

リン酸炭酸カルシウムに関する研究

2001

無機材質研究所研究報告書第120号

目 次

1 . 研究概要および構成	1
1.1 はじめに	1
1.2 研究概要	1
1.3 研究構成員	1
1.4 生体活性材料研究会	2
1.5 執筆分担	3
2 . アパタイト系化合物の結晶成長と構造解析	4
2.1 水酸アパタイト・炭酸アパタイト・炭酸水酸アパタイトの単結晶育成	4
2.1.1 はじめに	4
2.1.2 実験	4
2.1.3 結果および考察	5
2.1.3.1 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Ca}(\text{OH})_2$ 系	5
2.1.3.2 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaCO}_3$ 系	6
2.1.3.3 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaCO}_3\text{-Ca}(\text{OH})_2$ 系	7
2.1.3.4 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$ 系	8
2.1.4 まとめ	8
2.2 水酸アパタイトの結晶構造解析	9
2.2.1 はじめに	9
2.2.2 実験	9
2.2.3 結果と考察	10
2.2.3.1 空間群の決定	10
2.2.3.2 四軸回折計データによる構造解析	10
2.2.4 まとめ	13
2.3 炭酸アパタイトの結晶構造解析	13
2.3.1 はじめに	13
2.3.2 実験	13
2.3.3 結果と考察	14
2.3.3.1 空間群の決定	14
2.3.3.2 偏光赤外吸収分光法による炭酸イオンの配向決定	15
2.3.3.3 X線4軸回折計データによる構造解析	16
2.3.3.4 A・B両サイトの CO_3 イオン置換の関係	19
2.3.4 まとめ	19
3 . 無機/有機ナノコンポジットの合成	21
3.1 水酸アパタイト/コラーゲン複合体の合成に関する研究	21
3.1.1 はじめに	21
3.1.2 使用するコラーゲンのスクリーニング	21

3.1.2.1 はじめに	21
3.1.2.2 材料と方法	22
3.1.2.3 結果と考察	22
3.1.2.4 結論	24
3.1.3 水酸アパタイトとコラーゲンの自己組織化	25
3.1.3.1 はじめに	25
3.1.3.2 材料と方法	25
3.1.3.3 結果と考察	25
3.1.3.4 まとめ	27
3.1.4 水酸アパタイト/コラーゲンのエージングと架橋の効果	27
3.1.4.1 はじめに	27
3.1.4.2 材料と方法	28
3.1.4.3 結果と考察	28
3.1.4.4 まとめ	28
3.1.5 水酸アパタイト/コラーゲン複合体の骨親和性	29
3.1.5.1 はじめに	29
3.1.5.2 材料と方法	29
3.1.5.3 結果と考察	32
3.1.5.4 まとめ	33
3.1.6 結論	34
3.2 Nucleation of Hydroxyapatite Crystal through Chemical Interaction with Collagen	35
3.2.1 Introduction	35
3.2.2 Experimental Procedure	36
3.2.3 Results and Discussion	36
3.2.4 Conclusions	38
3.3 Hydroxyapatite Coating on a Collagen Membrane by a Biomimetic Method	38
3.3.1 Introduction	38
3.3.2 Experimental Procedure	38
3.3.3 Results and Discussion	39
3.3.4 Summary	41
3.4 Hydroxyapatite formation on cellulose cloth induced by citric acid	41
3.4.1 Introduction	41
3.4.2 Experimental Procedure	42
3.4.3 Results and Discussion	42
3.4.4 Conclusions	44
3.5 Preparation of Porous Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposites	45
3.5.1 Introduction	45
3.5.2 Materials and Method	45
3.5.3 Results and Discussion	45

3.5.4 Conclusion	47
4. 無機・有機ヘテロ界面の解析と制御.....	50
4.1 高分解能電子顕微鏡によるハイドロキシアパタイトの界面観察	50
4.1.1 はじめに	50
4.1.2 実験	50
4.1.3 結果と考察	50
4.1.4 まとめ	51
4.2 有機単分子膜上でのハイドロキシアパタイト結晶成長	52
4.2.1 はじめに	52
4.2.2 実験	52
4.2.3 結果と考察	52
4.2.4 まとめ	55
4.3 ハイドロキシアパタイト単結晶の表面構造と累積アラキシン酸の AFM 観察	55
4.3.1 はじめに	55
4.3.2 実験	55
4.3.3 結果と考察	56
4.3.4 まとめ	59
4.4 Effect of citric acid on the nucleation of hydroxyapatite in a simulated body fluid	59
4.4.1 Introduction	59
4.4.2 Materials and Methods	59
4.4.3 Results and Discussion	60
4.4.4 Conclusions	63
4.5 炭酸カルシウム結晶の配向制御	63
4.5.1 はじめに	63
4.5.2 実験	63
4.5.3 結果と考察	64
4.5.4 まとめ	65
5. 形態の制御.....	68
5.1 ゲルキャスティングによる水酸アパタイト多孔体の作製に関する研究	68
5.1.1 はじめに	68
5.1.2 水酸アパタイト多孔体の作製	68
5.1.2.1 はじめに	68
5.1.2.2 材料と方法	68
5.1.2.3 結果と考察	69
5.1.2.4 結論	69
5.1.3 水酸アパタイト多孔体の骨組織再生試験と骨組織反応試験	69
5.1.3.1 はじめに	69
5.1.3.2 材料と方法	69
5.1.3.3 結果と考察	70

5.1.3.4 まとめ	70
5.1.4 結論	71
5.1.5 謝辞	72
5.2 Studies on Preparation of a Bone-like Apatite Cement,Porous Composite Implant Materials	72
5.2.1 Preparation of a bone-like apatite foam cement	72
5.2.2 Preparation of porous composite implant materials by in-situ polymerization of porous apatite containing ϵ -caprolactone or methyl methacrylate	72
5.3 エマルション中におけるハイドロキシアパタイトの結晶成長	73
5.3.1 はじめに	73
5.3.2 実験	74
5.3.2.1 試薬	74
5.3.2.2 測定	74
5.3.2.3 HAp 粒子の合成	74
5.3.3 結果と考察	74
5.3.4 結論	77
6. 非アパタイト系関連研究.....	79
6.1 MO/MD 計算に関する研究－固体界面におけるヘテロメタロキサン結合生成過程の計算機シミュレーションによる解析－	79
6.1.1 はじめに	79
6.1.2 計算方法	79
6.1.3 結果および考察	79
6.1.3.1 $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-SiO}_2$ 界面構造の変化(1)：脱水反応	79
6.1.3.2 $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-SiO}_2$ 界面構造の変化(2)：Ca-O-Si ヘテロメタロキサン結合形成 ..	80
6.1.3.3 重なり電子密度の解析	80
6.1.3.4 Ca-OSi 結合に寄与する結合性軌道の内訳	81
6.1.4 まとめ	82
6.2 チタン酸ストロンチウム(111)単結晶表面の熱による表面緩和と MBE 法によるチタン酸バリウム薄膜の作製	82
6.2.1 はじめに	82
6.2.2 実験内容および検討結果	83
6.3 SrTiO_3 粒界の電子状態に関する研究	84
6.3.1 背景	84
6.3.2 SrTiO_3 粒界の電気特性評価	84
6.3.2.1 SrTiO_3 セラミックスの一粒界モデル	84
6.3.2.1.1 セラミックスの粒界	84
6.3.2.1.2 粒界のモデル	85
6.3.2.1.3 一粒界モデル	85
6.3.2.2 SrTiO_3 バイクリスタルの作製・評価方法	85
6.3.2.2.1 SrTiO_3 バイクリスタルの作製	85

6.3.2.2.2 界面の電気特性評価	85
6.3.2.2.3 バイクリスタルのアニール処理	85
6.3.2.3 電気特性評価結果	85
6.3.2.3.1 I-V 特性	85
6.3.2.3.2 C-V 特性	86
6.3.2.4 界面の電気特性	86
6.3.3 SrTiO ₃ 界面の理論計算	86
6.3.3.1 界面の原子構造計算	86
6.3.3.1.1 計算方法	86
6.3.3.1.2 計算結果	87
6.3.3.2 界面の電子構造計算	87
6.3.3.2.1 計算方法	87
6.3.3.2.2 計算結果	87
6.3.3.3 界面のエネルギー準位	87
6.3.4 まとめ	88
6.4 分子線エピタキシー法による(Ba,Sr)TiO ₃ 固溶体薄膜の生成に関する研究	88
6.4.1 目的	88
6.4.2 内容及び検討結果	88
6.5 酸化亜鉛の表面に関する研究	89
6.5.1 酸化亜鉛単結晶の表面形態	89
6.5.1.1 緒言	89
6.5.1.2 実験方法	90
6.5.1.3 結果、考察	90
6.5.2 酸化亜鉛単結晶極性表面の表面緩和	90
6.5.2.1 緒言	90
6.5.2.2 実験方法	91
6.5.2.3 結果、考察	91
6.5.3 酸化亜鉛単結晶表面の窒素処理効果	92
6.5.3.1 緒言	92
6.5.3.2 実験方法	92
6.5.3.3 結果、考察	92
6.6 短波長X線を用いた結晶構造・電子密度分布解析	92
6.6.1 はじめに	92
6.6.2 実験・解析	93
6.6.3 結果・考察	94
6.6.3.1 結晶構造解析	94
6.6.3.2 電子密度分布解析	95
6.6.4 まとめ	97
6.7 Electron density studies	97
6.7.1 Introduction	97

6.7.2 YTiO ₃	97
6.7.2.1 Experimental information	98
6.7.2.2 YTiO ₃ results	98
6.7.3 Improvement of extinction correction	98
6.7.3.1 Background	99
6.7.3.2 Results	99
6.7.4 Study of ZnO	99
6.7.4.1 Results	99
7 . 残された問題と将来展望	102
8 . 研究発表	103
8.1 発表論文	103
8.2 特許出願	110
8.3 受賞・表彰	111

第1章 研究概要および構成

1. 1 はじめに

現在、わが国では急速に高齢化が進んでいる。2020年には高齢人口割合は25%をこえると予測されている。超高齢社会では、福祉・医療にかかる経費は膨大になり、社会資源・経済活動と均整のとれた医療体制の確立が求められる。しかし、そのために患者本人はもちろん家族のQOL「生活の質」を低下させることは絶対に避けるべきであり、医学・工学・社会科学の幅広い分野からQOLを高める工夫が求められている。

日本は、医療産業の視点から見ると決して先進国ではない。残念ながら、医療材料のほとんどを海外からの輸入に頼っている。例えば、人工心臓・人工血管・人工骨は8割以上が輸入品であり、国内の生産量はわずか2割弱にすぎない。医療材料が人の生命にかかわる大切な材料であるにもかかわらず、わが国は圧倒的に海外に頼っているのが実状である。

21世紀は福祉医療の時代である。そのため、先進欧米諸国は医療材料を次世紀の重要な国際戦略物資と捉え、世界規模の経済活動を展開しつつある。膨大な人口を抱える極東アジア市場が主要なターゲットになっている。現在、医療材料・技術の基礎研究は世界各国で進められており、とりわけ米国では、NIH (National Institute of Health)が1997年以降、多額の資金を投入して、軟骨・肝臓・腎臓・心臓・眼・神経・皮膚などの幅広い分野について技術開発にとり組んでいる。超高齢社会を目前にひかえたわが国においても、医療材料の開発を積極的に進め、グローバルな競争にうち勝つ強い産業基盤をつくっていくことが大きな課題になっている。

1. 2 研究概要

以上のような背景をもとに、第10研究グループでは、平成8年4月～13年3月の5年間にわたって、主に骨代替材料の開発を進めてきた。その結果、決して十分ではないにもしてもいくつかの材料を開発することができた。この報告書は、主に生体材料の基礎的研究の部分を記載しており、同時に進行したインテリジェント材料研究の「生体材料」の応用研究と対をなしている。

本報告書では、まず第2章でアパタイト系材料の結

晶成長と構造解析を記す。我々の骨は、呼吸代謝の結果として産出された炭酸イオンを取り込んでいる。その炭酸イオンがどのイオンサイトを、どのように置換するかについて単結晶を作製して解明した。

第3章では、骨の主成分であるアパタイトと有機成分・コラーゲンの複合化について検討した。この両成分は、骨の中で方位を揃えてナノメートルの領域から複合化している。この複合化のプロセスを材料工学的に解析し、自己組織化の視点から複合化手法を開発した。得られた材料は、体内で自家骨と同じように代謝され、本当の骨に変わることを実証することができた。

第4章では、自己組織化の基礎となる無機結晶と有機官能基の相互作用について解析した。単分子膜・高分解能電子顕微鏡を用いた実験により、アパタイトの表面構造と無機・有機のヘテロ界面について、詳細な知見を得ることができた。

第5章では、多孔体を作製する研究を行った。体内に多孔体を入れると、骨組織がその多孔体の中に侵入し、材料と骨のハイブリッド材料になる。多孔体は連通孔である必要があり、しかも200μm程度の孔にする必要がある。いくつかの方法で多孔体を作製し、その内の一つは大阪大学・医学部で治験（平成12年10月3日）を終了することができた。

第6章では、無機物の界面反応を分子動力学・分子軌道計算を用いて理論的に解析するなど、アパタイトに限らず多くの材料について、第10研究グループに滞在した外来研究員の研究を紹介した。

この研究を進めるにあたって、多くの方の積極的なご協力をいただいた。とりわけ、東京医科歯科大学の宮入裕夫教授・四宮謙一教授・高久田和夫助教授・伊藤聰一郎講師、大阪大学の越智隆弘教授・吉川秀樹教授、慶應義塾大学の仙名保教授・戸山芳昭教授、早稲田大学の一ノ瀬昇教授、岡山大学の尾坂明義教授、工学院大学の門間英毅教授をはじめ、多くの企業の方に暖かいご指導・ご支援をいただいた。ここに改めて、謝辞を表し、心からのお礼を申し上げたい。

1. 3 研究構成員

総合研究官

田中 順三

主任研究官

岡村富士夫, 村松 国孝

研究員

末次 寧, 菊池 正紀, J.R.Hester,

科学技術特別研究員

生駒 俊之, 趙 晟佰

重点研究支援協力員

松田 篤

CREST 研究員

田口 哲志, 佐藤 公泰

CREST 技術員

熊谷 友里

CREST チーム事務員

瀬尾 恵美

客員研究官

西原 克成 (東京大学医学部講師)

広田 和士 (イー・エッチ・アイ研究所長)

門間 英毅 (工学院大学教授)

STA フェロー

Dominic Walsh

日韓フェロー

李 相 敦

NEDO 研究員

古菌 勉

外来研究員

重谷 寿士, 関口 象一 (太陽誘電株式会社)

山口 勇 (多木化学株式会社)

園田 賢作 (日本油脂株式会社)

朝長成之 (三菱重工業株式会社)

伊藤 貴俊, 安永 雅志 (川澄化学工業株式会社)

高橋 靖彦 (筑波大学)

河野 哲夫, 藤原 康裕, 中村 智 (慶應義塾大学)

野村 雅信, 牧 英之 (早稲田大学)

村田 直文, 東 紀史 (岡山大学)

伊奈 幸雄, 久保健志郎, 渡久地恵子, 飯塚 俊輔
(工学院大学)

根本 励 (東京理科大学)

1. 4 生体活性材料研究会

第1回 平成 8 年 6 月19 日「人工歯骨材料の生体活性」
王宝禮 (大阪歯科大学), 小山富久 (東京医科歯科大学)第2回 平成 8 年 8 月 9 日 「セラミックス界面の応用, バイオセンサーの現象理解」
白川義徳 (住友金属), 王宝禮 (大阪歯科大学), 金

明喜 (群山大学), 石崎豊曉 (旭硝子), 伊藤憲治 (日本油脂)

第3回 平成 8 年 8 月29 日 「ポリ乳酸-リソ酸カルシウム系複合体の医学応用と動物実験」
宗田大, 小山富久 (東京医科歯科大学), 川瀬清 (川瀬獣医科病院)

第4回 平成 8 年11月18日 「生体セラミックスの加工と強度」

Frank Grellner (フリードリヒアレクサンダー大学)

第5回 平成 8 年12月18日 「有機無機複合体の医学応用について」

赤尾勝, 高久田和夫, 宗田大, 高木亨, 小山富久 (東京医科歯科大学), 小林孝之 (アニマルクリニックこばやし)

第6回 平成 9 年 2 月17 日 「免疫とアパタイト」

西原克成, 広田和士, 門間英毅 (客員研究官)

第7回 平成 9 年 2 月24 日 「アパタイトの生化学反応について」

久保木芳徳, 大畠昇, 滝田裕子, 小野雅昭 (北海道大学)

第8回 平成 9 年 5 月13 日 「有機無機複合体の医学応用について」

赤尾勝, 高久田和夫, 小山富久 (東京医科歯科大学), 小林孝之 (アニマルクリニックこばやし)

第9回 平成 9 年 6 月10 日 「生体骨を中心とする生体材料の合成技術の現状と今後の方向」

尾坂明義, 大槻主税, 都留寛治 (岡山大学)

第10回 平成 9 年 8 月22 日 「今後のヘテロ界面の研究」

大橋直樹 (東工大), 清田英夫 (九州東海大), 竹本稔 (神奈川工科大), 伊藤憲治 (日本油脂)

第11回 平成 9 年10月17 日 「生体力学と材料について」

薦紀夫, 小山弘 (広島大)

第12回 平成 9 年11月28 日 「有機無機複合生体材料の合成と医学応用」

柴垣茂樹 (住友金属), 伊藤憲治 (日本油脂)

第13回 平成 9 年12月 3 日 「生体材料の応用について」

薦紀夫 (広島大), 西原克成 (東大), 立石哲也 (融合研)

第14回 平成10年 5 月15 日 「無機材研の生体材料研究について」

島井駿蔵, 井村浩一, 河合和秀, 上本英雄 (東芝セラミックス), 山崎拓 (東芝電興)

- 第15回 平成10年6月2日 「HAPとPEGの複合化について」
尾坂明義, 大槻主税(岡山大学), 本田進, 松本竹男, 伊藤憲治(日本油脂)
- 第16回 平成10年7月28日 「生体材料とバイオミネラリゼーションについて」
吉成正雄(東京歯科大学), 鈴木嘉昭(理化学研究所), 横川善之(名古屋工業技術研究所)
- 第17回 平成10年8月21日 「ヘテロ界面の計測と制御について」
杉村涉(住友金属), 重谷寿士(太陽誘電)
- 第18回 平成10年9月21日 「多孔体セラミックスの応用」
井村浩一(東芝セラミックス), 山崎拓(東芝電興)
- 第19回 平成10年10月28日 「合成高分子とアパタイトの複合化」
明石満(鹿児島大学), 伊藤憲治, 村田敬重(日本油脂)
- 第20回 平成10年11月11日 「人工骨の医学応用 材料合成について」
伊藤聰一郎, 河内敏行, 高久田和夫, 小山富久(東京医科歯科大学)
- 第21回 平成10年11月24日 「ポリエチレン系高分子とリン酸カルシウムの複合化について」
伊藤憲治(日本油脂)
- 第22回 平成11年2月15日 「無機材研作製試料の動物実験の結果検討と今後の計画」
田中茂男, 小坂俊文, 永岡勝好(日本大学), 伊藤聰一郎, 高久田和夫(東京医科歯科大学)
- 第23回 平成11年2月16日 「柔軟性の高い有機無機複合・医応用材料の開発について」
明石満(鹿児島大学), 伊藤憲治(日本油脂)
- 第24回 平成11年2月24日 「軟骨素材の研究方向と韓国との共同研究について」
李相勲(韓国化学研究所)
- 第25回 平成11年3月15日 「リン酸カルシウム多孔体を用いた組織培養と医学応用」
吉川秀樹, 名井陽(大阪大学), 玉井宣行(川崎病院)
- 第26回 平成11年5月7日 「交互浸漬法の今後の展開 特許と実用化について」
明石満(鹿児島大学), 林昭男(日本油脂), 福崎裕延(多木化学)
- 第27回 平成11年5月28日 「コラーゲンの調製と生化学特性, 複合体の合成技術と実験装置, 医学的な知見と将来の応用分野, 人工骨材の現状技術と将来市場」
伊藤聰一郎, 高久田和夫, 小山富久(東京医科歯科大学)
- 第28回 平成11年8月23日 「生体材料の応用」
小和田善之(兵庫教育大学)
- 第29回 平成11年8月27日 「ヘテロ界面の研究」
王宝禮(大阪歯科大学), 芝垣茂樹, 杉村涉(住友金属工業)
- 第30回 平成11年12月6日 「DV-X α 法による自己組織化の研究」
宇田応之, 寺師大輔, 山下大輔(早稲田大学)
- 第31回 平成11年12月8日 「アパタイトの形態制御に関するゼミナール」
永田夫久江(名古屋工業技術研究所)
- 第32回 平成12年1月31日 「アパタイトと糖類(多糖体)について」
尾坂明義(岡山大学)
- 第33回 平成12年4月19日 「軟骨マトリックス材料の開発 生体におけるヒアルロン酸, コラーゲンについて」
牛田多加志(融合研)
- 第34回 平成12年5月23日 「生体材料の界面と計算科学」
小和田善之(兵庫教育大学), 服部武士(東北大学)
- 第35回 平成12年6月14日 「軟骨再生材料の検討」
宗田大(東京医科歯科大学), 佐倉義幸, 宮崎匡輔(生化学工業)
- 第36回 平成12年7月3日 「交互浸漬法によるアパタイトとキトサンとの複合化・高分子材料へのアパタイト形成」
明石満(鹿児島大学)
- 第37回 平成13年2月23日 「生体材料機能設計研究」
尾坂明義(岡山大学)

1. 5 執筆分担

- 第1章 田中 順三
第2章 末次 寧
第3章 3.1 菊池 正紀, 3.2・3.3・3.4・3.5 田中 順三
第4章 田中 順三
第5章 5.1 菊池 正紀, 5.2・5.3 田中 順三
第6章 田中 順三
第7章 田中 順三

第2章 アパタイト系化合物の結晶成長と構造解析

2. 1 水酸アパタイト・炭酸アパタイト・炭酸水酸アパタイトの単結晶育成

2. 1. 1 はじめに

水酸アパタイト (HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) および炭酸アパタイト (CAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$) は骨・歯の無機成分モデルとして重要な物質であり、その単結晶を育成する試みも多く行われてきた。HAp については早くから小さな単結晶が水熱法によって合成され^{1,2,3,4,5)}、その後 Roy⁶⁾, Eysel ら⁷⁾は、水熱フラックス法を用いて長さ 8 mm, 径 500 μm の単結晶を育成した。これまで最大の合成 HAp 単結晶は Mengeot ら⁸⁾によって報告されたもので、 $7 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$ の化学量論組成を有するものであった。一方で、フラックス法によって合成した塩素アパタイト単結晶を水蒸気中 1300°C で 2 週間加熱処理し、Cl イオンと OH イオンを置換することによっても HAp の単結晶が得られている⁹⁾。この結晶は格子定数 b が a の 2 倍になっており、空間群が $P2_1/b$ で、 c 軸を揃えて 3 方向の双晶をなしていた¹⁰⁾。双晶をなさない单斜晶系の HAp 単結晶の育成に成功した例はこれまで報告されていない。

一方 CAp については、常圧下 100°C 以下の湿式法¹¹⁾または 1000°C におけるイオン交換¹²⁾によって、粉末の試料が得られている。単結晶については、水熱法によって CO₃含有 HAp の育成に成功した報告例がある^{7,13,14)}。通常の水熱法によって単結晶育成を行った場合、OH イオンのサイト (A サイト) は優先的に OH イオンが占有し、CO₃イオンで置換するのは困難である。そのため、A サイトに充分な量の CO₃イオンを含んだ単結晶を育成するためには、OH の無い条件で CO₃イオンを含むフラックスを用いた単結晶育成が有効であると考えられる。すなわち、CAp 単結晶育成の出発原料の組合せとして Ca₃(PO₄)₂ (TCP)-CaCO₃系が考えられる。常圧下でこの系を用いて結晶育成に必要な高温度領域まで加熱すると CaCO₃が CaO と CO₂に分解するが、この問題は高压条件を用いることで解決できる。

CO₃イオンは HAp 中の OH イオンだけでなく PO₄イオンのサイト (B サイト) も置換しうる。CO₃イオンを B サイトに含有する HAp の粉末を湿式法によって合成するために、Na₂CO₃または NaHCO₃を出発原料に加えることが行われている¹⁵⁾。これは、Na イオンが Ca

サイトに導入されることによって、CO₃の B サイト置換に伴う過剰な正電荷を補正するため、置換が促進されるからである。同様の効果がフラックス法においても期待される。すなわちフラックスに Na₂CO₃を添加することが CO₃イオンを CAp の B サイトに置換させるために有効であると考えられる。

本節では、フラックス法を用いて HAp, CAp および CO₃含有 HAp の単結晶育成を行った結果について報告する。

2. 1. 2 実験

出発原料である TCP, Ca(OH)₂, Na₂CO₃は以下のように調整した。まず CaHPO₄ (ブルシャイト) を CaCO₃ (宇部マテリアルズ製, 99.99%以上) とリン酸 (和光純薬工業製, 85%) の反応によって合成し、800°C で 2 時間加熱処理して β -Ca₂P₂O₇を合成した。続いて Ca₂P₂O₇と等モル量の CaCO₃を混合し、1300°C で 1 時間加熱することによって α -TCP を得た。Ca(OH)₂については CaCO₃を 1050°C で 3 時間加熱して CaO としたのち、冷却過程において加水消化して得た。反応時の温度は約 200°C である。Na₂CO₃は市販試薬 (和光純薬工業製) を 350°C で 20 時間処理し、吸着した水分を除去して用いた。

HAp の結晶育成は TCP-Ca(OH)₂の 2 元系混合粉末を Pt 製のカプセル (直径 10mm, 長さ 50mm, 厚さ 0.2mm) に封入して行った。CAp の結晶育成には TCP-CaCO₃の 2 元系混合粉末を用いた。また、A サイトの CO₃量を制御して CO₃含有 HAp の合成を行うため、また B サイトの CO₃量を制御して CAp を合成するため、それぞれ TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂および TCP-CaCO₃-Na₂CO₃の 3 元系を用いた。単結晶育成は Ar ガス圧力下で行った。図 2.1 に合成装置の概略図を示す。TCP-Ca(OH)₂, TCP-CaCO₃, TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂, TCP-CaCO₃-Na₂CO₃のそれぞれの系について、実験条件を表 2.1~2.4 に示す。結晶育成の後、高圧容器から試料を取り出し、余分なフラックスを 10wt % の EDTA-Na₂水溶液に数日間浸漬することによって排除した。

得られた結晶相の同定は粉末 X 線回折装置 (XRD, フィリップス製 PW1820型) によって行った。XRD 測定は CuKa (40kV, 50mA) で行った。また、得られ

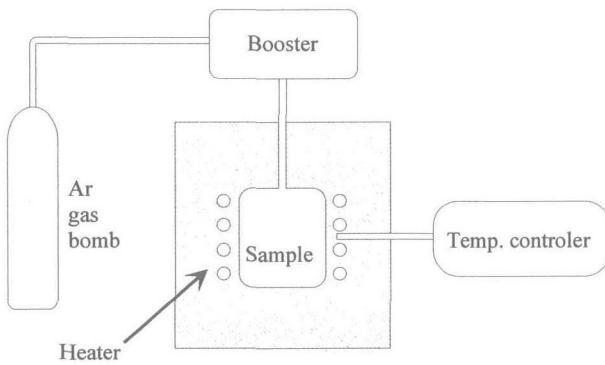


Fig. 2.1 Scheme of high-pressure vessel.

Table 2.1 Synthesis condition of system TCP-Ca(OH)₂.

No.	TCP(mol%)	Ca(OH) ₂ (mol%)	Pressure (MPa)	Max temp. (°C)	Process
0	25.0	75.0	100	1450	2 hours duration (1450°C) -5°C/hour (1450→1100°C)

Table 2.2 Synthesis conditions of system TCP-CaCO₃.

No.	TCP (mol%)	CaCO ₃ (mol%)	Pressure (MPa)	Max temp. (°C)	Process
1	32.6	67.4	190	1300	80 hours duration (1300°C) -30°C/min (1300→800°C)
2	32.6	67.4	65	1300	60 hours duration (1300°C) -30°C/min (1300→800°C)
3	32.6	67.4	55	1300	70 hours duration (1300°C) -30°C/min (1300→800°C)
4	12.1	87.9	55	1400	12 hours duration (1400°C) -30°C/min (1400→800°C)
5	24.4	75.6	55	1400	1 hours duration (1400°C) (+10°C/min (1200→1300°C), -1°C/min (1300→1200°C))
6	32.6	67.4	55	1300	18 hours duration (1300°C) -1°C/min (1300→1000°C)
7	32.6	67.4	50	1500	1 hours duration (1400°C) -2°C/hour (1500→1400°C), -4°C/hour (1400→1100°C)
8	32.6	67.4	52	1500	2 hours duration (1500°C) -5°C/hour (1500→1300°C)
9	32.6	67.4	26	1400	2 hours duration (1400°C) -5°C/hour (1400→1000°C)

Table 2.3 Synthesis conditions and formulae of obtained crystals of system TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂.

No.	TCP(mol%)	CaCO ₃ (mol%)	Ca(OH) ₂ (mol%)	Pressure (MPa)	Max temp. (°C)	Formula of obtained crystal
10	31.7	65.6	2.7	100	1450	Ca _{9.42} [{(PO ₄) _{3.44} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.52} (CO ₃) _{1.53}]
11	23.7	73.6	2.7	100	1450	Ca _{8.11} [{(PO ₄) _{3.55} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.56} (CO ₃) _{1.52}]
12	33.6	60.9	5.5	100	1450	Ca _{8.49} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.52}]
13	23.1	71.7	5.1	100	1450	Ca _{8.48} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.51}]
14	30.2	62.3	7.5	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.51}]
15	29.4	60.8	9.8	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.22} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.51}]
16	16.2	16.2	67.7	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.51}]
17	17.3	10.4	72.3	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55}]
18	18.1	6.0	75.8	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55}]
19	18.8	75.0	6.3	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.54} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.28}]
20	16.7	66.7	16.7	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.52} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55} (CO ₃) _{1.11}]
21	16.7	50.0	33.3	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.52} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55}]
22	16.7	33.3	50.0	100	1450	Ca _{8.51} [{(PO ₄) _{3.52} (CO ₃) _{2.34} }][(OH) _{2.55}]

Table 2.4 Synthesis conditions of system TCP-CaCO₃-Na₂CO₃.

No.	TCP(mol%)	CaCO ₃ (mol%)	Na ₂ CO ₃ (mol%)	Pressure (MPa)	Max temp. (°C)
23	27.3	54.5	18.2	100	1450
24	20.0	40.0	40.0	100	1450
25	5.0	50.0	45.0	100	1450
26	10.0	50.0	40.0	100	1450
27	15.0	50.0	35.0	100	1450
28	20.0	50.0	30.0	100	1450

た結晶を電子線プローブマイクロアナライザー(EPMA, JEOL 製 JXA-8600MX 型)で分析した。加速電圧およ

びビーム電流は15kV, 10nAとした。標準試料として CaSiO₃(ウォラストナイト)単結晶および化学量論 HAp 烧結体を用いた。含有 CO₃の総量は炭素分析器(Leco 製 CS-444型)によって行った。これは、試料に助燃剤を加えて高周波加熱し、脱離する CO₂ガスを赤外吸収検出器によって定量分析するものである。また、試料のフーリエ変換赤外吸収(FT-IR)スペクトルを、パーキンエルマー製 Spectrum2000型測定装置によって測定した。試料は KBr で約10分の 1 に希釈し、拡散反射法にて測定した。バックグラウンドの補正是 KBr 単体のデータを用いて行った。

2. 1. 3 結果および考察

2. 1. 3. 1 Ca₃(PO₄)₂-Ca(OH)₂系

100MPa での TCP-Ca(OH)₂系 および TCP-Ca(OH)₂-H₂O 系の相平衡関係は700~950°C の温度領域で Biggar¹⁶⁾によって報告され、これを用いた 3Ca₃(PO₄)₂+Ca(OH)₂→Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂の反応による HAp 単結晶育成が Roy⁶⁾, Eysel⁷⁾によって行われている。しかしこれらの報告で用いられた温度領域(900°C 以下)は液相線の傾きが急な領域であり、単結晶育成温度としては理想的ではなく、单斜晶単結晶の合成に成功したという記述も見られない。本実験では、25mol% の高 TCP 濃度と 1450~1100°C の高温を用いた。図 2.2 に育成した HAp 単結晶の例を示す。c 軸方向に伸長した六角錐端をもつ六角柱状で、最大のもので長さ 7mm, 径1mm に達した。EPMA 分析の結果 Ca/P 比は 1.67(1) であり、OH 量は確定できなかったが、組成が Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂であることを示した。結晶データを CAP とともに表2.5に示す。双晶をなさない空間群 P2₁/b に属する結晶が本試料より得られた(2.2節参照)。

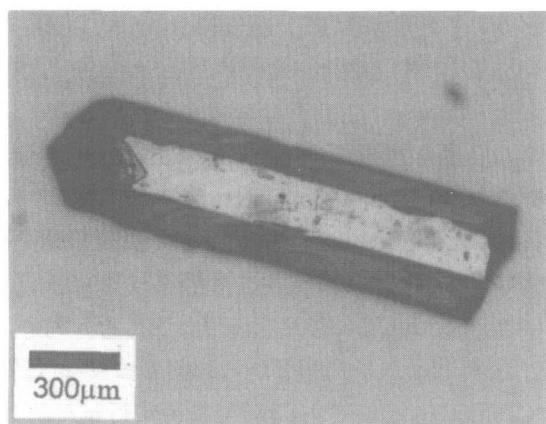
Fig. 2.2 Stoichiometric HAp crystal synthesized in the TCP-Ca(OH)₂ system (sample No.0).

Table 2.5 The comparison of crystal data for HAp and CAp.
Data for powdered CAp are cited from [Elliott et al. (1980)¹⁷⁾]

	CAp (No.5)	HAp (No.0)	A-type CAp (powder)
Chemical formulae	$\text{Ca}_{9.75}[(\text{PO}_4)_{3.5}(\text{CO}_3)_{0.5}] \text{CO}_3$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$
Space group	$P\bar{6}$	$P2_1/b$	Pb
a/nm	0.9480(3)	0.9419(3)	0.9557(3)
b/nm	0.9480(3)	1.8846(6)	2 a
c/nm	0.6898(1)	0.6884(2)	0.6872(2)
$\gamma/^\circ$	120	119.98(2)	120.36(4)
Z	1	2	2

2. 1. 3. 2 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaCO}_3$ 系

$(3-x/2)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_{10-x/2}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x]$ CO_3 の反応を用いた結晶育成における問題点は、結晶育成に必要な高温度における CaCO_3 からの CO_2 ガスの脱離である。 $\text{CaCO}_3 = \text{liquid} + \text{CO}_2$ の反応による CO_2 ガス圧力は少なくとも 4 MPa であり、閉鎖系における CO_2 ガスの圧力は、容器の容積と温度によっては 10 MPa を超える^{18,19,20)}。実際、30 MPa, 1400°Cで行った予備実験では CO_2 圧力が 30 MPa を超え、Pt カプセルが破裂した。

約 10 MPa での $\text{CaCO}_3\text{-TCP}$ 系の相平衡図は Eitel²¹⁾ によって報告されている。この図では CAp 相が $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ 、すなわち化学量論比の A 型 CAp として示されている。表 2.2 中の試料 No. 1 ~ 3 では原料組成を 32.6 mol% TCP, 67.4 mol% CaCO_3 とし、最高温度を 1300°C として圧力を変化させた。いずれの試料中にも CAp が認められたが、単結晶の成長は No. 3 のみで観察された。この結果は、本系の固相線が 55 MPa と 65 MPa の間で 1300°C に一致することを示している。65 MPa では CaCO_3 は フラックスとして機能しない。

図 2.3 に試料 No. 4 を示す。結晶は長さ約 100 μm の針状であり、急冷中に液相から成長したものと考えられることから、圧力 55 MPa、組成 12.1 mol% TCP, 87.9 mol% CaCO_3 では液相線が 1400°C 以下の点を通過することがわかる。

大型の結晶を育成するために、温度の振動制御と徐冷を試みた。例として、試料 No. 5 では 1400°C での 1 時間保持の後 1200°C ~ 1300°C 間で 11 回の温度振動を行った。1200°C から 1300°C に昇温する際には 10°C/分で、また 1300°C から 1200°C に降温する際は 1°C/分で行った。また、試料 No. 7 は 1500°C から 1400°C まで 2°C/時、1400°C から 1100°C まで 4°C/時で徐冷を行った。

図 2.4 は試料 No. 5 の結晶のひとつを示す。形状は c 軸方向に伸長した六角柱状で、長さは 700 μm であった。

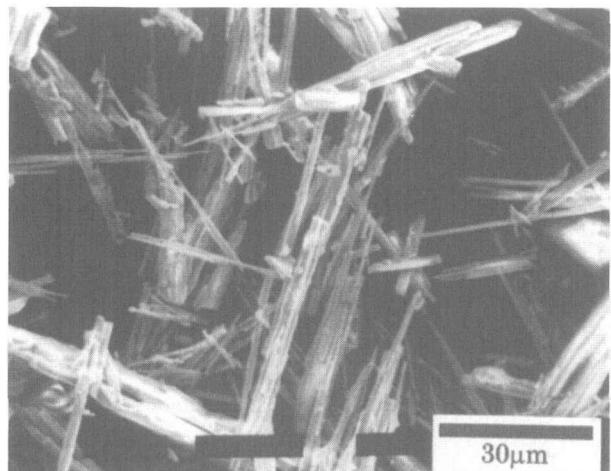


Fig. 2.3 CAp single-crystals grown by CaCO_3 flux method: sample No.4.

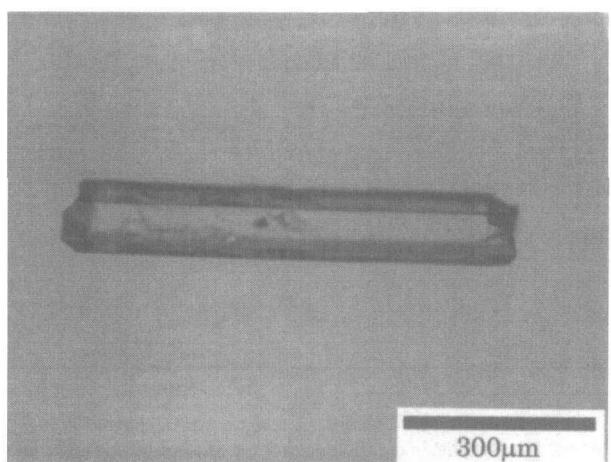


Fig. 2.4 CAp single-crystals grown by CaCO_3 flux method: sample No.5.

図 2.5 は試料 No. 7 の切断研磨面を示す。試料 No. 7 の結晶は長さ 5 mm、径 500 μm に達したが、多くのクラックを生じていた。このクラックの発生を抑制する試みとして No. 7 ではさらに 1000°C から 400°C まで 5°C/時の徐冷と 20~30°C/分での急冷をそれぞれ試みた。徐冷は急激な温度変化による熱収縮に伴う破壊を、急冷は結晶を取り巻く CaCO_3 の結晶成長による CAp 結晶の破壊を阻止することを意図したものであったが、いずれも CAp 結晶中のクラックの発生を抑制することはできなかった。これらの結果から、クラックの発生は熱ショックや CaCO_3 の結晶成長によるものではなく、CAp と CaCO_3 の熱膨張率の違いによるものと考えられた。

図 2.6 は粉碎した試料 No. 5 の拡散反射赤外吸収スペクトルである。 CO_3 による吸収ピークが 900 cm^{-1} および 1350~1650 cm^{-1} に認められる。これらのピークは図中に示すように A サイトと B サイトの CO_3 によるものに

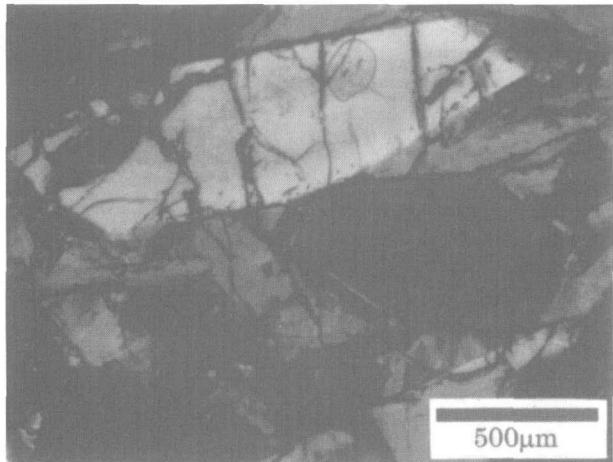


Fig. 2.5 CAp single-crystals grown by CaCO_3 flux method: sample No.7.

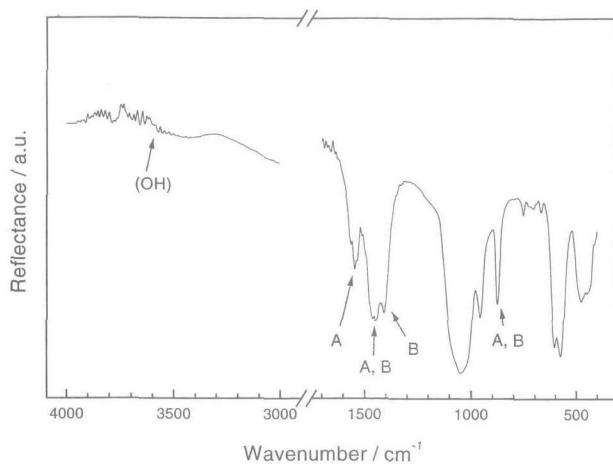


Fig. 2.6 Diffuse reflectance FT-IR spectrum of powdered carbonate apatite (sample No.5).

分類され^{22,23,24,25,26)}, CaCO_3 フラックス法により育成した結晶中には A サイト, B サイトとともに CO_3 イオンが置換されていることがわかる。 HPO_4 の存在を示す 550.9 cm^{-1} の吸収は検出されなかった。また 3600 cm^{-1} の OH イオンによる吸収が見られず、A サイトが CO_3 イオンによって完全に占有されていることがわかる。したがって、この結晶の組成式は $\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{CO}_3)_{2x}] (\text{CO}_3)$ と書ける。この組成式では B サイトの CO_3 イオンによる置換に伴う電荷のバランスは Ca サイトの欠陥で補われる。

試料 NO.5 の Ca, P, C の分析値はそれぞれ, 39.0, 16.9, 1.8wt% であり, Ca/P 比は 1.78 であった。このことから結晶の化学式は $\text{Ca}_{9.75}[(\text{PO}_4)_{5.5}(\text{CO}_3)_{0.5}] (\text{CO}_3)_{1.0}$ となり, B サイトの $1/12$ が CO_3 イオンによって占有されていることが示された。合成条件が異なってもこの値は大きく変化しなかった。

表2.5に試料 No.5 の結晶データを No.0 の HAp 結

晶, Elliott ら¹⁷⁾による化学量論 A 型 CAp のデータとともに示す。試料 No.5 の格子定数 a は HAp よりも大きく, A 型 CAp よりも小さい。一般に, イオンの大きさの違いのため, CO_3 イオンは a 軸を A サイト置換により伸長し, B サイト置換により短縮する²⁷⁾。No.5 の結晶は A サイトのすべてと B サイトの一部が CO_3 イオンによって置換されているので, 格子定数 a の値は分析結果と矛盾しない。

No.5 の格子定数 c は HAp, 化学量論 A 型 CAp のいずれよりも大きい。 CO_3 イオンの B サイト置換による c 軸のわずかな伸長は LeGeros らの報告¹⁵⁾と一致している。B サイトの CO_3 置換は電荷バランスの維持のため Ca サイトの欠陥を伴っており, そのため格子定数が変化する。したがって B サイトの CO_3 置換に伴う格子定数の変化についてはより系統的な検討が必要である。

2. 1. 3. 3 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2-\text{CaCO}_3-\text{Ca}(\text{OH})_2$ 系

100 MPa における TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂系の相平衡図は Biggar²⁸⁾によって報告されている。アパタイト相の存在はこの相平衡図にも記載されているが, その組成等詳細については不明である。本系では $(3-x/2)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + (x+y)\text{CaCO}_3 + (1-y)\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow \text{Ca}_{10-x/2}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x][(\text{OH})_{2-2y}(\text{CO}_3)_y]$ の反応により, 組成式 $\text{Ca}_{10-x/2}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x][(\text{OH})_{2-2y}(\text{CO}_3)_y]$ で表される CO₃含有 HAp が生成すると考えられる。各試料の x および y は FT-IR 測定によって決定した。測定の結果, A サイトと B サイトの CO_3 イオンの面外振動に起因する吸収ピークがそれぞれ 882 cm^{-1} と 873 cm^{-1} に観測され, それらのピークの強度比と炭素分析の結果から, $\text{Ca}_{9.75}[(\text{PO}_4)_{5.5}(\text{CO}_3)_{0.5}] (\text{CO}_3)_{1.0}$ の測定結果を基準として A サイトおよび B サイトの CO_3 置換量を決定した。

図2.7は出発原料の組成と得られた結晶の組成を TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂系三点図上にプロットしたものである。■が出発原料を, ●が得られた結晶の組成を示している。●は $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ と $\text{Ca}_{9.75}[(\text{PO}_4)_{5.5}(\text{CO}_3)_{0.5}] \text{CO}_3$ を連結する直線上にほぼ配列しており, 本系で生成可能な CO₃含有 HAp の組成がこの線上に制限されることを示している。y > 0.5 のアパタイトや A サイトまたは B サイトのみに CO₃ イオンを含有するアパタイトは本系では合成できない。また図2.8は A サイトを置換した炭酸量(y)と B サイトを置換した炭酸量(x)の関係を示している。組成式 $\text{Ca}_{10-x/2}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x][(\text{OH})_{2-2y}(\text{CO}_3)_y]$ においては, B サイトの

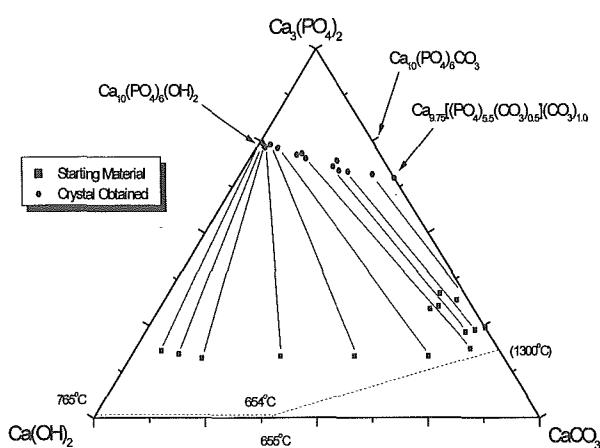


Fig. 2.7 Relation between compositions of starting materials and obtained crystals of TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂ system at 100MPa.

