ -TCP や一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のそれより抑制された．二価金属イオンの場合は， $\beta$ -TCP 構造中の Ca(5) および Ca(4) サイトへの固溶で結晶構造が最適化したことから，一価金属イオンが固溶した場合にくらべて構造安定性が向上し，溶解性も抑制することがわかった．なお，Ca(5) サイトの配位数は 6 で， $Mg^{2+}$  イオンや  $Zn^{2+}$  イオンのイオン半径は  $Li^+$  イオンとほぼ同じであるが，それら金属イオン固溶で酸素との原子間距離が最適化したため，Li-TCP の溶解挙動とは異なった．

以上の結果より，金属イオン固溶は，再骨折や炎症反応の原因となる  $\beta$ -TCP の高い溶解性を抑制し，その要因は，その結晶構造中における原子配置や安定性，すなわち固溶する金属イオンのイオン半径や価数(固溶する Ca サイト)に影響を受けることを明らかにした．したがって，適切な金属イオンの種類や固溶量を選択することで，その溶解性制御が可能であり，固溶した金属イオンの溶出は，それにもなう骨形成や毒性の出現などにも影響を与えるため，金属イオンの種類や固溶量の決定には溶解性と生体反応とを十分考慮に入れる必要があることを示した．

## 文 献

- 158) L. L. Hench, J. Wilson, "An Introduction to Bioceramics. Adv. Series in Ceramics. Vol. 1", World Scientific, USA (1998).
- 159) R. Z. LeGeros, "Calcium phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basel (1991).
- 160) S. Zachary, B. Amit, B. Susmita, *Mater. Sci. Eng. C*, **28**, 11 (2008).
- 161) D. S. Metsger, T. D. Driskell, J. R. Paulsrud, *J. Am. Dent. Assoc.*, **105**, 1035 (1982).
- 162) 門間英毅, *J. Inorg. Mater. Japan*, **7**, 53 (2000).
- 163) 大槻主税, "材料科学の視点から設計する新しいセラミック・インプラント", 第27回整形外科セラミック・インプラント研究会講演資料.
- 164) W. Haibo, K. L. Jong, M. Amr, J. L. John, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **67**, 599 (2003).
- 165) W. Xiang, U. Ozan, A. Agarwal, Y. A. Havva, A. Mufit, *Mater. Sci. Eng. C*, **29**, 126 (2009).
- 166) S. Langstaff, M. Sayer, T. J. N. Smith, S. M. Pugh, *Biomaterials*, **22**, 135 (2001).
- 167) M. Kohri, K. Miki, D. E. Waite, H. Nakajima, T. Okabe, *Biomaterials*, **14**, 299 (1993).
- 168) P. Frayssinet, J. L. Trouillet, N. Rouquet, E. Azimus, A. Autefage, *Biomaterials*, **14**, 423 (1993).
- 169) E. B. Nery, R. Z. LeGeros, K. L. Lynch, K. Lee, *J. Periodontol.*, **63**, 729 (1992).
- 170) K. Cheng, S. Zhang, W. Weng, K. A. Khor, S. Miao, Y. Wang, *Thin Solid Films*, **516**, 3251 (2008).
- 171) X. Zhang, T. Takahashi, K. S. Vecchio, *Mater. Sci. Eng. C*, **29**, 2003 (2009).
- 172) Y. Zhang, J. D. Santos, *J. Non-Cryst. Solids*, **272**, 14 (2000).
- 173) S. Kalita, S. Bose, H. Hosick, A. Bandyopadhyay, *Biomaterials*, **25**, 2331 (2004).
- 174) A. Bigi, E. Foresti, M. Gandolfi, M. Gazzano, M. Roveri, *J. Inorg. Biochem.*, **66**, 259 (1997).
- 175) F. Sima, G. Socol, E. I. Axente, N. Mihailescu, L. Zdrentu, S. M. Petrescu, I. Mayer, *Appl. Sur. Sci.*, **254**, 1155 (2007).
- 176) J. Marchi, A. C. S. Dantas, P. Greil, J. C. Bressiani, A. H. A. Bressiani, F. A. Muller, *Mater. Res. Bull.*, **42**, 1040 (2007).



- 177) X. Yin, L. Calderin, M. J. Stott, M. Sayer, *Biomaterials*, **23**, 4155 (2002).
- 178) F. H. Lin, C. J. Liao, K. S. Chen, J. S. Sun, *Biomaterials*, **19**, 1101 (1998).
- 179) W. Min, K. Daimona, Y. Doi, T. Suzuki, Y. Hikichi, M. Miyamoto, *J. Alloys Compound*, **311**, 79 (2000).
- 180) K. Nakashima, M. Takami, M. Ohta, T. Yasue, J. Yamauchi, *J. Lumin.*, **111**, 113 (2005).
- 181) X. Wei, M. Akinc, *J. Am. Ceram. Soc.*, **90**, 2709 (2007).
- 182) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).
- 183) K. Yoshida, N. Kondo, H. Kita, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **88**, 2315 (2005).
- 184)** A. Ito, K. Senda, Y. Sogo, A. Oyane, A. Yamazaki, R. Z. LeGeros, *Biomed. Mater.*, **1**, 134 (2006).
- 185) X. Li, A. Ito, Y. Sogo, X. Wang, R. Z. LeGeros, *Acta Biomaterialia*, **5**, 508 (2009).
- 186) A. Ito, H. Kawamura, S. Miyakawa, P. Layrolle, N. Kanzaki, G. Treboux, K. Onuma, S. Tsutsumi, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **60**, 224 (2002).
- 187) A. M. Pietak, J. W. Reid, M. J. Stott, M. Sayer, *Biomaterials*, **28**, 4023 (2007).
- 188) R. A. Barrea, C. A. Perez, A. Y. Ramos, *J. Synchrotron Rad.*, **8**, 990 (2001).
- 189) T. A. Fuerer, M. Lore, S. A. Puckett, G. H. Nancollas, *Langmuir*, **10**, 4721 (1994).
- 190) L. Strause, P. Saltman, K. T. Smith, M. Bracker, M. B. Andon, *J. Nutr.* **124**, 1060 (1994).
- 191) H. Kawamura, A. Ito, S. Miyakawa, P. Layrolle, K. Ojima, N. Ichinose, T. Tateishi, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **50**, 184 (2000).
- 192) N. J. Hallab, C. Vermes, C. Messina, K. A. Roebuck, T. T. Glant, J. J. Jacobs, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **60**, 420 (2002).
- 193) A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **39**, 331 (1998).
- 194) 小澤正広, 生体材料, **13**, 167 (1995).
- 195) 三朝元勝, 尾上薫, 化学工学論文集, **19**, 1089 (1993).
- 196) 山下仁大, 片山恵一, 大倉利典, 橋本和明, “工学のための無機化学”, サイエンス社 (2000) p.142.
- 197) V. A. Morozov, A. A. Belik, R. N. Kotov, L. A. Presnyakov, S. S. Khasanov, B. I. Lazoryak, *Crystallogr. Rep.*, **45**, 13 (2000).
- 198) R. D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, **A32**, 751 (1976).

199) 井口和男，田部井克己，松原千ヨ，高村喜代子，山田泰司，“無機化学”，廣川書店 (1980) p.42.

## 第5章 バナジン酸イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質<sup>G)</sup>

### 5.1 はじめに

$\beta$ -TCP の機械的強度が低いため、生体材料として適用範囲などが制限されるなどの問題を解決するために、第3章では一価金属イオンを固溶した $\beta$ -TCP 焼結体を作製し、その機械的性質は向上したことを明らかにした。

本章では、 $\beta$ -TCP に固溶させる新たな金属イオンとしてバナジウムに注目した。バナジウムは、生体必須微量元素(人体中に約 0.015%)であり、生体内では三価( $V^{3+}$  イオン)、四価( $VO^{2+}$  イオン)または五価( $VO_4^{3-}$  イオン)の状態で存在する<sup>1)</sup>。また、バナジウムには、血糖値降下作用(インスリン類似作用)があり、現在では約  $0.1\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$  バナジウムを含有したミネラルウォーターが市販されている<sup>1)~7)</sup>。

一方、バナジウムは $\text{Na}^+$ -ATPase や $\text{K}^+$ -ATPase を特異的に阻害することや、Ca-channel、Ca-Mg pump、Ca-ATPase の働きに影響を及ぼし、インスリン様成長因子(insulin-like growth factors; IGFs)も活性化することから、未分化の骨芽細胞の増殖促進、成熟した骨芽細胞の基質産生能の向上、骨芽細胞のアポトーシスを抑制して成熟骨芽細胞の数を維持するなどの作用も報告されている<sup>8),9)</sup>。したがって、バナジウムは骨形成細胞の活性に重要な金属イオンであり、歯や骨の形成(石灰化)を促進すると考えられる。

五価バナジウムであるバナジン酸イオン( $VO_4^{3-}$  イオン)は、HAp の $\text{PO}_4$  サイトに固溶し、この $VO_4^{3-}$  イオン固溶 HAp は触媒作用を示すことから、環境触媒としての応用が期待されている<sup>10)</sup>。また、鉛イオン( $\text{Pb}^{2+}$  イオン)と $VO_4^{3-}$  イオンとが HAp に同時固溶した $\text{Pb}_{10}(\text{VO}_4)_6\text{I}_2$  については、核燃料再処理におけるヨウ素固定セラミックスとしての利用が期待されている<sup>11)</sup>。

一方、 $\beta$ -TCP 焼結体の Ca/P モル比を制御した場合、その機械的性質は変化することが明らかにされている。たとえば、Ca/P モル比をわずかに 1.50 より低くした $\beta$ -TCP 焼結体の場合は、微量の $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  が生成し、これより機械的強度が向上することを Ryu らは報告している<sup>12)</sup>。

そこで本章では、仮焼温度、配合比、および $VO_4^{3-}$  イオン添加量を変化させた仮焼粉末を用いて $\beta$ -TCP 焼結体を作製し、その機械的性質を評価する。さらに、配合比の変化や $VO_4^{3-}$  イオン添加が機械的性質に及ぼす影響についても検討する。

### 5.2 実 験

#### 5.2.1 作 製

焼結体作製に用いた出発原料は、リン酸水素カルシウム二水和物( $\text{CaHPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 一級, 98%, キシダ化学製)、炭酸カルシウム( $\text{CaCO}_3$ ; 特級, 99.5%, キシダ化学製)、三価バナ

ジウムイオン( $V^{3+}$ イオン)源として( $V_2O_3$ ; 特級, 99%, 三津和化学薬品工業製), および  $VO_4^{3-}$ イオン源としてバナジン酸アンモニウム( $NH_4VO_3$ ; 特級, 99%, キシダ化学製)である。 $V^{3+}$ イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の場合,  $\beta$ -TCP 構造中の空孔を考慮した全 Ca サイトに対する  $V^{3+}$ イオン添加量については, 表 5.2 のように 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 9.09, 12mol%とし,  $(Ca+0.67V)/P=1.50$  の組成で出発原料を調合した。また,  $VO_4^{3-}$ イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の場合,  $\beta$ -TCP 構造中の全  $PO_4$  サイトへの  $VO_4^{3-}$ イオン添加量については, 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0mol%とし, 表 5.2 に示した組成になるように各出発原料を配合した(配合 A)。また, 表 5.3 のように上記の  $VO_4^{3-}$ イオン添加量で  $Ca/(PO_4+VO_4)=1.50$  一定の組成となるようにも各出発原料を配合した(内配合; 配合 B)。

各配合試料を, エタノール溶媒にアルミナボールを用いたボールミルで 48 時間湿式混合後, ロータリーエバポレーター(N-1000, EYELA 製)を用いてエタノール除去した。混合粉末は大気雰囲気下, 800, 900, 1000°C, 5 時間仮焼した。

仮焼後, 75 $\mu$ m 以下に粉碎, 分級した仮焼粉末(7.0g)を金型(45 $\times$ 20mm)およびハンドプレス機(CDM-20M-100, リケン製)を用いて一軸加圧成形(32MPa, 1 分間)した。一軸加圧成形後の成形体を真空包装した後, 手動水圧ポンプ(WUP-21-057, リケン製)を用いて, 乳化油 hydrolube(日機装社製)を微量添加した水溶媒中で冷間静水圧プレス成形(200MPa, 1 分間)した。成形体は大気雰囲気下, 1100°C, 24 時間焼成した。

### 5.2.2 評価

$VO_4^{3-}$ イオン添加  $\beta$ -TCP 焼結体の結晶相の同定および格子定数の精密化については, 2.2.2.1 と 2.2.2.2 で示した方法で行った。また, バナジウムの(イオン)状態の特定には 4.2.2 で示した FT-IR 測定を行った。焼結体の機械的性質については, 三点曲げ試験, アルキメデス法によるかさ密度, 開気孔率の測定, 微構造観察およびインターセプト法による粒子径測定を 3.2.2 で示した方法で行った。

色相評価には, 分光光度計(CLR-7100F, 島津製作所製)を用いて可視光領域の分光反射率を測定し,  $L^*a^*b^*$  表示系(JIS Z 8729)で表示した。 $L^*a^*b^*$  表色系とは見かけの感覚色差と色度座標上における測色値間の距離の差が等しくなるように補正された表色系である。図 5.1 には横軸  $a^*$  軸と縦軸  $b^*$  軸の直交座標による色度図を, 図 5.2 には色度図の原点を通る垂直方向の明度  $L^*$  軸からなる立体的な色空間を, それぞれ示した。 $a^*b^*$ 色度図上で原点近傍の測定値は無彩色をあらわし, 原点からの距離の大きいほど彩度(色のあざやかさ)が高く, 有彩色であることを示す。また,  $a^*b^*$ 色度図上における円周方向の角度は, 測定値の色相(赤, 黄, 緑, 青などの色み)をあらわす。一方, 明度  $L^*$  軸は  $L^*=100$  のとき白,  $L^*=0$  のとき黒を示し, 明るい色から暗い色の明暗諧調をあらわす<sup>13)</sup>。

Table 5.1 Chemical composition of  $\beta$ -TCP doped with vanadium (III) ions.

Amount of metal ions / mol%	Composition / mol			(Ca+V)/PO <sub>4</sub>
	CaHPO <sub>4</sub> •2H <sub>2</sub> O	CaCO <sub>3</sub>	V <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	
0 ( $\beta$ -TCP)	1.000	0.500		1.500
0.5	1.000	0.489	0.008	1.500
1.0	1.000	0.478	0.015	1.500
1.5	1.000	0.466	0.023	1.500
2.0	1.000	0.455	0.030	1.500
4.0	1.000	0.410	0.060	1.500
6.0	1.000	0.365	0.090	1.500
8.0	1.000	0.320	0.120	1.500
9.09	1.000	0.296	0.137	1.500
12	1.000	0.230	0.180	1.500

Table 5.2 Chemical composition of  $\beta$ -TCP doped with vanadate ( $\text{VO}_4^{3-}$ ) ions (Composition A).

Amount of metal ions / mol%	Composition / mol			Ca/( $\text{PO}_4 + \text{VO}_4$ )
	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCO}_3$	$\text{NH}_4\text{VO}_3$	
0 ( $\beta$ -TCP)	1.000	0.500		1.500
0.5	0.995	0.500	0.005	1.495
1.0	0.990	0.500	0.010	1.490
1.5	0.985	0.500	0.015	1.485
2.0	0.980	0.500	0.020	1.480
2.5	0.975	0.500	0.025	1.475
3.0	0.970	0.500	0.030	1.470
4.0	0.960	0.500	0.040	1.460
5.0	0.950	0.500	0.050	1.450

Table 5.3 Chemical composition of  $\beta$ -TCP doped with vanadate ( $\text{VO}_4^{3-}$ ) ions (Composition B).

Amount of metal ions / mol%	Composition / mol			Ca/( $\text{PO}_4 + \text{VO}_4$ )
	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCO}_3$	$\text{NH}_4\text{VO}_3$	
0 ( $\beta$ -TCP)	1.000	0.500		1.500
0.5	0.995	0.505	0.005	1.500
1.0	0.990	0.510	0.010	1.500
1.5	0.985	0.515	0.015	1.500
2.0	0.980	0.520	0.020	1.500
2.5	0.975	0.525	0.025	1.5005
3.0	0.970	0.530	0.030	1.500
4.0	0.960	0.540	0.040	1.500
5.0	0.950	0.550	0.050	1.500

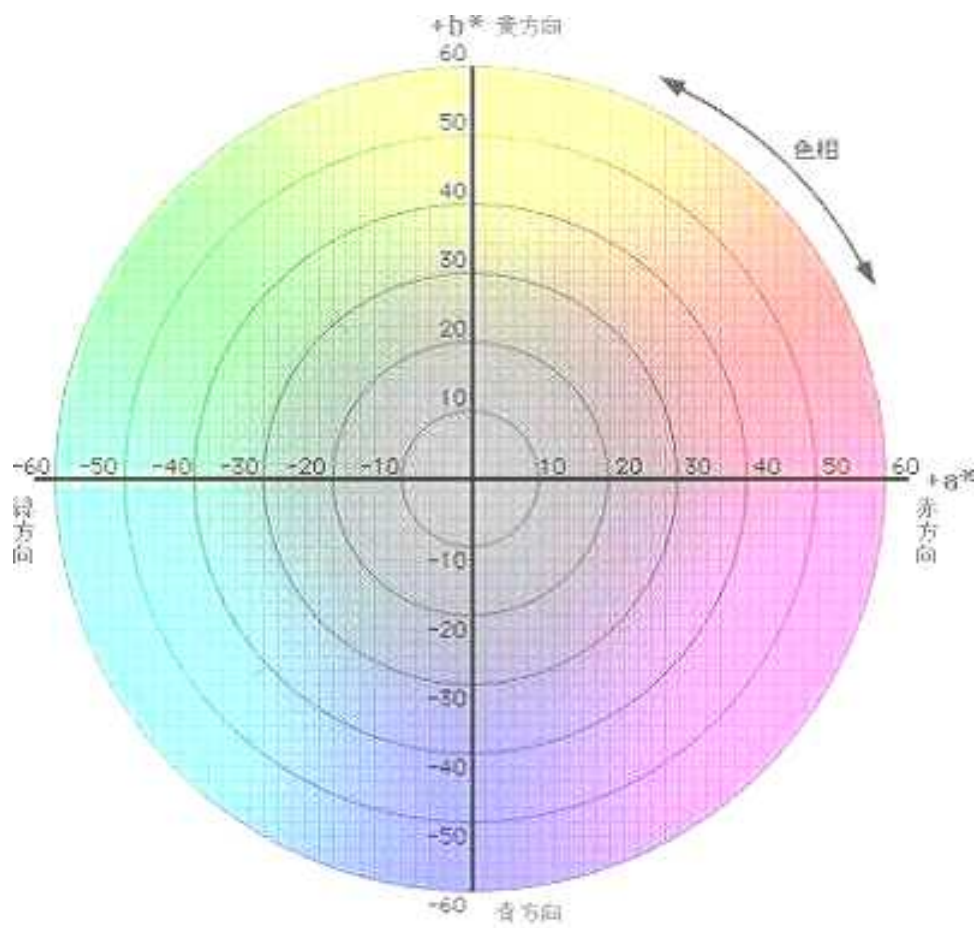


Fig. 5.1  $a^*b^*$  chromaticity diagram <sup>13)</sup>.



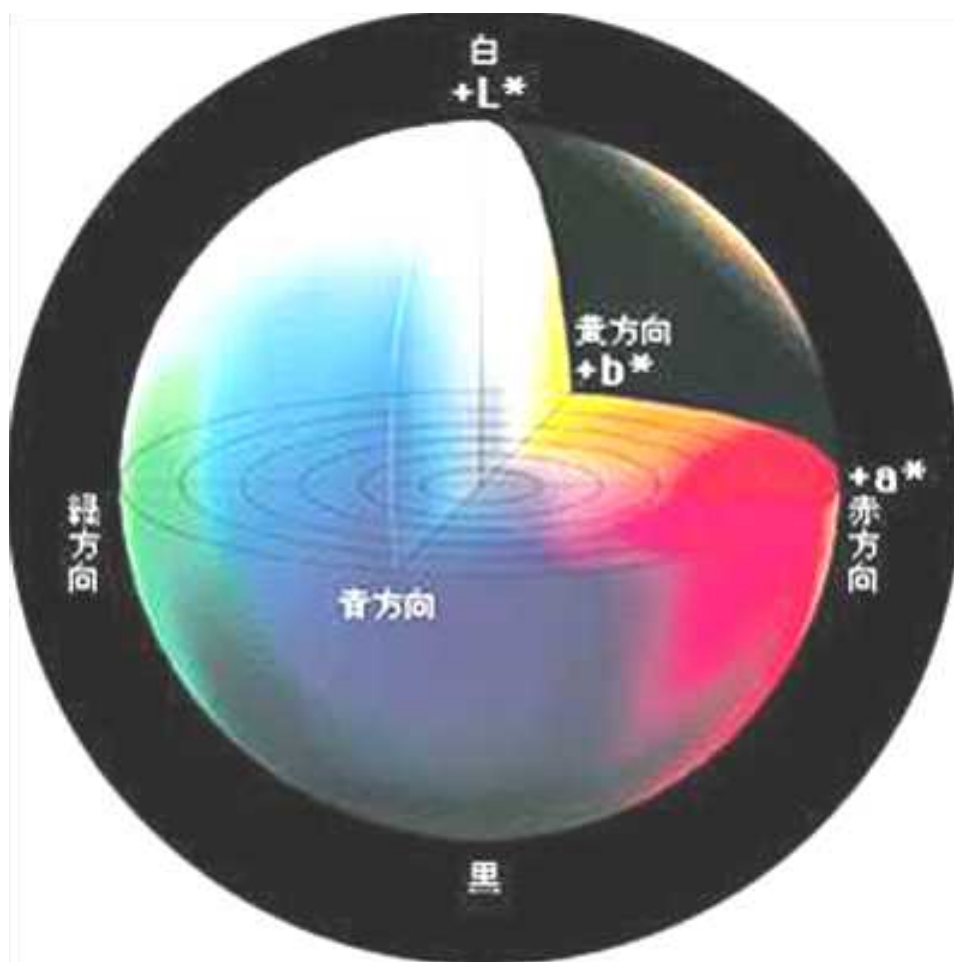


Fig. 5.2  $L^*a^*b^*$  chromaticity diagram <sup>13)</sup>.

## 5.3 結果および考察

### 5.3.1 バナジウムイオン(III)イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの物性

本節では、バナジウムの骨形成への影響や三価金属イオンが  $\beta$ -TCP 構造中へ固溶することなどに着目し、まず三価バナジウムイオン( $V^{3+}$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP(V-TCP)焼結体を作製し、 $V^{3+}$ イオンの固溶形態、その焼結体の機械的性質や焼結体上における細胞挙動を検討する。

図 5.3 および図 5.4 には、 $V^{3+}$ イオン添加量を変化させた V-TCP 焼結体の X 線回折図と格子定数とをそれぞれ示した。 $V^{3+}$ イオン添加量 6.0mol% まですべての焼結体は  $\beta$ -TCP 構造であり、 $a$  軸の格子定数は 6.0mol% まで直線的に減少し、その後一定となった。一方、 $c$  軸のそれは  $V^{3+}$ イオン添加量 1.5mol% まで増加した後、6.0mol% まで直線的に減少し、それ以上で一定となった。この  $V^{3+}$ イオン添加量 6.0mol% までの格子定数変化については、 $V^{3+}$ イオン[0.066nm(6 配位)]<sup>14)</sup>と同様にイオン半径が  $Ca^{2+}$ イオンにくらべて小さいアルミニウムイオン[ $Al^{3+}$ イオン; 0.050nm(6 配位)]<sup>14)</sup>固溶  $\beta$ -TCP の場合と同様の傾向であった<sup>15)</sup>。なお、X 線回折図より、 $V^{3+}$ イオン添加量 6.0mol% 以上で、 $\beta$ -TCP にくわえピロリン酸カルシウム( $Ca_2P_2O_7$ )や HAp の回折線を認めた。さらに、図 5.5 に示した  $V^{3+}$ イオン添加量 6.0mol% 以上の V-TCP の TG-DTA 曲線において、発熱ピークを 800°C 以上に認めたことから、X 線回折図には認めなかった  $CaO$ - $P_2O_5$ - $V_2O_5$  系のガラスの生成も想定された。

これらの結果から、 $V^{3+}$ イオンは、 $Al^{3+}$ イオンの場合と同様に、 $V^{3+}$ イオン添加量 6.0mol% まで  $\beta$ -TCP 構造中の  $Ca(5)$ サイトに、 $3V^{3+}=2Ca(5)^+$  の形態で固溶したことを明らかにした。

V-TCP 焼結体上における骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1 細胞)の ALP(alkaline phosphatase)活性値を図 5.6 に示した。ALP 活性値は骨芽細胞の分化マーカーの一つであり、高い ALP 活性値は骨芽細胞の分化の促進を示している<sup>16)</sup>。 $V^{3+}$ イオン 1.0~2.0mol% 固溶  $\beta$ -TCP の場合、初期培養期間において ALP 活性値が  $\beta$ -TCP のそれにくらべて増加した。一方、 $V^{3+}$ イオン添加量 3.0mol% 以上の場合になると ALP 活性値は減少し、これは細胞毒性をもつ  $V^{3+}$ イオンの溶出で細胞毒性を発現したためと考えた。これらの結果より、 $\beta$ -TCP への少量の  $V^{3+}$ イオン添加で骨芽細胞の分化を促進することがわかった。

図 5.7 と図 5.8 には、V-TCP 焼結体の曲げ強度と微構造とをそれぞれ示した。 $V^{3+}$ イオンの固溶限界量の 6.0mol% まで固溶量の増加で気孔が増加したため、V-TCP 焼結体の曲げ強度は低下した。なお、 $V^{3+}$ イオン添加量 6.0mol% から 9.09mol% の場合、焼結体の曲げ強度がわずかに増加したが、これは微構造観察より  $CaO$ - $P_2O_5$ - $V_2O_5$  系ガラス相が V-TCP の焼結粒子間に存在したためと考えた。

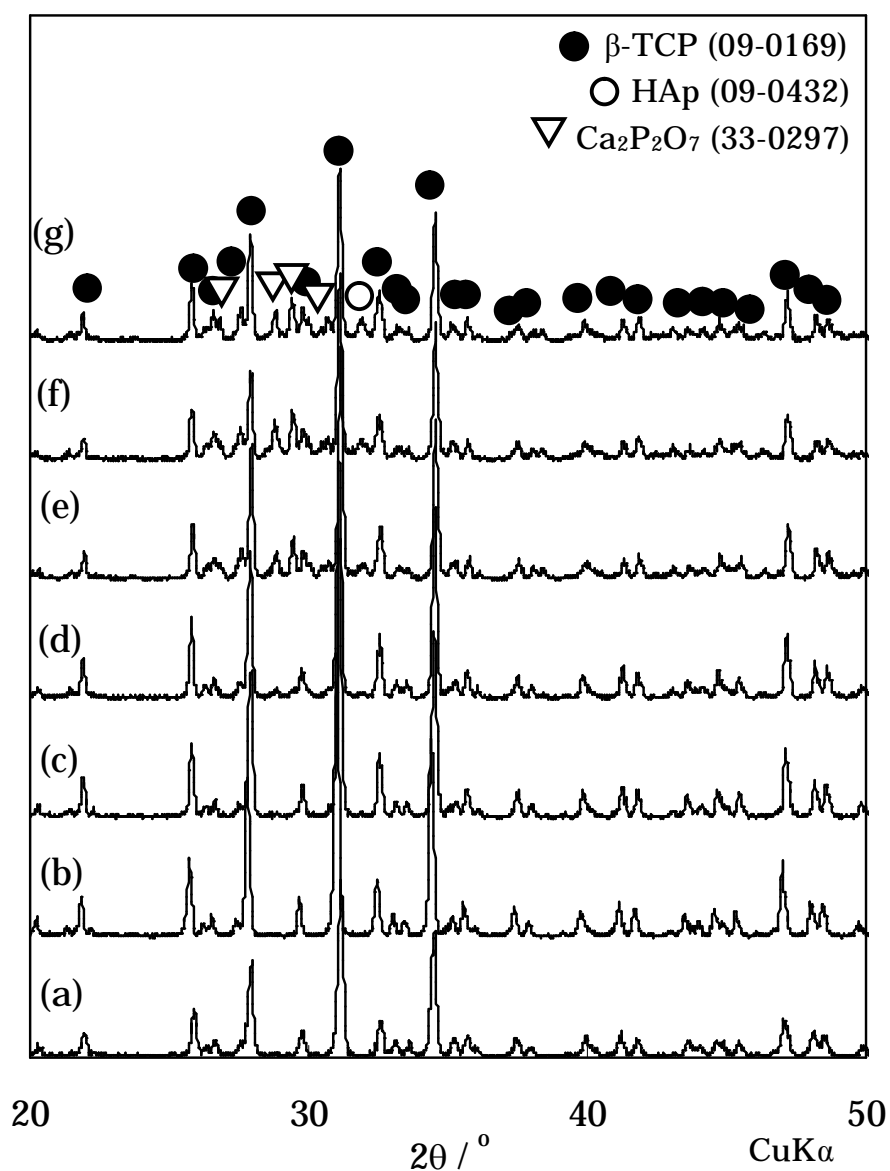


Fig. 5.3 XRD patterns of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{V}^{3+}$  ions (sintering condition: 1100°C, 24h, in air). (a) 0mol%, (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 6.0mol%, (e) 9.09mol%, (f) 12mol%, (g) 14mol%.

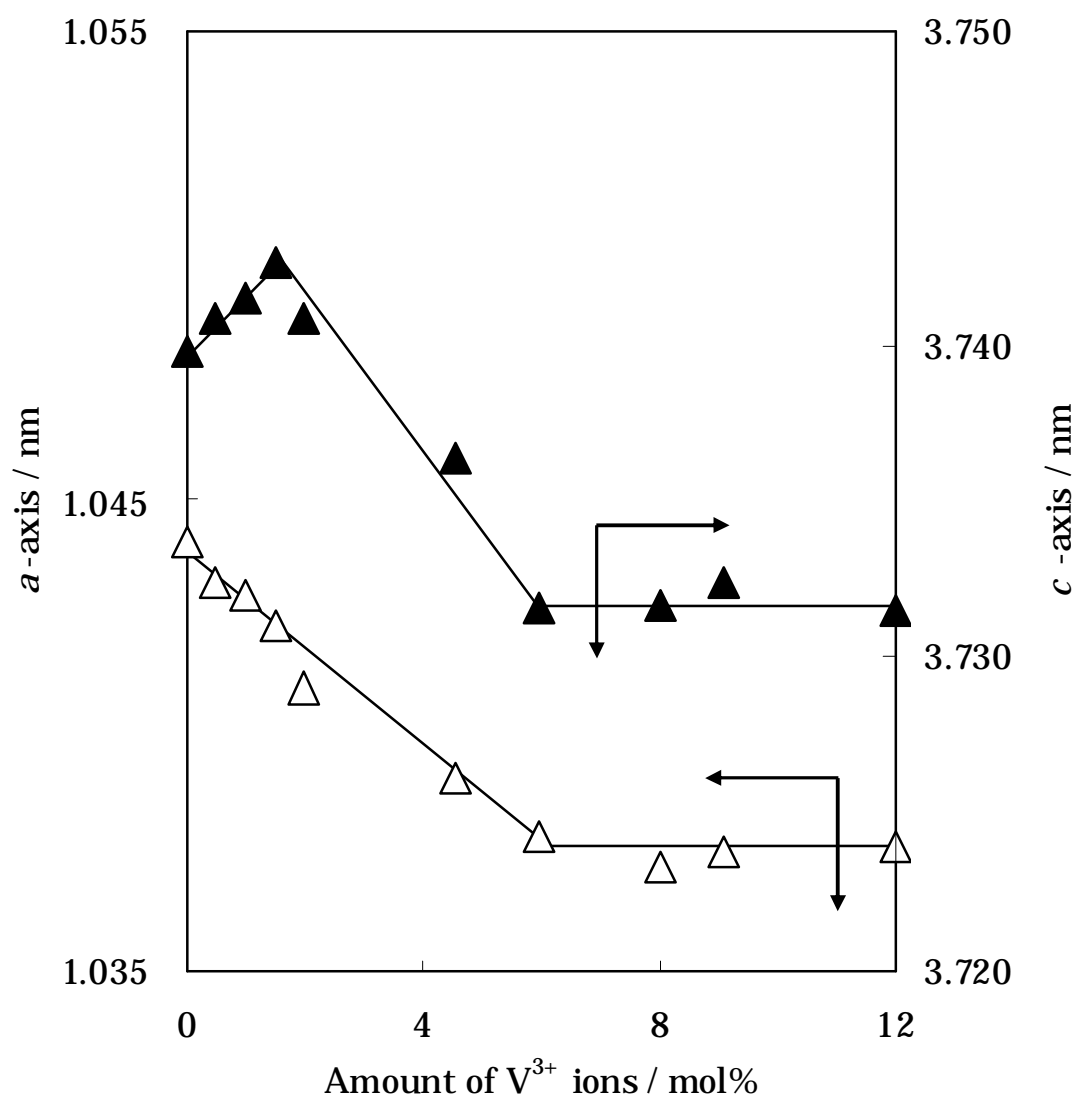


Fig. 5.4 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $V^{3+}$  ions (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).

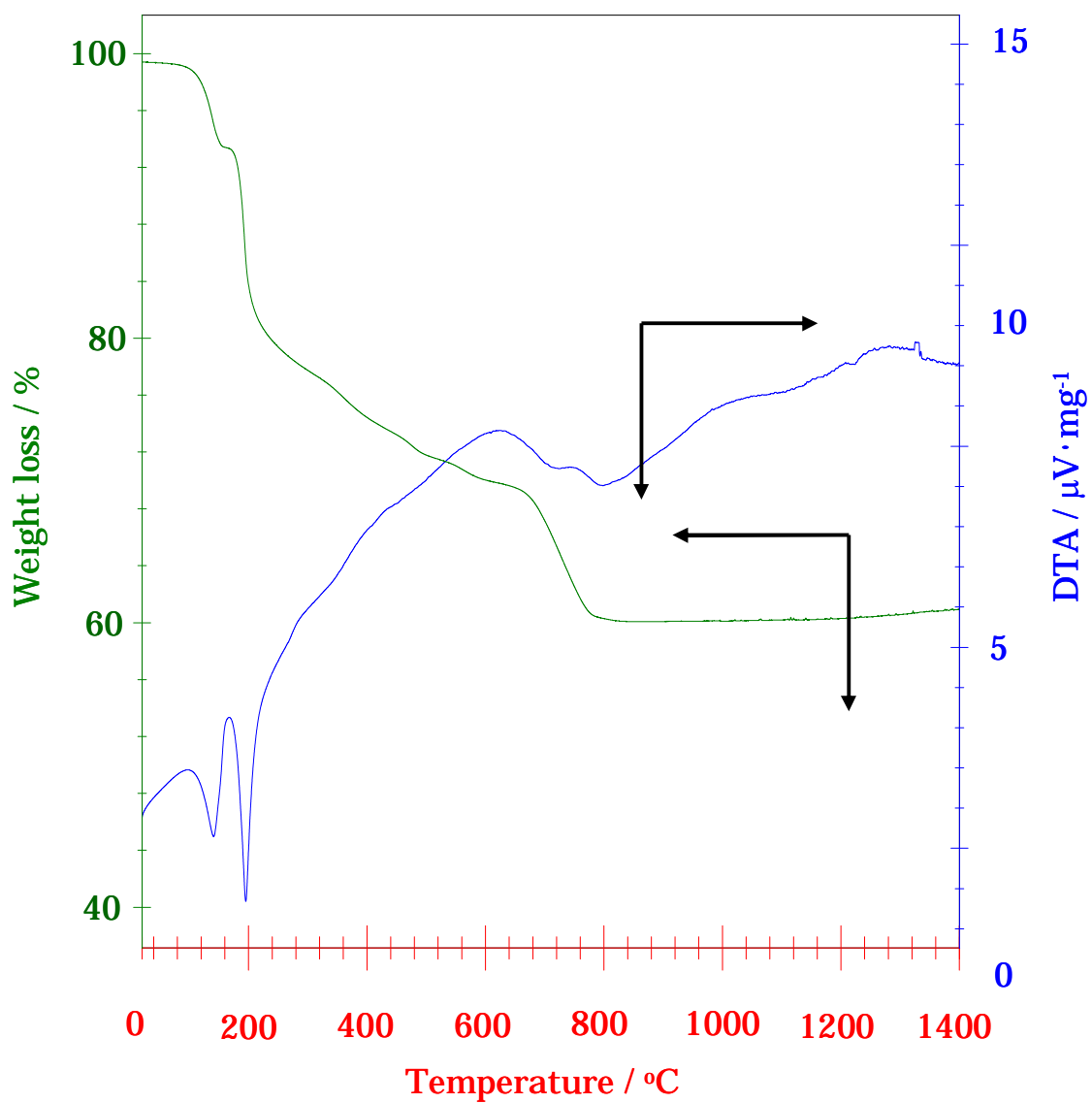


Fig. 5.5 TG-DTA curves of  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCO}_3$ , and  $\text{V}_2\text{O}_3$  with 6.0mol% of  $\text{V}^{3+}$  ions (heating rate:  $3.0^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ ).

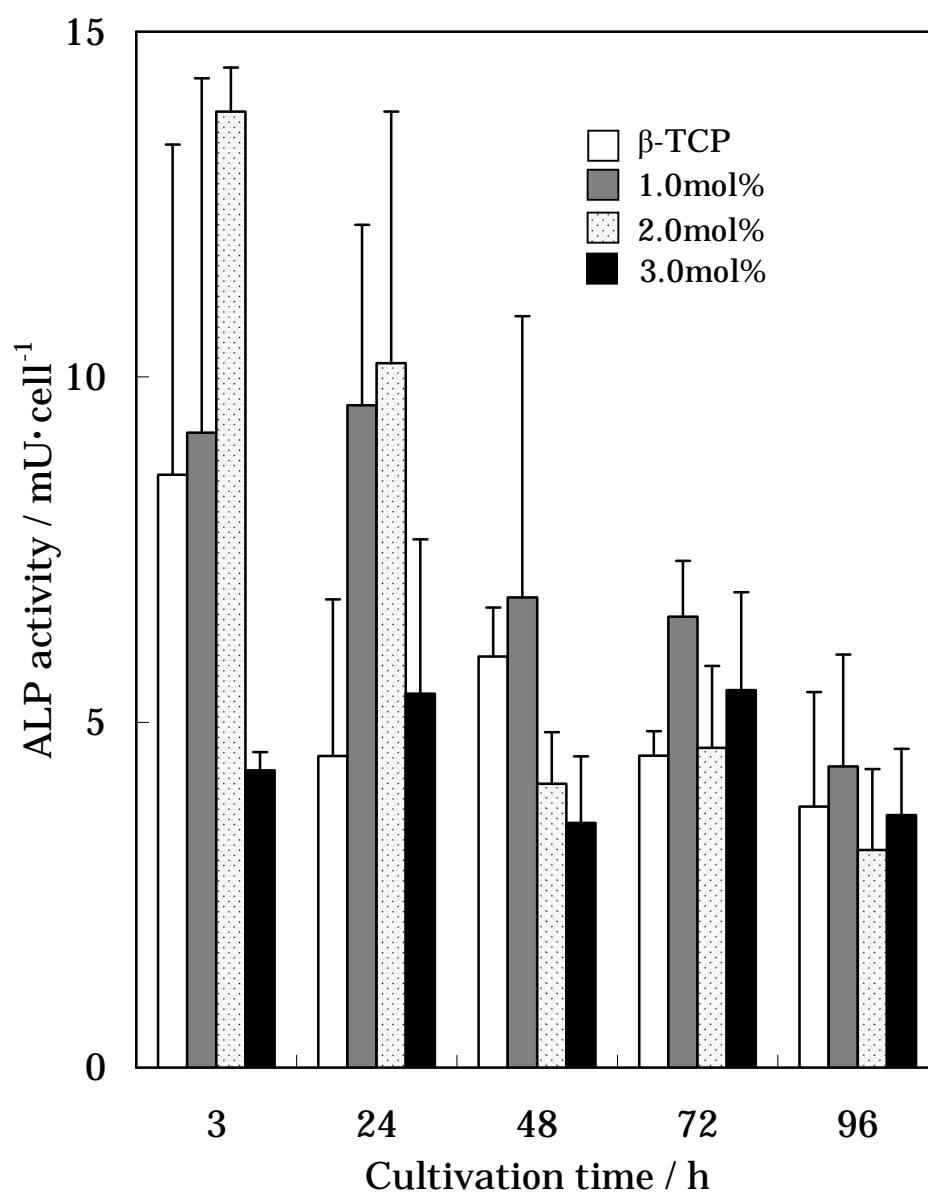


Fig. 5.6 Change in the ALP activity of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $V^{3+}$  ions (sintering condition: 1100°C, 1h, in argon)<sup>17)</sup>.

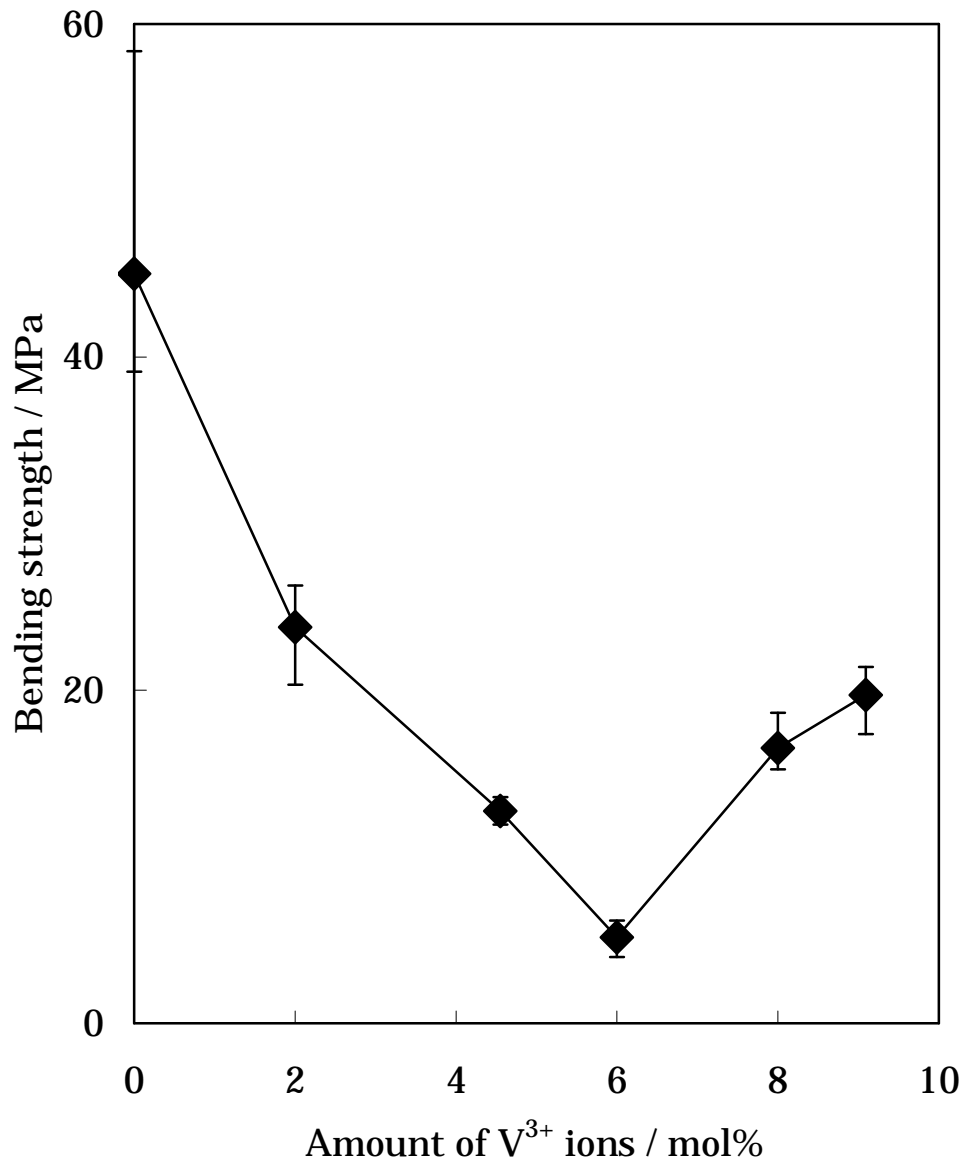


Fig. 5.7 Bending strength of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $V^{3+}$  ions (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).

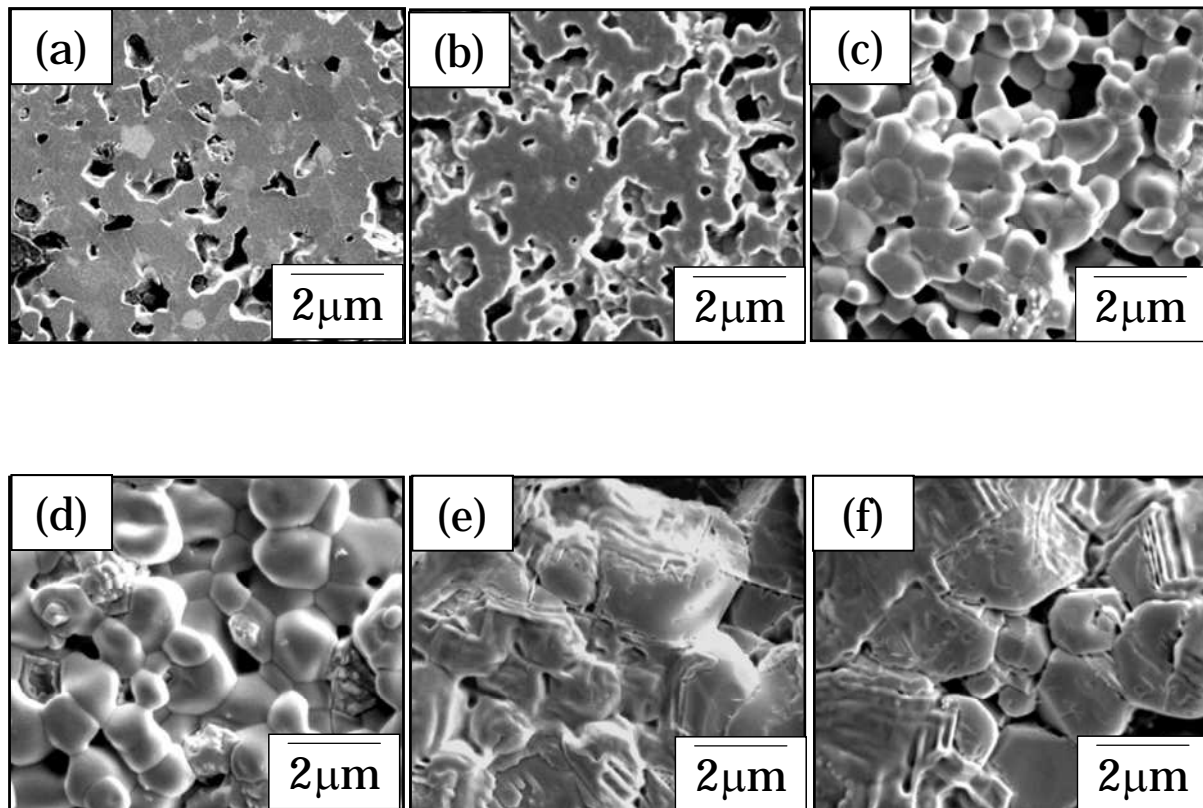


Fig. 5.8 Microstructure of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $V^{3+}$  ions (sintering condition: 1100°C, 24h, in air). (a) 0mol%, (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 6.0mol%, (e) 8.0mol%, (f) 9.09mol%.



