

アパタイトへの Mg 添加が及ぼす影響

○西尾 祐規¹⁾、佐藤 充孝²⁾、児島 千恵³⁾、中平 敦^{1),2)}

¹⁾阪府大、²⁾東北大金研関西センター、³⁾阪府大ナノ科学・材料研究センター

Effect of Mg Addition on microstructure of Hydroxyapatite

Yuki NISHIO, Mitsutaka SATO, Chie KOJIMA and Atsushi NAKAHIRA

1 緒言

近年、本格的な高齢化社会の到来や骨折患者の増加により、生活の質(QOL)の低下が生じている。QOL 改善のため、損傷した生体組織の修復は骨移植により行われ、現在自家骨移植や人工骨移植が施されているが、自家骨移植は採取量に限度があり、採取部位の炎症、手術箇所の増加などの問題点が挙げられる。そのため人工骨の研究が求められ、これまで様々な材料が臨床応用されてきた。その中でもセラミックス材料は生体材料にとって必要不可欠な生体において無害であるという点や、生体組織との親和性に優れるといった特性を有し注目されている。セラミックス材料の中でもハイドロキシアパタイト(HAp:Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂)は生体硬組織の無機成分と類似する組成であり、生体親和性に優れた材料として研究されている。現在 HAp は人工骨や人工歯根用の材料等、更に生体不活性材料へのコーティング材等に用いることで高い強度を有し、親和性に優れた材料開発に用いられている¹⁾。生体骨は骨吸収と骨形成を繰返すことで生体内の恒常性を維持しているため、人工骨においても骨代謝が求められる。しかし現在臨床応用されている HAp は溶解性に乏しく生体内で残存し、炎症が生じるといった問題点が挙げられる。そこで溶解性の制御、及び早期の生体活性獲得のため HAp への様々な金属イオン添加の研究が行われてきた²⁾。生体内において骨芽細胞の促進や破骨細胞の抑制により、骨形成が促進されることで期待される Mg に着目し、HAp への添加を試みた。また HAp への Mg 添加は溶解性の制御に有効であることが報告されていることから、骨代謝に重要な役割を果たすと考えられる。

HAp の合成法として溶液法が簡便であり、Ca/P を自由に変化させることができるため本研究において溶液法を用いた。その中でも高温高压下の熱水中で合成させる水熱法を用い、この方法では高い反応速度が得られ結晶成長に優れる。また加熱方法にマイクロ波を用いることで、高い熱効率、急速加熱、均一加熱という特徴から従来の水熱法よりも短時間、省エネルギープロセスで合成可能である。本研究では、HAp に Mg を添加した HAp 単一相の合成を、従来の方法より短時間で合成可能なマイクロ波水熱法を用いて行った。得られた試料の局所構造を調査し、更に Mg 添加の影響として生体内での毒性の有無等を評価した。

2 実験方法

出発原料は Ca 源として 0.1 M の硝酸カルシウム水溶液、P 源として 0.1 M のリン酸水素二アンモニウム水溶液、Mg 源として 0.1 M の硝酸マグネシウム水溶液を用いた。Ca 源、P 源の pH をそれぞれ 8、12 に調整し、水溶液プロセスにより仕込み比の Ca/P が 1.5 となるように調整し滴下した。この際、Mg 添加量は 0、5、10、15 mol%とした。滴下終了後、1 時間攪拌、熟成させ、ろ過を行い、ろ紙上に得られた生成物をテフロン容器に移し、イオン交換水 20 ml 加えオートクレーブに密閉し、150 °C で 10 分間マイクロ波を照射した。マイクロ波照射後、1 時間放置し、ろ過を行い 50 °C で 1 日乾燥させ試料とした。

得られた試料の構造評価として XRD、SEM、ICP、XAFS 等により評価した。さらに特性評価として Mg 添加が生体への毒性を調査するため、乳癌細胞を用いた細胞毒性評価を行った。ヒトの乳癌細胞である MDA-MB-231 細胞を 1.0×10⁴ cell / well 播種し、培養液(DMEM)を加えた。試料を滅菌後、37°C、5% CO₂ 条件下で 3 日間培養した。その後、MTT 溶液を加え吸光度を測定し、細胞存在率により毒性を評価した。

3 実験結果

Fig. 1 に Mg 添加量 0、5、10、15 mol%とし、マイクロ波水熱法により合成した試料の XRD パターンを示す。すべての Mg 添加量において Mg 化合物などは存在せず、

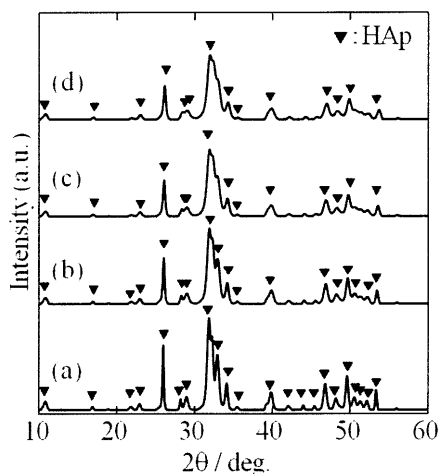


Fig. 1 XRD patterns of synthesized HAp and Mg-HAp. (a)HAp, (b)5mol% Mg-HAp, (c)10mol% Mg-HAp, (d)15mol% Mg-HAp

Table 1 Lattice parameters, Ca/P rate and Mg content of synthesized HAp and Mg-HAp.

