

人工アパタイト—バイオセラミック—

Synthetic Apatite—Bioceramic—

加藤 功一*・篠 義人**

Koichi Kato Yoshito Ikada

1. はじめに

私たちの体重の約4%はアパタイトと呼ばれる鉱物から構成されている。アパタイトは骨と歯の主成分であり、体重を支えたり食物を噛み砕くためにはなくてはならない物質である。一方、アパタイトは人工的に合成することもできる。そのような人工アパタイトは骨や歯の修復用材料として用いられている。生体材料として用いられる非金属無機材料をバイオセラミックと呼ぶ。その代表例を表1に示す。

本稿では、まず、人工的にアパタイトを合成する従来の方法、およびそのバイオセラミックとしての応用について概説する。次に、骨や歯の生成機構（バイオミネラルゼーション）やそれらの微細構造からヒントを得たバイオメティック法と呼ばれる新しいアパタイトの合成法を紹介する。

2. アパタイトと従来の合成法

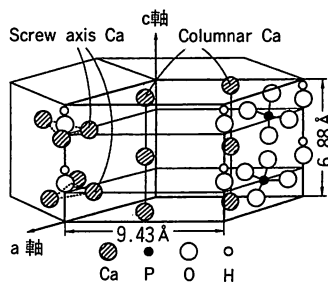
アパタイトは、化学式 $M_{10}(RO_4)_6X_2$ で表わされる一連の鉱物グループであり、M, X, Rに種々の元素が置換する。なかでも、 $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ （ヒドロキシアパタイト）は生体の骨や歯の主成分として重要なセラミックである。ヒドロキシアパタイト（以下、アパタイトと略す）はリン酸カルシウム系セラミックの一つであり、図-1に示すように、六方晶系 $P6_3/m$ の結晶格子をもつイオン結晶である。

アパタイトは、湿式法、乾式法、水熱法、ゾル-ゲル法、水和硬化法などによって合成される。たとえば、湿式法の場合、酢酸カルシウム水溶液とリン酸アンモニウム水溶液をアパタイトに対して過飽和な濃度となるように混合し、溶液のpHを中性～アルカリ性にす

る。混合液の温度を37～80℃に保ちながら攪拌を続けると熱力学的に最も安定な結晶相であるアパタイトが沈殿物として生成する。生成量の時間変化はS字型の曲線を描く。結晶化が観測されるまでの時間（誘導時間）は結晶核生成速度に依存し、S字カーブの立ち上がりは結晶成長に対応する。

以上のようにして合成された粉末状アパタイトは、賦形、高温での焼成（800～900℃）、焼結（1200～1350℃）の操作を経て緻密体、多孔体、粉体などのさまざまな形状をもつ材料へと変換される。

従来のアパタイト合成法は、成書²⁻⁴⁾および総説⁵⁻⁷⁾に詳しく述べられている。

図-1 ヒドロキシアパタイトの結晶模型²⁾

3. 生体への応用

アパタイトが骨や歯の主成分であり、生体の骨と強く結合する性質をもつため、焼結アパタイトはバイオセラミックとして種々の用途に用いられている。その大部分は、骨欠損部の補充である。それ以外に、骨組織と接触する金属材料表面のコーティングや人工歯根用材料としても用いられている。

ところが、一般にセラミックがそうであるように、アパタイト焼結体は堅くて脆く、天然の骨とは力学的性質が大きく異なる。そこで、アパタイトのマトリックス内に針状結晶を析出させたり、高い強度をもつ金属表面にプラズマ溶射法や化学気相蒸着法などを利用