### 5.3.2 バナジン酸イオンの固溶形態

本節では、金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の機械的性質評価時に重要となる焼結体の結晶相、金属イオンの  $\beta$ -TCP 構造中における固溶形態と固溶限界を明らかにするために、作製した  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加  $\beta$ -TCP 焼結体の結晶相の同定、FT-IR 測定によるバナジウムの焼結体中における存在状態の確認、および格子定数の精密化を行う。

図 5.9 に、配合 A の組成で仮焼温度と  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量とを変化させた仮焼粉末を用いた焼結体の X 線回折図を示した。仮焼温度に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol% までの焼結体は  $\beta$ -TCP 構造であり、それ以上の場合は  $\beta$ -TCP の回折線にくわえ低強度の  $\text{V}_2\text{O}_5$  の回折線を確認した。

配合 A の 800~1000°C 仮焼粉末を用いた焼結体の FT-IR スペクトルを図 5.10 に示した。すべての試料のそれに 1093, 1041 $\text{cm}^{-1}$  の P-O 逆対称伸縮振動、960 $\text{cm}^{-1}$  に P-O 対称伸縮振動、603, 573 $\text{cm}^{-1}$  に P-O 変角振動に帰属の吸収を認めた。また、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオンを添加した焼結体については、仮焼温度に関わらず 780~900 $\text{cm}^{-1}$  付近の  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンに帰属の吸収も認め、添加量の増加で  $\text{VO}_4$  に帰属の吸収強度は増加した。 $\text{V}^{3+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の場合は、 $\text{V}^{3+}$  イオンが三価金属イオンとして  $\beta$ -TCP 構造中の Ca サイトに固溶したため、その FT-IR スペクトルに  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン帰属の吸収は認めなかった。したがって、添加したバナジウム源( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ )は、 $\beta$ -TCP 焼結体中において  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンとして存在したことを認めた。

図 5.11 には、配合 A の焼結体の格子定数変化を示した。格子定数は、仮焼温度に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol% まで  $a$  軸、 $c$  軸ともに直線的に増加し、その後一定であることを認めた。

配合 A および配合 B [内配合;  $\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$ ] の 1000°C 仮焼粉末を用いた焼結体の  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 0~5.0mol% における格子定数変化を図 5.12 に、配合 B の焼結体の  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 0~100mol% におけるそれを図 5.13 に、それぞれ示した。配合 A の焼結体の格子定数の場合と異なり、配合 B の場合は、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 100mol% まで  $a$  軸および  $c$  軸ともに直線的に増加し、これは  $\text{PO}_4^{3-}$  イオンにくらべて  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンのイオン半径の大きいことに起因していると考えた。したがって、配合 B の場合、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオンは  $\beta$ -TCP 構造中の P(1), P(2), P(3) サイトに、図 5.14 のように均一に全率固溶することを認めた。

一方、配合 A の焼結体の格子定数は、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol% までは配合 B のそれと同様に直線的に増加したため、配合 A においても  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンは P(1), P(2), P(3) サイトに区別なく 2.5mol% まで均一固溶したことがわかった。しかし、図 5.12 より、配合 B の焼結体の格子定数にくらべて  $a$  軸および  $c$  軸ともに配合 A の焼結体のそれは低く、これより配合 A の場合は、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオンの固溶が不完全でないかと考えた。

図 5.15 には、配合 A の組成での 1000°C 仮焼粉末を用いた焼結体の分光反射率曲線を、表 5.4 に  $L^*a^*b^*$  測色値を、図 5.16 に  $a^*b^*$  測色値から作成した  $a^*b^*$  色度図を、それぞれ示した。配合 B の焼結体の色相については、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量に関わらず白色であっ

たが、配合 A の焼結体の場合、400~500nm に吸収ピーク、550nm 付近に反射ピークを認め、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量の増加で  $a^*$  値は減少、 $b^*$  値は増加したことから、焼結体の色相は  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量の増加で黄緑色に変化した。

配合 A の  $\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)$  モル比は、表 5.1 に示したように  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量の増加で低下する。すなわち、 $\beta$ -TCP を形成した場合は、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオンが過剰に存在することになる。ここで、V-TCP の色相は、 $\text{V}^{3+}$  イオン添加量の増加で  $a^*$  値は減少、 $b^*$  値は増加し、次第に緑色に変化した。また、バナジウムイオンは、さまざまな試料の作製において価数の変化しやすい金属イオンである。したがって、配合 A の焼結体の緑色への色相変化については、過剰となった  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンの価数が五価から三価に変化し、三価の  $\text{V}^{3+}$  イオンとして  $\beta$ -TCP 構造中の Ca(5) サイトに固溶したためと考えた。すなわち、配合 A の場合、 $\beta$ -TCP 構造中の Ca(5) サイトに  $\text{V}^{3+}$  イオン、 $\text{PO}_4$  サイトに  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンがそれぞれ固溶し、全体として、その組成は  $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  とあらわせることを明らかにした。なお、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol% を超えると Ca サイトにも  $\text{V}^{3+}$  イオンが固溶せずに  $\text{V}_2\text{O}_5$  を生成したことから、格子定数も一定となったと考えた。

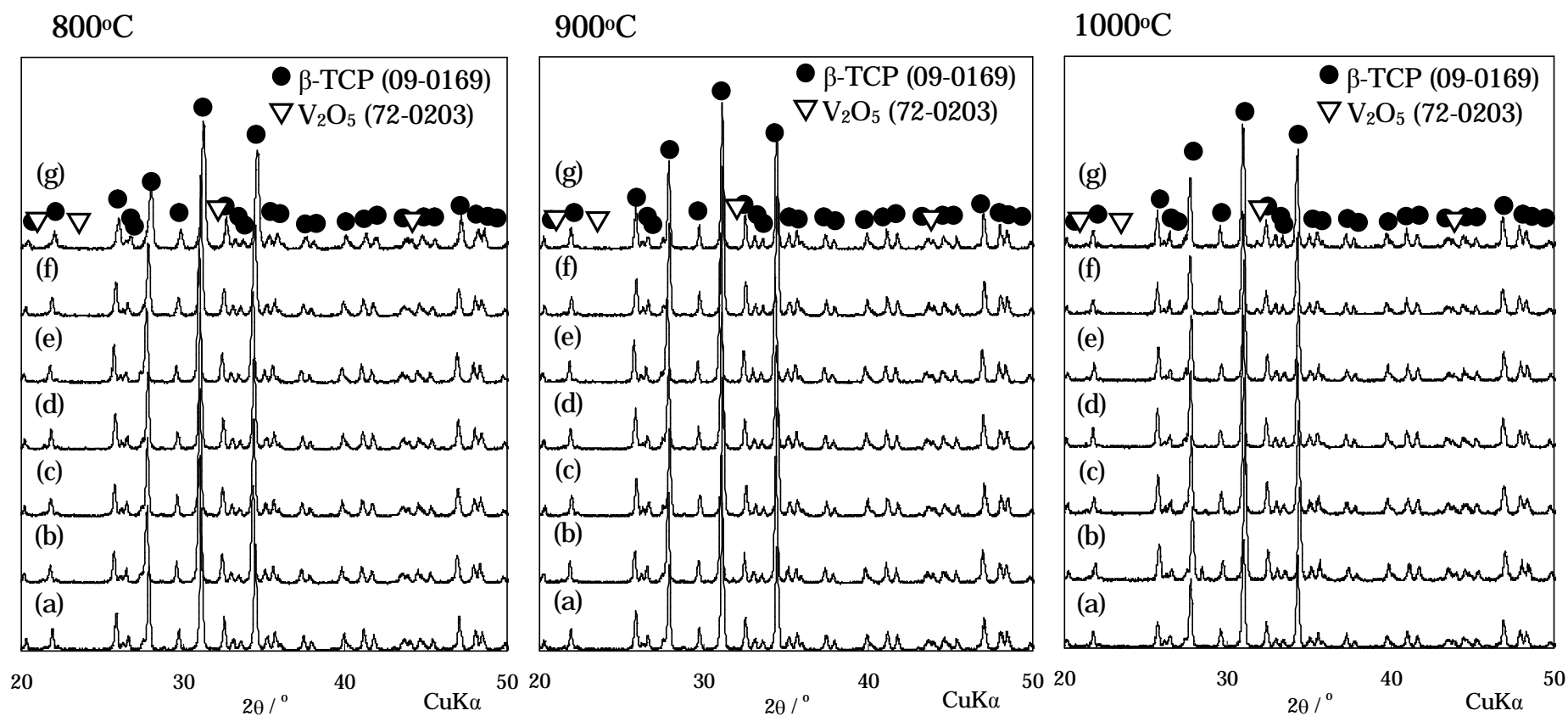


Fig. 5.9 XRD patterns of  $\beta$ -TCP ceramics containing  $\text{VO}_4^{3-}$  ions prepared using the powder calcinated at 800°C, 900°C, and 1000°C in composition of  $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  (sintering condition: 1100°C, 24h, in air). (a) 0mol%, (b) 1.0mol%, (c) 1.5mol%, (d) 2.0mol%, (e) 2.5mol%, (f) 3.0mol%, (g) 5.0mol%.

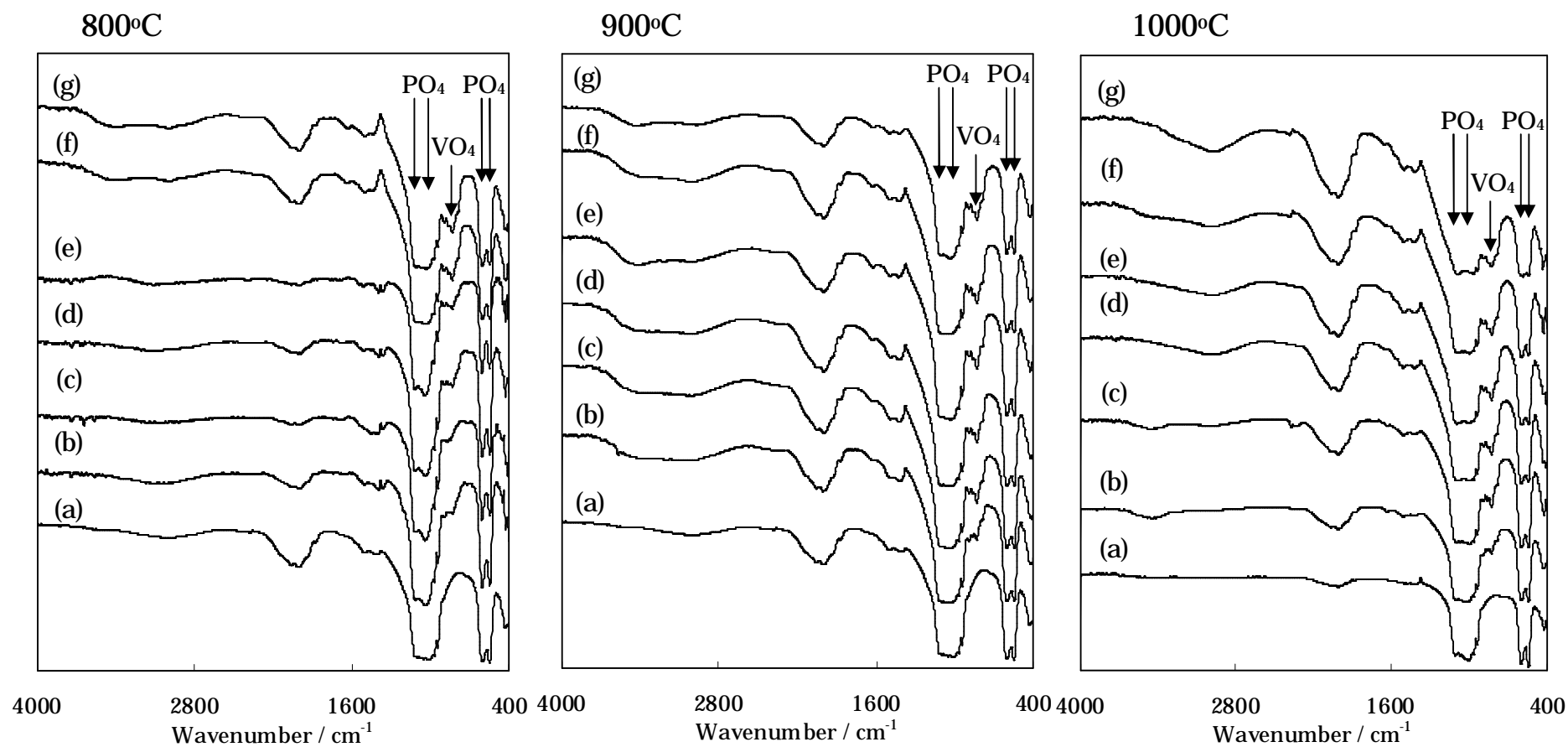


Fig. 5.10 FT-IR spectra of  $\beta$ -TCP ceramics containing  $\text{VO}_4^{3-}$  ions prepared using the powder calcinated at 800°C, 900°C, and 1000°C in composition of  $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  (sintering condition: 1100°C, 24h, in air). (a) 0mol%, (b) 1.0mol%, (c) 1.5mol%, (d) 2.0mol%, (e) 2.5mol%, (f) 3.0mol%, (g) 5.0mol%.

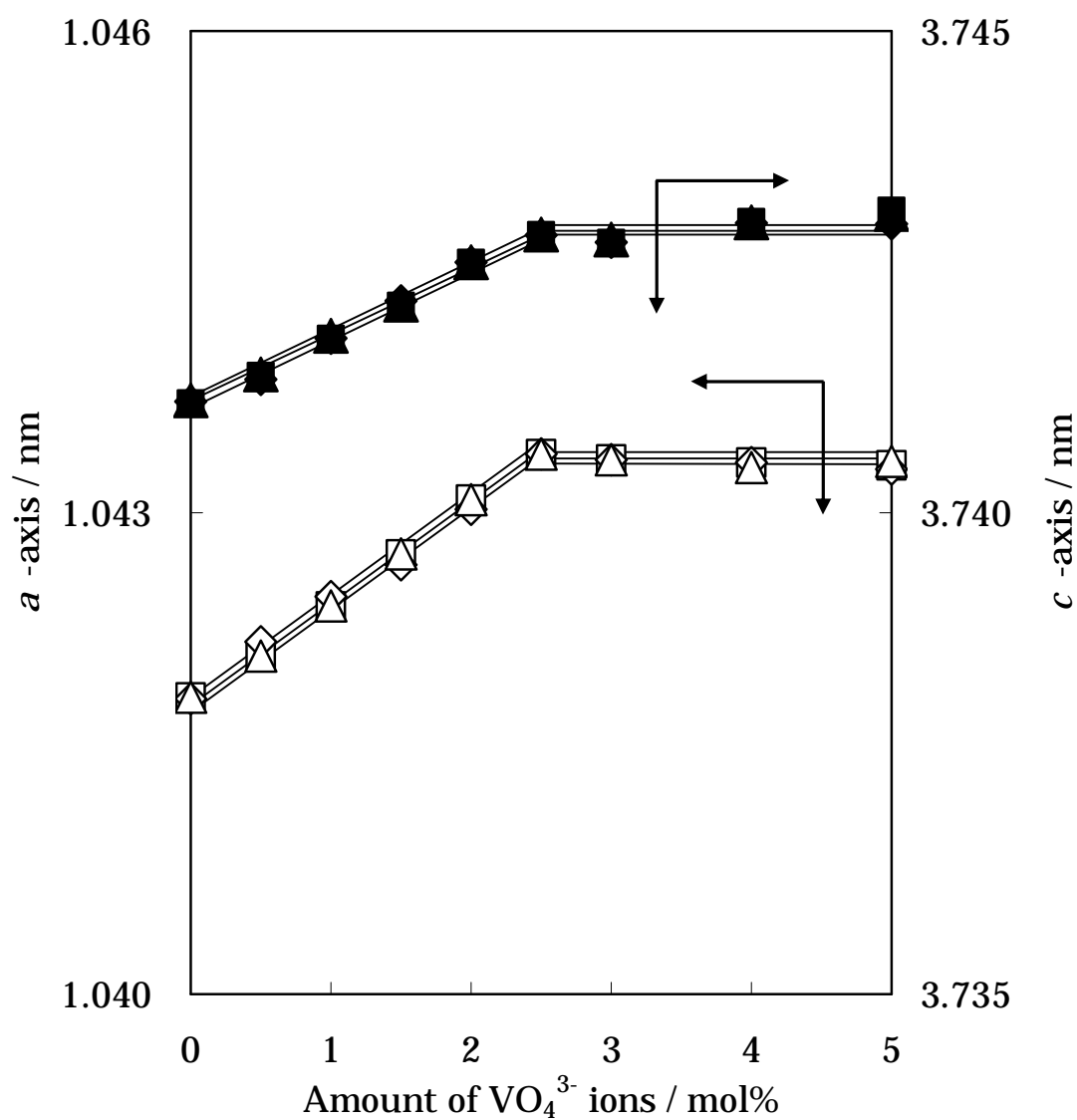


Fig. 5.11 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at several temperatures (sintering condition: 1100°C, 24h, in air). : 800°C, : 900°C, : 1000°C.

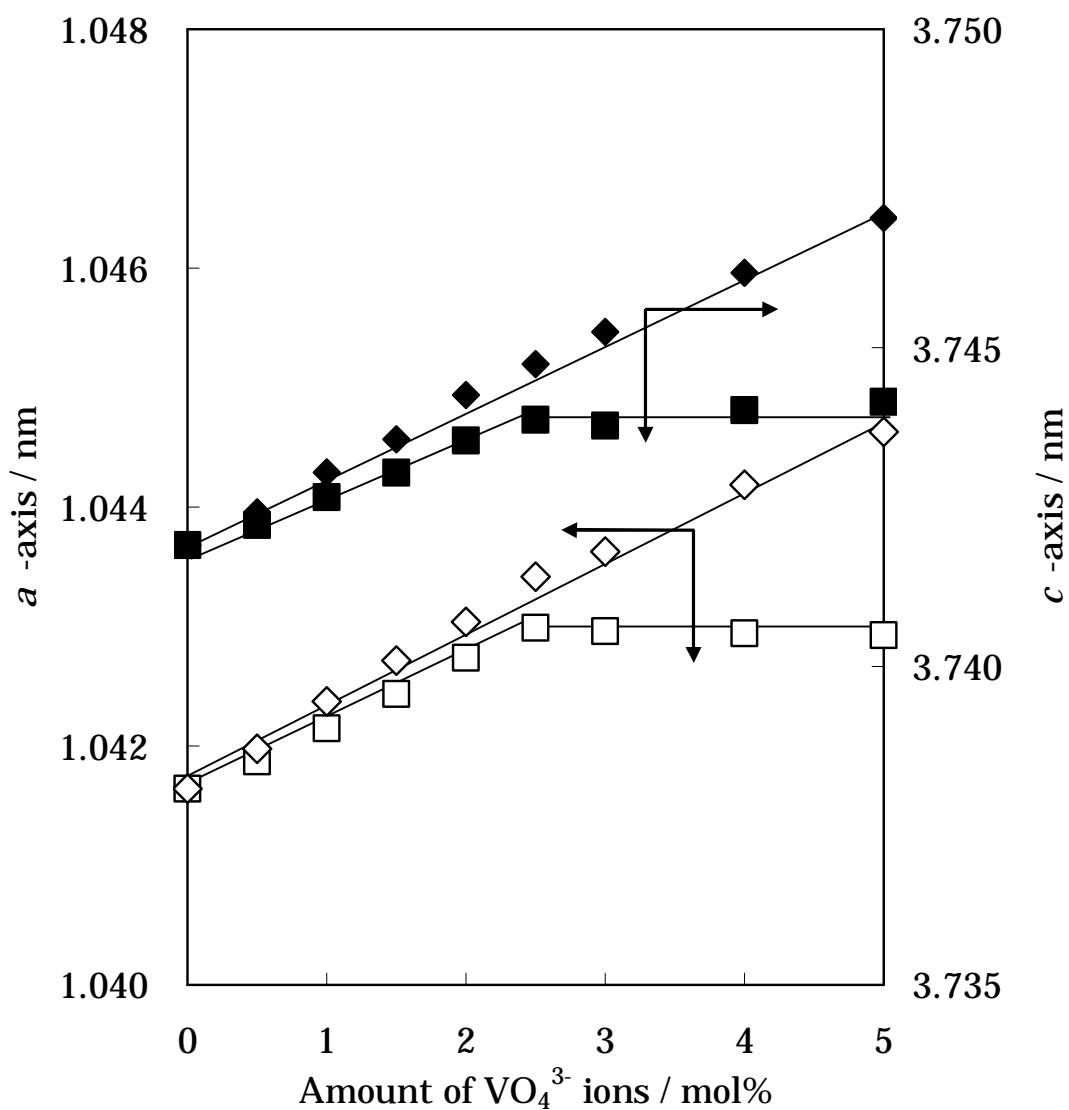


Fig. 5.12 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at  $1000^\circ\text{C}$  in the composition of  $[(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$  ( ) and  $[\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$  ( ) (sintering condition:  $1100^\circ\text{C}$ , 24h, in air).

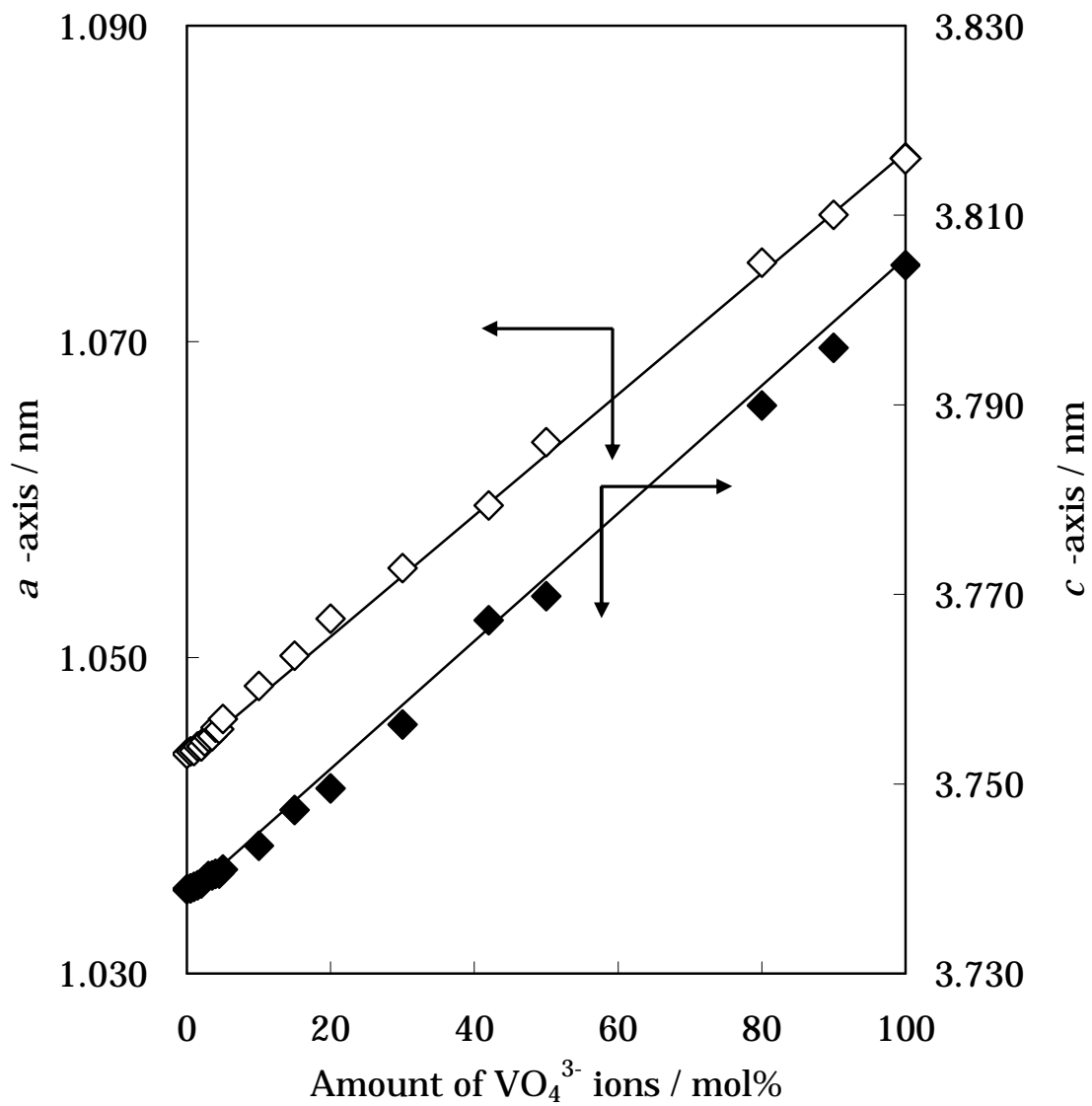


Fig. 5.13 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at  $1000^\circ\text{C}$  in the composition of  $\text{Ca}/(\text{PO}_4 + \text{VO}_4) = 1.50$  (sintering condition:  $1100^\circ\text{C}$ , 24h, in air).

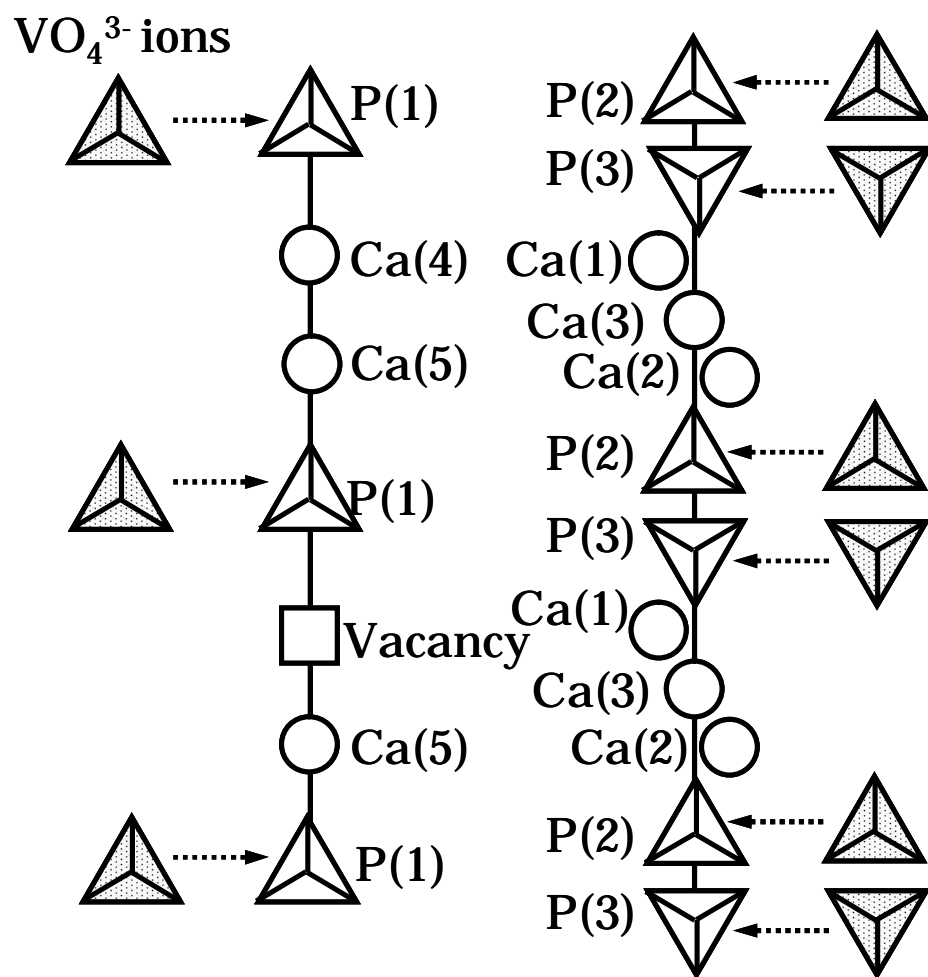


Fig. 5.14 Substitution model of VO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ions in  $\beta$ -TCP doped with VO<sub>4</sub><sup>3-</sup> ions.



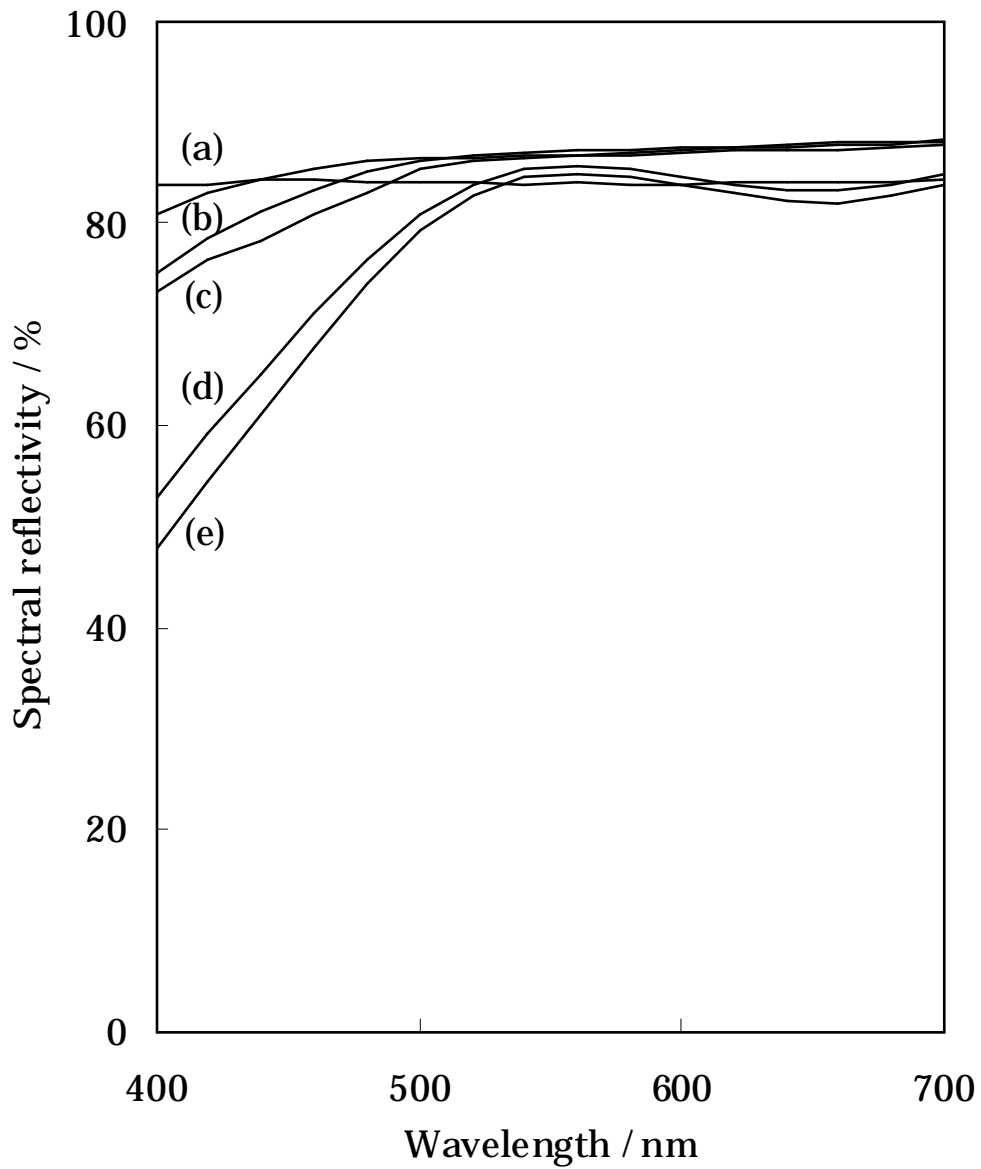


Fig. 5.15 Spectral reflectivity curves of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at  $900^\circ\text{C}$  in the composition of  $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  (sintering condition:  $1100^\circ\text{C}$ , 24h, in air). (a) 0mol%, (b) 2.0mol%, (c) 2.5mol%, (d) 3.0 mol%, (e) 5.0mol%.

Table 5.4 Hue ( $L^*a^*b^*$ ) values of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at 900°C in the composition of  $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).

	Amount of metal ions / mol%						
	0	1.0	2.0	2.5	3.0	4.0	5.0
$L^*$	89.45	94.64	94.73	94.58	94.17	93.45	93.04
$a^*$	0.20	-0.20	-1.31	-1.58	-2.83	-5.39	-6.19
$b^*$	0.23	1.35	3.33	4.12	6.50	11.80	14.05

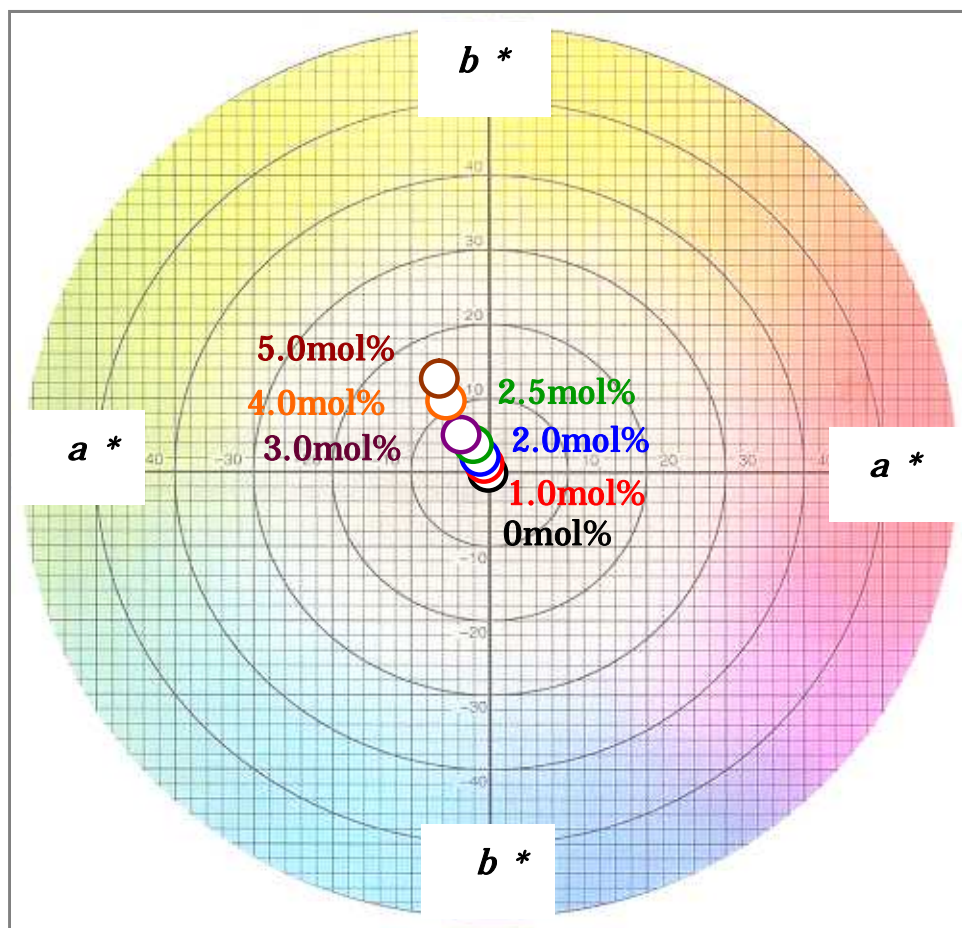


Fig. 5.16 Chromaticity diagram of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at  $900^\circ\text{C}$  in the composition of  $(\text{Ca}+\text{VO}_4)/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  (sintering condition:  $1100^\circ\text{C}$ , 24h, in air).

### 5.3.3 バナジウム酸イオン固溶 $\beta$ -TCP 焼結体の機械的性質

前節では、配合 A [ $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$ ] の焼結体の場合、仮焼粉末の加熱温度に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンは  $\beta$ -TCP 構造中の  $\text{PO}_4$  サイトに、 $\text{V}^{3+}$  イオンは  $\text{Ca}$  サイトに同時固溶したことを明らかにした。本節では作製した焼結体の機械的性質を評価し、機械的性質に及ぼす仮焼粉末の合成温度、および  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンや  $\text{V}^{3+}$  イオン固溶の影響を考察した。

図 5.17 に配合 A の場合において、仮焼温度および  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量をそれぞれ変化した仮焼粉末を用いた焼結体の曲げ強度変化を示した。焼結体の曲げ強度は、仮焼温度に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol% で最大値を示した。また、1000°C 仮焼粉末を用いた焼結体の曲げ強度は、800°C および 900°C 仮焼粉末でのそれとくらべて低下した。

ヒトのち密骨の曲げ強度は 160~180MPa である<sup>18)</sup>。したがって、配合 A の組成で  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンを 2.5mol% 添加し、800°C または 900°C 仮焼粉末を用いることで、一般的な常圧焼結法でヒトのち密骨の曲げ強度と同等の曲げ強度をもつ  $\beta$ -TCP 焼結体がえられることを明らかにした。

図 5.18 に焼結体の焼成体積収縮率を、図 5.19 にかさ密度と開気孔率を、それぞれ示した。焼結体のかさ密度および焼成体積収縮率については、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol% の場合でそれぞれ最大値を示し、開気孔率については 2.5mol% の場合で最小であった。なお、800°C、900°C の仮焼粉末を用いた焼結体の焼成体積収縮率、かさ密度、開気孔率はほぼ同じであったが、1000°C 仮焼粉末を用いた場合の焼成体積収縮率とかさ密度はそれらにくらべて低く、開気孔率は増加した。

図 5.20 には、配合 A の組成における仮焼粉末の仮焼温度や  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量をそれぞれ変化した焼結体の微構造を示した。仮焼粉末の合成条件に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量の増加にともない 2.5mol% までち密化した。なお、それ以上の  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量では、 $\text{V}_2\text{O}_5$  相の形成やクラックも認め、1000°C 仮焼粉末を用いた焼結体の場合は、800°C、900°C の場合にくらべてち密化しなかった。

図 5.21 には、出発原料または 1000°C 仮焼粉末の成形体について焼成時の線収縮率変化を示した。出発原料を成形して焼成した場合、焼結体の焼結は 800~900°C から起こるのに対して、1000°C 仮焼粉末を用いた場合は、1000°C 以上で焼結が開始し、その線収縮率も出発原料の成形体のそれにくらべて低かった<sup>19)</sup>。これは、上記の焼成体積収縮率の結果と一致し、1000°C 仮焼粉末を用いた焼結体については、微構造観察からもわかるように焼結体のち密化が進行しないことから、曲げ強度が低下したことがわかった。

配合 A または配合 B [ $\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$ ] の組成で 900°C 仮焼粉末を用いた焼結体の曲げ強度を図 5.22 に示した。配合 A の仮焼粉末を用いた焼結体の曲げ強度は、配合 B の場合のそれにくらべて高かった。

図 5.23 に、配合 A における仮焼温度を変化させた仮焼粉末を用いた焼結体、および配合 B の 900°C 仮焼粉末を用いた焼結体の平均粒子径を示した。 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶量の増加

で配合 B の焼結体の平均粒子径は増加し、これは、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶で  $\beta$ -TCP 焼結体の焼結性が向上したことを示している。

一方、配合 A で作製した焼結体の平均粒子径については  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶量 2.5mol% まで減少し、それ以上の添加量では増加(異常粒成長)し、配合 B の結果とは異なることを認めた 5.3.1 で示したが、 $\beta$ -TCP への  $\text{V}^{3+}$  イオン固溶は焼結体の粒成長(焼結性)を抑制した。したがって、配合 A の焼結体は、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶量 2.5mol% まで、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶で焼結性は向上し、一方で  $\text{V}^{3+}$  イオン固溶で粒成長を抑制し緻密化したことが明らかになった。すなわち、配合 B の焼結体よりも粒成長を抑制したため、配合 A の焼結体の曲げ強度は配合 B の焼結体のそれにくらべて高くなった。なお、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶量が 2.5mol% を超えると、副生成物相の生成や異常粒成長したため、曲げ強度は減少した。

つぎに 1000°C 仮焼粉末を用いた機械的性質の向上の報告されている金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体と配合 A の焼結体の曲げ強度を図 5.24 に示した<sup>20),21)</sup>。配合 A で作製した焼結体は、他の金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の曲げ強度にくらべて少量の金属イオン固溶量で高強度であることを明らかにした。

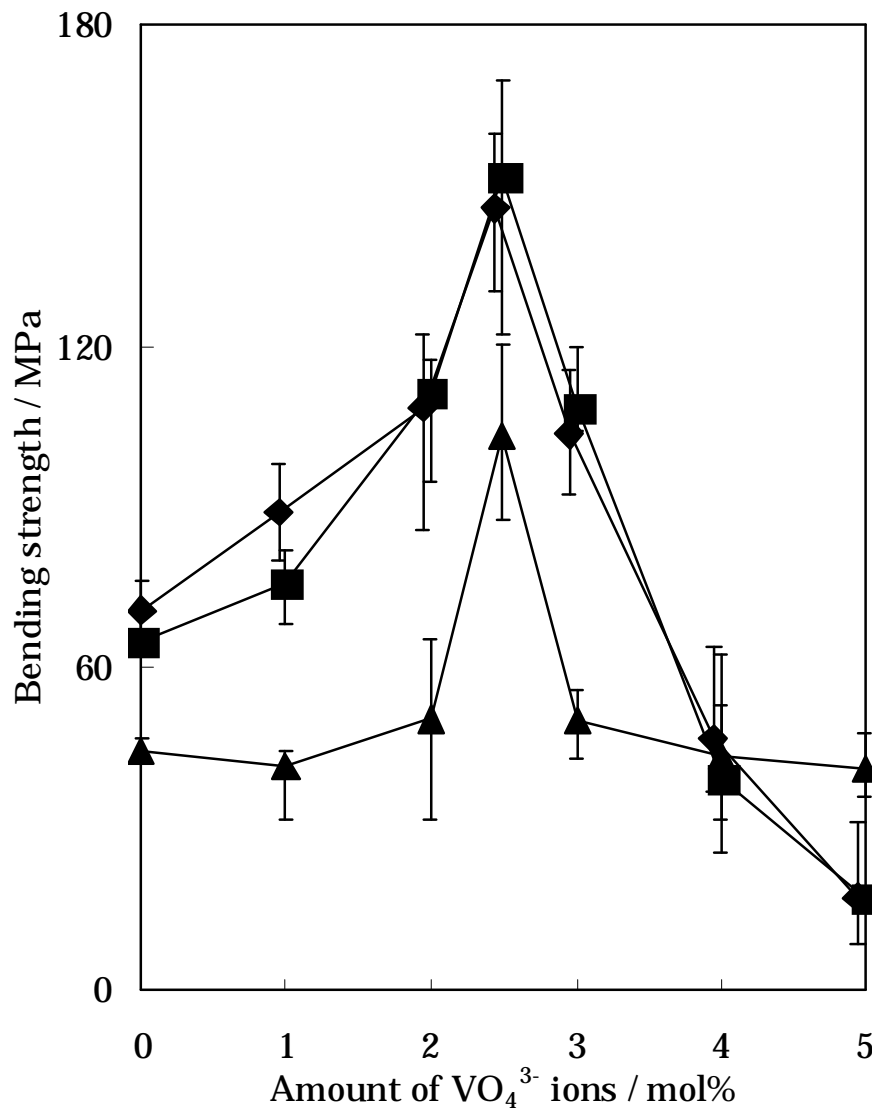


Fig. 5.17 Bending strength of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at several temperatures in the composition of  $(\text{Ca}+\text{V}) / (\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).  
 $\blacklozenge$  : 800°C,  $\blacksquare$  : 900°C,  $\blacktriangle$  : 1000°C.

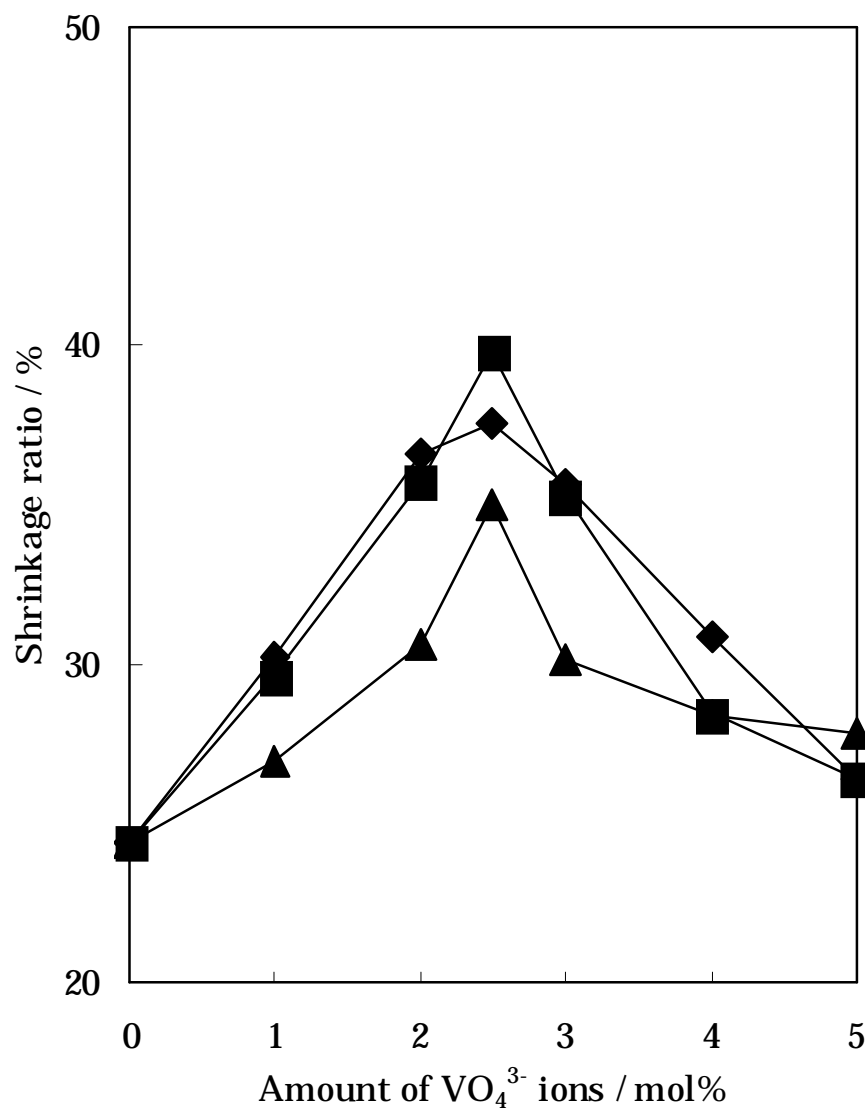


Fig. 5.18 Shrinkage ratio of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at several temperatures (sintering condition: 1100°C, 24h, in air). : 800°C, : 900°C, : 1000°C.

