金属表面の生体機能化

水溶液プロセスによる水酸アパタイト
コーティング

興 戸 正 純*

1. はじめに

整形外科や歯科において、大腿骨ステム用の人工関節材料、人工歯根材料として金属あるいは合金が広く利用されている。なかでもチタン合金は機械的特性、耐食性に優れ、強度を必要とする部位への適用に優れている。

しかし、金属材料を生体内に埋入したときのアレルギー反応など生体への被毒作用が少なからず懸念されている⁽¹⁾。また、被毒作用の少ない金属を埋入した場合でも、埋入後、長期にわたってその表層に軟組織が形成される⁽²⁾など、金属材料と骨との直接的な結合が生じず、インプラント材の固定に長時間を要したり、緩みの発生による再手術を余儀なくされていることも実状である。

一方、水酸アパタイト(HAp, Hydroxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)は、リン酸カルシウム系化合物のひとつであり、われわれの骨や歯の主成分である。したがって、HApを表面にコーティングした金属材料は、強度と生体活性に優れたインプラント材料として期待される。

ここでは、HApコーティングについて概説し、特に、水溶液を利用した製膜プロセスの原理と、それを利用した「熱基板法」と「カソード電解法」について紹介する。

2. 水酸アパタイト膜の合成法

バイオセラミックスのコーティング法では、プラズマスプレー法が工業的には主流である⁽³⁾⁽⁴⁾。人工骨埋入材料の引拔試験において、4 MPaの結合力に達する期間がTi合金のみでは16ヶ月を要するのに対し、HAp被覆材ではそれが1ヶ月に短縮され、また、HApの膜厚は1 μm 程の薄いものは

ど骨との結合力が大きいといわれている⁽⁵⁾。

HApコーティング法には、マグネトロン・スパッタリング法⁽⁶⁾⁻⁽⁸⁾、ディップ・コーティングののち焼成する手法⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾、電子ビーム法⁽¹¹⁾、イオンビーム法⁽¹²⁾、さらにTiの気相中酸化による生体活性表面の創出⁽¹³⁾など様々なプロセスが提案されている。

一方、水溶液を利用して簡単に水酸化アパタイトを合成できることは、従来からよく知られている。金属上へ密着性の高いセラミックのコーティングが困難であるように、金属基材上にコーティングしたHApの密着性は必ずしも良くない。そこで、金属基材とHApの密着性が要求される場合には、Ti表面に TiO_2 を形成させ、その上にHApをコーティングすることによる密着性の改善が図られている⁽¹⁴⁾。さらに、機械的研磨、表面エッチング等表面粗さを変化させるといった表面改質⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾や磁場を利用してHAp粉末の結晶配向性を制御するという試みもある⁽¹⁷⁾。

高温を経ないで常温水溶液中の単一過程で直接アパタイトを作製するプロセスとしては、カソード電解法⁽¹⁸⁾⁻⁽²⁰⁾、Tiの陽極酸化と水熱処理を組み合わせた方法⁽²¹⁾⁽²²⁾、電気泳動法⁽²³⁾⁽²⁴⁾、水中熱基板法⁽²⁵⁾⁻⁽²⁸⁾などが挙げられる。

3. 水溶液中からのリン酸カルシウム膜の生成原理

水溶液中での水酸アパタイトの溶解度積 $K_{\text{SP}}/(\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3})^9$ の温度依存性は、

$$K_{\text{SP}} = -8219.41/T - 1.6657 - 0.098215 T \quad (1)$$

で表される⁽²⁹⁾。ここで、Tは絶対温度(K)を表す。289 K以上では、温度の上昇とともに K_{SP} は減少する。したがって、 Ca^{2+} と PO_4^{3-} を含む水溶液の温度を液温を上昇させることで水酸アパタイトが水溶液中に析出する。

* 名古屋大学教授；工学研究科マテリアル理工学専攻(〒464-8603 名古屋市千種区不老町)

Hydroxyapatite Coating by Aqueous Process; Masazumi Okido (Department of Materials Science and Engineering, Graduate School of Engineering, Nagoya University, Nagoya)

Keywords: hydroxyapatite, thermal substrate method, aqueous process, Ti substrate, coating

2005年6月20日受理

一方、水溶液中での水酸アパタイトのイオン積 K_{IP} は、
$$K_{IP} = [Ca^{2+}]^5 [PO_4^{3-}]^3 [OH^-] \quad (2)$$
で表される。ここで、 $[x]$ はイオン種 x のモル濃度 (mol dm^{-3}) を表す。温度一定の下では、 $[Ca^{2+}]$ あるいは $[PO_4^{3-}]$ を増加させるか、溶液の pH を上昇させることで、 K_{IP} が K_{SP} 以上となり水酸アパタイトが析出する。さらに、リン酸はポリプロトン酸であるため、図 1 に示すように pH によりイオン形態が変化し、pH が高いほど HAp を構成している $[PO_4^{3-}]$ が増加する。すなわち、水溶液の pH を上昇させることによって、 $[OH^-]$ の増加という直接効果以外に間接的に $[PO_4^{3-}]$ が増加し HAp が析出しやすくなる。

