

平成 27 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870061

研究課題名(和文) 抗菌性銀添加型ハイドロキシアパタイトの創製と形態制御

研究課題名(英文) Synthesis and morphological control of antibacterial elements substituted Hydroxyapatite

研究代表者

佐藤 充孝 (SATO, MITSUTAKA)

東北大学・金属材料研究所・助教

研究者番号：10547706

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：整形外科や歯科における人工関節および人工歯根への置換手術中または術後の感染を予防できる新しいインプラントの開発を目指し、抗菌性イオンを置換固溶したハイドロキシアパタイト粉末の合成を行い、抗菌性を有する元素を添加することによる、生成相や微細組織、抗菌特性をはじめとする諸特性へ及ぼす影響を調査した。

Ag添加により、高い抗菌特性を付与することが可能であるものの、その固溶量は極めて少量であり、添加したAgの大部分は金属Agとして試料中に存在していた。一方、Cu添加では、HApのCaに対して10 mol%程度の固溶が可能であり、本研究にてAgを固溶させて合成したHApと同様の抗菌特性の発現が確認された。

研究成果の概要(英文)： In order to develop novel artificial alternates of our hard tissue which prevent some infections during and after orthopedic surgery, antibacterial element substituted HAp powders were prepared based on the aqueous solution process, and the effect of antibacterial element substitution on the crystal phase, microstructure, antibacterial property and other properties were investigated.

Although it is possible to provide a high antibacterial property to HAp by Ag addition, the solid solution limit of Ag was a very small, and most of the added Ag existed as an Ag metal. In the case of Cu addition, it was possible to substitute about 10 mol% for Ca of HAp, and Cu-substituted HAp sample showed similar antibacterial property to that of Ag-substituted HAp.

研究分野：セラミックス材料

キーワード：抗菌性 ハイドロキシアパタイト 水溶液プロセス X線吸収微細構造

### 1. 研究開始当初の背景

チタンおよびその合金は、歯科および整形外科の分野において人工関節や脊髄固定具などの整形外科インプラント用または歯科用インプラントに広く使われている。この整形外科的手術においてよくある合併症の一つが細菌感染であり、1%程度とされているインプラント治療における失敗例の大部分を占めている<sup>1)</sup>。そのため、術中・術後の感染を予防できる新しいインプラントの開発が強く望まれているものの、現時点で抗菌作用を有するインプラントは市場に出ることはもちろんのこと、研究レベルにおいても使用する生体材料に抗菌性を付与する技術はまだ確立されていない<sup>2), 3)</sup>。

感染を抑えるための手法としては、チタン表面の抗菌化処理、抗菌性イオンを置換固溶したハイドロキシアパタイト(HAp)のコーティングが挙げられ、有機物系、無機物系などの抗菌性材料がある中で、金属元素による抗菌性の付与に関する研究が多く行われているが、抗菌性元素量を制御し、局所構造および結晶性の変化や、それに伴う生体活性、抗菌特性、生体毒性をバランスよく材料に付加することが基本指針となる<sup>4), 5)</sup>。しかしながら、特に抗菌性元素を置換させたHApに関する報告例は、銀(Ag)および銅(Cu)が固溶しにくい元素であるため少なく、不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

抗菌性を有するAgおよびCuをHAp構造中へ置換固溶させ、生体活性、抗菌特性、生体毒性を把握し、その結果に立脚した材料設計の指導原理を確立することにより、インプラント治療失敗の大部分を占める感染の抑制へと発展させることができる。本研究では、抗菌性元素添加型HApの添加量と固溶限、固溶位置およびそれに伴う物性変化をXRD, SEM, TEMおよび放射光施設におけるXAFS測定による局所構造解析を中心に用いて系統的に調査し、生体活性、抗菌特性、生体毒性とを合わせて整理することで、的確な特性制御と用途開発を行うための基盤学理の体系化を目指す。

### 3. 研究の方法

水溶液プロセス(湿式・水熱・加水分解・ゾルーゲル法)を用いて、AgおよびCu添加HApの合成を添加量・合成温度・合成時間を変化させた。また、試料の形態を制御するために、静電噴霧・超音波噴霧熱分解(USPS)・ミスト法を用いて抗菌性元素添加HAp粉末の球状粒子化を試みた。

得られた試料に対して、生成相の同定および格子定数の測定をXRD、微細組織観察をSEMおよびTEM、組成分析をICP、Ca・P・Ag・Cuの局所構造をXAFS、試料の抗菌特性を大腸菌を用いたコロニーカウント(colony count)法によりそれぞれ評価した。