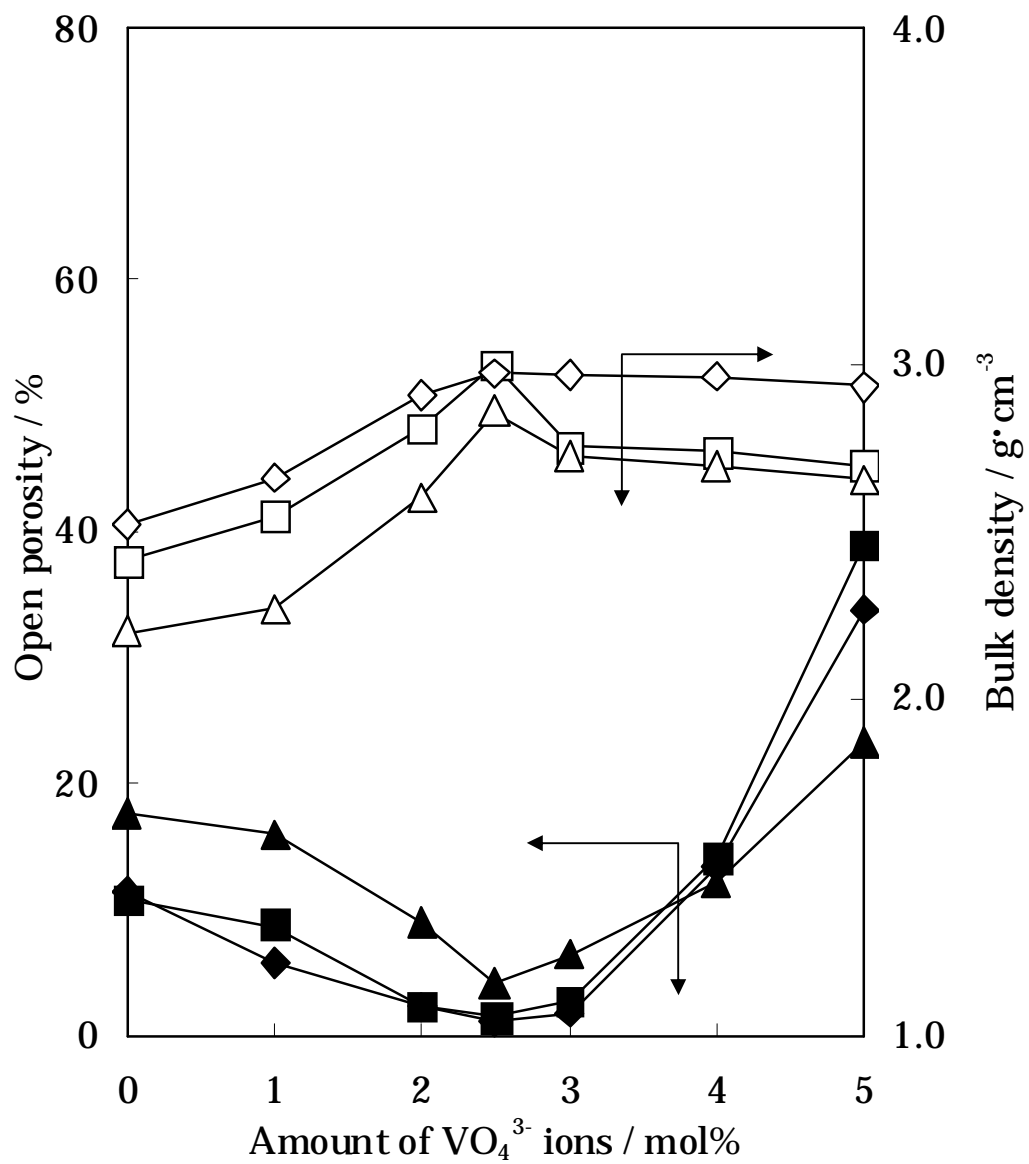


Fig. 5.19 Bulk density (open) and open porosity (close) of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at several temperatures (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).  
: 800°C, : 900°C, : 1000°C.



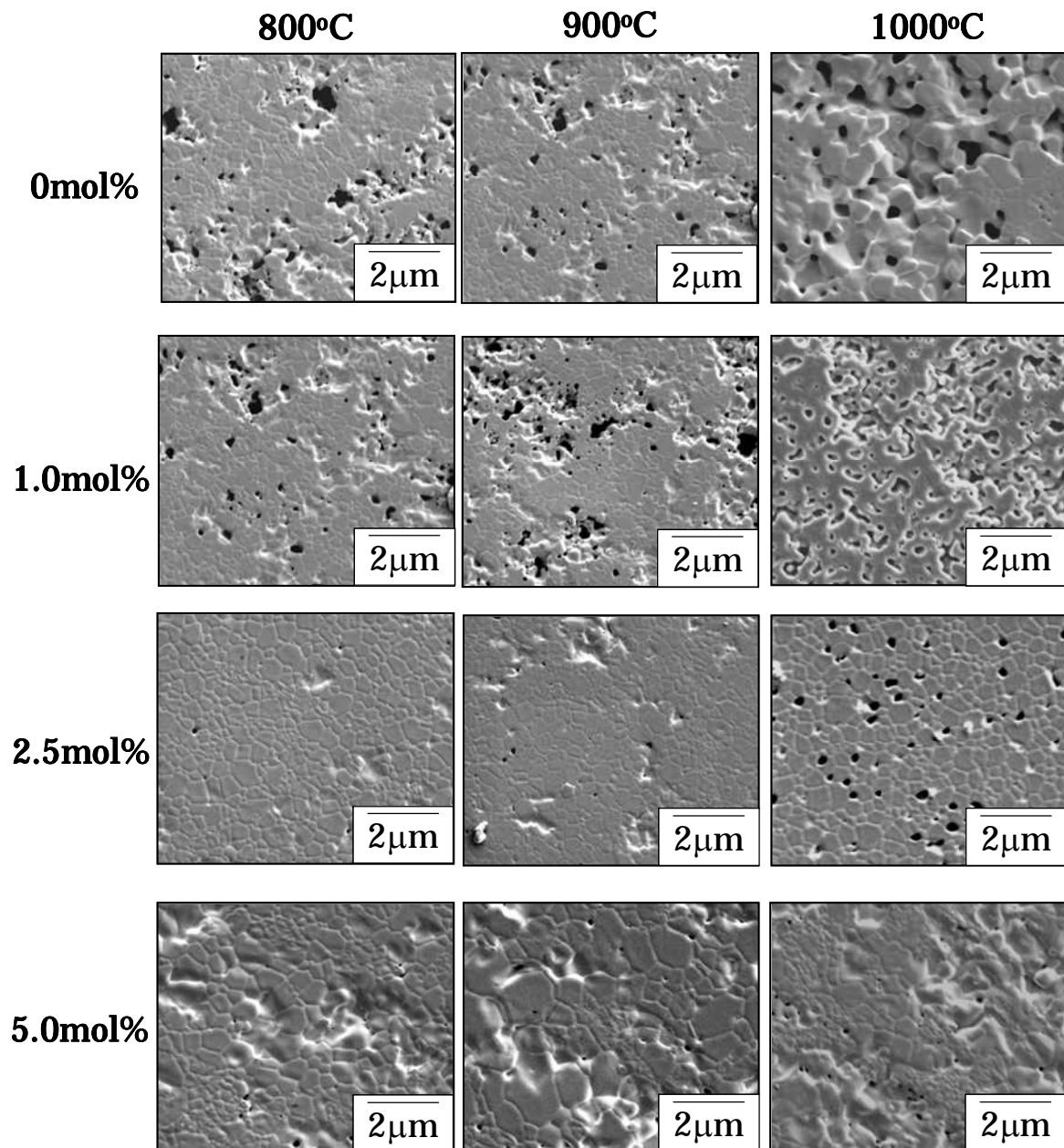


Fig. 5.20 Microstructure of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at several temperatures (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).

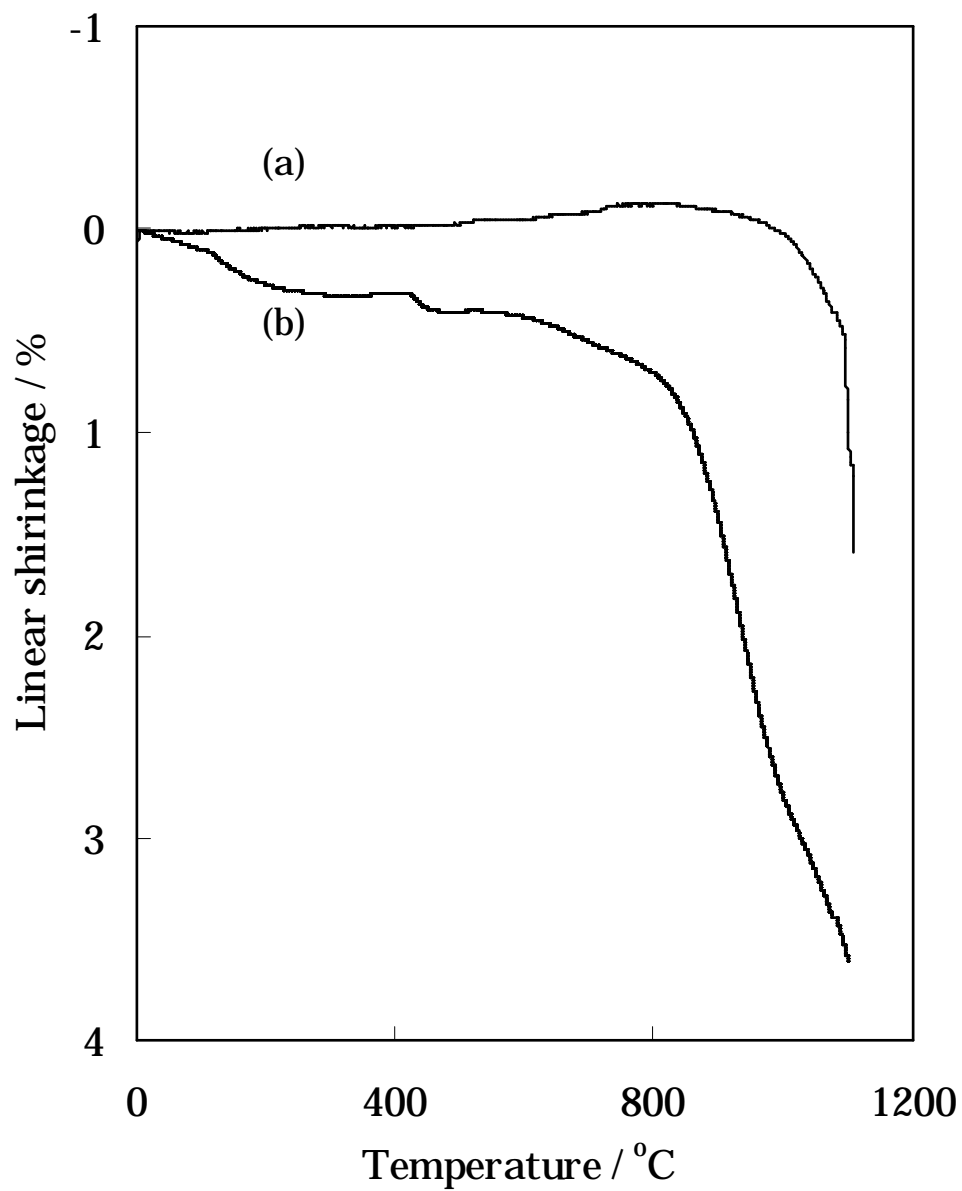


Fig. 5.21 Shrinkage process of the compacts consisted of (a)  $\beta$ -TCP powder (normal sintering) and (b) starting materials (reaction sintering)<sup>18</sup>.

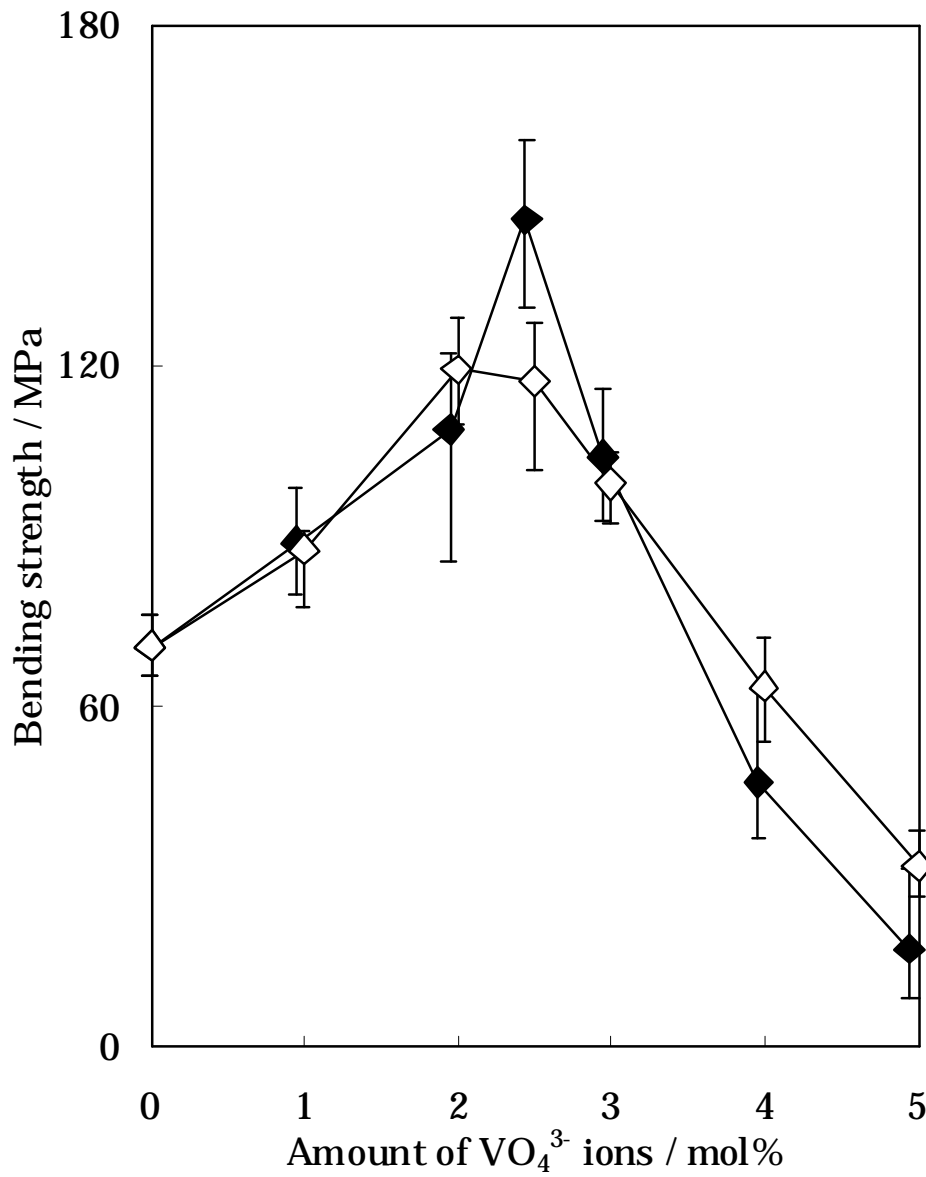


Fig. 5.22 Bending strength of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at  $900^\circ\text{C}$  in the composition of  $[(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$  ( ) and  $[\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$  ( ) (sintering condition:  $1100^\circ\text{C}$ , 24h, in air).

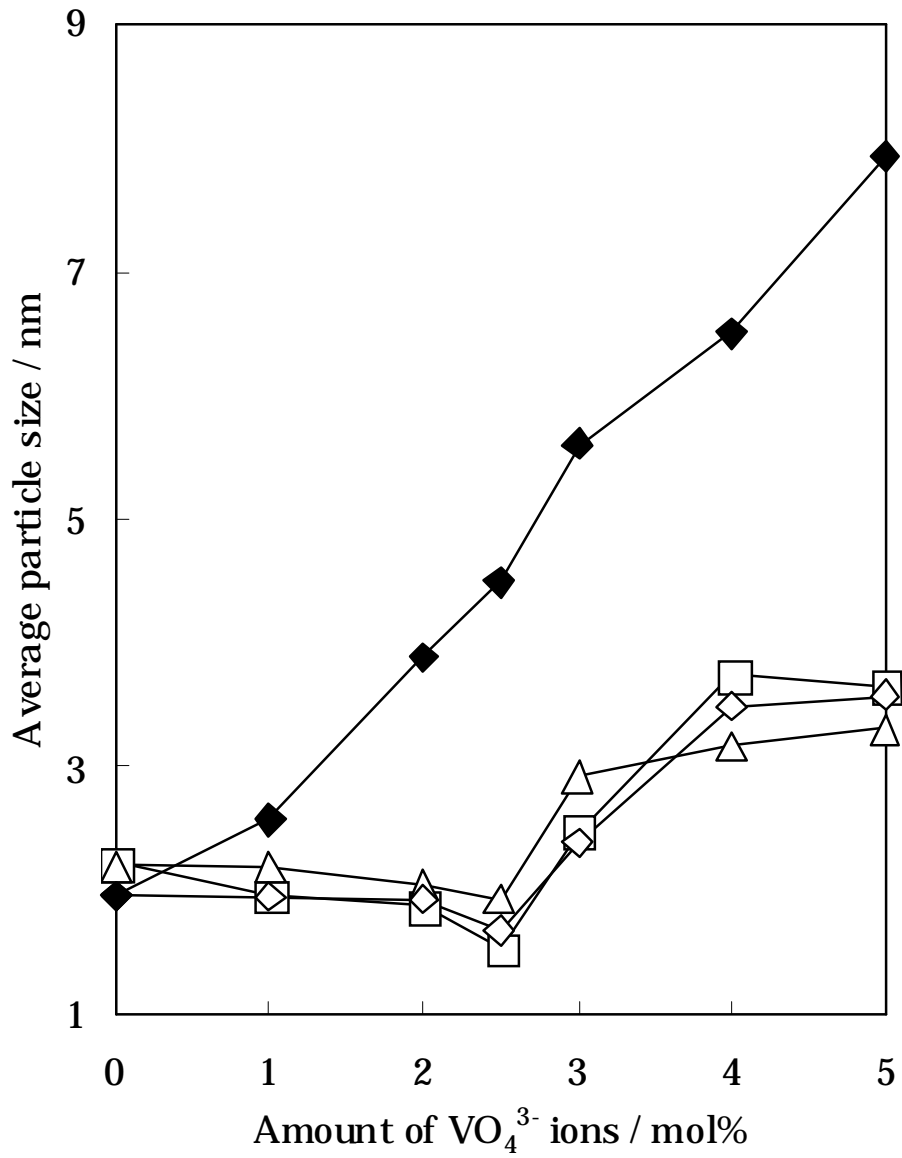


Fig. 5.23 Average particle sizes of  $\beta$ -TCP ceramics containing various amounts of  $\text{VO}_4^{3-}$  ions using the powder calcinated at several temperatures and in the composition of  $[(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$  ( ) and  $[\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$  ( ).  
: 800°C, : 900°C, : 1000°C (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).

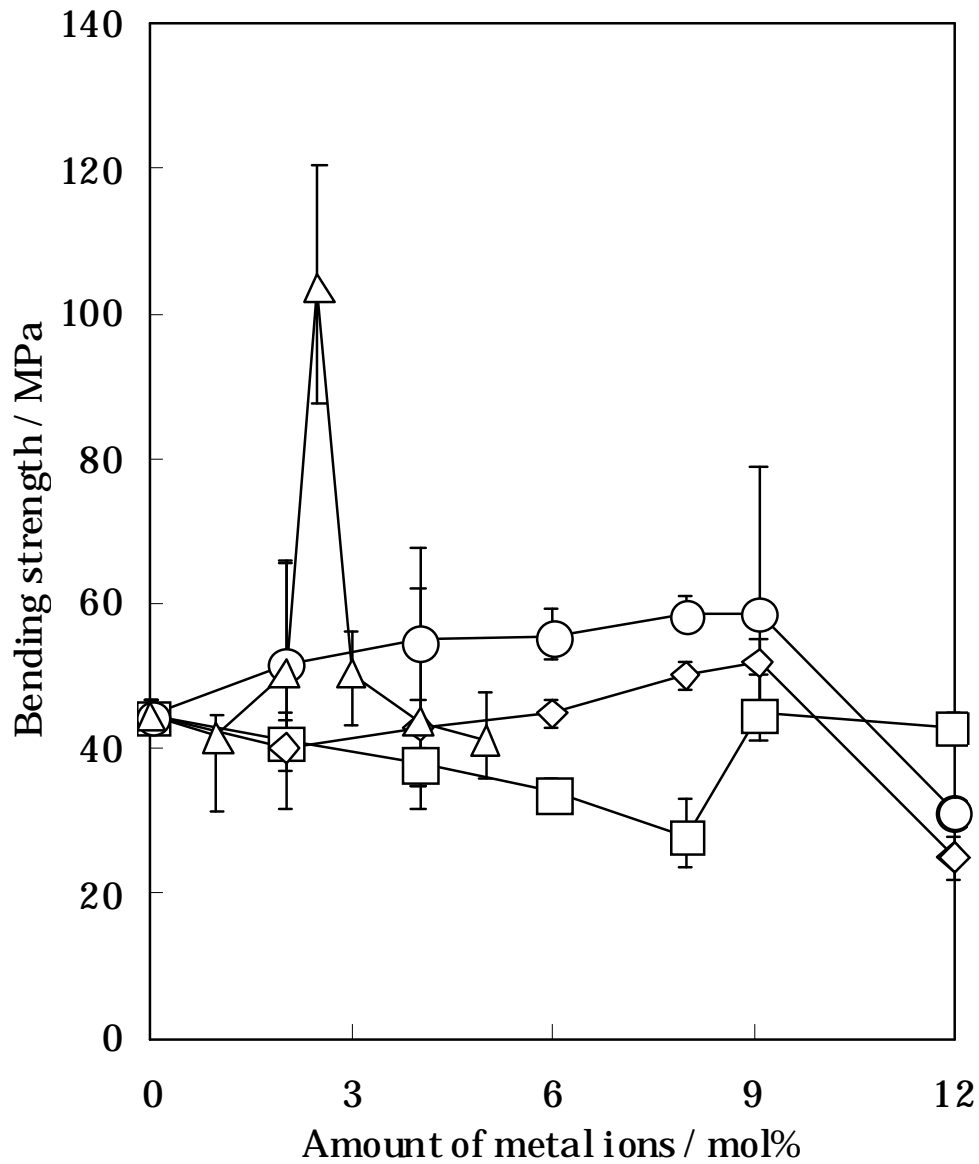


Fig. 5.24 Bending strength of  $\beta$ -TCP ceramics containing various species and amounts of metal ions using the powder calcinated at 1000°C.  $\circ$ :  $\beta$ -TCP doped with  $\text{VO}_4^{3-}$  and  $\text{V}^{3+}$  ions in the composition of  $[(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50]$ ,  $\triangle$ :  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Mg}^{2+}$  ions <sup>18)</sup>,  $\square$ :  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Na}^+$  ions <sup>20)</sup>,  $\diamond$ :  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Na}^+$  and  $\text{Mg}^{2+}$  ions <sup>21)</sup> (sintering condition: 1100°C, 24h, in air).

## 5.4 おわりに

本章では、骨形成細胞に影響を与え、骨形成も促進すると考えられる  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンを固溶した  $\beta$ -TCP 焼結体を作製し、その結晶相、格子定数、機械的性質などを評価し、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオンの  $\beta$ -TCP 構造中における固溶形態、機械的性質に及ぼす仮焼粉末の配合組成と仮焼温度、および  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加の影響などを考察し、以下の結論をえた。

(1) 焼結体の結晶相は、仮焼温度に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol%まで  $\beta$ -TCP 構造であり、それ以上の添加においては  $\beta$ -TCP と  $\text{V}_2\text{O}_5$  の混合相であった。焼結体の格子定数は、仮焼温度に関わらず  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol%まで  $a$  軸および  $c$  軸ともに直線的に増加し、それ以上の添加では一定となった。この結果から、配合 A の場合、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオンは P(1), P(2), P(3) サイトに均一固溶し、さらに過剰の  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンにおけるバナジウムの価数が三価に変化し、その  $\text{V}^{3+}$  イオンが Ca(5) サイトに  $(\text{Ca}+\text{V})/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$  となるように  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量 2.5mol%まで固溶したことを明らかにした。

(2) 焼結体の曲げ強度については、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶で焼結性が向上し、さらに  $\text{V}^{3+}$  イオン固溶で粒成長を抑制したため、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン最大固溶量の 2.5mol%で曲げ強度は最大値を示した。また、2.5mol%を超えると異常粒成長、副生成物相の生成、およびクラックなどの影響で曲げ強度は低下した。

また、配合 A の組成において  $\text{VO}_4^{3-}$  イオンを 2.5mol%添加し、800~900°C 仮焼粉末を用いることで、一般的な常圧焼結法でヒトのち密骨の曲げ強度と同等の曲げ強度の焼結体がえられたことを明らかにした。

(3) 配合 A の仮焼粉末を用いた焼結体の曲げ強度については、配合 B[内配合:  $\text{Ca}/(\text{PO}_4+\text{VO}_4)=1.50$ ]の場合にくらべて高かった。これは、配合 B の場合は、 $\text{VO}_4^{3-}$  イオン固溶で焼結性が向上したのに対して、配合 A の場合では、さらに  $\text{V}^{3+}$  イオン固溶したため配合 B の場合にくらべて粒成長を抑制し、焼結体が緻密化したためと考えた。

(4) 配合 A の焼結体は、他の金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の場合にくらべて高強度および高密度の焼結体であり、これらの焼結体にくらべて少量の金属イオン添加で緻密化した。

以上の結果より、一般的な常圧焼結法により、配合 A の焼結体については、少量の  $\text{VO}_4^{3-}$  イオン添加量で高密度、高強度な焼結体の作製が可能であることを明らかにした。本章で作製した焼結体のように  $\beta$ -TCP のみでヒトのち密骨の曲げ強度と同等の曲げ強度の焼結体はこれまでに作製されてない。また、少量のバナジウム添加は骨芽細胞の分化の促進も期待されるため、この焼結体は、骨形成細胞の分化をも促進するすぐれた生物化学的およ

び機械的性質をもつ硬組織用代替材料として有望である．

## 文 献

- 200) 桜井弘, “金属は人体になぜ必要か”, ブルーバックス (1996) p.7, 57, 120, 182.
- 201) 須田立雄, 小澤英浩, 高橋栄明, “骨の科学”, 医歯薬出版 (1991) p.65.
- 202) M Anke, H. Illing-Gunther, U. Schafer, *Biomed. Res. Trace Elements*, **16**, 208 (2005).
- 203) 田山小次郎, 安達祐介, 安井裕之, 桜井弘, *Biomed. Res. Trace Elements*, **16**, 348 (2005).
- 204) 前川哲也, 原武衛, 小野正博, 中山守雄, *Biomed. Res. Trace Elements*, **16**, 355 (2005).
- 205) 渋市郁雄, 安江正明, 加藤克彦, 渡邊泰雄, *Biomed. Res. Trace Elements*, **17**, 11 (2006).
- 206) H. Sakurai, *Biomed. Res. Trace Elements*, **18**, 241 (2007).
- 207) 福本誠二, “骨粗鬆症~臨床と研究の最新動向~”, 医歯薬出版 (2008) p.71.
- 208) T. Niu, C. J. Rosen, *Gene*, **361**, 38 (2005).
- 209) S. Ogo, A. Onda, K. Yanagisawa, *Applied Catalysis A: General*, **348**, 129 (2008).
- 210) F. Audubert, J. Carpena, J. L. Lacout, F. Tetard, *Solid State Ionics*, **95**, 113 (1997).
- 211) H. S. Ryua, H. J. Youna, K. S. Honga, B. S. Chang, C. K. Lee, S. S. Chung, *Biomaterials*, **23**, 909 (2002).
- 212) 米原牧子, 熊井真次, 磯野宏秋, 杉林俊雄, 井形直弘, 軽金属, **56**, 429 (2006).
- 213) R. D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, **A32**, 751 (1976).
- 214) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).
- 215) 松本俊夫, “骨シグナルと骨粗鬆症”, 羊土社 (1997) p.78.
- 216) 大橋健太, 宮本吏佳子, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 第 12 回生体関連セラミックス討論会予稿集, 8 (2008).
- 217) 青木秀希, 丹羽滋郎, “バイオセラミックスの開発と臨床”, クインテッセンス出版 (1987) p.86.
- 218) K. Yoshida, M. Kobayashi, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Eur. Ceram. Soc.* **27**, 3215 (2007).
- 219) 小林誠, 平成 18 年度千葉工業大学修士論文.
- 220) K. Yoshida, Y. Fukuhara, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Inorg. Mater. Japan*, **16**, 165 (2009).



## 第6章 一価および二価金属イオン同時固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウム抗菌剤の創製<sup>D)</sup>

### 6.1 はじめに

1990年代以降，毎年のように微生物に起因した病原性大腸菌 O-157 による食中毒やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌による院内感染などが発生し，とくに近年では，重症急性呼吸器症候群(SARS)，鳥インフルエンザや新型インフルエンザなどの新種のウイルスを病原体とした感染症も発生し，それらの微生物やウイルスに起因する病気の患者数が増加傾向にある．一方，生体材料においても，硬組織代替材料として金属材料が臨床応用されてから，感染症の発生の問題は常に存在しており，全インプラント埋入患者の1~5%程度に対して感染症によるインプラント抜去および再インプラント埋入手術が行われている<sup>1)</sup>．

銀，銅および亜鉛は金属およびイオン状態で，さまざまな微生物に対して高い抗菌活性を示す<sup>2)~4)</sup>．これらの抗菌性金属イオンは無機系抗菌剤の一種であり，有機系抗菌剤(エタノールなど)にくらべて耐熱性，耐候性，安全性にすぐれ，さらに高温加工も可能で，抗菌性も長期間持続するなどの特徴がある<sup>5)</sup>．

しかし，これらの抗菌性金属イオンのイオン状態における安定性は低く，さらに直接摂取によって毒性を発現する危険性もある．そのため，これまでに化学結合などによって抗菌性金属イオンを無機系担体に担持させた抗菌剤が開発・製品化され，これらは金属イオンの無機系担体への結合(担持)状態で，錯体化して結合(シリカ・シリカゲル)，結晶構造の層間などのアルカリ金属と置換(ゼオライト・ガラス・粘土鉱物)，および結晶格子の陽イオンと置換(ゼオライト)に分別できる<sup>6)~11)</sup>．

前章までに金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の材料化学的性質を評価し，その溶解にともなう固溶金属イオンの溶出についても確認した．したがって， $\beta$ -TCP に抗菌性を示す金属イオンを固溶させた場合，その金属イオンの溶出などの効果で抗菌性が発現すると考えられる．本章では，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP のさらなる機能性付与および応用をめざし，抗菌性金属イオンを  $\beta$ -TCP に固溶した生体内外で使用可能な新しい抗菌剤の創製を試みた．

Hashimoto らは，一価抗菌性金属イオンの銀イオン( $\text{Ag}^+$ イオン)が固溶した  $\beta$ -TCP を作製し，その抗菌性を評価している<sup>12)</sup>．しかし， $\text{Ag}^+$ イオンは生体内で高い細胞毒性を示すことから， $\text{Ag}^+$ イオンの溶出は高い抗菌性を発現すると同時に生体内で細胞毒性を示す可能性もある．一方，Yoshida らは一価および二価金属イオンが同時に  $\beta$ -TCP へ固溶すると報告しており<sup>13)</sup>，さらに福原は，それにより一価金属イオン単独固溶の場合にくらべて金属イオン溶出を抑制できるとしている<sup>14)</sup>．

そこで本章では，一価抗菌性金属イオンの  $\text{Ag}^+$ イオンと二価抗菌性金属イオンの亜鉛イオン( $\text{Zn}^{2+}$ イオン)または銅イオン( $\text{Cu}^{2+}$ イオン)とを同時固溶した  $\beta$ -TCP ( $\text{AgZn}$ -TCP および  $\text{AgCu}$ -TCP)を作製し，各種金属イオンの固溶形態の検討，抗菌性評価，抗菌メカニズムの

解明, *in vitro* 細胞毒性評価を行い, 生体内外で利用できる新しい抗菌剤としての有用性を検討する。

## 6.2 実 験

### 6.2.1 試 料

各種抗菌性金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の作製では, リン酸水素カルシウム二水和物 ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 一級, 98%, キシダ化学製), 炭酸カルシウム ( $\text{CaCO}_3$ ; 特級, 99.5%, キシダ化学製), 一価および二価金属イオン源として硝酸銀 ( $\text{AgNO}_3$ ; 1 級, 99.8%, キシダ化学製), 酸化銅 ( $\text{CuO}$ ; 特級, 99%, キシダ化学製) または酸化亜鉛 ( $\text{ZnO}$ ; 特級, 99%, キシダ化学製) を出発原料に用いた。これら出発原料は,  $\text{Ag}^+$  イオン添加量を  $\beta$ -TCP 結晶構造中の空孔を考慮した全 Ca サイトに対して 9.09mol% 一定とし, さらに  $\text{Zn}^{2+}$  または  $\text{Cu}^{2+}$  イオン添加量を 0~20mol%,  $[\text{Ca}+2\text{Ag}+(\text{Zn or Cu})]/\text{P}$  モル比が 1.50 の組成となるように配合した。各配合試料をめのう乳鉢で 1 時間乾式混合した後, 大気雰囲気下, 1000°C, 12 時間焼成後, 再度同条件で混合と焼成した。また,  $\text{AgZn-TCP}$  および  $\text{AgCu-TCP}$  と比較するために,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  イオンを単独固溶した  $\beta$ -TCP ( $\text{Ag-TCP}$ ,  $\text{Cu-TCP}$ ,  $\text{Zn-TCP}$ ) も, 各金属イオン添加量がそれぞれ 0~9.09mol%,  $[\text{Ca}+(2\text{Ag, Cu or Zn})]/\text{P}$  モル比が 1.50 となるように上記出発原料を配合して, 同条件で作製した。出発原料の配合比を  $\text{Ag-TCP}$ ,  $\text{Cu-TCP}$  および  $\text{Zn-TCP}$  については表 6.1 に,  $\text{AgCu-TCP}$  および  $\text{AgZn-TCP}$  については表 6.2 にそれぞれ示した。

### 6.2.2 評 価

作製した各種抗菌性金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の結晶相の同定, 格子定数の精密化については, 前章までと同様の方法で評価した。また, それら試料の色相評価も 5.2.2 と同様の方法で行い, 色相を  $L^*a^*b^*$  表色系で表示した。その他の評価について以下に示す。

#### 6.2.2.1 抗菌試験(最小殺菌濃度測定法)

各種抗菌性金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の抗菌性評価については, (社)抗菌製品技術協議会規定の最小殺菌濃度測定法を行った。

##### (1) 菌株

試験菌株には, 独立行政法人製品評価技術基盤機構の *Escherichia coli* (MBRC 3972) および *Staphylococcus aureus* (MBRC 12732) を用いた。

##### (2) 試験方法

試験菌を普通寒天培地 (NA 培地, 日水製薬製) に移植し, 35~37°C で 16~24 時間培養 (前々培養) した。前々培養した試験菌は, 試験前に NA 培地に白金耳移植し, 同培養条件で培養 (前培養) した。前培養した菌を, 滅菌水を用いて  $2.0 \times 10^6$  colony-forming units (CFU)  $\cdot \text{cm}^{-3}$  に菌数調整した後, 速やかに冷蔵保存して 1 時間以内に使用した。

遠沈管(50ml)に試料 64mg と滅菌精製水 10cm<sup>3</sup> とをくわえ、タッチミキサーでかくはんして 6400μg·cm<sup>-3</sup> の分散液を調製した。調製した分散液は 30±1°C で 2 時間保持した後、あらかじめ用意した 30°C の滅菌精製水 1.0cm<sup>3</sup> 中に 1.0cm<sup>3</sup> くわえて 2 倍希釈抽出液(3200μg·cm<sup>-3</sup>)を調製した。同様に順次 2 倍希釈して、1600, 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.36, 0.20, 0.10, 0.05, 0.02, 0.01μg·cm<sup>-3</sup> の抽出液を調製した。調製した各抽出液に上記の菌液(2.0×10<sup>6</sup>CFU·cm<sup>-3</sup>)1.0cm<sup>3</sup> をくわえ、ただちに 1100rpm(水平振とう), 30±1°C で 1 時間振とう培養した。培養した試験液 0.1cm<sup>3</sup> を、標準寒天培地(SA 培地, 日水製薬製)にコンラージ棒を用いて塗抹し、35~37°C で 48 時間培養後、コロニーカウントした。コロニーカウントにおいて試験菌のコロニー数が 5 個以下の場合に菌の生育を認めないと判定し、その抽出液濃度を最小殺菌濃度とした。

#### 6.2.2.2 電子スピン共鳴(ESR)測定

抗菌性金属イオン固溶 β-TCP の抗菌メカニズム解明には、無機系抗菌剤の抗菌メカニズムの一つとされる光触媒能を調査する必要がある。そこで、試料への紫外線照射で生成するフリーラジカルの同定とその生成量を、以下に示す ESR 装置を使用したスピントラップ法とスピンラベル法でそれぞれ評価した。

##### (1) スピントラップ法によるフリーラジカルの同定

分光光度計用セル中で試料 50mg を、スピントラップ剤 5,5-dimethyl-pyrroline-N-oxide(DMPO, Sigma 製)30μl と蒸留水(キシダ化学製)2970μl との混合溶液中に遮光しながら攪拌し、ただちにスピントラップ用石英セル(LLC-04B, 東芝ガラス製)で溶液を吸引した。その後、石英セルを ESR 装置(JES-FA200, 日本電子製)にセットし、以下の条件で ESR スペクトルを測定した。

POWER: 4.0mW

FIELD CENTER: 336mT+/-=7.5mT

SWEEP TIME: 2.0min

MOD WIDTH: 0.080mT

AMPLITUDE: 600

TIME CONSTANT: 0.1s

Mn Marker: 600

マイクロ波:X バンド(9.5GHz)

ESR 測定後、500WXe ランプ(SX-UI 500XQ, ウシオ電機製、紫外線強度=17mW·cm<sup>-2</sup>)と色ガラスフィルター(ES-FL1, 東芝ガラス製)を用いて 380nm の波長の紫外線を、分光光度計用セル中で評価試料をかくはんしながら 5 分間照射した。紫外線照射を行った溶液については、上記と同様にスピントラップ用石英セルで吸引後、ESR スペクトルを

測定した。

## (2) スピンラベル法によるフリーラジカル生成量の定量

フリーラジカル生成量の定量には、標準試料として 4-Hydroxy-TEMPO(Sigma 製)を用いた。この試料を 34.5mg 秤量後、100cm<sup>3</sup> メスフラスコに投入してメスアップを行い、 $2 \times 10^{-3} \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  の標準試料(TEMPO)溶液を調製し、フリーラジカルの定量には、この溶液を測定直前にさらに 20 倍希釈( $1.0 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ )して用いた。この TEMPO 溶液を(1)と同様にスピントラップ用石英セルで吸引後、ESR 装置で ESR スペクトルを測定した。測定した標準試料の ESR スペクトルについて、付属のソフトウェアを用いて標準試料のシグナル面積を算出(積分)し、各評価試料におけるフリーラジカル(DMPO-OH アダクト)のシグナル面積と比較してラジカル生成量を算出した。

### 6.2.2.3 金属イオン溶出試験

前節と同様に各種金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の抗菌メカニズム解明のために、試料から溶出する抗菌性金属イオンを定量した。あらかじめ 75 $\mu\text{m}$  以下に分級した試料 2.0g を生理食塩水(0.85%NaCl 溶液)40cm<sup>3</sup> 中に入れ、恒温振とう器で 37°C、3 日間振とうした。溶出試験後の溶液を吸引ろ過でろ液と残さとに分離し、原子吸光光度計(AA-6200、島津製作所製)を用いて 4.2.2.1 と同様に、ろ液中の抗菌性金属イオン( $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ イオン)溶出量を検量線法で測定した。

### 6.2.2.4 細胞毒性試験<sup>15)~18)</sup>

各種金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の細胞毒性を確認するために、その細胞毒性を試験した。細胞毒性試験用試料については、高い毒性を示すと予測された  $\text{Ag}^+$  イオン 9.09mol% および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン 9.09mol% 同時固溶  $\beta$ -TCP ( $\text{Ag}_{9.09}\text{Zn}_{9.09}$ -TCP)を用いて、財団法人食品薬品安全センター秦野研究所にて試験した。

#### (1) 試験方法

細胞毒性試験については、「医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」(平成 15 年 2 月 13 日、医薬審発第 0213001 号)、「Biological Evaluation of Medical Devices-Part 1: Evaluation and Testing」(ISO 10993-1, August 1, 2003)、「生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について」(平成 15 年 3 月 19 日、医療機器審査 No. 36)および「Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity」(ISO 10993-5)に準拠して実施し、チャイニーズ・ハムスター肺由来の V79 細胞を用いた培地抽出法によるコロニー形成試験法で細胞毒性を評価した。

#### (2) 細胞培養

ヒューマンサイエンス振興財団研究資源バンクより入手し、入手した時点で 9 代の

V79 細胞を、2 代継代し凍結保存(マイコプラズマ陰性)した。細胞毒性試験には、これを試験直前に解凍後、さらに 2 代継代した細胞を用いた。通常の細胞培養については、ウシ胎児血清(SAFC Biosciences 製)を 10vol%含む Eagle's MEM 培地(MEM10 培地)を用いて、CO<sub>2</sub> インキュベーター(CO<sub>2</sub> 濃度 5%、37°C)内で培養した。

一方、培地抽出液を用いた細胞毒性試験については、6 ウェルプレート(ウェル直径: 35mm)とウシ胎児血清(5vol%)およびピルビン酸ナトリウム(1.0mmol dm<sup>-3</sup>)を含む Eagle's MEM 培地(M05 培地)を使用し、1 試料当たり 3 ウェルを用いた。

### (3) 試験

Ag<sub>9.09</sub>Zn<sub>9.09</sub>-TCP 粉末をあらかじめ高圧蒸気滅菌(121°C、15 分間)した。評価試料と、あらかじめ EOG 滅菌(40°C、6 時間)したそれぞれ約 2×15mm の陰性対照材料(高密度ポリエチレンフィルム、食品薬品安全センター製)、陽性対照材料 A[0.1% zinc diethyldithiocarbamate(ZDEC)含有ポリウレタンフィルム、食品薬品安全センター製]、および陽性対照材料 B(0.25%ZDBC 含有ポリウレタンフィルム、食品薬品安全センター製)とに、それぞれ 0.1g·cm<sup>-3</sup> の濃度となるように M05 培地をくわえ、CO<sub>2</sub> インキュベーター(CO<sub>2</sub> 濃度 5%、37°C)内で 24 時間静置したものを 100%培地抽出原液にした。

抽出終了後すみやかに培地抽出原液を新しい M05 培地で希釈し、濃度の異なる試験液(被験物質: 2.0、5.0、10、20、50、100%、陰性対照材料: 25、50、75、100%、陽性対照材料 A: 0.25、0.50、1.0、2.0、3.0、4.0%、および陽性対照材料 B: 20、40、50、60、80、100%)を調製した。

0.25%トリブシンを用いて V79 細胞を単離後、細胞濃度を 10<sup>3</sup> 個·cm<sup>-3</sup> に調整し、この細胞懸濁液 0.1cm<sup>3</sup> (100 個)を 2.0cm<sup>3</sup> の M05 培地が入っている 6 ウェルプレートに分注した。24 時間後にウェル内の培地を除去し、各濃度の試験液または新鮮な M05 培地 2.0cm<sup>3</sup> と交換し、さらに 6 日間培養後、培地除去とメタノール固定を行い 10vol%ギムザ液で染色した。

ウェル当たりのコロニー数を多目的高速画像解析装置(PCA-11、システムサイエンス製)で計測し、コントロール(M05 培地 100%)と比較し、各処理群の相対コロニー形成率(陰性対照のコロニー数の平均値を 100%とした時の各濃度におけるコロニー数の平均値を百分率で示した数)を算出して IC<sub>50</sub> 値を求めた。また、播種した細胞数と実際に形成されたコロニー数の平均値から、陰性対照群でのコロニー形成能も算出した。

細胞の感度および実験条件の精度を確認するための陽性対照物質については ZDBC(和光純薬工業製)を用いた。上記の(2)で示したように MEM10 培地を用いて V79 細胞を 24 時間培養後、培地を除去し、新しい MEM10 培地 2.0cm<sup>3</sup> に最終濃度(1.0、2.0、3.0、4.0、5.0μg·cm<sup>-3</sup>)の 200 倍になるように調製した ZDBC 溶液または DMSO(陰性対照)100nm<sup>3</sup> をそれぞれ添加(溶媒濃度 0.5vol%)し、さらに 6 日間培養した。その後上記と同様の方法で陰性対照(DMSO 0.5vol%)に対する各処理群の相対コロニー形成率を算

出して  $IC_{50}$  値を求めた。

また、本細胞毒性試験では、1)陰性対照群でのコロニー形成能が良好(0.8 以上)、2)陰性対照材料の 100%抽出液でのコロニー数が陰性対照群と同程度(相対コロニー形成率が 80%以上)、3)陽性対照材料 A の  $IC_{50}$  値が 7%未満および陽性対照材料 B の  $IC_{50}$  値が 80%未満、4)陽性対照物質(ZDBC)の  $IC_{50}$  値が  $1\sim 5\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  の範囲内であることを試験成立条件として確認した。

Table 6.1 Chemical composition of  $\beta$ -TCP doped with antibacterial metal ions.