* 神戸大学工学部応用化学科助手

〒657 神戸市灘区六甲台町1-1

** 京大生体医療工学研究センター教授

〒606 京都市左京区聖護院川原町53

表1 生体用セラミックスの分類¹⁾

生体との反応性	種類	材料の成分
生体不活性 (bioinert)	酸化物	アルミナ (Al_2O_3) ジルコニア (ZrO_2) カルシウムアルミネート ($\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$ 系) アルミノシリケート ($\text{Na}_2\text{O-Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$ 系)
	非酸化物	カーボン (非晶, 熱分解, グラファイト, ダイヤモンド) 窒化ケイ素 (Si_3N_4) 炭化ケイ素 (SiC)
生体活性 (bioactive)	生体ガラス	Bioglass [®] ($\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ 系) CPSA ガラス繊維複合体 ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ 系)
	結晶化ガラス	Ceravital [®] ($\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-K}_2\text{O-MgO}$ 系) 雲母系結晶化ガラス ($\text{SiO}_2\text{-B}_2\text{O}_3\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-MgO-K}_2\text{O-F}$ 系) A-W結晶化ガラス ($\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ 系) $\beta\text{-CaO}_3(\text{PO}_4)_2$ 結晶化ガラス ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ 系)
	リン酸カルシウム	ヒドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)
生体分解性 (biodegradable)	リン酸カルシウム	リン酸三カルシウム (TCP) ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) リン酸四カルシウム (4CP) ($\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$)
	炭酸カルシウム	サンゴ (CaCO_3)
	カルシウムアルミネート	可溶性カルシウムアルミネート ($\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$ 系)

してアパタイト薄膜を形成させるなどの工夫が行われてきた。ポリエチレン、ポリ乳酸、コラーゲンなどの高分子化合物をアパタイトと複合化し、適度な弾性率をもつ複合材料を設計する例も報告されている。

しかしながら、現在の技術だけでは、天然の骨に匹敵する強度と靱性を兼ね備えた人工アパタイトはまだ作り出されていない。

4. バイオミネラリゼーションを模倣したアパタイトの合成

天然の骨は、アパタイトがコラーゲンと呼ばれる繊維状タンパク質と複合化したコンポジット構造体である。その微細な複合構造が骨組織の高い比強度と靱性の源になっている。そこで、骨の微細構造とその生成機構について触れてみたい。

4.1 骨の生成機構と微細構造

図-2に示すように²⁾、生体の骨には分子レベルのミクロな構造から巨視的な構造へと幾つもの階層的秩序構造がみられる。これらのいずれの階層も骨特有の力学的性質の発現にとって重要である。なかでも、極めて巧妙なアパタイト結晶化の空間的制御は材料設計の立場からも興味深い。

これまでの研究の結果、アパタイトの結晶核はコラー

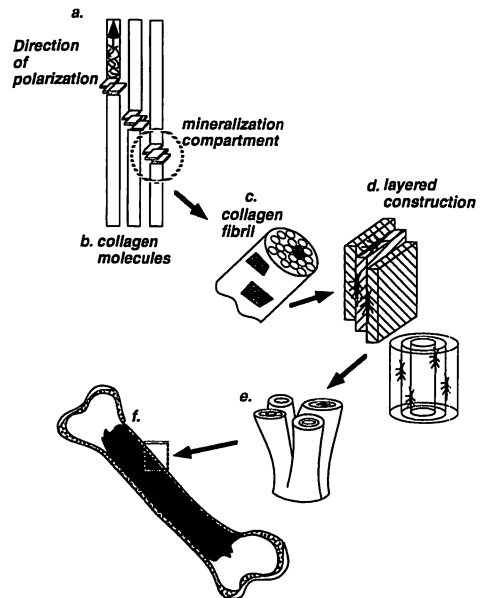


図-2 骨の階層構造²⁾。緻密骨にはa) コラーゲン分子が集合した3本鎖ヘリックス構造, b) そのヘリックスが規則正しく配列した繊維構造, c) コラーゲン繊維とアパタイト結晶のナノ複合体, d) 配向した複合化繊維が互いに向きを変えながら積層したラメラ構造, e) ラメラが同心円状に配列したオステオンと呼ばれる管構造, f) オステオンが骨の軸方向に幾重にも集合した巨視的な構造が整然と形成されている。