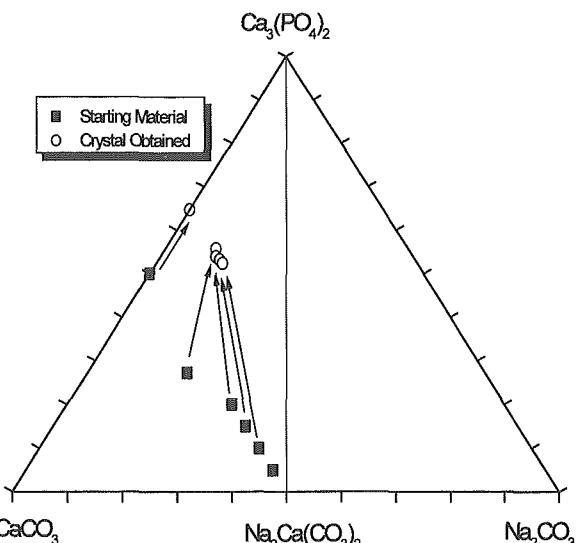


Fig. 2.9 Relation between compositions of starting materials and obtained crystals of TCP-CaCO₃-Na₂CO₃ system at 100MPa.

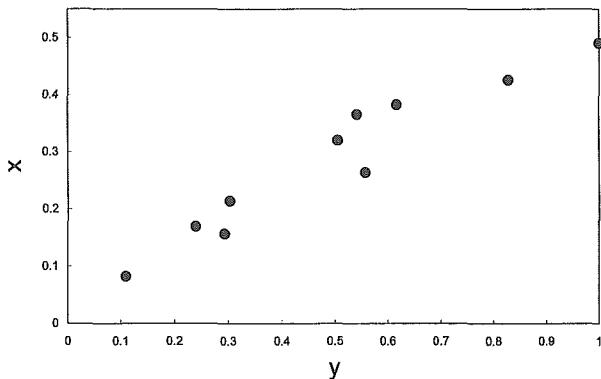


Fig. 2.8 Relation between the contents of A- and B-site-substituted CO₃ ions in the apatite crystals grown in the system TCP-CaCO₃-Ca(OH)₂. The abscissa and ordinate indicate y and x given in a formula Ca_{10-x/2}[(PO₄)₆x(CO₃)_x] [(OH)_{2-z}(CO₃)_y], respectively.

CO₃置換による電荷中性からの乖離はAサイトとは独立にCaサイトの欠陥によって補われており、xとyは独立のパラメータである。しかし、図2.8に見られるように、xとyには強い相関が見られ、測定データはほぼx=y/2上に配列している。フラックス法による結晶育成におけるCO₃含有HApのCO₃量制御は、この制限の内において可能である。

2. 1. 3. 4 Ca₃(PO₄)₂-CaCO₃-Na₂CO₃系

約10MPaにおけるCa₃(PO₄)₂-CaCO₃-Na₂CO₃系の相平衡図は、Eitel²¹⁾によって報告されている。この相平衡図中でもアパタイト相の存在は示されているが、その組成については不明である。本系では(3-x/2)Ca₃(PO₄)₂+(1+x-z/2)CaCO₃+(z/2)Na₂CO₃→

Ca_{10-(x+z)/2}Na_z[(PO₄)_{6-x}(CO₃)_x]CO₃の反応により、組成式 Ca_{10-(x+z)/2}Na_z[(PO₄)_{6-x}(CO₃)_x]CO₃で表されるNa含有CApが生成すると考えられる。

図2.9は出発原料と得られた結晶の組成を図2.7と同様にTCP-CaCO₃-Na₂CO₃系三点図上にプロットしたものである。得られた結晶の組成はほぼCa_{9.8}Na_{1.2}[(PO₄)_{4.8}(CO₃)_{1.2}]CO₃の周辺に集中している。Bサイトの炭酸量はTCP-CaCO₃系の結晶中のそれよりも大きく、またCaサイトにほとんど欠損がない。Caサイトの欠損による電荷の補正ではBサイトのCO₃置換が0.5までに制限されたのに対して、Naイオンの導入がBサイトのCO₃置換量を増加させたものと考えられる。

2. 1. 4 まとめ

- (1) TCPとCa(OH)₂を用いた高圧Arガス下でのフラックス法により、HApの単結晶育成に成功した。得られた結晶は六角柱状で長さ7mm、径1mmに及んだ。Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂の化学量論組成を有していた。
- (2) TCPとCaCO₃を用いた高圧Arガス下でのフラックス法により、CApの単結晶育成に成功した。得られた結晶は六角柱状であり、長さ5mm、径5μmに及んだ。Aサイト、BサイトともにCO₃イオンが置換しており、組成はCa_{9.75}[(PO₄)_{5.5}(CO₃)_{0.5}](CO₃)_{1.0}であった。
- (3) Ca₃(PO₄)₂-CaCO₃-Ca(OH)₂系のフラックス法により Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂-Ca_{9.75}[(PO₄)_{5.5}(CO₃)_{0.5}](CO₃)_{1.0}間の連続固溶体の単結晶を得た。出発原料の組成を調整することによって、結晶中のCO₃量を制御す

ることに成功した。A サイトと B サイトの CO_3 量には相関が認められ、両サイトの CO_3 置換には複合的メカニズムが存在することが示された。

(4) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$ 系のフラックス法により、 $\text{Ca}_{8.8}\text{Na}_{1.2}[(\text{PO}_4)_{4.8}(\text{CO}_3)_{1.2}]\text{CO}_3$ の単結晶が得られた。フラックス法において Na イオンの導入により B サイトの CO_3 置換が促進されることが明らかになった。

2. 2 水酸アパタイトの結晶構造解析

2. 2. 1 はじめに

水酸アパタイト (HAp) の構造解析は Posner ら²⁹⁾, Kay ら³⁰⁾, Hughes ら³¹⁾などによって行われ、フッ素アパタイトの構造 ($a=0.9367(1)\text{nm}$, $b=0.6884(1)\text{nm}$ ($P6_3/m$))³²⁾に類似するものとされた。しかし、Elliott¹⁰⁾ は化学量論比の HAp は室温では塩素アパタイトと同様 $P2_1/b$ の空間群を持つと報告し、さらに、約 200°C で六方晶系 $P6_3/m$ に相転移することが明らかとなった。一方非化学量論アパタイト、特に Ca 欠損アパタイトは室温でも $P6_3/m$ の六方対称性を有することが知られている。

その後、空間群 $P2_1/b$ に基づいた HAp の構造解析が粉末試料を用いて行われ、以下のような基本構造が明らかになった。すなわち、A サイトの OH イオンは O-H 結合を c 軸にほぼ平行にして、 b 映進面上からわずかに離れた位置に存在する。したがって OH イオンの b 映進面からのずれおよび O → H の方向は、 a 軸方向に見ると変化がないが b 軸方向については b 映進面の対称操作にしたがって交互に変化し、 b 軸方向の周期は a 軸の 2 倍になる。

近年でも化学量論比 HAp の構造解析が OH イオンの詳細な構造決定を決定するために行われてきたが、双晶をなさない单斜晶単結晶の育成が困難であることが詳細な解析を困難にしてきた。唯一、塩素アパタイトを水蒸気気流中で処理することにより合成した HAp 单斜晶単結晶を用いて、Elliott ら³³⁾が X 線構造解析を行った報告例があるが、ここで用いられた結晶は单斜晶ではあるが双晶をなしていた。本節では 2.1 節で合成された双晶をなさない化学量論比单斜晶 HAp の単結晶を用いて詳細な X 線構造解析を行った結果について報告する。

2. 2. 2 実験

2.1 節において記述した $\text{Ca}(\text{OH})_2$ フラックス法により合成された試料 No. 0 から、 $140\mu\text{m} \times 140\mu\text{m} \times 160$

μm の双晶をなさない空間群 $P2_1/b$ の単結晶を選び、X 線結晶構造解析の試料とした。回折強度データは、四軸回折計（リガク製 AFC-5R 型）を用い、回転対陰極 $\text{AgK}\alpha X$ 線で室温にて測定した（40kV, 180mA, モノクロメータ：グラファイト、検出器スリット幅： $1/2^\circ$ ）。短い波長を持つ $\text{AgK}\alpha$ 線は長い周期を持つ b 軸方向の走査には向きであるが、吸収効果が小さいため、H 原子の位置決定には適している。結晶の空間群と双晶の存在の有無の確認は、逆空間内 $hO1$, $Ok1$, $-hh1$ 方向の回折強度測定によって行った。

X 線回折データは $\omega-2\theta$ スキャン法により $8^\circ \leq 2\theta \leq 70^\circ$ の範囲 ($0 \leq h \leq 19$, $-30 \leq k \leq 30$, $-14 \leq l \leq 14$) について収集した。8892 個の独立回折データのうち強度が標準偏差 σ 以上のもの 7401 個を構造解析に用いた。格子定数は 25 個の回折点の 2θ の値を用いて最小 2 乗法により精密化した。結晶データと測定パラメータを表 2.6 に示す。

構造の精密化は解析プログラム Xtal 3.4³⁴⁾によって行った。等価回折データは Fisher 法を用いて平均化した。中性原子の散乱因子および異常散乱因子は International Tables for X-ray Crystallography, Vol.4³⁵⁾ の値を用いた。構造因子の重み付けは $1/\sigma^2(F)$ とした。計算においては Ca, PO_4 四面体の初期パラメータとして Elliott ら³³⁾の値を用いた。Ca, PO_4 四面体のパラメー

Table 2.6 Crystal data and data collection parameters for HAp structure analysis.

Formula:	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Spacegroup:	monoclinic $P2_1/b$ (No.14)
a :	$0.9419(3)\text{nm}$
b :	$1.8848(6)\text{nm}$
c :	$0.6884(2)\text{nm}$
γ :	$119.98(2)^\circ$
V :	$1.0586(6)\text{nm}^3$
Z :	2
D_{cal} :	3.152g/cm^3
Equipment:	Rigaku AFC-5R four-circle diffractometer
scan mode:	$\omega-2\theta$
scan speed:	$8^\circ/\text{min}$
Radiation:	$\text{AgK}\alpha (\lambda=0.05608\text{nm})$
μ :	1.49mm^{-1}
Crystal size:	$0.14 \times 0.14 \times 0.16\text{mm}$
h :	$0 \rightarrow 19$
k :	$-30 \rightarrow 30$
l :	$-14 \rightarrow 14$
R_{int} :	0.049
R_σ :	0.037
R_w :	0.033
Measured reflections:	18734
Independent reflections:	8892
Reflections used for the analysis ($I > \sigma(I)$):	7401

タを精密化した後, OH イオンの位置を差フーリエ電子密度マップから決定した。最終的にすべての原子のパラメータを完全マトリックスを用いた最小2乗法によって精密化した。

2. 2. 3 結果と考察

2. 2. 3. 1 空間群の決定

本構造解析に必要とされる試料は、空間群 $P2_1/b$ の対称性を持つ単結晶である。このような結晶を選定するため、四軸回折計で予備的な X 線強度の測定を行った。図2.10は逆空間における $hk1$ 面上の $h01$, $0k1$, $-hh1$ 方向に沿った X 線回折強度の走査結果を示す。解析上の便宜のため指数は六方晶系の座標系で与えてある。 $0\ 3/2\ 1$ および $0\ 5/2\ 1$ (○印) に明らかなピークが観測されるのに対して、 $-3/2\ 3/2\ 1$ および $-5/2\ 5/2\ 1$ (□) また $3/2\ 0\ 1$ および $5/2\ 0\ 1$ (△) にはピークが存在しない。これらの結果はこの結晶の格子定数 b が六方晶の場合の 2 倍であることを示している。したがってこの結晶は、Elliott ら³³⁾の用いた結晶が双晶をなしていたのに対して、完全な单斜晶単結晶であることが確認された。同様に $hk0$ 面上で $0k0$ に沿って走査を行った結果、 $0\ 3/2\ 0$ および $0\ 5/2\ 0$ に回折ピークが見られない(図2.11)ことから、 b 映進面が存在することが確認された。さらに同様の c^* 軸上の走査は $00l$ ($l=2n+1$) の回折点の消滅を示し(図2.12)，螺旋軸 2_1 の存在が示された。以上から、本結晶の空間群は $P2_1/b$ と確認された。

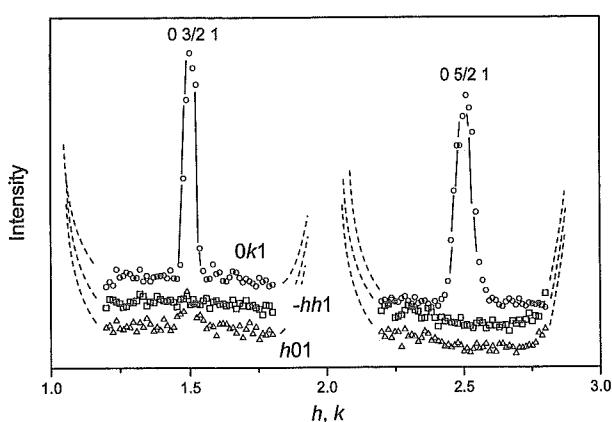


Fig. 2.10 X-ray diffraction intensity scanned along $h01$, $0k1$ and $-hh1$ on the first layer of HAp crystal. The indices are given for the hexagonal system. Extremely strong peaks are removed from the data, leaving gaps.

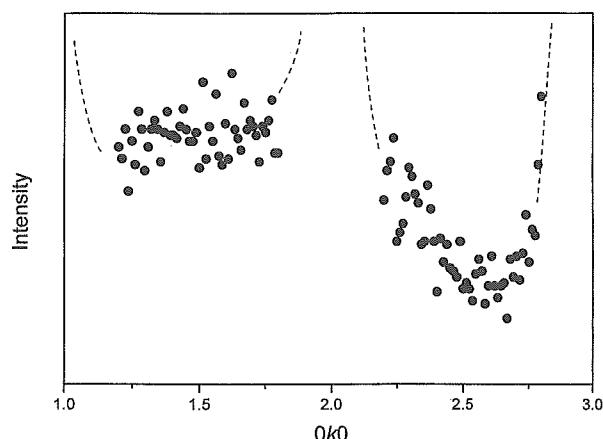


Fig. 2.11 X-ray diffraction intensity scanned along $0k0$ of HAp crystal. The indices are given for the hexagonal system. Extremely strong peaks are removed from the data, leaving gaps.

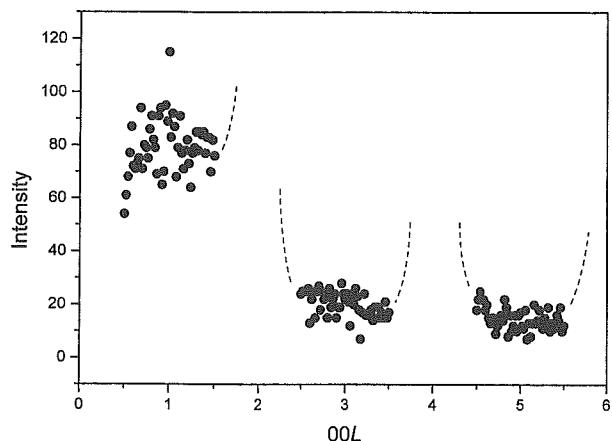


Fig. 2.12 Diffraction peaks along the c^* -axis of HAp crystal. Extremely strong peaks are removed from the data, leaving gaps.

2. 2. 3. 2 四軸回折計データによる構造解析

図2.13は構造モデル中に Ca, PO₄イオンのみを配置して計算された、 $x=0$ 断面における差フーリエ図である。等電子密度線の間隔は 2×10^2 electrons/nm³、実線と破線はそれぞれ正と負の値を示している。図中で電子密度のピークは、($x=0$, $y=0.25$, $z=0.2$), (0 , 0.25 , 0.3) およびそれらの等価点に存在する。これら 2 点は $z=0.25$ の b 映進面に対し鏡面対称の位置に存在する。最小2乗法による原子位置の精密化を行った結果、(0 , 0.25 , 0.3) のピークが OH イオンに相当すると考えられた。もう一方の点(0 , 0.25 , 0.2)に OH が存在すると仮定すると位置パラメータの精密化計算が収束しなかったため、このピークは微小なドメイン構造によりこの位置に存在する OH イオンによるもので、

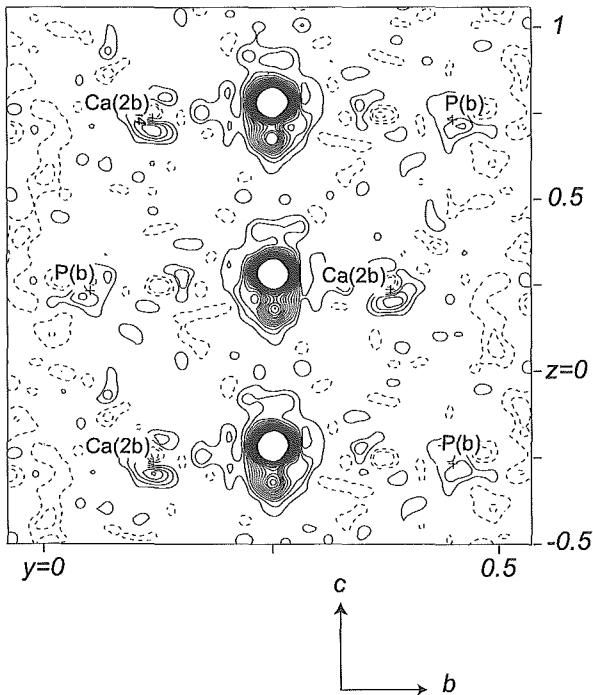


Fig. 2.13 D-Fourier map of the (100) plane for the present HAp crystal after the refinement for Ca and PO_4 group without OH. The contour is at an interval of $500/\text{nm}^3$. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

この位置の OH イオンの量が非常にわずかであるため、対称性には影響を及ぼさなかったものと考えられる。

図2.13では H イオンの位置を確認することはできないが、以上のような考察したがって OH イオンの O を構造モデル中に配置すると、差フーリエ図は図2.14 に示すように変化する。H イオンの X 線散乱因子は小さな $\sin\theta/\lambda$ においてのみ有意の値を持ち、大きな $\sin\theta/\lambda$ の回折に対しては構造因子に対する H の寄与は無視できるため、ここでは $\sin\theta/\lambda$ の値を 6nm^{-1} 以下に限定して計算を行っている。図中に、 $8 \times 10^2 \text{ electrons/nm}^3$ のピークが点(0, 0.27, 0.4)に見られる。OH の O とこのピーク位置の距離は 0.09nm で、一般の水酸化物中の O-H 間距離に等しい。したがってこの位置を H の位置と考えることができる。

図2.15は OH を含むすべての成分原子について完全マトリックスを用いて最小 2 乗法により精密化したパラメータから計算した $x = 0$ の差フーリエ図である。重みつき R 因子は 0.033、であり、ほとんどピークが認められない。本構造モデルの正当性が表されている。

表2.7、表2.8に最終的に精密化された位置パラメータと異方性温度因子を示す。図2.16と図2.17はそれぞれ(100)面と(001)面に投影した結晶構造図である。表

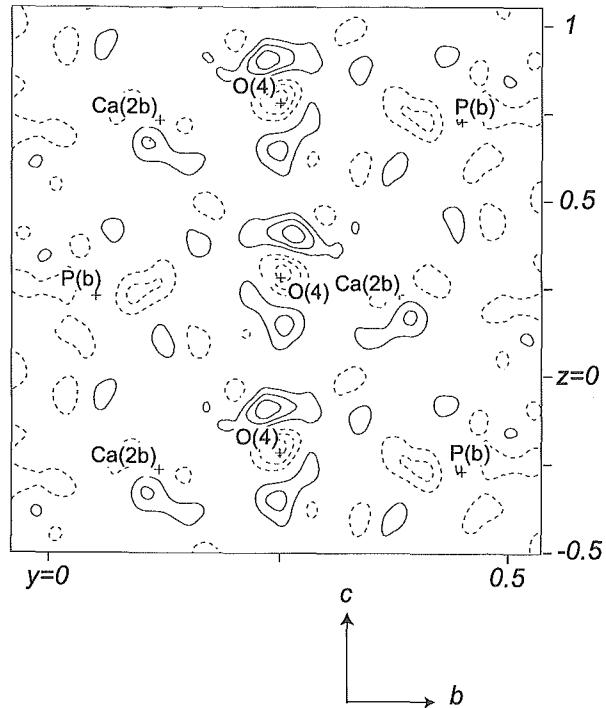


Fig. 2.14 D-Fourier map of the (100) plane for the present HAp crystal after the refinement for Ca, PO_4 group and hydroxy O without H. The contour is at an interval of $200/\text{nm}^3$. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

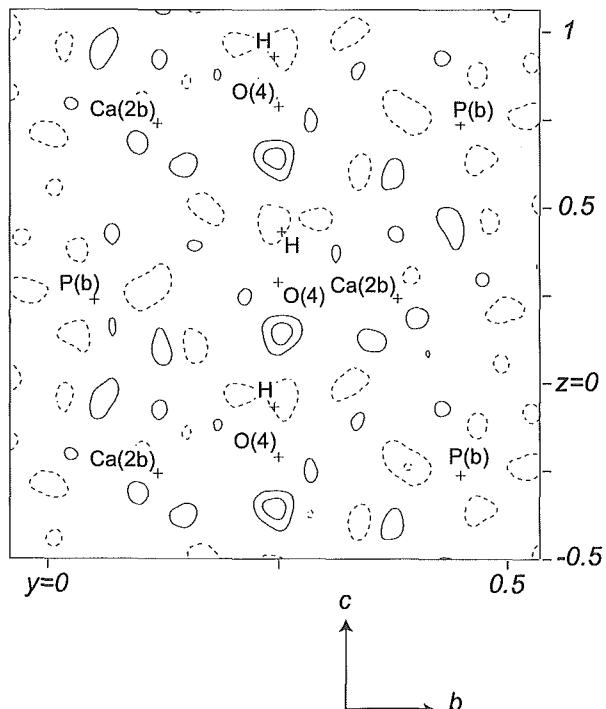


Fig. 2.15 D-Fourier map of the (100) plane for the present HAp crystal after the refinement for Ca, PO_4 group and OH. The contour is at an interval of $200/\text{nm}^3$. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

Table 2.7 Positional parameters for HAp.

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	<i>B</i> _{eq}
Ca(1)	.32641(6)	.58033(3)	.00081(7)	0.97 (1)
Ca(1')	.34044(6)	.58694(3)	.49779(7)	0.91 (1)
Ca(2a)	.24599(6)	.24649(3)	.25293(7)	0.86 (1)
Ca(2b)	-.00670(6)	.62305(3)	.74424(7)	0.85 (1)
Ca(2c)	.25397(6)	.37346(3)	.75590(7)	0.85 (1)
P(a)	.63125(7)	.26521(4)	.25469(9)	0.65 (2)
P(b)	.02971(7)	.44896(4)	.75148(9)	0.66 (2)
P(c)	.39787(7)	.43419(4)	.25468(9)	0.66 (2)
O(1a)	.4842(2)	.32788(11)	.7583(3)	1.06 (5)
O(1b)	.1567(2)	.58605(12)	.2465(3)	1.04 (5)
O(1c)	.3278(2)	.49213(12)	.2592(3)	1.06 (5)
O(2a)	.5345(2)	.31112(11)	.2437(3)	1.22 (6)
O(2b)	.1220(2)	.54334(11)	.7334(3)	1.13 (6)
O(2c)	.5863(2)	.48253(12)	.2377(3)	1.14 (6)
O(3a)	.7465(2)	.29076(12)	.0785(3)	1.41 (6)
O(3b)	.0792(3)	.41302(14)	.5820(3)	1.40 (6)
O(3c)	.3278(3)	.37519(12)	.0820(3)	1.33 (6)
O(3'a)	.7376(2)	.29506(12)	.4376(3)	1.18 (6)
O(3'b)	.0893(2)	.42890(12)	.9401(3)	1.18 (6)
O(3'c)	.3565(3)	.38223(12)	.4399(3)	1.16 (6)
O(4)	-.0003(2)	.25007(13)	.3034(4)	1.19 (6)
H	-.005(4)	.253(2)	.437(6)	2.37 (158)

Table 2.8 Anisotropic thermal parameters of HAp.

	<i>U</i> ₁₁	<i>U</i> ₂₂	<i>U</i> ₃₃	<i>U</i> ₁₂	<i>U</i> ₁₃	<i>U</i> ₂₃
Ca(1)	.0138(2)	.0147(2)	.00830(18)	.00718(17)	.00022(15)	-.00041(15)
Ca(1')	.0128(2)	.0157(2)	.00810(17)	.00856(17)	.00006(15)	-.00045(15)
Ca(2a)	.01187(17)	.01270(19)	.00975(16)	.00734(14)	-.00021(16)	.00011(16)
Ca(2b)	.01130(17)	.01252(5)	.00964(16)	.00681(14)	-.00024(15)	.00036(15)
Ca(2c)	.01113(17)	.01312(2)	.00943(16)	.00706(14)	-.00017(15)	.00028(15)
P(a)	.0096(2)	.0098(2)	.0073(2)	.00637(19)	-.0002(2)	.0002(2)
P(b)	.0090(2)	.0094(2)	.0075(2)	.00516(18)	-.0003(2)	-.0003(2)
P(c)	.0084(2)	.0109(2)	.0075(2)	.00602(19)	-.0006(2)	-.0002(2)
O(1a)	.0186(8)	.0153(8)	.0122(7)	.0130(7)	-.0001(6)	.0003(6)
O(1b)	.0151(7)	.0105(7)	.0126(7)	.0054(6)	.0009(6)	-.0003(6)
O(1c)	.0090(6)	.0192(8)	.0129(7)	.0077(6)	.0005(6)	-.0004(7)
O(2a)	.0124(7)	.0148(8)	.0204(9)	.0077(6)	.0030(7)	.0007(7)
O(2b)	.0125(7)	.0131(8)	.0213(9)	.0094(6)	-.0012(7)	.0002(7)
O(2c)	.0133(7)	.0094(7)	.0210(9)	.0057(6)	.0012(6)	.0017(6)
O(3a)	.0136(12)	.0162(9)	.0107(7)	.0158(9)	-.0073(7)	-.0033(6)
O(3b)	.0144(9)	.0192(10)	.0127(8)	.0033(7)	.0055(6)	-.0016(6)
O(3c)	.0181(9)	.0281(11)	.0125(8)	.0176(9)	-.0028(6)	-.0067(7)
O(3'a)	.0199(9)	.0175(9)	.0111(7)	.0122(7)	.0033(6)	.0048(6)
O(3'b)	.0151(8)	.0158(9)	.0106(7)	.0054(7)	-.0033(6)	.0016(6)
O(3'c)	.0147(8)	.0204(10)	.0109(7)	.0102(7)	.0001(6)	.0029(6)
O(4)	.0103(8)	.0128(9)	.0222(11)	.0058(7)	-.0010(6)	-.0025(7)

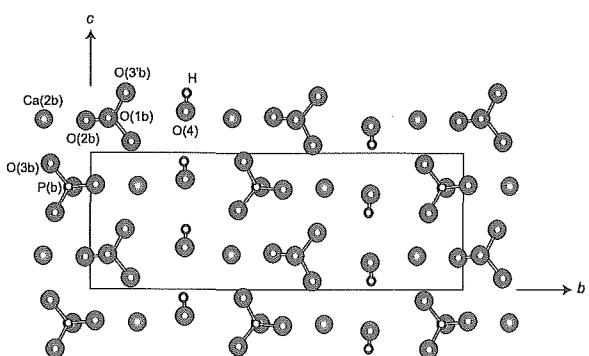


Fig. 2.16 The atomic configuration in HAp projected on the (100) plane.

2.9に原子間の結合距離と結合角度を示す。六方晶のHApと比較した際の单斜晶のHApの大きな違いは、

Table 2.9 Bond lengths and angles formed in the HAp structure. The parameters calculated on the basis of hexagonal symmetry is cited from [Hughes et al. (1989)³¹⁾].

	HAp	HAp (hexagonal)
P(a)-O(1a)	0.1535 (2)	0.1534
P(a)-O(2a)	0.1541 (3)	0.1537
P(a)-O(3a)	0.1536 (2)	0.1529
P(a)-O(3'a)	0.1531 (2)	
P(b)-O(1b)	0.1536 (2)	
P(b)-O(2b)	0.1546 (2)	
P(b)-O(3b)	0.1534 (3)	
P(b)-O(3'b)	0.1535 (2)	
P(c)-O(1c)	0.1533 (3)	
P(c)-O(2c)	0.1542 (2)	
P(c)-O(3c)	0.1533 (2)	
P(c)-O(3'c)	0.1535 (2)	
O(1a)-P(a)-O(2a)	111.27 (12)	111.04
O(1a)-P(a)-O(3a)	110.94 (12)	111.43
O(1a)-P(a)-O(3'a)	111.51 (11)	
O(2a)-P(a)-O(3a)	108.00 (13)	107.51
O(2a)-P(a)-O(3'a)	107.23 (13)	
O(3a)-P(a)-O(3'a)	107.71 (11)	107.73
O(1b)-P(b)-O(2b)	111.08 (14)	
O(1b)-P(b)-O(3b)	110.57 (11)	
O(1b)-P(b)-O(3'b)	111.51 (11)	
O(2b)-P(b)-O(3b)	109.07 (12)	
O(2b)-P(b)-O(3'b)	106.68 (11)	
O(3b)-P(b)-O(3'b)	107.78 (15)	
O(1c)-P(c)-O(2c)	111.05 (12)	
O(1c)-P(c)-O(3c)	110.48 (14)	
O(1c)-P(c)-O(3'c)	112.05 (13)	
O(2c)-P(c)-O(3c)	108.71 (13)	
O(2c)-P(c)-O(3'c)	106.87 (12)	
O(3c)-P(c)-O(3'c)	107.52 (11)	
O(1a)-O(2a)	0.2539 (3)	0.2531
O(1a)-O(3a)	0.2530 (2)	0.2531
O(1a)-O(3'a)	0.2534 (2)	
O(2a)-O(3a)	0.2489 (4)	0.2473
O(2a)-O(3'a)	0.2473 (3)	
O(3a)-O(3'a)	0.2477 (3)	0.2471
O(1b)-O(2b)	0.2542 (2)	
O(1b)-O(3b)	0.2523 (3)	
O(1b)-O(3'b)	0.2539 (3)	
O(2b)-O(3b)	0.2508 (3)	
O(2b)-O(3'b)	0.2472 (3)	
O(3b)-O(3'b)	0.2479 (3)	
O(1c)-O(2c)	0.2535 (4)	
O(1c)-O(3c)	0.2519 (3)	
O(1c)-O(3'c)	0.2544 (4)	
O(2c)-O(3c)	0.2500 (3)	
O(2c)-O(3'c)	0.2471 (3)	
O(3c)-O(3'c)	0.2474 (3)	
Ca(2c)-Ca(2a)	0.4082 (1)	0.4085
Ca(2a)-Ca(2b)	0.4089 (1)	
Ca(2b)-Ca(2c)	0.4080 (2)	

Hの2₁螺旋軸からわずかにずれており、それに伴ってPO₄のOのうちO(3)とO(3')がシフトしている点である。このことはHとO(3)およびO(3')の距離を比較することによって確認できる。H-O(3a), H-O(3b), H

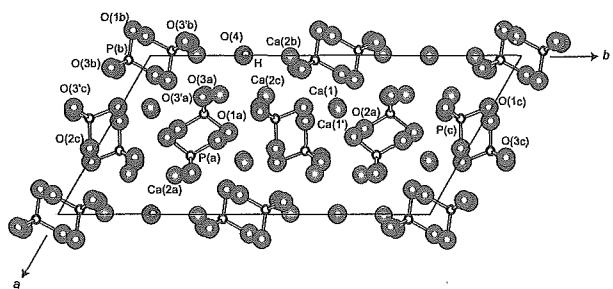


Fig. 2.17 The atomic configuration in HAp projected on the (001) plane.

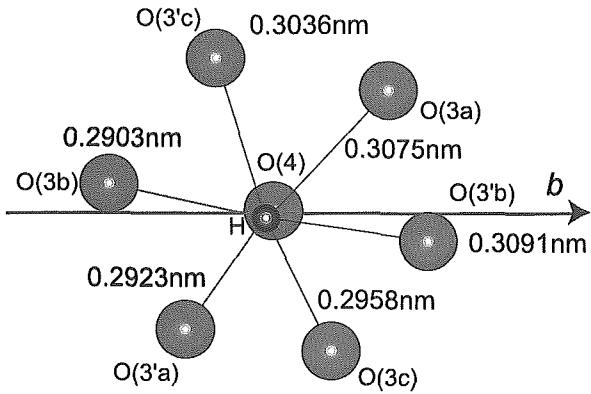


Fig. 2.18 Distances between hydroxy H and O(3)'s of PO_4 in HAp.

$-\text{O}(3\text{c})$ の距離はそれぞれ 0.3075, 0.2903, 0.2958 nm であり, $\text{H}-\text{O}(3'\text{a})$, $\text{H}-\text{O}(3'\text{b})$, $\text{H}-\text{O}(3'\text{c})$ の距離は 0.2923, 0.3091, 0.3036 nm である [図2.18]。特に短い $\text{H}-\text{O}(3\text{b})$ と $\text{H}-\text{O}(3'\text{a})$ の距離から、これらの原子が他と比較して特に強い結合を有していることがわかる。

2. 2. 4 まとめ

単斜晶単結晶を用いた HAp の構造解析の結果、水酸基の H の位置を正確に求めることができた。H は 2_1 螺旋軸からわずかにシフトした位置に存在しており、 PO_4 の O(3) 群のうち一部と相対的に強い結合を有していることが明らかとなった。

2. 3 炭酸アパタイトの結晶構造解析

2. 3. 1 はじめに

炭酸アパタイト (CAp) の構造解析は多年にわたり多くの鉱物学者、生物学者の興味をひきつけてきたテーマである。 CO_3 イオンを含有した水酸アパタイト (HAp) が、化学量論的な HAp よりもさらに脊椎動物の硬組織の無機成分に近い^{36,37)}ことから、その結晶構造の理解が生体内で起こる骨のリモデリング機構を理解する基本的知見となるからである。しかし、多くの研究が試みられてきたにもかかわらず、 CO_3 イオンのアパタイト結

晶中の正確な位置は未だ不明である。これは X 線構造解析のために充分なサイズの単結晶が得難いことに起因する。

OH サイト (A サイト) の CO_3 イオンについては、HAp の粉末を乾燥した CO_2 ガス中で 1000°C にて加熱処理することによって得られた^{38,39)} CAp ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$) を用いて、配向に関する研究が行われている。A 型化学量論 CAp の空間群は粉末 X 線回折の結果から单斜晶系 Pb と決定されている¹⁷⁾。また、歯のエナメル質から得られる配向した A 型炭酸アパタイト試料の偏光赤外吸収スペクトルの解析結果から、c 軸と CO_3 三角形のなす角度は 27° 以下であると報告されている^{23,40)}。

リン酸サイト (B サイト) の CO_3 イオン三角形の配置については同じく偏光赤外吸収スペクトル測定の結果から、c 軸に対して斜めに配置している、すなわち PO_4 四面体の 4 つの面のうち、c 軸に対して斜めの面に平行であると考えられている。

2. 3. 2 実験

本節で用いられた試料は 2.1 節における試料 No. 5 である。

まず、結晶のひとつを c 軸に平行な面で切断・研磨して、赤外吸収スペクトル測定の試料とした。測定には 400 倍の光学顕微鏡を備えたフーリエ変換赤外 (FT-IR) 分光器 (パーキンエルマー Spectrum2000) を用いた。直線偏光赤外線を試料の研磨面に対して垂直に入射し、その偏光面を回転させ、 CO_3 イオンによる反射スペクトルの吸収の変化を測定した。白金鏡の反射スペクトルからバックグラウンドを決定し、測定データを補正した。

次に $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ のサイズを持つ結晶を選定し、プリセッション写真撮影と四軸 X 線回折データ収集を行った。プリセッション写真の撮影は管球 $\text{MoK}\alpha$ 線 (40kV , 20mA) を用いた。回折強度データの測定は、四軸回折計 (リガク AFC-5R) を用いて回転対陰極 $\text{AgK}\alpha$ 線 (40kV , 180mA , モノクロメータ: グラファイト, 検出器スリット幅: $1/2^\circ$) で室温にて行った。構造解析のための回折データは ω - 2θ スキャン法により $8^\circ 2\theta/\text{min}$ の速度で $4^\circ \leq 2\theta \leq 70^\circ$ ($-19 \leq h \leq 19$, $-19 \leq k \leq 19$, $-14 \leq l \leq 14$) について収集した。1699 個の独立回折データのうち強度が標準偏差 σ 以上のもの 1574 個を構造解析に用いた。格子定数は 25 個の回折点の 2θ の値から最小二乗法によって精密化した。結晶データと測定パラメータを表2.10 に示す。

構造の精密化は解析プログラム Xtal 3.4³⁴⁾ を用いて

Table 2.10 Crystal data and data collection parameters for CAp structure analysis.

Formula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$
 Spacegroup: hexagonal $P\bar{6}$ (No.174)
 $a=0.9480(3)\text{nm}$
 $c=0.6898(1)\text{nm}$
 $V=0.5370(3)\text{nm}^3$
 $Z=1$
 $D_{\text{cal}}=3.187\text{g/cm}^3$
 Equipment: Rigaku AFC-5R four-circle diffractometer
 scan mode: $\omega-2\theta$
 scan speed: $8^\circ/\text{min}$
 Radiation: $\text{AgK}\alpha (\lambda=0.05608\text{nm})$
 $\mu=1.43\text{mm}^{-1}$
 Crystal size: $0.20\times0.20\times0.20\text{mm}$
 $h=-19\rightarrow19$
 $k=-19\rightarrow19$
 $l=-14\rightarrow14$
 $R_{\text{int}}=0.014$
 $R_\sigma=0.009$
 $R_w=0.027$
 Measured reflections: 20008
 Independent reflections: 1699
 Reflections used for the analysis ($I > \sigma(I)$): 1574

行った。等価回折データは Fisher 法を用いて平均化した。中性原子の散乱因子および異常散乱因子は International Tables for X-ray Crystallography, Vol.4³⁵⁾の値を用いた。構造因子の重み付けは $1/\sigma^2(F)$ とした。B サイトを置換した CO_3 イオン量は小さいため構造因子にほとんど影響を与える、またその位置決定も困難であるため、構造解析における組成は $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ であると近似した。計算においては Ca, PO_4 四面体の初期パラメータとして 2.2 節で決定した HAp の解析結果を用いた。Ca, PO_4 四面体のパラメータを精密化した後、 CO_3 イオンの位置を差フーリエ電子密度マップから決定した。最終的にすべての成分原子について、完全マトリックスを用いた最小 2 乗法によってパラメータを精密化した。

2. 3. 3 結果と考察

2. 3. 3. 1 空間群の決定

A 型化学量論 CAp の空間群は粉末 X 線回折の結果から单斜晶系 Pb ($a=0.9577(3)\text{nm}$, $b=2a$, $c=0.6872(2)\text{nm}$, $\gamma=120.36(4)^\circ$) であると報告されている¹⁷⁾。一方 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6[(\text{CO}_3)_{0.23}(\text{OH})_{1.54}]$ の組成を持つ CO_3 含有 HAp の空間群が六方晶系 $P\bar{6}$ ($a=0.947(1)\text{nm}$, $c=0.689(1)\text{nm}$) と報告されている⁴¹⁾。单斜晶系の場合の単位胞は六方晶の単位胞を b 軸方向に 2 個連結したものと同じ大きさである。したがって、もし結晶

が c 軸に垂直な b 映進面を持つ单斜晶系に属するならば、逆空間の $hk1$ 面上において、六方晶の回折パターンに加えて回折点間に单斜晶の b 周期に対応する回折点が観察されるはずである。一方、 $hk0$ 面における回折パターンは b 映進面の存在に伴う消滅則 ($k=2n+1$ が消滅) のため、六方晶の回折パターンと同様になる。図 2.19 は $hk0$ および $hk1$ 面のプリセッション写真である。

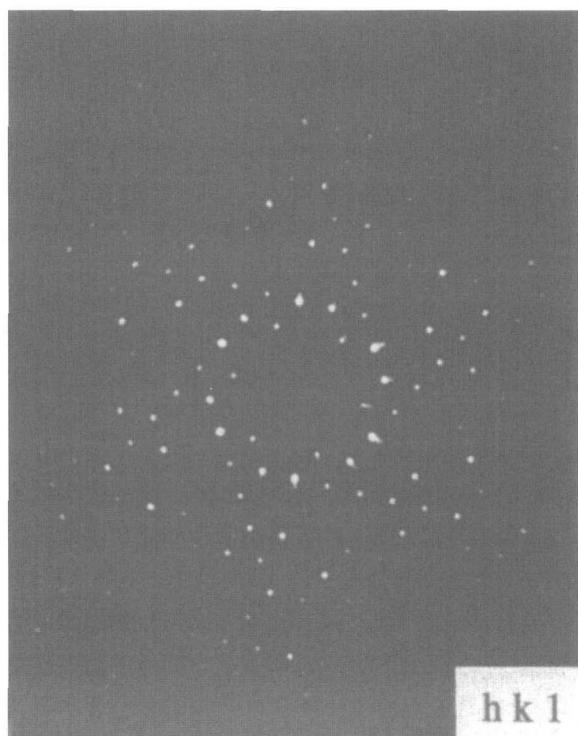
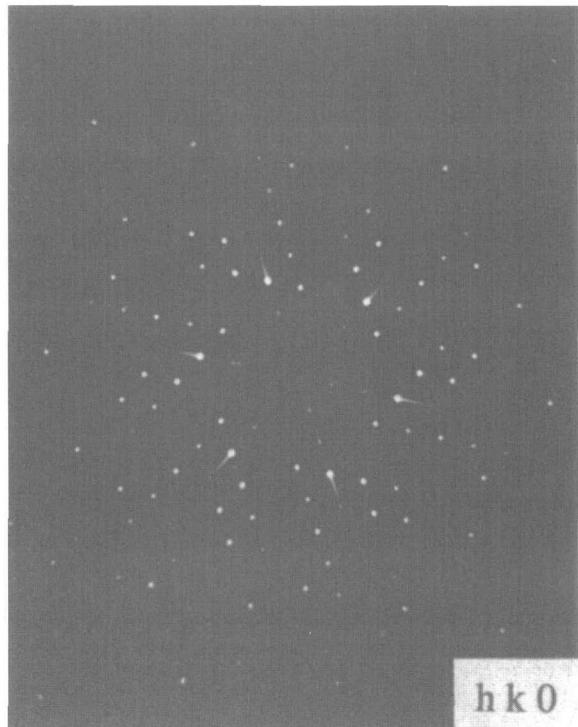


Fig. 2.19 Precession photographs of CAp. Upper: $hk0$ diffraction, lower: $hk1$ diffraction.

いずれの写真にも六回対称のパターンが見られる。また $hk1$ 面において回折点 $hk1$ と $h k+1$ の間に回折点が見られない。これらの回折点が存在しないことを確認するため、四軸回折計を用いて $h01$, $0k1$, $-hh1$ の 3 方向について X 線回折強度の走査を行った。その結果を図2.20に示す。指数は六方晶の座標系で与えてある。もしこの結晶が空間群 Pb に属するならば回折点が観測されるはずの位置 ($h, k=1/2, 3/2, 5/2, 7/2$ の各点) には回折ピークは現れていない。したがって本結晶は六方晶系に属すると結論される。前出の Elliott ら¹⁷⁾, Ito⁴¹⁾による報告と本報告では試料結晶の合成方法が異なることから, CO_3 イオンの配向状態は合成条件に大きく影響されるものと推察される。

図2.21は c^* 軸に沿った回折強度走査結果である。

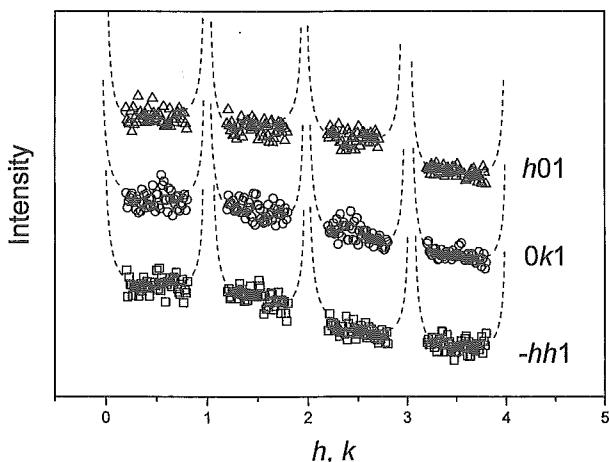


Fig. 2.20 Intensity variation of X-ray diffraction scanned along $h01$, $0k1$ and $-hh1$ of CAp crystal. Extremely strong peaks are removed from the data, leaving gaps.

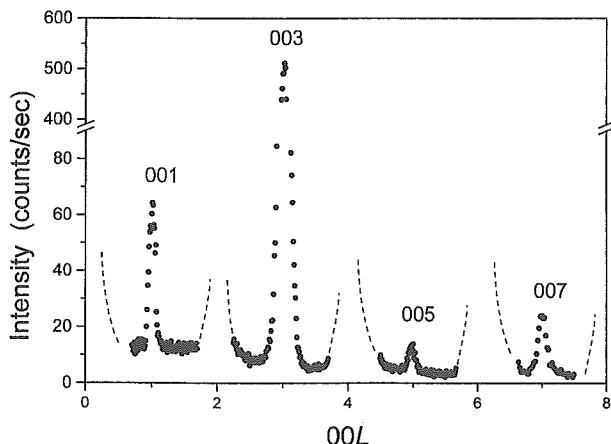


Fig. 2.21 Intensity variation of X-ray diffraction scanned along c^* -axis of CAp crystal. Extremely strong peaks are removed from the data, leaving gaps.