	Amount of metal ions / mol%	Composition / mol			
		$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{CaCO}_3$	$\text{AgNO}_3$	$\text{CuO}$ or $\text{ZnO}$
$\beta$ -TCP <sup>a)</sup>		0.050	0.025		
Ag-TCP <sup>b)</sup>	2.0	0.050	0.024	0.002	
	4.0	0.050	0.024	0.003	
	6.0	0.050	0.023	0.005	
	9.09	0.050	0.022	0.007	
Cu-TCP <sup>c)</sup> Zn-TCP <sup>d)</sup>	2.0	0.022	0.010		0.001
	4.0	0.022	0.010		0.001
	6.0	0.022	0.009		0.002
	9.09	0.022	0.008		0.003

<sup>a</sup>  $\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate

<sup>b</sup> Ag-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate containing  $\text{Ag}^+$  ions

<sup>c</sup> Cu-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate containing  $\text{Cu}^{2+}$  ions

<sup>d</sup> Zn-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate containing  $\text{Zn}^{2+}$  ions

Table 6.2 Chemical composition of  $\beta$ -TCP co-doped with monovalent and divalent antibacterial metal ions.

	Amount of metal ions / mol%	Composition / mol			
		CaHPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	CaCO <sub>3</sub>	AgNO <sub>3</sub>	CuO or ZnO
AgCu-TCP <sup>a)</sup> AgZn-TCP <sup>b)</sup>	2.0	0.050	0.022	0.007	
	4.0	0.050	0.020	0.007	0.002
	6.0	0.050	0.019	0.007	0.003
	9.09	0.050	0.017	0.007	0.005
	10	0.050	0.016	0.007	0.006
	12	0.050	0.015	0.007	0.007
	15	0.050	0.014	0.007	0.008
	20	0.050	0.013	0.007	0.009

<sup>a</sup> AgCu-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate containing Ag<sup>+</sup> ions and Cu<sup>2+</sup> ions

<sup>b</sup> AgZn-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate containing Ag<sup>+</sup> ions and Zn<sup>2+</sup> ions



## 6.3 結果および考察

### 6.3.1 抗菌性金属イオンの固溶形態と色相

抗菌剤を生体内で使用する場合，抗菌剤の結晶相以外の副生成物の存在が毒性の発現やそれにとまなう感染症などを引き起こす可能性がある．さらに，溶解性(生体吸収性)の評価には，金属イオンの固溶する  $\beta$ -TCP 構造中の Ca サイトの違いが結晶安定性や生体内溶解性に影響を及ぼすことから，金属イオンの固溶する Ca サイトと固溶限界とを特定することが必要になる．一方，生体外で抗菌剤を使用する場合は，その色相も実用化に向けた評価基準になる．そこで本節では，作製した試料の X 線回折，格子定数測定および分光反射率の測定結果から，副生成物の確認，金属イオンの固溶形態と固溶限界の検討および色相評価する．

#### 6.3.1.1 固溶形態

Ag<sup>+</sup>イオン添加量 9.09mol%と一定で，Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン添加量をそれぞれ変化させた試料の X 線回折図をそれぞれ図 6.1 と図 6.2 とに示した．Ag<sup>+</sup>イオンと同時添加した二価金属イオンの種類に関わらず Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン添加量 9.09mol%までの試料はすべて  $\beta$ -TCP 構造であり，それ以上の添加で  $\beta$ -TCP にくわえて Cu<sup>2+</sup>イオンの場合は Ca<sub>3</sub>Cu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>4</sub>，Zn<sup>2+</sup>イオンの場合は未知物質の回折線をそれぞれ確認した．

図 6.3 には，各抗菌性二価金属イオン添加量の異なる AgCu-TCP および AgZn-TCP の格子定数を示した．AgCu-TCP，AgZn-TCP の各格子定数は，Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン添加量 9.09mol%まで *a* 軸および *c* 軸はともに収縮し，その後一定になった．この格子定数の変化は，Ca<sup>2+</sup>イオンのイオン半径[Ca<sup>2+</sup>イオン: 0.100nm(6 配位)]<sup>19)</sup>にくらべ Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオンのイオン半径[Cu<sup>2+</sup>イオン: 0.074nm, Zn<sup>2+</sup>イオン: 0.073nm (両者ともに 6 配位)]<sup>19)</sup>がともに小さいことに起因する．

一価金属イオンは  $\beta$ -TCP 構造中の Ca(4)サイトと空孔とに 9.09mol%まで固溶し，二価金属イオンの場合は 9.09mol%まで Ca(5)サイトに，その後 13.64mol%まで Ca(4)サイトに固溶する<sup>20)</sup>．したがって，AgCu-TCP および AgZn-TCP において，一価および二価金属イオンを同時にそれぞれ固溶限界まで固溶させた場合，Ca(4)サイトに一価および二価金属イオンのどちらが優先的に固溶するかが問題である．ここで，もし二価抗菌性の金属イオン(Cu<sup>2+</sup>および Zn<sup>2+</sup>イオン)が Ca(5)サイトと Ca(4)サイトに固溶した場合， $\beta$ -TCP の全 Ca サイト中における Ca(5)サイトと Ca(4)サイトの割合は，それぞれ 9.09mol%と 4.55mol%であることから，AgCu-TCP および AgZn-TCP の格子定数(*a* 軸および *c* 軸)は 13.64mol%まで変化し，副生成物も 13.64mol%までは生成しないはずである．しかし，図 5.3 に示したように，それらの格子定数は *a* 軸および *c* 軸ともに 9.09mol%まで減少し，副生成物についても 9.09mol%以上で生成した．したがって，一価および二価金属イオンを同時に添加した場合，Ca(4)サイトには一価金属イオンが優先的に固溶し，図 5.4 に示すように AgCu-TCP および AgZn-TCP の場合，一価金属イオンの Ag<sup>+</sup>イオンは A カラムの

Ca(4)サイトと空孔とに，二価金属イオンの  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオンは Ca(5)サイトに，それぞれ固溶することが明らかになった．また， $\text{Ag}^+$  イオン， $\text{Cu}^{2+}$  または  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの各固溶限界は，固溶する Ca サイトの割合からそれぞれ 9.09mol%と認めた．

### 6.3.1.2 色相

$\text{Ag}^+$  イオンを最大固溶量の 9.09mol%一定で添加し， $\text{Cu}^{2+}$  または  $\text{Zn}^{2+}$  イオン添加量を変化させた試料の  $L^*a^*b^*$  測色値を表 6.3 に，測色値より作成した(二次元) $a^*b^*$  色度図と外観写真とを図 6.5 および図 6.6 に，それぞれ示した．AgZn-TCP の場合， $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶量 9.09mol%までその固溶量に関わらず  $a^*$  および  $b^*$  値が約 0，すなわち  $a^*b^*$  色度図において原点付近であり， $L^*$  値がほぼ 100 であったことから，試料の色相は白色であった．また，それ以上添加した場合は，未知試料を生成したことから，添加量の増加で  $b^*$  値も増加し，色相は白色から黄色に変化した．

一方の AgCu-TCP の場合は， $\text{Cu}^{2+}$  イオン固溶量 9.09mol%まで固溶量に関わらず  $a^*$ ， $b^*$  値は原点付近であったが， $L^*$  値は固溶量の増加で低下したことから，試料の色相は白色から淡灰色に変化した．この  $\text{Cu}^{2+}$  イオン固溶にともなう色相変化については， $\text{Cu}^{2+}$  イオン単独固溶  $\beta$ -TCP の色相が灰青色であったことから， $\text{Cu}^{2+}$  イオン固溶に起因したことがわかる．また， $\text{Cu}^{2+}$  イオン添加量 9.09mol%以上の場合は， $\text{Ca}_3\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_4$  が生成したことから， $a^*$ ， $b^*$  値がともに低下し，試料の色相は青緑色へと変化した．

一般に生体外で使用される抗菌剤は，審美性の観点から白色であることが望ましい<sup>5)</sup>．したがって，上記の AgCu-TCP および AgZn-TCP の色相は白色に近かったことから，生体外で使用する抗菌剤として適していることがわかった．

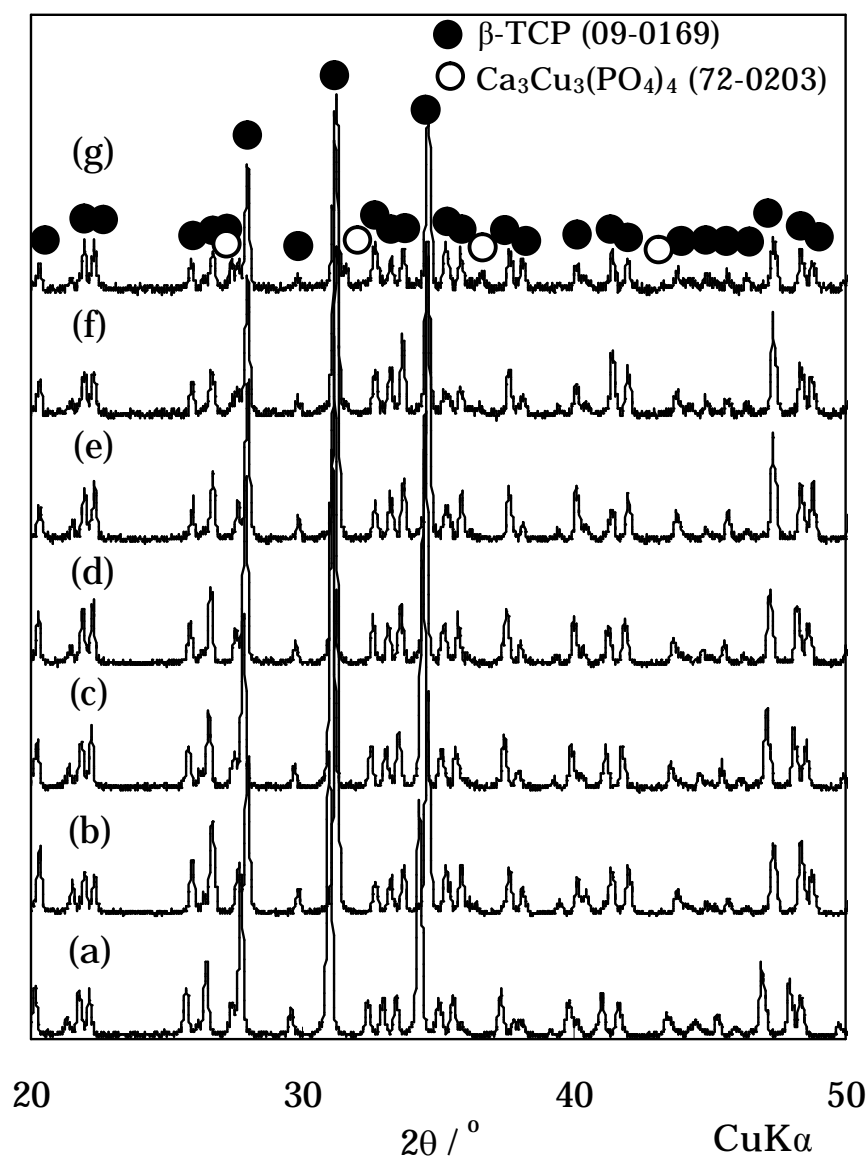


Fig. 6.1 XRD patterns of the prepared samples containing 9.09mol% of  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of  $\text{Cu}^{2+}$  ions after they were heated at  $1000^\circ\text{C}$  for  $12\text{h}\times 2$ . (a) 0 mol% (Ag-TCP), (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 6.0mol%, (e) 9.09mol%, (f) 12mol%, (g) 15mol%.

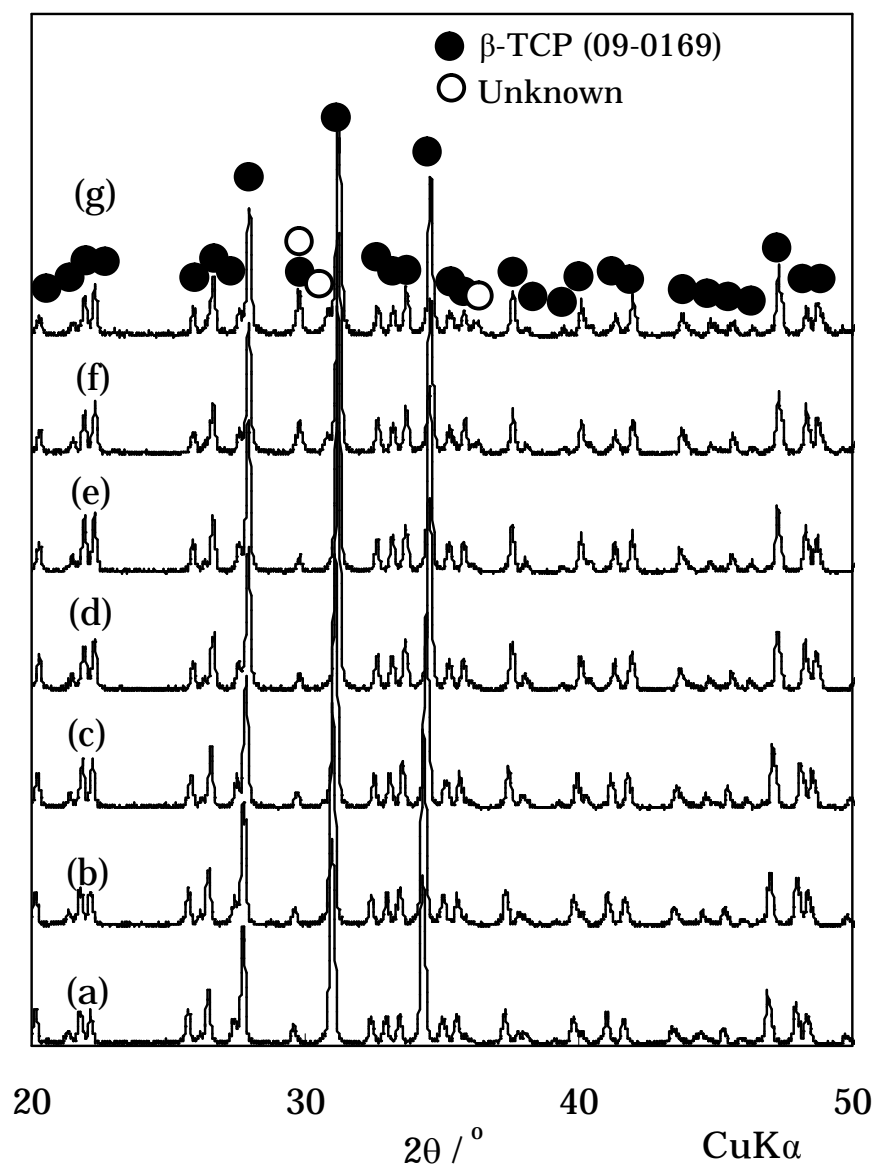


Fig. 6.2 XRD patterns of the prepared samples containing 9.09mol% of Ag<sup>+</sup> ions and various amounts of Zn<sup>2+</sup> ions after they were heated at 1000°C for 12h×2. (a) 0mol% (Ag-TCP), (b) 2.0mol%, (c) 4.0mol%, (d) 6.0mol%, (e) 9.09mol%, (f) 12mol%, (g) 15mol%.

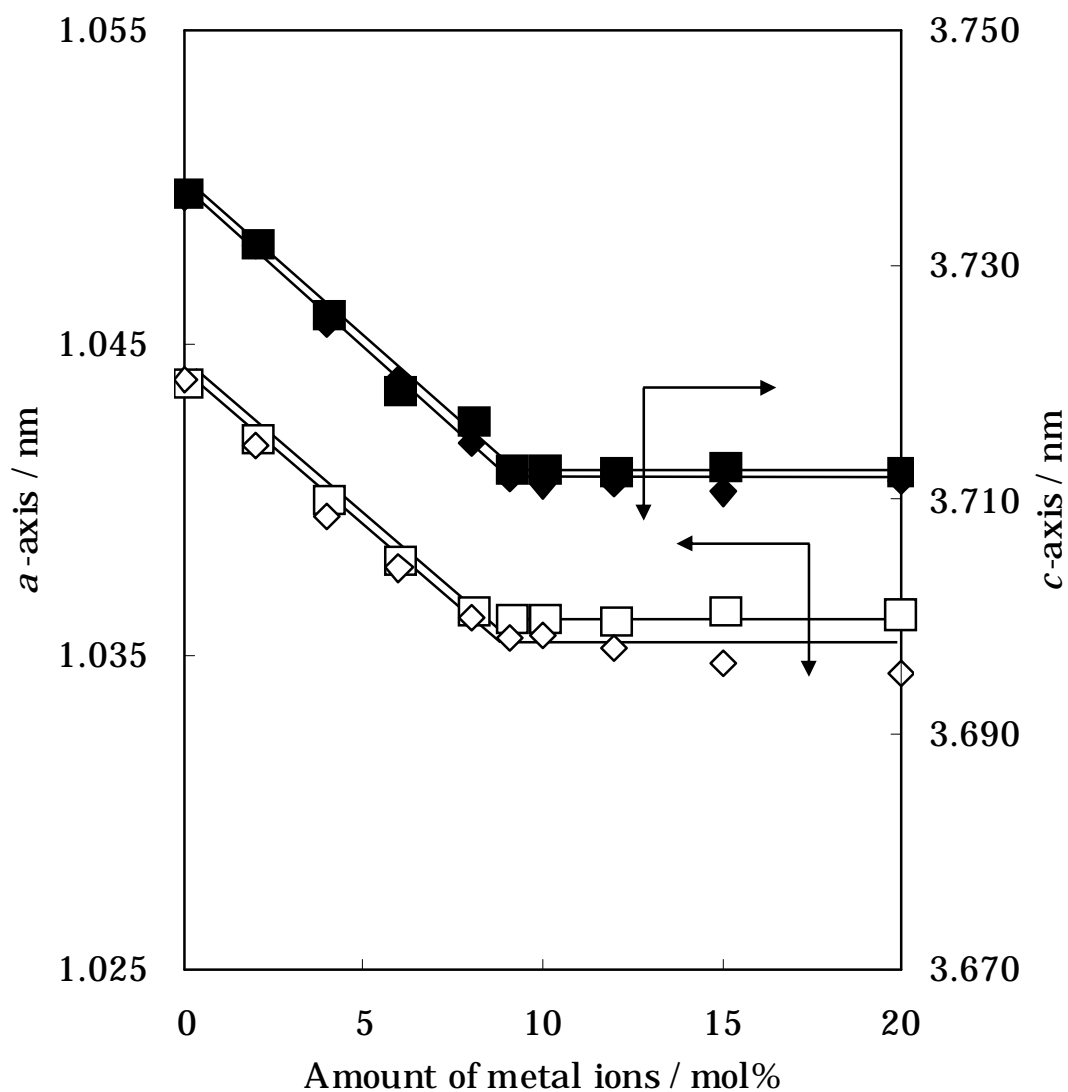


Fig. 6.3 Change in the lattice constant of  $\beta$ -TCP containing 9.09 mol% of  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of  $\text{Cu}^{2+}$  or  $\text{Zn}^{2+}$  ions. :  $\text{Ag}^+$  and  $\text{Cu}^{2+}$  ions, :  $\text{Ag}^+$  and  $\text{Zn}^{2+}$  ions.

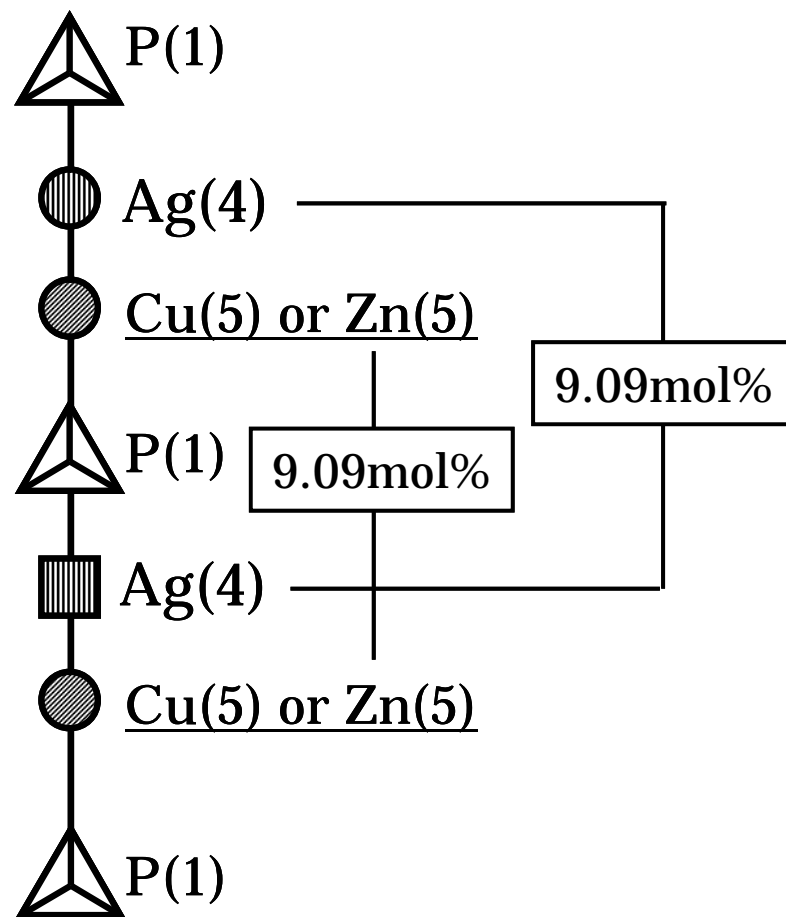


Fig. 6.4 Substitution model of  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ , and  $\text{Zn}^{2+}$  ions in  $\beta$ -TCP structure.

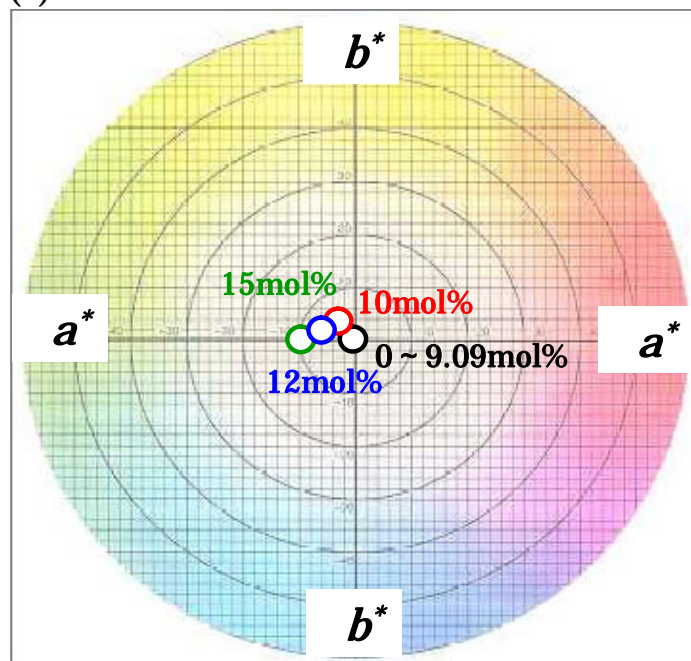
Table 6.3 Hue ( $L^*a^*b^*$ ) values of  $\beta$ -TCP co-doped with monovalent and divalent antibacterial metal ions.

		Amount of divalent metal ions / mol%					
		0	4.0	6.0	9.09	12	15
AgCu-TCP <sup>a)</sup>	$L^*$	88.78	82.50	74.46	76.10	64.34	65.47
	$a^*$	0.19	0.28	-0.56	-1.44	-7.88	-9.17
	$b^*$	1.02	0.22	-0.64	1.15	6.21	2.12
AgZn-TCP <sup>b)</sup>	$L^*$	88.78	88.27	92.09	88.95	90.36	78.78
	$a^*$	0.19	0.25	0.18	0.15	1.05	1.58
	$b^*$	1.02	0.19	0.74	1.13	6.39	5.42

a: AgZn-TCP:  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Ag}^+$  ions (9.09mol%) and  $\text{Cu}^{2+}$  ions

b: AgCu-TCP:  $\beta$ -TCP doped with  $\text{Ag}^+$  ions (9.09mol%) and  $\text{Zn}^{2+}$  ions

(I)



(II)

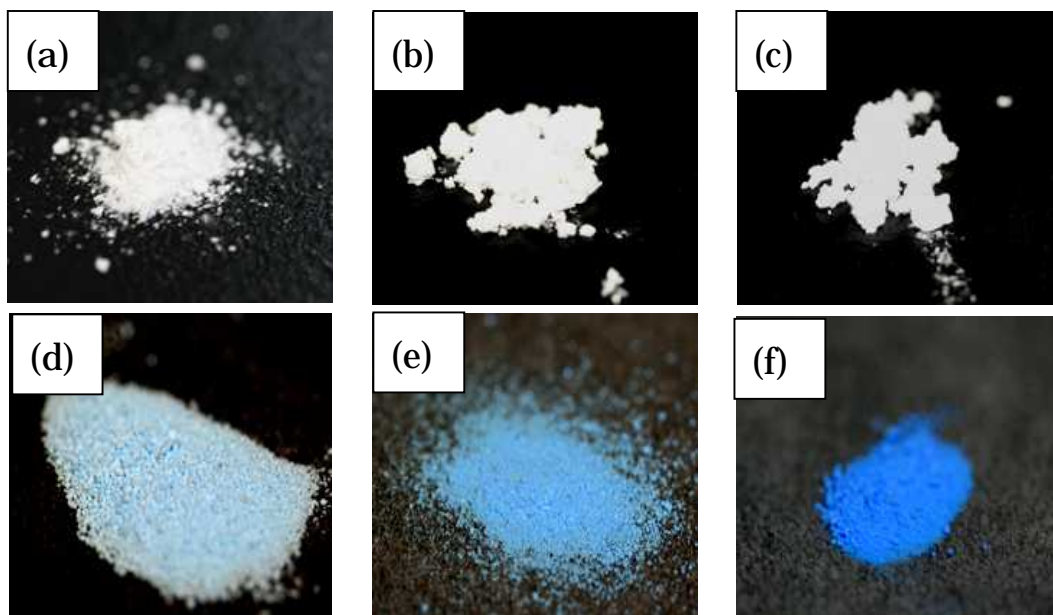
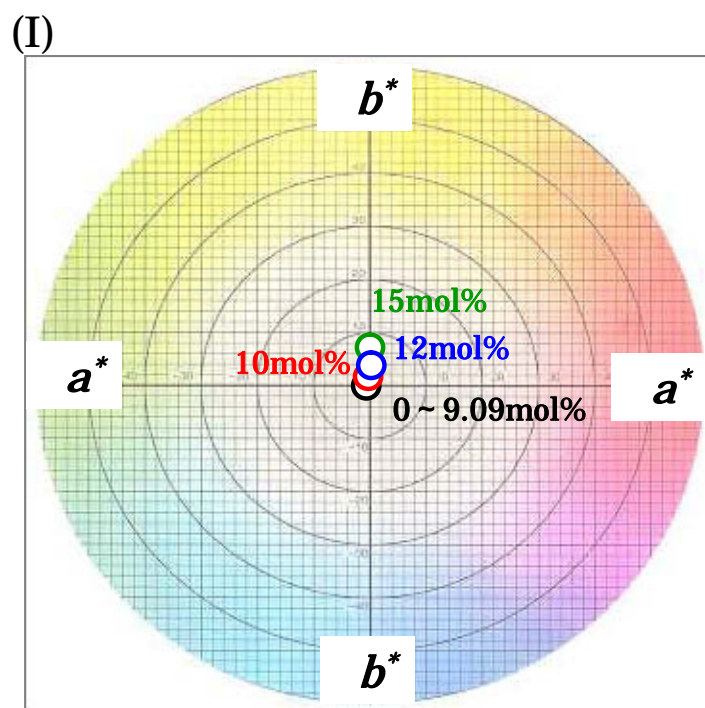


Fig. 6.5 Chromaticity diagram (I) and appearance (II) of  $\beta$ -TCP co-doped with 9.09mol% of  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of  $\text{Cu}^{2+}$  ions. (a) 0mol%, (b) 4.0mol%, (c) 9.09mol%, (d) 10mol%, (e) 12mol%, (f) 15mol%.





(II)

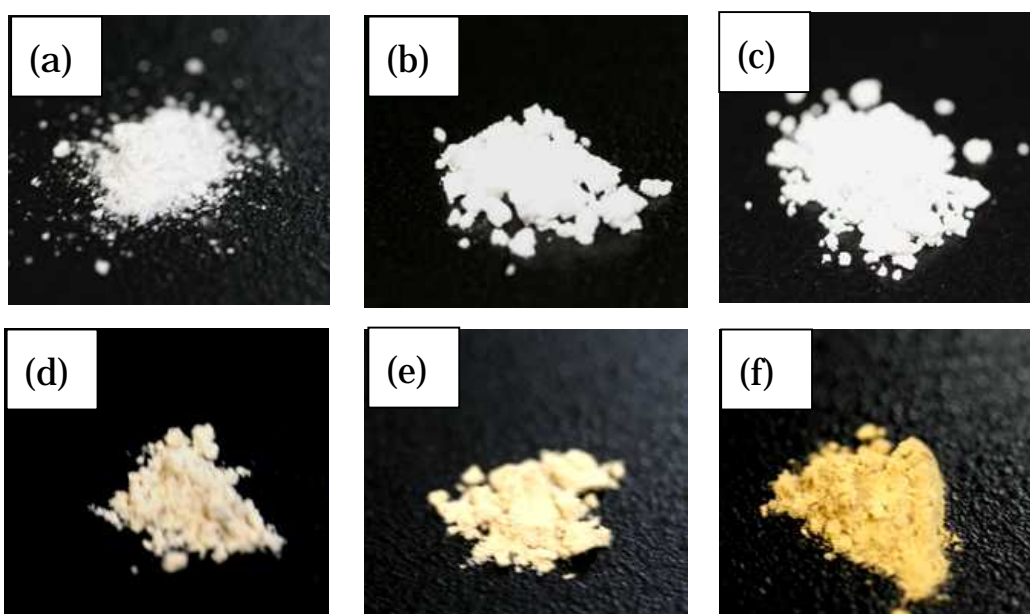


Fig. 6.6 Chromaticity diagram (I) and appearance (II) of  $\beta$ -TCP co-doped with 9.09mol% of  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of  $\text{Zn}^{2+}$  ions. (a) 0mol%, (b) 4.0mol%, (c) 9.09mol%, (d) 10mol%, (e) 12mol%, (f) 15 mol%.

### 6.3.2 抗菌性と抗菌メカニズム

本節では，抗菌性について最小殺菌濃度(MBC)測定で評価し，さらに ESR 測定および金属イオンの溶出試験結果から，AgCu-TCP および AgZn-TCP の抗菌メカニズムも検討する．

#### 6.3.2.1 抗菌性能評価

表 6.4 には，Ag<sup>+</sup>イオン固溶  $\beta$ -TCP(Ag-TCP)，AgCu-TCP と AgZn-TCP の各最小殺菌濃度(MBC)測定結果を示した．MBC 値については，その測定値の低いほど，低濃度で抗菌性を示すことから，高い抗菌性があると判断できる．

表より，Ag-TCP の MBC 値は AgCu-TCP と AgZn-TCP のそれにくらべて低く，Ag<sup>+</sup>イオンと Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオンとの  $\beta$ -TCP への同時固溶で抗菌性の向上したことを認めた．また，金属イオンの種類に関わらず固溶量の増加でも MBC 値は低下し，抗菌性の向上したことがわかった．

現在製品化されている Ag-TCP は，高い抗菌性を発現する<sup>12)</sup>．したがって，Ag-TCP にくらべて高い抗菌性のある AgCu-TCP，AgZn-TCP は，医療現場など高い抗菌性の必要とされる場所や，Ag-TCP で微生物やウイルスを完全に殺菌(抗菌)できない微生物やウイルス汚染のひどい場所での応用に十分期待できる．

#### 6.3.2.2 抗菌メカニズム

図 6.7 には，Ag-TCP，AgCu-TCP，AgZn-TCP を生理食塩水中に 3 日間浸漬し，それら試料から溶液中に溶出した Ag<sup>+</sup>イオン量を示した．Ag-TCP から溶出した Ag<sup>+</sup>イオン量は，Ag<sup>+</sup>イオン固溶量の増加にともない直線的に増加した．それに対して，AgCu-TCP と AgZn-TCP の場合，Ag<sup>+</sup>イオン溶出量は，Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン添加量の増加にしたがい減少した．

福原は，一価および二価金属イオンを  $\beta$ -TCP に同時固溶させた場合，その溶解性は，それら金属イオンを単独固溶した  $\beta$ -TCP のそれよりも低下するとしている<sup>14)</sup>．これは，第 2 章でも記したが，Ca(4)サイトへの一価金属イオンの固溶で  $\beta$ -TCP 構造中の Ca サイトがすべて埋まり，さらに Ca(5)サイトへの二価金属イオンの固溶で結晶構造が最適化し，結晶構造が安定化したことから，金属イオン単独固溶した場合にくらべて溶解性を抑制したためと考えた．よって，AgCu-TCP と AgZn-TCP の場合も，同様の要因で Ag<sup>+</sup>イオンの溶出を抑制したと考えられる．

一方，図 6.8 には，Ag<sup>+</sup>イオン 9.09mol%一定固溶量で Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン固溶量を変化させた AgCu-TCP と AgZn-TCP から溶出した二価抗菌性金属イオン量を示した．Cu<sup>2+</sup>および Zn<sup>2+</sup>イオン固溶量の増加でそれらの溶出量は増加した．

つぎに Ag<sup>+</sup>イオン 9.09mol%一定で Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン固溶量を変化させた AgCu-TCP と AgZn-TCP に対して 5 分間紫外線照射した後に測定した ESR スペクトルを

それぞれ図 6.9 と図 6.10 とに示した。AgCu-TCP と AgZn-TCP に紫外線照射を行った場合、それぞれの ESR スペクトルにヒドロキシラジカルの生成を示す DMPO-OH アダクトを認めたことから、AgCu-TCP、AgZn-TCP には光触媒能のあることが明らかになった。なお、 $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶量の増加で DMPO-OH アダクトのピーク強度も増加した。また、水素イオン( $\text{H}^+$ イオン)の生成に起因する DMPO-H アダクトもわずかに認めたが、これはスピントラップ剤(DMPO)が金属イオンの溶出にともない分解したためであると考えられる。

一方、図 6.11 には、紫外線照射後に測定した  $\beta$ -TCP、および  $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  イオンをそれぞれ固溶限界量の 9.09mol% 単独固溶させた Ag-TCP、Cu-TCP、Zn-TCP の ESR スペクトルを示した。Ag-TCP の ESR スペクトルには、DMPO-OH アダクトは認めなかったが、Cu-TCP および Zn-TCP の ESR スペクトルにはそれとわずかな DMPO-H アダクトとを認めた。これより、Cu-TCP および Zn-TCP についても光触媒能のあることを認めた。

すべての試料について ESR スペクトルにおける DMPO-OH アダクトのシグナル面積と標準試料のシグナル面積を比較し算出したヒドロキシラジカル生成量を図 6.12 に示した。Ag-TCP の場合は、 $\text{Ag}^+$  イオン固溶量に関わらずラジカルの生成は確認できなかったが、AgCu-TCP と AgZn-TCP の場合は、 $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶量の増加でラジカル生成量は直線的に増加した。さらに、Cu-TCP および Zn-TCP の場合も、AgCu-TCP および AgZn-TCP と同様の傾向を示し、そのラジカル生成量も AgCu-TCP と AgZn-TCP のラジカル生成量とほぼ一致した。したがって、AgCu-TCP と AgZn-TCP の光触媒反応によるヒドロキシラジカルの生成が、二価抗菌性金属イオンである  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの固溶に起因していると考えた。

以上の結果より、AgCu-TCP と AgZn-TCP については光触媒能をもつが、それは  $\text{Ag}^+$  イオンにくわえ  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオンを  $\beta$ -TCP に同時固溶させたため発現することを明らかにした。

金属イオンや光触媒に代表される無機抗菌剤の微生物やウイルスに対する抗菌メカニズムについては、溶出した抗菌性金属イオンと抗菌剤または細胞内で発生したフリーラジカルと微生物やウイルスとの相互作用とに大別できる<sup>21),22)</sup>。

においては、抗菌剤より溶出した金属イオンが微生物の細胞外膜に影響を及ぼし、その結果不規則な形の穴が細胞外膜に形成する。この細胞外膜の構造変化は、細胞膜の透過率を変化させてリポ多糖類分子や細胞内タンパク質の溶出を促進し、最終的に細胞死にいたるとされている<sup>23)</sup>。それに対して、細胞膜ではなく、細胞膜を通過した細胞内に存在する  $\text{Ag}^+$  イオンがチオール基と結合したりリボソームサブユニットタンパク質と相互作用し、その結果アデノシン三リン酸(ATP)の機能に必要な酵素やタンパク質の発現が抑制されて細胞死が起こることも明らかにされている<sup>24),25)</sup>。

上記の抗菌性金属イオンの溶出結果より、AgCu-TCP と AgZn-TCP から抗菌性金属イ

オンの  $\text{Ag}^+$  ,  $\text{Cu}^{2+}$  ,  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの溶出を確認できたことから , 抗菌メカニズムの一つとして , 抗菌性金属イオンの溶出が考えられた .

一方 , のフリーラジカルによる抗菌活性の発現については , さらに以下に示す二つの抗菌メカニズムに分別できる .

金属イオンもしくは金属酸化物を含んだ試料上における光触媒反応により発生したヒドロキシラジカルおよびスーパーオキシドアニオン( $\cdot\text{O}_2^-$ )は , 細胞内外の構造を破壊し , 電子伝達系の妨害とデオキシリボ核酸(DNA)やリボ核酸(RNA)を損傷させる<sup>26),27)</sup> . それに対して , フリーラジカルや抗菌性金属イオンの細胞内への進入が細胞内でタンパク質不活性化などの毒性を発現させて , 細胞死が起こることも報告されている<sup>28)</sup> .

図 6.9 および図 6.10 に示したように ,  $\text{AgCu-TCP}$  と  $\text{AgZn-TCP}$  の ESR スペクトルでは , 典型的な  $\text{DMPO-OH}$  アダクトのピークを確認したが ,  $\beta\text{-TCP}$  や  $\text{Ag-TCP}$  の ESR スペクトルには認めなかった . したがって , ESR 測定は ,  $\text{AgCu-TCP}$  と  $\text{AgZn-TCP}$  の光触媒反応で発生したフリーラジカルに起因する抗菌性の発現を示した . さらに ,  $\text{Ag}^+$  ,  $\text{Cu}^{2+}$  ,  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの溶出も確認できたことから , 抗菌性金属イオンの溶出に起因するフリーラジカルによる毒性で抗菌活性の発現したことも考えられた .

以上の結果から ,  $\text{AgCu-TCP}$  と  $\text{AgZn-TCP}$  の抗菌性は , 溶出した抗菌性の金属イオンと微生物の相互作用 , 試料表面にて光触媒反応で発生したフリーラジカルと微生物の相互作用 , および 溶出した金属イオンに起因するフリーラジカルによる毒性の発現に起因することを明らかにした .

なお , 表 6.4 に示したように  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶量の増加で抗菌性が向上したのは , 固溶量の増加にともなう  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの溶出濃度とヒドロキシラジカル生成量の増加に起因したことも確認した .

Table 6.4 Results of the minimum bactericidal concentration (MBC) measurement performed on  $\beta$ -TCP, Ag-TCP, AgZn-TCP, and AgCu-TCP using *E. coli* and *S. aureus*.

Strain	Sample	MBC / ppm			
		Amount of metal ions / mol%			
		0	4.0	8.0	9.09
<i>E. coli</i>	Ag-TCP <sup>b</sup>	N.D <sup>a</sup>	6.25	3.13	1.56
	AgCu-TCP <sup>c</sup>	1.56	0.10	0.05	0.03
	AgZn-TCP <sup>d</sup>	1.56	0.39	0.20	0.10
<i>S. aureus</i>	Ag-TCP <sup>b</sup>	N.D <sup>a</sup>	1.56	0.10	0.05
	AgCu-TCP <sup>c</sup>	0.05	0.02	0.02	<0.01
	AgZn-TCP <sup>d</sup>	0.05	0.03	0.02	0.01

Initial cell concentration:  $2.0 \times 10^6$  CFU·cm<sup>-3</sup>, Culture time: 60 min

a: N.D.: No detection of antibacterial activity

b: Ag-TCP: Ag<sup>+</sup> ions doped  $\beta$ -TCP

c: AgCu-TCP:  $\beta$ -TCP doped with Ag<sup>+</sup> ions (9.09mol%) and Cu<sup>2+</sup> ions

d: AgZn-TCP:  $\beta$ -TCP doped with Ag<sup>+</sup> ions (9.09mol%) and Zn<sup>2+</sup> ions

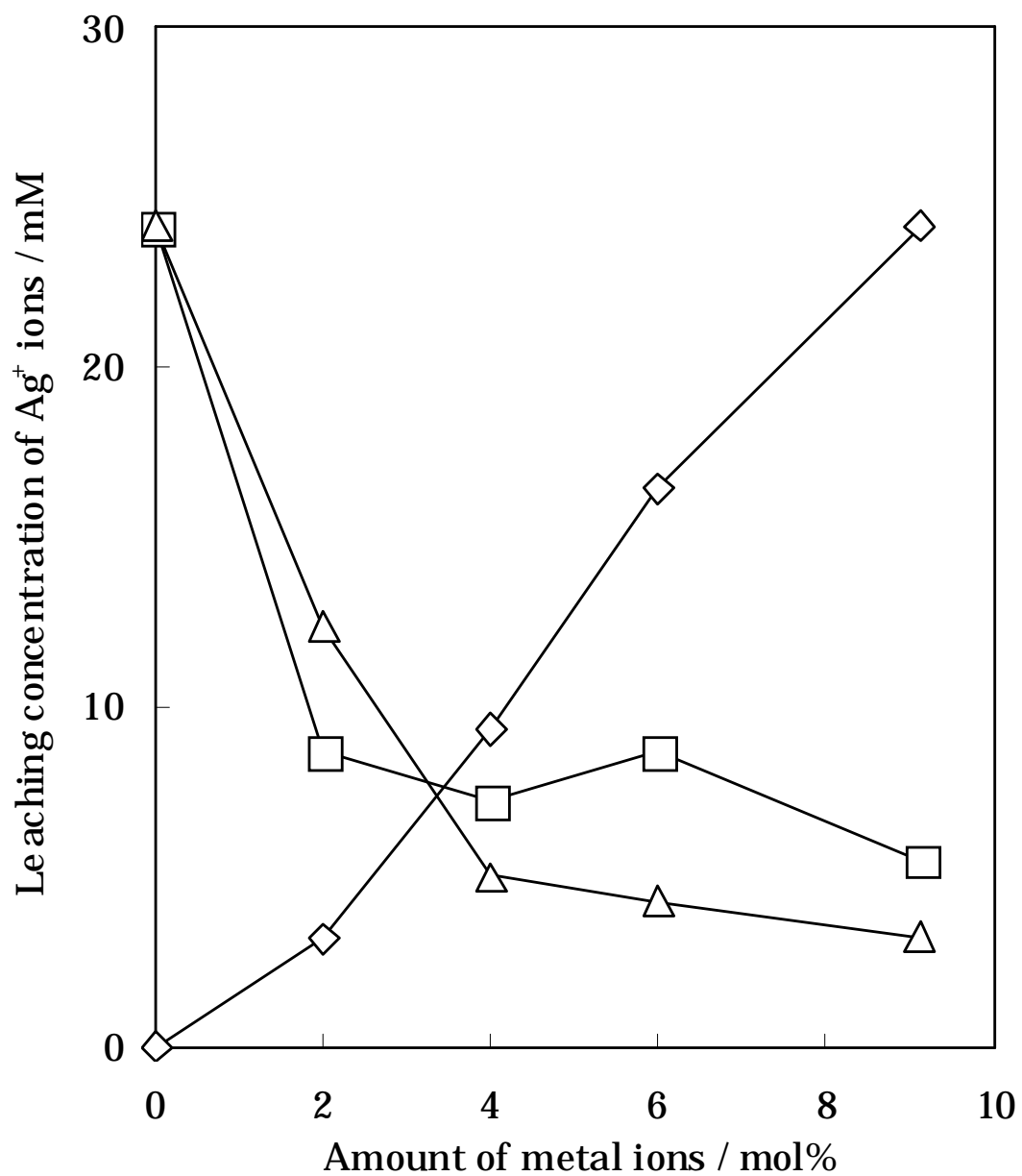


Fig. 6.7 Leaching concentrations of  $\text{Ag}^+$  ions obtained from  $\beta$ -TCP containing various amounts of  $\text{Ag}^+$  ions and antimicrobial divalent metal ions in saline.  $\diamond$  : Ag-TCP,  $\square$  : AgCu-TCP,  $\triangle$  : AgZn-TCP.

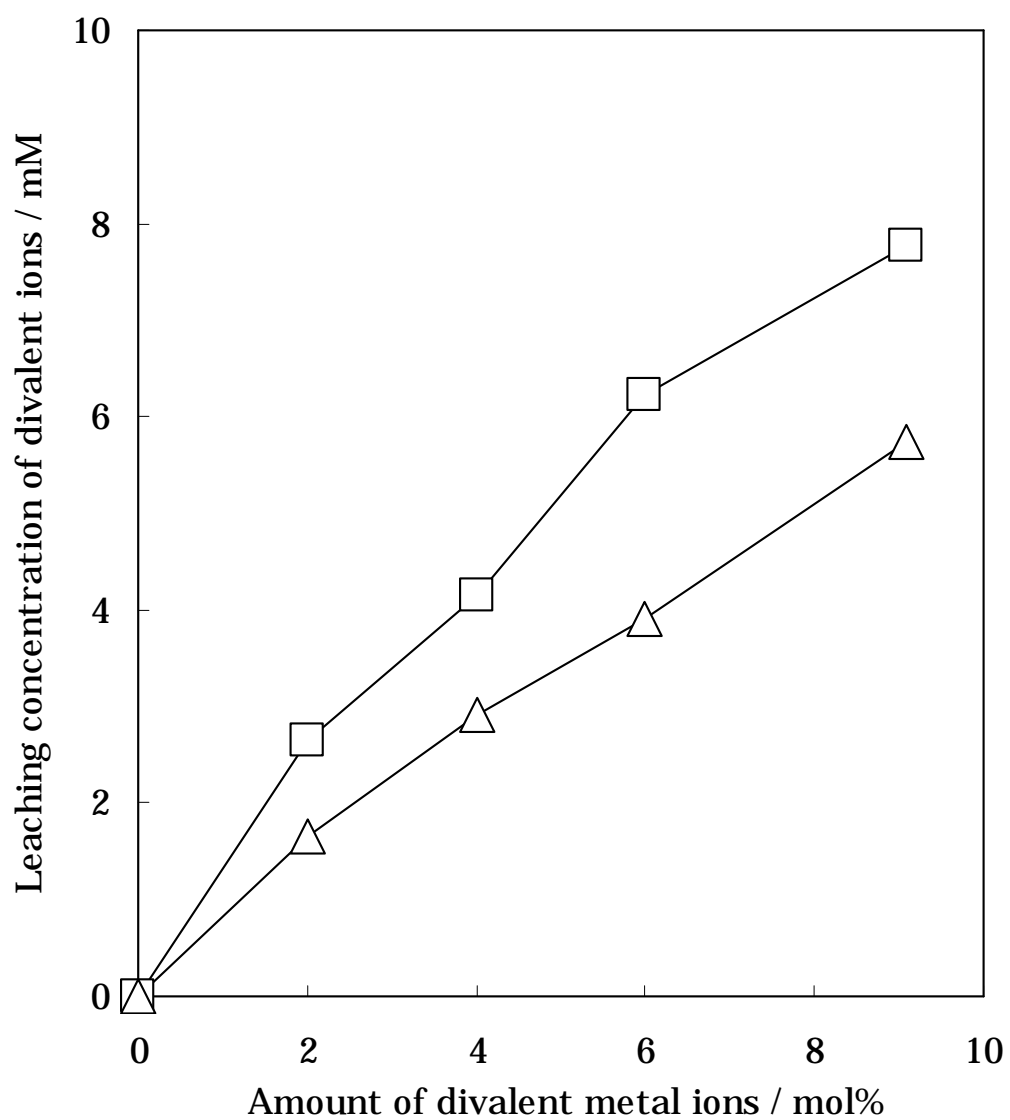


Fig. 6.8 Leaching concentrations of  $\text{Zn}^{2+}$  or  $\text{Cu}^{2+}$  ions obtained from  $\beta$ -TCP containing both 9.09 mol%  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of divalent metal ions in saline.  $\square$  : AgCu-TCP,  $\triangle$  : AgZn-TCP.