カルシウムとリン酸は、水酸アパタイト以外にもいくつかの化合物を形成する。図 2 は、オルトリン酸カルシウム化合物の溶解度を示したものである。pH 5 以下では DCPA (CaHPO_4) が最も安定な化合物であるが、中性からアルカリ側では水酸アパタイトが安定となる。

このように、水溶液中の水酸アパタイトの過飽和度を利用して溶液の温度やイオン濃度を制御すれば水溶液から容易に粉末状の析出物を得ることができる。電気伝導性があるチタンなどの金属材料では、水中で金属基板を加熱すれば、基板/水溶液界面近傍の液温が上昇し、その結果として基板に水酸アパタイトが膜状に形成される。これにより、水溶液中

図 1 水溶液中におけるオルトリン酸イオンの状態変化。(298 K, 全 P 濃度: $0.6 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$).

図 2 水溶液中におけるオルトリン酸カルシウム化合物の溶解度 (Ca 濃度換算, 310 K). HAp: hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), TCP: tri-calcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), OCP: octacalcium phosphate ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), DCPA: dicalcium phosphate anhydrous (CaHPO_4), DCPD: dicalcium phosphate dihydrate ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

では水酸アパタイトが析出・沈殿しない状態を保持したまま、基板上にのみ水酸アパタイトコーティングが可能となる。

以上のように、常温水溶液中におけるリン酸化合物の安定性は、温度平衡、酸塩基平衡に基づく。金属表面に膜状の化合物を析出させるためには、局所的なイオンの過飽和度をコントロールすることがカギとなる。これには前述したもの以外に酸化還元平衡が利用できる可能性がある。リン酸は安定なイオンであるが、亜リン酸、次亜リン酸を電極で酸化することでも生成させることができる。pH 3~6 の水溶液中での酸化反応と標準電極電位は以下のように示される。

したがって適当な酸化触媒の下、チタンをアノードとして電解すれば、チタンの陽極酸化とともに上式に示す反応でアノード近傍のリン酸イオン濃度制御ができ、HAp 膜の作製が期待できる。

4. 熱 基 板 法

水中熱基板法とは、水溶液中に浸漬した基板を交流電流で加熱し、基板表面に高温反応場を創り出すことで HAp 膜を作製するプロセスである。 Ca^{2+} ならびに PO_4^{3-} イオン源として、生体内環境に近い CaCl_2 と $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ を用いコーティングを行うと、結晶の形態(図 3)と生成物(図 4)が pH により変化する。pH 5 では Ti 基板上に DCPA (CaHPO_4) の大きな結晶が析出する。pH 6 以上では、水酸アパタイトが膜状に形成され、その結晶は板状、網状、六角針状などの形態を呈する⁽³⁰⁾。本プロセスは、373 K を超える特殊環境を水溶液内に実現でき、10 分間で数 μm といった均一膜厚の皮

図 3 Ti 基板上に析出した皮膜。熱基板温度: 423 K, 時間: 1.2 ks, 溶液: $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + 0.7 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{CaCl}_2$. (a) pH 5, (b) pH 7, (c) (d) pH 8.

膜の高速コーティング可能である。

さて、われわれの骨基質は、図5のようにHApが約60 mass%，コラーゲン(COL)が約23 mass%，残りが水分等である⁽³¹⁾⁽³²⁾。HApの結晶は、COLの繊維で巧みに補強され、三次元複合構造体として構築される。コラーゲンは長さ300 nm、直径1.5 nmのきわめて細長い棒状分子である。また、生体HApの物理学的特性には、炭酸イオンの混入したアパタイト(CO_3Ap)が影響する。骨のリモデリング(日常的に繰り返される骨の溶解・再石灰化現象)においては、炭酸イオンがリン酸イオンを置換してHAp構造中に大量の格子欠陥を作り、溶解性を高める働きをするとされている⁽³²⁾。

これらHAp、 CO_3Ap 、COLのハイブリッド化に水溶液プロセスを利用できる。図6に NaHCO_3 を $20\text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ 添加し、基板温度393 Kの水中熱基板法で作製した皮膜の表面写真を示す。結晶形態は骨本来の六角状HApの形態から粒状、半球状結晶というように大きく変化する。XRD、FT-IR解析から、それぞれ結晶はHApであり、 CO_3^{2-} の吸収ピークが確認できている。このように炭酸根の含有量が増加するとHApの結晶性は悪くなる⁽³³⁾。