### 4. 研究成果

### (1) 水溶液プロセスによる抗菌性元素添加HApの合成

#### ① 水熱・湿式法

水熱法および湿式法により抗菌性を有する元素であるAgおよびCuを添加したHApの合成を試み、AgおよびCu源の添加量を変化させることで添加元素が生成相や微細組織、抗菌特性へ及ぼす影響について調査した。得られた試料に対し、ICP測定を用いてCa/P比および添加元素量を測定したところ、Ag添加HAp試料ではCa/P比の変化は少なく、また添加量の増加に伴い検出されるAg量は増加したものの、仕込み量の1/20程度であった。Cu添加HApでは添加量の増加に伴いCu量も増加し、5 mol%の添加量までは仕込み量と同程度のCuが検出され、それ以上の添加量では仕込み量の1/2程度へと減少した。

図1に水熱法により得られたAg添加HAp試料のX線回折図形を示す。水熱法ではすべての合成条件においてHApを主相とする試料を得ることができた。しかし、Ag源を2 mol%以上添加した試料では金属Agの生成も確認され、Ag添加量の増加と共に金属Agに帰属可能な回折ピークが強くなった。一方、Cu添加HApでは、すべての合成条件下においてHApの単一相が得られた。Si粉末を用いた内部標準法による格子定数測定より、Ag添加HApではAg添加に伴う格子定数の変化は確認されなかった。Cu添加HApでは、Cuの添加に伴い、a軸が縮小する傾向が確認された。

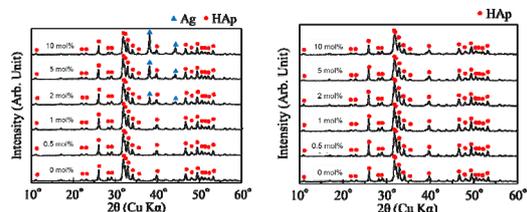


図1 AgおよびCu添加HAp試料のX線回折図形

図2に得られた試料のXANES測定結果を示す。Ca K端およびP K端のXANESスペクトルは、Ag添加HAp、Cu添加HApいずれも市販品のHAp200と同様のスペクトルを示しており、元素添加に伴う局所構造変化は生じていないことが示唆された。得られたAg K端XANESスペクトルは、すべての添加量において金属Agのスペクトルと良く似ており、添加したAgは金属Agとして存在していることが明らかとなった。XRD測定およびXAFS測定結果より、水熱法により合成したAg添加HApではHAp構造中へのAgの置換固溶が従来の報告のように難しいことが明らかとなった。一方、Cu K端のXANESスペクトルでは、いずれの添加量においてもリン酸三銅(Cu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>)と同様のスペクトルが得られており、Cu原子近傍の局所構造はCu<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>によく似ていることが明らかとなった。XRDの測定結果と併せて考慮することにより、Cu

が HAp 構造中へ置換固溶されていることが示唆された。

同様の傾向が湿式法を用いて合成した試料においても確認されている。

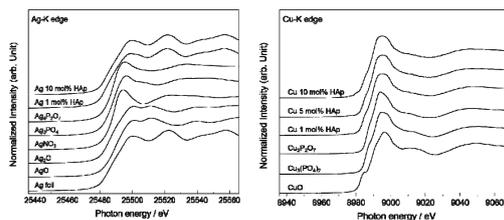


図 2 Ag および Cu 添加 HAp 試料の XANES スペクトル

## ② 加水分解法

$\alpha$ 型リン酸三カルシウム( $\alpha$ -TCP)から HAp への加水分解反応を Ag および Cu 溶液中で行うことにより、Ag および Cu を添加 HAp の合成を試み、添加元素の影響を調査した。

Ag を添加した場合はすべての添加量において HAp 単一相が得られ、添加量の増加に伴い a 軸の伸長傾向が確認された。一方で、Cu を添加した場合は出発原料である  $\alpha$ -TCP が未反応のまま残存していた。また、Ca-K 端及び P-K 端、Ag-K 端、Cu-K 端の XAFS スペクトル測定を行ったところ、各試料の Ca-K 端と P-K 端の XANES スペクトルは HAp-200 のものと類似しており、Ca や P 近傍の局所構造は各イオン添加の影響を受けていないことが示唆された。Ag-K 端の XANES スペクトルは  $Ag_3PO_4$  のものと類似しており、XRD 測定結果と併せて考察することにより、加水分解法を用いることにより Ag が HAp 構造中へと置換固溶していることが示唆された。より詳細な構造に関する知見を得るために、EXAFS 領域の測定が必要である。

### (2) Ag および Cu 添加 HAp の形態制御

Ag および Cu 添加 HAp のさらなる応用を目指して、超音波熱分解法およびミスト法を用いた粒子の形態制御を試みた。得られた試料はすべて HAp が主相として生成していたが、Ag を 5 mol% 添加した試料において金属 Ag に帰属可能な回折ピークが確認された。元素分析の結果、各イオンの含有量は添加量に対し 7~9 割程度の値を示しており、ほぼ仕込み比通りの組成の HAp を得ることができた。図 3 に示すように、SEM 観察結果よりすべての試料で球状の粒子が得られており、Ag を 5 mol% 添加した試料でのみ球状粒子の表面に微細な Ag 粒子が付着しているのが確認された。得られた球状粒子の平均粒子径は 1  $\mu m$