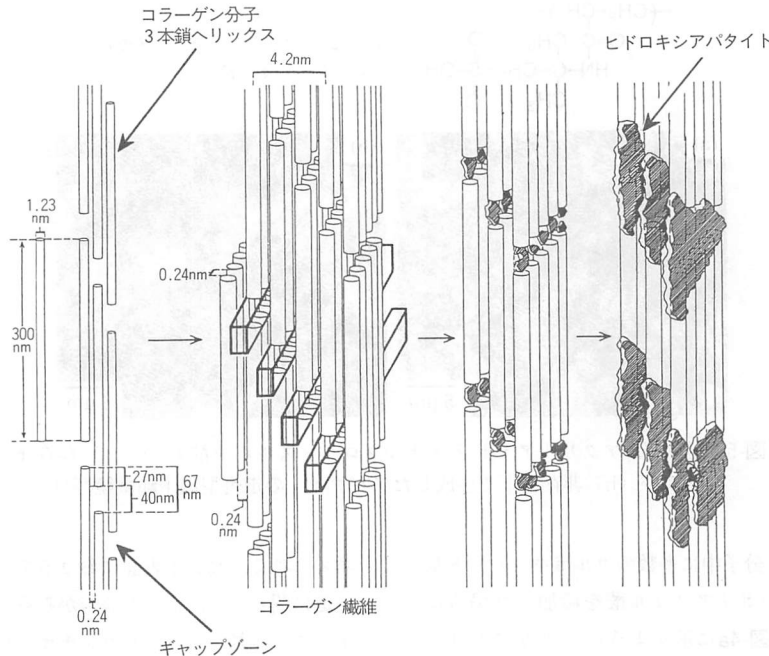


図-3 コラーゲン繊維へのアパタイトの沈着機構 (Landisら⁹⁾ に加筆)

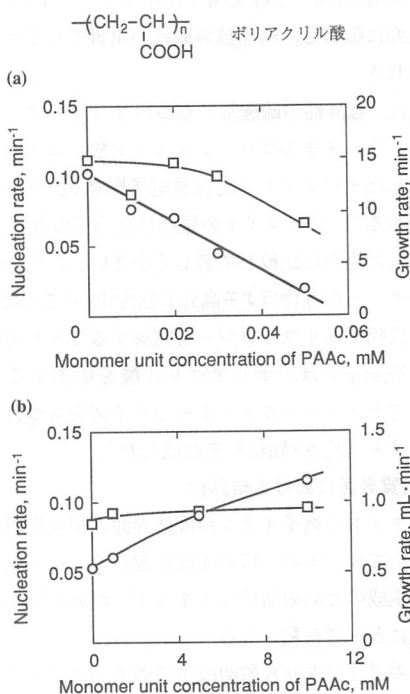
ゲン繊維のギャップゾーンを取り巻くペプチド鎖と分子レベルで相互作用しながら生成し、その核が周囲の Ca^{2+} , PO_4^{3-} , OH^- を取り込みながら成長すると考えられている。生成するアパタイト結晶は微小な板状結晶 ($4 \sim 6 \text{ nm} \times 30 \sim 45 \text{ nm} \times \sim 170 \text{ nm}$) であり、そのc軸はコラーゲン繊維軸方向と一致する。その後、アパタイト結晶は繊維束間隙にまで成長し、最終的にはコラーゲン繊維全体がアパタイトと複合化する。図-3にはLandisらが提唱した石灰化機構を示す⁹⁾。

バイオミネラリゼーションの代表例である骨の石灰化からわれわれが学ばなければならない重要な点は以下のとおりである。1) アパタイトの結晶化が有機質マトリックスの分子的、空間的制御を受けながらその界面で進行する。2) 結晶化は、膨大なエネルギーを必要とせず、生体内という極めて穏和な条件下で進行する。3) 生成物は物理的な混合ではとうてい得られない微細な複合構造をもつ。