牛皮由来のI型コラーゲンを添加した溶液から作製した

図4 (a) pH 5 と (b) pH 8 で形成した皮膜の XRD 解析。

図5 ヒトの骨の成分。

HAp 膜の表面写真を図7に示す。皮膜は針状と板状の混在したHApから成り、COL添加量の増加とともにHAp析出量は減少する。COL添加量の増加とともにHAp結晶が微細化し、また緻密化も進む。このような現象はCOLのようなタンパク質がHAp表面に吸着し、核成長を抑制するためと考えられる。GC-NPD分析より、析出物のCOL質量比(COL量と変性COL量の合計値)を分析したところ、溶液中のCOL量が $288\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ の場合は7 mass%， $567\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ では10 mass%が、HAp皮膜とハイブリッド化して皮膜中に取り込まれていることがわかった。

5. カソード電解法

水溶液中において、Tiをカソード極として電解することにより、基板表面から水素ガスが発生し、基板近傍のpHを上昇させ、基板表面にHApコーティングを行う手法がカソード電解法である。しかしこの手法では、基板上で水素ガスの発生とHApの析出が同時に起こるため、コーティング途中でHApの剥離が生じるなど、不均一な皮膜となりやすい。そこで、水溶液に過酸化水素水を添加しておくことにより水素ガスの発生を抑え、次式に示す反応にしたがってpHを上昇させることができる。

図8に定電流カソード電解法で作製したHAp膜と電位の経時変化を示す。100 s以内ではHApの核がTi表面に島状に生成し、200 s以降では、網状のポーラスHAp皮膜が成長していく。電位変化から、初期100 s間は式(5)の反応の過電圧が大きく、その後、HApの成長が進むと水酸化物イオンがHAp形成に多く消費されるため過電圧が小さくなっていくものと考えられる。カソード電解法の製膜速度は電流値にもよるが、概ね1時間で数 μm のHApコーティングが可能である。これは、水中熱基板法に比べると若干長時間を要するプロセスとなる。

この他、オートクレープ中でのカソード電解法⁽³⁴⁾も、HAp溶解度の温度逆進性を補助的に利用した電解法である。水中熱基板法により作製した結晶と比較すると、結晶の大きさは高温ほど大きくなる傾向にあるものの、形状は比較的良好に六角針状となる。

図6 炭酸アパタイト膜の形態。

図7 コラーゲン複合膜の形態。Ti基板温度：393 K、900 s、溶液： $0.3\text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}\text{ Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + 0.7\text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}\text{ CaCl}_2$ 、pH 8、コラーゲン：(a) 0、(b) 288、(c) $567\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ 。

図8 定電流カソード電解で形成した HAp 膜の形態と電位変化。溶液: $3 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 + 7 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ CaCl}_2 + 6 \text{ mass} \% \text{ H}_2\text{O}_2$, pH 5.5, 328 K. $i = -10 \text{ A} \cdot \text{m}^{-2}$.

6. ま と め

生体活性表面の創出を目指して、水溶液プロセスを利用した Ti の表面改質について概説した。私たちの体は約60%の水分からできており、人の体内は常温の水溶液環境であり、生体内で細胞の助けを借りて骨を合成している。したがって、体内と同様な常温・常圧・中性水溶液環境下で骨の無機質の主成分である HAp を合成するプロセスの開発は興味深い。水溶液中という体内環境に近い環境下で HAp コーティングを行えば、生体が作り出す骨に近い、すなわち、より生体活性の高い HAp を直接製造できるものと考えられる。

紙面の制約上、生体活性評価については触れなかったが、表面改質された生体材料は骨芽細胞の培養試験や擬似体液浸漬試験に代表される in vitro 試験、動物の体内に実際にインプラントして新生骨の成長や骨との結合度合いや強度により評価する in vivo 試験が数多く行われている。これらはいずれも、細胞あるいは生体と生体材料との反応性を評価するものであり、コーティングされた HAp の結晶性や緻密性、表面形態、さらには生体内での溶解性により変化する。六角針状を有する HAp が高い生体活性を有するという報告もあるが⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾、未知の部分も多い。インプラント材や医療技術の発展のために、生体活性なコーティング技術および材料自身の開発が望まれている。

文 献

- (1) 新家光雄: 機能材料, **20**-3(2000), 36-44.
- (2) M. Nagano, T. Nakamura, T. Kokubo, M. Tanahashi and M. Ogawa: Biomater., **17**(1996), 1771-1777.
- (3) R. M. Pilliar, D. A. Deporter, P. A. Watson, M. Pharoah, M. Chipman, N. Valiquette, S. Carter and K. DeGroot: J. Dent. Res., **70**(1991), 1338-1345.
- (4) S. W. K. Kweh, K. A. Khor and P. Cheang: Biomater.,