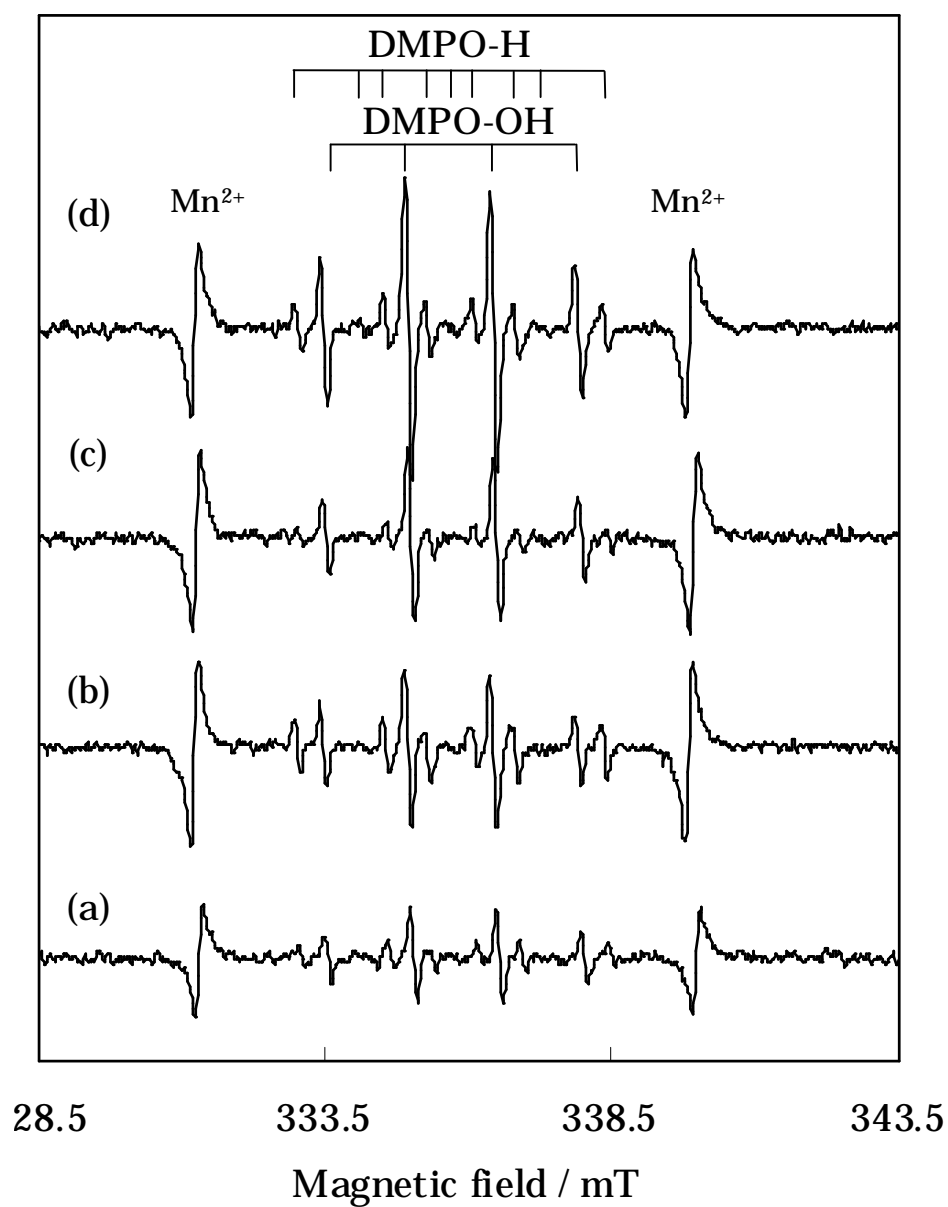


Fig. 6.9 ESR spectra of  $\beta$ -TCP co-doped with 9.09 mol% of  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of  $\text{Cu}^{2+}$  ions obtained by carrying out the spin trap method after irradiation with UV light (380 nm) for 5min. (a) 2.0mol%, (b) 4.0mol%, (c) 6.0mol%, (d) 9.09mol%.



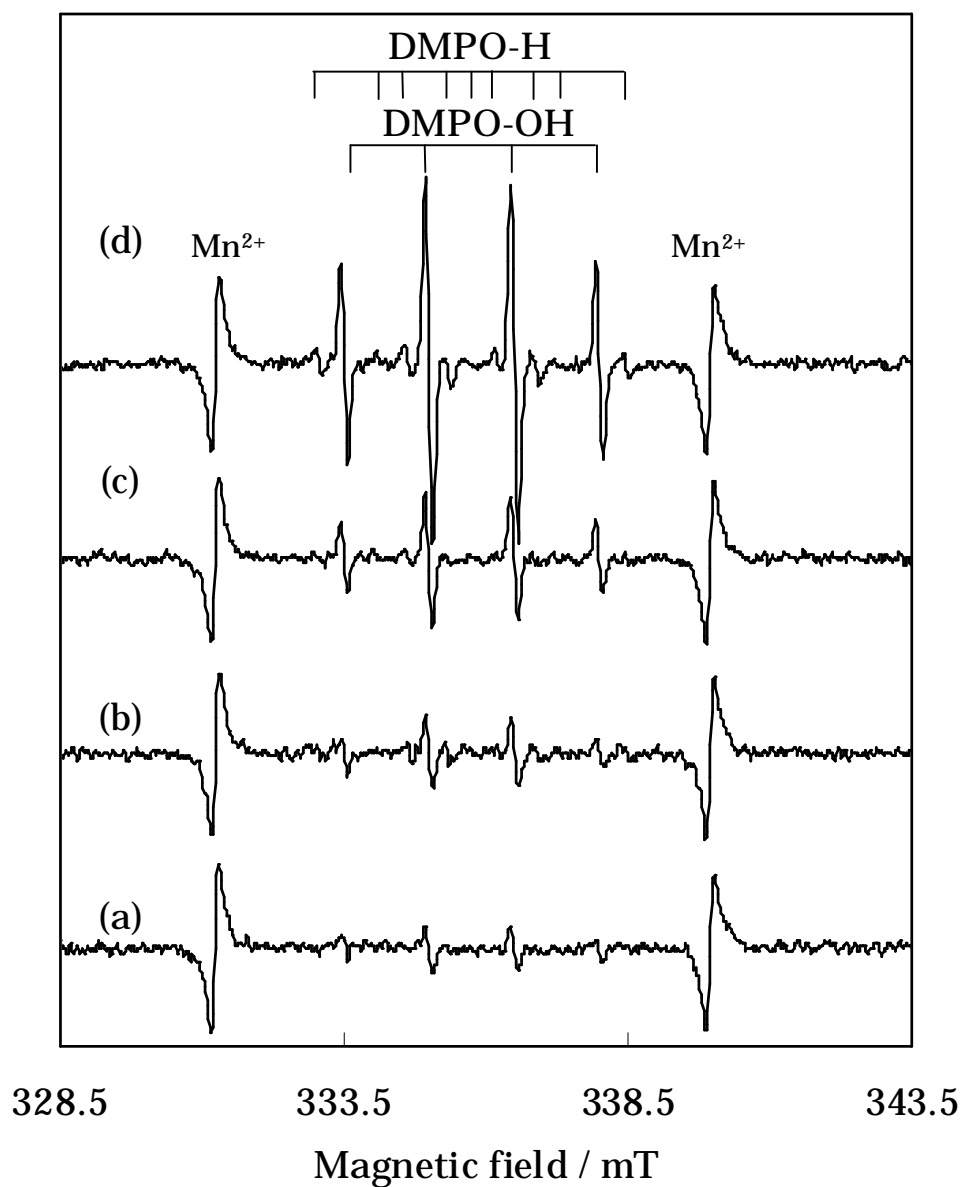


Fig. 6.10 ESR spectra of  $\beta$ -TCP co-doped with 9.09mol% of  $\text{Ag}^+$  ions and various amounts of  $\text{Zn}^{2+}$  ions obtained by carrying out the spin trap method after irradiation with UV light (380 nm) for 5min. (a) 2.0mol%, (b) 4.0mol%, (c) 6.0mol%, (d) 9.09mol%.

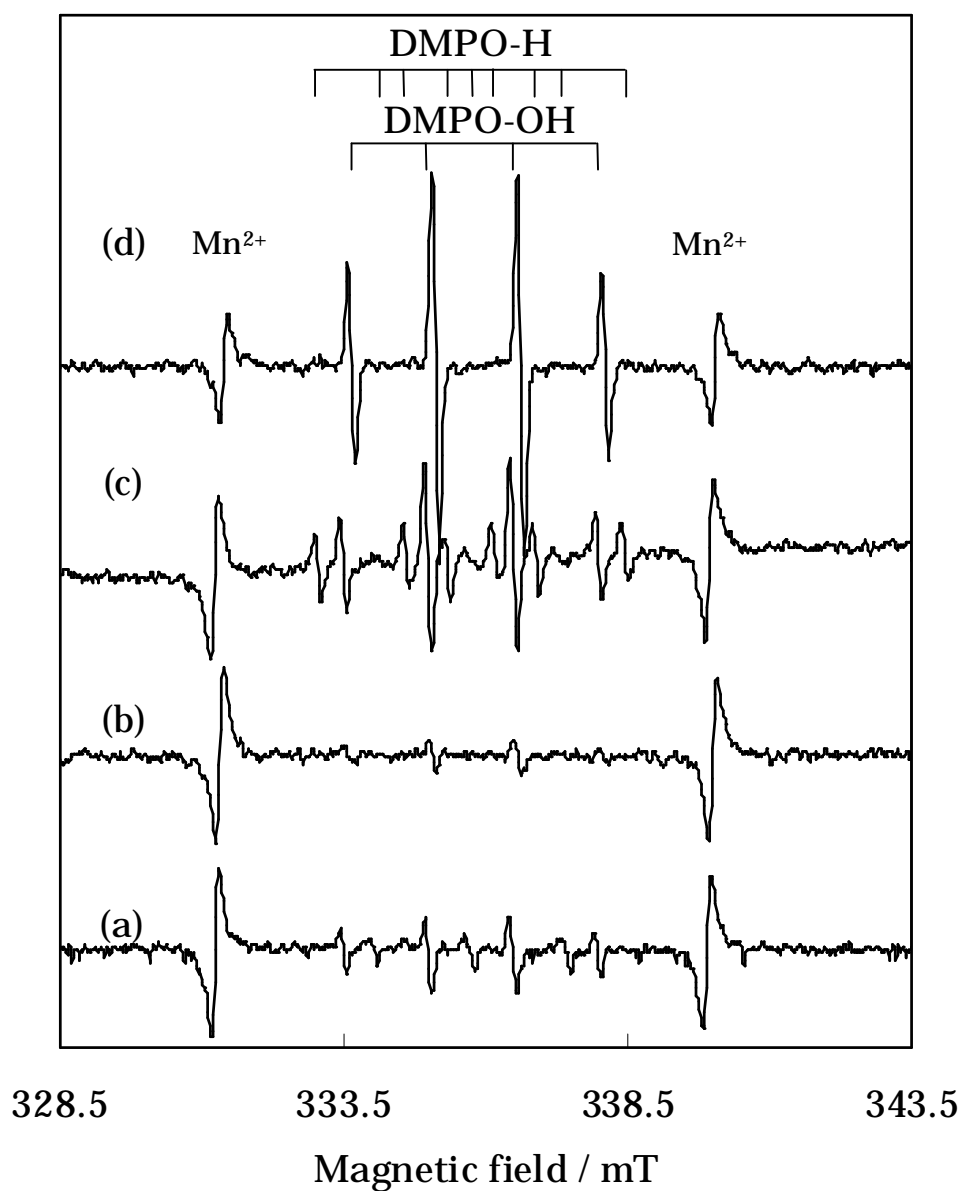


Fig. 6.11 ESR spectra of  $\beta$ -TCP and  $\beta$ -TCP doped with 9.09mol% of Ag<sup>+</sup> ions (Ag-TCP), Cu<sup>2+</sup> ions (Cu-TCP), or Zn<sup>2+</sup> ions (Zn-TCP) obtained by carrying out the spin trap method after irradiation with UV light (380 nm) for 5min. (a)  $\beta$ -TCP, (b) Ag-TCP, (c) Cu-TCP, (d) Zn-TCP.

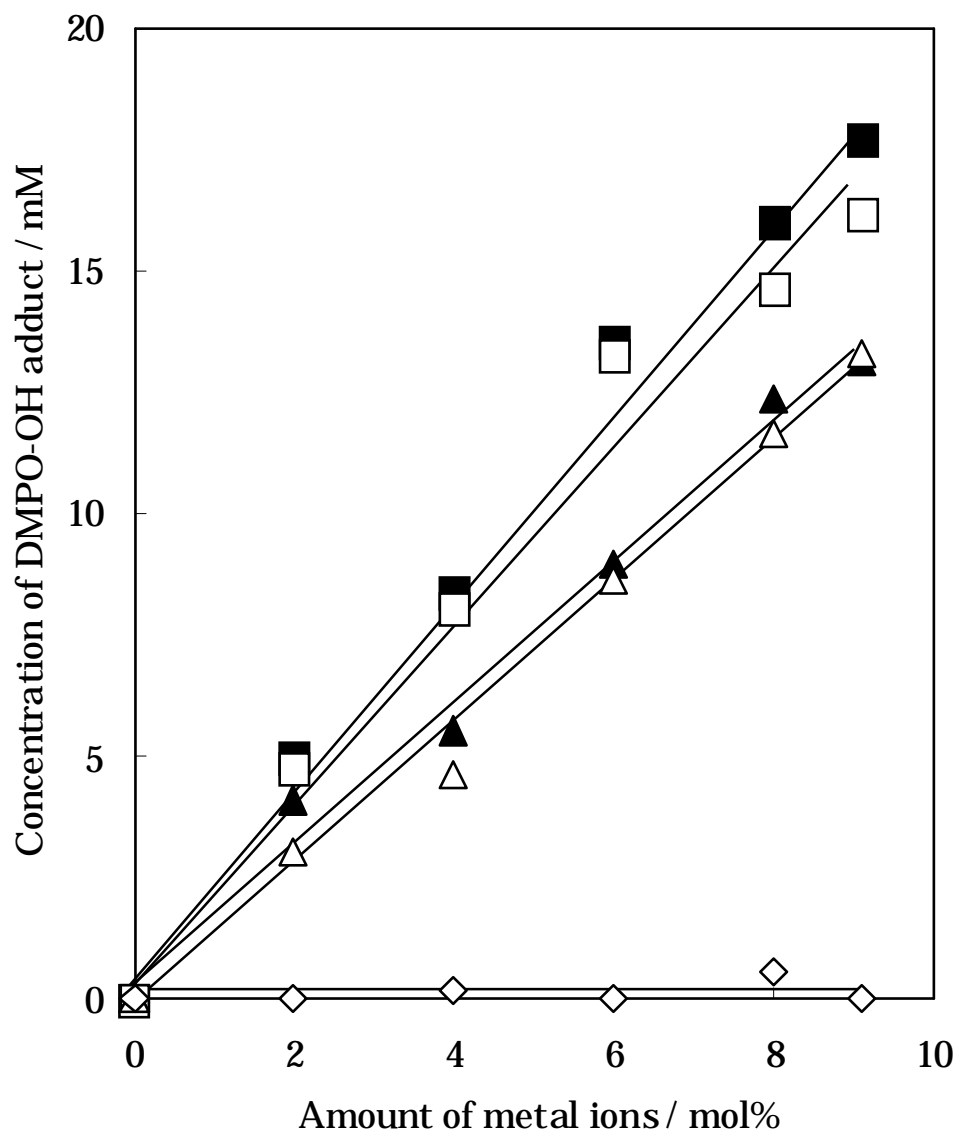


Fig. 6.12 Concentrations of hydroxyl radical that are calculated from a signal peak of DMPO-OH using 4-hydroxy-TEMPO as a function of amount of metal ions.  
: Ag-TCP, : AgCu-TCP, : Cu-TCP, : AgZn-TCP, : Zn-TCP.

### 6.3.3 細胞毒性

金属インプラント材による感染症対策に抗菌剤を生体内で使用する場合，抗菌剤や抗菌材料が(細胞)毒性を示してはならない．そこで本節では，前節までに作製した  $\text{Ag}^+$  イオン 9.09mol%および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン 9.09mol%同時固溶  $\beta$ -TCP( $\text{Ag}_{9.09}\text{Zn}_{9.09}$ -TCP)の細胞毒性を評価し，生体内で使用する抗菌剤としての可能性を検討した．

表 6.5 には，V79 細胞を用いた培地抽出法による  $\text{Ag}_{9.09}\text{Zn}_{9.09}$ -TCP の細胞毒性試験結果を示した．なお，培地抽出法における陰性対照群でのコロニー形成能は 0.94 であった．また，陰性対照材料培地抽出液では，いずれの濃度においても V79 細胞のコロニー形成を阻害しなかった．一方，陽性対照材料 A 培地抽出液および陽性対照材料 B 培地抽出液の  $\text{IC}_{50}$  値は，それぞれ 0.71%および 40%であった．さらに，陽性対照物質の ZDBC を培地に添加した場合の  $\text{IC}_{50}$  値は  $2.6\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  であった．これらの結果は，5.2.2.4 における試験成立条件をすべて満たしているため，本細胞毒性評価は被験物質の細胞毒性を適正に評価していることを認めた．

$\text{Ag}_{9.09}\text{Zn}_{9.09}$ -TCP の場合は，培地抽出液濃度 20%以下ではコロニー形成を阻害しなかったが，50%の場合ではコロニーサイズが小さく，100%濃度においてはコロニーを形成せず，その  $\text{IC}_{50}$  値は 68%であった．この結果は，弱い細胞毒性作用を示す陽性対照材料 B よりも  $\text{IC}_{50}$  値が高かったことから， $\text{Ag}_{9.09}\text{Zn}_{9.09}$ -TCP は弱い細胞毒性をもつことを認めた． $\text{Ag}^+$  イオンおよび  $\text{Zn}^{2+}$  イオンは細胞毒性を示すとこれまでに報告されている(細胞毒性:  $\text{Zn}^{2+}$  イオン <  $\text{Ag}^+$  イオン)<sup>29)</sup>．したがって， $\text{AgZn}$ -TCP の細胞毒性の出現については， $\text{AgZn}$ -TCP から溶出した  $\text{Ag}^+$  イオンと  $\text{Zn}^{2+}$  イオンに起因していると考えた．また， $\text{Cu}^{2+}$  イオンについてもその細胞毒性が報告されている(細胞毒性:  $\text{Zn}^{2+}$  イオン <  $\text{Cu}^{2+}$  イオン <  $\text{Ag}^+$  イオン)ため<sup>29)</sup>， $\text{AgCu}$ -TCP も  $\text{AgZn}$ -TCP と同様に低い細胞毒性を発現すると考えた．

これらの結果は， $\text{AgZn}$ -TCP および  $\text{AgCu}$ -TCP における  $\text{Ag}^+$ ， $\text{Cu}^{2+}$ ， $\text{Zn}^{2+}$  イオンの各添加量については，各種金属イオン固溶量によって抗菌性や溶出濃度(細胞毒性)がことなることから，前節で記した抗菌性と，本節で記した細胞毒性のバランスとを考える必要があることを示している．

Table 6.5 Relative ratio of colonies formation on the wells for different concentrations of the extracts and the index of cytotoxicity (IC<sub>50</sub>) for AgZn-TCP, control, negative control, and positive control.

Sample	Concentration of extracts / %	Colony number / wells	Relative ratio of colonies formation / %	Index of citotoxicity (IC <sub>50</sub> )
Control (M05 medium)	0	94.3 ± 5.8	100.0	
AgZn-TCP <sup>a</sup>	2.0	95.3 ± 7.2	101.1	68
	5.0	92.3 ± 3.2	97.9	
	10	94.7 ± 4.2	100.4	
	20	88.0 ± 6.6	93.3	
	50	84.7 ± 7.5	89.8	
	100	0.0 ± 0.0	0.0	
High-density polyethylene film (Negative control)	25	87.3 ± 11.7	92.6	- b
	50	93.7 ± 12.2	99.4	
	75	100.7 ± 2.5	106.8	
	100	93.0 ± 4.4	98.6	
Polyurethane film containing 0.1 % ZDEC <sup>c</sup> (Positive control A )	0.25	95.7 ± 2.9	101.5	0.71
	0.50	93.0 ± 7.5	98.6	
	1.0	1.3 ± 2.3	1.4	
	2.0	0.0 ± 0.0	0.0	
	3.0	0.0 ± 0.0	0.0	
	4.0	0.0 ± 0.0	0.0	
Polyurethane film containing 0.2 % ZDEC <sup>c</sup> (Positive control B )	20	86.0 ± 1.7	91.2	40
	40	47.7 ± 11.9	50.6	
	50	9.7 ± 4.9	10.3	
	60	0.0 ± 0.0	0.0	
	80	0.0 ± 0.0	0.0	
	100	0.0 ± 0.0	0.0	

a: AgZn-TCP: β-TCP containing 9.09mol% Ag<sup>+</sup> ions and 9.09mol% Zn<sup>2+</sup> ions

b: No inhibition of colony formation

c: Zinc diethyldithiocarbamate

## 6.4 おわりに

本章では、骨補填材以外での  $\beta$ -TCP の使用方法の検討ならびに生体内外で使用可能な新たな抗菌材料の開発を目的として、一価金属イオンとして  $\text{Ag}^+$  イオンを、二価金属イオンとして  $\text{Cu}^{2+}$  イオンまたは  $\text{Zn}^{2+}$  イオンを同時固溶した  $\beta$ -TCP( $\text{AgCu}$ -TCP および  $\text{AgZn}$ -TCP)を作製し、固溶形態の検討や色相、抗菌性の評価とそのメカニズムの解明、および細胞毒性を評価し、新たな抗菌剤としての有用性を検討した。その結果、以下の結論をえた。

(1)  $\text{Ag}^+$  イオン添加量を 9.09mol%と一定、 $\text{Cu}^{2+}$  または  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの各添加量を変えた試料は、二価抗菌性金属イオンの種類に関わらず  $\text{Cu}^{2+}$  または  $\text{Zn}^{2+}$  イオン添加量 9.09mol%まで  $\beta$ -TCP 構造であった。なお、これらの格子定数変化から  $\text{Ag}^+$  イオンは  $\beta$ -TCP 構造中の A カラムの  $\text{Ca}(4)$  サイトと空孔とに、二価金属イオンの  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの場合は A カラムの  $\text{Ca}(5)$  サイトに固溶したことを明らかにした。

(2) 抗菌性試験(MBC 測定)より、 $\text{Ag}^+$  イオン固溶  $\beta$ -TCP( $\text{Ag}$ -TCP)の抗菌性にくらべて  $\text{AgCu}$ -TCP と  $\text{AgZn}$ -TCP のそののほうが高かった。また、その抗菌性は  $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶量の増加で向上した。

一方、抗菌性金属イオン溶出試験および ESR 測定の結果より、 $\text{AgCu}$ -TCP と  $\text{AgZn}$ -TCP の抗菌性は、溶出した抗菌性金属イオンと微生物の相互作用、試料表面で光触媒反応により発生したフリーラジカルと微生物の相互作用、および溶出した金属イオンに起因したフリーラジカルによる毒性の発現に起因していることを明らかにした。なお、 $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶量の増加でも抗菌性が向上したのは、 $\text{Cu}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの溶出濃度および光触媒反応によるヒドロキシラジカル生成量が増加したためと認めた。

(3)細胞毒性試験では、細胞毒性のある  $\text{Ag}^+$  イオンおよび  $\text{Zn}^{2+}$  イオンの溶出に起因した  $\text{Ag}_{9.09}\text{Zn}_{9.09}$ -TCP の低い細胞毒性を認めた。また、 $\text{AgCu}$ -TCP についても、これら金属イオンの溶出挙動が  $\text{AgZn}$ -TCP とほぼ同じだったことから、低い細胞毒性があると考えられた。したがって、 $\text{AgCu}$ -TCP と  $\text{AgZn}$ -TCP の作製時には、各種金属イオン添加量によって抗菌性や溶出濃度(細胞毒性)が異なるため、抗菌性と細胞毒性とのバランスを考える必要があることが明らかになった。

以上の結果より、本章で作製した  $\text{AgCu}$ -TCP と  $\text{AgZn}$ -TCP は、高い抗菌性のあるすぐれた抗菌剤であることを示した。また、各種金属イオン固溶量で抗菌性が制御可能であるため、微生物またはウイルス汚染の程度にあわせた抗菌剤の作製が可能である。また、金属イオン添加量を考慮に入れば生体内でも使用可能であり、生体外でも食品や工業分野

など幅広い分野で使用可能な抗菌剤として有望であることが明らかになった。

## 文 献

- 221) 日本セラミックス協会, “環境調和型新材料シリーズ生体材料”, 日刊工業新聞社, (2009) p.29.
- 222) Y. Y. Ki, H. B. Jeong, H. P. Jae, H. Jungho, *Sci. Total Environ.*, **37**, 3572 (2007).
- 223) G. J. Zhao, S. E. Stevens, *Biomaterials*, **11**, 27 (1998).
- 224) Ivan S, S. S. Branka, *J. Colloid Interface Sci.*, **275**, 177 (2004).
- 225) H. Kourai, *J. Inorg. Mater. Japan (Muki-Material)*, **6**, 428 (1999).
- 226) X. W. Jie, X. W. Li, H. W. Zhi, F. C. Jian, *Mater. Chem. Phys.*, **96**, 90 (2006).
- 227) M. R. Garza, M. T. Olguin, I. G. Sosa, D. Alcantara, G. R. Fuentes, *Mesoporous Mater.*, **39**, 431 (2000).
- 228) T. N. Kim, Q. L. Feng, J. O. Kim, J. Wu, H. Wang, G. C. Chen, *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, **9**, 129 (1998).
- 229) M. Kawashita, S. Tsuneyama, F. Miyaji, T. Kokubo, H. Kozuka, K. Yamamoto, *Biomaterials*, **21**, 393 (2000).
- 230) E. Verne, N. S. Di, M. Bosetti, P. Appendino, B. C. Vitale, G. Maina, M Cannas, *Biomaterials*, **26**, 5111 (2005).
- 231) J. P. Soo, S. J. Yu, *J. Colloid Interface Sci.*, **261**, 238 (2003).
- 232) K. Hashimoto, K. Yoshida, Y. Toda, T. Kanazawa, S. Udagawa, *Phosphorus Res. Bull.*, **13**, 123 (2002).
- 233) K. Yoshida, Y. Fukuhara, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Inorg. Mater. Japan*, **16**, 165 (2009).
- 234) 福原良成, 平成 15 年度修士学位論文.
- 235) International standard: Biological Evaluation of Medical Devices-Part 1: Evaluation and Testing. ISO 10993-1 (2003).
- 236) International standard: Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for cytotoxicity: *in vitro* methods. ISO 10993-5 (1999).
- 237) “医療用具の製造(輸入)承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について”, 平成 15 年 2 月 13 日, 医薬審発第 0213001 号.
- 238) “生物学的安全性試験の基本的考え方に関する参考資料について”, 平成 15 年 3 月 19 日, 医療機器審査 No. 36.
- 239) R. D. Shannon, *Acta Crystallogr.*, **A32**, 751 (1976).
- 240) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).



- 241) S. K. Jun, K. Eunye, N. Y. Kyeong, H. K. Jong, J. P. Sung, J. L. Hu, *Nanomedicine*, **3**, 95 (2007).
- 242) N. Yamamoto, *J. Inorg. Mater. Japan (Muki-Material)*, **6**, 468 (1999).
- 243) N. A. Amro, L. P. Kotra, K. Wadu-Mesthrige, A. Bulychiev, S. Mobashery, G. Liu, *Langmuir*, **16**, 2789 (2000).
- 244) M. Yamanaka, K. Hara, J. Kudo, *Sharp Techn. J.*, **91**, 45 (2005).
- 245) M. Yamanaka, N. Matsui, K. Hara and J. Kudo, *Sharp Techn. J.*, **94**, 30 (2006).
- 246) M. Horie, H. Shibata, Y. Kawano, T. Hiratsuka, *J. Jpn. Therm. Spray Soc.*, **36**, 82 (1999).
- 247) K. Sunada, T. Watanabe, K. Hashimoto, *J. Photochem. Photobiol. A*, 227 (2003).
- 248) Y. Matsumura, *Eng. Technol.*, **101**, 34 (1999).
- 249) A. Yamamoto, R. Honma, M. Sumita, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **39**, 331 (1998).

## 第 7 章 錯体重合法による金属イオン固溶 $\beta$ 型リン酸三カルシウムの合成 A),B),E)

### 7.1 はじめに

前章までに，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の材料化学特性と応用について検討し，その際用いた金属イオン固溶  $\beta$ -TCP については，すべて組成制御しやすい固相法で作製した．しかし，固相法では，反応完結に混合(粉碎)と焼成をくり返さなければならず，さらに高温および長時間の反応が必要となる．なお，仮焼粉末の高温合成は， $\beta$ -TCP 焼結体の焼結性を低下させてその機械的強度の低下を引き起こす．一方，粒子径や粒子形態の制御は， $\beta$ -TCP 多孔体などの材料設計の重要なファクターになるが<sup>2)-8)</sup>，固相法による粉末合成の場合は，一般に粒子径や粒子形態の制御が困難である<sup>1)</sup>．そこで本章では，これら問題点を解決するために固相法以外の合成方法による金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 合成を試みる．

$\beta$ -TCP 合成には固相法，液相法，水熱法などが用いられる<sup>9)-20)</sup>．近年，水熱合成で生成した針状  $\beta$ -TCP で構成した多孔体は骨形成を促進することを Ioku らは報告している<sup>20)</sup>．しかし，水熱合成では，特殊な反応装置や雰囲気が必要とし，えられる合成粉末量も少ないため，大量生産が困難である．

一方，液相法では， $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$  三成分系状態図から  $\beta$ -TCP が直接合成できないことが明らかになっている<sup>11)</sup>．したがって，液相法で  $\beta$ -TCP を合成する場合は，カルシウム欠損水酸アパタイト  $[\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}]$ ，リン酸水素カルシウム二水和物 ( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; DCPD)，リン酸八カルシウム  $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; OCP] や非晶質リン酸カルシウム (ACP) などの前駆体を經由して合成しなければならない<sup>12)-18)</sup>．さらに， $\beta$ -TCP 以外の副生成物を生成させないためには前駆体合成時の反応温度，反応時間および pH などの条件をきびしく制御する必要がある<sup>22)-25)</sup>．また，カルシウム欠損水酸アパタイトを用いる場合には，水素結合により空気中の水分が吸着し，ろ過の際カルシウム欠損アパタイトと分離できない非晶質コロイドの生成も報告されている<sup>25)</sup>．

一方，ゾル-ゲル法によるリン酸カルシウム化合物の合成については，上記の問題点を排除することができるが，出発原料の金属系アルコキシドが高価であること，カルシウムアルコキシドの加水分解速度がリンアルコキシドにくらべて早いことから，水溶液中でリンアルコキシドは錯体を形成して安定化し，カルシウムアルコキシドは沈殿物を形成するなどの問題点があった<sup>19),26),27)</sup>．

ゾル-ゲル法の一つである錯体重合法は，熱処理で金属イオンを有機構造内に取り込んだ前駆体を加熱してセラミックスを合成する方法であり，カルシウムアルコキシドやリンアルコキシドを使用しないため加水分解速度を制御する必要がない．さらに，化学量論組成の多成分系セラミックス化合物を合成可能な組成制御にすぐれた合成方法であることから<sup>28)-30)</sup>，厳密な組成制御の必要となる  $\beta$ -TCP や金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の合成にも適してい

る．

錯体重合法によるリン酸カルシウム化合物の合成については，硝酸カルシウム四水和物  $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ ，ホスホノ酢酸およびクエン酸を用いて化学量論組成の HAp を合成した報告はある<sup>31)</sup>．しかし，有機物(重合剤や錯化剤)を過剰に使用するため，安定な錯体形成を促進し，高い分解温度や長時間の分解時間が必要であることや，その粒子形態も塊状となることから，材料設計が困難になるなどの問題点がある．

そこで本章では，有機成分の低減や水系での前駆体調製を行うために，構造内に一つのリン酸基(ホスホノ酸基)と三つのカルボキシル基をもつ水溶性キレート剤のホスホノブタントリカルボン酸[(2-phosphonobutane-1,2,4-tricarboxylic acid); PBTA]をリン源とし，カルシウム源には  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  を用いた錯体重合法で  $\beta$ -TCP を作製し，前駆体の形成機構や加熱挙動，および合成粒子の形態などを評価する．一方，上記出発原料に硝酸ナトリウム( $\text{NaNO}_3$ )または硝酸マグネシウム六水和物 $[\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ をくわえた金属イオン添加前駆体の調製や金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の合成も行い，金属イオン添加が前駆体の形成機構や加熱挙動，および合成粒子の形態などに及ぼす影響についても検討する．

## 7.2 実 験

### 7.2.1 原 料

錯体重合法による  $\beta$ -TCP 合成の場合には， $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (特級，98.5%，キシダ化学製)および 50mass%PBTA(ケイアイ化成製)を，それぞれカルシウム源とリン源として使用した．さらに，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 合成の場合は，上記の出発原料と，ナトリウム源に  $\text{NaNO}_3$ (特級，99.0%，キシダ化学製)を，マグネシウム源に  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (特級，99.0%，キシダ化学製)を，それぞれ用いた．図 7.1 に PBTA の構造式を示す．

### 7.2.2 錯体重合法による $\beta$ 型リン酸三カルシウムの合成

錯体重合法による  $\beta$ -TCP 合成では， $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  21.5772g (60mmol)と 50mass% PBTA 33.4961g (40mmol)とを，イオン交換水 50cm<sup>3</sup>中に溶解した．なお，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 合成では，全 Ca サイトに対して Na<sup>+</sup>イオン添加量を 2.0，4.0，6.0，9.09mol%，Mg<sup>2+</sup>イオン添加量を 4.0，9.09，13.64mol%， $[\text{Ca}+(2\text{Na or Mg})]/\text{P}$  モル比=1.50 の組成になるように，上記出発原料と  $\text{NaNO}_3$  または  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  をイオン交換水 50cm<sup>3</sup>中に溶解した．出発原料の配合比および配合量を表 7.1 に示した．各混合溶液についてはマグネチックホットスターラーを用いて，金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の場合は室温，60，80，100，130℃で，金属イオン添加  $\beta$ -TCP 前駆体の場合は 130℃で，それぞれ 3 時間かくはん後，180℃，24 時間乾燥した．調製後の前駆体については，大気雰囲気下，400，500，550，600，800，1000℃で 5 時間加熱した．

## 7.2.3 評価

### 7.2.3.1 前駆体

$\beta$ -TCP, および金属イオン添加  $\beta$ -TCP 前駆体の形成機構の解明には, 2.2.2 および 4.2.2 に示した方法で X 線回折や FT-IR 測定を行った.

PBTA 中のホスホノ酸基のかくはん時における反応機構の解明には  $^{31}\text{P}$ -核磁気共鳴(NMR)測定を行った. あらかじめ測定前に, 蒸留水(キシダ化学製)と  $\text{D}_2\text{O}$ (MERCK 製)の 1:1 混合溶液  $0.6\text{cm}^3$  中に前駆体( $0.05\text{mg}$ )を溶解し, 測定試料を調製した.  $^{31}\text{P}$ -NMR には, Bruker Biospine 製 AVANVE400 型核磁気共鳴(NMR)装置を用いて, 以下の条件で測定した.

核種:  $^{31}\text{P}$

外部標準試料:  $\text{H}_3\text{PO}_4$

周波数:  $25.9\text{MHz}$

スキャン回数: 256 回

### 7.2.3.2 合成粉末

$\beta$ -TCP, および金属イオン添加  $\beta$ -TCP 前駆体の加熱試料については, 2.2.2 および 4.2.2 に示した X 線回折, FT-IR 測定, および格子定数の精密化を行った. また, 加熱試料中に含まれる各金属イオン( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ イオン)や  $\text{PO}_4^{3-}$ イオンの定量には, 4.2.2.1 および 4.2.2.2 に示した原子吸光度分析およびモリブデン原子吸光度分析を行った. その他の評価については以下に示した.

#### (1) 熱分析

前駆体の加熱挙動については, Bruker AXS 製 TG-DTA2000S 型熱分析装置を用いて, 以下の条件で TG-DTA 測定した.

標準試料:  $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$  (特級, 99%, キシダ化学製)

測定温度:  $25\sim 1000^\circ\text{C}$

昇温速度:  $3^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

試料セル: 白金セル

雰囲気: 大気中

#### (2) 前駆体と合成粉末の形態と粒子径

前駆体と合成粉末の形態観察には, 電界放出走査型電子顕微鏡(FE-SEM; S-4700, 日立ハイテクノロジーズ製)を用いた. 試料をカーボンテープで試料セルに固定後, イオンスパッター装置(E-10301, 日立ハイテクノロジーズ製)であらかじめ金蒸着した試料を観察試料にした. なお, 観察した FE-SEM 像から, 合成粉末の平均粒子径( $n=200$ )を求めた.

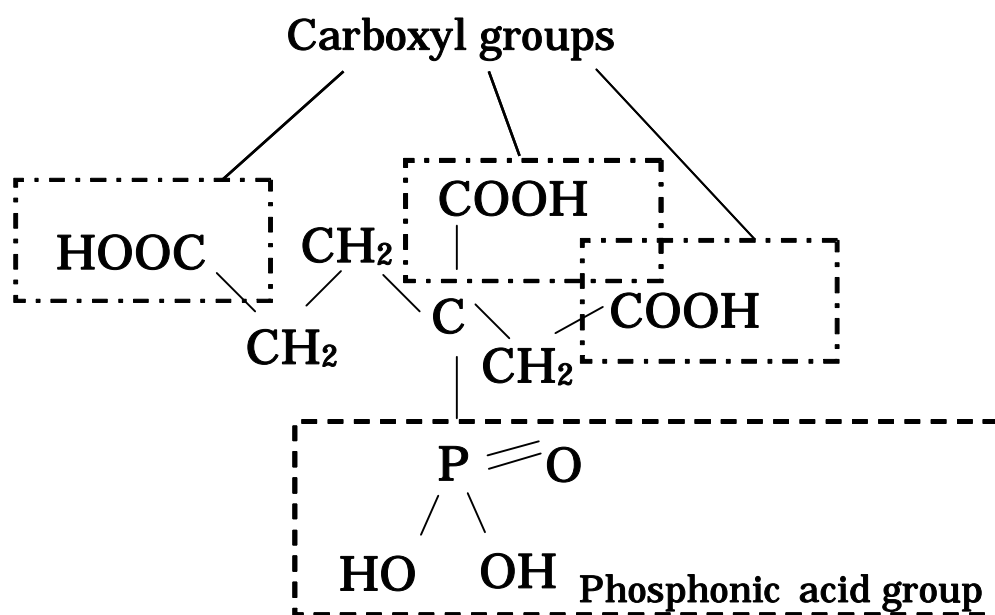


Fig. 7.1 Chemical formula of 2-phosphono-butane-1,2,4-tricarboxylic acid (PBTA).

Table 1 Chemical composition of the precursors with/without metal ions.

	Amounts of metal ions / mol%	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O / mmol	PBTA / mmol	Metal source / mmol	
				NaNO <sub>3</sub>	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O
β-TCP <sup>a)</sup>		60.0	40.0		
Na-TCP <sup>b)</sup>	4.00	58.8	40.0	2.40	
	9.09	57.3	40.0	5.45	
Mg-TCP <sup>c)</sup>	4.00	57.6	40.0		2.40
	9.09	54.6	40.0		5.45
	13.64	51.8	40.0		8.18

<sup>a</sup> β-TCP: β-tricalcium phosphate precursors

<sup>b</sup> Na-TCP: β-tricalcium phosphate precursors containing Na<sup>+</sup> ions

<sup>c</sup> Mg-TCP: β-tricalcium phosphate precursors containing Mg<sup>2+</sup> ions

## 7.3 結果および考察

### 7.3.1 $\beta$ 型リン酸三カルシウム前駆体の生成機構

#### 7.3.1.1 金属イオン無添加 $\beta$ 型リン酸三カルシウム前駆体

調製した  $\beta$ -TCP 前駆体の生成機構を明らかにするために、まず  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  と PBTA を用いた金属イオン無添加  $\beta$ -TCP(無添加  $\beta$ -TCP)前駆体の生成機構を検討する。

図 7.2 には、異なる温度で調製した  $\beta$ -TCP 前駆体の X 線回折図を示した。無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の X 線回折図は、かくはん温度に関わらず非晶質特有のブロードな回折線であった。

図 7.3 には、PBTA、およびかくはん温度の異なる無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の FT-IR スペクトルを示した。PBTA の FT-IR スペクトルには、 $1730\text{cm}^{-1}$ 、 $1380\text{cm}^{-1}$  付近にそれぞれ -COOH 基と -CH<sub>2</sub>-CO-基に帰属の吸収を認めたが、 $\beta$ -TCP 前駆体の FT-IR スペクトルの場合には、かくはん温度に関わらず上記の吸収はともに二つに分裂した。これは、PBTA の末端基である -COOH 酸基が前駆体形成時に反応したことを示している。すなわち、PBTA は室温使用の水処理用キレート剤として用いられていることから、PBTA と  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  とがイオン交換水に溶解した前駆体形成反応の初期に、 $\text{Ca}^{2+}$  イオンと PBTA のカルボン酸基とが図 7.4 のようにキレート反応したと考えた。一方、かくはん温度が  $100^\circ\text{C}$  以上での試料の FT-IR スペクトルには、 $1865\text{cm}^{-1}$ 、 $1776\text{cm}^{-1}$ 、 $1078\text{cm}^{-1}$  に鎖状酸無水物[-C(O)·O·C(O)-]に帰属の吸収を確認した。一般に -COOH 基や -OH 基の脱水縮合反応は  $100^\circ\text{C}$  以上で進行することから、かくはん温度  $100^\circ\text{C}$  以上の場合、PBTA 中の -COOH 基と他のそれとが図 7.5 のように脱水縮合反応したと考えた。

図 7.6 には、異なるかくはん温度で調製した無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルを示した。かくはん温度  $100^\circ\text{C}$  以下で調製した試料の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルには、2.0 および 4.0ppm 付近に P-O-H 結合に帰属のピークを確認したが、 $130^\circ\text{C}$  で調製した試料の場合、それらのピークは消失した。このことは、 $100^\circ\text{C}$  以下で調製した無添加  $\beta$ -TCP 前駆体については、かくはん前と同様に、PBTA のホスホノ酸基とプロトンとは結合した状態 [-PO(OH)<sub>2</sub>]であるが、 $130^\circ\text{C}$  で調製した場合については、PBTA のホスホン酸基が反応したことを示している。このホスホノ酸基の反応については、図 7.7 のように以下の二つの反応機構が考えられた。

- (1)  $\text{Ca}^{2+}$  イオンと、同一の PBTA のホスホン酸基中の二つの -OH 基または他の PBTA のホスホノ酸基の -OH とのキレート反応[図 7.7(a)および(b)]
- (2) -COOH 基や -OH 基の脱水縮合反応は  $100^\circ\text{C}$  以上で起こることから、PBTA のホスホン酸基中の -OH と他の PBTA 中の -COOH 基または -OH 基との脱水縮合反応[図 7.7(c)]

一方、同じ出発原料および方法で調製した HAp 前駆体の場合では、これらホスホノ酸基の反応は  $80^\circ\text{C}$  以上で起きた。これは、HAp 前駆体調製時の Ca/P モル比が  $\beta$ -TCP のそれにくらべて高く、 $\text{Ca}^{2+}$  イオン濃度が高いことから、上記の(1)および(2)の反応が  $130^\circ\text{C}$

より低温で進行したためと考えた。

以上の結果より， $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -PBTA- $\text{H}_2\text{O}$  系において， $\text{Ca}^{2+}$ イオンと，PBTA 中に存在する-COOH 基，-OH 基，-PO(OH)<sub>2</sub> 基によるキレート反応や脱水縮合反応で，図 7.8 のように無添加  $\beta$ -TCP 前駆体は形成したことを明らかにした。



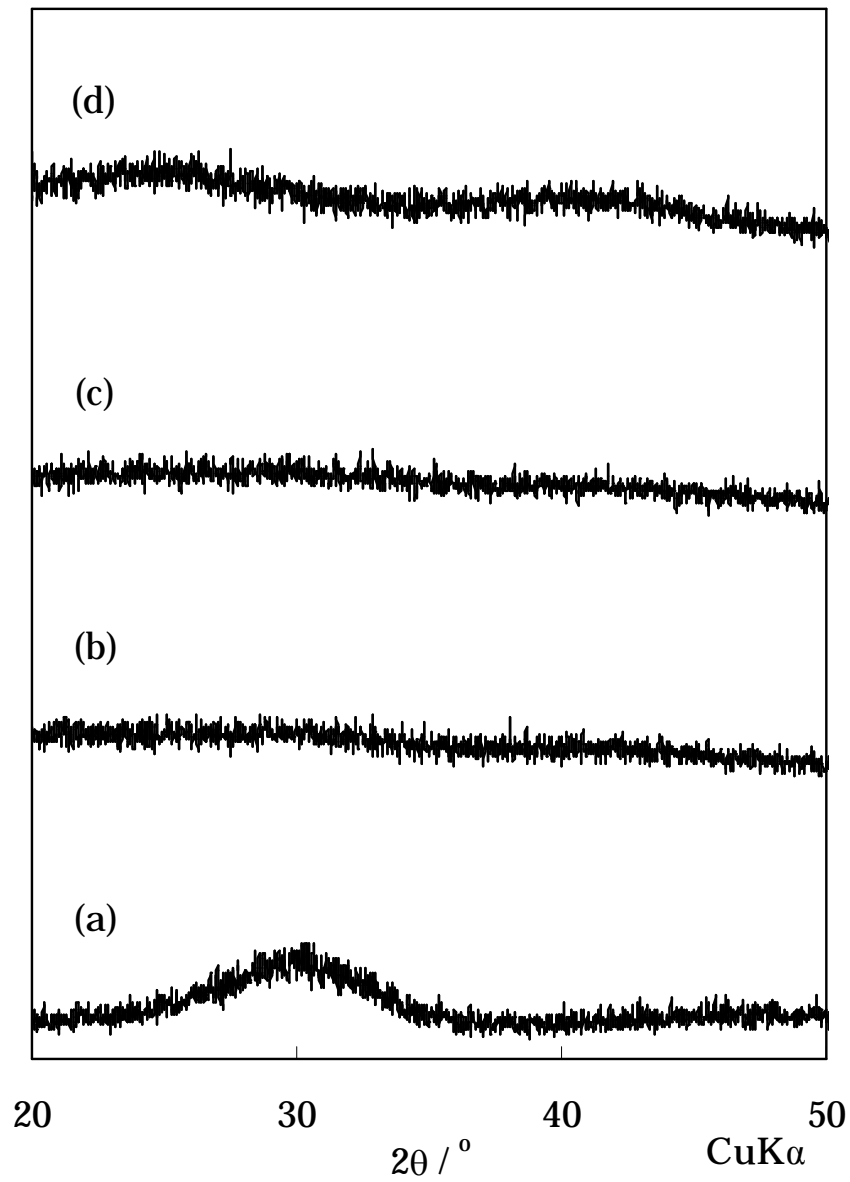


Fig. 7.2 XRD patterns of  $\beta$ -TCP precursors prepared at various temperatures for 3h. (a) 60°C, (b) 80°C, (c) 100°C, (d) 130°C.