以下に、バイオミネラリゼーションの精妙なしくみを手本にした、アパタイト合成のための新しい取り組みを紹介する。

4.2 分子間相互作用による結晶化の制御

水を媒体としてアパタイト結晶核が生成する場合、系内に結晶構成イオンと相互作用する物質を共存させることによって、その結晶化を制御することができる。



(a) $[\text{Ca}^{2+}] = 4 \text{ mM}$, $[\text{PO}_4^{3-}] = 2.4 \text{ mM}$
 (b) $[\text{Ca}^{2+}] = 10 \text{ mM}$, $[\text{PO}_4^{3-}] = 6 \text{ mM}$

図-4 ポリアクリル酸水溶液中におけるアパタイト結晶核の生成速度 (○) および成長速度 (□)¹⁰⁾

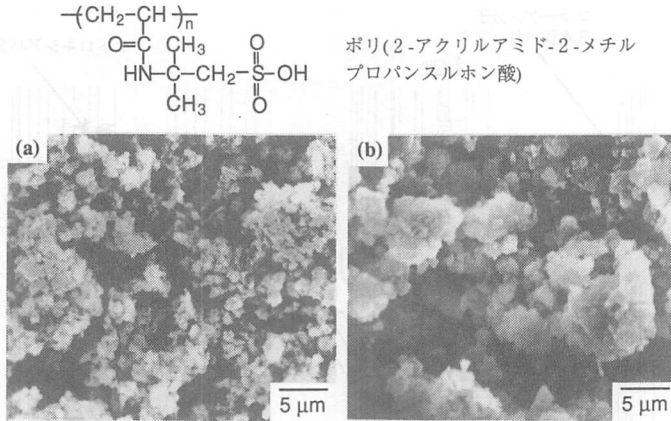


図-5 ポリ(2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸)の(a)存在下および(b)非存在下で生成したアパタイトの走査型電子顕微鏡写真¹⁰⁾

一例として、一分子中に多数のカルボキシレート基(−COO[−])をもつポリアクリル酸を添加した場合について述べる¹⁰⁾。図-4aに示すように、ポリアクリル酸の濃度が上昇するにつれてアパタイトの均一核生成速度とその成長速度はともに低下した。これは、ポリアクリル酸がCa²⁺と静電相互作用することによって結晶表面に吸着し、結晶核の成長が阻害されるためと考えられる。

図-5は、強酸性の硫酸基をもつポリ(2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸)の水溶液中で生成したアパタイトの走査型電子顕微鏡(SEM)写真である¹⁰⁾。アパタイトの粒径は高分子の非存在下で生成した場合に比較して著しく小さい。このように、アパタイトと相互作用する高分子を利用することによって、生成物のモルフォロジーを制御することも可能である。Zhangらは、ポリアクリル酸を添加することによってナノメートルオーダーのサイズをもつ針状のアパタイト(長さ25nm)を合成した¹¹⁾。

4.3 物質界面における結晶化

アパタイトの格子イオンが固体界面と相互作用する系においては、不均一核の生成が起こる。その場合、臨界核生成のための活性化エネルギーが低下し、結晶の生成にとって有利となる。

前述のポリアクリル酸溶液中でのアパタイトの結晶化において、添加するポリアクリル酸の濃度およびCa²⁺、PO₄^{3−}の初期濃度を高めた結果、結晶核生成速度が上昇した(図-4b)。比較的高濃度のポリアクリル酸とCa²⁺がイオン結合することによって凝集体を形成し、その界面において不均一核が生成したものと

考えられる。高分子表面におけるアパタイト結晶化の促進に関しては、他にも報告がみられる¹²⁻¹⁴⁾。また、末端に官能基をもつアルカンチオールを吸着させた金表面¹⁵⁾や酸化物粒子表面¹⁶⁾においても同様の不均一核

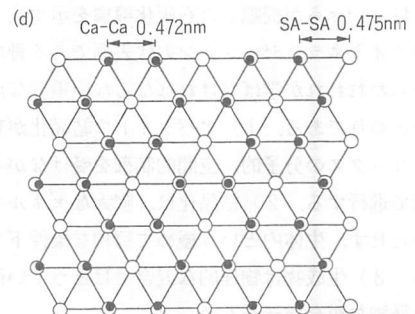
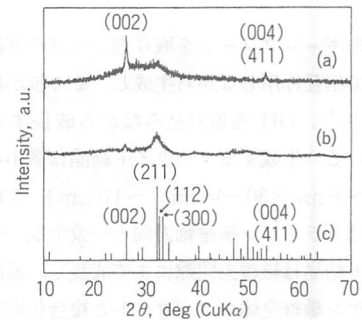