001 , 003 , 005 , 007 の各点に回折ピークが認められる。 $00l$ ($l=2n+1$) の回折は本結晶が螺旋軸を有しないことを示しており、これは Elliott ら¹⁷⁾, Ito⁴¹⁾の結果と一致する。以上のことから可能な空間群は $P6$, $P6/m$, $P\bar{6}$ のいずれかということになるが、アパタイトの基本構造から考えて $P\bar{6}$ のみが本結晶の空間群として適当となる。

2. 3. 3. 2 偏光赤外吸収分光法による炭酸イオンの配向決定

図2.22は CO_3 イオンの面外振動に対応する偏光赤外吸収スペクトルである。実線, 破線, 点線はそれぞれ入射赤外線の電場ベクトルが試料結晶の c 軸に対して平行, 45° , 垂直の場合を示す。本図は反射スペクトルを Kramers-Krönig の関係式によって吸収スペクトルに換算したものである。

図2.22で, 882cm^{-1} , 873cm^{-1} のピークはそれぞれ A サイトおよび B サイトの CO_3 イオンの ν_2 振動による吸収である^{23,26)}。 ν_2 モードは平面形である CO_3 イオンの面外振動であり、したがって赤外線の電場ベクトル E が CO_3 イオンの三角形面に垂直のときに吸収ピークが最大となるはずである。A サイトの CO_3 イオンに対応する吸収ピークは $E \perp c$ の場合に最大となり, $E // c$ の場合にはほぼ 0 になる。したがって A サイトの CO_3 イオン

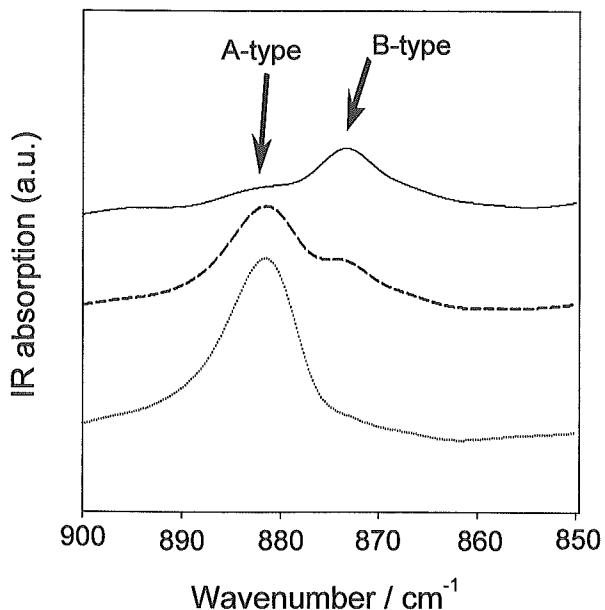


Fig. 2.22 Angular dependence of polarized IR absorption spectra by out-of-plane bending vibration (ν_2) of CO_3 in CAp. Solid line: electric vector is parallel to the c -axis, broken line: electric vector is 45° to the c -axis, and dotted line: electric vector is perpendicular to the c -axis.

は c 軸に平行に配置していると結論される。一方 B サイトの CO_3 イオンによる吸収ピークは A サイトのものと逆の傾向で変化しており、B サイトの CO_3 イオンは c 軸に垂直に配置していると考えられる。同様に図2.23 は CO_3 イオンの面内振動 ν_3 による赤外吸収スペクトルである。ここでは対称性の低下による脱縮重のため、 ν_3 モードはさらに 2 つのピーク (ν_{3a} および ν_{3b}) に分離している。1410 cm^{-1} および 1540 cm^{-1} のピークが、それぞれ B サイトの CO_3 イオンの ν_{3a} 振動と、A サイトの CO_3 イオンの ν_{3b} 振動に対応する。1460 cm^{-1} のピークは A サイトの ν_{3a} 振動と B サイトの ν_{3b} 振動が重なったものである^{23,26)}。図2.23 で、A サイトの炭酸イオンによる ν_{3a} 振動は、入射赤外線の E と c 軸のなす角度が大きくなるにつれて減少し、 ν_{3a} 振動は逆に増大する。したがって ν_{3a} 振動の振動方向すなわち A サイトの CO_3 イオン中の 3 つの C-O 結合のうちひとつが c 軸に平行であることがわかる。B サイトの CO_3 イオンについては ν_{3a} 振動のピークが E と c 軸の角度に伴って増大しており、図2.22 から得られた結論と一致する。

X 線回折から得られた結果から本結晶の空間群が $P\bar{6}$ であることがわかった。この空間群では A サイトの CO_3 イオンが存在する場所に $\bar{6}$ 軸が存在する。偏光赤外線吸収分光法の結果から明らかになったように、A サイトの CO_3 イオンはその三角形面を c 軸に平行にして配置している。この結果、 CO_3 イオンは $\bar{6}$ 軸上で 3 種類の等価な向きに存在し得る。すなわちこの 3 通りの配置がランダムに占有されているならば空間群 $P\bar{6}$ の対称は維持されるが、もし別の形式で CO_3 イオンが配向しているならば、空間群もまた別のものとなり得る。Elliott

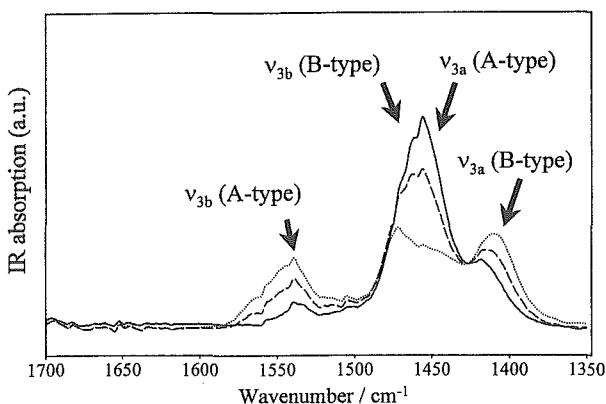


Fig. 2.23 Angular dependence of polarized IR absorption spectra by in-plane bending vibration (ν_3) of CO_3 in CAp. Solid line: electric vector is parallel to the c -axis, broken line: electric vector is 45° to the c -axis, and dotted line: electric vector is perpendicular to the c -axis.

ら¹⁷⁾の結果は、空間群 $P\bar{6}$ の対称性を満たすひとつの配向方法を示している。

2. 3. 3. 3 X 線 4 軸回折計データによる構造解析

まず、Ca および PO_4 の位置を HAp の構造を元に精密化し、 $y = 0$ における差フーリエマップを算出した。図2.24 にその結果を示す。等電子密度線の間隔は 5×10^2 electrons/nm³ であり、実線と破線はそれぞれ正と負の値を示す。

図2.24 で、($x=0$, $y=0$, $z=0.24$) と (0 , 0 , 0.05) の位置にピークが見られる。これらのピークのいずれかが A サイトの CO_3 イオンの C または O に相当すると考えられる。 $(0, 0, 0.24)$ に C, $(0, 0, 0.05)$ に O を配置すると差フーリエ図と R 因子の計算結果が良く収束した。 $(0, 0, 0.45)$ に存在するピークはこの結晶の対称性が $P6_3/m$ のものに非常に近いために生じたものと考えられる。O を $(0, 0, 0.45)$ に配置すると、 $(0, 0, 0.05)$ に配置した場合と比較して、原子パラメータは本質的に等しいにもかかわらず R 因子が大きくなつた。) この場合 C-O 結合のうちひとつが軸上に存在すること

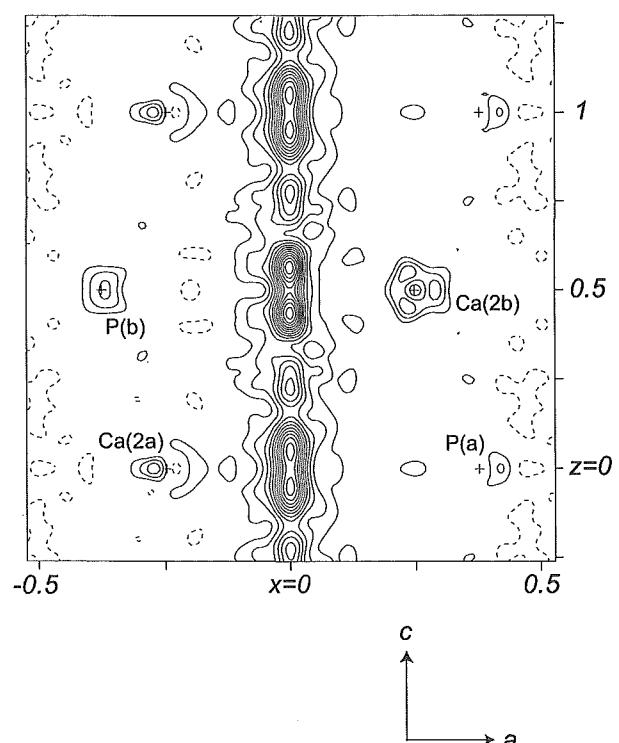


Fig. 2.24 D-Fourier map of the (010) plane for the present CAp crystal after the refinement for Ca, PO_4 group without CO_3 . The contour is at an interval of 500/nm³. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

になり、偏光赤外吸収分光測定の結果と一致する。

図から C と O の距離は 0.13nm と計算され、一般の炭酸化合物における C-O 間距離に一致する。さらに、それぞれのピークの高さも C と O の電子数とほぼ一致する。以上の結果から、C とひとつの O をそれぞれ(0,

0, 0.24) および(0, 0, 0.05) に配置する。

CO_3 のうち残りの 2 個の O (O(5) および O(6)) については、それらの電子密度が統計分布により O の 1/6 の値しか持たないため、差フーリエ図上で見出すことができなかった。しかし、位置パラメータの精密化の計算によってその位置は収束した。最小 2 乗法計算においては C-O 間距離と O-C-O の角度をそれぞれ 0.128 nm および 120° の近傍に制限し、計算の結果が CO_3 三角形から大きく変形することを避けた。図 2.25 は、 CO_3 イオンを含むすべての原子について完全マトリックスによる最小 2 乗法計算によりパラメータを精密化した後の差フーリエ図である。最終的な重みつき R 因子は 0.027 であり、図中に有意なピークは見られない。

表 2.11 および表 2.12 に位置パラメータと異方性温度因子を、図 2.26 と図 2.27 に (010) 面および (001) 面に投影した構造図を示す。図中にはひとつの単位胞中の 6

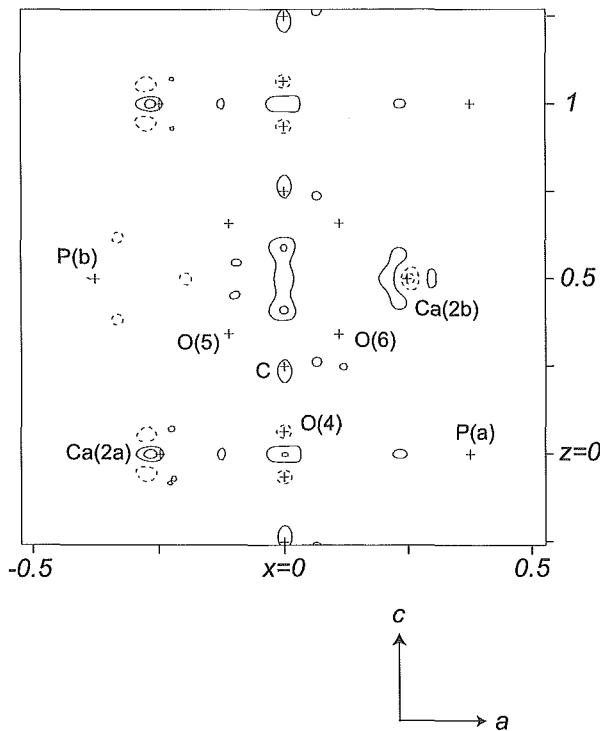


Fig. 2.25 D-Fourier map of the (010) plane for the present CAp crystal after the refinement for Ca, PO_4 group and CO_3 . The contour is at an interval of $500/\text{nm}^3$. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

Table 2.11 Positional parameters of CAp.

Site occupation	x	y	z	B_{eq}
Ca(1a)	1	2/3	1/3	0.2487(2)
Ca(1b)	1	1/3	2/3	0.2538(2)
Ca(2a)	1	0.7517(2)	0.7410(2)	0
Ca(2b)	1	0.2497(2)	0.2608(2)	1/2
P(a)	1	0.3708(3)	0.4019(3)	0
P(b)	1	0.6285(3)	0.5985(3)	1/2
O(1a)	1	0.4853(7)	0.3326(7)	0
O(1b)	1	0.5157(7)	0.6712(7)	1/2
O(2a)	1	0.4623(8)	0.5875(7)	0
O(2b)	1	0.5305(8)	0.4154(9)	1/2
O(3a)	1	0.2611(6)	0.3542(7)	0.1828(5)
O(3b)	1	0.7377(7)	0.6606(8)	0.3283(5)
C	1/2	0	0	0.2491(15)
O(4)	1/2	0	0	0.0642(14)
O(5)	1/6	0.1249(13)	0.0239(29)	0.3418(19)
O(6)	1/6	-0.1271(16)	-0.0276(48)	0.3411(21)
				18.95 (71)

Table 2.12 Anisotropic thermal parameters of CAp.

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{12}	U_{13}	U_{23}
Ca(1a)	0.0200(5)	0.0200(5)	0.0082(3)	0.0100(2)	0	0
Ca(1b)	0.0184(6)	0.0184(6)	0.0188(5)	0.0092(3)	0	0
Ca(2a)	0.0317(10)	0.0328(11)	0.0249(6)	0.0215(9)	0	0
Ca(2b)	0.0250(8)	0.0258(8)	0.0142(4)	0.0161(7)	0	0
P(a)	0.0180(10)	0.0214(11)	0.0114(6)	0.0146(9)	0	0
P(b)	0.0168(10)	0.0156(10)	0.0111(6)	0.0096(8)	0	0
O(1a)	0.0348(27)	0.0451(28)	0.0222(19)	0.0291(23)	0	0
O(1b)	0.0128(20)	0.0124(18)	0.0166(18)	0.0100(16)	0	0
O(2a)	0.0210(24)	0.0133(21)	0.0794(47)	0.0061(19)	0	0
O(2b)	0.0373(33)	0.0402(34)	0.0913(53)	0.0291(29)	0	0
O(3a)	0.0302(18)	0.0560(23)	0.0143(11)	0.0347(18)	0.0123(11)	0.0138(12)
O(3b)	0.0751(29)	0.1359(40)	0.0447(19)	0.0859(31)	0.0344(20)	0.0518(23)
C	0.0694(67)	0.0694(67)	0.1638(202)	0.0347(33)	0	0
O(4)	0.0186(18)	0.0186(18)	0.0492(47)	0.0093(9)	0	0
O(5)	0.3552(399)	0.0637(150)	0.2453(246)	0.1348(228)	-0.2712(289)	-0.0949(181)
O(6)	0.2137(1221)	0.1077(257)	0.3833(1336)	0.0766(554)	0.2621(1194)	0.1355(588)

Table 2.13 Interatomic distance and bond angle of CAp.

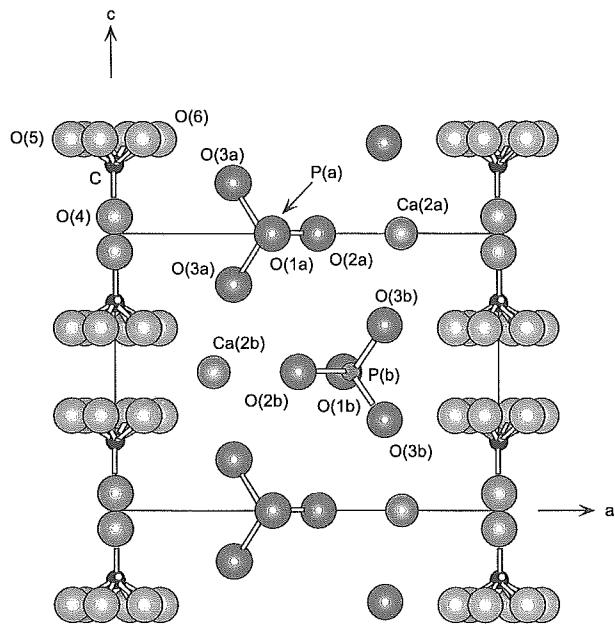


Fig. 2.26 The atomic configuration in CAp projected on the (010) plane. Six equivalent positions of CO_3 in a unit cell were statistically occupied by one CO_3 ion.

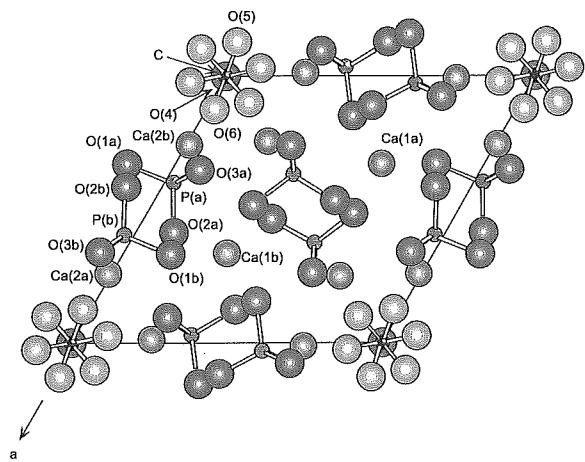


Fig. 2.27 The atomic configuration in CAp projected on the (001) plane. Six equivalent positions of CO_3 in a unit cell were statistically occupied by one CO_3 ion.

箇所の等価な CO_3 イオンの位置が示されている。これら 6 箇所の位置は等確率に統計的に占有され、 $P\bar{6}$ の対称性を維持している。

表2.13にCApの結合距離および結合角度を示す。Aサイトの CO_3 イオン三角形の底辺に近い PO_4 について、 $\text{P}(\text{b})-\text{O}(\text{3b})$ の距離は表2.9のHApのものよりも短い。さらに、距離 $\text{O}(\text{3b})-\text{O}(\text{3b})$ 、角度 $\text{O}(\text{3b})-\text{P}(\text{b})-\text{O}(\text{3b})$ も有意に小さく、この位置の PO_4 四面体が c 軸方向に短縮していることを示している。また、Aサイトの CO_3 イオン三角形の頂点に近い PO_4 について、角度 $\text{O}(2\text{a})$

Phosphate tetrahedron

P(a)-O(1a)	0.1524 (9)
P(a)-O(2a)	0.1524 (6)
P(a)-O(3a)	0.1552 (4)
P(b)-O(1b)	0.1535 (11)
P(b)-O(2b)	0.1505 (16)
P(b)-O(3b)	0.1486 (12)
O(1a)-P(a)-O(2a)	112.38 (38)
O(1a)-P(a)-O(3a)	113.13 (30)
O(2a)-P(a)-O(3a)	104.35 (30)
O(3a)-P(a)-O(3a)	108.79 (29)
O(1b)-P(b)-O(2b)	110.55 (54)
O(1b)-P(b)-O(3b)	109.03 (57)
O(2b)-P(b)-O(3b)	111.25 (83)
O(3b)-P(b)-O(3b)	105.58 (85)

O(1a)-O(2a)	0.2533 (11)
O(2a)-O(3a)	0.2429 (6)
O(3a)-O(1a)	0.2566 (9)
O(3a)-O(3a)	0.2523 (5)
O(1b)-O(2b)	0.2498 (21)
O(2b)-O(3b)	0.2469 (10)
O(3b)-O(1b)	0.2460 (13)
O(3b)-O(3b)	0.2367 (5)

Carbonate triangle

C-O(4)	0.1275 (14)
C-O(5)	0.1263 (16)
C-O(6)	0.1269 (21)
O(4)-C-O(5)	120.44 (75)
O(5)-C-O(6)	119.52 (130)
O(6)-C-O(4)	120.02 (86)

Ca(2) triangle

Ca(2a)-Ca(2a)	0.4166 (4)
Ca(2b)-Ca(2b)	0.4195 (3)

-P(a)-O(3a) が小さく、O(1a)-P(a)-O(3a) が大きくなっていることは、O(3a) が O(6) からの斥力を受けて離れる傾向にあることを示す。

これらの特徴は、フラックス法による結晶成長の過程で B サイトに CO_3 イオンが導入される際、A サイトの CO_3 イオン三角形の底辺に近いサイトを優先的に占

有すると仮定すると上手く説明できる。

2. 3. 3. 4 A・B両サイトの CO_3 イオン置換の関係

CApの組成式は単純な電荷中性に基づいて $\text{Ca}_{10-x/2}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x](\text{CO}_3)$ のように与えることができる。Bサイトの CO_3 イオン量 x は常に Ca サイトの $x/2$ の欠陥を伴っている。この組成式では x は独立変数であるが、実際にフラックス法で合成した結晶では合成条件に関わらずほぼ $x=1/2$ で一定であった。この事実と構造解析の結果を比較し、A・B両サイトの CO_3 イオン置換の関係について以下のような考察を行った。

構造解析の結果から、Aサイトの CO_3 - CO_3 対の組合せには図2.28(a)～(d)に示される4通りが考えられる。同図(e)のような組合せは、電荷中性を維持するため(f)のような組合せ(2つのO(4)が接近しそぎるため明らかに不合理である)を伴う必要があり、その存在確率は非常に低いと思われる。4個の組合せのうち(d)の周囲では、3個のCa(2)イオンが陰イオンを介さずに直接向き合うことになって不安定なためCa欠損を生じ、さらに電荷中性を維持するためにこの近傍のBサイトに2個の CO_3 イオンが導入されると考える。(a)～(d)の組合せが等確率で現れるとするならば、単位胞あたり1/4個の(d)対が同数のCa欠損を伴って存在することになり、したがって $x=1/2$ となる。このような置換メカニズムでは、Bサイトの CO_3 イオンはAサイトの CO_3 イオン三角形の底辺に近いサイトを優先的に占有することになり、2.3.3.3で述べた結果とも合致する。

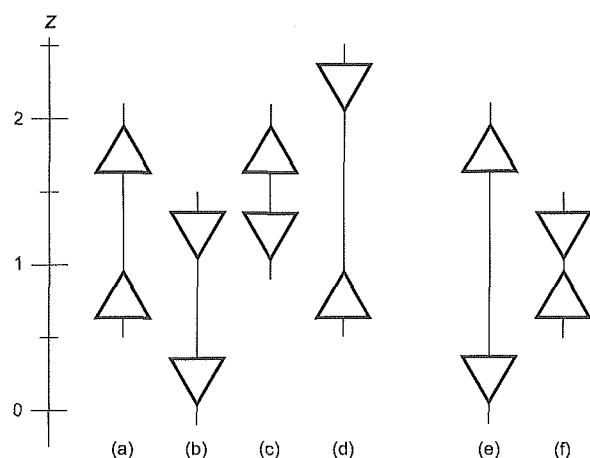


Fig. 2.28 Combination patterns of CO_3 - CO_3 pair in the A site.
Triangles represent CO_3 ions. Existence of pattern (e) or (f) is implausible.

2. 3. 4まとめ

- (1) CAp構造中の炭酸イオンの配置を偏光赤外吸収分光法により明らかにした。AサイトおよびBサイトを置換した CO_3 イオンの三角形平面は、 c 軸に対してそれぞれ平行および垂直に配置していることがわかった。
- (2) 単結晶X線構造解析により、Aサイトの CO_3 イオンの配置が明らかになった。 CO_3 イオンは、6回回反対称と鏡面対称で関連付けられた6箇所の等価な位置のうちひとつを、C-O結合のひとつが \bar{b} 軸上に存在するように位置する。6箇所のうちひとつを等確率で統計的に占有するため、見かけ上六方晶系の対称が保たれている。

参考文献

- 1) Hayek, W., Bohler, W., Lechlutner, J., Petter, H., Z. Anorg. Chem., 295, 241 (1958).
- 2) Perloff, A., Posner, A. S., Science, 124, 583 (1956).
- 3) Jullmann, H., Mosebach, R., Z. Naturforsch., 21b, 493-494 (1966).
- 4) Biggar, G. M., Mineral. Mag., 35, 1110-1122 (1966).
- 5) Kirn, J. F., Leidheiser, H., J. Crystal Growth 2, 111-112 (1968).
- 6) Roy, D. M., Mat. Res. Bull., 6, 1337-1340 (1971).
- 7) Eysel, W., Roy, D. M., J. Crystal Growth, 20, 245-250 (1973).
- 8) Mengeot, M., Harvill, M. L., Gilliam, O. R., Kostiner, E., J. Cryst. Growth, 19, 199-203 (1973).
- 9) Elliott, J. C., Young R. A., Nature, 214, 904-906 (1967).
- 10) Elliott, J. C., Nature Phys. Sci., 230, 72 (1971).
- 11) Elliott, J. C., Cal. Tissue Res., 3, 293-307 (1969).
- 12) Montel, G., Bull. Soc. Franc., Min. Crist. 94, 300-313 (1971).
- 13) Roy, D. M., Eysel, W., Dinger, D., Mat. Res. Bull. 9, 35 (1974).
- 14) Ito, A., Nakamura, S., Aoki, H., Akao, M., Teraoka, K., Tsutsumi, S., Onuma, K., Tateishi, T., J. Crystal Growth 163, 311-317 (1996).
- 15) LeGeros, R. Z., Nature, 206, 403-404 (1965).
- 16) Biggar, G. M., Mineral. Mag., 35, 1110-1122 (1966).
- 17) Elliott, J. C., Bonel, G., Trombe, J. C., J. Appl. Cryst., 13, 618-621 (1980).
- 18) Wyllie, P. J., Tuttle, O. F., J. Petrol., 1 [1], 1-46 (1960).
- 19) Baker, E. H., J. Chem. Soc. 464-470 (1962).
- 20) Wyllie, P. J., J. Am. Ceram. Soc., 50 [1], 43-46 (1967).

- 21) Eitel, W., *Schriften konigsberg gelehrler Ges. Naturw. Kl.*, 1, 159-179 (1924).
- 22) Bonel, G., Montel, G., *Comp. Rend. Acad. Sci.*, 258, 923-926 (1964).
- 23) Elliott, J. C., "The cristallographic structure of dental enamel and related apatites", PhD Thesis, University of London (1964).
- 24) Massuyes, M., Trombe, J. C., Bonel, G., Montel, G., *Comp. Rend. Acad. Sci. (Paris)*, 268, 941-944 (1969).
- 25) Elliott, J. C., Holcomb, D. W., Young, R. A., *Calcif. Tissue Int.*, 37, 372-375 (1985).
- 26) Rey, C., Collins, B., Goehl, T., Dickson, I. R., Glimcher, M. J., *Calcif. Tissue Int.*, 45, 157-164 (1989).
- 27) McClellan, G. H., *J. Geol. Soc.*, 137, 675-681 (1980).
- 28) Biggar, G. M., *Mineral. Mag.*, 37, 75-82 (1969).
- 29) Posner, A. F., Perloff, A., Diorio, A. F., *Acta Cryst.*, 11, 308-309 (1958).
- 30) Kay, M. I., Young, R. A., Posner A. S., *Nature*, 204, 1050 - 1052 (1964).
- 31) Hughes, J. M., Cameron, M., Crowley, K. D., *American Mineralogist* 74, 870-876 (1989).
- 32) Sudarsanan, K., Mackie, P. E., Young, R. A., *Mat. Res. Bull.*, 7, 1331-1338 (1972).
- 33) Elliott, J. C., Mackie P. E., Young R. A., *Science*, 180, 1055-1057 (1973).
- 34) Hall, S. R., King, G. S. D., Stewart, "J. M., Xtal 3.4 User's manual", University of Western Australia (1995).
- 35) Ibers, J. A., Hamilton, W. C., "International tables for X-ray crystallography, Vol. IV", Kynoch Press, Birmingham (1974).
- 36) Young, R. A., *J. Dent. Res.*, 53, 193-203 (1974).
- 37) Simpson, D. R., *Clin. Orthop. Rel. Res.*, 86, 260-286 (1972).
- 38) Wallaeys, R., Silicon, sulphur, phosphates, colloquium of the internat. union of pure and applied chemistry, Munster, Verlag Chemie, 183-190 (1954).
- 39) Bonel, G., *Ann.Chim.*, 7 , 65-88(1972).
- 40) Elliott, J. C., Proceedings of International Symposium on Structural Properties of Hydroxyapatite and Related Compounds (Gaithersburg), edited by W. E. Brown and R. A. Young, Ch. 11 (1968).
- 41) Ito, A., "Crystal Growth and Structure of Apatitic Phosphates", PhD thesis, Waseda University (1988).

第3章 無機/有機ナノコンポジットの合成

3. 1 水酸アパタイト/コラーゲン複合体の合成に関する研究

3. 1. 1 はじめに

骨は我々の身体を支え、大事な器官(脳、心臓、肺)を守るために存在する器官であると同時に、カルシウム恒常性を保つためのカルシウムの貯蔵器官でもある。我々の骨は、無機物である水酸アパタイトの微結晶と、有機物であるタンパク質のコラーゲンを巧みに複合化することで、この二つの役割を果たしている。骨は、一方向にそろって並んだコラーゲンの纖維の上に水酸アパタイトの微結晶がそのc軸を揃えて並んだ基本構造を持っている。そのため、無機材料と有機材料の性質がともによく現れている。すなわち、骨は圧縮強く(無機)、粘り強さ(有機)がある。また、水酸アパタイトを微結晶として保持しているため、身体のカルシウムが足りなくなったときに、骨を吸収する細胞(破骨細胞)が速やかに骨を吸収することができる。

このような破骨細胞による骨吸収は我々の身体の中で常におこなわれていて、これによって耐用年数が来る前に古い骨が吸収されている。そして、破骨細胞が骨を吸収した後にできる「ハウシップ吸収窓」には、骨を作る細胞(骨芽細胞)が寄ってきて新しい骨を作っていく。このような骨の再生プロセスを「骨のリモデリング」と呼ぶ。リモデリングプロセスを模式的に示したのが図3.1である。右下の破骨細胞は吸収したい部位のpHを5・6の酸性にすることで、水酸アパタイトを溶解し、続いてコラゲナーゼという酵素を放出することでコラーゲンを分解する。一方、左上の骨芽細胞は、コラーゲンを放出し、その後リン酸とカルシウムを放出することは分かっているが、骨形成時のpHなどは分かっていない¹⁾。

このリモデリングプロセスは、病気などで欠損した部位に自分の腰の骨などを移植(自家骨移植)した場合にも働いて、欠損部に骨が再生することが知られている。(移植した骨は既に死んだ組織となっているため、そのまま「骨」として働くわけではないが、細胞が活動する「場」を提供していると考えられる。)つまり、骨とよく似た化学組成と微構造を持った材料を使うことで、自家骨移植と同じ様な生体反応を引き起こす場を提供できると考えられる。そのため、これまで、多

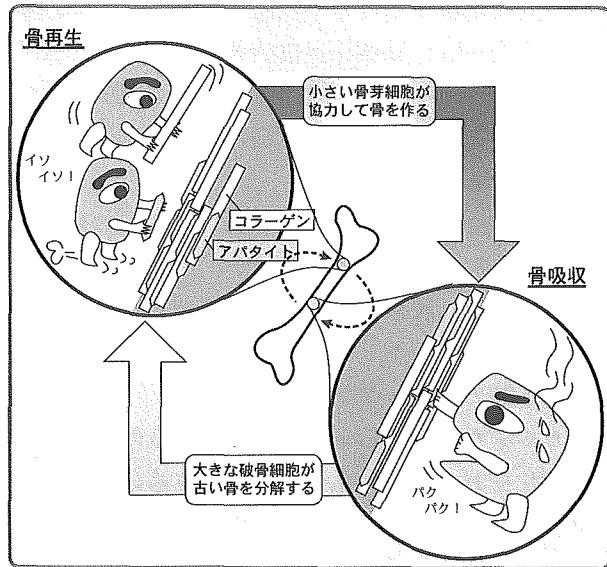


Fig. 3.1. Schematic drawing of bone remodeling. Osteoblasts shown in the upper left release collagen and apatite, and generate bone. Osteoclast shown in the bottom right dissolve apatite by lowering pH and decompose collagen by releasing enzyme.

くの研究者が水酸アパタイトとコラーゲンの複合体を合成し、その生体反応を検討しているが、自家骨と同じように、リモデリングプロセスに取り込まれた複合体は存在しない²⁻²⁰⁾。

そこで、本研究では生体模倣的に水酸アパタイトとコラーゲンの複合体を合成し、骨類似の化学組成と微構造を持った骨移植材料を作成することを目的とした。

3. 1. 2 使用するコラーゲンのスクリーニング^{21,22)}

3. 1. 2. 1 はじめに

生体材料としてタンパク質を用いる場合、タンパク質の抗原性が問題となる。すなわち、タンパク質の抗原性が高いと、生体内で異物と判断されて、拒絶反応が起こったり、症状が軽い場合でも材料が纖維性の組織で覆われて隔離されてしまう。本研究で目指す材料は自家骨と同じ反応を示すことを目的とするため、生体内で隔離されてしまう材料では目的を果たすことが出来ない。コラーゲンの主たる抗原部位は、コラーゲンの両末端に存在するテロペプチドであることが知られている。一方で、このテロペプチドは、コラーゲン

繊維の架橋部位であり、ペプシン処理などによって、テロペプチドを切断することによって、コラーゲン繊維が約300nmの単繊維（三重螺旋を巻いたコラーゲンのモノマー）となる。すなわち、生体内で配向したコラーゲン繊維が失われてしまうため、人工骨材料としての強度を再現することが困難となる。そこで、本節では、コラーゲン繊維の架橋状態を変えて、水酸アパタイト/コラーゲン複合体を合成し、その機械的強度と生体親和性を検討し、複合材料に最適なコラーゲンを決定することを目的とした。

3. 1. 2. 2 材料と方法

出発材料は、炭酸カルシウム（アルカリ分析用、和光純薬工業）、オルトリリン酸（試薬特級、和光純薬工業）、および3種のコラーゲン（新田ゼラチン：Col）とした。炭酸カルシウムはあらかじめ1050°Cで3時間焼成後、加水消化をおこない、水酸化カルシウムのスラリーとした。コラーゲンは、ブタ皮膚由来のアテロ化コラーゲン（A）、ブタ皮膚由来の酸可溶コラーゲン（B）、ブタ腱由来の酸可溶コラーゲン（C）とした。各コラーゲンのテロペプチド残存量は A < B < C である。

出発物質は理論的な HAp/Col 重量比が80/20になるように以下の濃度に調整した。各種コラーゲン 5 g は59.7 mM のリン酸水溶液 2 dm³に分散した。このリン酸/コラーゲン水溶液を、激しく攪拌した99.6mM の水酸化カルシウム懸濁液 2 dm³中に徐々に滴下した。終点の pH は 9 に調整し、合成終了後直ちに攪拌を停止し、合成された粒子が沈降するまで、約 1 時間静置した。その後、沈殿を銅グリッドメッシュにすくい取り、透過型電子顕微鏡（TEM）観察用の試料とした。残りの沈殿は、吸飲ろ過し、図3.2に示す一軸圧縮脱水機により、円筒形に成型・一次脱水した。円筒状の試料をシリコンゴム製の容器に封入し、冷間等方圧（CIP）処理によって、2次脱水をおこなった。

得られた成形体を 5 × 3 × 20mm の曲げ試験用試料に切り出し、3点曲げ試験をスパン15mm、クロスヘッド速度500 μm/min の条件でおこなった。また、熱分析により、試料のコラーゲン含有量を測定した。さらに、各複合体の組織反応を調べるために、5 × 5 × 3 mm の試料を作製し、ビーグル犬の背部皮下に埋入した。6ヶ月後に摘出後生体反応の詳細をトルイジンブルー染色組織標本、TEM、走査型電子顕微鏡（SEM）で観察した。

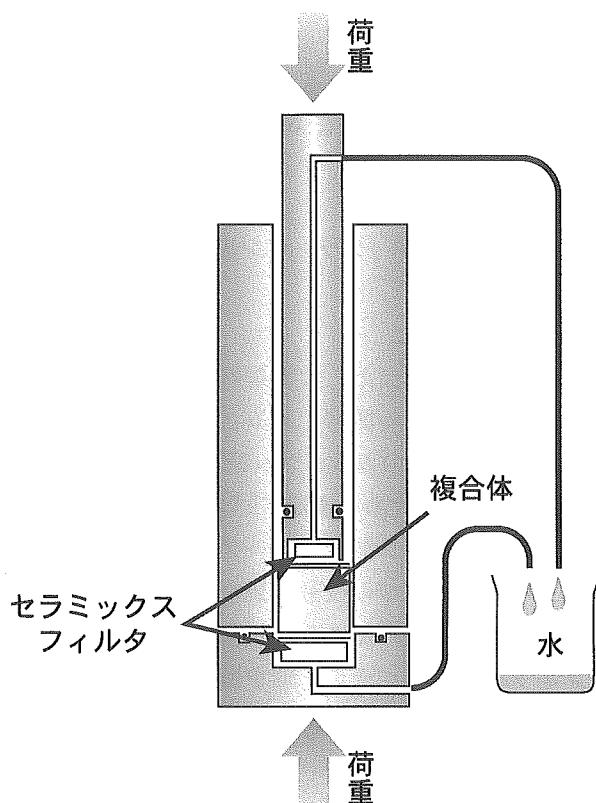


Fig. 3.2. Schematic drawing of uniaxial-press dehydrator. It evacuates water from the central hydrate composite through ceramic filters upper and bottom sides by pressing.

3. 1. 2. 3 結果と考察

得られた複合体粒子の電子顕微鏡写真を図3.3に示す。Aの場合では複合体粒子が凝集し、纖維状の構造をとっていないが、Cでは纖維状の構造をとっていることが分かる。電子線回折の結果、写真に見える粒子は全て水酸アパタイト（HAp）であることが分かった。また、Cでは纖維の伸張方向に沿って、HAp微結晶のc軸が自己組織的に配向していることが分かった。この配向の状態は、生体骨の微構造と非常によく似ていた。

CIP成形後の試料の3点曲げ強度を図3.4にヤング率を図3.5に示す。AとCの複合体はBの複合体の2倍程度の曲げ強度とヤング率を持っていた。また、Aの複合体を風乾させた試料は wet の試料の3倍の強度を示した。表3.1に各試料の相対密度と HAp/Col 重量比を示す。相対密度は HAp/Col 重量比が80/20で含水率が0の時の値を100%として示してある。したがって、相対密度は HAp が増えると大きくなり、コラーゲン、水が増えると小さくなる。これをふまえて表3.1と図3.4、3.5を比較すると、強度、ヤング率は、相対密度が高くなると上昇し、また、コラーゲンの含有量が増えると

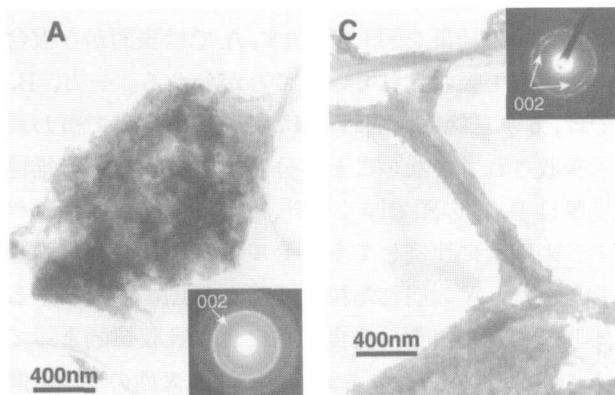


Fig. 3.3. Transmission electron micrographs of HAp/Col composites. Conspicuous orientation of HAp and collagen could not observe in the composite A; however, the orientation of HAp and collagen was observed in the composite C contained natural collagen fibers.

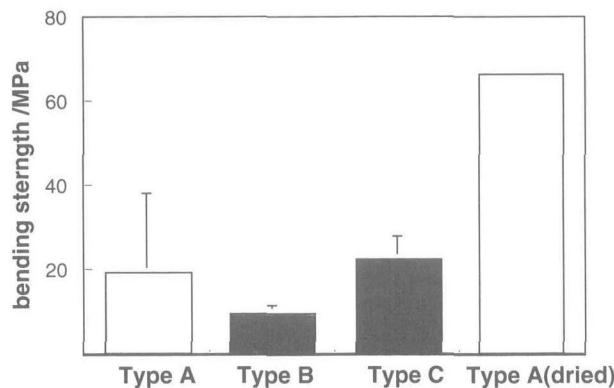


Fig. 3.4. Three-point bending strength of HAp/Col composites. A and C had a similar strength. Bending strength of A became 3 times larger due to drying in air; therefore, a dehydration condition effected on the bending strength of the composite.

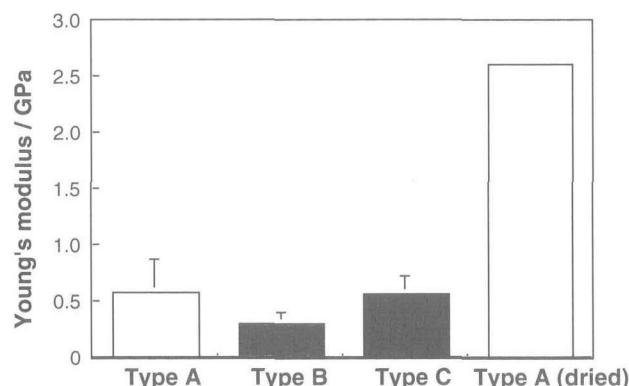


Fig. 3.5. Young's modulus of HAp/Col composites. A and C had a similar Young's modulus.

Table 3.1 Relative density and HAp/Col weight ratio of the composites

composite	relative density	HAp/Col ratio (wt)
Type A	94 %	80.45/19.55
Type B	68 %	83.62/16.38
Type C	80 %	81.19/18.81

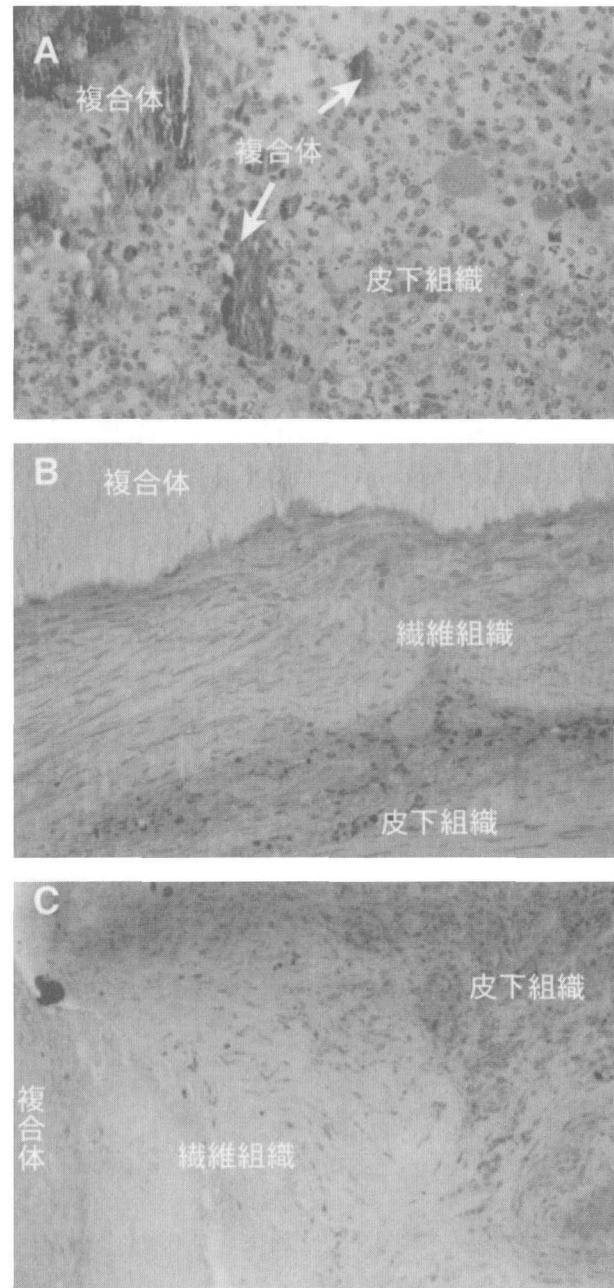


Fig. 3.6. Toluidine blue stained histological section of HAp/Col composites 6 months after implantation in beagle's back subcutaneous tissue. Composite A degraded from surface and its phagocytosis was observed. Composites B and C were encapsulated with fibrous tissue. The fibrous tissue around composite C was thicker than that of B.

上昇している。一方、HAp と Col の自己組織化の視点から A と C を比較すると、含水量が高くても、HAp と Col の自己組織化が進むことで強度が上昇していると考えられる。これらのことから、機械的性質にすぐれた HAp/Col 複合体を作成するためには、圧力による脱水と HAp と Col の自己組織化が必要であると考えられ

る。

動物実験の結果を図3.6に示す。A では表面から複合体がくずれて吸収されていることが分かる。一方、B, C では、6ヶ月後にも関わらず、纖維性の皮膜で覆われ全く吸収されていないことが分かった。また、纖維性の皮膜は B, C の順で厚くなり、架橋、すなわちテロペチドの残量に比例してカプセル化が進むことが明らかとなった。A の崩れた粒子近傍を TEM で観察すると、図3.7に示すように貪食細胞による吸収が始まっていることが分かった。さらに、A と B の表面の SEM 像は図3.8に示す。A では、SEM レベルでも、材料と組織が直接結合していること、B では $50\mu\text{m}$ 程度の厚さの纖維組織を介在して、組織と複合体が結合していることが分かった。図中の線分析は、複合体の場所を確認するための Ca の濃度を示している。

3. 1. 2. 4 結論

水酸アパタイトとコラーゲンの複合体を共沈法により合成したところ、コラーゲン纖維にアパタイト微結晶が自己組織化的に配向した、骨類似構造を持った複合体が得られた。また、複合体を脱水固化処理することによって、約 20 MPa の強度を持った成形体が得られた。複合体の強度は脱水量、コラーゲン含有量、自己組織化の状態などのパラメータによって決定されることが示唆された。一方、動物実験からは、テロペチドを含んだコラーゲンを使用すると、複合体周囲に纖維性の皮膜ができることが分かった。したがって、HAp/Col 複合体の生体活性を高めるためには、テロペ

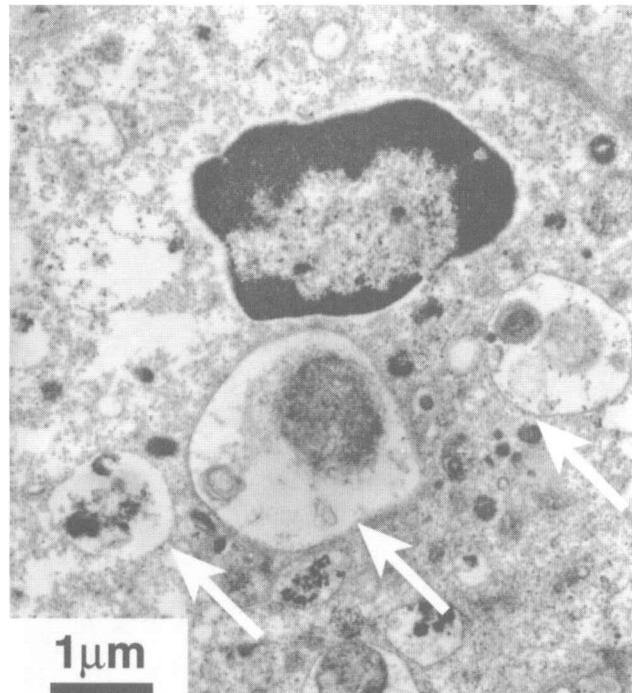


Fig. 3.7. Transmission electron micrograph of composite A 6 months after implantation in beagle's back subcutaneous tissue. Phagocytosis of composite A particles degraded from surface by monocytes was observed.