- 21(2000), 1223-1234.
- (5) 青木秀希: 驚異の生体物質アパタイト, 医歯薬出版, (1999), 56.
- (6) K. Yamashita, T. Yagi and T. Umegaki: J. Am. Ceram. Soc., **79**(1996), 3313-3316.
- (7) M. Yoshinari, T. Hayakawa, J. G. C. Wolke, K. Nemoto and J. A. Jansen: J. Biomed. Mater. Res., **37**(1997), 60-67.
- (8) K. van Dijk, H. G. Schaeken, J. G. C. Wolke and J. A. Jansen: Biomater., **17**(1996), 405-410.
- (9) B. Mavis and A. C. Tas: J. Am. Ceram. Soc., **83**(2000), 989-991.
- (10) S. Langstaff, M. Sayer, T. J. N. Smith, S. M. Pugh, S. A. M. Hesp and W. T. Thompson: Biomater., **20**(1999), 1727-1741.
- (11) D.-H. Kim, Y.-M. Kong, S.-H. Lee, I.-S. Lee, H.-E. Kim, S.-J. Heo and J.-Y. Koak: J. Am. Ceram. Soc., **86**(2003), 186-188.
- (12) T. S. Chen and W. R. Lacefield: J. Mater. Res., **9**(1994), 1284.
- (13) M. Vatanatham and S. Kimura: J. Am. Ceram. Soc., **84**(2001), 2135-2137.
- (14) I. Soten and G. A. Ozin: J. Mater. Chem., **9**(1999), 703-710.
- (15) D. Buser, R. K. Schenk, S. Steinemann, J. P. Fiorellini, C. H. Fox and H. Stich: J. Biomed. Mater. Res., **25**(1991), 889-902.
- (16) M. H. Prado Da Silva, G. A. Soares, C. N. Elias, S. M. Best, I. R. Gibson, L. Disilvio and M. J. Dalby: J. Mater. Sci. Mater. in Med., **14**(2003), 511-519.
- (17) K. Inoue, K. Sassa, Y. Yokogawa, Y. Sakka, M. Okido and S. Asai: Mater. Trans., **44**(2003), 1133.
- (18) H. Monma: J. Mater. Sci., **29**(1994), 949-953.
- (19) M. Okido, K. Kuroda, M. Ishikawa, R. Ichino and O. Takai: Solid State Ionics, **151**(2002), 42-47.
- (20) M. Okido, K. Nishikawa, K. Kuroda, R. Ichino, Z. Zhao and O. Takai: Mater. Trans., **43**(2002), 3010-3014.
- (21) H. Ishizawa, M. Fujino and M. Ogino: J. Biomed. Mater. Res., **35**(1997), 199-206.
- (22) H. Ishizawa and M. Ogino: J. Mater. Sci., **34**(1999), 5893-5898.
- (23) X. Nie, A. Leyland and A. Matthews: Surf. Coat. Technol., **125**(2000), 407-414.
- (24) L. A. Sena, M. C. Andrade, A. M. Rossi and G. A. Soares: J. Biomed. Mater. Res., **60**(2002), 1-7.
- (25) K. Kuroda, R. Ichino, M. Okido and O. Takai: J. Biomed. Mater. Res., **59**(2002), 390-397.
- (26) K. Kuroda, R. Ichino, M. Okido and O. Takai: J. Biomed. Mater. Res., **61**(2002), 354-359.
- (27) K. Kuroda, S. Nakamoto, R. Ichino, M. Okido and R. M. Pilliar: Mater. Trans., **46**(2005), 1633-1635.
- (28) 黒田健介, 興戸正純: PHOSPHOROUS LETTER, **51** (2004), 13-20.
- (29) J. C. Elliot: *Studies in inorganic chemistry 18 structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*, New York: Elsevier, (1994).
- (30) M. Okido, K. Kuroda and R. Ichino: Mater. Sci. Forum, **426-432**(2003), 3457-3461.
- (31) 青木秀希: 驚異の生体物質アパタイト, 医歯薬出版, (1999), 19.
- (32) 岡崎正之: 歯と骨をつくるアパタイトの化学, 東海大学出版会編, (1992), 10.
- (33) M. Okazaki, et al.: Caries Res., **15**(1981), 477.
- (34) S. Ban and S. Maruno: J. Biomed. Mater. Res., **42**(1998), 387-395.
- (35) K. Kuroda, Y. Miyashita, R. Ichino, M. Okido and O. Takai: Mater. Trans., **43**(2002), 3015-3019.

★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★
興戸正純

1979年 名古屋大学大学院工学研究科博士課程前期課程修了

1979年-1995年 名古屋大学助手, 講師, 助教授
1995年-現職

専門分野: 水溶液化学, 金属電気化学, 表面処理
研究内容: 水溶液・有機溶媒・熔融塩を利用して, 耐食性, 生体活性, エネルギー変換性などの機能を有する高機能皮膜作製の研究を行っている。

★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★