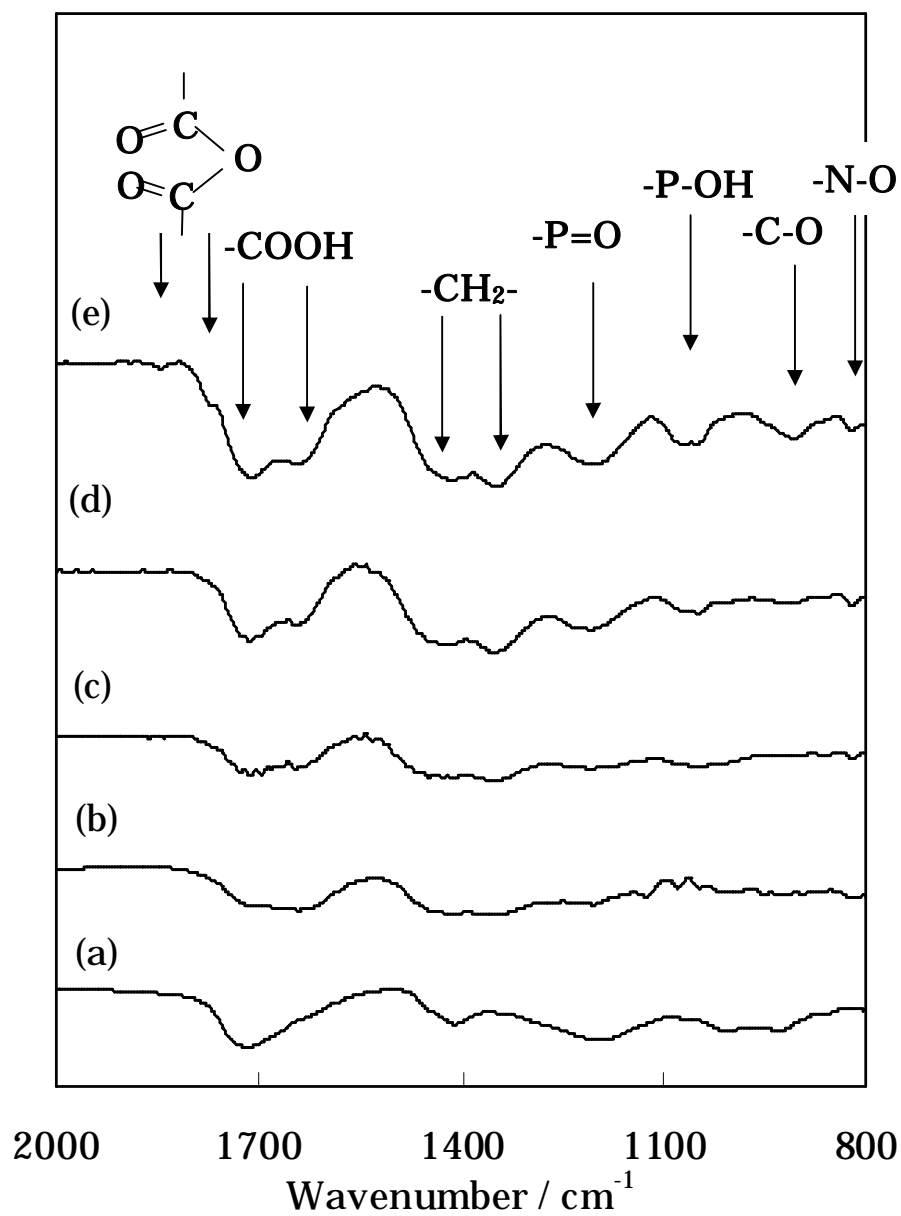


Fig. 7.3 FT-IR spectra of  $\beta$ -TCP precursors prepared at various temperatures for 3h. (a) PBTA, (b) 60°C, (c) 80°C, (d) 100°C, (e) 130°C.

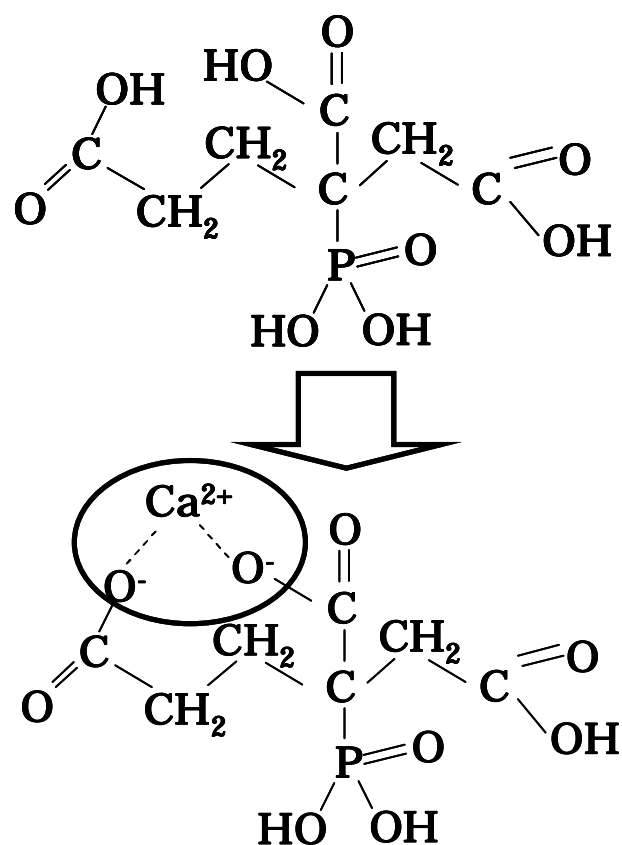


Fig. 7.4 Chelation mechanisms between carboxyl groups in PBTA and  $\text{Ca}^{2+}$  ions during the formation process of the  $\beta$ -TCP precursors.

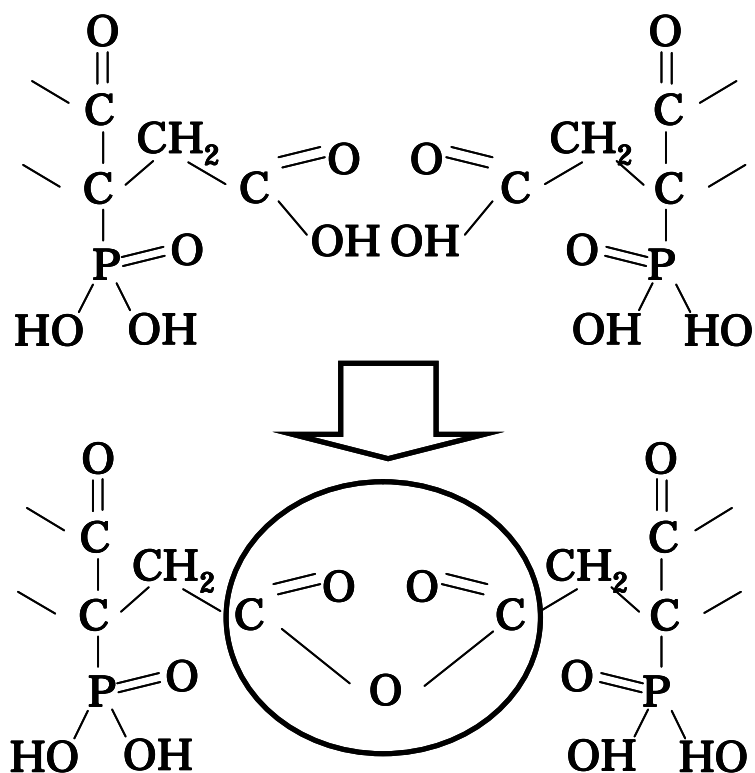


Fig. 7.5 Dehydrated condensation mechanisms between carboxyl groups in PBTA above 100°C during the formation process of the  $\beta$ -TCP precursors.

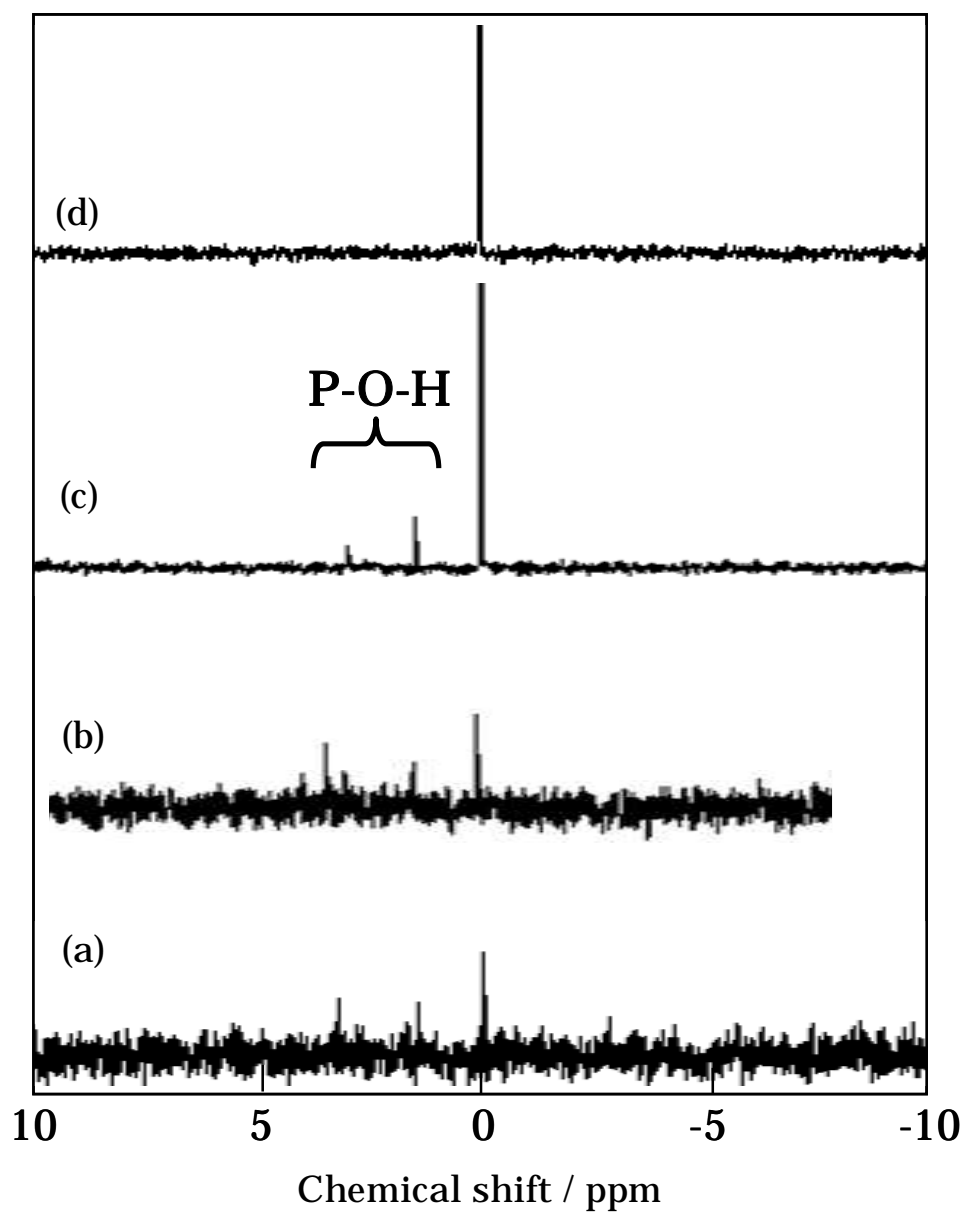


Fig. 7.6  $^{31}\text{P}$ -NMR spectra of  $\beta$ -TCP precursors prepared at various temperatures for 3h. (a) 60°C, (b) 80°C, (c) 100°C, (d) 130°C.

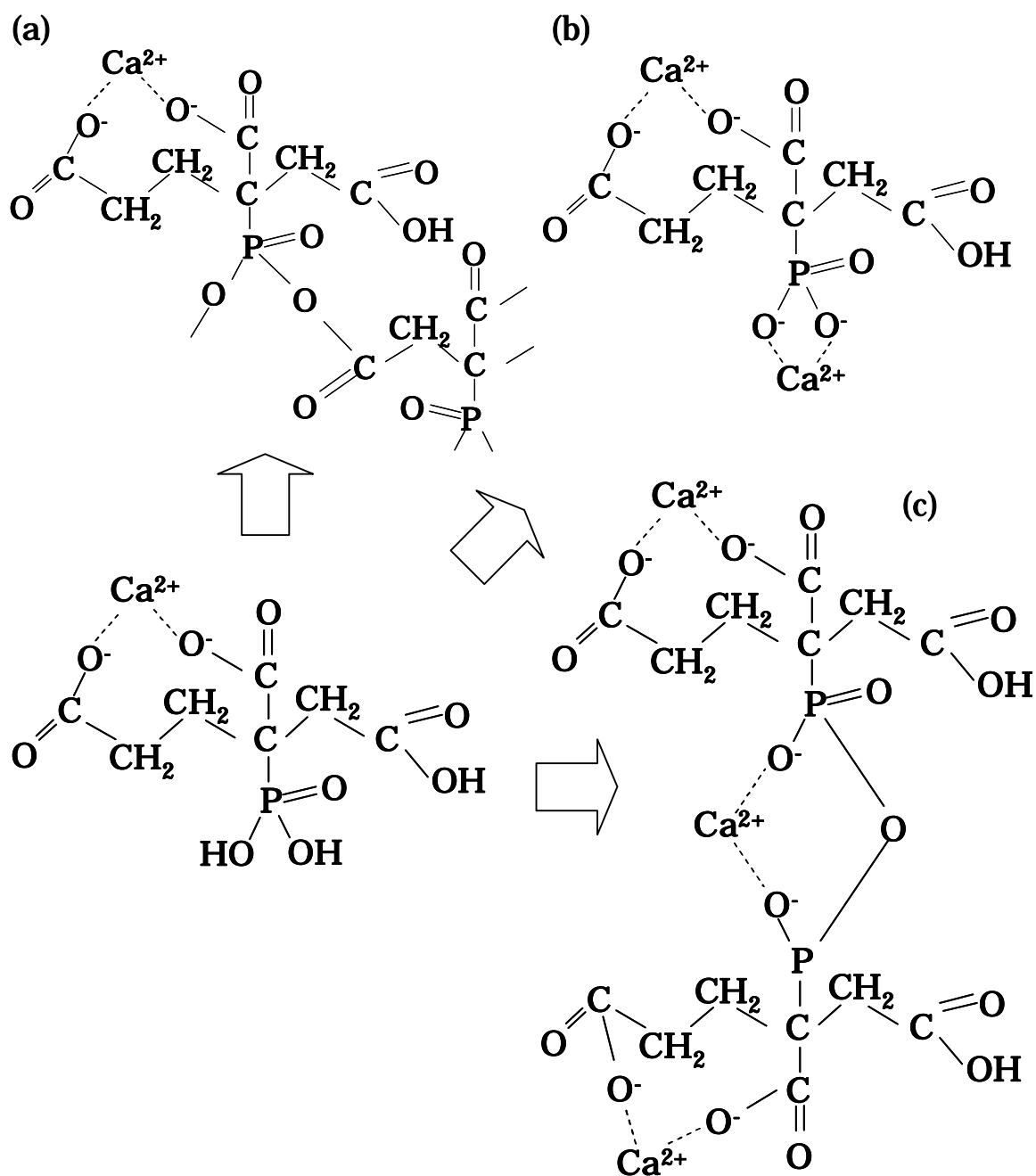


Fig. 7.7 Chelation mechanisms among carboxyl groups and phosphonic acid groups in PBTA and  $\text{Ca}^{2+}$  ions during the formation process of the  $\beta$ -TCP precursors. (a) dehydrated condensation with carboxyl groups, (b) chelation with  $\text{Ca}^{2+}$  ions, (c) dehydrated condensation with carboxyl groups and chelation with  $\text{Ca}^{2+}$  ions between two PBTA.

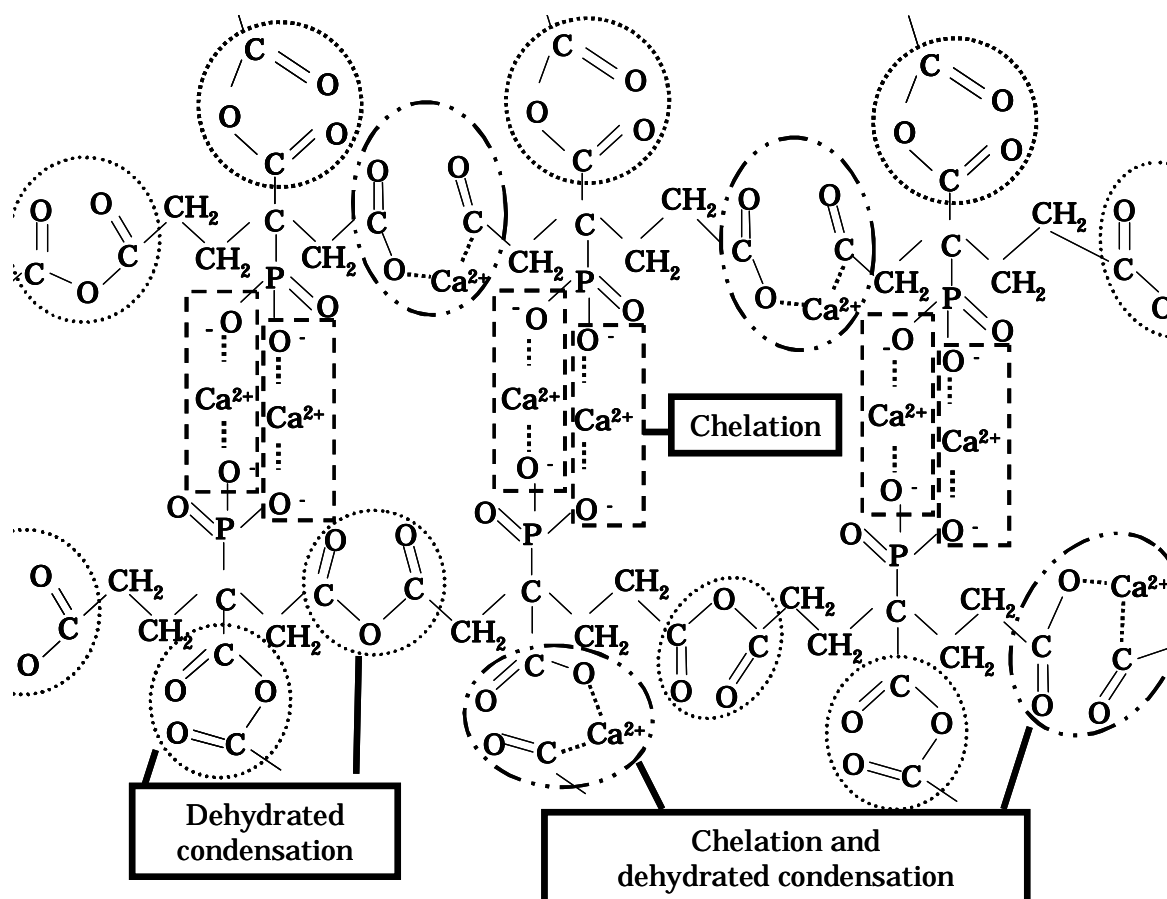


Fig. 7.8 Formation mechanism of  $\beta$ -TCP precursors composed of  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -PBTA- $\text{H}_2\text{O}$ .

### 7.3.1.2 金属イオン添加 $\beta$ -TCP 前駆体の生成機構

前節では、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体について、その形成機構を考察した。本節では、かくはん温度を前駆体形成反応がもっとも進行した  $130^{\circ}\text{C}$  一定として、 $\text{Na}^{+}$ イオンまたは  $\text{Mg}^{2+}$ イオンを添加した  $\beta$ -TCP ( $\text{Na-TCP}$ ,  $\text{Mg-TCP}$ ) 前駆体を調製し、金属イオン添加の前駆体形成機構に及ぼす影響について検討する。

図 7.9 に、かくはん温度  $130^{\circ}\text{C}$  で調製した金属イオン添加  $\beta$ -TCP 前駆体の X 線回折図を示した。各前駆体の回折線は、すべて非晶質特有のブロードの回折線であり、金属イオン添加は前駆体の結晶相に影響しなかった。

図 7.10 には、金属イオン添加量を変化させた  $\text{Na-TCP}$  および  $\text{Mg-TCP}$  前駆体の FT-IR スペクトルを示した。すべての前駆体の FT-IR スペクトルには、 $1730\text{cm}^{-1}$ ,  $1380\text{cm}^{-1}$  付近に  $-\text{COOH}$  基と  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$  基に帰属の吸収を確認した。また、PBTA のスペクトルとは異なり、それらの吸収が二つに分裂したことから、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の場合と同様に、前駆体形成反応の初期に  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  および  $\text{Mg}^{2+}$  の各金属イオンと PBTA 中の  $-\text{COOH}$  基とがキレート反応したことを認めた。また、金属イオンの種類や添加量には関わらず  $1865\text{cm}^{-1}$ ,  $1776\text{cm}^{-1}$ ,  $1078\text{cm}^{-1}$  に鎖状酸無水物  $[-\text{C}(\text{O})\cdot\text{O}\cdot\text{C}(\text{O})-]$  に帰属の吸収も認め、前節で示したように PBTA 中の  $-\text{COOH}$  基が脱水縮合反応したことも確認したが、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体や  $\text{Na-TCP}$  前駆体の鎖状酸無水物に帰属の吸収強度にくらべて  $\text{Mg-TCP}$  前駆体のそれは高かった。これは、 $\text{Mg-TCP}$  前駆体における PBTA 中の  $-\text{COOH}$  基の脱水縮合反応が無添加  $\beta$ -TCP 前駆体や  $\text{Na-TCP}$  前駆体のそれにくらべて促進したことを示している。

図 7.11 および図 7.12 には、金属イオン添加量を変化させた  $\text{Na-TCP}$  および  $\text{Mg-TCP}$  前駆体の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルをそれぞれ示した。 $\text{Na-TCP}$  前駆体の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルには、 $2.0$  および  $4.0\text{ppm}$  付近に  $\text{P-O-H}$  結合に帰属のピークを確認し、 $\text{Na}^{+}$ イオン添加量の増加でそのピーク強度も増加した。それに対して、 $\text{Mg-TCP}$  前駆体の  $^{31}\text{P}$ -NMR スペクトルには、 $\text{Mg}^{2+}$ イオン添加量に関わらず  $\text{P-O-H}$  結合に帰属のピークを認めなかった。これより、前駆体形成における PBTA のホスホン酸基の反応が、添加した金属イオンの種類で変化することがわかった。

無添加  $\beta$ -TCP 前駆体における PBTA 中のホスホン酸基の反応機構(1)について、二つの PBTA のホスホン酸中の  $-\text{OH}$  基と等量の  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  または  $\text{Mg}^{2+}$  イオンとが反応した場合、一価金属イオンの  $\text{Na}^{+}$ イオン添加の場合は、二価金属イオンの  $\text{Ca}^{2+}$  や  $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加の場合と異なり、価数の違いから未反応の  $-\text{OH}$  基が一つ生成することになる。したがって、前節のホスホン酸基のキレート反応機構(1)は、金属イオンの価数の違いで、さらに以下の二つの反応機構に分けられた。

- (a)  $\text{Ca}^{2+}$ イオンおよび  $\text{Mg}^{2+}$ イオンと二つの PBTA とのホスホン酸基中の  $-\text{OH}$  基とのキレート化(無添加  $\beta$ -TCP 前駆体および  $\text{Mg-TCP}$  前駆体の場合)
- (b)  $\text{Ca}^{2+}$ イオンと二つの PBTA とのホスホン酸基中の  $-\text{OH}$  基とのキレート化、および



Na<sup>+</sup>イオンと一つのホスホン酸基中の-OH 基とのキレート化(Na-TCP 前駆体の場合)

この反応機構については、Na<sup>+</sup>イオン添加量の増加で <sup>31</sup>P-NMR スペクトルの P-O-H 結合に帰属のピーク強度が増加した結果、および Na-TCP 前駆体の粘度とくらべて無添加 β-TCP 前駆体や Mg-TCP 前駆体のそれが高かった結果に一致する。これらは、Na-TCP 前駆体形成時においてホスホン酸基中に未反応の-OH が残存し、前駆体形成反応を抑制するためと考えた。一方、無添加 β-TCP 前駆体の粘度にくらべて Mg-TCP 前駆体のそれが高かったのは、Mg<sup>2+</sup>イオン添加が-COOH 基の脱水縮合反応を促進したことに起因したと考えた。

以上の結果から、前駆体形成機構における金属イオン添加は、β-TCP 前駆体形成時における金属イオンと、PBTA 中に存在する-COOH 基、-OH 基および-PO(OH)<sub>2</sub> 基とのキレート反応や脱水縮合反応に影響を与えることを明らかにした。

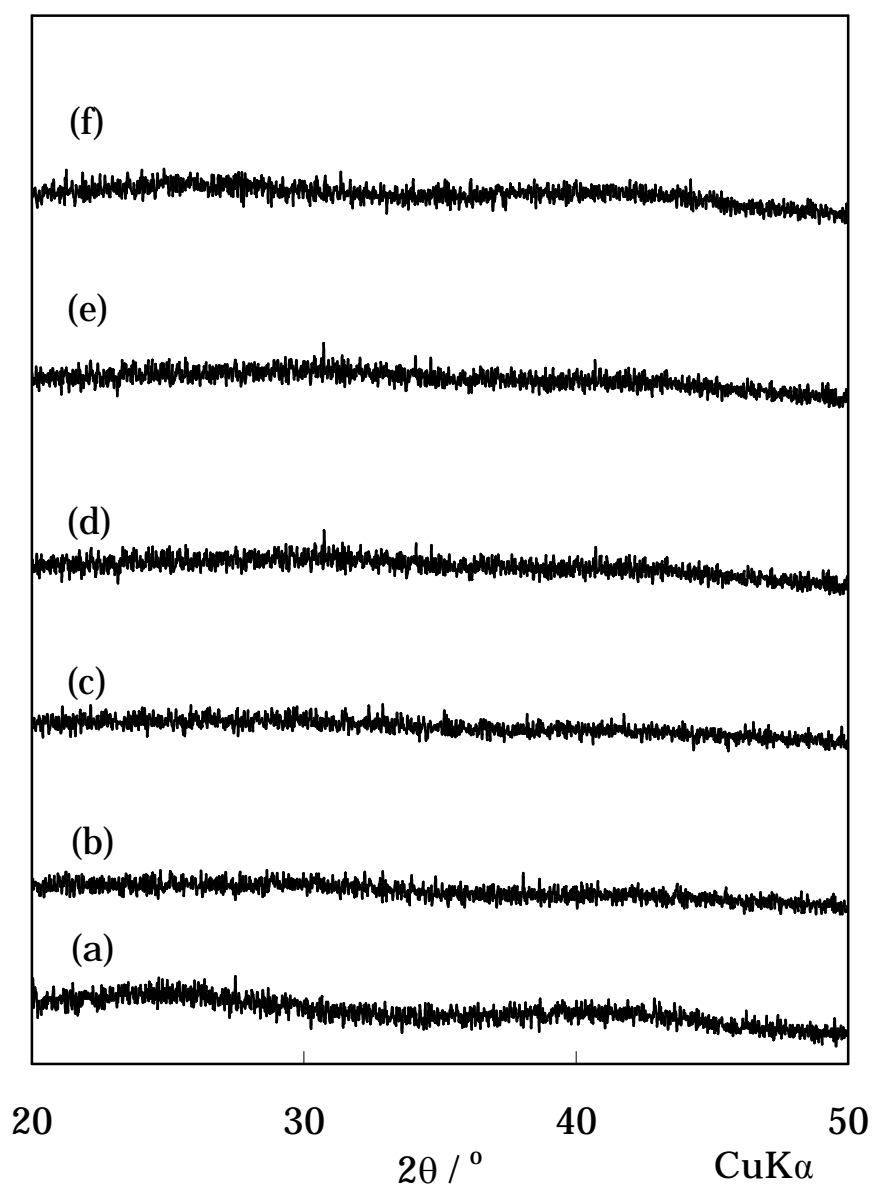


Fig. 7.9 XRD patterns of  $\beta$ -TCP precursors containing various amounts of metal ions prepared at  $130^\circ\text{C}$  for 3h. (a) 0mol%, (b)  $\text{Na}^+$  ions 4.00mol%, (c)  $\text{Na}^+$  ions 9.09mol%, (d)  $\text{Mg}^{2+}$  ions 4.00mol%, (e)  $\text{Mg}^{2+}$  ions 9.09mol%, (f)  $\text{Mg}^{2+}$  ions 13.64mol%.

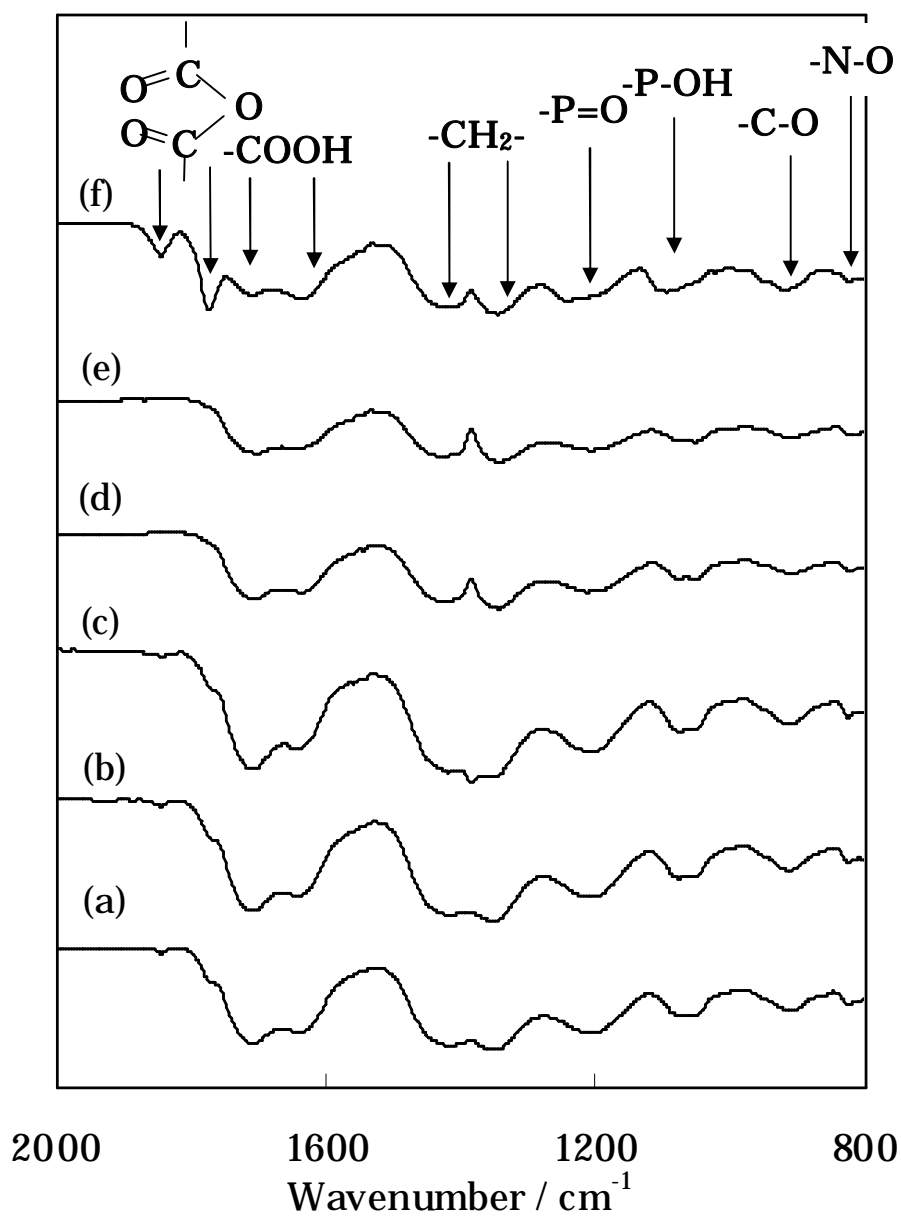


Fig. 7.10 FT-IR spectra of  $\beta$ -TCP precursors containing various amounts of metal ions prepared at 130°C for 3h. (a) 0mol%, (b) Na<sup>+</sup> ions 4.00mol%, (c) Na<sup>+</sup> ions 9.09mol%, (d) Mg<sup>2+</sup> ions 4.00mol%, (e) Mg<sup>2+</sup> ions 9.09mol%, (f) Mg<sup>2+</sup> ions 13.64mol%.

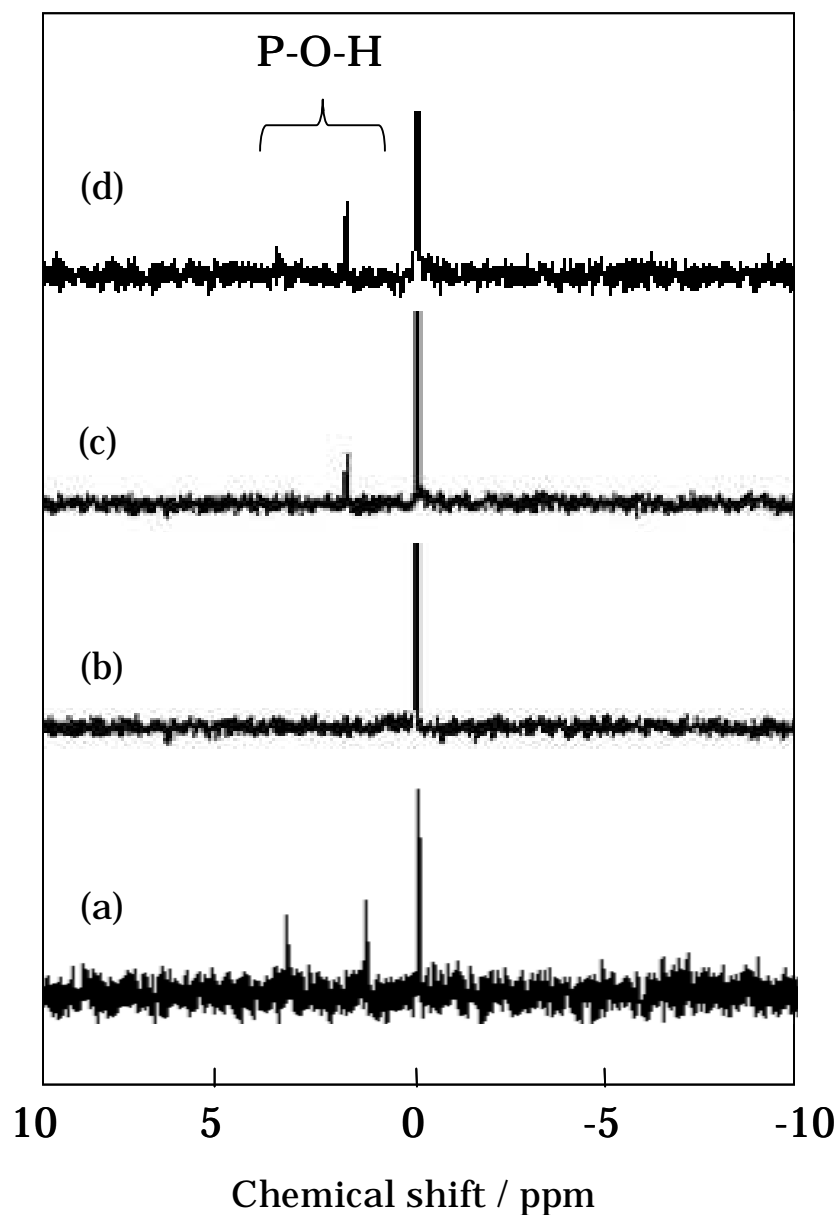


Fig.7.11  $^{31}\text{P}$ -NMR spectra of PBTA, and  $\beta$ -TCP precursors with/without the various amounts of  $\text{Na}^+$  ions prepared by  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , PBTA, and  $\text{NaNO}_3$  or  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  in  $\text{H}_2\text{O}$  at  $130^\circ\text{C}$  for 3h. (a) PBTA, (b) 0 mol% (without metal ions), (c) 4.55 mol%  $\text{Na}^+$  ions, (d) 9.09 mol%  $\text{Na}^+$  ions.

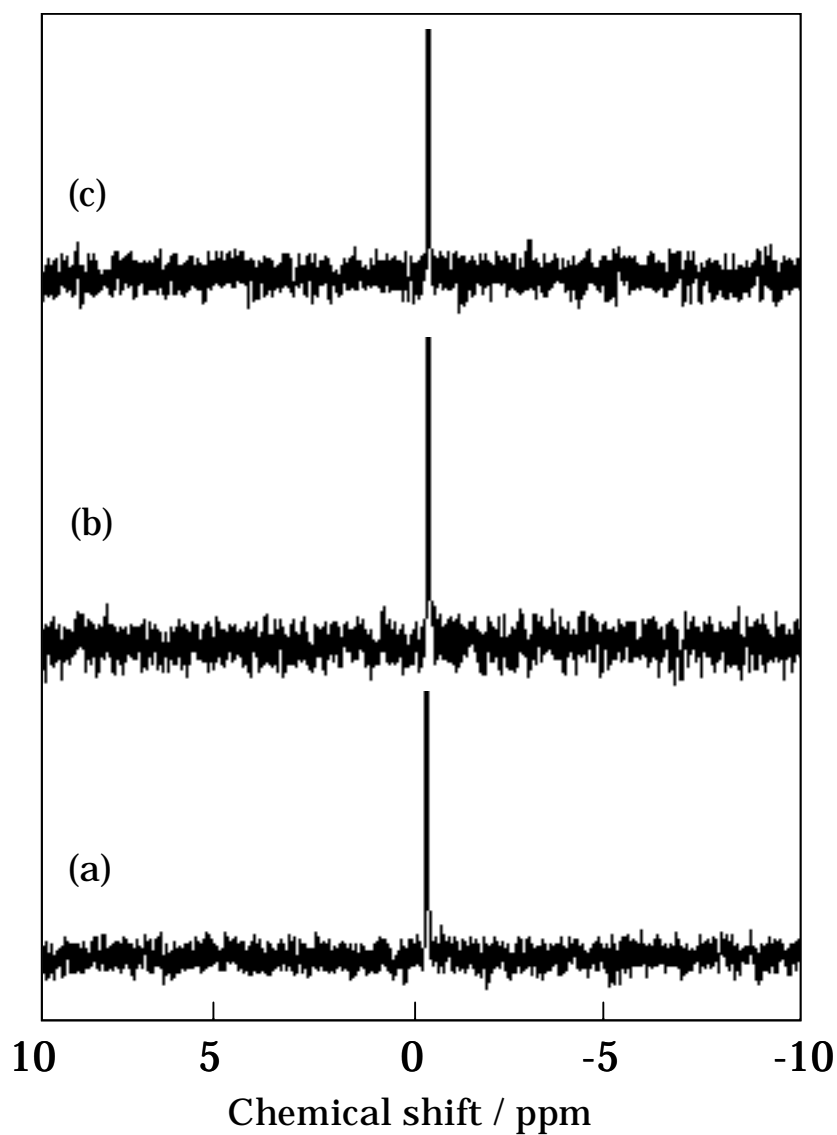


Fig.7.12  $^{31}\text{P}$ -NMR spectra of  $\beta$ -TCP precursors with/without the various amounts of  $\text{Na}^+$  ions prepared by  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , PBTA, and  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  in  $\text{H}_2\text{O}$  at  $130^\circ\text{C}$  for 3h. (a) 4.55 mol%  $\text{Mg}^{2+}$  ions, (b) 9.09 mol%  $\text{Mg}^{2+}$  ions, (c) 13.64 mol%  $\text{Mg}^{2+}$  ions.

### 7.3.2 $\beta$ 型リン酸三カルシウム前駆体の加熱挙動

#### 7.3.2.1 金属イオン無添加 $\beta$ 型リン酸三カルシウム前駆体の加熱挙動

図 7.13 には、130°C 調製した金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 前駆体をさまざまな温度で加熱した試料の X 線回折図を示した。400°C までの試料では、非晶質特有のブロードな回折線であったが、550°C の場合は未知試料、600°C では  $\alpha$  型リン酸三カルシウム( $\alpha$ -TCP)、800°C 以上で  $\beta$ -TCP の回折線をそれぞれ認めた。

通常  $\alpha$ -TCP は、1150 $\pm$ 30°C 以上で  $\beta$ -TCP が相転移してえられる<sup>32)</sup>。しかし、 $\alpha$ -TCP から  $\beta$ -TCP が生成することは、Ca/P モル比 1.50 の非晶質リン酸カルシウム(ACP)の加熱時でも認められ、Kanazawa らは、ACP の 500~600°C 加熱で生成する  $\alpha$ -TCP は、準安定相の  $\alpha$ -TCP であると報告している<sup>33)</sup>。したがって、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体を 600°C 加熱して生成した  $\alpha$ -TCP についても準安定相の  $\alpha$ -TCP であると考えた。この準安定相  $\alpha$ -TCP の生成機構については、理論密度が  $\beta$ -TCP(3.07g $\cdot$ cm<sup>-3</sup>)にくらべて  $\alpha$ -TCP(2.86 g $\cdot$ cm<sup>-3</sup>)のそれが低いことから、ACP のような非晶質の  $\beta$ -TCP 前駆体から結晶化する場合に、 $\alpha$ -TCP が先に生成すると考えた<sup>34),35)</sup>。

図 7.14 には、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体を加熱した試料の FT-IR スペクトルを示した。400~1000°C で加熱した試料の FT-IR スペクトルには、1093cm<sup>-1</sup>、1041cm<sup>-1</sup>に P-O 逆対称伸縮振動、960cm<sup>-1</sup>に P-O 対称伸縮振動、603cm<sup>-1</sup>、573cm<sup>-1</sup>に P-O 変角振動に帰属の吸収をそれぞれ認めた。さらに、400~800°C 加熱試料のスペクトルには、1550~1350cm<sup>-1</sup>および 880~875cm<sup>-1</sup>に炭酸(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>)イオンの面内伸縮振動に帰属の吸収も確認し、加熱試料の色相が黒色であったことから、加熱試料に有機成分の残存を認めた。しかし、800°C 以上の加熱試料のスペクトルには、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>イオンに帰属の吸収は認められず、その色相も白色であったことから、残存した有機成分は熱分解したことがわかった。

図 7.15 に 130°C 調製の無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の TG-DTA 曲線を示した。200°C と 740°C に重量減少および発熱ピークを認め、これらは FT-IR スペクトルより、前駆体中に残存した水分の蒸発と硝酸(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)イオンの分解とに起因したことがわかった。また、200~680°C にゆるやかな重量減少と発熱ピークを、740°C に重量変化をともしなう発熱ピークを、それぞれ確認したが、これらについても FT-IR スペクトルから有機成分の熱分解に起因したと考えた。なお、680°C の重量変化をともしなわない発熱ピークについては、重量減少のないことや X 線回折図より、準安定相の  $\alpha$ -TCP から  $\beta$ -TCP への相転移に起因したと考えた。

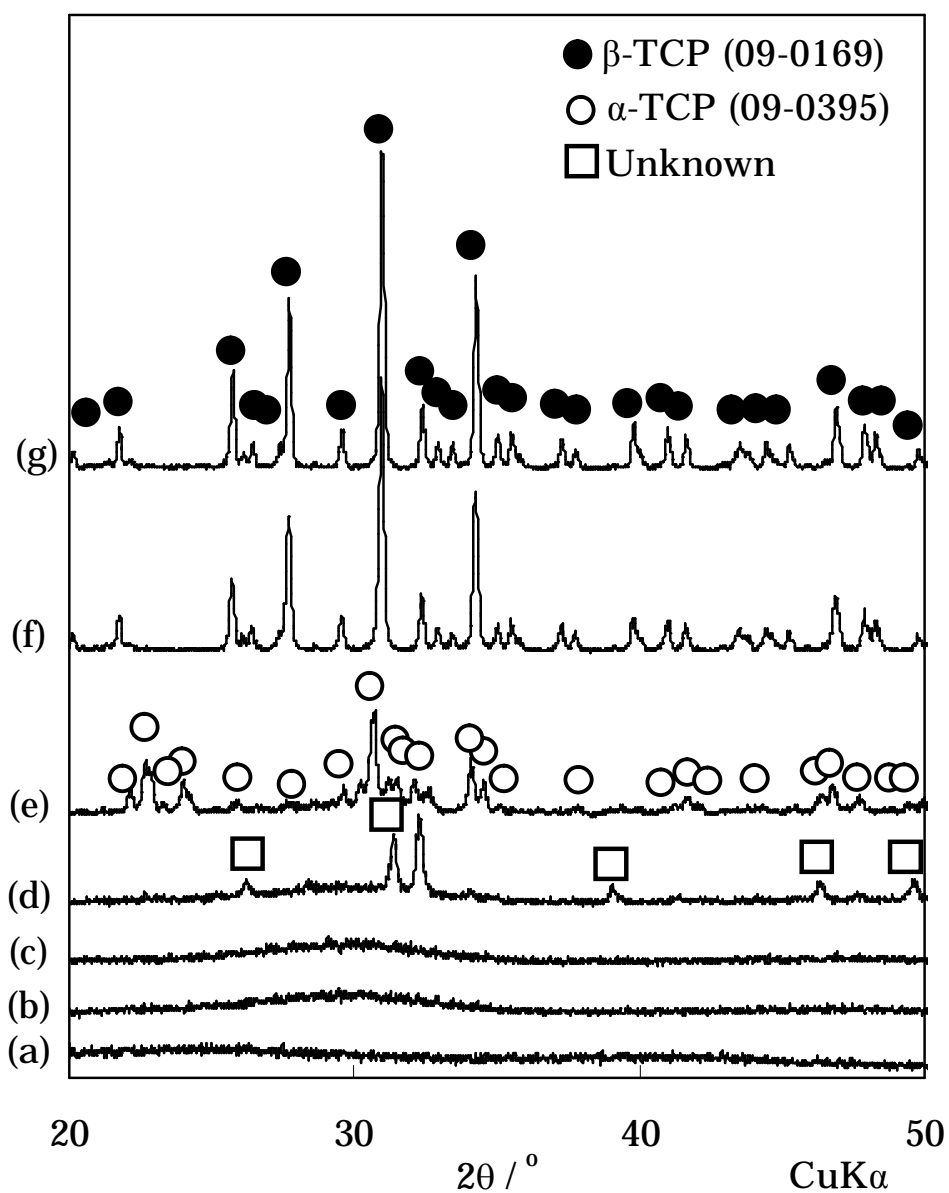


Fig.7.13 XRD patterns of the powder after heating  $\beta$ -TCP precursors at various temperatures for 5h. (a) precursor, (b) 200°C, (c) 400°C, (d) 550°C, (e) 600°C, and (f) 800°C, (g) 1000°C.