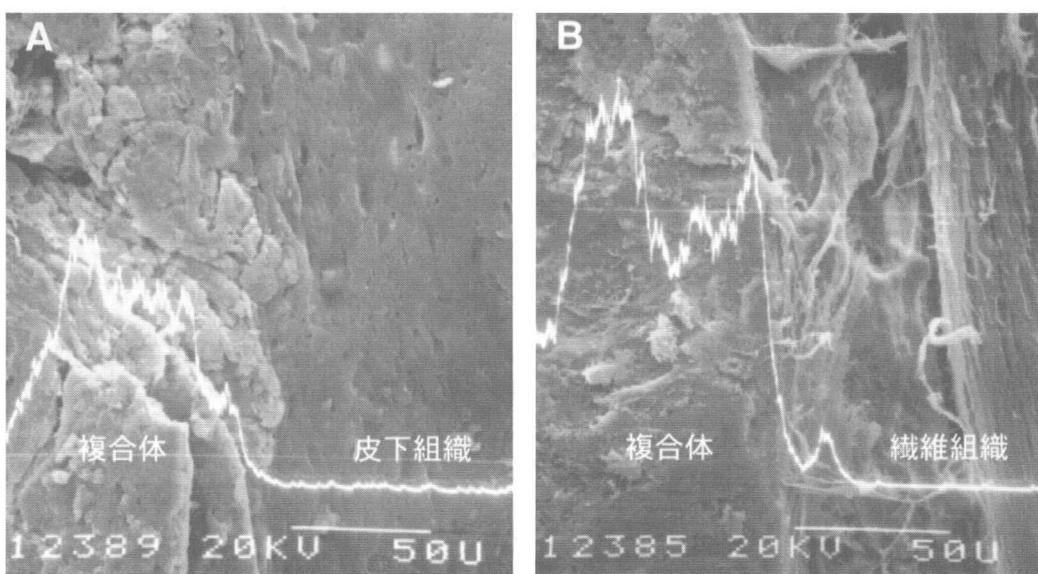


Fig. 3.8. Scanning electron micrographs of HAp/Col composites 6 months after implantation in beagle's back subcutaneous tissue. Composite A directly bonded with tissues, while fibrous capsule intervened between composite B (or C) and tissues.

チドを除去したアテロコラーゲンを使う必要があることが明らかとなった。

3. 1. 3 水酸アパタイトとコラーゲンの自己組織化²³⁾

3. 1. 3. 1 はじめに

前節の結果から、生体活性な HAp/Col 複合体を得るには、コラーゲンの両末端に存在する主たる抗原部位の、テロペプチドをペプシン処理による酵素反応によって切断・分離した、アテロコラーゲンを使う必要があることが分かった。しかし、前節で示されたようにアテロコラーゲンを用いると、HAp とコラーゲンの自己組織化纖維が形成されにくいことが明らかとなった。そこで本節では、ブタ皮膚由来のアテロコラーゲンを出発材料として使用し、HAp とコラーゲンの自己組織化纖維形成条件の検討を行った。

3. 1. 3. 2 材料と方法

水酸アパタイトの出発原料は前節と同じものを用い、コラーゲンのみブタ皮膚由来のアテロコラーゲン（新田ゼラチン）とした。出発物質は、理論的な HAp/Col 重量比が 80/20 になるように調整した。

図3.9に反応装置の模式図を示す。右の容器には 199.1 mmol の水酸化カルシウムを含んだ 2 dm³ の懸濁液が入っており、左の容器には 5 g の collagen を溶解した 59.7

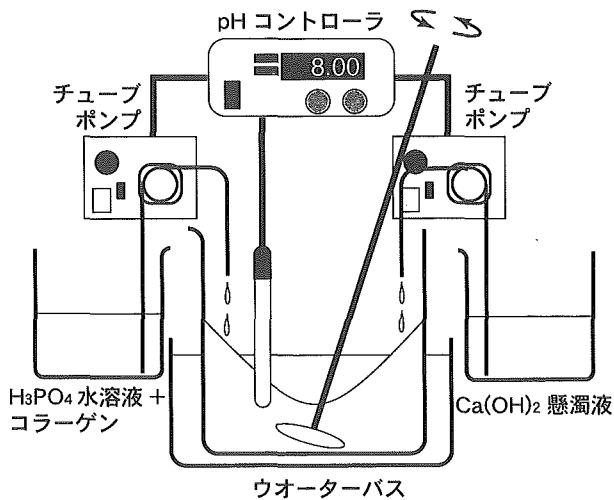


Fig. 3.9. Schematic drawing of apparatus for synthesis of HAp/Col composite using simultaneous titration method. The left vessel contained collagen containing H_3PO_4 aqueous solution, the right contained $Ca(OH)_2$ suspension. These solutions titrated simultaneously in the central reaction vessel through tube pumps governed by the pH controller. Reaction temperature was controlled by water bath.

mM リン酸水溶液 2 dm³ が入っている。中央の反応容器には、初期から pH を測定できるようにするために、あらかじめ 1 dm³ の純水が加えられている。容器内の pH を一定にするために、水酸化カルシウム懸濁液と、コラーゲンを含んだリン酸水溶液は pH コントローラで制御されたチューブポンプでそれぞれ反応容器に送液される。また、反応温度は、湯浴にて制御する。

反応温度は、ブタの体温である 40°C から 5°C おきに室温 (25°C) までとした。40°C より高温では、コラーゲンの分解とゼラチン化が起こるため、合成はおこなわなかった。また pH は、生体内に近い 7 から、水酸アパタイトが安定に生成する 9 までのアルカリ性とした。合成した後、4°C の冷蔵庫中で一晩静置し、複合体粒子を沈殿させた。

得られた沈殿の一部はそのまま純水に分散した後、コロジオン膜を張った銅メッシュにすくい取って、透過型電子顕微鏡(TEM)の試料とした。TEM 観察と、制限視野電子線回折によるアパタイトのスポットから水酸アパタイトとコラーゲンの配向状態を見積もった。残りの沈殿はガラスフィルター付きろうとで吸引ろ過した後、前節と同様に一次脱水、二次脱水をおこなった。

二次脱水後の試料を 5 × 3 × 20mm の板に成型し、3 点曲げ試験をスパン 15mm, クロスヘッド速度 500 μm/min の条件でおこなった。また、その荷重ひずみ曲線より、弾性率を求めた。また、バルク試料中のコラーゲン量と含水量は、炭素分析装置 RC-412 (LECO) によって測定された全炭素量と全水量の分析値から計算により求めた。さらに、HAp とコラーゲンの自己組織化機構に関係すると考えられる、両者の界面相互作用を反射赤外吸収スペクトル法により測定した。

3. 1. 3. 3 結果と考察

pH 8, 40°C で合成した複合体粒子の TEM 写真を図 3.10 に示す。写真に示されるように、a はコラーゲン纖維の上に HAp の粒子が沈着した纖維上の構造を取っている。写真内にある電子線回折像を見ると、内側の 002 面反射が三日月状になっていることが分かる。これは、HAp 微結晶の c 軸が複合体纖維の伸張方向に沿って配向していることを示している。TEM 写真から求めた複合体線維の長さと、002 面反射の広がりから、HAp と Col の自己組織化を見積もった結果を表 3.2 に示す。これらの結果から、HAp と Col が骨類似の自己組織化構造を取るのは、pH 8-9, 40°C においてであることが分かった。この合成条件を材料科学的に考えると、以下のようになる。

1) pH が 8 ~ 9 というのは、酸塩基反応による HAp の安定生成領域である。

2) アルカリ性で、かつ 40°C という温度はコラーゲンのゲル化を促進する。

3) コラーゲンの水和水の一部は、40°C で脱離する。

一方、生体内における骨の生成条件としてこの合成条件を考えると、40°C という温度はブタの体温であるため、生体内環境に近い温度である。骨芽細胞が骨を作るときの pH は明らかにされていないが、骨形成時に活性化している骨芽細胞は、アルカリリフォスファター

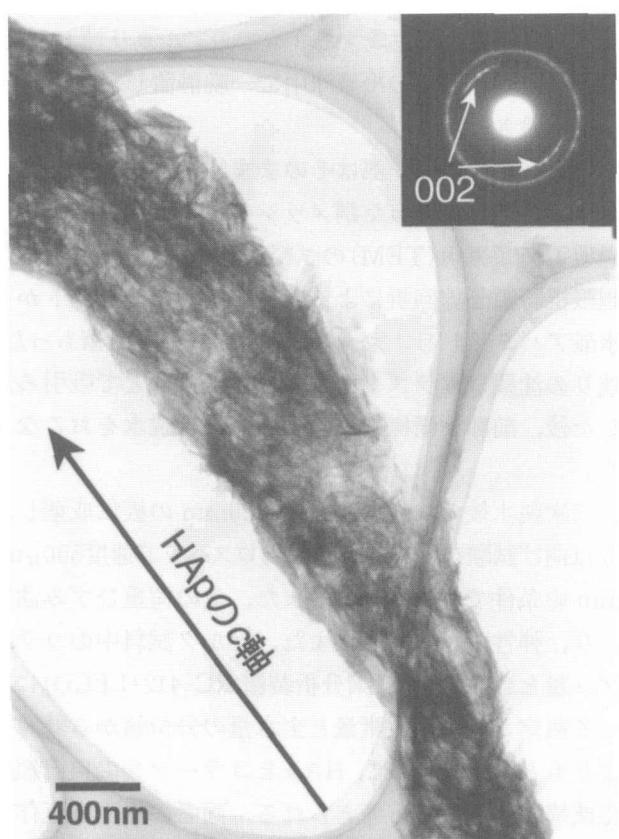


Fig. 3.10. Transmission electron micrograph of HAp/Col composite synthesized at pH8, 40°C. Collagen fiber elongated from upper left to bottom right. Orientation of *c*-axes of HAp nanocrystals along collagen fiber (arrow) was detected from imposed electron diffraction pattern.

Table 3.2. Relation between synthesis conditions and self-organization.

temperature / °C	pH		
	7	8	9
25	—	—	×
30	—	△	△
35	—	△	○
40	△	◎	◎

◎ : excellent, ○ : good, △ : fair × : bad

活性が高くなっていることが知られているので、合成条件の pH は生物学的にも妥当な値である可能性が示唆される。したがって、HAp/Col の自己組織化は生体模倣的な環境で促進すると考えられる。

3 点曲げ強度とヤング率を、それぞれ図 3.11, 3.12 に示す。同一 pH で合成した試料の中では、40°C で合成した試料が最も高い強度、ヤング率を示していた。最

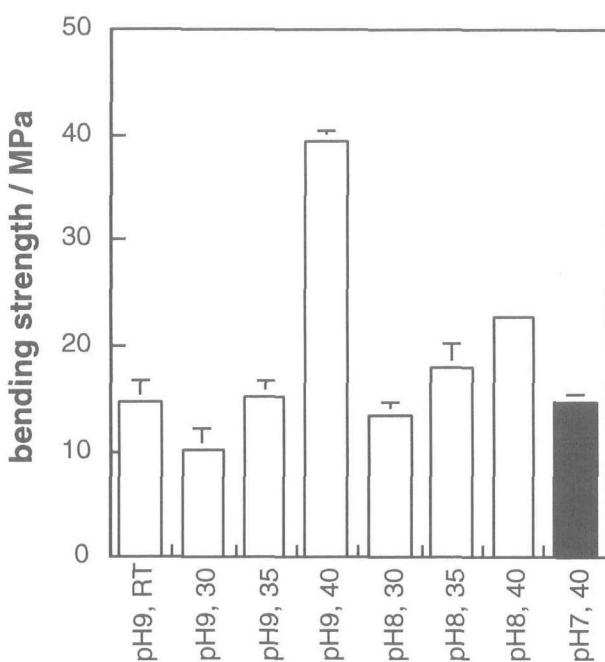


Fig. 3.11. Three-point bending strength of HAp/Col composites. The composites synthesized at 40°C in each pH conditions indicated the highest strength.

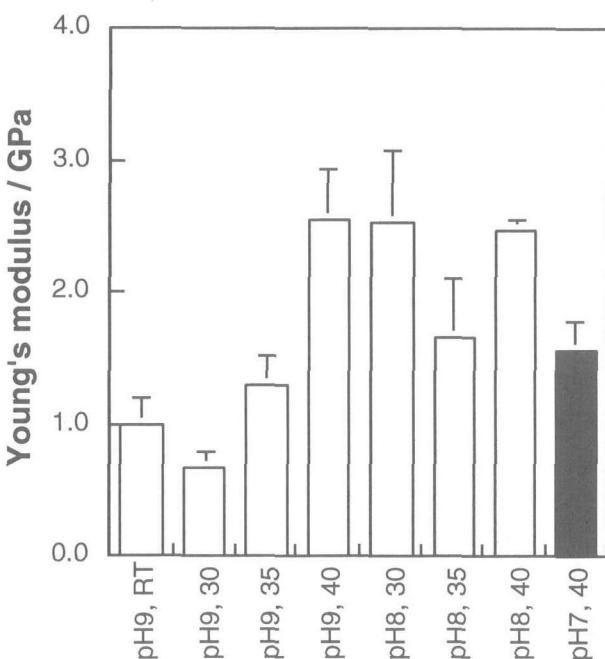


Fig. 3.12. Young's modulus of HAp/Col composites.

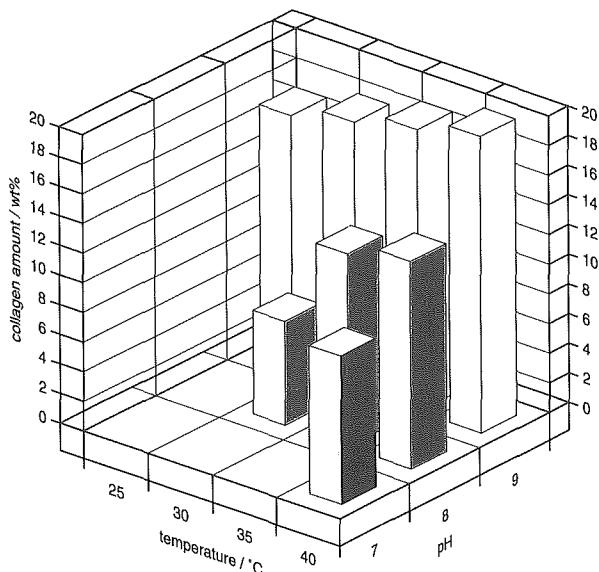


Fig. 3.13. Collagen amount in HAp/Col composite. The values were normalized to total weight of HAp and collagen as 100%.

も高い強度を示したのは pH9, 40°Cで合成した試料で、曲げ強度が39.5MPa, ヤング率が2.54GPa であった。これは、骨の強度の半分・四分の一にあたり、同一条件、室温で合成した試料の14.8MPa, 0.549GPa の二倍以上であった。また、同一温度では、pH が低くなると強度、ヤング率が減少する傾向にあった。図3.13に示した複合体中の Col 重量比(HAp+Col で100%になるように規格化)から、温度が40°C, pH が 9 で複合体中の HAp/Col 重量比がほぼ理論量と一致した。また、pH, 温度が低くなると成形体の含水量が上昇した。したがって、HAp/Col 複合体はコラーゲン含有量の増加に伴い、コラーゲン単繊維(300nm)の纖維強化機構によって強度が上昇するが、さらに、HAp とコラーゲンの自己組織化によって強度が上昇することが明らかになった。

図3.14は HAp/Col 複合体板およびコラーゲンの反射赤外吸収スペクトルをクラマース＝クローニッギ変換した吸収スペクトルを示す。解離したカルボキシル基-COO⁻の非対称伸縮振動は、コラーゲン単体では1340 cm⁻¹に観測され、複合体ではそれより数 cm⁻¹低波数側に観測された。つまり、複合体では-COO⁻の振動数が red shift し、-COO⁻の等価な二つの C-O 結合が弱くなることを示している。このことから、コラーゲンの官能基-COO⁻はアパタイトの Ca²⁺と化学結合をつくりており、それがアパタイト結晶の整列に関係していると考えられる。

3. 1. 3. 4 まとめ

HAp/Col 複合体は、pH8-9, 40°Cの条件で最も自己組織化が進んでいた。この条件は、生体模倣的な条件であると考えられる。HAp と Col の自己組織化が進む

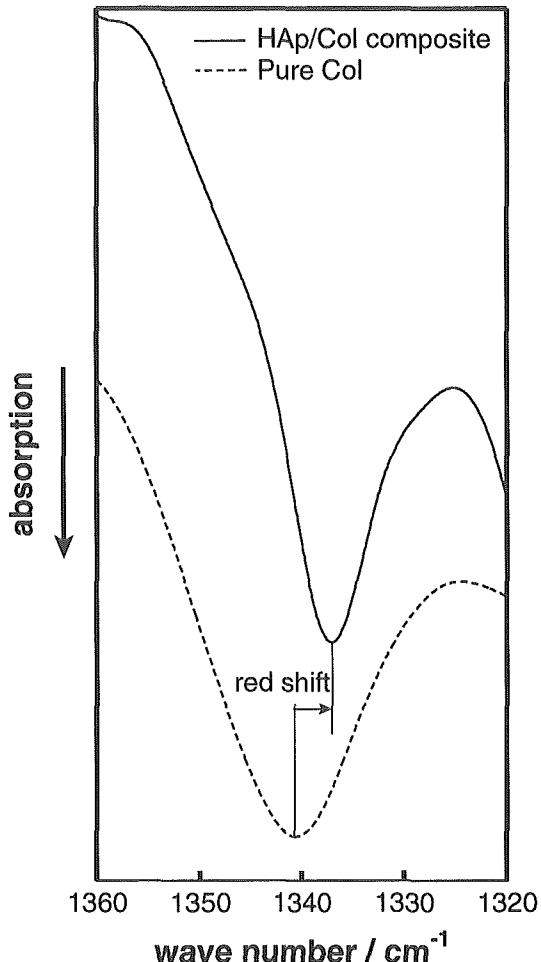


Fig. 3.14. Fourier-transformed infrared spectrum of HAp/Col composite and pure collagen. Red shift of stretching band from dissociated carboxyl group on collagen was observed in the composite.

に連れて、強度、ヤング率が上昇し、骨の約半分～四分の一の強度を得ることが出来た。複合体の自己組織化は、コラーゲン表面の解離したカルボキシル基と HAp 表面にある Ca の電気的相互作用によると考えられる。

3. 1. 4 水酸アパタイト/コラーゲンのエージングと架橋の効果²⁴⁾

3. 1. 4. 1 はじめに

前節までに、生体内の骨形成プロセスを単純化して、アパタイト結晶とコラーゲン纖維が生体類似条件(pH8-9, 40°C)下で配向することを明らかにした。本節では、複合体の機械的強度を骨に近づけるため、自己組織化プロセスの時間、具体的には共沈合成後のエージング

の時間を制御してコラーゲンの纖維化を試みた。また、コラーゲン分子間に架橋を導入して、複合体の機械的強度に与える効果を検討した。

3. 1. 4. 2 材料と方法

出発原料と合成方法は前節に従い、合成時の pH を 9、温度を40°Cとして複合体を合成した。同時滴下を行った後、反応物を40°Cで0、24時間エージングした。所定のエージング時間後、沈殿物をロ過し、一軸圧(10 MPa)で16時間脱水した。得られた円筒状の試料を5×3×20mmに切り出し3点曲げ試験をスパン15mm、クロスヘッド速度500μm/minの条件でおこなった。また、微細構造をTEMで観察した。さらに、バルク試料中のコラーゲン量と含水量は、炭素分析装置RC-412(LECO)によって測定された全炭素量と全水量の分析値から計算によりもとめた。

複合体中の架橋は、グルタールアルデヒド(GA)を合成中・エージング後・成形後にそれぞれ添加して行った。架橋方法は以下のようである。

- 1) 合成中の架橋: Ca(OH)₂懸濁液にGAを500 mmol加えて同時滴下による合成をおこなった。3時間エージングしてロ過・成型した。
 - 2) エージング後の架橋: 3時間エージングした後、GAをCol 1gあたり19.1μmol, 191μmol(リジン・ヒドロキシリジンが全て架橋される量)および13.5 mmol加えた。10分間攪拌した後、ロ過・成形した。
 - 3) 成形後の架橋: 曲げ試験用に切り出した試料を、100mM GA溶液100mlに24時間浸漬した。
- 1)と2)について成形前の状態をTEMで観察した。架橋後の試料について、3点曲げ試験、炭素分析装置RC-412(LECO)による熱分析をおこなった。

3. 1. 4. 3 結果と考察

エージングによって、上澄みのpHは初期の9から7.5~8に変化していった。TEM観察の結果を図3.15に示す。a, b, c, dの順に、エージング時間が1, 2, 3, 6時間の試料である。1時間のエージングでは、複合体の纖維が形成されず、図中の電子線回折からも、HApの配向は認められないが、2時間エージング後から徐々に纖維化とHApの配向が認められた。また、図3.16に示すように、24時間エージングした試料では、HAp微結晶の成長が認められた。

一方、複合体の3点曲げ強度は、図3.17に示すように3時間で最大値を示した。また、複合体中のコラーゲン含有量は図3.18に示すように、エージング時間に

伴い、コラーゲンの量が減少しているが、3時間のエージングではコラーゲンの含有量が極大値を示しており、纖維形成に伴って、コラーゲンが複合体中に取り込まれたことを示唆している。したがって、3時間のエージングによる機械的強度の上昇は、自己組織化纖維の形成に寄るところが大きいと考えられる。エージングによるコラーゲンの溶出はpHの変化に伴った溶出と、コラーゲンのゼラチン化による溶出の両方を示していると考えられる。したがって6時間を超えるエージングによる強度低下はコラーゲンの溶出による纖維強化効果の減少と、HApの結晶成長による結合面積の低下の相乗効果によると考えられる。

合成中およびエージング後に架橋した場合、図3.19のTEM写真のように纖維化が促進し、さらに2次元方向に成長することが確認できたが、図中の電子線回折像が示すようにHApとコラーゲンの自己組織化は抑制された。3点曲げ強度は図3.20に、複合体中のコラーゲン含有量は図3.21に示した。図で明らかなように、架橋剤の効果は、ごく微量(コラーゲン中のリジン+ヒドロキシリジン残基の10%)でも現れ、強度の上昇とコラーゲン溶出の抑制効果があった。しかし、ヤング率は未架橋のものと比べて半分程度に減少していること、図3.22に示すように成形体の含水率がコラーゲンの含有量にともなって上昇していることから、複合体粒子間の架橋に伴って、粒子内に多くの吸着水が残存し、圧力をかけても完全には脱水できないと考えられた。

成形後に架橋した場合は、架橋は表面から傾斜化していたが、架橋によって複合体の強度は1.5倍程度上昇し、ほとんど膨潤しなくなった。

3. 1. 4. 4 まとめ

エージングの効果は、複合体の纖維形成に大きな効果を及ぼすが、それと同時にコラーゲンの溶出とHAp微結晶の成長を引き起こすことが明らかとなった。その結果、纖維形成による複合体の強度増加にたいする最適なエージング時間は3時間という事が明らかとなった。

一方、グルタールアルデヒドによる架橋は、複合体の自己組織化の抑制因子として働くことが明らかとなった。しかし、架橋によって粒子内および粒子間架橋が導入され、複合体の強度が増加し、膨潤性・分解性が低下する事が分かった。

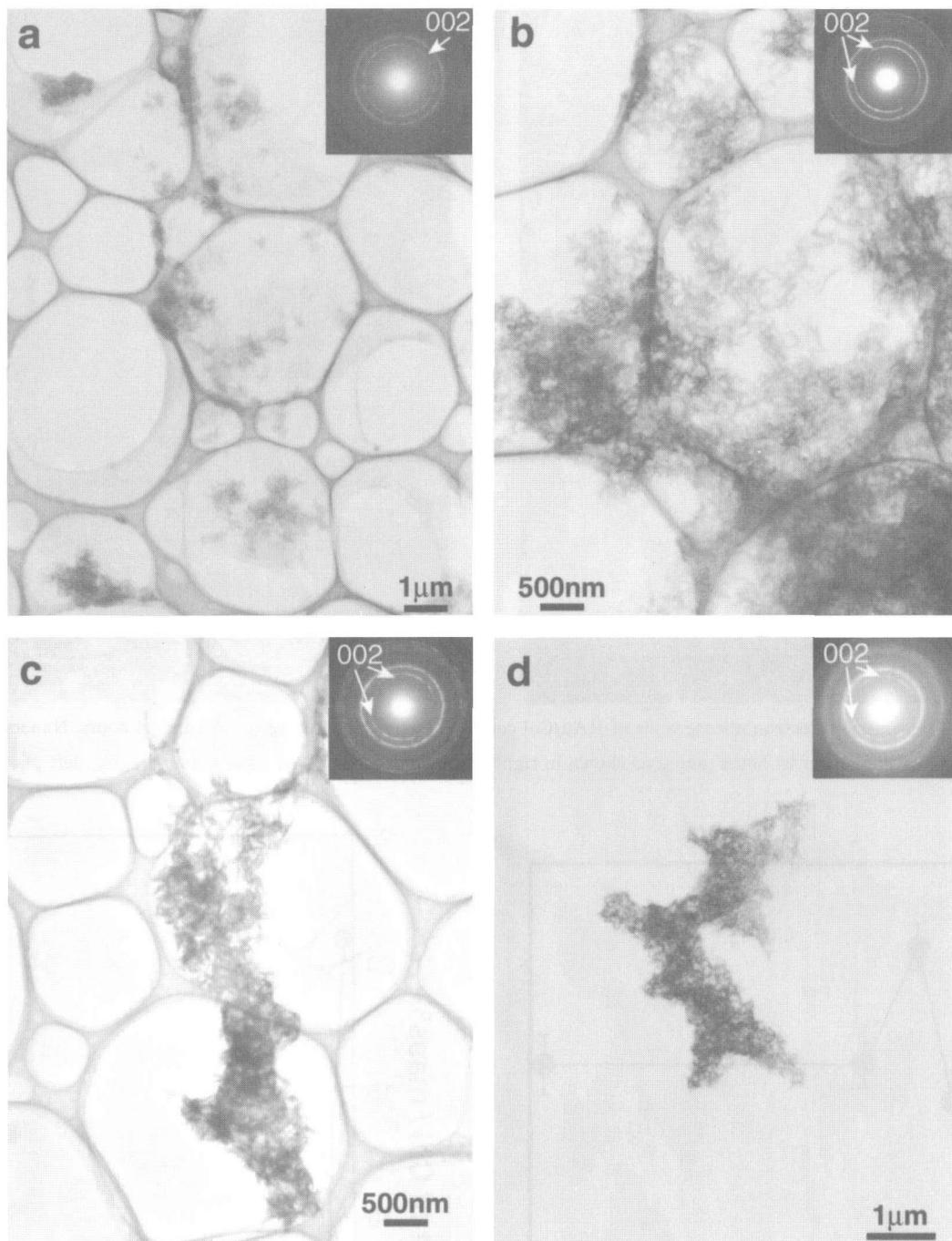


Fig. 3.15. Transmission electron micrographs of HAp/Col composite particles after different aging time. a: 1, b: 2, c: 3 and d: 6 hours. Growth of collagen fiber and HAp orientation could not detect at 1 hour's aging; however, they progressed with increasing in aging time.

3. 1. 5 水酸アパタイト/コラーゲン複合体の骨親和性^{23,25)}

3. 1. 5. 1 はじめに

3.2節で明らかにしたように、アテロコラーゲンを用いた HAp/Col 自己組織化複合体は、生体親和性が非常に高い材料である。そこで、本複合体の応用領域を調べるために、ビーグル犬および SD 系のラットを用いて骨親和性試験を行い、骨内反応を検討した。

3. 1. 5. 2 材料と方法

まず、HAp/Col 複合体の骨親和性・骨内反応を詳細に検討するため SD 系ラットを用いて埋入試験をおこなった。pH9, 40°Cで合成した未架橋および表面架橋した 2 mm 角の HAp/Col 複合体試料を、ラットの脛骨に埋入し、4 週までの組織反応を、ヘマトキシリソエジン(HE)染色、アルカリリフォスファターゼ(ALP)染色、酒石酸耐性酸性フォスファターゼ(TRAP)染色で検討した。この実験の比較群として、骨親和性と骨内反応

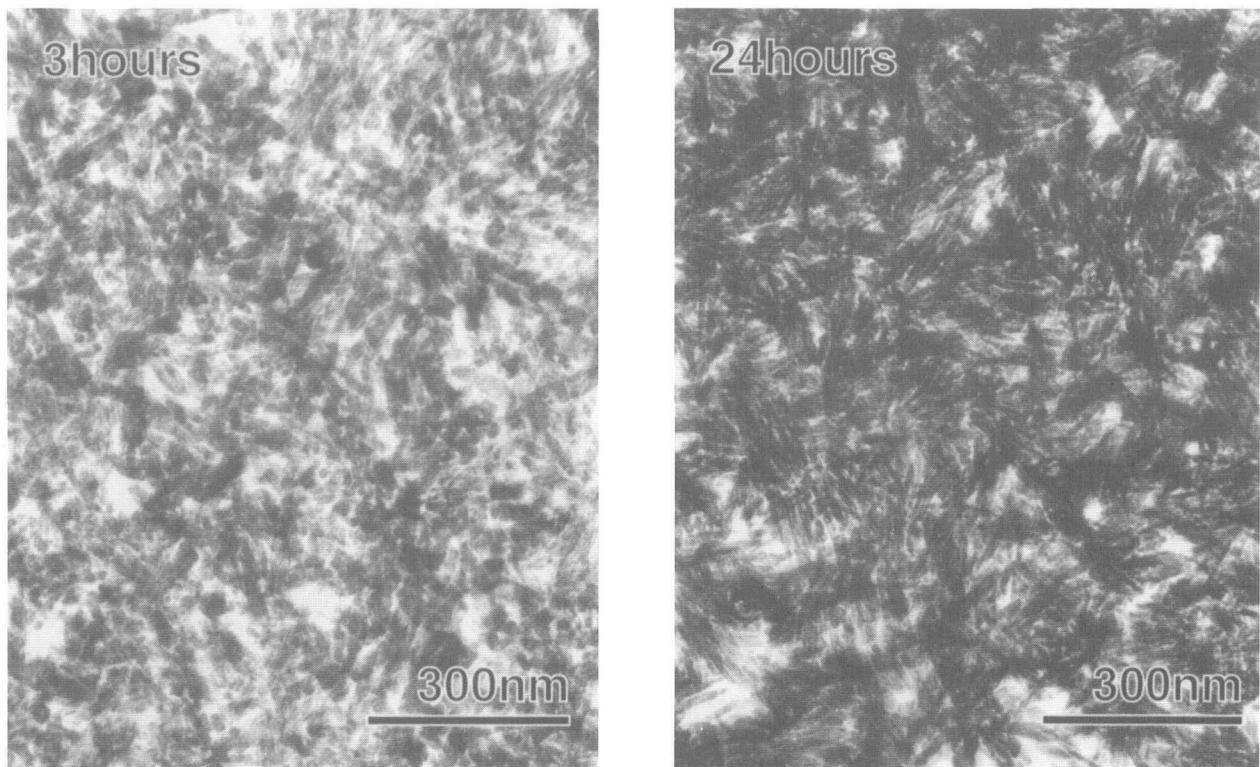


Fig. 3.16. Transmission electron micrographs of HAp/Col composite particles after aged for 3 and 24 hours. Nanocrystals of HAp grew after 24 hours' aging as shown in right photo compared to that after 3 hours' aging, left photo.

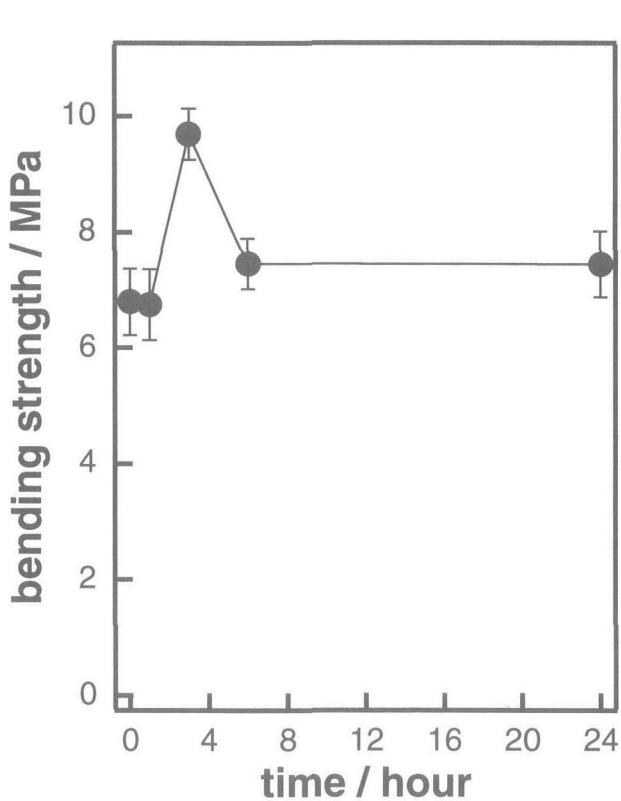


Fig. 3.17. Relation between 3-point bending strength of HAp/Col composite and aging time. The maximum strength obtained at 3 hours' aging.

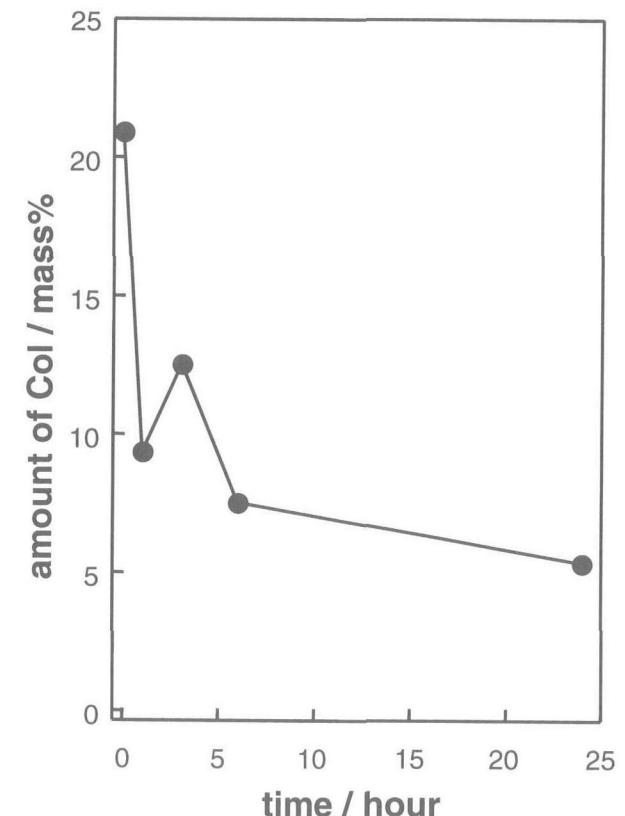


Fig. 3.18. Relation between collagen amount in HAp/Col composite and aging time. The values were normalized to total weight of HAp and collagen as 100%.

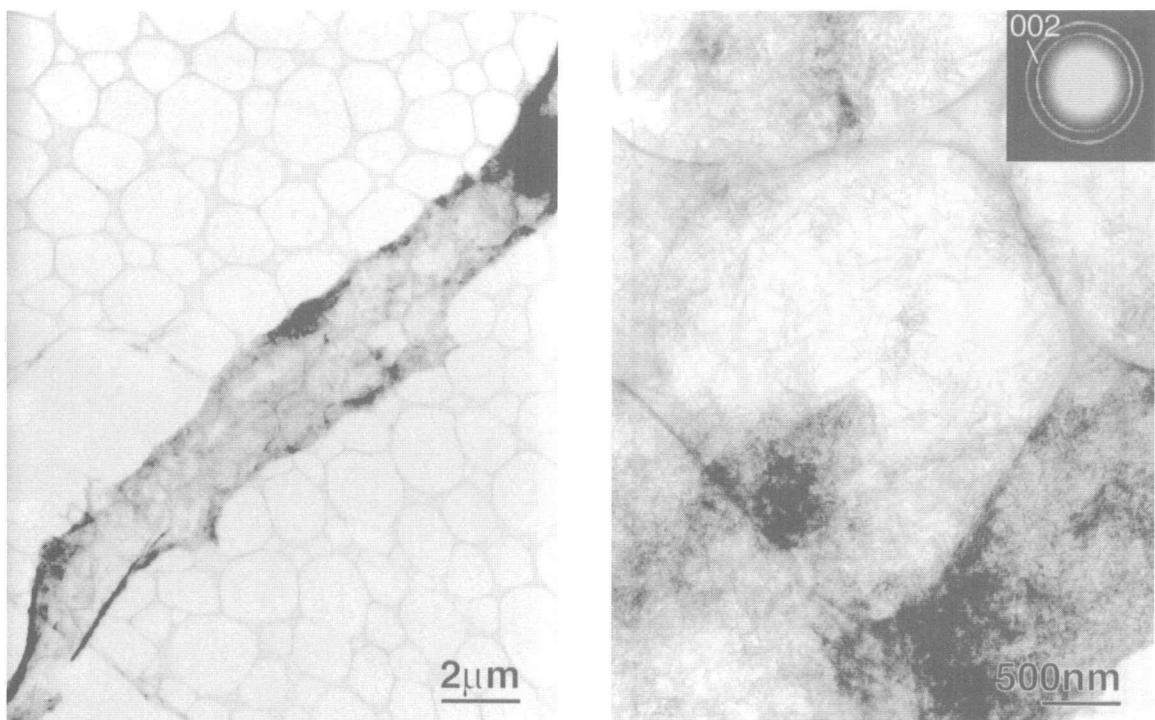


Fig. 3.19. Transmission electron micrographs of HAp/Col composite particles cross-linked after aged for 3 hours. Fiber of collagen became longer and wider; however, orientation of HAp estimated from electron-diffraction was reduced.

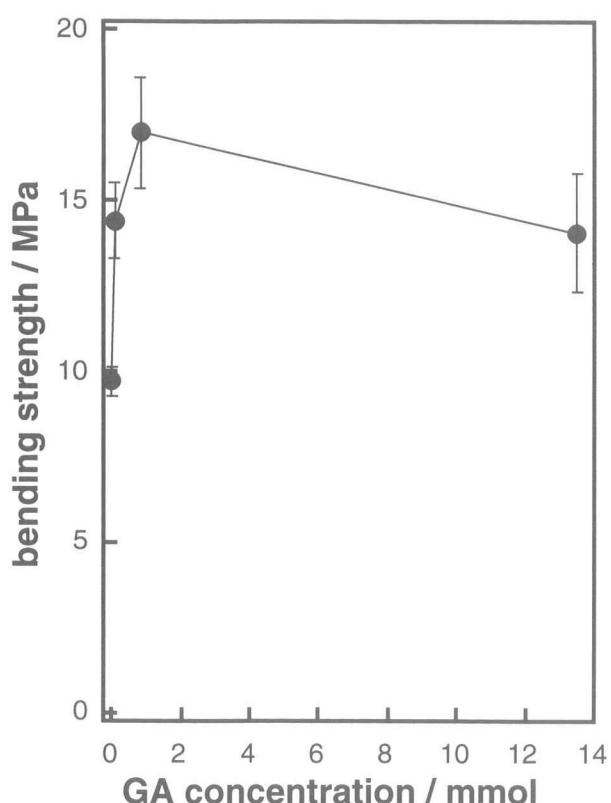


Fig. 3.20. Relation between 3-point bending strength of HAp/Col composite and concentration of glutaraldehyde. The strength increased with adding of a few amount of glutaraldehyde.

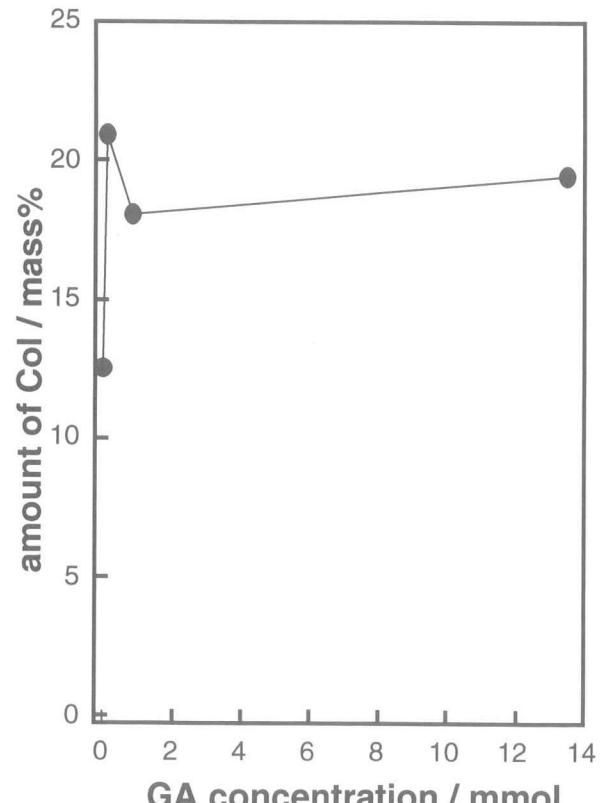


Fig. 3.21. Relation between collagen amount in HAp/Col composite and concentration of glutaraldehyde. The values were normalized to total weight of HAp and collagen as 100%. Collagen amount in the composite indicated theoretical value by adding of glutaraldehyde due to cross linkage effect.

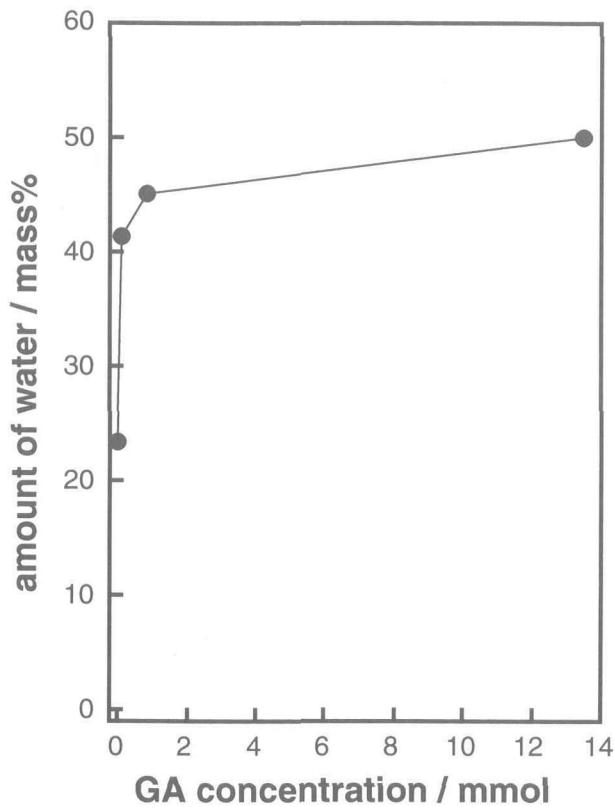


Fig. 2.22 Angular dependence of polarized IR absorption spectra by out-of-plane bending vibration (ν_2) of CO_3 in CAp. Solid line: electric vector is parallel to the c -axis, broken line: electric vector is 45° to the c -axis, and dotted line: electric vector is perpendicular to the c -axis.

がよく知られている HAp の多孔体を用いた。また、ビーグル犬の実験においては、HAp/Col 複合体の可能性を試すために、脛骨の20mm の離断部に、図3.23に示す試料（未架橋・エージング後架橋・表面架橋）を図3.24の様に埋入し、12週に渡って、レントゲン観察をおこない、その後組織切片を観察した。

3. 1. 5. 3 結果と考察

ラットの試験では、図3.25に示すように未架橋の試料の旺盛な吸収が確認された。これを詳細に検討すると、図3.26に示すように5日目で TRAP 活性な多核巨細胞—骨吸収する破骨細胞—が材料表面に誘導されていることが分かる。さらに7-14日目には図3.27に示すように ALP 活性な紡錘形の細胞—骨を作る骨芽細胞—が新生骨を形成し始めていることが分かった。これは、明らかに骨のリモデリングプロセスと同等であり、現在整形外科などでおこなわれている「自家骨移植」による骨の治癒と同じ機構で新生骨が再生していることを示している。一方で、図3.28-a に示すように表面架橋をおこなった試料の吸収は4週後でも認めら

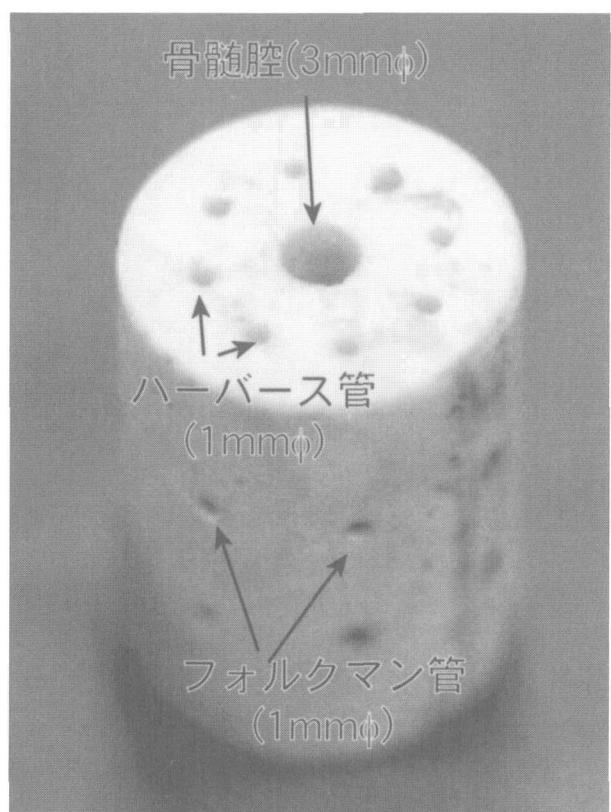


Fig. 2.23 Angular dependence of polarized IR absorption spectra by in-plane bending vibration (ν_3) of CO_3 in CAp. Solid line: electric vector is parallel to the c -axis, broken line: electric vector is 45° to the c -axis, and dotted line: electric vector is perpendicular to the c -axis.