図-6 (a) ステアリン酸単分子膜(表面圧: 20mN/m)の表面上にエピタキシャル成長したアパタイトおよび(b)単分子膜の非存在下で生成したアパタイトのX線回折パターン。(c)アパタイトの標準的な回折パターン(JCPDS Card No.9-438)。(d)ステアリン酸単分子膜上のカルボキシレート基(○)とアパタイト(001)面内のCa²⁺(●)の2次元配置¹⁷⁾

が生成する。体内において石灰化を誘発する高分子は生体材料としての応用が期待される。

不均一核生成に加えて、アパタイト表面の格子イオンと有機物表面の官能基との間にステレオ化学的な整合性のある場合、核生成速度が上昇するだけでなく、結晶化の方向性が規制され、エピタキシャル成長が起こる。図-6aに、炭酸カルシウムとリン酸アンモニウムの準安定過飽和溶液からステアリン酸の単分子膜（表面圧：20mN/m）表面に成長したアパタイト層のX線回折パターンを示す¹⁷⁾。膜上に成長したアパタイト結晶の(00 l)面から強い回折ピークが得られ、アパタイトが膜表面に配向して成長した様子がうかがえる。図-6bに示すように、ステアリン酸単分子膜の表面にはCa²⁺と相互作用するカルボキシレート基が規則正しく配列し、しかも、ある表面圧においてその官能基の配置がアパタイト結晶の(00 l)面のCa²⁺の配置と一致する。ジヘキサデシルリン酸の単分子膜表面上でもアパタイトのエピタキシャル成長の起こることが報告されている¹⁸⁾。

不均一核の成長は核近傍の過飽和度の増大によっても促進される。カルシウムおよびリン酸をある一定の組成で含むガラスおよび結晶化ガラスが体液に接触すると、それらの表面においてアパタイトが急速に成長する¹⁹⁾。ガラス表面を構成するシリケートイオンが不均一核生成の場を提供するとともに、材料内部から遊離してくるCa²⁺およびPO₄³⁻によって表面近傍の過飽和度が高まり、結晶成長が促進されると思われる。これに加えて、同時に溶出する金属イオンが周囲のpHを高めることも過飽和度上昇の一因であろう。材料表面においてアパタイトが急速に結晶化するという性質は、骨組織と接触して埋込まれる生体材料が周囲のアパタイトと融合し、組織内で迅速に固定されるために重要である。

4.4 高分子ネットワーク中での結晶化

親水性の高分子ゲルを長期間にわたって生体内に埋込んだ場合、体液に含まれるカルシウムがその内部に沈着しやすいことが知られている。この現象を利用することによって、高分子ネットワーク中でアパタイトのin situ合成を行うことができる。

ポリエチレンオキシド (PEO) およびポリブチレンテレフタレート (PBT) から合成されたポリエステルエラストマー²⁰⁾を体内に埋込むと親水性のPEOネットワークのチャンネルを通じて材料内部に体液中のイオンが侵入する。PEOのCa²⁺に対する親和性と

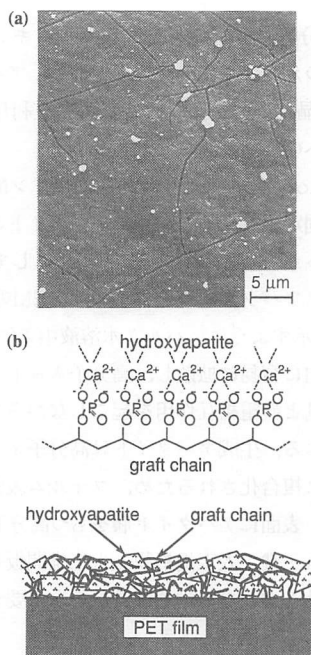


図-7 (a) 高分子フィルム表面に固定化したリン酸基含有水ゲル層の内部に沈着したアパタイトの走査型電子顕微鏡写真。(b) 沈着したアパタイトと高分子表面の複合構造²¹⁾