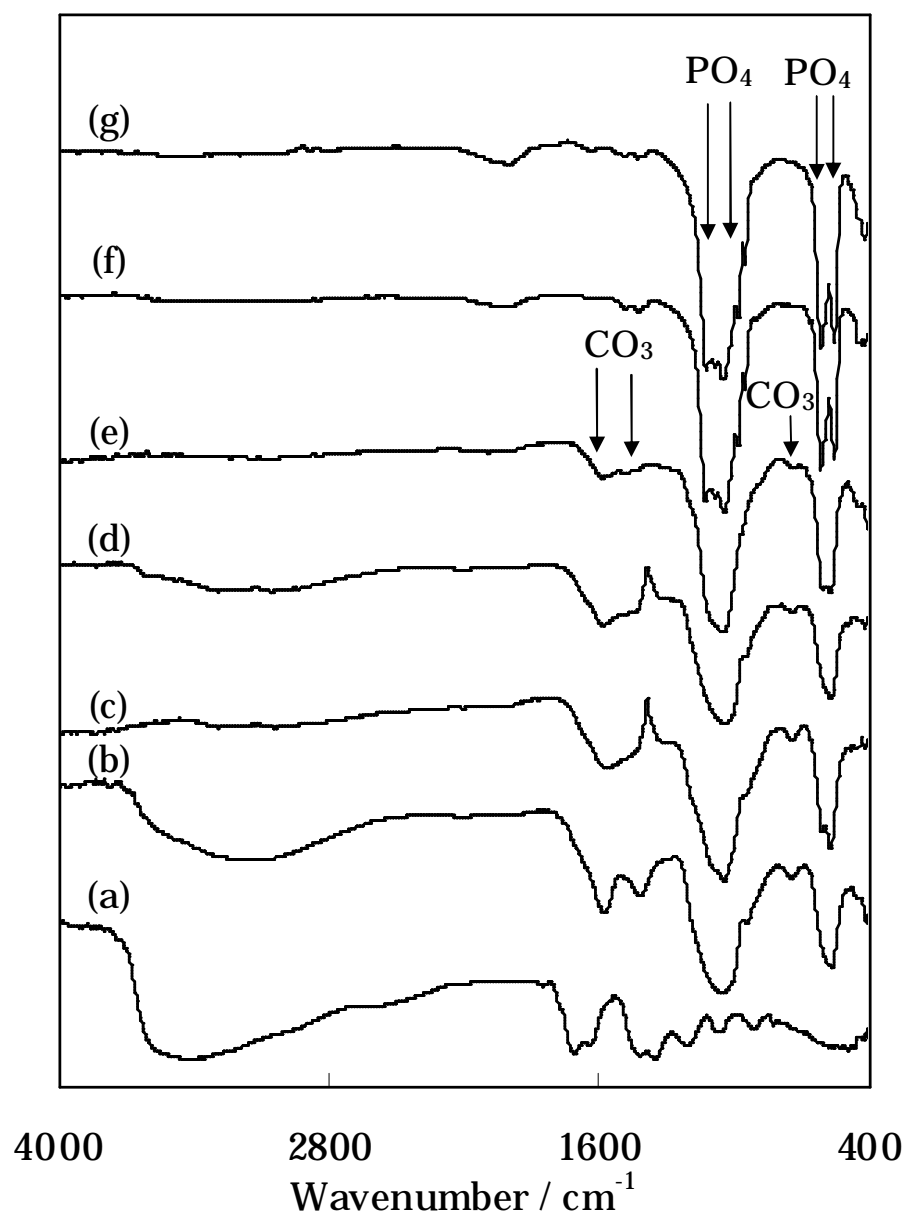


Fig.7.14 FT-IR spectra of the powder after heating  $\beta$ -TCP precursors at various temperatures for 5 h. (a) precursor, (b) 200°C, (c) 400°C, (d) 550°C, (e) 600°C, and (f) 800°C, (g) 1000°C.



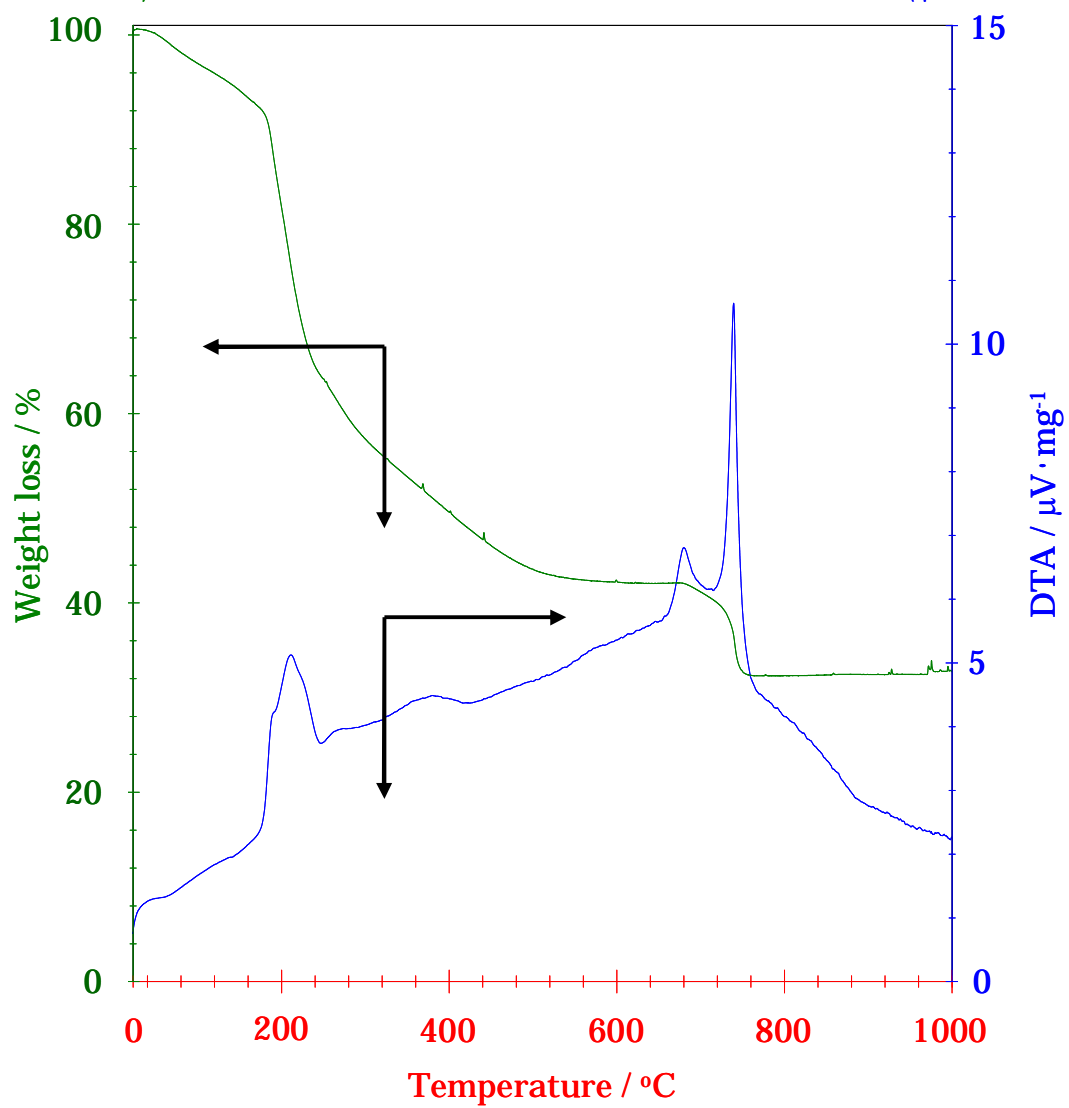


Fig.7.15 TG-DTA curves during the heating of  $\beta$ -TCP precursors prepared at 130°C for 3h (heating rate: 3.0°C·min<sup>-1</sup>).

### 7.3.2.2 金属イオン添加 $\beta$ -TCP 前駆体の加熱挙動

本節では、金属イオンを添加した Na-TCP および Mg-TCP 前駆体の加熱試料を評価し、金属イオン添加が加熱挙動に与える影響を検討する。

Na<sup>+</sup>イオンを最大固溶量の 9.09mol% 添加した (Na<sub>9.09</sub>-TCP) 前駆体の加熱試料、および Mg<sup>2+</sup>イオンの固溶する Ca サイトが Ca(5) サイトから Ca(4) サイトに変化する 9.09mol% と、最大固溶量の 13.64mol% Mg<sup>2+</sup>イオン添加 (Mg<sub>9.09</sub>-TCP, Mg<sub>13.64</sub>-TCP) 前駆体の加熱試料の X 線回折図を図 7.16 に示した。また、表 7.2 には、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体、Na-TCP 前駆体、Mg-TCP 前駆体を加熱した試料の結晶相を示した。

Na-TCP 前駆体を加熱した場合は、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の場合と同様に、準安定相の  $\alpha$ -TCP から  $\beta$ -TCP が生成し、生成温度については準安定相  $\alpha$ -TCP は 500°C、 $\beta$ -TCP は 600°C と、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の生成温度にくらべて低下した。なお、Na<sup>+</sup>イオン添加量の増加で各生成温度は低下した。一方、Mg-TCP 前駆体の加熱試料の場合は、添加量に関わらず準安定相  $\alpha$ -TCP は生成せずに  $\beta$ -TCP が前駆体から直接生成し、その生成温度も添加量の増加にしたがい低下した。

Mg<sup>2+</sup>イオン添加カルシウム欠損アパタイトを加熱した場合、 $\beta$ -TCP (Mg-TCP) の生成温度は、金属イオン無添加の場合のそれにくらべて低下することを Ito らは報告している<sup>36)</sup>。また、Mg<sup>2+</sup>イオン添加 ACP を加熱した場合でも、 $\beta$ -TCP 生成温度の低下は認められている<sup>33)</sup>が、その要因については議論されていない。

一方、 $\beta$ -TCP への Mg<sup>2+</sup>イオン固溶でその結晶構造は安定化することを第 2 章で明らかにした。また、前節では  $\beta$ -TCP 前駆体調製時の Mg<sup>2+</sup>イオン添加は前駆体形成反応を促進したことを示した。したがって、前駆体調製時の Mg<sup>2+</sup>イオン添加については、 $\beta$ -TCP 前駆体形成反応を促進し、 $\beta$ -TCP 構造安定性も向上することから、準安定相  $\alpha$ -TCP が生成せずに直接  $\beta$ -TCP が生成し、その生成温度も低下したと考えられる。

また、第 2 章では一価金属イオンの  $\beta$ -TCP への固溶でその構造安定性が向上したことも示し、これより、前駆体調製時の Na<sup>+</sup>イオン添加で  $\beta$ -TCP の生成温度が低下したと考えた。この一価金属イオン固溶による  $\beta$ -TCP 構造の安定性については、二価金属 (Mg<sup>2+</sup>) イオンを添加した場合のそれにくらべて低く、さらに前節に記したように Na<sup>+</sup>イオン添加は前駆体形成をも抑制したことから、 $\beta$ -TCP 生成前に準安定相  $\alpha$ -TCP が生成したと考えた。

このように、 $\beta$ -TCP 前駆体への金属イオン添加は、前駆体の加熱における準安定相  $\alpha$ -TCP や  $\beta$ -TCP の生成と、その生成温度とに影響を与えることを明らかにした。

図 7.17 には、Na<sub>9.09</sub>-TCP 前駆体、Mg<sub>9.09</sub>-TCP と Mg<sub>13.64</sub>-TCP 前駆体の各加熱試料の FT-IR スペクトルを示した。600°C 以下の前駆体加熱試料の FT-IR スペクトルには、金属イオンの種類や添加量に関わらず 1550~1350cm<sup>-1</sup>、880~875cm<sup>-1</sup> に CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>イオン帰属の吸収を認め、各試料中に有機成分の含有を確認した。

図 7.18 および図 7.19 には、Na<sub>9.09</sub>-TCP 前駆体、Mg<sub>13.64</sub>-TCP 前駆体の TG-DTA 曲線を

それぞれ示した。金属イオンの種類や添加量に関わらず無添加  $\beta$ -TCP 前駆体の場合と同様に、 $\text{NO}_3^{2-}$  イオンの脱離に起因する 200°C 付近の重量減少と発熱ピーク、および有機成分の熱分解にともなう 200~700°C におけるゆるやかな重量減少と発熱ピークを、それぞれ確認した。なお、有機成分の熱分解による重量減少と発熱ピークは、 $\text{Na}^+$  イオンまたは  $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加で、無添加  $\beta$ -TCP 前駆体のそれらにくらべてともに低温側または高温側にそれぞれシフトした。さらに  $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加の場合には、それらのピークが三つに分裂した。

このように、前駆体調製時の金属イオン添加は  $\text{NO}_3^{2-}$  イオン脱離温度に影響しないが、有機成分の熱分解過程に影響を与え、これは前駆体形成反応に起因すると考えた。すなわち、 $\text{Na}^+$  イオン添加の場合は、前駆体形成を抑制し、有機成分の熱分解が容易になることから、熱分解温度は低下した。一方の  $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加の場合は、前駆体の形成反応を促進したことから、有機成分の熱分解に高温加熱が必要となったため、熱分解の温度も高温側にシフトしたと考えた。なお、 $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加の場合、それらの影響で有機成分の熱分解に起因するピークも二つに分裂したことから、700~800°C の発熱ピークと重量減少ピークが  $\text{CO}_3^{2-}$  イオンの脱離も含め三つになったと考えた。

図 7.20 および図 7.21 には、Na-TCP と Mg-TCP 前駆体を 1000°C 加熱した試料、および固相法で合成した Na-TCP と Mg-TCP の各格子定数をそれぞれ示した<sup>37)</sup>。加熱試料と固相法で合成した試料の格子定数は、*a* 軸、*c* 軸ともに、金属イオンの種類および添加量に関わらず一致した。

表 7.3 には、加熱試料の各イオンの定量値と、それより算出した (Ca+M)/P モル比、および金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の化学式から算出した試料中に含まれる各イオンの理論値を示した。すべての試料の (Ca+M)/P モル比は、 $\beta$ -TCP の化学量論組成である 1.50 とほぼ一致した。さらに、M/(Ca+M) モル比については、金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の化学式から求めた理論組成比 (2.0, 4.0, 6.0, 9.09, 13.64 mol% 金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の M/(Ca+M) モル比は、空孔を考慮した場合それぞれ 0.020, 0.042, 0.064, 0.100 および 0.136) と一致した。

以上の結果から、固相法で合成した試料と、本法で合成した試料の格子定数が一致し、その組成比も理論組成と一致したことから、本法は組成制御のすぐれた合成方法であることが明らかになった。

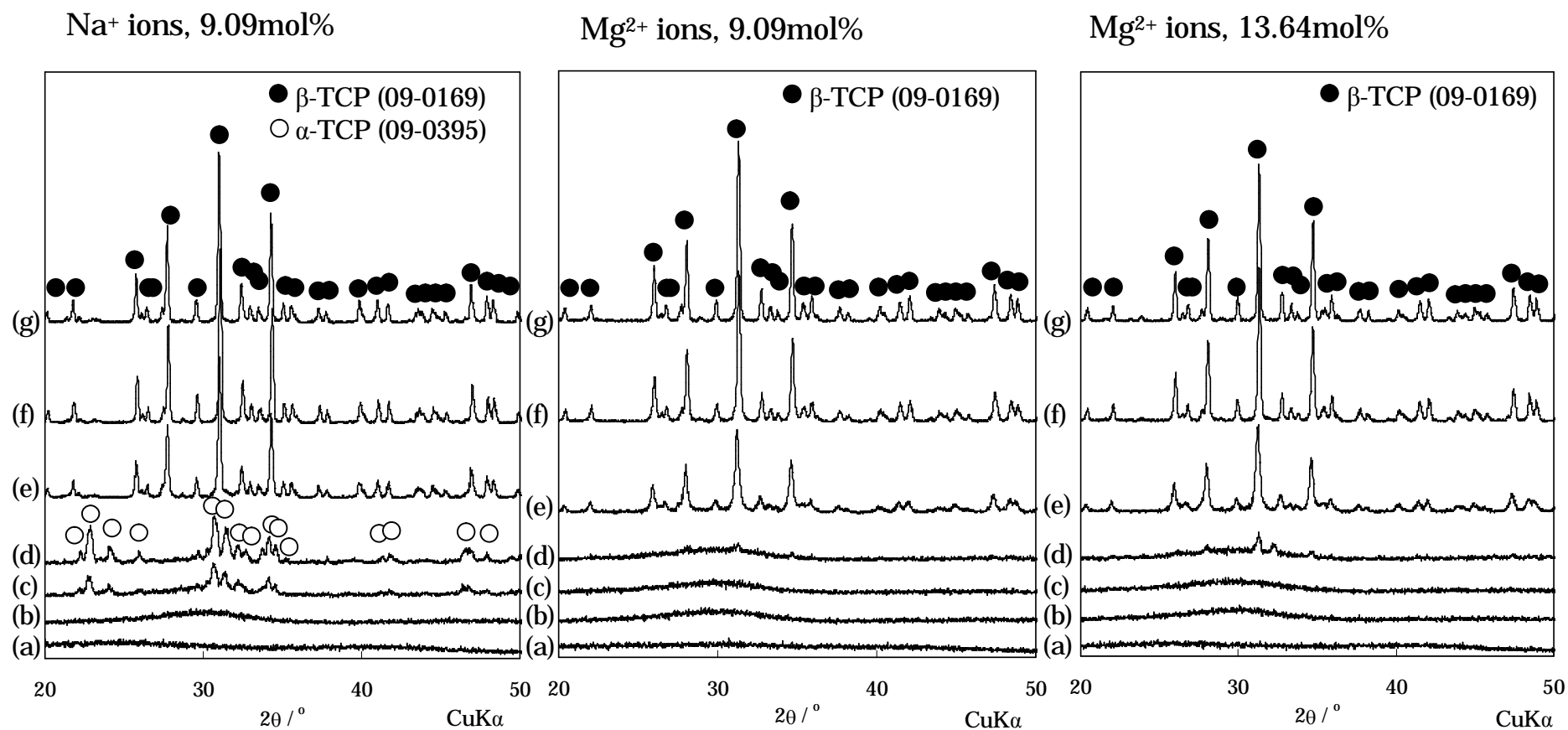


Fig.7.16 XRD patterns of the powder after heating precursors with Na<sup>+</sup> ions, and Mg<sup>2+</sup> ions at various heating temperatures for 5 h. (a) precursor, (b) 400°C, (c) 500°C, (d) 550°C, (e) 600°C, (f) 800°C, (g) 1000°C.

Table 7.2 Crystal phase of the powder after heating precursors with/without metal ions at various temperatures for 5 h.

	Amount of metal ions / mol%	Heating temperature / °C				
		500	550	600	800	1000
$\beta$ -TCP <sup>a</sup>		— <sup>d</sup>	—	$\alpha$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
Na-TCP <sup>b</sup>	4.00	—	—	$\alpha$ -TCP + $\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
	9.09	$\alpha$ -TCP <sup>e</sup>	$\alpha$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
Mg-TCP <sup>c</sup>	4.00	—	—	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
	9.09	—	—	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP
	13.64	—	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP	$\beta$ -TCP

<sup>a</sup>  $\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate precursors

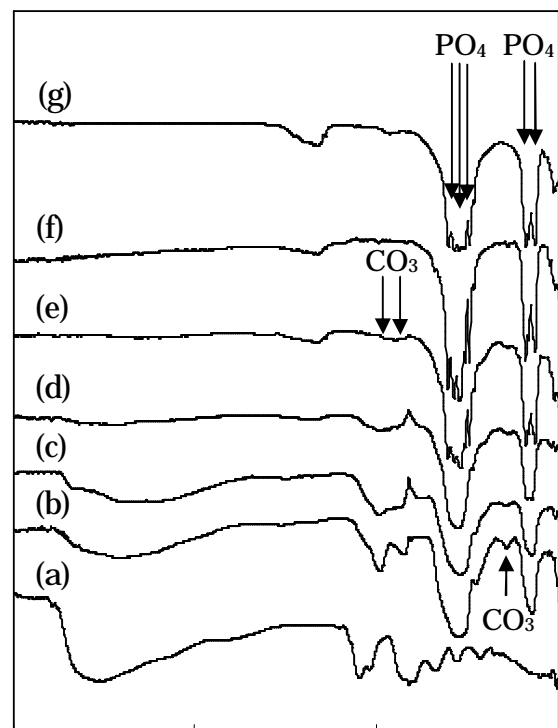
<sup>b</sup> Na-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate precursors containing Na<sup>+</sup> ions

<sup>c</sup> Mg-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate precursors containing Mg<sup>2+</sup> ions

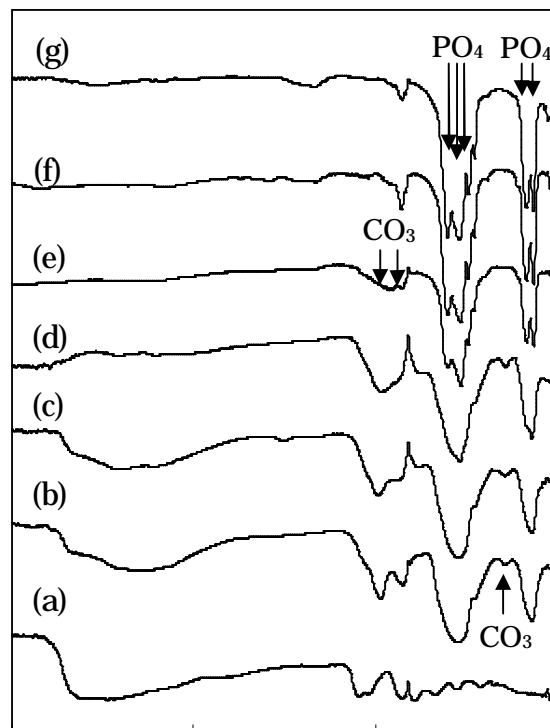
<sup>d</sup> Noncrystalline materials

<sup>e</sup>  $\alpha$ -TCP:  $\alpha$ -tricalcium phosphate

Na<sup>+</sup> ions, 9.09mol%



Mg<sup>2+</sup> ions, 9.09mol%



Mg<sup>2+</sup> ions, 13.64mol%

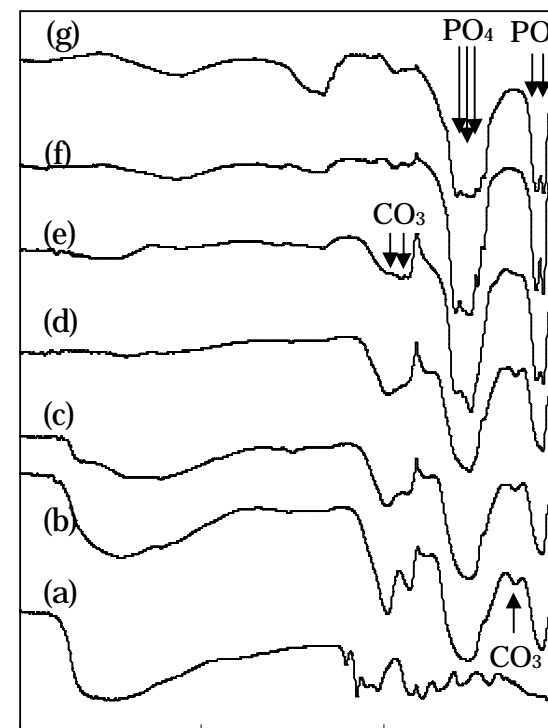


Fig.7.17 FT-IR spectra of the powder after heating precursors with Na<sup>+</sup> ions, and Mg<sup>2+</sup> ions at various heating temperatures for 5 h. (a) precursor, (b) 400°C, (c) 500°C, (d) 550°C, (e) 600°C, (f) 800°C, (g) 1000°C.

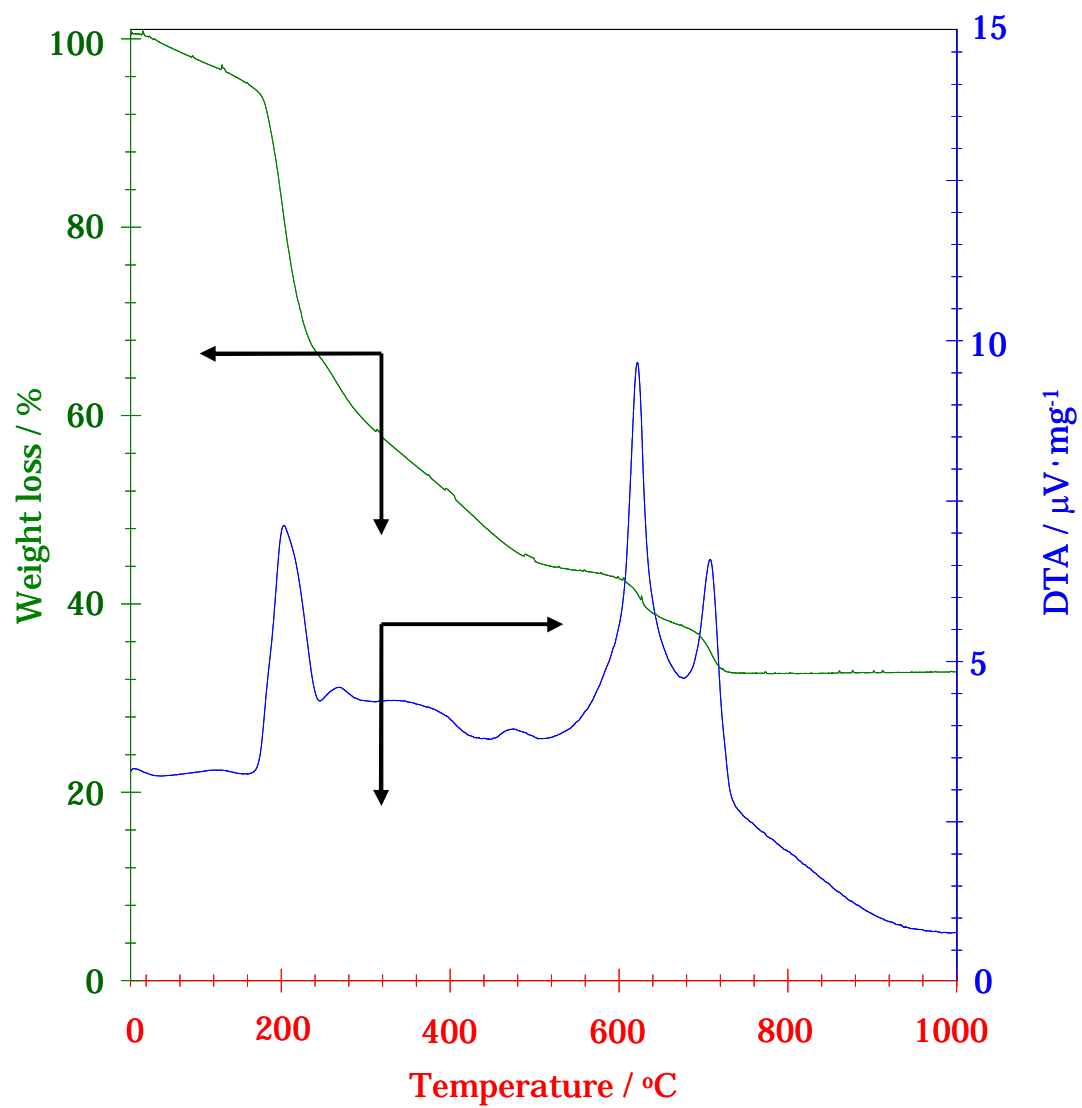


Fig.7.18 TG-DTA curves during the heating of precursors with 9.09mol%  $\text{Na}^+$  ions (heating rate:  $3.0^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ).

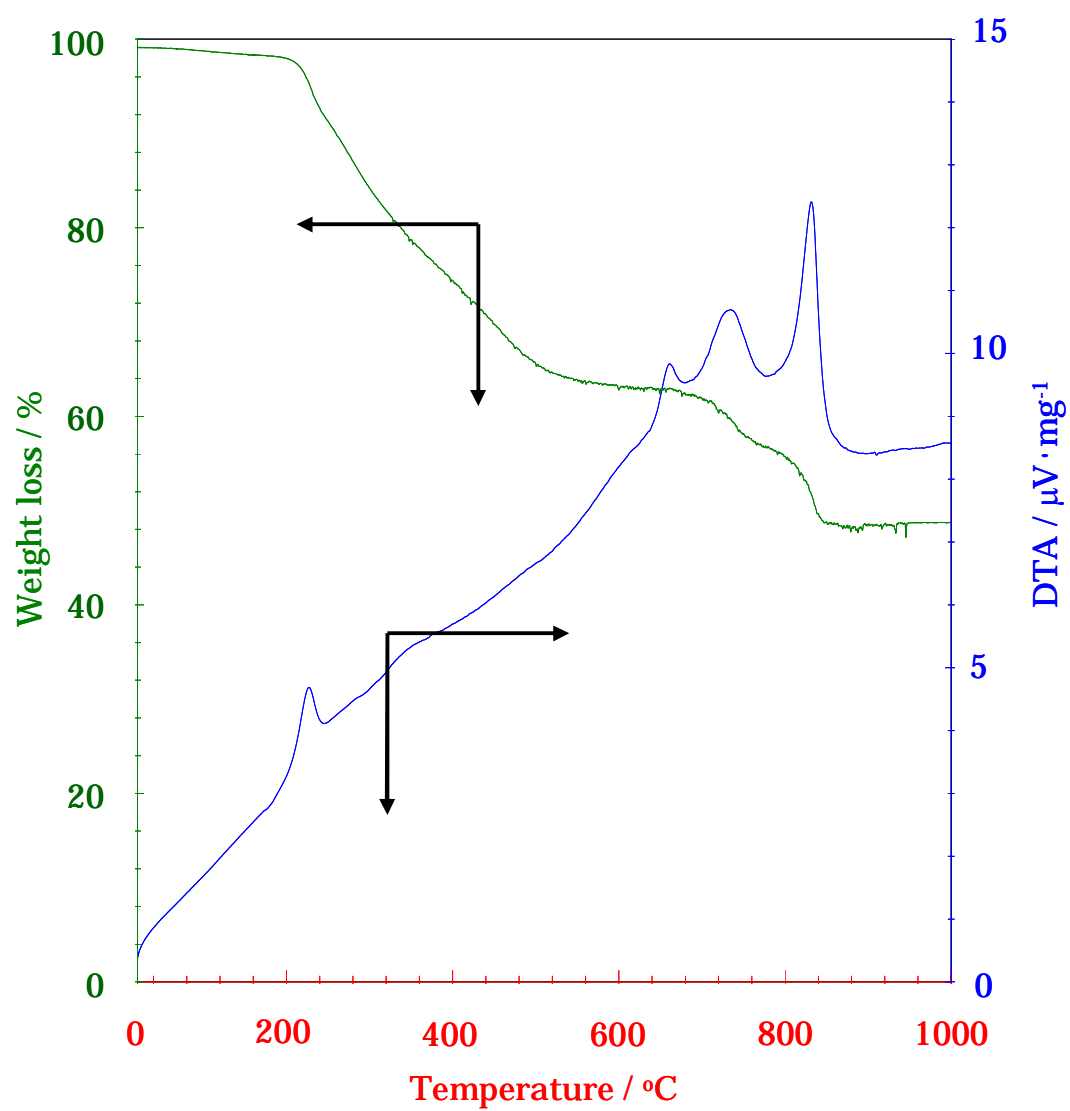


Fig.7.19 TG-DTA curves during the heating of precursors with 13.64 mol%  $\text{Mg}^{2+}$  ions (heating rate:  $3.0^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ ).



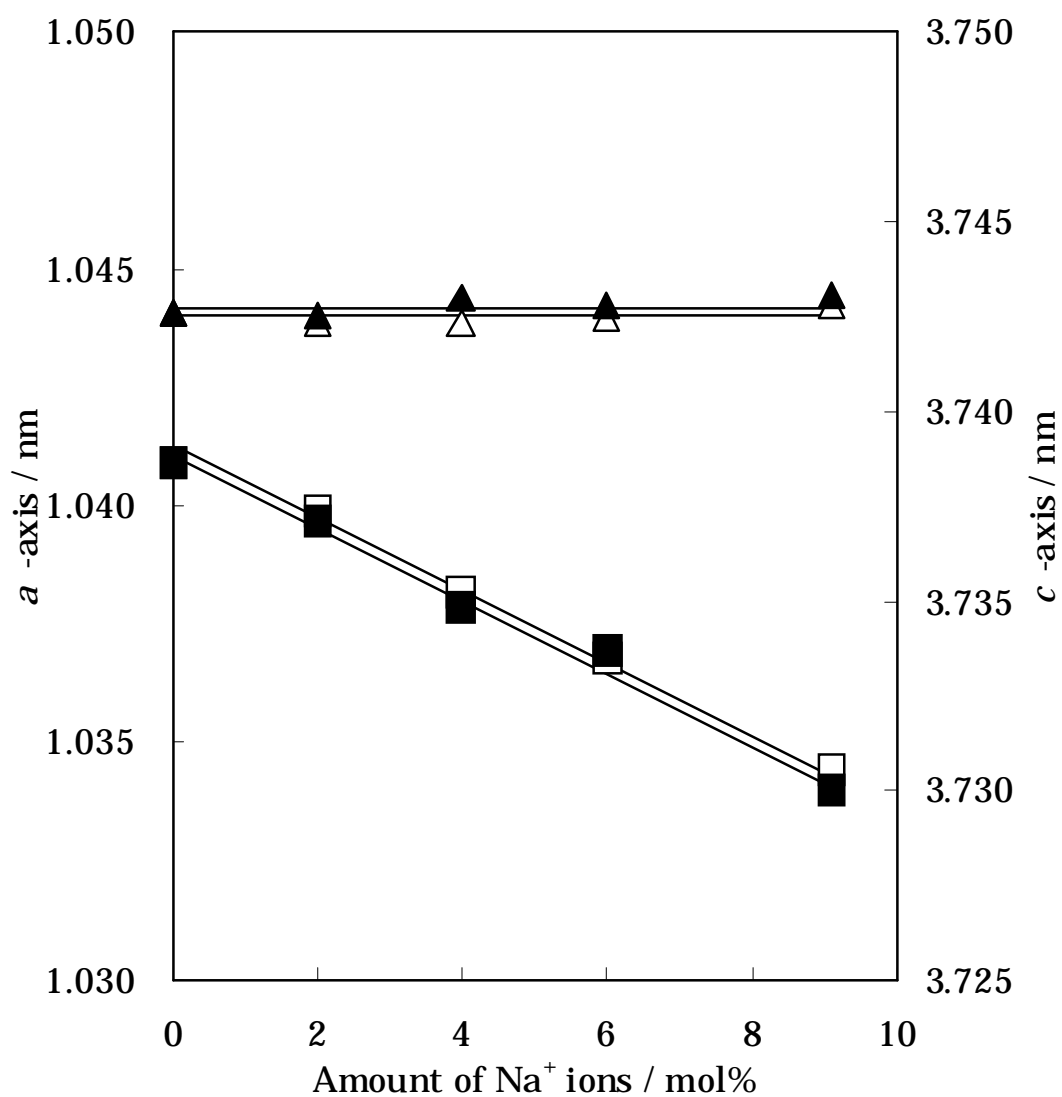


Fig.7.20 Changes in lattice constants of the powder containing various amounts of Na<sup>+</sup> ions prepared by heating precursors at 1000°C using Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, PBTA, and NaNO<sub>3</sub> in H<sub>2</sub>O ( ) or through a solid-state method ( ).

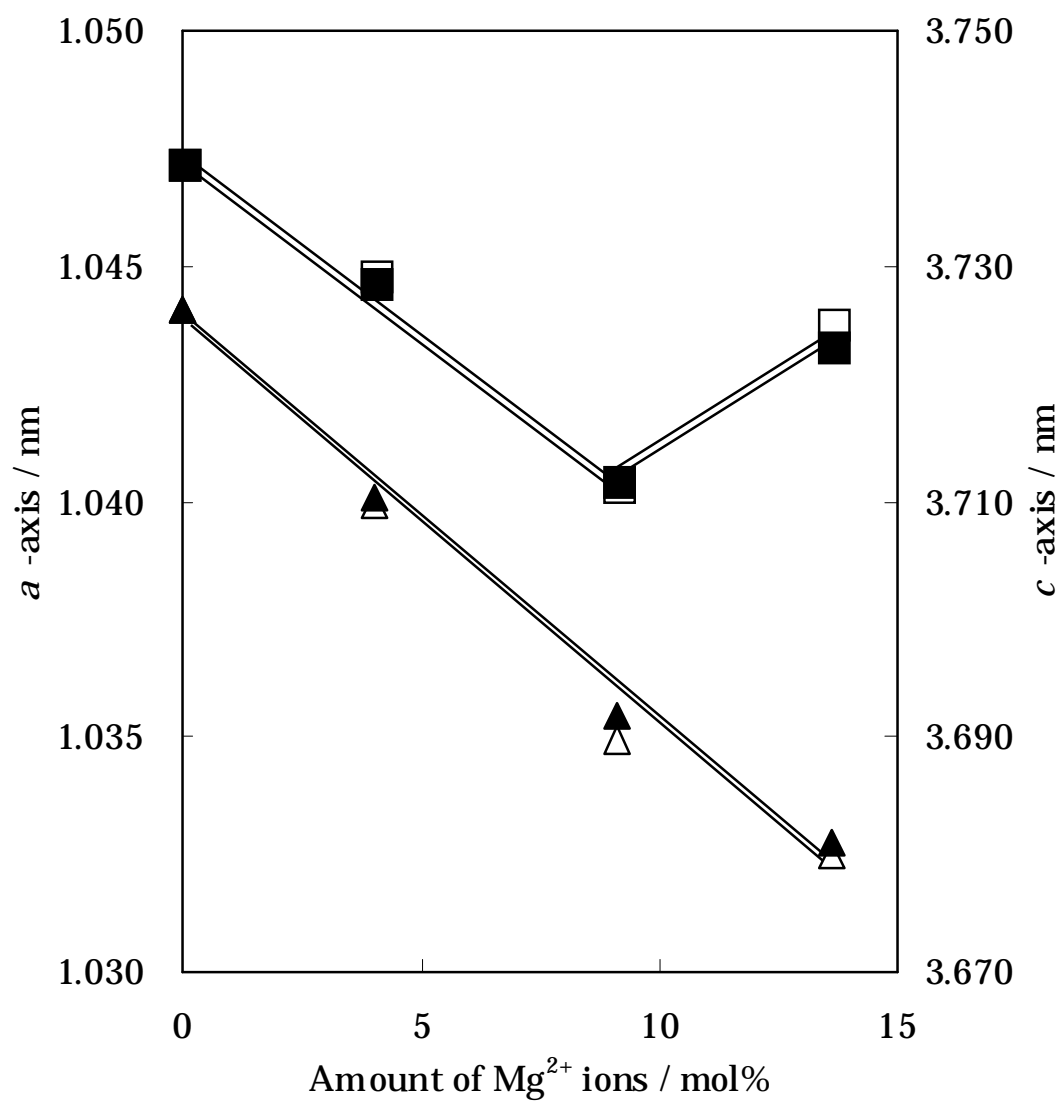


Fig.7.21 Changes in lattice constants of the powder containing various amounts of  $\text{Mg}^{2+}$  ions prepared by heating precursors at  $1000^\circ\text{C}$  using  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , PBTA, and  $\text{Mg}(\text{NO}_3)\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  in  $\text{H}_2\text{O}$  ( ) or through a solid-state method ( ).

Table 7.3 Compositions in the powder after heating precursors with/without metal ions at 1000°C for 5 h.

	Metal ions / mol%	Composition / mM				(Ca+M)/P
		Ca	P	Na	Mg	
$\beta$ -TCP <sup>a</sup>		0.980	0.653	—	—	1.50
		(0.967) <sup>d</sup>	(0.645)	—	—	(1.50)
Na-TCP <sup>b</sup>	4.00	0.933	0.648	0.040	—	1.50
		(0.935)	(0.649)	(0.039)	—	(1.50)
	9.09	0.893	0.651	0.087	—	1.50
		(0.893)	(0.655)	(0.089)	—	(1.50)
Mg-TCP <sup>c</sup>	4.00	0.931	0.646	—	0.039	1.50
		(0.934)	(0.649)	—	(0.039)	(1.50)
	9.09	0.893	0.657	—	0.089	1.49
		(0.892)	(0.654)	—	(0.089)	(1.50)
	13.64	0.857	0.659	—	0.136	1.51
		(0.853)	(0.658)	—	(0.135)	(1.50)

<sup>a</sup>  $\beta$ -TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate

<sup>b</sup> Na-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate doped with Na<sup>+</sup> ions

<sup>c</sup> Mg-TCP:  $\beta$ -tricalcium phosphate doped with Mg<sup>2+</sup> ions

<sup>d</sup> Theoretical composition calculated from composition of  $\beta$ -TCP doped with metal ions

### 7.3.3 加熱試料の粒子形態と粒子径

本節では加熱粉末の粒子形態および粒子径を評価し，それらに対する金属イオン添加の影響を検討する．

図 7.22 には，無添加  $\beta$ -TCP 前駆体，Na-TCP 前駆体，および Mg-TCP 前駆体の各加熱試料の FE-SEM 像をそれぞれ示した．金属イオンの種類と添加量に関わらず加熱試料の形態については，400°C では凝集体であったが，550°C で粒子間にマイクロ孔をもつ板状粒子，800°C 以上では三次元的に連なった鎖状粒子であった．

図 7.23 には，本法と同じ組成比で， $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ，PBTA および  $\text{NaNO}_3$  または  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  に，重合剤と錯化剤としてエチレングリコールとクエン酸とをそれぞれくわえ調製した  $\beta$ -TCP 前駆体の加熱試料の FE-SEM 像を示した．これら試料は，本法と同様に，すべて  $\beta$ -TCP 構造であり，格子定数も固相法で合成した試料のそれと一致した．しかし，重合剤および錯化剤を用いて合成したこれらの試料は，焼成温度，および金属イオンの種類や添加量に関わらず塊状粒子であった．

これらの結果より，本法で鎖状粒子を形成したのは前駆体形成における結合状態が深く関与したと考えた．すなわち，重合剤および錯化剤を用いた場合は，クエン酸やエチレングリコールのカルボキシル基の脱水縮合反応で  $\beta$ -TCP 前駆体は形成する．しかし，この反応系から重合剤と錯化剤を除いた本反応系の場合は，脱水縮合反応とキレート反応とで  $\beta$ -TCP 前駆体は形成し，それらの結合状態を継承したことから，鎖状粒子となったと考えた．

また，錯体重合法で合成した試料の場合，図 7.23 のように粒子形態の制御は一般に困難であるとされている<sup>38)</sup>．しかし，本法の場合には，加熱により塊状からマイクロ孔をもつ板状粒子，そして三次元的に連なった微細鎖状粒子となったことから，加熱温度の制御で粒子形態の制御が可能であることを明らかにした．

図 7.28 には，図 7.24 に示した FE-SEM 像を用いて測定した，板状または鎖状粒子を構成する粒子の粒子径を示した．金属イオンの種類と添加量に関わらず加熱温度の増加で粒子径は増加したが，無添加  $\beta$ -TCP のそれにくらべて  $\text{Na}^+$  イオンの場合は増加し， $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加の場合は減少した．

したがって，金属イオン添加は錯体重合法で合成した粒子の粒子径に影響を与えることを認めた．

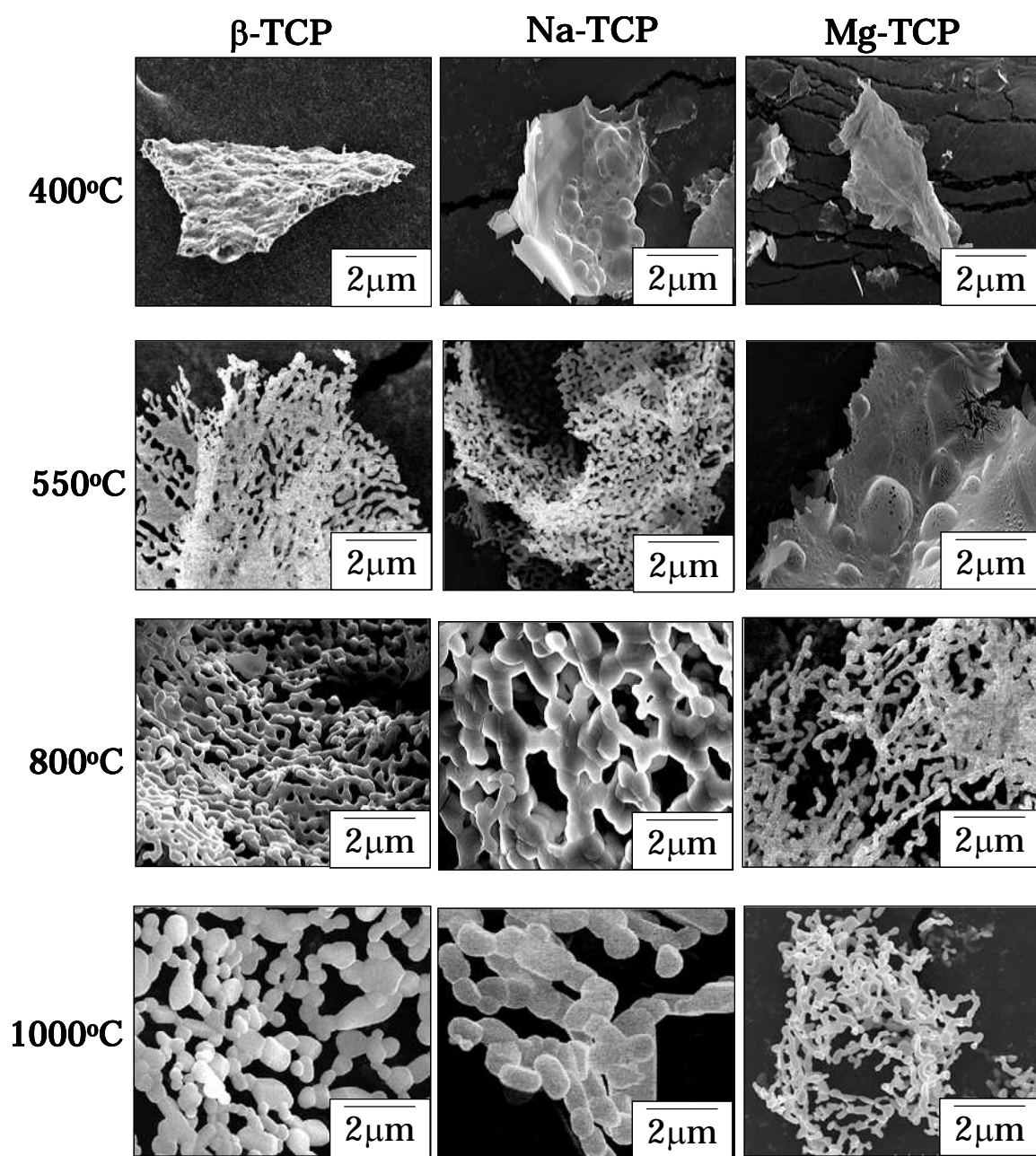


Fig.7.22 SEM images of the powder with/without  $\text{Na}^+$  or  $\text{Mg}^{2+}$  ions prepared by heating the precursors using  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , PBTA, and  $\text{NaNO}_3$  or  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  at various heat temperatures for 5h.