Sample	c-axis(Å)	Ca/P	Mg(mol%)
HAp	6.872	1.584	-
5mol% Mg-HAp	6.864	1.506	2.578
10mol% Mg-HAp	6.851	1.425	5.817
15mol% Mg-HAp	6.830	1.406	8.135

構成相は HAp 単一であった。また Mg 添加により結晶性の低下が確認された。さらに Table 1 に各 Mg 添加量における試料の XRD パターンから同定した格子定数、及び ICP による Ca、P の元素分析結果から得られた Ca/P と Mg 含有量を示した。c 軸において Mg を添加した試料は無添加の試料に比べ格子定数が減少していることが確認された。これは Ca^{2+} (0.99 Å)と Mg^{2+} (0.65 Å)のイオン半径の差が原因である。さらに、このイオン半径の差により、結晶性の低下に影響を及ぼしたと考えられる。Mg 添加量増加に伴い、Ca/P の低下及び Mg 含有量の増加が確認された。これら XRD、ICP の結果から HAp 構造中の Ca と添加した Mg が置換したと考えられる。

さらに局所構造を評価するために、得られた試料及び比較試料とした HAp-200(太平化学社製)の Ca-K 殻、P-K 殻 XAFS 測定を行い、得られた XANES スペクトルを Fig. 2 に示した。Ca-K 殻、P-K 殻共に Mg 添加による吸収端のエネルギー位置や形状に変化はなく比較試料の HAp-200 と変わらなかった。この結果から Mg 添加による Ca、P 原子近傍の電子状態に変化はないことが明らかとなった。また Ca-K 殻において EXAFS 振動を抽出しフーリエ変換後得られた動径構造関数を Fig. 3 に示し、それらをカーブフィッティングすることで得られた第一近接原子の酸素配位数、Ca-O 原子間距離を Table 2 に示した。Ca-O 原子間距離が Mg 添加により僅かに減少していることが確認された。

次に細胞毒性評価を行った結果を Fig. 4 に示した。Mg 添加による有意差はなく、Mg が存在することによる細

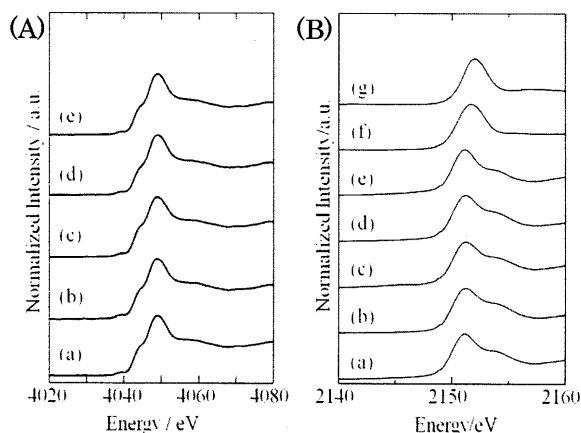


Fig. 2 (A) Ca-K edge (B) P-K edge XANES spectra of synthesized HAp and Mg-HAp. (a)HAp, (b)5mol% Mg-HAp, (c)10mol% Mg-HAp, (d)15mol% Mg-HAp, (e)commercial HAp, (f)MgHPO₄, (g)Mg₃(PO₄)₂.

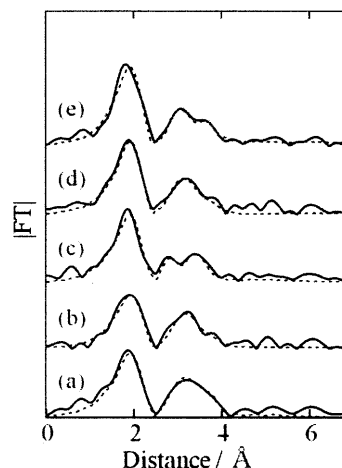


Fig. 3 Ca-K edge FT-EXAFS ($k^3\chi(k)$) spectra of synthesized HAp and Mg-HAp. (a)HAp, (b)5mol% Mg-HAp, (c)10mol% Mg-HAp, (d)15mol% Mg-HAp, (e)commercial HAp

Table 2 O coordination number and Ca-O distance of synthesized HAp, Mg-HAp and commercial HAp.

Sample	O / C.N.	Ca-O / Å
HAp	4.509	2.445
5mol% Mg-HAp	3.899	2.432
10mol% Mg-HAp	4.140	2.407
15mol% Mg-HAp	4.093	2.411
HAp-200	5.123	2.413

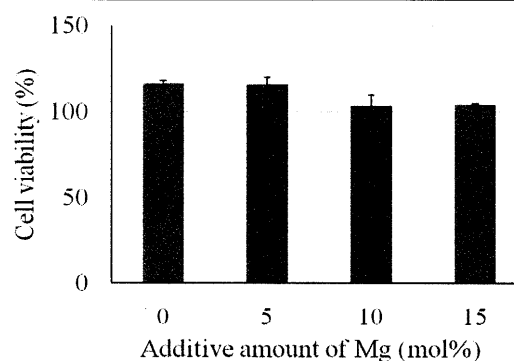


Fig. 4 Cell viability obtained cytotoxicity assessment

胞の大幅な減少が確認されなかったことから、本材料系における Mg 置換は生体に無害であることが示唆された。

まとめ

本研究から、マイクロ波水熱法を用いたことにより短時間で Mg が置換した HAp 単一相の合成に成功した。また本材料は生体にとって無害であることが確認されたため今後、生体埋入試験を行うことによって優れた材料として期待できる。

参考文献

- 1) J. Klinkaewnarong et al. *Current Applied Physics* **10** (2010) 521–525
- 2) A.Nakahira et.al. *Bioceramics* **9** (1996) 423-426
- 3) Jae-Kil Han et.al. *Mater. Chem. Phys.* **99** (2006) 235-239