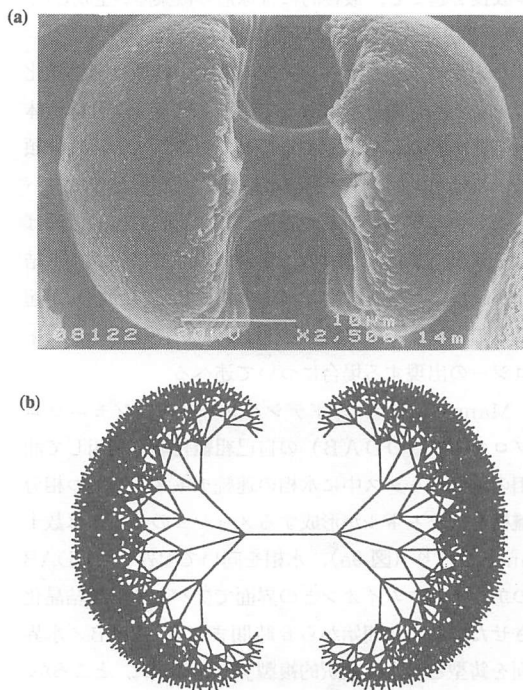


図-8 (a) ゼラチンネットワーク中で生成したフルオロアパタイト凝集体。(b) 自己相似型枝分かれ構造の計算機シミュレーション結果 (第5世代までを計算した)²³⁾

PBTの加水分解によって生成するカルボキシル基が材料内部へのカルシウムの拡散を促進し、アパタイトのin situ結晶化を誘発する。この性質を利用して骨置換用材料への応用が図られた。

Tretinnikovらは、高分子材料表面にリン酸基含有高分子鎖を固定化し、その内部でアパタイトのin situ結晶化を行った²¹⁾。図-7aは、そのようにして作製された高分子/アパタイト複合体表面のSEM写真である。図-7bに示すように、バルク水溶液中の Ca^{2+} は高分子表面層内に容易に拡散し、高分子ネットワークのもつリン酸基と静電相互作用を起こしながらアパタイトへと成長する。生成アパタイトは高分子ネットワークとマイクロに複合化されるため、フィルム表面へ強固に沈着する。表面にアパタイト層をもつ高分子材料は、人工靱体、人工腱、人工歯根膜、人工椎間板などのように骨結合性と柔軟な力学的性質がともに要求される生体材料として有用である²²⁾。

KniepとBuschは²³⁾、ゼラチンの3次元ネットワークの内部でフルオロアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) を結晶化させた。その結果を図-8に示す。フルオロアパタイトの微少な結晶が凝集することによってフラクタル成長を起こし、最終的には球形の凝集体が生成した。

4.5 3次元分子集合体界面における結晶化

バイオミネラルゼーションの最大の特徴は、結晶化に先立ち、有機分子によって構築される3次元構造体が無機結晶の形を規定することである。Mannの分類によれば²⁴⁾、4.3で述べた単分子膜表面上でのアパタイトのエピタキシャル成長は「翻訳的複製」と呼ばれる。以下には、有機分子集合体界面でアパタイト結晶が成長した後、3次元構造の再構築（「変態」）が起こることによって最初の形態とは異なる複雑なモルフォロジーの出現する場合について述べる。

Mannらは^{25, 26)}、ジドデシルジメチルアンモニウムブロマイド (DDAB) の自己組織化能を利用して油相のマトリックス中に水相の連続チャンネルをもつ相分離構造（チャンネルが形成するメッシュのサイズは数十nm）を作り（図-9a）、水相を向いて配列したDDABのアンモニウムイオンとの界面でアパタイトを結晶化させた。結晶化開始から6時間まではDDAB/水界面を鋳型とした「翻訳的複製」が起こった。ところが、これを同じ条件で3週間熟成させた結果、チャンネルを鋳型にして発生した針状アパタイトの径が約100倍に増大し、メソスケールのポアサイズ（数 μm ）をもつメッシュ構造が生成した（図-9b）。熟成過程において