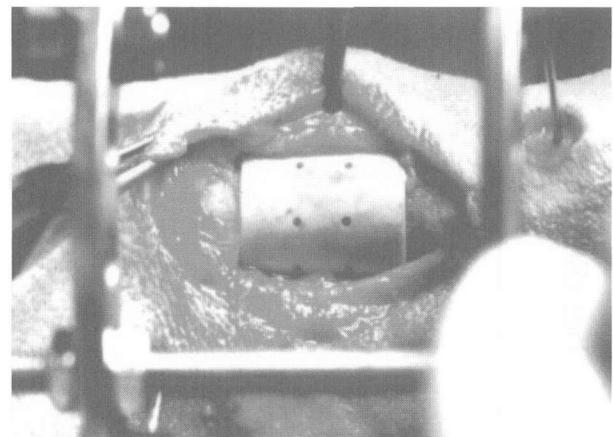


Fig. 2.24 D-Fourier map of the (010) plane for the present CAp crystal after the refinement for Ca, PO_4 group without CO_3 . The contour is at an interval of $500/\text{nm}^3$. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

れず、HAp（図3.28-b）と同様の骨との直接結合と複合体にそった新生骨の形成が認められた。これは、表面の架橋により、ほぼ全ての粒子間に強い架橋が形成さ

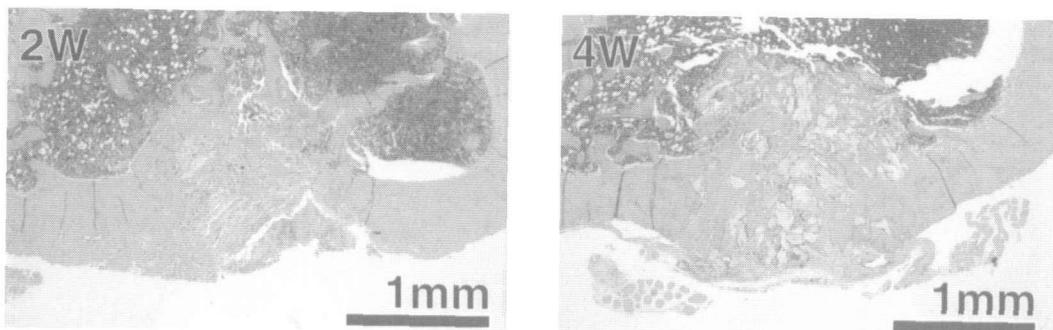


Fig. 2.25 D-Fourier map of the (010) plane for the present CAp crystal after the refinement for Ca, PO₄ group and CO₃. The contour is at an interval of 500/nm³. Solid and broken lines correspond to positive and negative contours, respectively. Atom positions within 0.03nm from this plane are given.

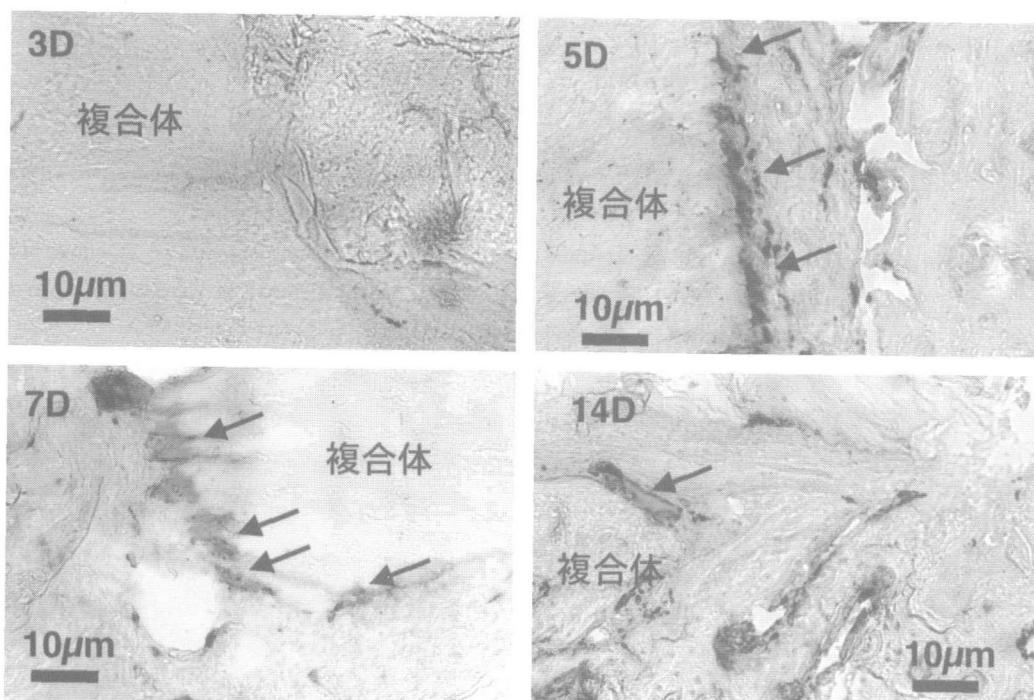


Fig. 3.26. Tartrate-resistant acid phosphatase stained rat tibia histological sections after implantation of non-cross-linked HAp/Col composite. Osteoclast-like cells resorbed the composite from 5 days after implantation.

れたため、複合体の吸収が阻害されたと考えられるが、HApと同程度の骨親和性・生体活性を示すことが明らかとなった。

さらに、ビーグル犬の実験では、図3.29-aに示すように、未架橋の試料は12週間でほぼ全て吸収され、新生骨が離断部に形成されていた。また、エージング後に架橋した複合体は、図3.29-bに示すように一部吸収されたが、完全には吸収されていなかった。これらの複合体の吸収の機序は、ラットの場合とほぼ同じであることが組織観察から分かった。表面架橋の試料は、12週でも全く吸収されていなかったが、表面で骨と直接結合していた。

3. 1. 5. 4 まとめ

前節までに合成した複合体は、全て、自家骨に近い骨親和性を示した。特に、未架橋およびエージング後に架橋した複合体では、自家骨移植の時に見られるのと同様、骨のリモデリングプロセスに取り込まれて複合体が吸収され、その後新生骨が吸収窩にできることが分かった。また、20mmにわたる脛骨の離断部に本材料を移植することで新生骨が再生することから、本複合体は、自家骨に替わる移植材料としての応用が可能であると考えられる。

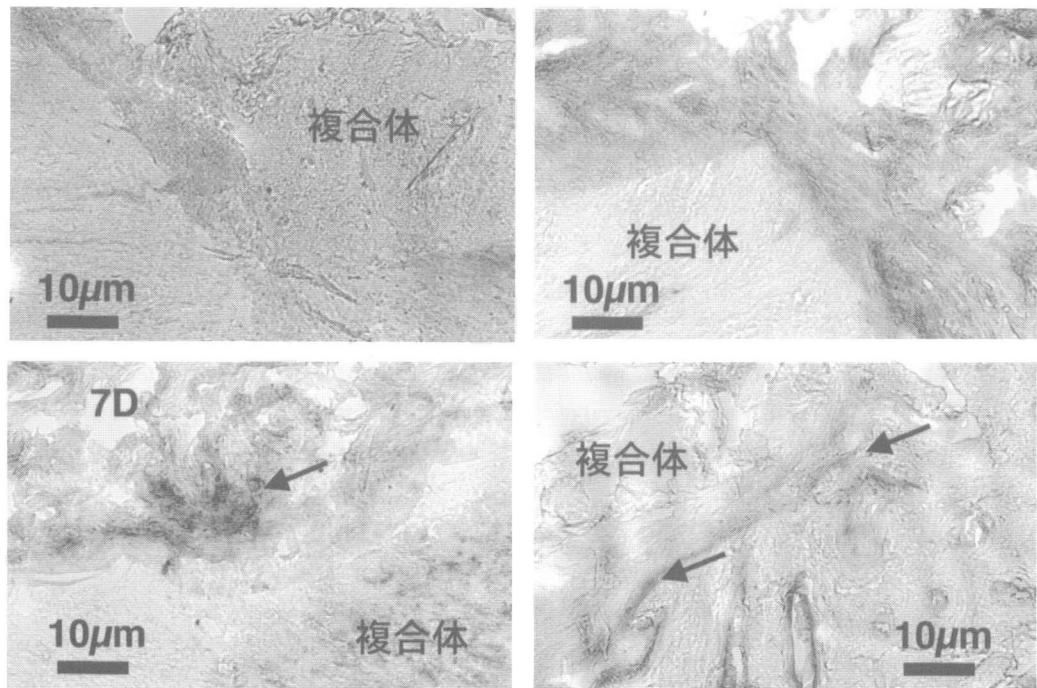


Fig. 3.27. Alkaline phosphatase stained rat tibia histological sections after implantation of non-cross-linked HAp/Col composite. Osteoblasts formed new bones at surrounding of the composite and Howship's lacunae created by osteoclast-like cells from 7 days after implantation.

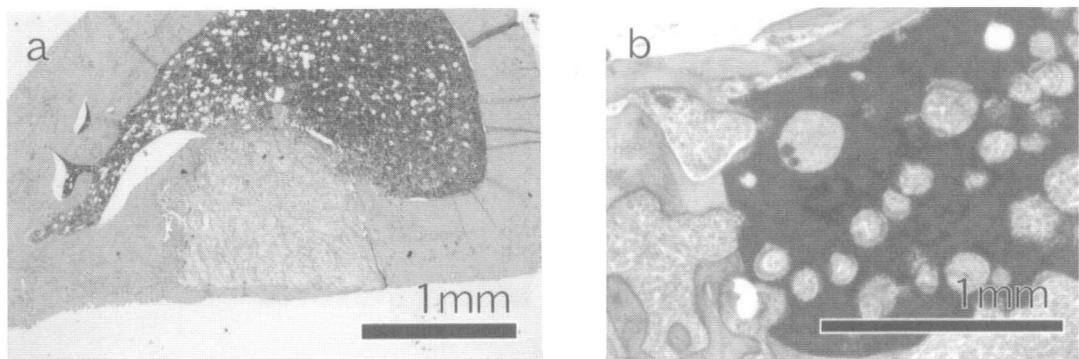


Fig. 3.28. Hematoxylin and eosin stained rat tibia histological sections at 4 weeks after implantation of surface cross-linked HAp/Col composite (a) and porous HAp (b). Resorption of the composite was not observed; however, direct bonding between the composite and bone tissue was observed and indicated highly bioactivity, the same as porous HAp.

3. 1. 6 結論

本節では、水酸アパタイト/コラーゲンの複合体を、HAp とコラーゲンの自己組織化によって合成した。アテロコラーゲンを用いて複合体を作成した場合、もつとも生体親和性が高いことが明らかとなった。さらに、合成条件を最適化したところ、生体模倣条件において、最も自己組織化が促進され、骨類似の微構造を形成することが明らかとなった。

複合体の自己組織化纖維は、エージングに伴って成長し、また、架橋剤の添加によって阻害されることが

分かった。

得られた複合体の骨親和性と骨組織反応を調べたところ、未架橋の試料とエージング後に架橋を加えた試料では骨リモデリングユニットを形成して、自家骨と同様に吸収され、その周囲に骨系静が起こることが分かった。また、表面を強固に架橋し、吸収が見られなかった試料でも、複合体表面では、従来の骨親和材料である HAp と同様に、骨との直接結合が認められた。以上のことから、本複合体は、自家骨に替わる移植材料としての臨床応用が可能であると考えられる。

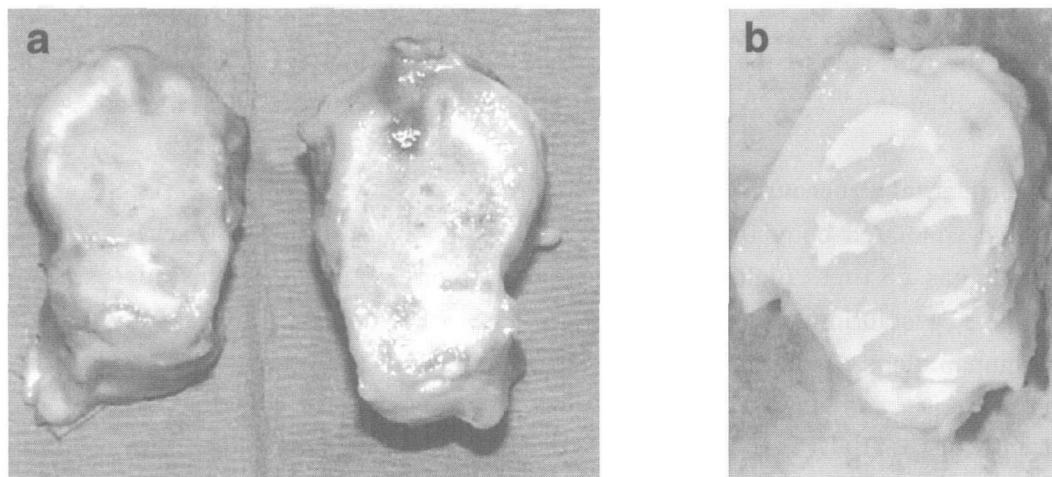


Fig. 3.29. Naked eye observation of beagles' tibiae and HAp/Col implants at 12 weeks' after operation. a: non-cross-linked and b: cross-linked composites. Non-cross-linked composite almost resorbed and cannot detect; while resorption and decomposition of cross-linked composite delayed and the composite clearly detect in newly formed bone.

謝辞

動物実験は、東京医科歯科大学整形外科の四宮謙一教授・伊藤聰一郎助手、同生体材料工学研究所の宮入裕夫教授・高久田和夫助教授・小山富久博士、日本大学生物資源科学部の田中茂男教授・永岡勝好講師・小坂俊文講師の協力によりおこなった。ここに深く感謝いたします。

3.2 Nucleation of Hydroxyapatite Crystal through Chemical Interaction with Collagen²⁶⁾

3.2.1 Introduction

The composition of human bone is a well-known inorganic/organic hybrid consisting of 70% hydroxyapatite (HAp) and 30% organic (largely collagen) constituents, by weight²⁷⁾. Under in vivo condition, HAp crystals are nucleated on collagen fibers with a preferred orientation, *i.e.*, the crystallographic *a* [$\bar{1}2\bar{1}0$] and *c* [0001] axes are aligned perpendicular and parallel to the collagen fiber axis, respectively²⁸⁾. This means that the nucleation of HAp crystals on collagen fibers occurs through chemical interactions between HAp crystals and collagen fibers.

The collagen in bone comprises a ropelike arrangement of three noncoaxial, helical polypeptides rich in glycine, proline, hydroxyproline, and alanine. The small glycine side-chains at every third amino acid allow close packing of the polype-

ptides. This structure is stabilized by a hydrogen bond between the hydrogen atom (attached to the electropositive nitrogen atom of each peptide linkage) and the electronegative carboxyl oxygen atom of the fourth amino acid on the amino-terminal side of the helix. The polypeptide backbone, therefore, is tightly wound around the long axis of the molecule, and the side-functional groups of the amino acid residues protrude outward from the helical backbone so that they can easily bind oppositely charged ions through coulombic attraction^{28,29)}.

In this experiment, the nucleation of HAp crystals on collagen fibers was reexamined with the main focus on the chemical interaction between the carboxylate group in the amino acid residues of the collagen and the calcium ion. Negatively charged carboxylate groups are suggested to have an ability to bind calcium ions and induce the nucleation of bio-minerals³⁰⁻³³⁾. To examine the nucleation mechanism of HAp crystals on collagen, a collagen membrane was soaked into 1.5 SBF solution, forcing the nucleation of HAp crystals. The chemical interaction between the collagen and the HAp crystals was assessed by the chemical shift of the carboxylate band of collagen from the Fourier-transform infrared spectrometry (FTIR) results after the formation of HAp crystals³¹⁾, and compared with the computed bond orders of the carbox-

ylate group before and after binding a calcium ion, which emulated the first step of the nucleation of HAp crystals on collagen.

3. 2. 2 Experimental Procedure

Supersaturated simulated body fluid (1.5 SBF) solution³⁴⁾, which has 1.5 times higher ion concentrations than the SBF solution, with ion concentrations close to human blood plasma³⁵⁾, was prepared by dissolving reagent grade NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄•3H₂O, MgCl₂•6H₂O, CaCl₂ and Na₂SO₄ in ion-exchanged distilled water. The solution was buffered at pH 7.4 with tris(hydroxymethyl) aminomethane and 1M HCl at 36.5°C.

The collagen membrane used in the experiment was made from bovine skin and had a molecular weight of 300,000 (Nitta Gelatin, Inc., Osaka, Japan). The collagen membrane 1cm×1cm×0.1cm in size was immersed in 30 ml of the 1.5 SBF solution for 4 weeks at 36.5°C. After soaking, the specimen was removed from the fluid and gently rinsed with ion-exchanged distilled water, and then dried at room temperature. Hereafter, the specimens as-received and soaked in the 1.5 SBF for 4 weeks are referred to as specimens A and S, respectively.

The surface microstructures and crystals of the materials that formed on the collagen membrane were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and thin-film X-ray diffractometry (TF-XRD; Model RINT2000, Rigaku Co., Tokyo, Japan) with an angle of 1° to the direction of the incident X-ray beam. FTIR transmission spectroscopy (Model Spectrum 2000, Perkin-Elmer Co., Norwalk, CT) was measured using CaF₂ substrates with a resolution of 0.5cm⁻¹.

Bond orders of the carboxylate group with full geometry optimization of the energy gradients were determined using the local density functional (LDF) approach^{36,37)} within the DMOL 3 program (Molecular Simulations, Inc., San Diego, CA). As a model cluster, an acetate (CH₃COO⁻) molecule, with and without a binding calcium ion, was used to emulate the first-step nucleation of HAp crystals on the carboxylate group of collagen. The basis set

and functional used in the calculation were DND (double numerical+d) quality (which is comparable to a Gaussian 6-31G* basis set) and VWN (Vosko-Wilk-Nusair)³⁸⁾, respectively.

3. 2. 3 Results and Discussion

Figure 3.30 shows the microstructures of the specimen obtained after soaking in the 1.5 SBF solution at 36.5°C for 4 weeks. Figure 3.30 (a) shows that a few HAp crystals were observed to occur mostly on the edge-side of the collagen membrane (especially the fiber-side), while they could hardly be observed on the surface-side.

Figure 3.30 (b) shows a detailed microstructure of the fiber-side in Fig. 3.30 (a), and it is noted that the nucleation of HAp crystals was initiated from the surface of the collagen fiber, leading to the conjecture that there are some types of chemical

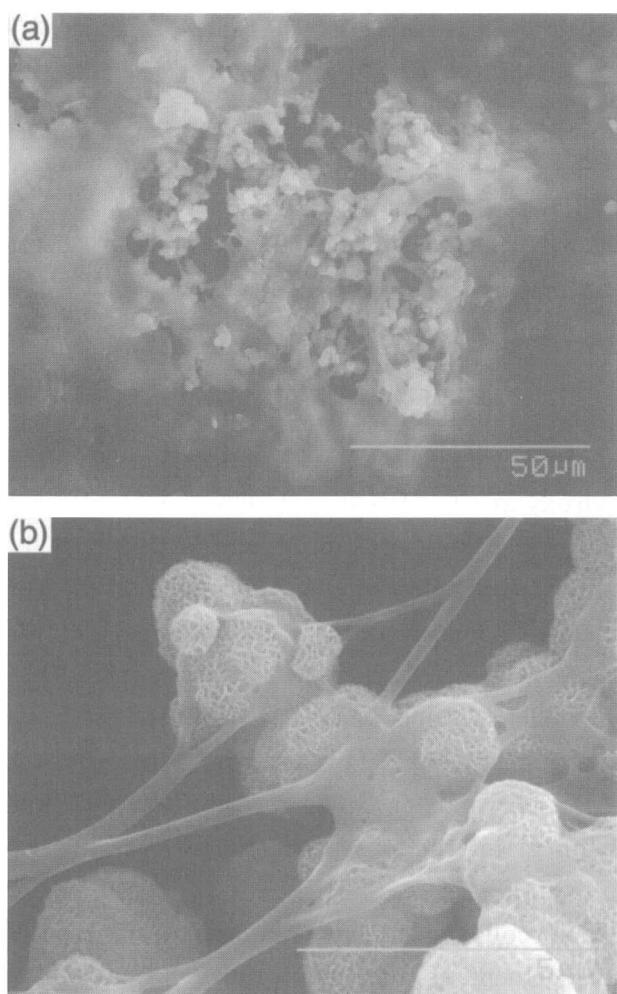


Fig. 3.30. Microstructures of the collagen membrane soaked in 1.5 SBF solution for 4 weeks at 36.5°C: (a) low and (b) high magnification.

interactions between the HAp crystals and collagen fibers.

Figure 3.31 shows the TF-XRD results of the specimens A and S. The broad peak due to the collagen membrane was observed only in the 2θ range of 12° - 25° in specimen A, while several HAp peaks denoted by H were observed in specimen S. Because the HAp peaks were comparatively broader than a normal HAp specimen, it was considered that the HAp crystals grown had low crystallinity or small crystallite size.

Figure 3.32 shows the results of infrared spectroscopy measurements on the collagen membrane before and after soaking in the 1.5 SBF solution for 4 weeks. The as-received collagen membrane showed the symmetrical stretching mode of a $(COO)^-$ ion at 1338cm^{-1} . After the nucleation of HAp crystals on the collagen membrane, however, the stretching mode of a $(COO)^-$ ion showed at 1334cm^{-1} , with the stretching mode of a $(PO_4)^{3-}$ ion at 1020 and 954cm^{-1} , and the out-of-plane mode of a $(CO_3)^{2-}$ ion at 873cm^{-1} . Therefore, the crystal that formed on the collagen membrane was a carbonate-containing HAp crystal, and the red shift of the carboxylate band suggests that there was a chemical interaction between the carboxylate group of the collagen and the nucleated HAp crystals.

Table 3.3 shows the calculated bond orders³⁹⁾ of the carboxylate group before and after binding a

calcium ion, which emulated the first-step nucleation of HAp crystal on the carboxylate group of collagen. The results show that when a calcium ion is bound to the carboxylate group, the positively charged calcium ion makes new chemical bonds with the two oxygen ions of the carboxylate group, resulting in the decrease of the C=O bond order (decreased from ~ 1.76 to ~ 1.51). This result fits well with the red chemical shifts of the carboxylate band of collagen in the FTIR measurements after formation of the HAp crystals (Fig. 3.32).

The results indicate that the nucleation of HAp crystals on collagen in the 1.5 SBF solution is critically dependent on the carboxylate group of collagen, which, in turn, depends on the charged

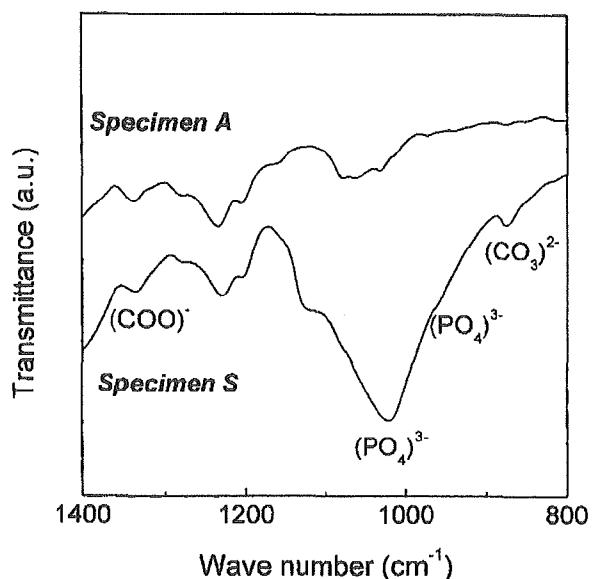


Fig. 3.32. FTIR spectrometry transmission spectra for the collagen membranes before and after soaking in 1.5 SBF solution.

Table 3.3 Calculated bond orders of carboxylate group before and after binding a calcium ion.

Bond	Bond order	
	$\begin{array}{c} O_1 \\ \diagdown \\ -C \\ \diagup \\ O_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} O_1 \\ \diagdown \\ -C \\ \diagup \\ O_2 \\ \\ Ca^{2+} \end{array}$
C-O ₁	1.7649	1.5058
C-O ₂	1.7649	1.5109
O ₁ -Ca		0.2015
O ₂ -Ca		0.2004

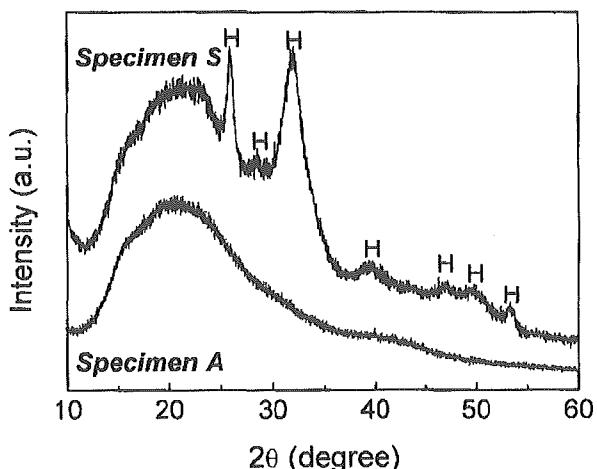


Fig. 3.31. Thin-film XRD profiles of the collagen membranes before and after soaking in 1.5 SBF solution for 4 weeks at 36.5°C .

functional groups that exist on the surface of collagen. In fact, there are several charged or polar functional groups in the collagen, i.e., negatively charged residue groups (aspartate and glutamate of the carboxylate group), positively charged residue groups (lysine, from the second amino group), arginine (guanidino group), and histidine (imidazole group). The polar but uncharged residue groups are serine and threonine (hydroxyl group), and methionine (sulfur atom). Besides the carboxylate group, the confirmation of the chemical shifts could hardly be detected via FTIR because of overlapping with other functional groups, which resulted from the HAp crystals. However, the possibility that these charged or polar groups participate in the nucleation of HAp crystals cannot be excluded. There have been several suggestions that phosphoprotein, amine salt, and the carboxylate group offer the nucleation sites for HAp crystal through binding oppositely charged ions, such as calcium and phosphate^{30,31,40}.

3. 2. 4 Conclusions

The nucleation of HAp crystal through the chemical interaction with collagen was examined. When a collagen membrane was soaked in supersaturated simulated body fluid (1.5 SBF) solution for 4 weeks, a few HAp crystals were formed, mostly on the edge-side of collagen membrane, and the carboxylate band of collagen showed a red chemical shift. These results coincided well with the decrease of calculated bond orders of the carboxylate group when chelated with a calcium ion, which emulated the first step nucleation of HAp crystal on the carboxylate group of collagen. Therefore, the results suggest that the nucleation of HAp crystals on collagen membrane in a 1.5 SBF solution is critically dependent on the carboxylate group of a collagen membrane.

Acknowledgment

The authors thank Nitta Gelatin, Inc., for donating the collagen membrane.

3. 3 Hydroxyapatite Coating on a Collagen Membrane by a Biomimetic Method⁴¹⁾

3. 3. 1 Introduction

Guided bone regeneration (GBR) or guided tissue regeneration (GTR) techniques have been recently used to heal soft- and hard-tissue defects, and promising results have been obtained.⁴²⁻⁴⁵⁾ In general, bioresorbable or biodegradable materials — e.g., collagen⁴², polytetrafluoroethylene (PTFE)⁴³, or aliphatic polyesters (such as poly(glycolic acid)⁴⁴ and poly(lactic acid)⁴⁵) membranes — have been frequently used for GBR. However, it is well-known that the composition of human cortical bone is ~70 wt% mineral (hydroxyapatite, HAp) and ~30 wt% organic (largely collagen)²⁷⁾. As a consequence, many attempts have already been made to develop an artificial bone composed of a HAp-collagen composite^{19,46-52)}; this artificial bone is expected have properties that are quite similar to those of human bone. However, there has been no attempt to develop it as a membrane, (i.e., GBR material).

In the present investigation, a HAp-collagen composite membrane has been made via a biomimetic method, with the aid of citric acid in a simulated body fluid (SBF) solution. The citric acid, as well as the SBF solution, are known to be bio-compatible; i.e., the constituents of the SBF solution are very similar to human blood plasma⁵³⁾ and the citric acid exists as citrate in the mineral portion of the human skeleton⁵⁴⁾. Therefore, the SBF solution with citric acid can mimic the gentle, *in vivo* conditions for synthesizing the HAp-collagen composite membrane. In this experiment, citric acid was observed to have a very good ability to induce HAp formation on a collagen membrane, although it has been known to be an inhibitor to the formation of calcium phosphates, because of its strong chelation ability with the calcium ion⁵⁵⁾.

3. 3. 2 Experimental Procedure

An SBF solution that had an ionic concentration that was 1.5 times higher than that of the SBF solution with ion concentrations close to human blood plasma (1.5SBF), as shown in Table 3.4, was

Table 3.4. Ionic Concentrations of SBF and 1.5SBF Solutions, in Comparison with Those of Human Blood Plasma

	Concentration (mM)							
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Blood plasma	142.0	5.0	2.5	1.5	27.0	103.0	1.0	0.5
SBF	142.0	5.0	2.5	1.5	4.2	148.0	1.0	0.5
1.5SBF	213.0	7.5	3.8	2.3	6.3	223.0	1.5	0.75

prepared by dissolving reagent-grade NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄•3H₂O, MgCl₂•6H₂O, CaCl₂, and Na₂SO₄ in ion-exchanged distilled water. The solution was buffered at pH 7.4 with tris(hydroxymethyl) aminomethane ((CH₂OH)₃CNH₂) and 1M HCl at 36.5°C. Citric acid (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Osaka, Japan) was dissolved in the 1.5SBF solution to give a concentration of 1mM, and the pH was readjusted to 7.4 by using (CH₂OH)₃CNH₂.

A collagen membrane (Nitta Gelatin, Osaka, Japan), which was made from bovine skin and had no HA forming ability in the SBF solution, was used in this experiment. The molecular weight was 30,000 and there was no chemical bridge among molecules (i.e., no hole zone). The dimensions of the used membrane were 1cm × 1cm × 0.1cm. The collagen membranes were immersed in 30ml of 1.5SBF solutions without and with citric acid and soaked for 1 week at a temperature of 36.5°C. Hereafter, the specimens obtained through the 1.5SBF solutions without and with citric acid will be called specimens B and C, respectively. After soaking, the specimens were re-moved from the fluid and gently rinsed with ion-exchanged distilled water 5 times and then dried at room temperature.

The surface microstructures, phases, and functional groups of the collagen membranes were analyzed via scanning electron microscopy (SEM), thin-film X-ray diffractometry (XRD) (Model RINT2000, Rigaku Co., Tokyo, Japan) with an angle of 1° to the direction of the incident X-ray, and Fourier-transformed infrared (FT-IR) transmission spectroscopy (Model Spectrum 2000, Perkin-Elmer, Norwalk, CT) by using a CaF₂ substrate. The concentration changes of calcium and phosphorus in the 1.5SBF solutions after soaking were measured by using inductively coupled

plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) (Model UOPs-2S, MARK II, Kyoto-koken Co., Kyoto, Japan).

3.3.3 Results and Discussion

Figure 3.33 shows the microstructures of specimens B and C, obtained after soaking in the 1.5SBF solutions at 36.5°C for 1 week. This figure clearly shows that only collagen fibers of the membrane were observed in specimen B. In specimen C, however, many spherulites were observed (Fig. 3.34), and these spherulites contain a larger number of tiny flakes. The micro-structure of the deposited HA crystals was quite similar to that deposited on bioactive glass or glass-ceramics in SBF solutions⁵⁶.

Figure 3.36 shows the thin-film XRD results of specimens B and C. The broad peak due to the collagen membrane was only observed in the 2θ range of 12°–30° in specimen B. In addition to this

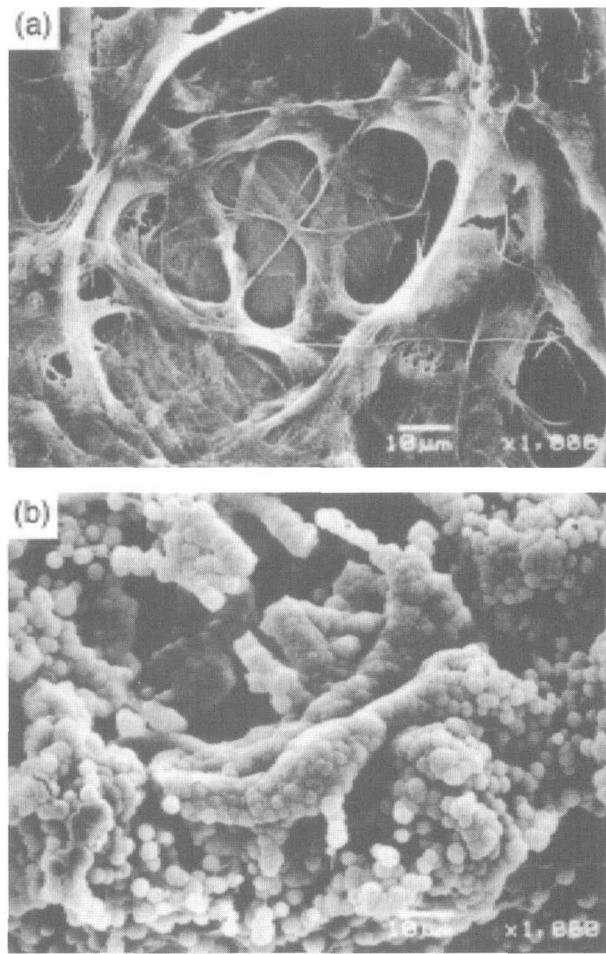


Fig. 3.33. Microstructures of (a) specimen B and (b) specimen C soaked in 1.5SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

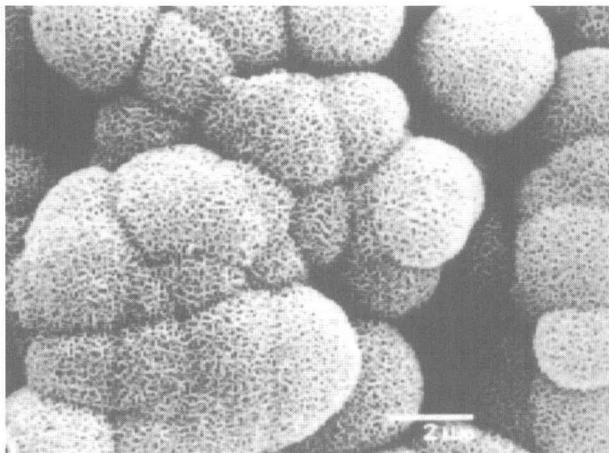


Fig. 3.34. Detailed microstructure of specimen C soaked in 1.5SBF solution for 1 week at 36.5°C.

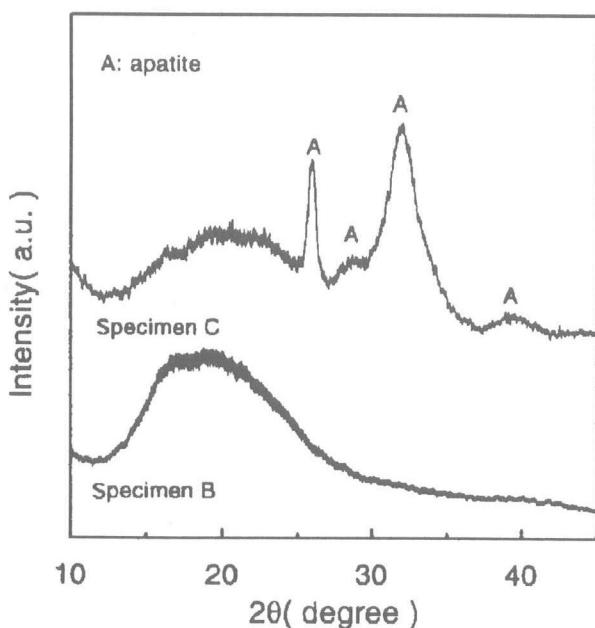


Fig. 3.35. Thin-film XRD results for specimens soaked in 1.5SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

peak, however, several HAp peaks (denoted by "A") were observed in specimen C. The broadness of the apatite peaks may be a result of low crystallinity or the small crystallite size of HAp.

Figure 3.37 shows the results of FT-IR spectroscopy measurements on specimens B and C. For specimen C, strong ν_3 and weak ν_1 peaks, which denoted the stretching mode of the $(PO_4)^{3-}$ ion, were observed at 1020 and 954cm^{-1} , respectively. A ν_2 peak, which denoted the stretching mode of the $(CO_3)^{2-}$ ion, was also observed at 876cm^{-1} . Therefore, the HAp crystal that formed on the collagen membrane was carbonate-containing hydrox-

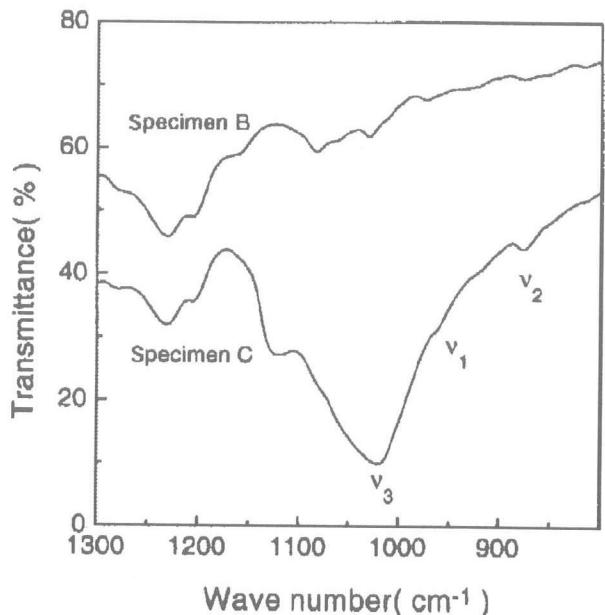


Fig. 3.36. FT-IR transmission spectra for specimens soaked in 1.5SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

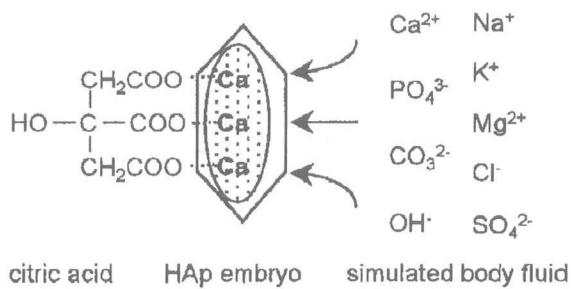


Fig. 3.37. Schematic illustration for the formation of HAp embryo with the aid of citric acid in simulated body fluid (SBF).

yapatite. However, HAp peaks were virtually absent from the spectra of specimen B.

The elemental-concentration changes of calcium and phosphorus in the SBF solution, after soaking for 1 week at 36.5°C, are given in Table 3.5. In specimen B, the concentrations of calcium and phosphorus decreased by ~9% and ~7%, with respect to the original concentrations of 150 and 46 ppm before soaking, respectively. In specimen C, these concentrations decreased by ~40% and ~57%, respectively. Therefore, the appreciable decrease in the calcium and phosphorus concentrations of specimen C can be attributed to the formation of HAp layers on the surface of the collagen membrane. On the other hand, in specimen B, a very small decrease of calcium and phosphorus has

Table 3.5. ICP-ES Results on Specimens Soaked in 1.5SBF Solution for 1 week at 36.5°C

Specimen	Elemental concentration (ppm)	
	Calcium	Phosphorus
B	137.34 ± 1.02	43.05 ± 1.16
C	90.21 ± 1.36	20.08 ± 0.35

occurred, which indicates that the formation of HAp is extremely slow without citric acid.

From these results, it can be presumed that the formation of HAp on a nonbioactive collagen membrane is critically dependent on the addition of citric acid in the SBF solution. For the explanation of HAp formation observed in this work, the nucleation model based on the chelation of the calcium ion with citric acid is believed to be appropriate, because calcium-ion binding is believed to be an initial step for the formation of calcium phosphates⁵⁷⁾.

Citric acid ($C_6H_8O_7$), which has three carboxyl groups in its molecule, is ionized to the $(C_6H_5O_7)^{3-}$ (*cit*) form⁵⁸⁾ by the loss of hydrogen ions ($pK_3=6.40$) in the SBF solution ($pH=7.4$). Negatively charged citric acid will chelate the calcium ions in the SBF solution and form the Ca-*cit* complex. Then, a cluster of critical size can be formed by adsorbing the calcium and phosphate ions and other citric acids on the Ca-*cit* complex three-dimensionally, and the clusters may act as nuclei for the crystal growth of HAp, as schematically shown in Fig. 3.37. After the nucleation, HAp crystals can grow spontaneously, because the SBF solution is already supersaturated, with respect to the HAp⁵⁹⁾. Therefore, in specimen B, the embryos of HAp could not grow to the critical size and act as nuclei, because of the large surface energy in the SBF solution. However, in specimen C, large clusters of HAp were formed with the aid of citric acid and these HAp clusters may act as the nucleation site for further growth of the HAp crystal in the SBF solution.

The results suggest that a carbonate-containing HAp coating on the nonbioactive collagen membrane can be obtained with the aid of citric acid in the 1.5SBF solution. The growth mechanism of

HAp crystal on the collagen membrane was biomimetic, and the environment of synthesis was very gentle. The dependence of citric acid concentration for the HAp formation is under investigation and will be published in the near future.

3. 3. 4 Summary

This investigation has shown that HAp-collagen composite membrane can be made in a simulated body fluid (SBF) solution with the aid of citric acid. When the collagen membrane was soaked in an SBF solution with an ionic concentration that was 1.5 times that of SBF solution that was similar to human blood plasma (1.5SBF) without citric acid, no HAp crystals formed on the surface. However, when the collagen membrane was soaked in the 1.5SBF solution with 1mM of citric acid, carbonate-containing HAp crystals formed. Therefore, the results suggest that citric acid has a nucleating ability and can accelerate the coating of carbonate-containing HAp crystals on a nonbioactive collagen membrane.

Acknowledgment

The authors thank Nitta Gelatin for donating the collagen membrane and Dr. D. Walsh for the helpful discussion.

3. 4 Hydroxyapatite formation on cellulose cloth induced by citric acid⁶⁰⁾

3. 4. 1 Introduction

Simulated body fluid (1.0 SBF) was designed to test the bioactivity of artificial bone material in vitro because its composition is very close to human blood plasma⁵³⁾. The SBF solution (1.5 SBF) with ion concentrations 1.5 times that of 1.0 SBF also has been used for coating of hydroxyapatite (HAp) on the surface of bioinert materials with artificially introduced surface functional groups that have an ability of inducing the HAp nucleation in SBF solutions. Such functional groups are, for example, silanol group⁶¹⁻⁶³⁾, phosphite group⁶⁴⁻⁶⁶⁾, or sodium titanate hydrogel layer⁶⁷⁻⁷⁰⁾ introduced by treatment with $CaO-SiO_2$ glass powder, urea/ H_3PO_4 solution, or strong alkaline solu-

tion (NaOH), respectively. The procedures for treatment, however, are so complicated or severe that the applications have been very limited.

In the present experiment, a simple coating method of HAp on bioinert cellulose cloth with the aid of citric acid in 1.5 SBF solution was examined. Since the citric acid has a strong chelating ability of calcium ions to its carboxylate groups, it is believed to induce HAp nucleation in 1.5 SBF solution⁴¹⁾. Besides, citric acid exists in fresh wet bone in the form of citrate⁵⁴⁾ and is involved in the citrate cycle in the body, it can mimic and offer gentle in-vivo conditions for synthesizing the HAp. Cellulose, made by polymerization of glucose, is a cheap and readily available material to employ, though no apatite forming ability in SBF solutions; it has one kind functional group (OH) which cannot directly induce HAp nucleation due to the absence of net charge⁶⁴⁾. Therefore, citric acid was used as a nucleating agent for HAp crystals on cellulose cloth. The hydroxyl group of citric acid may bond to the hydroxyl group in the cellulose through hydrogen bonding and can induce the HAp particles on it^{55,57,71,72)}.

3. 4. 2 Experimental procedure

The SBF solution (1.5 SBF) which has 1.5 times higher ion concentrations than the SBF solution with ion concentrations close to human blood plasma, as shown in Table 3.4 was prepared by dissolving reagent grade NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄·3H₂O, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂, and Na₂SO₄ in ion exchanged distilled water. The solution was buffered at pH 7.4 with tris(hydroxymethyl) aminomethane ((CH₂OH)₃CNH₂) and 1M hydrochloric acid (HCl) at 36.5°C. Citric acid (Wako Pure Chem. Ind. Ltd, Osaka, Japan) was dissolved into the 1.5 SBF solution to give a concentration of 1mM and pH was readjusted with tris(hydroxymethyl) aminomethane to 7.4.

Cellulose cloth (Bemcotlabo, Asahi Kasei, Osaka, Japan), which consists of 100% cellulose, lint free, and no HAp forming ability in SBF solution, was used in this experiment. Cellulose cloths with a dimension of 1 × 1 × 0.1cm³ were immersed

in 30 ml of 1.5 SBF solution with and without citric acid and soaked for 1 week at 36.5°C. Hereafter, the specimens obtained through the 1.5 SBF solutions with and without citric acid will be referred to as C - and B-specimens, respectively. After soaking, the specimens were removed from the fluid and gently rinsed with ion exchanged distilled water and then dried at room temperature.

The surface microstructures, phases and functional groups of the cellulose cloths after soaking in 1.5 SBF solution were analyzed by scanning electron microscopy (SEM), thin-film X-ray diffractometry (XRD, Model RINT2000, Rigaku Co., Tokyo, Japan) with an angle of 1° to the direction of the incident X-ray, and diffuse reflectance of Fourier-transformed infrared (FT-IR) spectroscopy (Model Spectrum 2000, Perkin-Elmer Co., Norwalk, U.S.A.). For IR spectroscopy measurements, the pulverized specimens were diluted with KBr powder by one tenth and the background noise was corrected with pure KBr data. The concentration changes of calcium in 1.5 SBF solutions before and after soaking were measured with inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP -AES) (Model UOPs-2S, MARK II, Kyoto-koken Co., Kyoto, Japan).

3. 4. 3 Results and discussion

Fig. 3.38 shows the microstructures of B- and C-specimens obtained after soaking in 1.5 SBF solutions at 36.5°C for 1 week. In the B-specimen, only fibers of the cellulose cloth were observed. In the C -specimen, however, many spherulites, which contain a large number of tiny crystals, deposited on the surface of cellulose cloth were observed. The microstructure of the HAp crystals was quite similar to that observed on the bioactive glass or glass -ceramics in 1.0 SBF solutions^{56,73-75)}. In the case of 1.0 SBF solution with the same amount of citric acid, however, no HAp formed on the surface of cellulose cloth. The differences of HAp forming abilities between 1.0 SBF and 1.5 SBF with citric acid may come from the degrees of supersaturation between the two solutions.