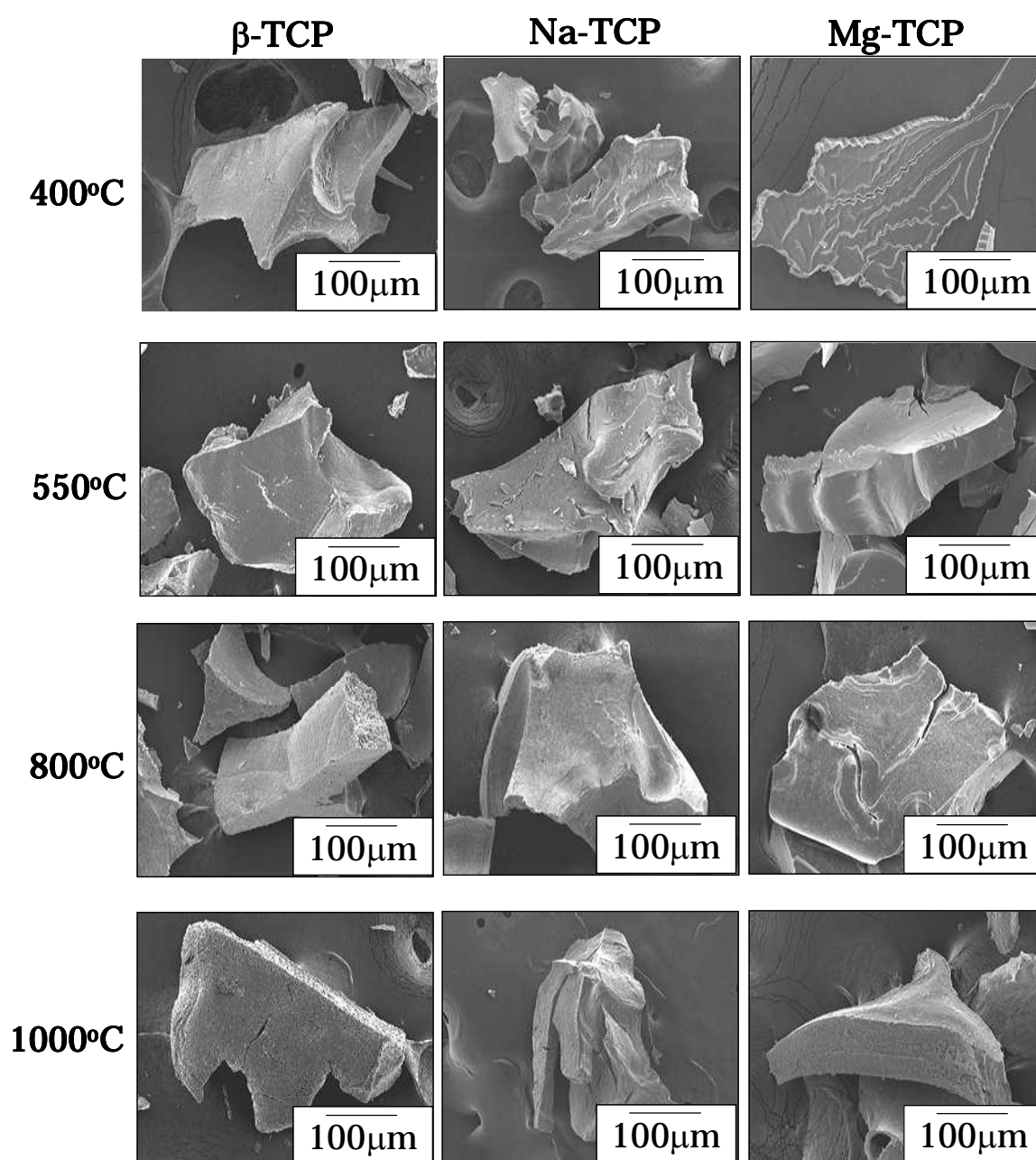


Fig.7.23 SEM images of the powder with/without  $\text{Na}^+$  or  $\text{Mg}^{2+}$  ions prepared by heating the precursors using  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , PBTA, ethylene glycol, citric acid,  $\text{NaNO}_3$  or  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  at various heat temperatures for 5h.

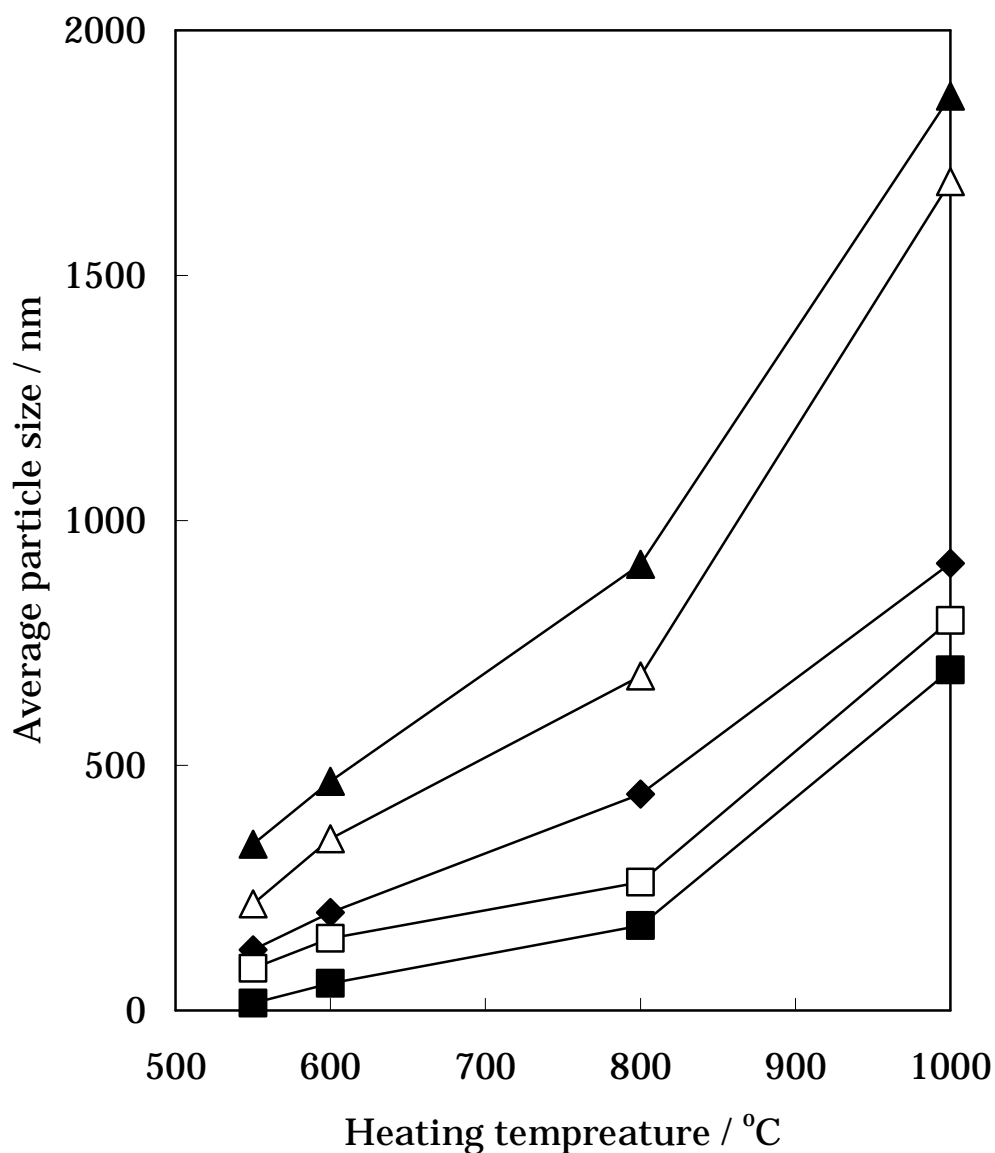


Fig.7.24 Average particle size of the powder with/without Na<sup>+</sup> or Mg<sup>2+</sup> ions prepared by heating the precursors using Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, PBTA, and NaNO<sub>3</sub> or Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O for 5h. : β-TCP, : β-TCP doped with 4.0mol% of Na<sup>+</sup> ions, : β-TCP doped with 9.09mol% of Na<sup>+</sup> ions, : β-TCP doped with 4.0mol% of Mg<sup>2+</sup> ions, : β-TCP doped with 9.09mol% of Mg<sup>2+</sup> ions.

## 7.4 おわりに

本章では、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  および PBTA をそれぞれカルシウム源およびリン源として用いた無添加  $\beta$ -TCP 前駆体、およびこれら出発原料に  $\text{NaNO}_3$  と  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  を一価および二価金属イオン源として添加した金属イオン添加  $\beta$ -TCP 前駆体から、それぞれ  $\beta$ -TCP と金属イオン固溶  $\beta$ -TCP とを合成した。また、合成時における前駆体の形成機構や加熱挙動、および加熱試料の粒子形態や粒子径を評価し、以下の結論をえた。

(1)  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -PBTA- $\text{H}_2\text{O}$  系において、 $\text{Ca}^{2+}$ イオンと、PBTA 中に存在する  $-\text{COOH}$  基、 $-\text{OH}$  基および  $-\text{PO}(\text{OH})_2$  基とのキレート反応や脱水縮合反応で  $\beta$ -TCP 前駆体は形成した。また、金属イオン添加は、それら前駆体形成反応に影響を与えた。すなわち、 $\text{Mg}^{2+}$ イオン添加の場合は、前駆体形成反応を促進し、一方の  $\text{Na}^+$ イオン添加の場合は抑制することを明らかにした。

(2) 金属イオン無添加前駆体を加熱した場合、まず準安定相  $\alpha$ -TCP を生成し、その後  $\beta$ -TCP が形成した。この加熱挙動は、 $\beta$ -TCP と  $\alpha$ -TCP との結晶構造の違いに起因する、非晶質から結晶質への転化時における結晶化の容易さによるものと考えた。また、金属イオン種類に関わらず  $\beta$ -TCP 相の生成温度は、金属イオン添加量の増加にしたがい結晶構造が安定化したため低下した。

なお、 $\text{Na}^+$ イオン添加前駆体の加熱試料の場合も準安定相の  $\alpha$ -TCP から  $\beta$ -TCP を生成したが、 $\text{Mg}^{2+}$ イオンを添加の場合は前駆体から直接  $\beta$ -TCP 相を生成した。 $\text{Mg}^{2+}$ イオン添加の場合は、 $\text{Na}^+$ イオン固溶  $\beta$ -TCP よりも結晶構造安定性が高く、さらに前駆体形成を促進することから、準安定相  $\alpha$ -TCP が生成せずに直接  $\beta$ -TCP 相を生成したと考えた。

(3) 金属イオン添加前駆体の加熱試料の格子定数は、固相法で合成した金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の格子定数と一致し、その組成についても化学量論組成と一致した。したがって、本法は、液相法による  $\beta$ -TCP の合成方法のなかでも組成制御にすぐれた合成方法であることが明らかにした。

(4) 本法の前駆体を加熱すると塊状からマイクロ孔をもつ板状粒子や三次元的に連なった鎖状粒子がえられたことから、加熱温度の制御で粒子形態の制御が可能であることを明らかにした。また、 $\text{Na}^+$ イオン添加は、その粒子径を増加、 $\text{Mg}^{2+}$ イオン添加は減少させることを認めた。

以上の結果より、本法は、 $\beta$ -TCP および金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の低温・短時間で組成制御にすぐれた液相合成プロセスとしてだけでなく、その合成粉末は、粒子間にマイクロ孔



(約 5 $\mu$ m)をもつ三次元構造を形成したことから ,骨形成を促進する  $\beta$ -TCP 多孔体を作製する時の前駆体としても有望である .

## 文 献

- 250) X. Yang, Z. Wang, *J. Mater. Chem.*, **8**, 2233 (1998).
- 251) O. Gauthier, J. M. Bouler, P. Weiss, J. Bosco, G. Daculsi, E. Aguado, *J. Biomed. Mater. Res.*, **47**, 28 (1999).
- 252) O. Gauthier, J. M. Bouler, P. Weiss, J. Bosco, G. Daculsi, E. Aguado, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, **12**, 385 (2001).
- 253) P. Kasten, I. Beyen, P. Niemeyer, R. Luginbuhl, M. Bohner, W. Richter, *Acta Biomaterialia*, **4**, 1904 (2008).
- 254) T. Okuda, K. Ioku, I. Yonezawa, H. Minagi, G. Kawachi, Y. Gonda, H. Murayama, Y. Shibata, S. Minami, S. Kamihira, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Biomaterials*, **28**, 2612 (2007).
- 255) K. Ioku, M. Kamitakahara, N. Watanabe, O. Kawaguchi, S. Murakami, T. Ikeda, *Key Eng. Mater.*, **396-398**, 645 (2008).
- 256) T. Okuda, K. Ioku, I. Yonezawa, H. Minagi, Y. Gonda, G. Kawachi, M. Kamitakahara, Y. Shibata, H. Murayama, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Biomaterials*, **29**, 2719 (2008).
- 257) Y. Gonda, K. Ioku, Y. Shibata, T. Okuda, G. Kawachi, M. Kamitakahara, H. Murayama, K. Hideshima, S. Kamihira, I. Yonezawa, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Biomaterials*, **30**, 4390 (2009).
- 258) Y. Pan, J. L. Huang, C. Y. Shao, *J. Mater. Sci.*, **38**, 1049 (2003).
- 259) K. S. TenHuisen, P. B. Brown, *J. Am. Ceram. Soc.*, **82**, 2813 (1999).
- 260) D. Choi, P. N. Kumta, *Mater. Sci. Eng. C*, **27**, 377 (2007).
- 261) S. C. Liou, S. Y. Chen, *Biomaterials*, **23**, 4541 (2002).
- 262) A. Osaka, R. Miuta, K. Taeuchi, *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, **2**, 51 (1991).
- 263) I. R. Gibson, I. Rehman, S. M. Best, W. Bonfield, *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, **11**, 533 (2000).
- 264) A. Slosarczyk, E. Stobierska, Z. Paszkiewicz, M. Gawlicki, *J. Am. Ceram. Soc.*, **79**, 2539 (1996).
- 265) M. Akao, H. Aoki, K. Kato, A. Sato, *J. Mater. Sci.*, **17**, 343 (1982).
- 266) J. C. Heughebaert, A. J. Zawacki, G. H. Nancollas, *J. Cryst. Growth*, **63**, 83 (1983).
- 267) J. S. Bow, S. C. Liou, S. Y. Chen, *Biomaterials*, **25**, 3155 (2004).
- 268) M. V. Regi, J. Pena, I. I. Barba, *Solid State Ionics*, **172**, 445 (2004).
- 269) K. Ioku, H. Minagi, I. Yonezawa, T. Okuda, H. Kurosawa, T. Ikeda, *Arch.*

- Bioceramics Res.*, **4**, 121 (2004).
- 270) R. Z. LeGeros, "Calcium phosphate in Oral Biology and Medicine", Karger, Basel (1991).
- 271) 日本セラミックス協会, "環境調和型新材料シリーズ生体材料", 日刊工業新聞社, (2009) p.24.
- 272) P. N. Kumta, C. Sfeir, D. H. Lee, D. Olton, D. Choi, *Acta Biomaterialia*, **1**, 65 (2005).
- 273) M. Tonkovic, M. Sikiric, V. B. Ivancic, *Colloid Surf. A*, **170**, 107 (2000).
- 274) Y. Zhang, G. Yin, S. Zhu, D. Zhou, Y. Wang, Y. Li, L. Luo, *Cur. Appl. Phy.*, **5**, 531 (2005).
- 275) S. Sasikumar, R. Vijayaraghavan, *Ceram. Inter.*, **34**, 1373 (2008).
- 276) Y. Masuda, K. Matubara, S. Sakka, *J. Ceram. Soc. Japan*, **98**, 1255 (1990).
- 277) M. Kakihana, *Chem. Soc. Jpn.*, **43**, 146 (1995).
- 278) M. Kakihana, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **72**, 1427 (1999).
- 279) Y. Suzuki, M. Kakihana, *J. Ceram. Soc. Japan*, **115**, 612 (2007).
- 280) H. Takahashi, M. Yashima, M. Kakihana, M. Yoshimura, *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.*, **32**, 829 (1995).
- 281) H. Monma, M. Goto, *J. Ceram. Soc. Japan (Yogyo-Kyokai-Shi)*, **91**, 473 (1983).
- 282) T. Kanazawa, T. Umegaki, N. Uchiyama, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **32**, 399 (1982).
- 283) M. Yashima, A. Sakai, *Chem. Phys. Lett.*, **372**, 779 (2003).
- 284) M. Yashima, Y. Kawaike, *J. Am. Ceram. Soc.*, **90**, 272 (2007).
- 285) A. Ito, R. Z. LeGeros, "Magnesium- and Zinc-substituted beta-tricalcium phosphate as potential bone substitute biomaterials. Progress in bioceramics", Trans Tech Publication, Stafa-Zurich, Switzerland (1991).
- 286) K. Yoshida, H. Hyuga, N. Kondo, H. Kita, M. Sasaki, M. Mitamura, K. Hashimoto, Y. Toda, *J. Am. Ceram. Soc.*, **89**, 688 (2006).
- 287) 垣花真人, セラミックス大学 2008 テキスト A, 日本セラミックス協会編 (2008) p.39 .

## 第 8 章 総括

近年の少子高齢化にともなう骨折や骨粗鬆症を発症する患者数の増加により，その骨欠損部の補填や修復に使用される骨修復材料(人工骨)の研究開発が盛んに行われている．そのなかでも  $\beta$  型リン酸三カルシウム( $\beta$ -TCP)は，骨置換性や新生骨誘導能をもつ生体吸収性セラミックスとして現在臨床応用されている．一方，臨床応用の現場で骨修復材料(人工骨)に対して求められる条件には，生体内で荷重のかかる部位に使用することから，患者自身の骨と同等もしくはそれ以上の機械的強度をもち，同時に生体内吸収速度が新生骨生成速度と適合することがあげられる．しかし， $\beta$ -TCP のみで自家骨と同等の機械的強度をもつ焼結体を作製することは困難であり， $\beta$ -TCP の生体内吸収速度も新生骨生成速度にくらべて速いことから，生体内埋入時に炎症反応や強度低下にともなう再骨折などを引き起こす危険性があった．

本論文では，上記の問題を解決するために，金属イオンが  $\beta$ -TCP 構造中に固溶することに注目し，とくに一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性，機械的性質および溶解性などの材料化学的性質を調査し， $\beta$ -TCP 構造中への一価金属イオン固溶がそれら材料化学的性質に及ぼす影響を考察した．さらに，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の使用範囲の拡大，および粒子形態や粒子径などの制御をめざして，骨補填材以外の応用や新たな合成方法についても検討した．

第 1 章「緒言」では， $\beta$ -TCP をはじめとする生体材料について概説および従来の研究を概観し，本研究の背景や目的を示した．

第 2 章「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの熱安定性」では，一価金属イオン( $\text{Li}^+$ ， $\text{Na}^+$ ， $\text{K}^+$ イオン)の固溶した  $\beta$ -TCP( $\text{Li}$ -TCP， $\text{Na}$ -TCP および  $\text{K}$ -TCP)を作製し，一価金属イオンの固溶が  $\beta$ -TCP の熱安定性に及ぼす影響を検討した．

一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の  $\beta$ - $\alpha$  相転移は，焼成温度および金属イオンの種類や添加量に関わらず不均一核成長反応であった．また，無添加  $\beta$ -TCP の場合にくらべて一価金属イオン固溶で  $\beta$ -TCP の熱安定性は向上したが，一価金属イオンの種類の違いは，それに対して影響がなかった．この一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の熱安定性の向上については，一価金属イオンが  $\beta$ -TCP 構造中の  $\text{Ca}(4)$  サイトと空孔とに固溶したことで，空孔を含む  $\text{Ca}$  サイトがすべて一価金属イオンと  $\text{Ca}^{2+}$  イオンとで占有され，結晶構造が安定化したことに起因すると考えた．

一方，二価金属イオン( $\text{Mg}^{2+}$ イオン)固溶  $\beta$ -TCP についても， $\beta$ -TCP 構造中の  $\text{Ca}(5)$  サイトへの二価金属イオン固溶が結晶構造(結合距離)を最適化させることから，その熱安定性は向上し，一価金属イオン固溶にともなう結晶構造安定化の機構とは異なることを認めた．

さらに、その  $\beta$ -TCP 構造最適化による構造安定性は、一価金属イオン固溶にともなうそれにくらべて高かった。

このように金属イオンが固溶する  $\beta$ -TCP 構造中の Ca サイトの違い、すなわち金属イオンの価数が熱安定性、すなわち結晶構造安定性に影響を及ぼすことを明らかにした。

第3章「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質」では、Li-TCP、Na-TCP、K-TCP 焼結体を作製し、 $\beta$ -TCP への一価金属イオン固溶が機械的性質に及ぼす影響について検討した。

一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP 焼結体の場合、一価金属イオンの固溶で焼結体の焼結性が向上したことから、機械的性質も無添加  $\beta$ -TCP にくらべて向上した。また、Li-TCP 焼結体の場合、Na-TCP や K-TCP 焼結体の場合にくらべて焼結性は向上し、少量の  $\text{Li}^+$  イオン添加で機械的性質は向上した。この機械的性質の違いは、一価金属イオン固溶が  $\beta$ -TCP の焼結過程、とくに拡散係数に影響を及ぼし、焼結性が向上したことに起因すると考えた。

第4章「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの溶解機構」では、Li-TCP、Na-TCP、K-TCP の溶解性を、 $37^\circ\text{C}$  の生理食塩水中で評価し、一価金属イオン固溶がその溶解性や溶解機構に及ぼす影響を検討した。

金属イオンの種類や固溶量に関わらず  $(\text{Ca}+2\text{M})/\text{P}$  モル比 ( $\text{M}=\text{Li}, \text{Na}, \text{K}$ ) が 1.50 一定で、すべての試料は溶解したが、一価金属イオン固溶でその溶解性は無添加  $\beta$ -TCP のそれにくらべて抑制した。この溶解性の抑制については、一価金属イオンの固溶で  $\beta$ -TCP 構造が安定化したことに起因すると考えた。なお、Na-TCP、K-TCP の場合、金属イオン固溶量の増加で溶解性は抑制したが、Li-TCP の場合には、金属イオン固溶量の影響がなかった。

また、Li-TCP の構造安定性(熱安定性)については、Na-TCP や K-TCP のそれと違いはなかったが、一価金属イオンが固溶する Ca(4) サイトにおける  $\text{Li}^+$  イオンと、それを囲む三つの酸素イオンの原子配置が、 $\beta$ -TCP、Na-TCP、K-TCP の  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  の各イオンと酸素イオンとの原子配置にくらべて不安定であるため、 $\text{Li}^+$  イオンが  $\text{Ca}^{2+}$  イオンよりも優先的に溶解したことを明らかにした。

一方、二価金属イオンの  $\text{Mg}^{2+}$  イオンまたは  $\text{Zn}^{2+}$  イオン固溶  $\beta$ -TCP の溶解性については、二価金属イオン固溶で結晶構造が最適化したことから、無添加  $\beta$ -TCP や一価金属イオン固溶  $\beta$ -TCP などの場合にくらべて構造安定性も高く、これより溶解性もこれらにくらべて抑制した。

第5章「バナジン酸イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質」では、五価バナジウムであるバナジン酸イオン ( $\text{VO}_4^{3-}$  イオン) を、その添加量や配合比

[Ca/(PO<sub>4</sub>+VO<sub>4</sub>)モル比]を変化させて β-TCP に添加した焼結体の機械的性質をはじめとする物性を評価し、VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオンの β-TCP 構造中における固溶形態、および仮焼粉末の配合比や VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン添加が機械的性質に及ぼす影響などを考察した。

VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン添加量に対して Ca<sup>2+</sup>イオン添加量を低下させた組成(配合 A)で作製した焼結体の結晶相については、仮焼温度に関わらず VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン添加量 2.5mol%まで β-TCP 構造、それ以上の添加量では β-TCP と V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> との混合相であった。FT-IR 測定からは、添加したバナジウム源は、β-TCP 構造中に VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオンとして固溶したことを認めた。

一方、焼結体の格子定数は、VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン添加量 2.5mol%まで *a* 軸および *c* 軸ともに直線的に増加し、それ以上の添加量で一定であった。これらの結果より、配合 A の場合、VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオンは P(1)、P(2)、P(3)サイトに均一固溶し、さらにその色相は緑色に変化したことから、過剰の VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオンのバナジウムの価数が三価に変化し、V<sup>3+</sup>イオンとして Ca(5)サイトに(Ca+V)/(PO<sub>4</sub>+VO<sub>4</sub>)=1.50 の組成で VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオンと同時固溶したことを明らかにした。

配合 A の焼結体の曲げ強度については、VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン固溶で焼結性が向上し、さらに V<sup>3+</sup>イオン固溶で粒成長を抑制したため、固溶量の増加にともない曲げ強度は増加し、2.5mol%で最大値を示した。また、2.5mol%を超えると異常粒成長、副生成物相の生成、およびクラックなどの影響で曲げ強度は低下した。また、配合 A の焼結体は、他の金属イオン固溶 β-TCP 焼結体の場合に比べて高強度および高密度の焼結体であり、これらの焼結体にくらべ少量の金属イオン添加量で緻密化することを認めた。

配合 A の仮焼粉末を用いた焼結体の曲げ強度は、配合 B[内配合; Ca/(PO<sub>4</sub>+VO<sub>4</sub>) =1.50]の場合にくらべて高かった。これは、配合 B の場合は、VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン固溶で焼結性が向上したのに対して、配合 A の場合では、さらに V<sup>3+</sup>イオン固溶したことから、配合 B の場合にくらべて粒成長を抑制したことに起因すると考えた。

以上の結果より、配合 A の組成で 2.5mol%VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン添加し、800~900°C 仮焼した粉末を用いた場合、一般的な常圧焼結法でヒトのち密骨の曲げ強度と同等の曲げ強度をもつ焼結体が作製可能であり、この焼結体は VO<sub>4</sub><sup>3-</sup>イオン添加で骨形成細胞の分化をも促進する、すぐれた生物化学的および機械的性質をもつ硬組織用代替材料として有望であると明らかにした。

第 6 章「一価および二価金属イオン同時固溶 β 型リン酸三カルシウム抗菌剤の創製」では、β-TCP の骨補填材以外での新たな使用方法の検討ならびに生体内外で使用可能な抗菌材料の開発を目的として、それぞれ抗菌性金属イオンである一価金属イオンの Ag<sup>+</sup>イオンおよび二価金属イオンの Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオンを同時固溶した β-TCP(AgCu-TCP と AgZn-TCP)を作製し、それら金属イオンの固溶形態の検討、およびそれらの色相、抗菌性や細胞毒性を評価し、新たな抗菌剤としての有用性を検討した。

Ag<sup>+</sup>イオンを最大固溶量 9.09mol%一定の条件として、Cu<sup>2+</sup>または Zn<sup>2+</sup>イオン添加した

試料は、 $\text{Cu}^{2+}$ または  $\text{Zn}^{2+}$ イオン添加量 9.09mol%まで  $\beta$ -TCP 構造で、それ以上の添加で  $\beta$ -TCP にくわえ  $\text{Ca}_3\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_4$ 、または未知物質をそれぞれ生成した。また、それらの格子定数変化より、一価金属イオンの  $\text{Ag}^+$ イオンは  $\beta$ -TCP 構造中の Ca(4)サイトと空孔とに最大 9.09mol%固溶し、二価金属イオンの  $\text{Cu}^{2+}$ または  $\text{Zn}^{2+}$ イオンは Ca(5)サイトに最大 9.09mol%固溶した。

$\text{Ag}^+$ イオン単独固溶  $\beta$ -TCP(Ag-TCP)の抗菌性にくらべて AgCu-TCP および AgZn-TCP のそれが高かった。なお、 $\text{Cu}^{2+}$ および  $\text{Zn}^{2+}$ イオン添加量の増加でそれら金属イオンの溶出や光触媒反応によるヒドロキシラジカル生成量が増加したことから、抗菌性は向上した。また、金属イオン溶出試験および ESR 測定の結果からは、AgCu-TCP と AgZn-TCP の抗菌性が、溶出した抗菌性金属イオンと微生物の相互作用、試料表面で光触媒反応により発生したフリーラジカルと微生物の相互作用および溶出した金属イオンに起因するフリーラジカルによる毒性の発現に起因したことを認めた。

細胞毒性試験では、9.09mol% $\text{Ag}^+$ イオンおよび 9.09mol% $\text{Zn}^{2+}$ イオン同時固溶  $\beta$ -TCP に低い細胞毒性を認めた。この結果からは、AgCu-TCP についても、低い細胞毒性があると考えられ、これらより AgCu-TCP や AgZn-TCP 作製時には、各種金属イオン添加量によって抗菌性や溶出濃度(細胞毒性)が異なることから、抗菌性と細胞毒性とのバランスを考える必要があることを明らかにした。以上の結果より、AgCu-TCP と AgZn-TCP は、生体内外で使用可能なすぐれた抗菌剤として有望であることを認めた。

第7章「錯体重合法による金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの合成」では、リン源にホスホノブタントリカルボン酸 [(2-phosphonobutane-1,2,4-tricarboxylic acid); PBTA]を、カルシウム源には  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  を用いた錯体重合法で  $\beta$ -TCP を作製し、合成時の前駆体の形成機構や加熱挙動、および粒子形態や粒子径などを評価した。さらに、上記出発原料に硝酸ナトリウム ( $\text{NaNO}_3$ ) または硝酸マグネシウム・六水和物 [ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ]を用いて金属イオン添加前駆体の調製や金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の合成も行い、金属イオン添加がそれらの性状に及ぼす影響を検討した。

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -PBTA- $\text{H}_2\text{O}$  反応系では、 $\text{Ca}^{2+}$ イオンと PBTA 中に存在する-COOH 基、-OH 基および-PO(OH)<sub>2</sub> 基のキレート反応や脱水縮合反応で  $\beta$ -TCP 前駆体は形成した。また、金属イオンの添加は上記の前駆体形成反応に影響を与えた。すなわち、 $\text{Mg}^{2+}$ イオン添加は前駆体形成反応を促進し、 $\text{Na}^+$ イオン添加は抑制することを明らかにした。

金属イオン無添加  $\beta$ -TCP 前駆体を加熱した場合、まず準安定相  $\alpha$ -TCP が生成し、その後  $\beta$ -TCP が形成した。なお、金属イオン種類に関わらず添加量の増加で  $\beta$ -TCP 構造が安定化したことから、 $\beta$ -TCP 相の生成温度は低下した。また、 $\text{Na}^+$ イオン添加の場合、準安定相の  $\alpha$ -TCP 相から  $\beta$ -TCP 相が生成したが、 $\text{Mg}^{2+}$ イオン添加の場合は、前駆体から直接  $\beta$ -TCP 相を生成し、これは、Mg-TCP の結晶構造安定性が Na-TCP のそれより高く、さら

に  $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加で前駆体形成反応も促進するためと考えた．

金属イオン添加前駆体の加熱試料の格子定数は，固相法で合成した金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の格子定数と一致し，その組成についても化学量論組成と一致した．また，合成粒子の形態は，加熱温度の上昇でマイクロ孔をもつ板状粒子や三次元的に連なった鎖状粒子が生成し，粒子形態制御が可能であることを明らかにした．さらに， $\text{Na}^+$  イオン添加でその粒子径は増加したが， $\text{Mg}^{2+}$  イオン添加では減少した．

以上の結果より，本法は，液相法による  $\beta$ -TCP の合成法のなかでも，組成制御にすぐれた低温・短時間の合成法であり，さらにマイクロ孔(約  $5\mu\text{m}$ )をもつ三次元構造を形成し，骨形成を促進する  $\beta$ -TCP 多孔体を作製時の前駆体としても有望であることを明らかにした．

第 8 章「総括」では，第 1 章から第 7 章までを総括し，本研究のまとめおよび将来の展望について示した．

以上，本論文より，金属イオンの  $\beta$ -TCP 構造中への固溶が，さまざまな材料化学的性質に影響を及ぼし，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP はすぐれた骨補填材であることを明らかにした．また，金属イオン固溶  $\beta$ -TCP の適用範囲の拡大や材料設計のための粒子径制御も可能となり，本論文は将来の材料作製や動物実験などの臨床応用をめざした発展研究における礎となり，再生医療などの高度先進医療の実現に貢献し，患者の人としての生活の質(QOL)の向上につながると期待できる．



## 研 究 業 績

### 1 . 本研究に関する論文 (査読有)

(A) Naoyuki MATSUMOTO, Katsumi YOSHIDA, Kazuaki HASHIMOTO and Yoshitomo TODA, "Synthesis and characterization of hydroxyapatite using polymerized complex method by chelation of calcium ions with organic phosphonic acid," *Journal of the Ceramic Society of Japan*, **117** [3], 249–254 (2009). (第 7 章)

(B) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, "Preparation of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate by Chelate Reaction of Calcium Ion with Phosphonic Acid," *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, **34** [1], 81–84 (2009). (第 7 章)

(C) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, "Thermal stability of  $\beta$ -tricalcium phosphate doped with monovalent metal ions," *Materials Research Bulletin*, **23** [9] 1889–1894 (2009). (第 2 章)

(D) N. Matsumoto, K. Sato, K. Yoshida, K. Hashimoto and Y. Toda, "Preparation and characterization of  $\beta$ -tricalcium phosphate co-doped with monovalent and divalent antibacterial metal ions," *Acta Biomaterialia*, **5** [8], 3157–3164 (2009). (第 6 章)

(E) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, "Preparation of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Powder Substituted with Metal Ions and Having a Three Dimensional Chain Structure by Polymerized Complex Method," *Journal of the American Ceramic Society*, in submission. (第 7 章)

(F) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, "Dissolution Mechanisms of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Doped with Monovalent Metal Ions," *Journal of the Ceramic Society of Japan*, to be submitted. (第 4 章)

(G) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, "Fabrication of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Ceramics Doped with Vanadate Ions," *Phosphorus Research Bulletin*, to be submitted. (第 5 章)

## 2. その他の論文 (査読有)

(1) 松本尚之, 橋本和明, 高谷松文, 戸田善朝, 政誠一, “二酸化チタンを電着した二層構造アルミニウム陽極酸化皮膜の作製と抗菌性評価,” 軽金属, 57[4], 146–151 (2007).

## 3. その他の論文 (査読無)

(1) 宮本吏佳子, 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, “水酸アパタイト/フッ素アパタイトコンポジット上における骨芽細胞様細胞の石灰化, *Orthopaedic Ceramic Implants*, 27, 3-8 (2007).

## 4. 解説

(1) 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, “ $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質に及ぼすバナジン酸の添加効果,” *Phosphorus Letter*, to be submitted.

## 5. 学会発表 (国際会議, 事前審査有)

(1) N. Matsumoto, T. Imai, K. Hashimoto, Y. Toda, S. Udagawa and T. Kanazawa, “Preparation of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate by Chelate Reaction of Calcium ion with Phosphonic Acid,” The IUMRS International Conference in Asia 2008 (IUMRS-ICA 2008), Nagoya, Japan, December 2008, (Oral)

(2) Naoyuki Matsumoto, Yoshihiro Ikeda, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, “Dissolution behavior of beta-tricalcium phosphate doped with monovalent metal ions in acetic acid buffer,” The 8th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (Pac Rim 8), Vancouver, Canada, June 2009, (Poster)

(3) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda, “Preparation and Antibacterial Mechanism of  $\beta$ -Tricalcium Phosphate doped with Antibacterial Metal Ions,” 3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON SCIENCE AND TECHNOLOGY FOR ADVANCED CERAMICS (STAC3), Yokohama, Japan, June 2009, (Poster)

(4) Naoyuki Matsumoto, Kazuaki Hashimoto Yoshitomo Toda and Katsumi Yoshida, “Preparation and Mechanical Properties of  $\beta$ -TCP Ceramics Doped with Vanadate Ions,” Bioceramics 22, Daegu, Korea, October 2009, (Poster)

(5) Naoyuki Matsumoto, Katsumi Yoshida, Kazuaki Hashimoto and Yoshitomo Toda,

“Fabrication of Porous  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Ceramics Using Precursor Prepared by Polymerized Complex Method,” Asian Bioceramics Conference 2009 (ABC2009), Nagoya, Japan, December 2009, (Poster)

## 6. 学会発表 (国内)

- (1) 松本尚之，佐藤克哉，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「抗菌性金属イオンを固溶した  $\beta$  型リン酸三カルシウムの作製と抗菌性評価」第 115 回無機マテリアル学会学術講演会，岩手，2007 年 10 月.
- (2) 松本尚之，佐藤克哉，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「銀イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム抗菌剤の作製と評価」第 11 回生体関連セラミックス討論会，大阪，2007 年 12 月.
- (3) 松本尚之，藤崎祐里，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの溶解性」2008 年度日本セラミックス協会年会，新潟，2008 年 3 月.
- (4) 松本尚之，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「金属イオンを固溶した  $\beta$  型リン酸三カルシウムの擬似体液中における挙動」第 116 回無機マテリアル学会学術講演会，東京，2008 年 6 月.
- (5) 松本尚之，池田賢弘，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「酢酸バッファーを用いた一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの *in vitro* 生体吸収性評価」第 21 回日本セラミックス協会秋季シンポジウム，福岡，2008 年 9 月.
- (6) 松本尚之，佐々木大介，池田賢弘，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，「ヨウ素含有アルミニウム陽極酸化皮膜の特性に及ぼす調製条件の影響」第 11 回ヨウ素学会シンポジウム，千葉，2008 年 11 月.
- (7) 松本尚之，今井健，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「ホスホノ酸-カルシウムキレート反応による  $\beta$  型リン酸三カルシウムの作製」第 117 回無機マテリアル学会学術講演会，沖縄，2008 年 11 月.
- (8) 白石隼人，松本尚之，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「バナジン酸イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの合成と物性評価」第 117 回無機マテリアル学会学術講演会，沖縄，2008 年 11 月.
- (9) 佐藤克哉，松本尚之，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，宇田川重和，金澤孝文，「金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムへのケイ酸イオンの固溶」第 117 回無機マテリアル学会学術講演会，沖縄，2008 年 11 月.
- (10) 松本尚之，吉田克己，橋本和明，戸田善朝，「カルシウム-ホスホノ酸イオンの反応を利用した錯体重合法による金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの合成」第 12 回生体関連セラミックス討論会，神奈川，2008 年 12 月.

- (11) 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 「一価金属イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの擬似体液中における反応挙動」2009 年度日本セラミックス協会年会, 千葉, 2009 年 3 月.
- (12) 白石隼人, 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 「バナジン酸イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の調製と機械的特性」2009 年度日本セラミックス協会年会, 千葉, 2009 年 3 月.
- (13) 松本尚之, 佐藤克哉, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 「銀および二価抗菌性金属イオン同時固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの作製と抗菌性評価」日本セラミックス協会第 25 回関東支部研究発表会, 群馬, 2009 年 7 月.
- (14) 松本尚之, 横川彩奈, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 「バナジン酸イオン固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの作製と材料科学的評価」第 22 回日本セラミックス協会秋季シンポジウム, 松山, 2009 年 9 月.
- (15) 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 「 $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質に及ぼすバナジン酸の添加効果」第 19 回無機リン化学討論会, 東京, 2009 年 10 月.
- (16) 佐々木大介, 若菜泰弘, 松本尚之, 滝口泰之, 橋本和明, 戸田善朝, 「キトサン・ヨウ素を新たなヨウ素源としたヨウ素含有アルミニウム陽極酸化皮膜の作製と評価」, 第 12 回ヨウ素学会シンポジウム, 千葉, 2009 年 10 月.
- (17) 松本尚之, 斎藤大介, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 宇田川重和, 金澤孝文, 「錯体重合法によるリン酸カルシウム前駆体を用いた  $\beta$  型リン酸三カルシウム多孔体の作製」第 119 回無機マテリアル学会学術講演会, 岐阜, 2009 年 11 月.
- (18) 佐藤克哉, 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 宇田川重和, 金澤孝文, 「二価金属イオンおよびケイ酸イオン同時固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの物性評価」第 119 回無機マテリアル学会学術講演会, 岐阜, 2009 年 11 月.
- (19) 池田賢弘, 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 宇田川重和, 金澤孝文, 「 $\beta$  型リン酸三カルシウムに固溶する金属イオンサイトが *in vitro* 生体吸収性に及ぼす影響」第 119 回無機マテリアル学会学術講演会, 岐阜, 2009 年 11 月.
- (20) 佐々木大介, 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 宇田川重和, 金澤孝文, 「金属イオンおよびバナジン酸イオン同時固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの作製と評価」第 119 回無機マテリアル学会学術講演会, 岐阜, 2009 年 11 月.
- (21) 片山礼也佳, 松本尚之, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 宇田川重和, 金澤孝文, 「一価および二価金属イオン同時固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの無細胞系生体吸収性評価」第 119 回無機マテリアル学会学術講演会, 岐阜, 2009 年 11 月.

## 7. その他の学会発表 (学術顕微鏡写真展, 審査有)

(1) 松本尚之, 隅田耕輔, 吉田克己, 橋本和明, 戸田善朝, 「ナノ・マイクロ細孔を有する三次元ネットワーク水酸アパタイト粒子」, 2008 年度日本セラミックス協会年会, 新潟, 2008 年 3 月

## 8. 受賞

(1) 日本セラミックス協会 第 25 回関東支部研究発表会 最優秀講演賞「銀および二価抗菌性金属イオン同時固溶  $\beta$  型リン酸三カルシウムの作製と抗菌性評価」2009 年 7 月.

(2) 日本無機リン化学会 第 19 回無機リン化学討論会 若手優秀研究発表賞「 $\beta$  型リン酸三カルシウム焼結体の機械的性質に及ぼすバナジン酸の添加効果」2009 年 10 月.

(3) 無機マテリアル学会 第 119 回無機マテリアル学会学術講演会 講演奨励賞「錯体重合法によるリン酸カルシウム前駆体を用いた  $\beta$  型リン酸三カルシウム多孔体の作製」2009 年 11 月.

## 謝 辞

本研究は千葉工業大学 工学部 生命環境科学科 生体機能材料化学(戸田・橋本)研究室で行われたものであり，大学および大学院在学期間を通じて丁寧かつ適切なご指導ならびにご助言をしてくださいました戸田善朝教授および橋本和明教授には心より感謝いたします．

本論文の審査を引き受けて頂き，ご指摘と助言をしてくださいました千葉工業大学 生命環境科学科 五十嵐香教授，飯野正昭教授ならびに上智大学 理工学部 物質生命理工学科 板谷清司教授には心よりお礼申し上げます．

大学および大学院での学生生活にあたり，研究内容をはじめ研究に対する考え方や姿勢および研究者精神をご指導やご助言いただき，私の研究者としての見本となりました東京工業大学 原子炉工学研究所 物質工学部門 吉田克己助教に心より深く感謝いたします．

千葉工業大学 工学部 工業化学科 セラミックス材料工学研究室の先輩でもあります中部大学 生命健康科学部 生命医科学科 木付貴司助手には，第4章における研究内容につきまして，ご指導とご助言をいただきました．また，学会などでも大変お世話になりました．ここに深く感謝いたします．

学会などで本論文の研究発表にあたり，とくにお世話になりました明治大学 理工学部 応用化学科 相澤守教授，日本大学 理工学部 物質応用化学科 小嶋芳行准教授，遠山岳史助教，山形大学大学院 理工学研究科 物質化学専攻 川井貴裕助教，エスアイアイ・ナノテクノロジー株式会社 大柿真毅博士に深く感謝いたします．

本論文を構成する研究について，日本セラミックス協会生体関連部会，無機マテリアル学会，無機リン化学会，日本 MRS 学会，日本バイオマテリアル学会の先生方には，学会などで本研究の遂行に役立つ活発な討論をしていただきました．ここに感謝の意を表します．

本論文の研究に関しては，千葉工業大学 工学部 生命環境科学科 生体機能材料化学研究室の学部および修士課程の学生や卒業生に協力して頂きました．深く感謝いたします．

本研究は，自分の力だけでなく，上記のさまざまな人達の力で成り立っており，研究者としてまだ一歩踏み出した段階ではありますが，本研究で培った知識や研究者としての姿勢を生かし，今後も邁進してゆく所存です．

最後になりましたが，戸田善朝教授の博士課程の最後の学生になれたことを大変光栄に思います．戸田教授の名前に恥じないように，今後は研究者としてだけではなく人間的にも努力し，成長するつもりです．

松本 尚之