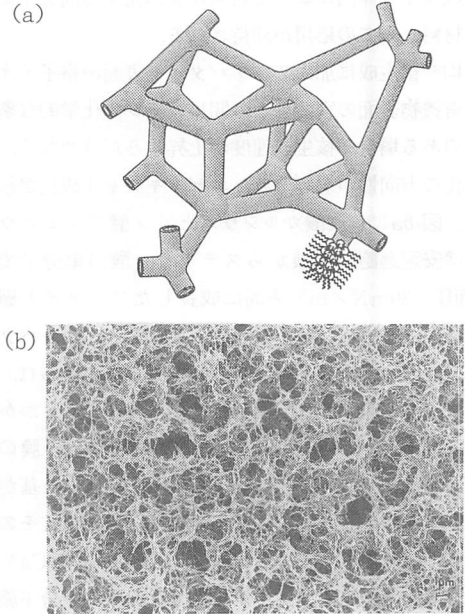


図-9 (a) ジドデシルジメチルアンモニウムブロマイド自己組織化膜の模式図。(b) 自己組織化膜/水界面でアパタイトを成長させ、3日間熟成してできた多孔体の走査型電子顕微鏡写真²⁶⁾

アパタイトが結晶化すると同時に、界面活性剤/アパタイト複合体構造が「変態」を起こしたと考えられる。このようなメソポアをもつ多孔質材料は、細胞培養のための担体や組織再生のための細胞の足場として有効かもしれない。

5. おわりに

バイオミネラルゼーションを模倣したアパタイトの合成法は、クリーンで省エネルギー型の物質生産技術である。有機マトリックスとの弱い相互作用を巧みに利用し、結晶生成の場所、方向、速度、形態が規制される。ここで紹介したアパタイトの新しい合成法に関する研究は、まだ始まったばかりである。アパタイトが、もともと、生体を構成する成分であり、しかも人工的に合成することのできる鉱物であることは、生体材料の設計にとって魅力的である。今後、バイオミネラルゼーションに関する理解がますます深まり、新素材合成のための新たな結晶化制御技術が開発されていくことであろう。

文 献

- 1) 筏 義人; 生体材料学 (1994), 産業図書, p. 71.