Fig. 3.39 shows the thin-film XRD results of B-

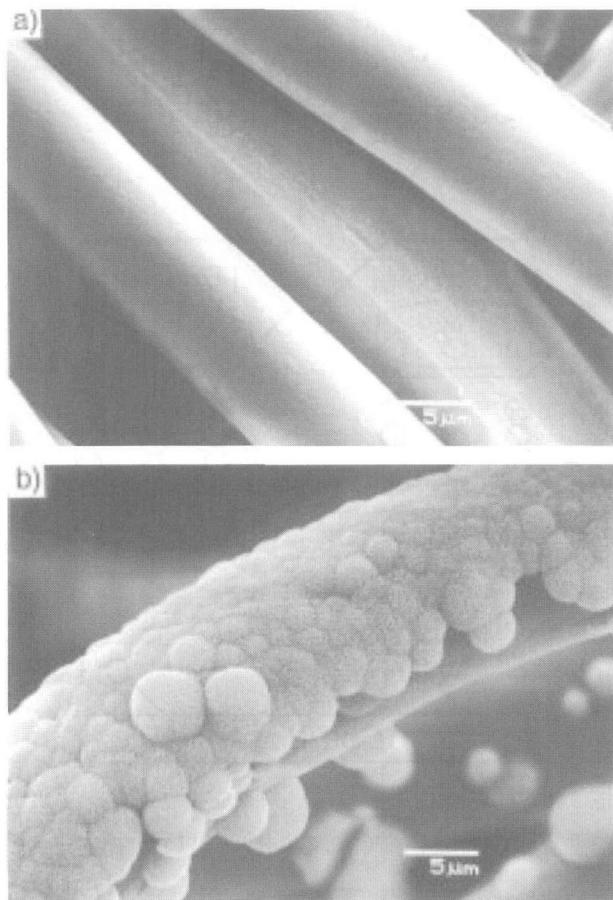


Fig. 3.38. Microstructure of the (a) B- and (b) C-specimens soaked in 1.5 SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

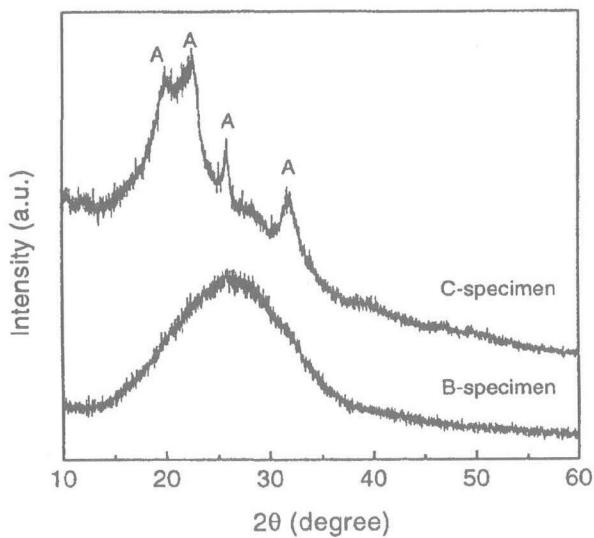


Fig. 3.39 Thin-film XRD results for the specimens soaked in 1.5 SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

and C- specimens. The broad peak due to the cellulose cloth was only observed in the 2θ range of 15°–35° in the B-specimen. However, several HAp peaks denoted by A were observed in the C-specimen. The broadness of apatite peaks may result

from low crystallinity or small crystallite size of the HAp.

Fig. 3.40 shows the results of IR spectroscopy measurements on the B- and C-specimens. For the C-specimen, the stretching modes of $(PO_4)^{3-}$ ion were detected at 1048, 604 and 568cm^{-1} . The stretching and out of plane modes of $(CO_3)^{2-}$ ion were also observed at 1419 and 878cm^{-1} , respectively. It means that PO₄ sites of HAp structure, *i.e.* B-site, were partly substituted by carbonate ions. The HAp crystal, therefore, which formed on the cellulose cloth was carbonate containing hydroxyapatite. However, HAp peaks were virtually absent from the spectrum of the B-specimen.

The elemental concentration changes of calcium in the 1.5 SBF solutions before and after soaking for 1 week at 36.5°C were detected by ICP-AES. In the B- and C- specimens, the concentrations of calcium decreased by approximately 3% and 44% to 137.3 ± 1.1 and 79.1 ± 0.5 ppm, respectively, with respect to the original concentration of 141.9 ± 1.0 ppm before soaking. The appreciable decrease in calcium concentration of the C-specimen can therefore be attributed to the formation of HAp particles on the surface of the cellulose cloth. On the other hand, in the B-specimen, a small decrease of calcium concentration has occurred, which indicates

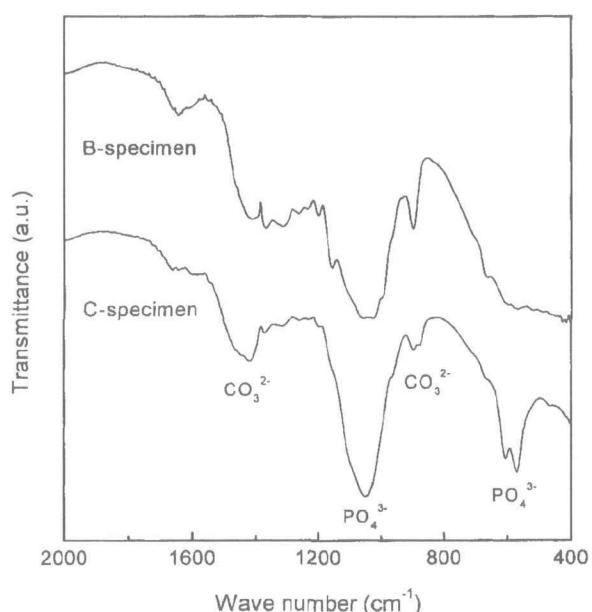
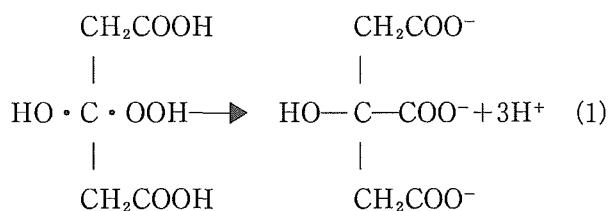


Fig. 3.40. FT-IR transmission spectra for the specimens soaked in 1.5 SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

that the formation of HAp is extremely slow without citric acid.

From these results, it can be presumed that the formation of HAp on the non-bioactive cellulose cloth is critically dependent on the addition of citric acid in 1.5 SBF solution. For the explanation of HAp formation observed in this work, the nucleation model based on the chelation of calcium ions with citric acid is believed to be appropriate because calcium ion binding is believed to be an initial step for the formation of calcium phosphates^{64,76-79)}.

Citric acid ($C_6H_8O_7$), which has a hydroxyl and three carboxyl groups in its molecule, may adhere to the cellulose surface through hydrogen bonding between two hydroxyl groups in citric acid and cellulose cloth, respectively, and it is ionized to the $(C_6H_5O_7)^{3-}$ (*cit*) form⁵⁸⁾ by the loss of hydrogen ions ($pK_3=6.40$) in 1.5 SBF solution ($pH=7.4$), according to the following reaction:



Negatively charged carboxylate headgroups will bind calcium ions³²⁾ in 1.5 SBF solution and form a Ca-*cit* complex at the cellulose fiber surface. Then, a cluster of critical size can be formed by adsorbing calcium, phosphate ions and other citric acids on the Ca-*cit* complex three-dimensionally and the clusters may act as nuclei for the crystal growth of HAp as schematically shown in Fig. 3.41. After nucleation, HAp crystals can grow spontaneously, because the 1.5 SBF solution is already supersaturated with respect to the HAp⁵⁹⁾. In the B-specimen, therefore, HAp embryos of the critical size could not be formed and the growth of nuclei could not be energetically favored due to the absence of calcium binding site. In the C-specimen, however, large clusters of HAp could be formed with the aid of citric acid and these HAp clusters may act as the nucleation site for further growth of HAp crystals

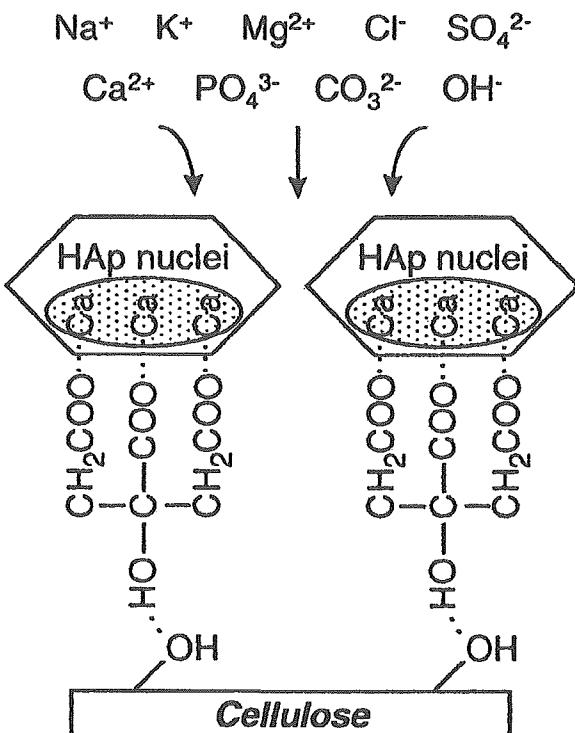


Fig. 3.41. Schematic illustration for the formation of HAp embryo on cellulose with the aid of citric acid in SBF.

in the 1.5SBF solution.

The results suggest that HAp nucleation on the non-bioactive cellulose cloth can be obtained with the aid of citric acid in 1.5 SBF solution. The bonding strength, however, between HAp particles and cellulose cloth may not be strong enough because they might be bonded through weak hydrogen bonding. The growth mechanism of HAp crystals on the cellulose cloth, however, was a biomimetic, the environment of synthesis was very gentle, and the procedure was simple compared with other methods to coat the HAp on bioinert materials. This method is believed to be applicable to other polysaccharides, such as chitin, which is biodegradable and non-toxic *in-vivo*.

3. 4. 4 Conclusions

This investigation has shown that HAp nucleation on cellulose cloth can be made in 1.5 SBF solution with the aid of citric acid. When cellulose cloth was soaked in 1.5 SBF solution without citric acid, HAp crystal growth was absent. When cellulose cloth was soaked in 1.5 SBF solution with 1mM of citric acid, however, HAp crystals formed. The

results therefore suggest that citric acid has a nucleating ability and can accelerate the nucleation of HAp crystals on non-bioactive cellulose cloth.

Acknowledgment

The authors thank Dr D. Walsh and Mr. K. Sato for helpful discussions. The work of S.-H. Rhee was supported by the Korea-Japan Industrial Technology Cooperation Foundation through the Researcher/Engineer Exchange Program.

3. 5 Preparation of Porous Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposites^{80,81)}

3. 5. 1 Introduction

In section 3.1, the HAP-embedded synthetic bone has been prepared using a biomimetic coprecipitation method. Until now we could attain the acceptable bone strength through the densification using cold isostatic press. In this study we'd like to manufacture a porous bone, which may be used in the substitutes of the soft bone such as hip joint. Porous HAp/collagen nanocomposites were prepared on the basis of the biomimetic method, combined with a cross-linkage process with glutaraldehyde.

3. 5. 2 Materials and Method

The slurry of HAp/collagen nanocomposites was prepared by the coprecipitation method²³⁾. 99.7mM of Ca(OH)₂ suspension and 59.7mM of H₃PO₄ aqueous solution were gradually added into a reaction vessel through the respective tube pumps; collagen was beforehand added in the H₃PO₄ solution for the weight ratio of final HAp/collagen composites to be 80/20. The temperature and pH in the reaction vessel were set at 38°C and 8.4, respectively. After the coprecipitation process, the slurry obtained was aged at 38°C for 12h; then, pH lowered gradually to 7.0. An aqueous solution of glutaraldehyde (0.2%) was slowly dropped into the slurry solution at 38°C; the molecule number of glutaraldehyde was regulated to be 30, 90, 300 or 600 per collagen molecule; the samples obtained are hereafter denoted by HCG30, HCG90, HCG300 and HCG600, respectively. Further, a pure collagen and a HAp/coll-

lagen composite without cross-linkage are abbreviated as COL and HAP/COL, respectively. The cross-linkage took place among the aldehyde groups of glutaraldehyde and the free amine groups of lysine or hydroxylysine that exist on the amino acid residues of collagen's polypeptide chain. After the cross-linkage, the HAp/collagen composite slurry was filtered using a glass filter and gently washed five times with ion-exchanged water. The precipitate obtained was dried at 30°C under vacuum in a freeze dryer (Advantage, Virtis, USA), or naturally dried in the air at 25°C.

3. 5. 3 Result and Discussion

Figure 3.42 shows the SEM photographs of the samples prepared. Fig. 3.42(A) shows a well-known porous network structure of collagen. Fig. 3.42 (C) is the microstructure of a freeze-dried HCG30, and Figs. 3.42(B) and (D)-(F) those of naturally dried samples. Peculiar pore structures could be found for the cross-linked samples; though pores were randomly distributed in the freeze dried sample (C), a channel structure with a spacing of about 100 nm were found parallel to a glass filter plane in the naturally dried samples (D, E). As many open pores were found in the plane (B) which was perpendicular to the planes (D, E), it was considered that the open pores formed columnar channels in matrices. In a higher magnified structure (F), many small pores were observed in the channels; therefore, the open channels probably formed a 3-dimensional network.

Glutaraldehyde (OHCCH₂CH₂CH₂CHO) has two functional groups (-CHO) to be able to link with ϵ -NH₂ groups of lysine or hydroxylysine residues in collagen. It is known that all available free amine groups react with glutaraldehyde to form Schiff's bases within 5 minutes. A collagen molecule of type I has approximately 3,000 ϵ -amine groups. When glutaraldehyde was added into the composite slurry during the preparation process, the size of precipitated particles was found to grow. According to Kikuchi *et al*²³⁾, such precipitated particles formed the assembly in which many HAp nanocrystals of about 50nm in size were aligned around

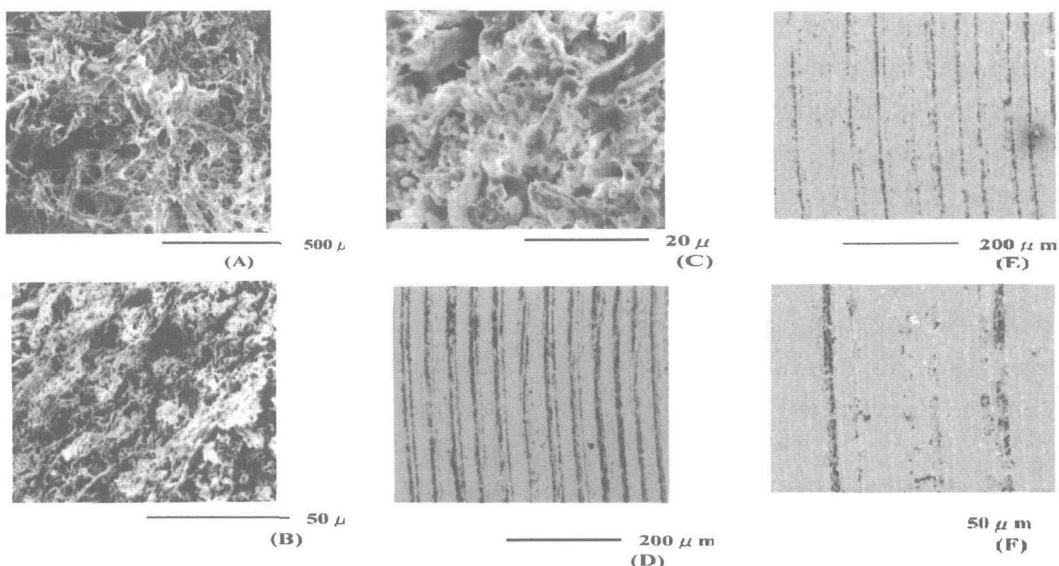


Fig. 3.42. SEM micrographs for COL(A), HCG30(B), HCG30(C, D) and HCG300(E,F). (A) and (C) indicate the freeze dried samples, while (B), (D), (E) and (F) indicate the naturally dried samples. Figure 3.42(B) is a perpendicular section of Figure 3.42 (D).

collagen molecules of 300nm in length, forming bundles. Therefore, it is considered that the cross-linkage formed between the bundles of HAp/collagen composites. The color of the HAp/collagen composite was essentially white, and the color changed from pale yellow to slightly dark yellow with the increase in the cross-linkage.

Fig.3.43 shows the FT-IR spectra of HAp/collagen composites; the peaks around at 1340cm^{-1} were ascribed to an antisymmetric stretching mode of carboxyl group COO^- in collagen. The peaks shifted to lower wave number with the number of cross-linkage for the samples of HCG30 and HCG90, while they shifted oppositely for the more cross-linked samples of HCG300 and HCG600. Since the red shift of the COO^- stretching mode was clearly found for the samples in which HAp nanocrystals were well aligned along collagen molecules, the opposite shift for HCG300 and HCG600 implied that the excess cross-linkage destroyed the HAp/collagen-aligned structure. The site number where glutaraldehyde could react in a collagen molecule, *i.e.* the ratio of lysine to all amino residues, is 5%. This site number corresponds to molecules number of glutaraldehyde per collagen molecule, being in rough agreement with the number of glutaraldehyde molecules where the red shift was largest, *i.e.* between 30 and 90 molecules. The cross-

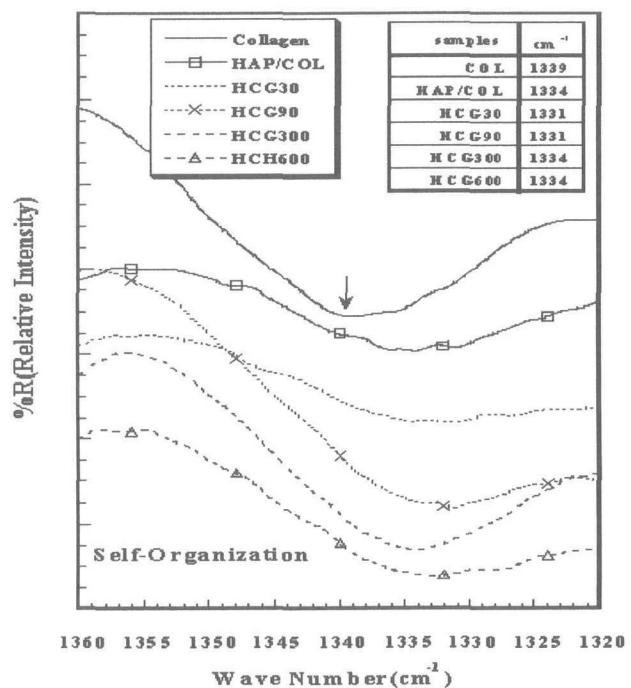


Fig. 3.43. FT-IR spectra of pure collagen (COL), HAP/collagen composite without cross-linkage (HAP/COL), and cross-linked HAp/collagen composites (HCG30, HCG90, HCG300, HCG600). COL and HAP/COL were freeze-dried, and cross-linked HAp/collagen composites were naturally dried in the air.

-linked composite of HCG30 was very flexible in a wet state similarly to rubber while it became much strong when dried. Bending strength and Young's modulus were 7.7MPa and 120MPa, respectively,

for the freeze-dried sample, and 16MPa and 580MPa for the naturally-dried sample. Therefore, the naturally-dried sample had considerably good mechanical property though it was weaker in comparison with a full-dense HAp/collagen composite, whose bending strength and Young's modulus were 50Mpa and 3Gpa, respectively.

3. 5. 4 Conclusion

In summary, porous HAp/collagen nanocomposites were prepared with a coprecipitation method and by controlling the cross-linkage using glutaraldehyde. The columnar structure in which rod-shaped bundles were well assembled was developed with open porous channels of 5–50 μm in diameter. The self-assembly of the columnar structure took place during a slow drying process, depending on the amount of glutaraldehyde. To achieve the development of a porous body having pore size between 150–200 μm , further improvement is necessary.

参考文献

- 1) 須田立雄, 小澤英浩, 高橋栄明編 “骨の科学”, (医歯薬出版, 1985)
- 2) D.R. Mehlisch, A.S. Leider and W.E. Roberts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 70(6), 685–692(1990).
- 3) W.R. Walsh, J. Harrison, A. Loefler, T. Martin, D. Van Sickle, M.K. Brown and D.H. Sonnabend, *Clin Orthop*, 375, 258–266(2000).
- 4) V.C. Amaro Martins and G. Goissis, *Artif Organs*, 24, 224–230(2000)
- 5) C. Du, F.Z. Cui, X.D. Zhu and K. de Groot, *J Biomed Mater Res*, 44, 407–415(1999)
- 6) C. Du, F.Z. Cui, Q.L. Feng, X.D. Zhu and K. de Groot, *J Biomed Mater Res*, 42, 540–548(1998)
- 7) I. Asahina, M. Watanabe, N. Sakurai, M. Mori and S. Enomoto S, *J Med Dent Sci*, 44, 63–70(1997).
- 8) V.C. Martins, G. Goissi, A.C. Ribeiro, E. Marcantonio Jr and M.R. Bet, *Artif Organs*, 22, 215–221(1998).
- 9) K.S. Borsato and N. Sasaki, *J Biomech*, 30, 955–957 (1997).
- 10) Q.Q. Zhang, L. Ren, C. Wang, L.R. Liu, X.J. Wen, Y.H. Liu and X.D. Zhang, *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 24, 693–702(1996).
- 11) H. Suh and C. Lee, *ASAIO J*, 41, M652–656(1995).
- 12) S. Galbavy, J. Lezovic, J. Horecky, M. Vanis and D. Bakos, *Bratisl Lek Listy*, 96, 368–370(1995).
- 13) W.R. Walsh and N. Guzelso, *Biomaterials*, 15, 137–145 (1994)
- 14) J.F. Mammone and S.M. Hudson, *J Biomech*, 26, 439–446 (1993)
- 15) C.N. Cornell, J.M. Lane, M. Chapman, R. Merkow, D. Seligson, S. Henry, R. Gustilo and K. Vincent, *J Orthop Trauma*, 5, 1–8(1991)
- 16) M. Okazaki, H. Ohmae, J. Takahashi, H. Kimura and M. Sakuda, *Biomaterials*, 11, 568–572(1990)
- 17) H.A. Marouf, A.A. Quayle and P. Sloan, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 1990; 5, 148–154
- 18) A. Kocialkowski, W.A. Wallace and H.G. Prince, *Injury*, 21, 142–144(1990).
- 19) K.S. Tenhuisen, R.I. Martin, M. Klimkiewicz and P.W. Brown. *J. Biomed Mater Res.*, 29(7), 803–810(1995).
- 20) Y. Miyamoto, K. Ishikawa, M. Takechi, T. Toh, T. Yuasa, M. Nagayama and K. Suzuki, *Biomaterials*, 19, 707–715(1998)
- 21) 菊池正紀, 末次寧, 趙晟佰, 田中順三, 萬代佳宣, 中谷伸一, 森村正博, 日本セラミックス協会第10回秋季シンポジウム, 1997年10月
- 22) 中村浩, 伊藤聰一郎, 松原正明, 四宮謙一, 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, 日整会誌, 73(1998)
- 23) M. Kikuchi, S. Itoh, S. Ichinose, K. Shinomiya and J. Tanaka, *Biomaterials*, In print
- 24) 投稿準備中
- 25) S. Itoh, M. Kikuchi, K. Takakuda, Y. Koyama, H.N. Matumoto, S. Ichinose, J. Tanaka, T. Kawauchi and K. Shinomiya, *J. Biomed Mater Res*, 54 [3], 445–453(2001)
- 26) S. H. Rhee, J. D. Lee and J. Tanaka, *J. Am. Ceram. Soc.*, 83 [11] 2890–2892 (2000)
- 27) S. C. Cowin, W. C. Vanburkirk, and R. B. Ashaman, *Handbook of Bioengineering*; p. 97. Edited by R. Skalak and S. Chien. (McGraw-Hill, New York, 1987).
- 28) S. Mann, *Nature (London)*, 332 [10] 119–124 (1998).
- 29) A. L. Lehninger, D. L. Nelson, and M. M. Cox, "Principles of Biochemistry" p.166. (Worth Publishers, New York, 1993).
- 30) S.-H. Rhee and J. Tanaka, *Biomaterials*, 20 [22] 2155–2160 (1999).
- 31) M. Kikuchi, Y. Suetsugu, J. Tanaka, S. Itoh, S. Ichinose, K. Shinomiya, Y. Hiraoka, Y. Madai, and S. Nakatani,

- Bioceramics, 12, 393-396(1999).
- 32) S. Mann, B. R. Heywood, S. Rajam, and J. D. Birchall, Nature (London), 334 [25] 692-695 (1998).
- 33) S. Weiner and W. Traub, Philos. Trans. R. Soc. London, B304, 425-434 (1984).
- 34) T. Kokubo, K. Hata, T. Nakamura, and T. Yamamuro, Bioceramics, 4, 113-120(1991).
- 35) J. Gamble,"Chemical Anatomy". pp.1-8, (Harvard University Press, Cambridge, MA, 1967).
- 36) B. Delly, J. Chem. Phys., 92, 508-517 (1990).
- 37) B. Delly, J. Chem. Phys., 94, 7245-7250 (1991).
- 38) S. H. Vosko, L. Wilk, and M. Nusair, Can. J. Phys., 58, 1200-1211 (1980).
- 39) I. Mayer, Int. J. Quantum Chem., 29, 477-483 (1986).
- 40) M. J. Glimcher, "The Chemistry and Biology of Mineralized Connective Tissues". pp.617-673, Edited by A. Veis. (Elsevier, Barking, Essex, U.K., 1981).
- 42) S.H. Rhee and J. Tanaka, J. Am. Ceram. Soc., 81 [11] 3029-3031 (1998).
- 42) G. Brunel, P. Piantoni, F. Elharar, E. Benque, P. Marin, and S. Zahedi, J. Periodontol., 67 [12] 1342-1348 (1996).
- 43) B. L. Dyer, R. G. Caffesse, C. E. Nasjleti, and E. C. Morrison, J. Periodontol., 64 [11] 1052-1060 (1993).
- 44) C. P. Chung, D. K. Kim, Y. J. Park, K. H. Nam, and S. J. Lee, J. Periodontol. Res., 32 [1] 172-175 (1997).
- 45) M. Simion, A. Scarano, L. Gionso, and A. Piattelli, Int. J. Oral Maxillofacial Implants, 11 [6] 735-742 (1996).
- 46) T. Iwano, H. Kurosawa, K. Murase, H. Takuchi, and Y. Ohkubo, Clin. Orthop. Rel. Res., 268, 243-252 (1991).
- 47) T. Hogervorst, D. W. Meijer, and P. J. Klooper, J. Appl. Biomater., 3 [4] 251-258 (1992).
- 48) K. I. Clarke, S. E. Graves, A. T. C. Wong, J. T. Triffitt, M. J. O. Francis, and J. T. Czemuszka, J. Mater. Sci. Mater. Med., 4 [2] 107-110 (1993).
- 49) A. Rovira, R. Bareille, I. Lopez, F. Rouais, L. Bordenave, C. Rey, and M. Rabaud, J. Mater. Sci. Mater. Med., 4, 372 -380 (1993).
- 50) K. Hirota, K. Nishihara, and H. Tanaka, Biomed. Mater. Eng., 3 [3] 147-151 (1993).
- 51) R. Z. Wang, F. Z. Cui, H. B. Lu, H. B. Wen, C. L. Ma, and H. D. Li, J. Mater. Sci. Lett., 14, 490-492 (1995).
- 52) H. Okamura, M. Yasuda, and M. Ohta, Denki Kagaku, 65 [7] 586-589 (1997).
- 53) T. Kokubo, T. Hayashi, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, M. Takagi, and T. Shibuya, "Ceramics in Clinical Applications", pp.175-184, Edited by P. Vincenzi. (Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 1987).
- 54) T. F. Dixon and H. R. Perkins, "The Biochemistry and Physiology of Bone". pp.309-323, Edited by G. H. Bourne. (Academic Press, New York, 1956).
- 55) J. D. Sallis, "Calcium Phosphates in Biological and Industrial Systems". pp.173-191, Edited by Z. Amjad. (Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, 1998).
- 56) S.-B. Cho, K. Nakanishi, T. Kokubo, N. Soga, C. Ohtsuki, T. Nakamura, T. Kitsugi, and T. Yamamuro, J. Am. Ceram. Soc., 78 [7] 1769-1774 (1995).
- 57) M. Tanahashi and T. Matsuda, J. Biomed. Mater. Res., 34, 305-315 (1997).
- 58) P. C. Hidber, T. J. Graule, and L. Gauckler, J. Am. Ceram. Soc., 79 [7] 1857-1867 (1996).
- 59) W. Neuman and M. Neuman, "The Chemical Dynamics of Bone Mineral", p.34. (University of Chicago, Chicago, 1958).
- 60) S.H. Rhee and J. Tanaka, J. MATER. SCI.: MATER. IN MED. 11 449-452(2000)
- 61) F. Miyaji , M. Iwai, T. Kokubo And T. Nakamura, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 9, 61. (1998)
- 62) M. Tanahashi, T. Yao, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura And T. Yamamuro, J. Am. Ceram. Soc. 77, 2805 (1994)
- 63) G. J . Liu, F. Mi Yaji , T. Kokubo, H. Takadama, T. Nakamura And A. Murakami, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 9, 285 (1998)
- 64) M. R. Mucalo, Y. Yokogawa, M. Toriyama, T. Suzuki, Y. Kawamoto, F. Nagata And K. Ni S Hi Z Awa, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 6 , 597(1995)
- 65) M. R. Mucalo, Y. Yokogawa, M. Toriyama, T. Suzuki, Y. Kawamoto, F. Nagata And K. Ni S Hi Z Awa, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 6,658 (1995)
- 66) Y. Yokogawa, J . Pazreyes, M. R . Mucalo, M. Toriyama, Y. Kawamoto, T. Suzuki , K. Ni S Hi Zawa, F. Nagata And T. Kamayama, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 8,407 (1997)
- 67) H.-M. Kim, F. Miyaji , T. Kokubo And T. Nakamura, J. Ceram. Soc. Jpn. 105,111 (1997)
- 68) H.-M. Kim, F. Miyaji , T. Kokubo And T. Nakamura, J. Biomed. Mater. Res.: Appl. Biomater. 38,121 (1997)
- 69) H.-M. Kim, F. Miyaji , T. Kokubo And T. Nakamura, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 8 ,341(1997)
- 70) H.-M. Kim, F. Miyaji , T. Kokubo And T. Nakamura, J.

リン酸炭酸カルシウムに関する研究

- Biomed. Mater. Res. 32 ,409(1996)
- 71) L . Brecevic And H. F. Milhofer, Calcif. Tissue Int. 28 , 131 (1979)
- 72) Z . Amjad, In "Mineral Scale Formation And Inhibition", P.207, Edited By Z. Amjad (Plenum Press, Ny, 1995).
- 73) P. Li , C . Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nakanishi, N . Soga, T. Nakamura And T. Yamamuro, J. Am. Ceram. Soc. 75,2094 (1992)
- 74) P. Li , C . Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nakanishi, N . Soga, T. Nakamura And T. Yamamuro, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 4,127 (1993)
- 75) S.-B. Cho, K. Nakanishi, T. Kokubo, N. Soga, C. Ohtsuki And T. Nakamura, J. Biomed. Mater. Res. Appl.
- Biomater. 33,145 (1996)
- 76) A. L . Boskey And A. S . Posner, Calcif. Tissue Res. 23, 251 (1977)
- 77) S . Weiner, Crc Crit. Rev. Biochem. 20,365 (1986)
- 78) A. Linde, A. Lussi And M. A. Crenshaw, Calcif. Tissue Int. 44,286 (1989)
- 79) S . Shimabayashi, N. Hashimoto And T. Uno, Phosphorous Res. Bull. 3.7 (1993)
- 80) M. C. Chang, T. Ikoma, M. Kikuchi and J. Tanaka, J. Mat. Sci. Lett.,(submitted)
- 81) M. C. Chang, T. Ikoma, M. Kikuchi and J. Tanaka, J. Mat. Sci., Mat. In Med.,(Submitted)

第4章 無機・有機ヘテロ界面の解析と制御

4. 1 高分解能電子顕微鏡によるハイドロキシアパタイトの界面観察

4. 1. 1 はじめに

ハイドロキシアパタイト (HAp) は骨、歯の主要構成鉱物であり、骨代替材料を考える上できわめて重要な物質である。HAp は生体内に包埋されると、生体骨に直接結合する材料であることが知られている¹⁾。また、HAp とコラーゲンの複合材料が生体内で本物の骨に置換されうることが報告されている²⁾。このような“生体活性”と呼ばれる HAp の特性は、HAp 表面と生体内の有機物質や細胞との相互作用によって生じると考えられる。生物がその体内において骨や歯などの硬組織を形成するバイオミネラリゼーションの過程においては、無機結晶の自己組織化的集積は無機・有機界面の化学的相互作用によると考えられている。このような HAp 表面と有機物質の間の相互作用を理解するために、HAp 表面の構造を詳細に調べることが必要不可欠である。

HAp 結晶表面には六方晶系の {100} 面が現れることが多い。擬似生体環境下で有機単分子膜上に HAp を析出させる実験から、{100} 面と有機官能基の相互作用の重要性が議論されている^{3,4)}。本研究においては、HAp 結晶の表面における原子配列を高分解能透過型電子顕微鏡 (HRTEM) による界面観察から明らかにすることを試みた。

4. 1. 2 実験

観察対象には、化学量論組成 HAp の焼結体を用いた^{5,6)}。焼結体を機械研磨し、さらにアルゴンイオンミリングすることで電子線が透過しうる薄さにした。HRTEM 観察はフィールドエミッション透過型電顕 HF-2000 (日立製作所) を用い、加速電圧200kV でおこなった。得られた HRTEM 像の詳細な解釈は、マルチスライス法によるシミュレーションイメージとの比較によってすすめた。シミュレーションは MacTempas ソフトウェア (Total Resolution Co.) を用いておこなった。

4. 1. 3 結果と考察

HAp の結晶構造は六方晶系の $P6_3/m$ で記述される

ことが多いが、化学量論組成 HAp においては OH イオンが c 軸にそってオーダーリングすることで対称性が下がり、单斜晶系 ($P2_1/b$) になることが知られている⁷⁾。しかし、本研究においては両者の差違が無視しうるため、以下六方晶系にしたがって構造を表すこととする。

TEM 観察において、0.5-1 ミクロンサイズの結晶粒のみが観察された。粒界はわずかに湾曲していることが多い、粒界にアモルファス相は観察されなかった。図4.1に[001]方向からの HAp の HRTEM 像およびシミュレーション像を示す。OH カラムの位置が白い輝点として明確に現れており、またユニットセル内部の構造までが確認できる。図4.2に {100} 面に平行な粒界の HRTEM 像を示す。下側の結晶粒は [001] 方向が入射電子線と平行になっており、粒界が紙面に対して垂直になっている。粒界は結晶粒外形の湾曲に沿って {100} 面からなるステップ構造をとっている（図中矢印）、そ

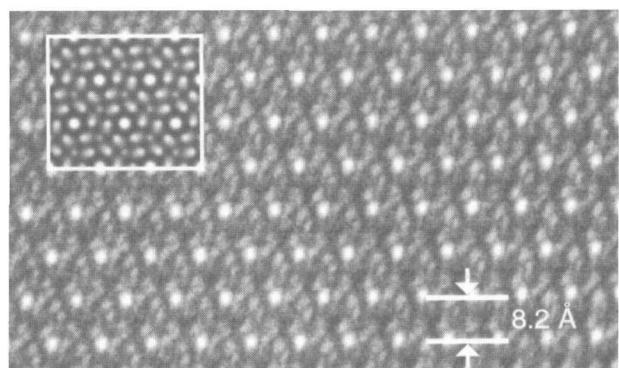


Fig. 4.1. An HRTEM image of the HAp along [001] direction. The inset shows the simulated image of HAp structure.

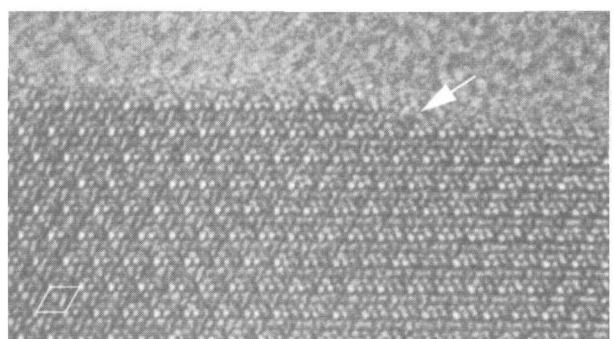


Fig. 4.2. An HRTEM image of a grain boundary that is parallel to a (100) plane. The unit cell of HAp structure is outlined in the micrograph.

れによって粒界エネルギーを下げていると考えられる。我々は、特定の界面構造によって HAp の結晶構造が終端し、それが粒界のステップ構造を構成していると予想した。粒界構造を詳細に調べるため、マルチスライス法によるシミュレーション像と図4.2の HRTEM 像の比較をおこなった。図4.3にシミュレーションの結果を示す。2種類の結晶終端構造に対し、試料厚さとフォーカス量を変えて計算をおこなった。図4.3(a)の界面構造モデルにおいては、HAp 構造は OH カラム, Ca2 サイト, PO₄ 四面体の存在する面において終端している。図4.3(b)は、(a)のモデルから外側の Ca2 サイト, PO₄ 四面体および OH カラムを除いた構造になっている。図4.3(a)のモデルにおいては終端部の一番外側の OH カラムにあたる部分に明確な白い輝点が現れるが、図4.3(b)においてはそれは確認されない。図4.2に見られるように、実際の HRTEM 像においては下側の結晶粒の構造は OH カラム部分にあたる明確な輝点とともに終端しており、観察像に合致するモデルは図4.3(a)であることが明らかである。図4.3(a)のモデルについては、最外部の OH カラムに OH イオンが入っているモデルと入っていないモデルについて計算をおこなったが、両者の結果は全く変わらない像となっており、実際の構造において外側の OH カラムが満たされているのか否かについては確認できなかった。以上の結果から、{100}に平行な結晶粒界においては、HAp 結晶構造は OH カラム, Ca2 サイト, PO₄ 四面体上を通る平面で終端していることが明らかとなった。

結晶性の試料を TEM 観察する場合、長時間電子線照射を続けると試料中に結晶構造の部分的な崩壊や非晶質化が生じることがある⁸⁾。このような電子線照射に

よる試料損傷は主に、非弾性散乱によって入射電子線から結晶構造中の原子へエネルギーが受け渡され、原子が構造中から脱出することに起因する。HAp 焼結体に関しても、高分解能観察を長時間続けると結晶構造中に非晶質化領域があらわれることがある⁹⁾。[001]からの電子線照射の場合、非晶質領域は結晶構造を反映して特徴的な六角形の形状をとる（図4.4）。この場合の非晶質化領域は、HAp 結晶の {100} 面で三次元的に囲まれたボイドである。また、結晶領域と非晶質領域の界面は、HRTEM 観察によると図4.2に示した{100} 粒界構造と同様のコントラストを示す。電子線による結晶の非晶質化プロセスは、結晶構造中の原子間結合の強弱と強い相関があり、非晶質化によって現れる{100} 面の構造は HAp 結晶構造が {100} 平面によって終端する際の最も安定な構造であると考えられる。粒界構造および結晶/非晶質の界面構造がいずれも同様の原子配列を示していることから、HAp 結晶構造が {100} 平面で終端する場合、本研究で示した構造が最も安定であると考えられる。

4. 1. 4 まとめ

HAp 焼結体の粒界および結晶/非晶質領域の界面構造を HRTEM によって原子レベルで観察した。そのいずれもが、{100} に平行な界面において OH カラム, Ca2 サイト, PO₄ 四面体上を通る平面で終端しているこ

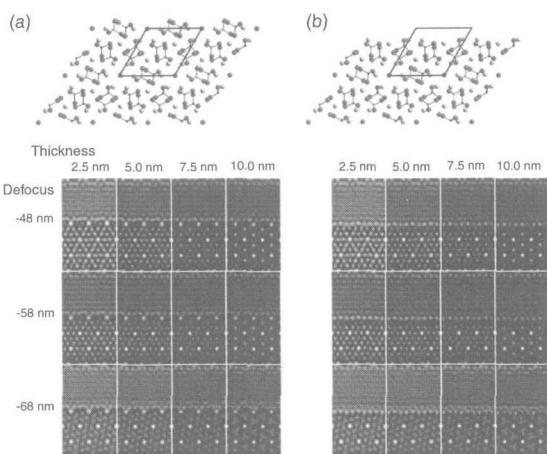


Fig. 4.3. Atomic arrangement models for the {100} interfaces and corresponding HRTEM simulated images.

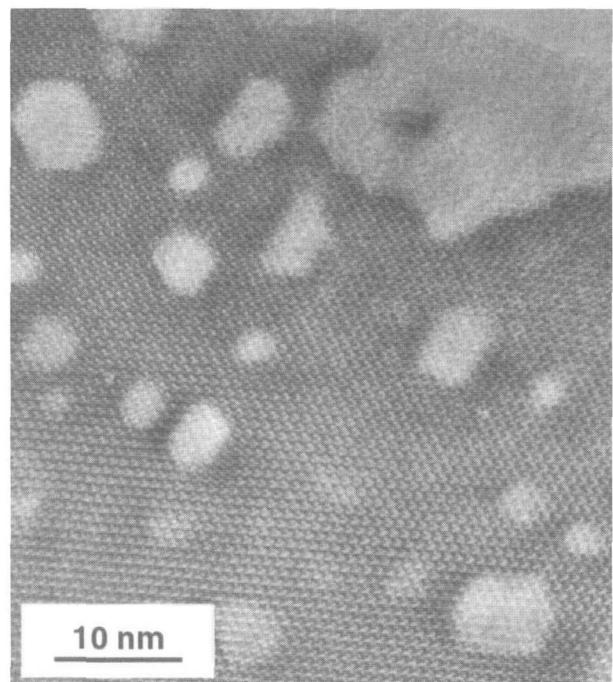


Fig. 4.4. Irradiation-induced damage in a grain oriented along [001] direction with 200 keV electrons. Thinned and vitrified regions are roughly hexagonal in shape.

とが明らかとなった。この構造は HAp 結晶構造が{100}面で終端する場合の最も安定な構造であると考えられ、HAp の表面構造を考える上でも非常に重要な知見である。

4. 2 有機単分子膜上でのハイドロキシアパタイト結晶成長

4. 2. 1 はじめに

生体組織中において無機結晶が形成される過程（バイオミネラリゼーション）の結果として生ずる無機固体は、その形状、結晶相、結晶学的方位などが高度に制御されている。バイオミネラリゼーションは、生体高分子（有機マトリックス）上に無機結晶が析出するプロセスであり、4つのステップに分解される¹⁰⁾。

- (1) 有機マトリックスの構築/タンパク質や多糖類のネットワークで囲まれた反応空間が形成される。
- (2) 界面分子認識と結晶核の形成/局所的な反応空間へ無機イオンが輸送され、無機・有機界面相互作用により有機マトリックス上に結晶核が形成される。
- (3) 結晶成長/結晶核の周囲に無機結晶が成長する。
- (4) 細胞活動による高次構造化/細胞が上記1-3の時系列を繰り返し制御し、生体鉱物が集合して無機・有機物質が高度に配向した組織体ができる。

以上のように、バイオミネラリゼーションでは、マトリックスである有機物が無機構造体に取り込まれる。両者は密接に接合・組織化され、様々な機械的・生化学的機能を持つ、生体組織と調和した材料となる。

生体内で作られた無機結晶群は、形状・構造の精妙さから多くの研究者の化学的興味を刺激している。そして、生成メカニズムを解明する研究に限らず、その結果を利用して付加価値の高い人工材料を創成する工学技術へと発展しようとしている。その技術分野は、バイオミメティクス（生体模倣）と呼ばれている¹¹⁾。バイオミメティクスの目指すところは、常温・常圧・水溶液中において、結晶構造・サイズ・形状・方位を高度に制御した無機材料・複合材料を合成することである。生体プロセスを応用することで、わずかなエネルギーで高機能の材料ができると期待されている。

生体骨は主に、ハイドロキシアパタイト（HAp）微結晶とコラーゲンからできている。骨の特徴は、HAp のナノ結晶がコラーゲン纖維に沿って方向をそろえて自己組織的に配列している点である。その結果、骨は硬くて、特異なしなやかな性質を示す¹²⁾。骨の自己組織化は、コラーゲン分子の側鎖に存在する有機官能基とリン酸カルシウムの化学的相互作用に起因している

と考えられる。そのことを明らかにするため、末端にコラーゲンのそれと同じ官能基をもつ両親媒性分子を用いたモデル実験をおこなった。両親媒性分子の単分子膜を作製し、それを擬似生体環境下に置くことで、無機・有機界面相互作用について調べた。

4. 2. 2 実験

ラングミュア・プロジェクト（LB）法^{13,14)}により、アラキジン酸 ($C_{19}H_{39}COOH$) およびステアリルアミン ($C_{18}H_{37}NH_2$) の有機単分子膜を作製した。両親媒性分子のクロロフォルム溶液を展開液とし、LB 膜作製装置のトラフ中の純水表面に滴下した。その後、気液界面の単分子膜に適当な表面圧をかけて膜の構造を制御し、疎水化ガラスおよびフッ化カルシウム基板上に図4.5のように有機官能基が膜の外側に向くよう累積した。得られた LB 膜を、血液の無機成分にほぼ等しい組成を有する擬似体液¹⁵⁾に浸漬した。

LB 膜表面に析出した無機結晶、擬似生体環境下において形成された無機・有機界面の状態は、X線回折、赤外分光、ゼータ電位測定、走査型電子顕微鏡(SEM)、透過型電子顕微鏡(TEM)などによって調べた。

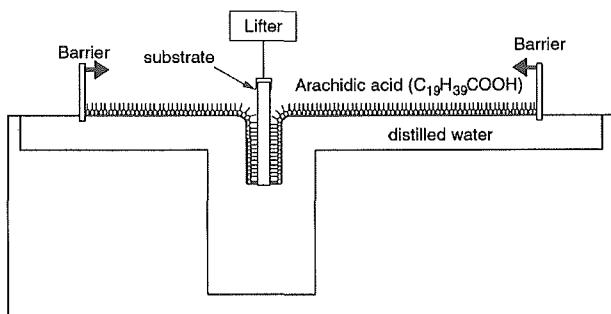


Fig. 4.5. Preparation of Langmuir-Blodgett (LB) monolayer film.