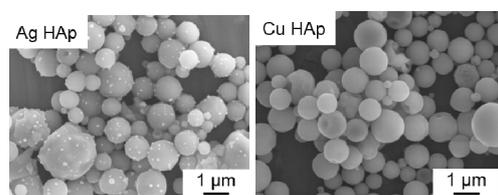


図 3 Ag および Cu 添加 HAp 試料の SEM 像

程度であり、各イオン添加が粒子径に与える影響は小さいと考えられる。

### (3) Ag および Cu 添加 HAp の抗菌特性

本研究で合成した試料について大腸菌を用いて colony count 法により抗菌特性の評価を行った。表 1 に各試料の測定結果を示す。市販の HAp 試料では大腸菌コロニー数がコントロール材と同程度であり増殖阻害が確認されなかったが、Ag および Cu を添加した試料では増殖阻害が確認でき、抗菌活性があることが示唆された。また添加量が多くなるにつれて溶出する抗菌性イオン量が増加するため、抗菌力も強くなった。

表 1 得られた試料の抗菌特性

Sample	Bacteria (CFU/mL)
Control	$1.70 \times 10^9$
市販 HAp	$1.62 \times 10^9$
Ag-HAp 5 mol%	$6.80 \times 10^5$
Cu-HAp 5 mol%	$2.65 \times 10^5$

このように、本研究では高い抗菌力を持つことが知られている Ag および Cu を HAp に添加することにより高い抗菌性を付与することができることが示された。また USPS やミスト法を用いることで球状の粒子を生成させることができ、抗菌性と成形性の二つの機能を同時に向上させることができた。さらなる応用に向けて、本研究で得られた知見が今後の材料開発に貢献することを期待する。

### <引用文献>

- 1) C. Hamanishi, *Journal of Japanese Society for Biomaterials*, 29 4 240-243 (2011)
- 2) P. M. Maathuis et al, *Clinical Orthopaedics*, 433 136-139 (2005)
- 3) M. Yoshinari et al, *Biomaterials*, 22 2043-2048 (2001)
- 4) 高玉博朗他, 人工関節用チタン金属への生体活性と抗菌性の付与, 中央大学生命健康科学部, 生命健康科学研究所紀要 Vol. 7 (2010)
- 5) 宮野泰征他, 各種純金属の抗菌性評価, 鉄と鋼 93 57-65 (2007)

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① M. Sato, A. Nakahira, Preparation of Iron Doped Hydroxyapatite Microsphere by Mist Process, *Mater. Trans.*, 査読有, 55, 2014, pp. 1536-1539.
- ② M. Sato, A. Nakahira, Influence of Fe addition to hydroxyapatite by aqueous solution process, *J. Ceram. Soc. Jpn*, 査読有, 121, 2013, pp. 422-425.
- ③ M. Sato, A. Nakahira, Influence of Fe

addition to hydroxyapatite by hydrothermal process, J. Ceram. Soc. Jpn, 査読有, 121, 2013, pp. 559-562.

[学会発表] (計 6 件)

- ① 阪口裕允、佐藤充孝、中平敦、Cu 担持  
ハイドロキシアパタイトの合成と評価、  
粉体粉末冶金協会 第 111 回講演大会、  
2013 年 05 月 29 日 早稲田大学 (東京)
- ② H.Sakaguchi、M. Sato、A. Nakahira,  
Synthesis and Evaluation of  
Cu-Hydroxyapatite, The 13th Asian  
BioCeramics Symposium, 2013 年 12 月 04  
日、京都大学百周年時計台記念館 (京  
都)
- ③ 佐藤充孝、中平敦、Fe 添加型非晶質リ  
ン酸カルシウムナノ粒子の合成、第 52  
回セラミックス基礎科学討論会、2014  
年 01 月 10 日、ウイנק愛知 (愛知)
- ④ 阪口裕允、佐藤充孝、中平敦 抗菌性イ  
オン添加ハイドロキシアパタイトの合  
成と評価、日本セラミックス協会 2014  
年 年会、2014 年 03 月 18 日、慶應義塾  
大学 (東京)
- ⑤ 村上隆幸、野田岩男、佐藤充孝、中平敦、  
宮本比呂志、馬渡正明、溶射方による銀  
含有アパタイトの合成、日本セラミック  
ス協会 2014 年 年会、2014 年 03 月 19  
日、慶應義塾大学 (東京)
- ⑥ 佐藤充孝、阪口裕允、児島千恵、中平敦、  
抗菌元素添加ハイドロキシアパタイト  
の諸特性評価 日本セラミックス協会  
2015 年 年会、2015 年 03 月 18 日 岡  
山大学 (岡山)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

特になし

## 6. 研究組織

佐藤 充孝 (SATO, Mitsutaka)

東北大学・金属材料研究所・助教

研究者番号：10547706