- 2) 岡崎正之; 歯と骨をつくるアパタイトの化学 (1992), 東海大学出版会.
- 3) Aoki, H.; Science and Medical Applications of Hydroxyapatite, (1991) Japanese Association of Apatite Science.
- 4) Elliot, J. C.; Structure and Chemistry of the Apatite and Other Calcium Phosphates, (1996) Elsevier.
- 5) Narasaraju, T. S. B., Phebe, D. E.; Some physico-chemical aspects of hydroxyapatite, *J. Mater. Sci.*, Vol. 31, (1996) 1.
- 6) 門間英毅; ファインセラミックスとしての水酸アパタイト—合成とその特性—, *工業材料*, 28巻, 10号 (1980), 97.
- 7) 土井 豊, 森脇 豊; ハイドロキシアパタイト, *歯科ジャーナル*, 36巻, (1992), 355.
- 8) Kuhn, L. T., Fink, D. J., Heuer, A. H.; Biomimetic Materials Chemistry, Mann, S. ed., (1996) VCH Publishers, p. 41.
- 9) Landis, W. J., Song, M. J., Leith, A., McEwen, L., McEwen, B. F.; Mineral and organic matrix interaction in normally calcifying tendon visualized in three dimensions by high-voltage electron microscopic tomography and graphic image reconstruction, *J. Struc. Biol.*, Vol. 110, (1993), 39.
- 10) Kato, K., Eika, Y., Ikada, Y.; In situ hydroxyapatite crystallization for the formation of hydroxyapatite/polymer composites, *J. Mater. Sci.*, 印刷中.
- 11) Zhang, S., Gonsalves, K. E.; Preparation and characterization of thermally stable nanohydroxyapatite, *J. Mater. Sci.: Materials in Medicine*, Vol. 8, (1997), 25.
- 12) Rogers, K. R., Shalaby, S. W.; Polymers of Biological and Biomedical Significance, Shalaby, S. W., Ikada, Y., Langer, R., Williams, J., eds., ACS Symposium Series 540, (1994) American Chemical Society, p. 116.
- 13) Dalas, E., Kallitsis, J. K., Koutsoukos, P. G.; Crystallization of hydroxyapatite on polymers, *Langmuir*, Vol. 7, (1991), 1822.
- 14) Wan, A. C. A., Khor, E., Wong, J. M., Hastings, G. W.; Promotion of calcification on carboxymethylchitin discs, *Biomaterials*, Vol. 17, (1996), 1529.
- 15) Tanahashi, M., Matsuda, T.; Surface functional group dependence on apatite formation on self-assembled monolayers in a simulated body fluid, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 34, (1997), 305.
- 16) Song, L., Campbell, A. A., Li, X. S., Bunker, B. C.; Thin Films and Surfaces for Bioactivity and Biomedical Applications, Cotell, C. M., Meyer, A. E., Gorbatkin, S. M., Grobe III, G. L., eds., Materials Research Society Symposium Proceedings, Vol. 414, (1996) Materials Research Society, p. 35.
- 17) Unuma, H., Ito, K., Ota, T., Takahashi, M.; Precipitation of hydroxyapatite under stearic monolayers, *J. Am. Ceram. Soc.*, Vol. 79, (1996), 2474.
- 18) Lin, H., Seo, W. -S., Kuwabara, K., Koumuto, K.; Crystallization of hydroxyapatite under Langmuir monolayers, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, Vol. 104, (1996), 291.
- 19) Hench, L. L., Wilson, J., eds.; An Introduction to Bioceramics, (1993) World Scientific.
- 20) Li, P., Bakker, D., van Blitterswijk, A. C.; The bone-bonding polymer Polyactive® 80/20 induces hydroxycarbonate apatite formation in vitro, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 34, (1997), 79.
- 21) Tretinnikov, O. N., Kato, K., Ikada, Y.; In vitro hydroxyapatite deposition onto a film surface-grafted with organophosphate polymer, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 28, (1994), 1365.
- 22) Kamei, S., Tomita, N., Tamai, S., Kato, K., Ikada, Y.; Histological and mechanical evaluation for bone bonding of polymer surfaces grafted with a phosphate-containing polymer, *J. Biomed. Mater. Res.*, 印刷中.
- 23) Knip, R., Busch, S.; Biomimetisches Wachstum und Selbstorganisation von Fluorapatit-Aggregaten durch Diffusion in denaturierten Kollagen-Matrices, *Angew. Chem.*, Vol. 108, (1996), 2788.
- 24) Mann, S., Ozin, G. A.; Synthesis of inorganic materials with complex form, *Nature*, Vol. 382, (1996), 313.
- 25) Walsh, D., Hepwood, J. D., Mann, S.; Crystal tectonics: Construction of reticulated calcium phosphate frameworks in bicontinuous reverse microemulsions, *Science*, Vol. 264, (1994), 1576.
- 26) Mann, S.; Biomimetic Materials Chemistry, Mann, S. ed., (1996) VCH Publishers, p. 1.

協賛行事ごあんない

「炭素材料学会第18回基礎講習会」

〔主 催〕 炭素材料学会

〔参加費〕

〔会 期〕 1997年10月30日 (木) 10:00~17:00

学生5,250円, 協賛協会会員26,250円,

〔会 場〕 化学会館 (千代田区神田駿河台)

非会員36,750円 (消費税およびテキスト代含む)

■ 問合先 〒113 東京都文京区本郷4-1-4 コスモス本郷ビル8F 炭素材料学会事務局

TEL 03-3815-8514 FAX 03-3815-8529