4. 2. 3 結果と考察

作製した LB 膜は、赤外分光、ゼータ電位測定によって基板上有機単分子膜が累積していることを確かめた。疎水化ガラスの表面のゼータ電位が $-41mV$ であるのに対し、アラキジン酸 LB 膜表面は $-61mV$ 、ステアリルアミン LB 膜の表面は $+41mV$ であり、膜表面の静電的性質が有機官能基によって変化していることが示された。

図4.6にガラス基板に累積した LB 膜の薄膜X線回折パターンを示す。擬似体液に浸漬する前は、ガラス基板によるブロードな回折ピークのみがみられた。LB 膜を累積していないガラス基板は、浸漬10日後も変化は

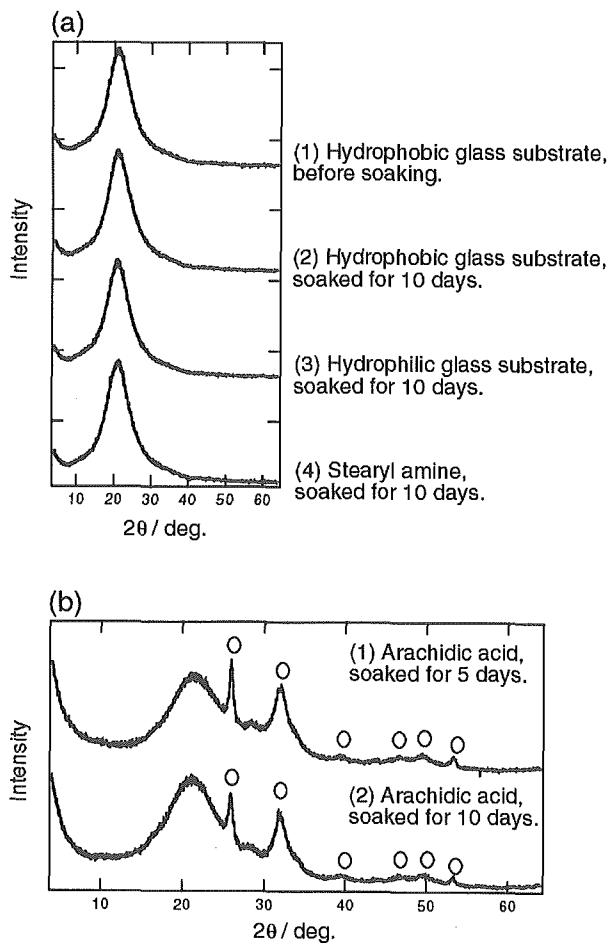


Fig. 4.6. Thin-film X-ray diffraction patterns of substrates and LB monolayers soaked in SBF.

みられない。同様に、ステアリルアミンのLB膜も、浸漬の前後で変化はみられなかった。しかし、アラキジン酸LB膜については、アパタイト構造に帰属される回折線が生じた。図4.7に赤外分光(正反射法測定)の結果を示す。LB膜なしのガラス基板およびステアリルアミンLB膜の場合、浸漬後もガラスによるプロファイルのみがみられる。アラキジン酸LB膜の場合は、リン酸カルシウムによるスペクトルが確認された¹⁶⁾。これらの結果から、コラーゲンのもつ官能基のうち、特にカルボキシル基が無機結晶の誘導に重要な役割を果たしていることが示された。

図4.8に擬似体液浸漬後のアラキジン酸LB膜表面に析出したHAp結晶のSEM像を示す。LB膜表面は図に見られるような半球状の凝集体に覆われていた。高倍率のSEM観察から、凝集体は若干湾曲した板状結晶から構成されていることが示された。有機単分子膜との界面付近では、結晶は基板に直接接しており、かつ基板に対しある傾きをもって立っていることがわかった。図4.9にLB膜表面に析出した無機結晶の断面

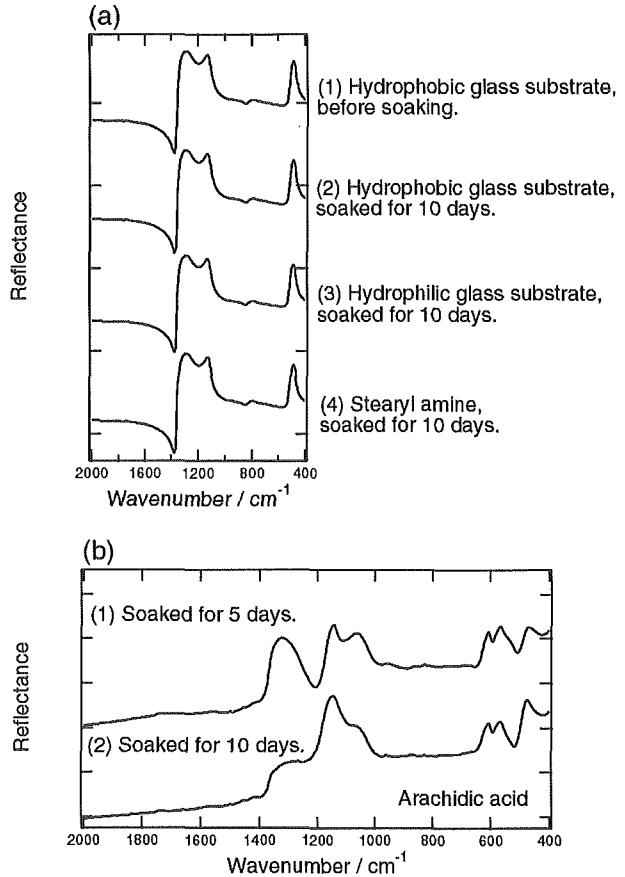


Fig. 4.7. IR reflection spectra of substrates and LB monolayers soaked in SBF.

TEM像を示す。写真下方のアモルファス物質はガラス基板であり、その上にHAp結晶が成長している様子が観察される。結晶は、長さ50-100nm程度、厚さ10nm程度である。結晶の格子像を詳しく解析することで、HAp結晶が{100}面の発達した板状結晶になっていることが明らかとなった。図4.10に界面近傍のHAp微結晶からとった電子線回折パターンを示す。002反射によるデバイ・リングが三日月状になっており、2つの三日月の中の中央を結ぶ方向が基板に平行になっている。基板に対して垂直な方向を中心としてサンプルを回転させると、三日月状のリングは徐々に消失する。これらのことから、HAp微結晶のc軸が基板に平行な特定の方向に配向するよう成長していることが明らかとなった。無機・有機界面近傍のSEM観察の結果とTEMによって得られた結晶学的情報から、有機単分子膜直上のHAp結晶は、図4.11に示すように{100}面のうちのひとつが膜に平行になるよう析出していると考えられる。生体骨中では、HAp微結晶のc軸がコラーゲン線維と平行に配向しており¹⁷⁾、LB膜上のHAp結晶と有機単分子膜の関係に似ている。したがって、骨中のHAp結晶とコラーゲンの結晶学的方位関係は、

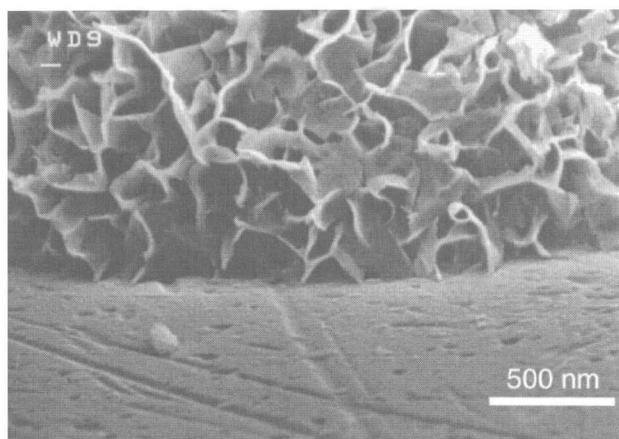
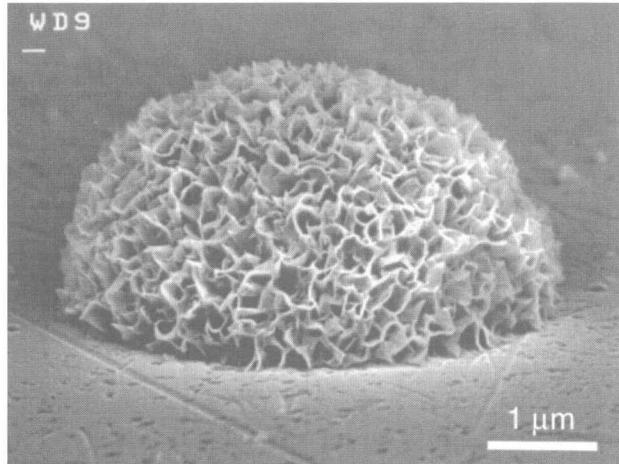


Fig. 4.8. SEM images of HAp aggregates grown on the arachidic acid LB monolayer.

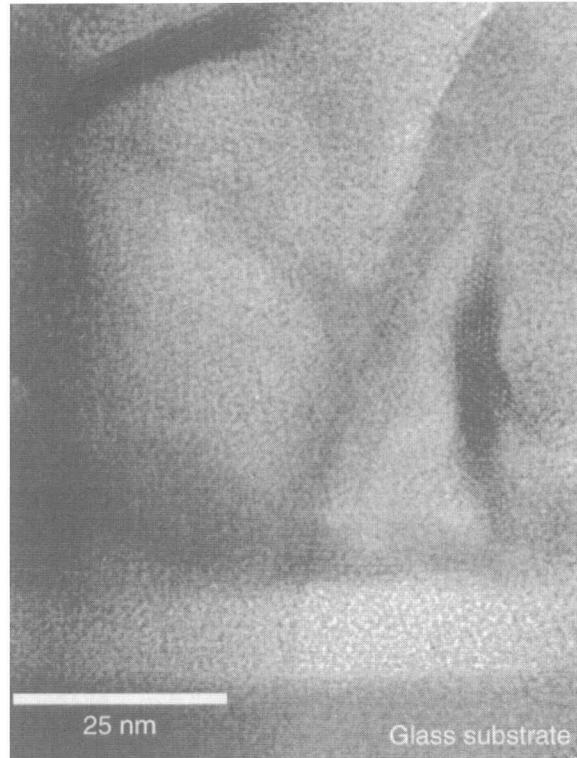


Fig. 4.9. Cross sectional TEM image of an interface between organic monolayer and induced HAp crystals.

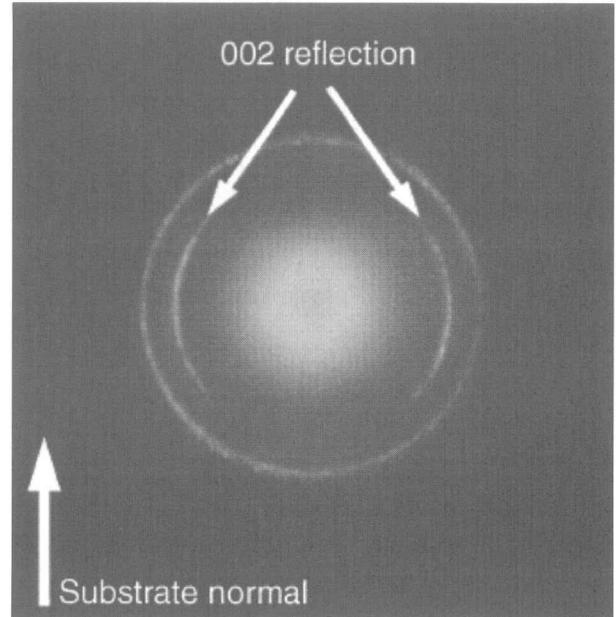


Fig. 4.10. Electron diffraction pattern from HAp nanocrystallites near the interface.

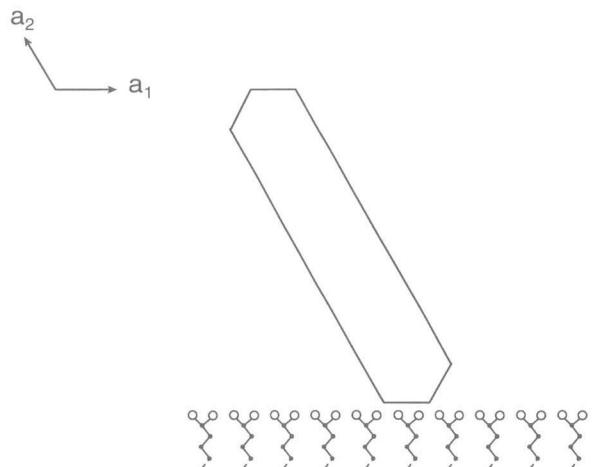


Fig. 4.11. Schematic diagram showing the relationship between the crystallographic properties of the HAp crystals and the arachidic acid LB monolayer.

HAp 表面とカルボキシル基の間の化学的相互作用によるものと考えられる。

図4.12にアラキジン酸 LB 膜の赤外透過スペクトルを示す。擬似体液浸漬前のスペクトルには、 1700cm^{-1} 付近にカルボキシル基の $\text{C}=\text{O}$ 二重結合による強い吸収がみられる。擬似体液への浸漬 1 時間後のスペクトルにおいては、 $\text{C}=\text{O}$ の吸収帯は完全に消失しており、 $-\text{COO}^-$ の逆対称伸縮振動による吸収帯がみられる。これは 1576cm^{-1} および 1543cm^{-1} 付近に特徴的なダブレットとして現れている。アラキジン酸 LB 膜表面の官能基を、カルシウムイオンやナトリウムイオンなどで化学修飾して

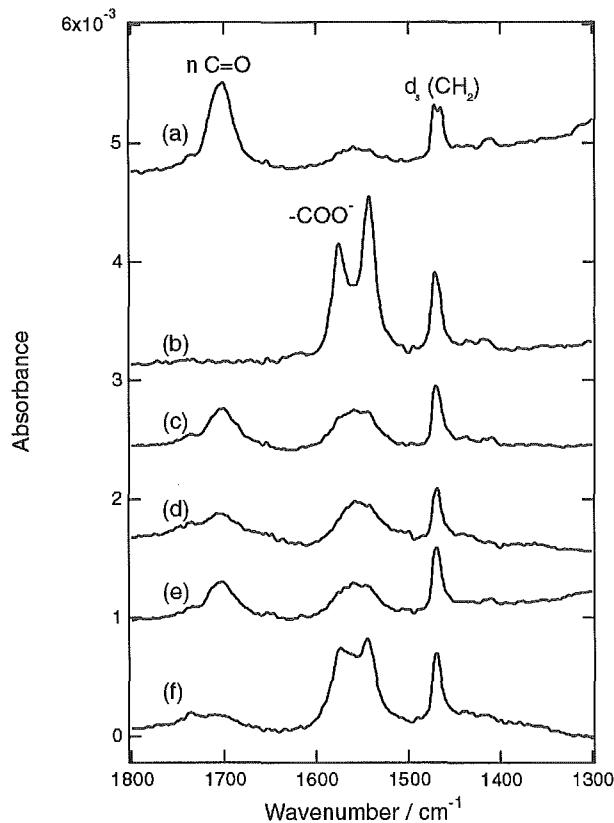


Fig. 4.12. IR transmission spectra of arachidic acid LB monolayers soaked in various solutions: (curve a) before soaking, (curve b) SBF for 1 h, (curve c) CaCl_2 solution for 1 h, (curve d) NaCl solution for 1 h, (curve e) CaCl_2 and NaCl solution for 1 h, and (curve f) CaCl_2 solution for 1 h and subsequently in K_2HPO_4 solution for 1 h.

もこのようなダブルレットは生じないが、カルシウムイオンとリン酸イオンで化学修飾すると擬似体液の場合と似たスペクトルのプロファイルが得られる。これらの結果から、LB 膜表面の官能基がカルシウムイオン・リン酸イオンとの化学的相互作用の結果を起こしていることが示された。この相互作用によってカルボキシル基が HAp の核形成サイトとなり、配向した結晶成長がそれに続くと考えられる。

4. 2. 4 まとめ

擬似生体環境下の有機单分子膜に、 c 軸が特定の方向に配向した HAp 微結晶が析出した。膜表面のカルボキシル基と擬似体液中のカルシウムイオン・リン酸イオンが化学的相互作用を起こしていることが確かめられた。その結果として、生態環境に存在するカルシウムイオン、リン酸イオンと有機マトリックスのカルボキシル基との間の化学的相互作用によって、HAp 結晶の核形成誘導や結晶の配向成長が生ずることが示された。

4. 3 ハイドロキシアパタイト単結晶の表面構造と累積アラキジン酸の AFM 観察

4. 3. 1 はじめに

骨は無機成分・アパタイトと有機成分・コラーゲンからなる典型的なナノコンポジットである¹⁸⁾。そのため、骨に類似した生体活性な有機・無機複合体材料を作製するには有機・無機ヘテロ界面の相互作用を理解することが重要である。骨の中ではアパタイトとコラーゲンが自己組織化的に配向していることから、生体内で起きる自己組織化のメカニズムを理解するために界面相互作用を解明することが重要と考えられる。

本研究ではハイドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; 以下 HAp) の単結晶を用い、結晶表面のエッティングを行なった。HAp の溶解挙動は生体硬組織の代謝過程から注目されている。例えば、破骨細胞による骨の侵食・吸収やエナメル質の齶食である。また、電子顕微鏡観察、X 線回折、IR 測定によると生体内アパタイトの結晶サイズは骨では 10 nm ^{19,20)}、エナメル質では 100 nm ^{21,22)} である。このような理由から、Christoffersen グループ、Nancollas グループに代表される HAp 微粉末を用いた溶解実験に関する報告が数多くある^{23,24)}。これらの研究報告は溶液の化学組成変化等をもとにしており、特定の結晶面の溶解について直接観察したものではなく、HAp の溶解挙動についてはこのような間接的手段にとどまっていた。その理由は、水熱法を用いても結晶サイズが $500\text{ }\mu\text{m}$ 程度と直接観察実験に利用できる高品質で大型の単結晶が得られなかったこと²⁵⁻²⁷⁾ (フッ素アパタイトの単結晶は大型のものが比較的容易に得られることから、HAp のモデル物質としてフッ素アパタイトの結晶表面の形態観察も行なわれている^{28,29)})、ナノメートルレベルでの観察手段が無かったことによる。本研究ではフラックス法によって得られた大型の HAp 単結晶を用い、エッティングした結晶表面は原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて直接観察した。さらに、HAp 結晶表面にコラーゲンと同じ官能基 (カルボキシル基) をもつアラキジン酸 ($\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{COOH}$) を Langmuir-Blodgett (LB) 法で累積し、無機・有機界面相互作用について考察した。

4. 3. 2 実験

HAp 単結晶はフラックス法により得られたものを用いた³⁰⁾。観察の対象は(100)面とし、その面の特定は XRD 及び単結晶の外形的特徴から決定した。原子スケールのステップをもつ単結晶表面を作製するため、HAp 結晶を 0.05 N-HCl で室温、3~30分間エッティングした。

その後、純水で洗浄し、デシケーター内で数時間乾燥させた後、AFM (Digital Instruments 社製 Nano Scope III a 型)を用いて表面状態を観察した。AFM 測定は共振周波数200kHz のタッピングモードで行なった。

LB 法を用いて HAp 単結晶表面上にカルボキシル基をもつ有機分子膜の累積を行なった。アラキジン酸をクロロホルムに溶かして 1 mM 溶液にし、それを純水表面上に展開した。次に、表面圧—展開面積(π -A)曲線を観測しながら圧力をかけてアラキジン酸分子を整列させた。およそ 25mN/m の圧力に 5 分間保持し、表面状態を均一にした後、あらかじめ水中に入れてあつた単結晶を垂直方向に引き上げ、分子膜を作製した。引き上げ法を適用したのは、アラキジン酸のカルボキシル基が結晶表面に向くようにするためである。得られた膜は AFM で観察した。

4. 3. 3 結果と考察

(100)面に現れたエッチピットを光学顕微鏡で調べた結果、エッチピットは三角形でその一辺は[001]方向であった。この結果は Jongebloed ら²⁹⁾や Onuma ら^{31,32)}の結果とも一致した (Jongebloed らの場合はフッ素アパタイトである)。図4.13(a)にエッチング前の(100)面の AFM 像を示す。合成直後では層状構造がみられ、結晶が layer by layer 機構で成長したことを示唆している。しかし合成後8日間大気中に放置するとステップ—テラス構造は見られなくなった。Suetsugu ら³³⁾は室温においても HAp の結晶表面にカルシウムが移動し、表面にカルシウム過剰層を形成すると電子分光法をもつた表面元素分析から報告している。図4.13(b)の AFM

像は表面のカルシウム過剰層にさらに大気中の CO₂や水が吸着し、ステップ—テラス構造が消失したことに対応していると考えられる。

次に(100)面のエッチングを行った。使用した溶液は 0.05N-HCl である。図4.14は各エッチング時間における(100)面の AFM 像である。図4.14(a)はエッチング時間 3 分とした時の AFM 像であり、およそ 100nm の幅をもつテラスが観測された。結晶の外形的特徴から決定した[001]方向と AFM 像と対応させるとステップの方向は凹凸があるものの全体としては[001]方向にはほぼ平行であった。セクション分析を行ったところ、代表的なステップ高さは 0.60–0.65nm あるいは 0.90–0.94 nm であった。

さらにエッチング時間を 10 分とすると図4.14(b)のように変化し、エッチング時間 3 分の場合に見られた 100 nm 幅のテラス内にステップが観察され、テラスが溶出していることがわかる。セクション分析によるとステップの高さは図4.14(a)とほとんど変化していないかった。図4.14(c)にエッチング時間 20 分、図4.14(d)にエッチング時間 30 分後の表面状態を示す。エッチング時間とともに溶出が一層進行し、テラス幅は 10nm 前後と微細になりステップは直線に近くなっている。ステップ高さの測定はある程度幅をもつた特定のテラス面を必要とするため、図4.14(d)のようにテラスの幅が狭い場合には正確に求められないが、図4.14(a), (b), (c) と比較してあまり変化しなかった。

HAp(100)面をエッチングし、AFM により詳細にステップ—テラス構造を解析し、以下のことが明らかになった。第一にステップの方向は[001]方向であった。

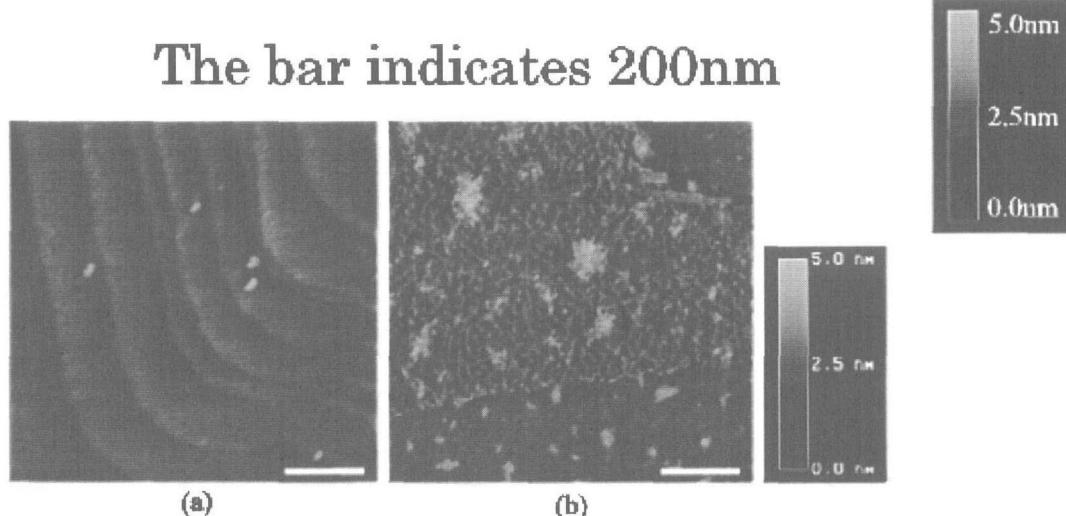


Fig. 4.13. The surface of as-grown HAp single crystal as observed by AFM: (a) directly after the crystal growth, (b) HAp surface left in the air for 8 days. The bar indicates 200 nm.

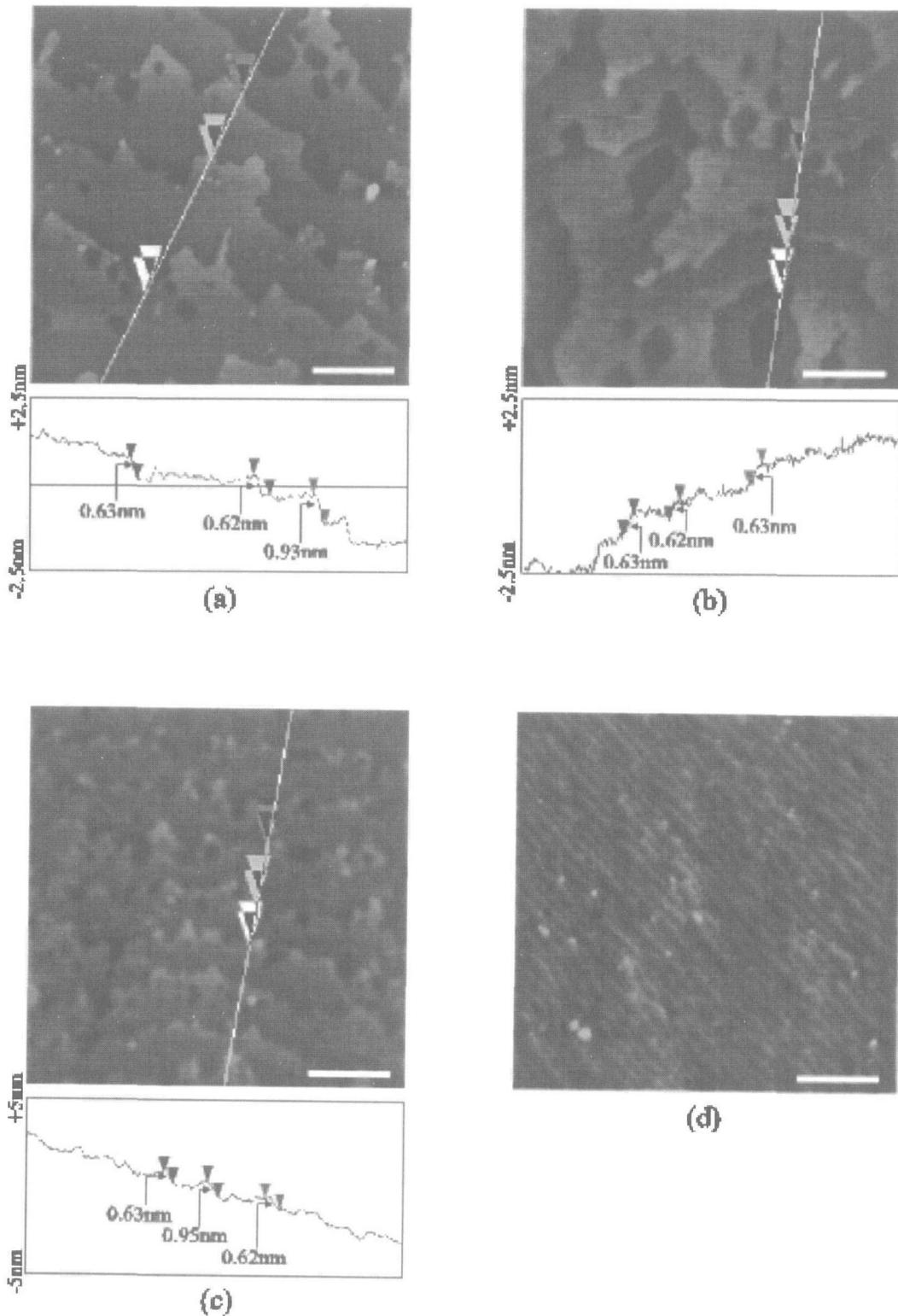


Fig. 4.14 AFM images and section analysis of HAp surfaces. The surfaces were etched for (a) 3 min, (b) 10 min, (c) 20 min and (d) 30 min by 0.05 N-HCl aqueous solution. The bar indicates 100 nm.

これについては先程述べた通りである。第二にエッチング時間とステップ高さに相関関係は見られず、エッチング時間を長くすると各テラスの幅は短くなった。これはテラス面すなわち(100)面に対し水平な方向、たとえば[010]方向と(100)面に対し垂直な方向、すなわ

ち[210]方向の溶解がいづれも起きていると考えられる。第三にステップ高さは(100)面の面間隔： $d_{(100)}$ 、あるいはその $2/3$ に相当する高さが数多く観察された。HApの結晶構造では、[210]方向にイオン密度が周期的に変化し、その層は凹凸があるがほぼ(100)面に平行で、[210]

方向に沿って $d(100)$ の $1/3$ 弱あるいは $2/3$ 強の所に位置している³⁴⁾(図4.15)。このことから本実験で観察したステップ高さはイオン密度が大きい $d(100)$ の $1/3$ または $2/3$ を単位とするものであると考えられる。しかしながら、 $d(100)$ 、あるいはその $2/3$ に対応するステップは観察されたものの、最小単位である $d(100)$ の $1/3$ に対応するステップは観察されなかった。この理由について構造的に不安定で本実験のエッティング条件では現れに難い等挙げられるが、本質的なところでは明らかになつていはない。

エッティングした単結晶表面に LB 法を用いてアラキジン酸を累積した。得られた表面の AFM 像を図4.16に示す。図中の明るい部分が累積膜、暗い部分が単結晶表面である。水面上に展開した单分子膜は表面圧を加えると最密充填して平面六角形に整列する^{13,14)}が、図4.16の AFM 像はその配列を明確には反映せず不均一になっている。セクション分析した結果、累積膜の膜厚は $5.1\sim5.4\text{nm}$ であった。アラキジン酸の分子長は約 2.7nm ^{13,14)}であるから、累積膜はアラキジン酸 2 分子を単位としていると考えられる。LB 膜の累積は HAp 単結晶を垂直に引き上げる方向を行ったため、アラキジン酸は親水基であるカルボキシル基が単結晶表面に接しており、疎水部分が空気側に向いている。この单分子膜がテラスの表面電荷や空気中の水分の影響を受けて、累積後に疎水部分が接した 2 分子膜に再構成されたと考えられる。

以上のように(100)面には親水性官能基をもつアラキジン酸が累積する可能性を示した。一般にアラキジン酸の LB 膜は基板表面に垂直ではなく傾いて累積する。例えば、疎水性ガラス基板上ではおよそ $\alpha=20^\circ$ 傾いている^{35,36)}。セクション分析によれば 2 分子膜の厚さは $5.1\sim5.4\text{nm}$ でありアラキジン酸の分子長が 2.7nm であることから、この場合も 2 分子膜は HAp 表面上に傾いて累積していると考えられる。図4.17に定性的な累積状態を示す。Carlino と Hudson³⁷⁾は、粘土鉱物の層間にカルボン酸の2分子膜が存在した場合、相対する末端

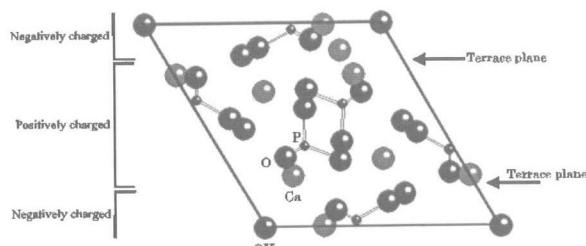


Fig. 4.15 The surface state of the (100) terraces of HAp single crystal.

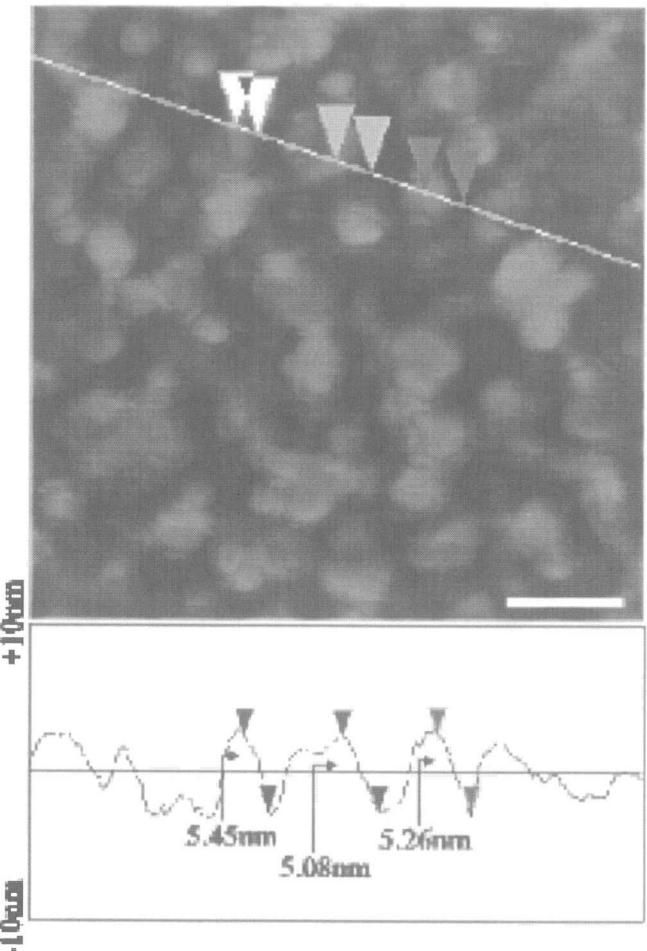


Fig. 4.16 AFM image and section analysis of arachidic acid accumulated on a HAp single crystal. The bar indicates 100 nm.

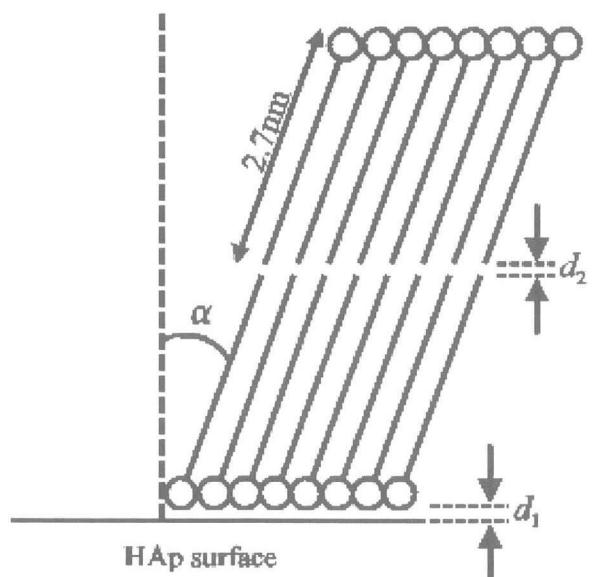


Fig. 4.17 The schematic accumulation state of arachidic acid on a HAp surface.

メチル基間の距離は0.3nmと報告している。したがって、Fig. 5で $\alpha=20^\circ$, $d_2=\sin(90^\circ-20^\circ) \times 0.3\text{nm}$ を仮定すると、2分子膜の実測値から、カルボキシル基とHAp表面との距離 d_1 は~0.04nm程度と見積もられた。この距離は化学的な相互作用が十分起こるほど小さく、有機官能基とHAp表面は化学結合を形成していると考えられる。

図4.15に示したように、テラスに(h00)面を持つ場合、単位格子当たり,+4あるいは-4に帶電している。このような帶電状態を和らげるため、何らかの格子緩和が起きたとしても、帶電状態はテラスにより異なると考えられる。アラキジン酸もカルボキシル基のような親水基は正に帶電したテラスに引きつけられるが、負に帶電したテラスでは斥力が働き図4に示したようにHAp表面に累積したLB膜は不均一であることが推測される。

4. 3. 4 まとめ

本研究では、生体活性な人工骨材料の創製の視点からHAp単結晶の表面構造と無機・有機界面相互作用に注目した。0.05N-HClでエッティング処理した結晶表面を原子間力顕微鏡で観察した結果、(100)面のステップ高さは $d(100)$ あるいはその2/3であった。また、LB法を用いてHAp(100)面にアラキジン酸を累積した結果、2分子層累積形態が推測され、アラキジン酸のカルボキシル基とHAp表面の距離は~0.04nmと見積もられた。この距離は化学的相互作用が生じるくらいに十分小さいと考えられる。

4. 4 Effect of citric acid on the nucleation of hydroxyapatite in a simulated body fluid

4. 4. 1 Introduction

The interest in the interaction of citrate ions with calcium phosphate precipitates arises from the physiological importance of both the compounds. Citrate is contained in fresh wet bone by about 1 wt%,³⁸⁾ which nearly corresponds to more than 70 wt% of total citrate content in the body. Further, the concentration of citrate in bone and blood is increased with the administration of vitamin D or parathyroid extract.³⁹⁾ It has been, therefore, conjectured that citrate ions play an important role in bone resorption and/or ossification through the formation of dissociated calcium citrate complexes in the surrounding body fluid.^{38,40)}

On the other hand, citric acid is also known as an inhibitor of calcium phosphate formation because of its strong chelation ability with calcium ion.^{38,41-43)} Therefore, this material can be applied in biological, medical and industrial fields, e.g., in eliminating industrial scaling and corrosion, treating of dental calculus, calcified plaques of atherosclerosis, kidney calcinosis and to a lesser extent, in urinary tract stone diseases. One of the research goals with regard to citric acid has been consequently aimed at slowing down or even eliminating the nucleation of hydroxyapatite (HAp) crystals and their subsequent growth through the presence of inhibitor compounds.

Collagen is a constituent of mammals' bone, i.e., bone contains 70 wt% of mineral (HAp) and 30 wt% of organic constituents (mainly collagen).⁴⁴⁻⁴⁶⁾ Many attempts to develop an artificial bone composed of HAp/collagen composite⁴⁶⁻⁶⁵⁾ have been already performed since the composite is expected to have quite similar properties to bone. A membrane of HAp/collagen composite is also considered to be useful for a guided bone regeneration (GBR) material for large bone defects. In the present investigation, the role of citric acid was examined with the main focus on the nucleation ability of HAp crystals on a bioinert collagen membrane. The nucleation ability was elucidated as a function of citric acid concentration in a simulated body fluid (SBF). Though citric acid has been known as an inhibitor for the formation of calcium phosphates^{38,41-43)}, our results indicated that citric acid had very good ability to induce the HAp formation on a collagen membrane within a limited concentration range, 0.3–2mM.

4. 4. 2 Materials and methods

An SBF solution (1.5SBF), which had approximately 1.5 times higher ionic concentrations than human blood plasma⁶⁶⁾ as shown in Table 1, was prepared by dissolving reagent-grade NaCl, NaHCO₃, KCl, K₂HPO₄·3H₂O, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂, and Na₂SO₄ in ion-exchanged distilled water⁶⁷⁻⁶⁹⁾. The solution was buffered at pH 7.4 with tris (hydroxymethyl) aminomethane ((CH₂OH)₃

Table 4.1 Ionic concentrations of SBF and 1.5SBF in comparison with those of human blood plasma

	Concentration (mM)							
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Blood plasma	142.0	5.0	2.5	1.5	27.0	103.0	1.0	0.5
SBF	142.0	5.0	2.5	1.5	4.2	148.0	1.0	0.5
1.5SBF	213.0	7.5	3.8	2.3	6.3	223.0	1.5	0.75

CNH₂) and 1M hydrochloric acid (HCl) at 36.5°C. Citric acid (Wako Pure Chem. Ind. Ltd., Osaka, Japan) was dissolved into the 1.5SBF solutions in order that their concentrations were 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1, 2, 3, and 4 mM, and pH was readjusted with tris(hydroxymethyl) aminomethane to 7.4.

A collagen membrane (Nitta Gelatin Inc., Osaka, Japan), made from bovine skin, was used as a substrate for HAp formation. The molecular weight of collagen was 300000 and no cross-linkage formed among molecules; therefore, the membrane itself had no HAp forming ability in the SBF solution because of no hole zone. The collagen membranes of 10×10×1 mm³ in size were immersed in 30 ml of 1.5SBF solutions with the citric acid concentrations described above and soaked for a time ranging from 3 h to 1 week at 36.5°C. After soaking, the specimens were removed from the fluid, gently rinsed with ion-exchanged distilled water for 5 times, and then dried at room temperature. Hereafter, the specimens treated in the 1.5SBF solutions are referred to as C0, C0.1, C0.3, etc., corresponding to the citric acid concentrations.

The surface microstructures and crystal phases of the materials coated on the collagen membranes were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and thin-film X-ray diffractometry (XRD) (Model RINT2000, Rigaku Co., Tokyo, Japan) with an angle of 1° to the direction of the incident X-ray beam. Fourier transformed infrared (FT-IR) transmission spectroscopy (Model Spectrum 2000, Perkin Elmer Co., Norwalk, CT) was measured using CaF₂ substrates. Calcium concentrations in the 1.5SBF solutions were measured as a function of soaking time with inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES) (Model UOPs - 2S, MARK2, Kyotokoken Co., Kyoto, Japan).

4.4.3 Results and discussion

Fig. 4.18 shows the microstructures of C0- and C1-specimens obtained after soaking in the 1.5SBF solutions at 36.5°C for 1 week. For the C0-specimen, only collagen fibers were observed on the membrane, while many spherulites were observed for the C1-specimen. As shown in Fig. 4.19, the spherulites consisted of a large number of tiny flakes, which were HAp crystals as described below. This microstructure was quite similar to that deposited on a bioactive glass or glass ceramics from SBF solutions⁷⁰⁻⁷²; the same microstructure as that of the C1-specimen, corresponding to the HAp formation, was observed also for the C0.3-, C0.5-, C0.7-, and C2-specimens. On the contrary, no HAp formation was found in the C0.1-, C3-, and C4-specimens similar to the C0-specimen. Hereafter, the speci-

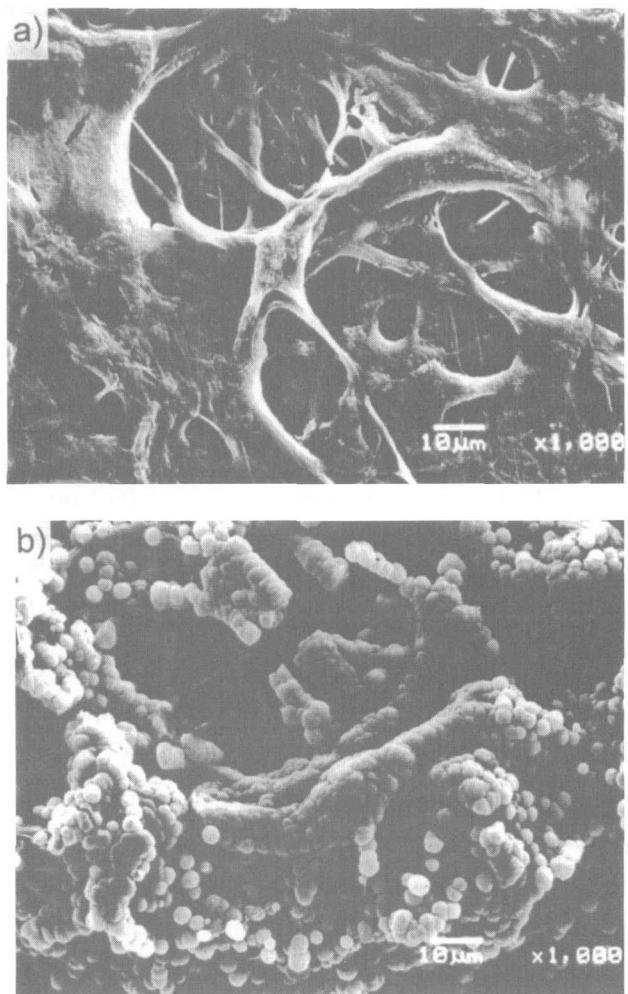


Fig. 4.18. Microstructures of the specimens soaked in 1.5SBF solutions for 1 week at 36.5°C; the concentration of citric acid added into the 1.5SBF solution was (a) 0 mM (C0) and (b) 1 mM (C1).

mens C0, C0.1, C3 and C4 without HAp formation are referred to as A-group, and the specimens C0.3, C0.5, C0.7, C1 and C2 with HAp formation as B-group.

Fig. 4.20 shows thin-film XRD profiles. Only a

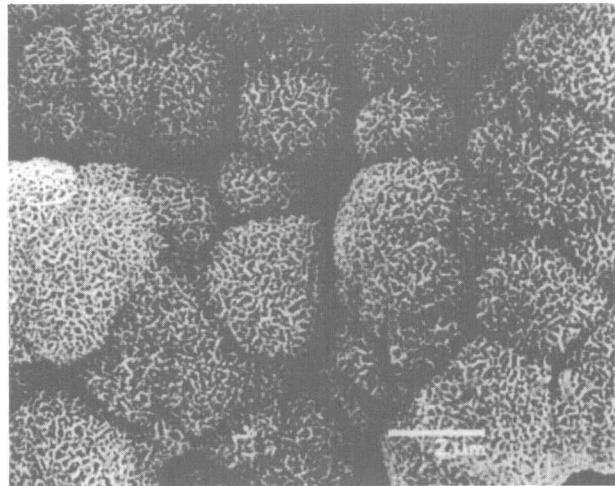


Fig. 4.19. Detailed microstructure of the C1-specimen soaked in 1.5SBF solution for 1 week at 36.5°C.

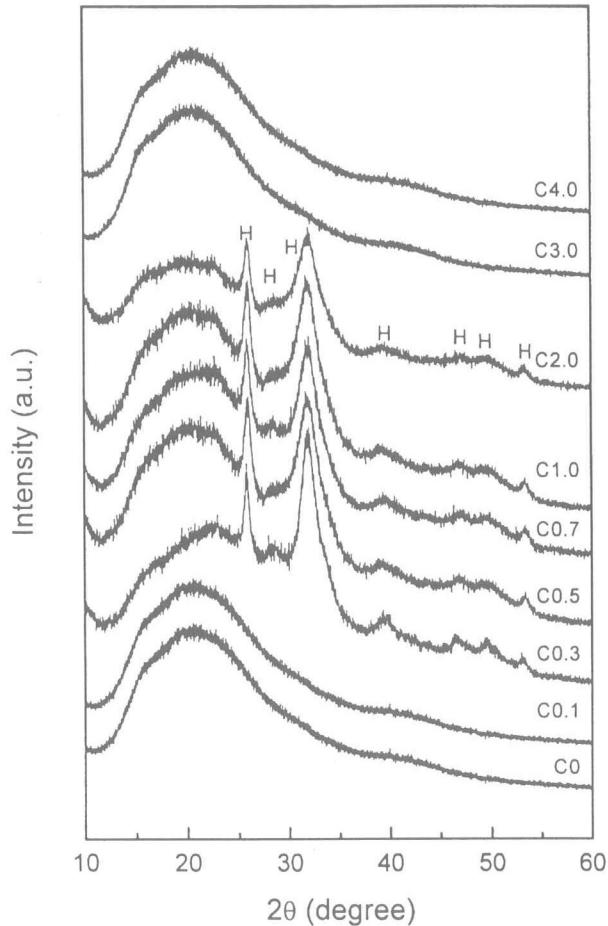


Fig. 4.20. Thin-film XRD profiles of the specimens soaked in 1.5SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

broad peak was observed in the 2θ range of 12–30° for the A-group, being assigned to the collagen membrane. In addition to this broad peak, several HAp peaks denoted by “H” in Fig. 4.20 were observed for the B-group. As the HAp peaks were comparatively broader than a normal HAp specimen, it was considered that the HAp crystals grown had low crystallinity or small crystallite size.

Fig. 4.21 shows the FT-IR spectra measured for the specimens soaked in 1.5SBF for 1 week. For the B-group, a strong peak ν_3 and a weak peak ν_1 , denote the stretching mode of a $(PO_4)^{3-}$ ion, were observed around 1020 and 954 cm^{-1} , respectively. Further, another peak ν_2 was observed around 876 cm^{-1} , which could be ascribed to the stretching mode of a $(CO_3)^{2-}$ ion. Therefore, the HAp crystals formed on the collagen membrane were identified as carbonate-containing hydroxyapatite. No HAp

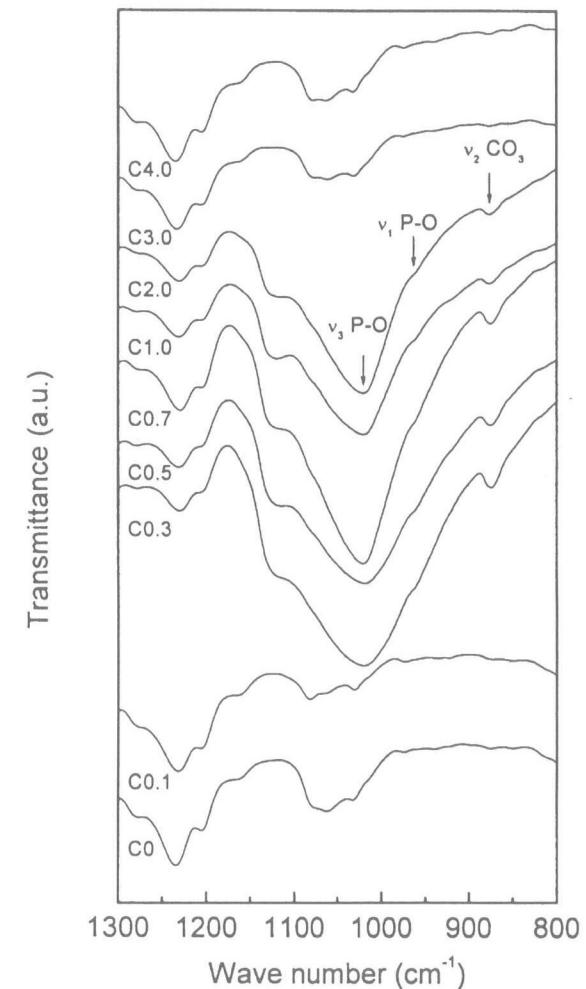


Fig. 4.21. FT-IR transmission spectra for the specimens soaked in 1.5SBF solutions for 1 week at 36.5°C.

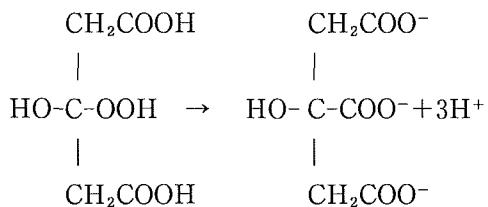
peak was virtually found for the A-group.

Fig. 4.22 shows the Ca concentration in the 1.5SBF solution as a function of soaking time. In the A-group specimens, the Ca concentration decreased by 5–15% of the original concentration after soaking for 1 week. The concentration decreases for the C0- and C0.1-specimens were very slow and the changed amount was only about 5%, while for the C3-specimen an abrupt decrease of about 15% occurred in the first day and then the decrease became almost constant. From this slight decrease in Ca concentration, it was indicated that the collagen membrane itself had no HAp formation ability and that the HAp formation was depressed also by excess citric acid.

In the B-group, the decrease in Ca concentration was in the range of 30–60% with respect to the original concentrations. All specimens of the B-group showed an abrupt decrease during the first day, followed by a continuous slow decrease through the week. This appreciable decrease in Ca concentration can be therefore attributed to the formation of HAp crystals on the collagen membrane surface. From these results, it was shown that the HAp formation on a non-bioactive collagen membrane from the 1.5SBF solution was critically dependent on the concentration of citric acid. For explaining such HAp formation, the nucleation model based on the chelation of a Ca ion

with citric acids is plausibly appropriate, because the absorption of a Ca ion on collagen is an initial step for calcium phosphate formation^{73–77}.

Citric acid, $C_6H_8O_7$, which has three carboxyl groups and one hydroxyl group, is ionized to a $C_6H_5O^{3-}_7$ (*cit*) form⁷⁸ in 1.5SBF as $pK_3=6.40$ of citric acid is smaller than $pH=7.4$ of the 1.5SBF solution; therefore, The hydroxyl group of citric acid might adhere to a collagen



membrane surface through the hydrogen bonding with OH, C=O, NH, etc. of collagen. Negatively charged citric acid can simultaneously chelate Ca ions in the 1.5SBF solution to form a Ca-*cit* complex. Then, a cluster of critical size can be formed by adsorbing further phosphates and Ca ions, and/or another citric acid on the Ca-*cit* complex; the resultant three-dimensional cluster could act as nucleus for a HAp crystal. After the nucleation, HAp crystals can spontaneously grow since the 1.5SBF solution is already supersaturated with respect to the HAp³⁸.

Fig. 4.23 shows the molar ratio of Ca ion/citric acid as a function of the concentration of citric acid added to 1.5SBF solutions. Above the molar ratio

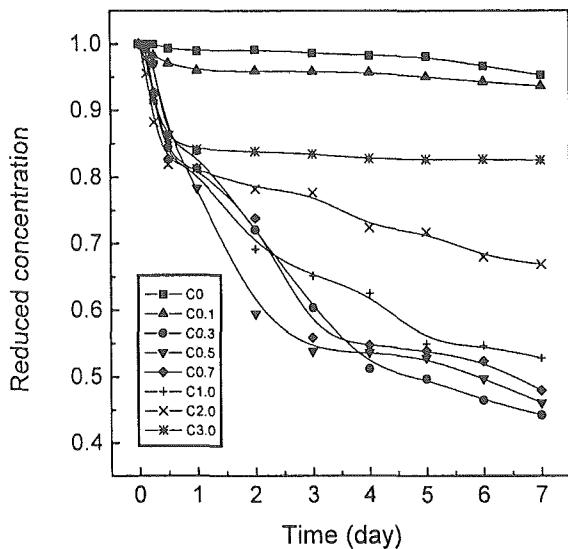


Fig. 4.22. Calcium concentration in 1.5SBF as a function of soaking time.

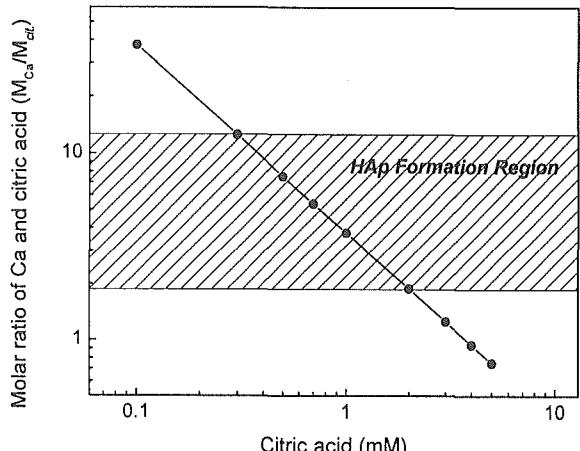


Fig. 4.23. Initial molar ratio of calcium/citric acid as a function of citric acid.

12, the HAp nucleation is quite slow because of low nucleation sites corresponding to the C0- and C0.1-specimens. On the other hand, below the molar ratio 2, two citric acid molecules can form one stable complex with a Ca ion in the form of $[Ca(cit)_2]^{4-}$; therefore, a cluster larger than a critical size can hardly form and so the HAp nucleation is inhibited, corresponding to the C3- and C4-specimens. When the molar ratio is between 2 and 12, citric acid can partially chelate a Ca ion to form a positively charged complex in the form of $[xCa^{2+}(cit)^{3-}]_{y+}$ ($1 < x < 3$, $1 < y < 3$), which can adsorb negatively charged PO_4^{3-} ions and another citric acid on the Ca-cit complex as schematically shown in Fig. 4.24.

4.4.4 Conclusions

It was shown that the amount of citric acid added to the 1.5SBF solution critically affected the nucleation of HAp crystals on a non-bioactive collagen membrane. When the collagen membrane was soaked in the 1.5SBF solution with a citric acid concentration below 0.1 mM or above 3 mM, no HAp crystal was formed. When the collagen membrane was soaked in the solution with an appropriate amount of citric acid, i.e. 0.3–2 mM, however, car-

bonate-containing HAp crystals were formed on the collagen membrane. This nucleation behavior could be explained by the relative molar ratio of citric acid and Ca ion. The HAp/collagen membranes obtained are expected to be useful for a GBR material.

4.5 炭酸カルシウム結晶の配向制御

4.5.1 はじめに

主として水圏に生存する軟体動物は、貝殻、歯舌、殻板、棘などいろいろの硬組織・生体鉱物をからだの内外に形成する能力をもっている⁸⁰⁾。生体鉱物を含む硬組織は鉱物化組織、あるいは構成鉱物が炭酸・リン酸カルシウムであれば石灰化組織と呼ばれる。たとえば二枚貝の貝殻は、炭酸カルシウム結晶と有機マトリックスからなる。貝殻の真珠層においては、炭酸カルシウムは熱力学的に不安定であるアラゴナイト相をとつておらず、しかもサイズ、結晶学的方位がそろっているのが特徴である。炭酸カルシウムと生体高分子のマトリックスがナノスケールのオーダーで規則正しく積み重なった貝殻の構造は、炭酸カルシウム結晶単体に比べ約3000倍も高い強度を発揮し、また特異な真珠光沢をも有する⁸¹⁾。生物の持つ構造やその合成プロセスを模倣することにより、高機能の材料がごくわずかなエネルギーしか用いずに合成できるようになるというバイオミメティクスの考えに基づき、炭酸カルシウム結晶の核形成・結晶成長を制御することを試みた。

両親媒性分子の集合体が生体高分子マトリックスのモデル物質として有効であることがわかっている^{3,82,83)}。本研究においては、重合を導入して構造を制御したラングミュア・プロジェクト（LB）膜を有機マトリックスとして用い、無機・有機界面相互作用によって炭酸カルシウムの核形成・結晶成長を制御した。

4.5.2 実験

ペンタコサジイン酸（PDA: $CH_3(CH_2)_{11}C\equiv CC(CH_2)_8COOH$ ）を用い、重合LB膜を作製した⁸⁴⁾。PDAモノマーをLB膜作製装置のトラフ中の純水表面に展開し、適当な表面圧をかけて膜の構造を制御しながら紫外光(254nm)を照射して重合反応をすすめた（図4.25）。重合したPDA膜は水平付着法により有機官能基が膜の外側に向くように合成石英基板の上に移しついた。炭酸カルシウム結晶は過飽和水溶液中からLB膜表面に析出させた。炭酸カルシウム過飽和水溶液中には、結晶の成長速度を制御するためにマグネシウムイオン(54

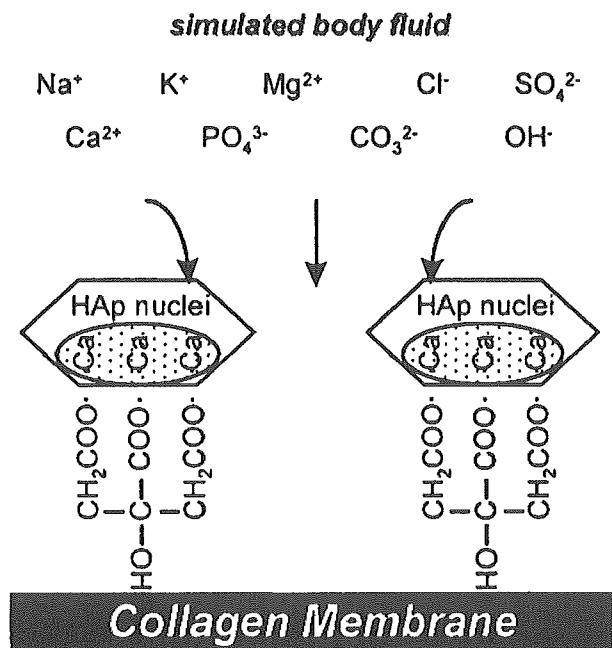


Fig. 4.24. Schematic illustration of the formation of HAp embryo with the aid of citric acid in an 1.5SBF.

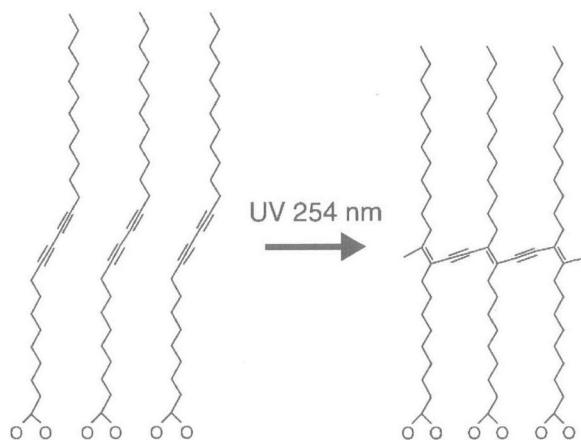


Fig. 4.25. Polymerization of PDA.

mM) と高分子電解質(ポリアスパラギン酸: 4.4×10^{-4} wt%) をそれぞれ塩化物およびナトリウム塩として添加した。重合 LB 膜表面に析出した無機結晶は、走査型電子顕微鏡(SEM)、透過型電子顕微鏡(TEM)、エネルギー分散 X 線分光(EDX)などによって調べた。

4.5.3 結果と考察

図4.26に過飽和水溶液中に3日間浸漬した重合 LB 膜表面の SEM 像を示す。1 ミクロン程度の紡錘形の析出物が方向をそろえて並んでいるのが確認できる。基板上には島状のドメイン構造がみられ、さらにその内部に筋状のクラックが走っている。紡錘形の析出物は、その長軸方向がクラックに対して常に垂直であり、かつ基板に対して一定の角度で傾いている。有機薄膜の研究から、クラックが PDA の重合によって生じる構造であり、PDA の重合方向と平行になることがわかっている^{84,85)}。しかしこのような有機薄膜は単体では SEM で観察できるサイズではなく、膜上になんらかの無機物質が沈着して重合膜の構造を反映したクラックが観察されていると考えられる。

図4.27に紡錘形の析出物の TEM 像とその電子線回折パターンを示す。回折パターンは典型的な線維図形であり、これを詳細に解析することにより析出物がカルサイト結晶の凝集体であることがわかった。50nm 程度のカルサイト微結晶がその c 軸を凝集体の長軸方向にそろえて析出している。TEM 観察において、帯状にのびた重合 LB 膜も確認できた。EDX による分析により、重合 LB 膜からカルシウムが検出された。一方で電子線回折パターンには結晶構造を示すスポットはみられなかった。したがって、SEM で観察された筋状のクラックは重合 LB 膜上に炭酸カルシウムのアモルファスが沈着したものであることが示された。

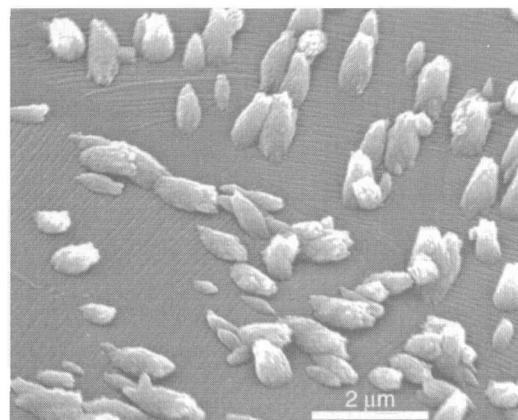
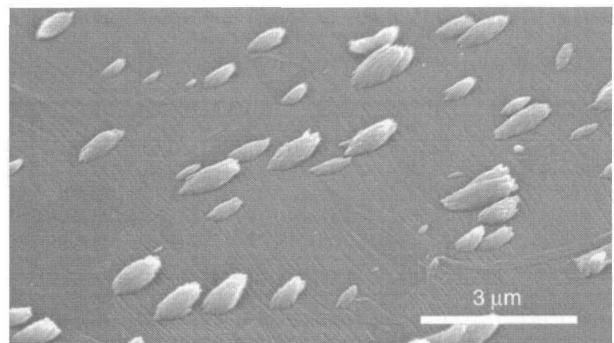


Fig. 4.26. SEM images of the calcite aggregates aligned on the polymerized PDA film.

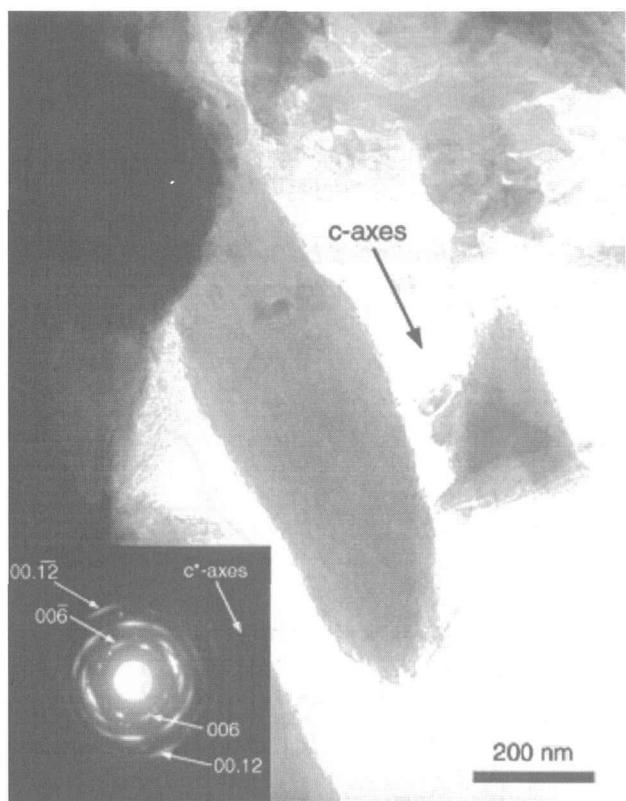


Fig. 4.27. Bright field TEM image of the calcite aggregate and corresponding electron diffraction pattern.

Mg イオンや高分子電解質を含まない水溶液から炭酸カルサイト結晶を析出させると、数10ミクロンに達するサイズのカルサイト単結晶が形成される。Mg イオンがカルサイトの結晶構造に取り込まれ、またポリアスパラギン酸がカルサイトの{110}面に吸着することで⁸⁶⁾、カルサイトの結晶成長速度・サイズが制御されていると考えられる。

PDA 重合 LB 膜は重合方向に分子のパッキングが密になり、また重合した分子が傾くことで未重合の膜に比べ構造の対称性が下がっていると考えられる⁸⁷⁾。このことから、重合 LB 膜とカルサイト凝集体の位置関係は図4.28の模式図に示すようになっていると考えられる。

4. 5. 4 まとめ

表面にカルボキシル基を有する重合 LB の表面に、結晶方位の揃ったカルサイト結晶を析出させた。無機・有機界面相互作用、溶液中のイオンや高分子電解質の働きによって、生体内で生じるのと同様の非平衡な条件における不可逆的な組織化を生じさせることができた。

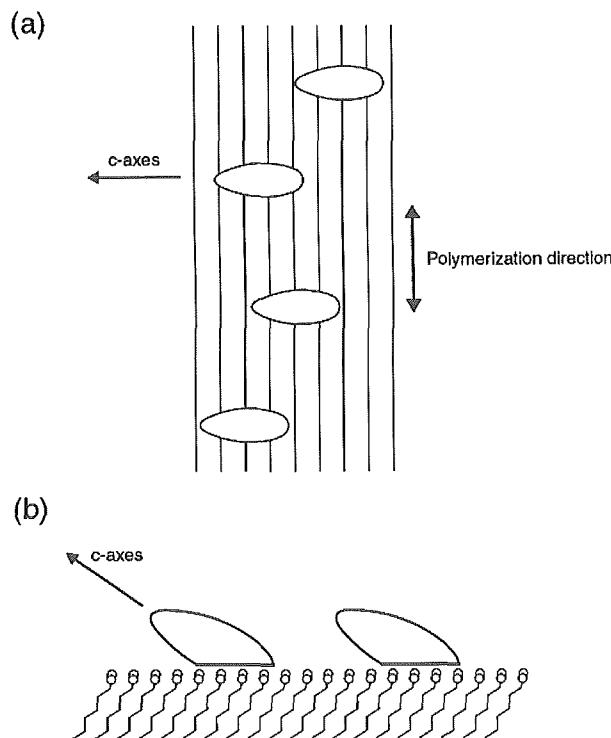


Fig. 4.28. Schematic showing the geometric relation between the calcite aggregates and polymerized LB film. (a) Top view. (b) View along the PDA polymerization direction.

参考文献

- 1) L. L. Hench, J. Am. Ceram. Soc. 74, 1487 (1991).
- 2) M. Kikuchi, Y. Suetsugu, J. Tanaka, S. Ito, S. Ichinose, K. Shimoyama, Y. Hiraoka, Y. Mandai and A. Nakatani, Bioceramics 12, 393 (1999).
- 3) K. Sato, Y. Kumagai and J. Tanaka, J. Biomed. Mater. Res. 50, 16 (2000).
- 4) K. Sato, T. Kogure, Y. Kumagai and J. Tanaka, J. Col. Int. Sci. 240, 133 (2001).
- 5) T. Ikoma, A. Yamazaki, S. Nakamura and M. Akao, J. Solid State Chem. 144, 272 (1999).
- 6) T. Ikoma, A. Yamazaki, S. Nakamura and M. Akao, J. Mater. Sci. Lett. 18, 1225 (1999).
- 7) J. C. Elliot, P. E. Mackie and R. A. Young, Science 180, 1055 (1973).
- 8) L. M. Wang, Nucl. Instr. and Meth. B 141, 312 (1998).
- 9) D. G. A. Nelson, J. D. McLean and J. V. Sanders, Rad. Effs. Lett. 68, 51 (1982).
- 10) S. Mann, "Biomimetic Materials Chemistry", p1 (VCH Publishers, New York, 1996).
- 11) 長田義仁ほか, "バイオミメティックスハンドブック" (エス・ティー・エヌ, 2000).
- 12) 須田立雄, 小澤英浩, 高橋栄明, "骨の科学" (医歯薬出版, 1995).
- 13) G. C. Roberts, "Langmuir-Blodgett Films" (Plenum Press, New York, 1990).
- 14) M. C. Petty, "Langmuir-Blodgett Films: An Introduction" (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1996).
- 15) T. Kokubo, S. Ito, Z. T. Huang, T. Hayashi, S. Sakka, T. Kitsugi and T. Yamamuro, J. Biomed. Mater. Res. 24, 331 (1990).
- 16) C. Otsuki, T. Kokubo and T. Yamamuro, J. Non-Cryst. Solids 143, 84 (1992).
- 17) W. Bloom and D. Fawcett, "A textbook of histology", p194 (Chapman & Hall, New York, 1994).
- 18) 筱義人, "生体材料学", p92 (産業図書, 1994).
- 19) D. Carlstrom, and J. E. Glas, Biochim. Biophys. Acta 35, 46 (1959).
- 20) A. S. Posner, Physiol. Rev. 49, 760 (1969).
- 21) J. E. Glas, and K. A. Omnell, J. Ultrastruct. Res. 3, 334 (1960).
- 22) P. D. Frazier, J. Ultrastruct. Res. 22, 1 (1968).
- 23) J. Christoffersen, Calcif. Tissue Int. 33, 557 (1981).

- 24) J. A. Budz and G. H. Nancollas, *J. Cryst. Growth* 91, 490 (1988).
- 25) D. R. Simpson, *Science* 147, 501 (1965).
- 26) K. C. Blakeslee and R. A. Condrate, *J. Am. Ceram. Soc.* 54, 559 (1971).
- 27) J. Arends, J. Schuthof, W. H. van der Linden, P. Ben-nema and P. J. van der Berg, *J. Cryst. Growth* 46, 213 (1979).
- 28) J. E. Tyler, *Caries Res.* 4, 23 (1970).
- 29) W. L. Jongebloed, I. Molenaar and J. Arends, *Caries Res.* 7, 154 (1973).
- 30) Y. Suetsugu, Y. Takahashi, S. B. Cho, F. P. Okamura and J. Tanaka, *Key Engineering Materials* 132-136, 2037 (1997).
- 31) K. Onuma, A. Ito, T. Tateishi and T. Kameyama, *J. Cryst. Growth* 154, 118 (1995).
- 32) K. Onuma, A. Ito and T. Tateishi, *J. Cryst. Growth* 167, 773 (1996).
- 33) Y. Suetsugu, K. Hirota, K. Fujii and J. Tanaka, *J. Mater. Sci.* 31, 4541 (1996).
- 34) M. I. Kay, R. A. Young and A. S. Posner, *Nature* 204, 1050 (1964).
- 35) J. Umemura, Y. Hishiro, T. Kawai, T. Takenaka, Y. Gotoh and M. Fujihira, *Thin Solid Films* 178, 281 (1989).
- 36) J. Umemura, T. Kamata, T. Kawai and T. Takenaka, *J. Phys. Chem.* 94, 62 (1990).
- 37) S. Carlino, and M. J. Hudson, *J. Mater. Chem.* 5(9), 1433 (1995).
- 38) W. F. Neuman and M. W. Neuman, "The chemical dynamics of bone mineral", p34 (University of Chicago, Chicago, 1958).
- 39) T. F. Dixon and H. R. Perkins, "The biochemistry and physiology of bone" p309 (Academic Press, New York, 1956).
- 40) C. Y. C. Park and E. C. Diller, *Calcif. Tissue Res.* 4, 69 (1969).
- 41) L. Brecevic and H. F. Milhofer, *Calcif. Tissue Int.* 28, 131 (1979).
- 42) Z. Amjad, "Mineral scale formation and inhibition", p207 (Plenum Press, New York, 1995).
- 43) J. D. Sallis, "Calcium phosphates in biological and industrial systems", p173 (Kluwer Academic Publishers, Boston, 1998).
- 44) W. Bonfield and C. H. Li, *J. Appl. Phys.* 38, 2450 (1967).
- 45) S. C. Cowin, W. C. Vanburkirk and R. B. Ashaman, "Handbook of bioengineering", p97 (McGraw Hill, New York, 1987).
- 46) S. C. Cowin, "Bone mechanics", p97 (CRC Press, Boca Raton, 1989)
- 47) N. J. Mathers and J. T. Czernuszka, *J. Mater. Sci. Lett.* 10, 992 (1991).
- 48) J. M. Sautier, J. R. Nefussi and N. Forest, *Cells Mater.* 1, 209 (1991).
- 49) T. Iwano, H. Kurosawa, K. Murase, H. Takuchi and Y. Ohkubo, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 268, 243 (1991).
- 50) T. Hogervorst, D. W. Meijer and P. J. Klooper, *J. Appl. Biomater.* 3, 251 (1992).
- 51) K. I. Clarke, S. E. Graves, A. T. C. Wong, J. T. Triffitt, M. J. O. Francis and J.T. Czernuszka, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 4, 107 (1993).
- 52) A. Rovira, R. Bareille, I. Lopez, F. Rouais, L. Bordenave, C. Rey and M. Rabaud, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 4, 372 (1993).
- 53) C. M. Serre, M. Papillard, P. Chavassieux and G. Boivin, *Biomaterials* 14, 97 (1993).
- 54) D. L. Christiansen, F. H. Silver and L. Addadi, *Cells Mater.* 3, 177 (1993).
- 55) K. Hirota, K. Nishihara and J. Tanaka, *Biomed. Mater. Eng.* 3, 147 (1993).
- 56) M. Iijima, Y. Moriwaki and Y. Kuboki, *J. Crystal Growth* 137, 553 (1994).
- 57) M. Iijima, K. Iijima, Y. Moriwaki and Y. Kuboki, *J. Crystal Growth* 140, 91 (1994).
- 58) S. Matsushita, T. Motoooka and Y. Kanaji, *J. Chem. Soc. Jpn.* 5, 409 (1994).
- 59) J. P. Jhong, G. P. LaTorre and L. L. Hench, *Bioceramics* 7, 61 (1994).
- 60) K. S. Tenhuisen, R. I. Martin, M. Klimkiewicz and P. W. Brown, *J. Biomed. Mater. Res.* 10, 803 (1995).
- 61) J. Hemmerle, M. Leize and J. C. Voegel, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 6, 360 (1995).
- 62) R. Z. Wang, F. Z. Cui, H. B. Lu, H. B. Wen, C. L. Ma and H. D. Li, *J. Mater. Sci. Lett.* 14, 490 (1995).
- 63) S. Matsushita, T. Motoooka and Y. Kanaji, *J. Chem. Soc. Jpn.* 4, 285 (1995).
- 64) G. Pasquier, B. Flautre, M. C. Blary, K. Anselme and P. Hardouin, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 7, 683 (1996).
- 65) Q. Q. Zhang, L. Ren, C. Wang, L. R. Liu, X. J. Wen, Y. H. Liu and X. D. Zhang, *Artif. Cells Blood Substitutes Immobilization Biotech.* 24, 693 (1996).

リン酸炭酸カルシウムに関する研究

- 66) H. Okamura, M. Yasuda and M. Ohta, Denki Kagaku 65, 586 (1997).
- 67) J. Gamble, "Chemical Anatomy. Physiology and pathology of extracellular fluid", p1 (Harvard University Press, Cambridge, 1967).
- 68) M. Tanahashi, T. Yao, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura and T. Yamamuro, J. Am. Ceram. Soc. 77, 2805 (1994).
- 69) S. B. Cho, F. Miyaji, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga and T. Nakamura, J. Biomed. Mater. Res. 32, 375 (1996).
- 70) F. Miyaji, M. Iwai, T. Kokubo and T. Nakamura, J. Mater. Sci. Mater. Med. 9, 61 (1998).
- 71) P. Li, C. Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, T. Nakamura and T. Yamamuro, J. Am. Ceram. Soc. 75, 2094 (1992).
- 72) P. Li, C. Ohtsuki, T. Kokubo, K. Nakanishi, N. Soga, T. Nakamura and T. Yamamuro, J. Mater. Sci. Mater. Med. 4, 127 (1993).
- 73) S. B. Cho, K. Nakanishi, T. Kokubo, N. Soga, C. Ohtsuki, T. Nakamura, T. Kitsugi and T. Yamamuro, J. Am. Ceram. Soc. 78, 1769 (1995).
- 74) M. Tanahashi and T. Matsuda, J. Biomed. Mater. Res. 34, 305 (1997).
- 75) A. L. Boskey, A. S. Posner, Calcif. Tissue Res. 23, 251 (1977).
- 76) S. Weiner, CRC Crit. Rev. Biochem. 20, 365 (1986).
- 77) A. Linde, A. Lussi and M. A. Crenshaw, Calcif. Tissue Int. 44, 286 (1989).
- 78) S. Shimabayashi, N. Hashimoto, T. Uno, Phosphorous Res. Bull. 3, 7 (1993).
- 79) P. C. Hidber, T. J. Graule and L. Gauckler, J. Am. Ceram. Soc. 79, 1857 (1996).
- 80) 和田浩壱, 小林巖雄, "海洋生物の石灰化と硬組織" (東海大学出版会, 1996).
- 81) G. Falini, S. Albeck, S. Weiner and L. Addadi, Science 271, 67 (1996).
- 82) B. R. Heywood, "Biomimetic Materials Chemistry", p143 (VCH publishers, New York, 1996).
- 83) A. Berman, D. J. Ahn, A. Lio, M. Salmeron, A. Reichert and D. Charych, Science 269, 515 (1995).
- 84) A. Lio, A. Reichert, J. O. Nagy, M. Salmeron and D. H. Charych, J. Vac. Sci. Technol. B 14(2), 1481 (1996).
- 85) G. Lieser, B. Tieke and G. Wegner, Thin Solid Films 68, 77 (1980).
- 86) A. Wierzbicki, C. S. Sike, J. D. Madura and B. Drake, Calcif. Tissue Int. 54, 133 (1994).
- 87) X. Y. Chen, J. R. Li, S. J. Pang, A. L. Shen and L. Jiang, Surf. Sci. 441, L891 (1999).

第5章 形態の制御

5. 1 ゲルキャスティングによる水酸アパタイト多孔体の作製に関する研究

5. 1. 1 はじめに

病気や怪我などで脊椎の骨である椎体を失った場合、強度が高く骨伝導性にすぐれた材料が必要となる。特に、患者の早期離床を可能にするためには、比較的長期にわたる機械的強度が要求される。現在は、人工椎体として水酸アパタイト(HAp)緻密焼結体やAW結晶化ガラスの緻密体などが市販・応用されているが、骨伝導能にはすぐれているものの、その内部に骨組織が侵入することがなく材料と骨の界面でヤング率の違いによる破損などが起こることが知られている。そこで、人工椎体としての生体活性セラミックス多孔体が求められているが、現在市販の十分な大きさの開気孔を持ったアパタイト多孔体は機械的強度に欠けるため、人工椎体としての応用は難しい。

一方、自分の細胞を生体外で培養することで組織を再建する「組織工学」という手法が精力的に研究されている。組織を生体外で培養するためには scaffold としての材料が不可欠であり、骨組織の場合は十分な大きさの開気孔リン酸カルシウムセラミックス多孔体を応用することが既におこなわれている¹⁻¹⁰⁾。組織工学の場合も、scaffold 上で数週間の培養をした後に scaffold ごと欠損部に移植と言う処置をおこなうため、リン酸カルシウムセラミックス多孔体は初期から一ヶ月以上にわたってハンドリング可能な強度を保っている必要がある。しかし、現状ではこの条件を満たす材料は存在しない。

一般に、十分な開気孔を持ったリン酸カルシウムセラミックス多孔体は、リン酸カルシウムのスラリーをスポンジに含浸して作製したり¹¹⁾、リン酸カルシウム粉末と球状の可燃性高分子ビーズを混合した後に錠剤成型して作製している¹²⁾。これらの方法では、熱膨張率の大きいポリマーを焼成によって焼き飛ばすため、孔の壁面や多孔体の染の部分でマイクロクラックを生じたり、焼結を阻害したりするため理論強度に比べて10分の1以下の強度の多孔体を得ることしかできない。また、卵白を含んだスラリーを起泡した後に乾燥固化する方法¹³⁾があるが、この場合、乾燥の遅れる多孔体中央部で気孔径が大きくなり、気孔の均一性に欠けること

になる。これを一步進めて、架橋性高分子を含んだスラリーを起泡し、その後架橋剤を加えて泡を固定した後、乾燥固化、焼結するゲルキャスティング法¹⁴⁾が知られているが、これまで生体活性セラミックスに応用した例は無い。

そこで、本研究ではゲルキャスティング法を応用し、HAp 多孔体を作製し、生体内反応と scaffold としての可能性を検討することを目的とした。

5. 1. 2 水酸アパタイト多孔体の作製¹⁵⁾

5. 1. 2. 1 はじめに

水酸アパタイトの多孔体は、すでに整形外科領域で骨補填材として利用されている。多孔体をそれらの用途に利用する場合、多孔体の内部に細胞・骨組織・血管が浸入することが求められる。骨の再生は破骨細胞と骨芽細胞の活動によって起こるため、未分化の間葉系幹細胞が血管組織とともに侵入して、分化・増殖する必要がある。そのため、多孔体は気孔同士がつながった連通構造をもち、しかも連通孔の大きさが十分大きいことが必要である。しかし、気孔率を上げると強度が極端に低下するため、現在、均一な連通構造をもった高強度の多孔体は得られていない。したがって多孔体には、骨が再生しやすい連通孔構造と患者が術後短期間で活動できる高い機械的強度が求められている。本項では、ゲルキャスティング法を応用して、HAp 多孔体を作製することを目的とする。

5. 1. 2. 2 材料と方法

水酸アパタイトを合成するための出発材料は、炭酸カルシウム(アルカリ分析用、和光純薬工業)、オルトリン酸(試薬特級、和光純薬工業)とした。炭酸カルシウムはあらかじめ1050°Cで3時間焼成後、加水消化をおこない、水酸化カルシウムのスラリーとした。

0.6M のリン酸水溶液を、激しく攪拌した 1M の水酸化カルシウム懸濁液 5 dm³中に徐々に滴下した。合成は、反応液の pH が 9 の付近で沈殿物をサンプリングし、HAp 単相が粉末 X 線回折法で確認された時点で終了した。その後、沈殿を 1 ~ 3 日熟成し、吸引ろ過した。これを 120°C で乾燥した後、800°C で焼成して HAp 単相の粉末を得た。粉末はらいかい機で 125 μm 以下に粉碎

した。HAp の表面は中性付近で負にチャージしている¹⁶⁾ため、架橋性高分子にはポリエチレンイミンを選択した。また、水溶性の架橋剤としてジエポキシ化合物を用いた。HAp スラリーは HAp 粉末とポリエチレンイミンの15%水溶液を、重量比で60:40になるように混合して調整した。その後、得られたスラリーは攪拌と超音波によって均一にした。起泡は、スラリーに起泡剤として1 wt%のポリオキシエチレンラウリルエーテルを添加し、攪拌して泡沫状にした。それにジエポキシ化合物を添加し、所定の型に導入した。気孔構造は真空デシケータ中30分で固定した。気孔径と気孔率は攪拌時間と気孔構造を固定化する際の周囲の気圧を調整することによって制御し、焼結後の気孔径が150 μm, 300 μm となるようにした。架橋が終了し、気孔構造が固定化された後に、脱型・乾燥し、1200°Cで焼結した。

焼結後の HAp 多孔体は 5 × 3 × 20mm に成型し、三点曲げ試験を、5 mm 角の角柱に成型し、圧縮試験をおこなった。曲げ試験の条件はスパン15mmであり、材料試験時のクロスヘッド速度は、いずれの場合も500 μm/minとした。また、HAp 多孔体の微構造は走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察した。さらに、気孔率は水銀圧入法により求めた。

5. 1. 2. 3 結果と考察

材料試験と気孔率測定の結果を表5.1に示す。市販の HAp 多孔体を比較として表に示してあるが、曲げ強度、圧縮強度のいずれも、市販の多孔体に比べて2倍以上の強度を示していた。

SEM 観察からは、図5.1-a に示すとおり、本 HAp 多孔体は、いずれの気孔径においても気孔径が均一で、全ての気孔が隣の気孔と連通している構造を持っていることが分かった。これは、乾燥固化による気孔固定で作製される多孔体と異なり、全ての部位で均一に制御された気孔径を持つ多孔体が得られることを示している。図5.1-b に示す気孔表面は、HAp 結晶がよく焼結していることを示しており、また、梁の部分の破断面において、図5.1-c のように、ほぼ気孔がない、緻密に焼結した微構造を持っていることが分かった。いずれの部位にも焼結に伴うマイクロクラックの形成は認め

められず、可燃性高分子を用いて作製された多孔体の微構造と比較して強固な構造であることが分かった。このように、壁と梁の部分で緻密に焼結していることが、本 HAp 多孔体が従来の HAp 多孔体と比べて高い強度を示す原因であると考えられる。

5. 1. 2. 4 結論

架橋性高分子としてポリエチレンイミン、架橋剤としてジエポキシ化合物、起泡材としてポリオキシエチレンラウリルエーテルを用いることで、従来の多孔体と比べて2倍以上の強度を持つ、高い開気孔率と均一な気孔構造を持った HAp 多孔体を作製することが出来た。この気孔構造と強度は、椎体用材料、組織工学用材料として有用であると考えられる。

5. 1. 3 水酸アパタイト多孔体の骨組織再生試験¹⁷⁾と骨組織反応試験¹⁸⁾

5. 1. 3. 1 はじめに

前項の結果から、HAp 多孔体は椎体用材料、組織工学用材料として必要な物理的性質を示すことが明らかとなった。そこで本項では、生体外での骨組織再生試験と、生体内における骨組織反応試験をおこなった。

5. 1. 3. 2 材料と方法

骨組織再生試験は、前項で作製した手順で気孔径500 μm の HAp 多孔体を作製し、5 mm 角のブロックに成型しておこなった。骨組織のは Maniatopoulos らによって確立された骨髄由来骨芽細胞様初代培養細胞培養法¹⁹⁾に準拠して培養した。まず、Fischer Rat の大腿骨より骨髄液を採取し、デキサメタゾン・グリセロフォスフェート・ビタミン Cなどを添加した10%の子牛胎児血清を含む MEM 培地に分散し、HAp 多孔体に含浸させた。この細胞が含まれた HAp 多孔体を前述の培地で培養し、骨芽細胞様細胞を増殖させ、骨様組織を形成させた。その後この「培養骨」をラットの皮下に移植し、多孔体内部で骨組織を再生させた。この時、皮下に移植するのは、周囲生体組織からの骨髄由来の細胞なしに、骨組織の再生を検討するためである。移植した培養骨は2, 4, 8週後に摘出し、組織学的に評価した。

骨組織反応試験は、気孔率75%の HAp 多孔体(Φ6 mm × 15mm 円柱型ブロック)を成熟家兎大腿骨遠位頸部に移植することによりおこなった。移植した多孔体と周囲組織を6週間後に摘出し、骨伝導を組織学的に評価した。

Table 5.1. Physical properties of porous hydroxyapatite

	Pore diameter (μm)	Path diameter (μm)	Porosity (%)	3-point bending strength (MPa)	Compressive strength (MPa)
Sample A (surface)	150	50	75	8	20
Sample A (center)	150	50	75	8	20
Sample B (surface)	300	100	75	7	17
Sample B (center)	300	100	75	7	17
Commercial product A	200	-	70	-	2~3
Commercial product B	300	-	60	-	15

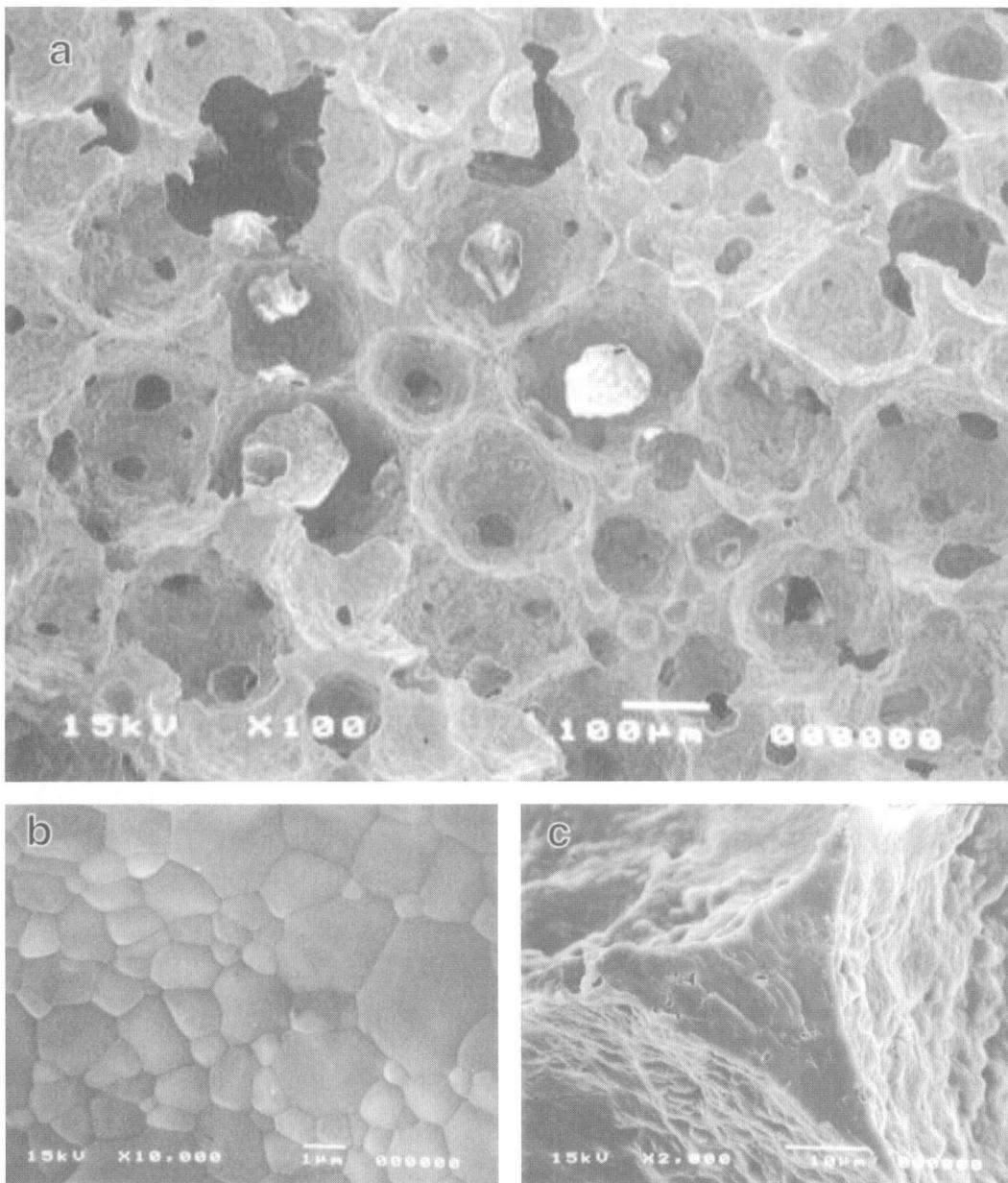


Fig. 5.1 Scanning electron micrographs of porous hydroxyapatite. a: whole pores with the same size were connect each other, b: pore surface was densely sintered and c: pillars were also densely sintered.

5. 1. 3. 3 結果と考察

骨組織再生試験の結果を図5.2に示す。移植した骨芽細胞は多孔体内で骨組織を形成し、新たに出来た骨組織の中に骨細胞や血管が侵入している様子が観察されている。このことから、HAp多孔体を用いた生体外での培養において、骨芽細胞様細胞の増殖と骨様組織の形成が十分におこなわれていることが分かった。また、増殖した骨芽細胞様細胞はアルカリリフォスファターゼ活性が高く、骨組織の形成能を保っていることから、「培養骨」は生体内で生きた骨として骨組織を再生することが分かった。

骨組織反応試験の結果、図5.3に示すように、移植後6週で中央部まで骨髄形成を伴った骨形成が見られ、

①良好な生体適合性、②優れた骨伝導性、③気孔間パスを通して骨組織が深部まで侵入しうることが明らかとなった。

5. 1. 3. 4 まとめ

本研究で作製された新規 HAp 多孔体は、培養骨の scaffold としてすぐれた性質を示していることが明らかとなった。また、新規 HAp 多孔体は、従来の HAp 多孔体とおなじく、高い生体活性を示し、従来の多孔体と比べても内部にまで骨組織が侵入することが明らかとなった。

この結果を踏まえて平成12年4月より大阪大学医学部附属病院整形外科およびその関連施設で臨床治験を

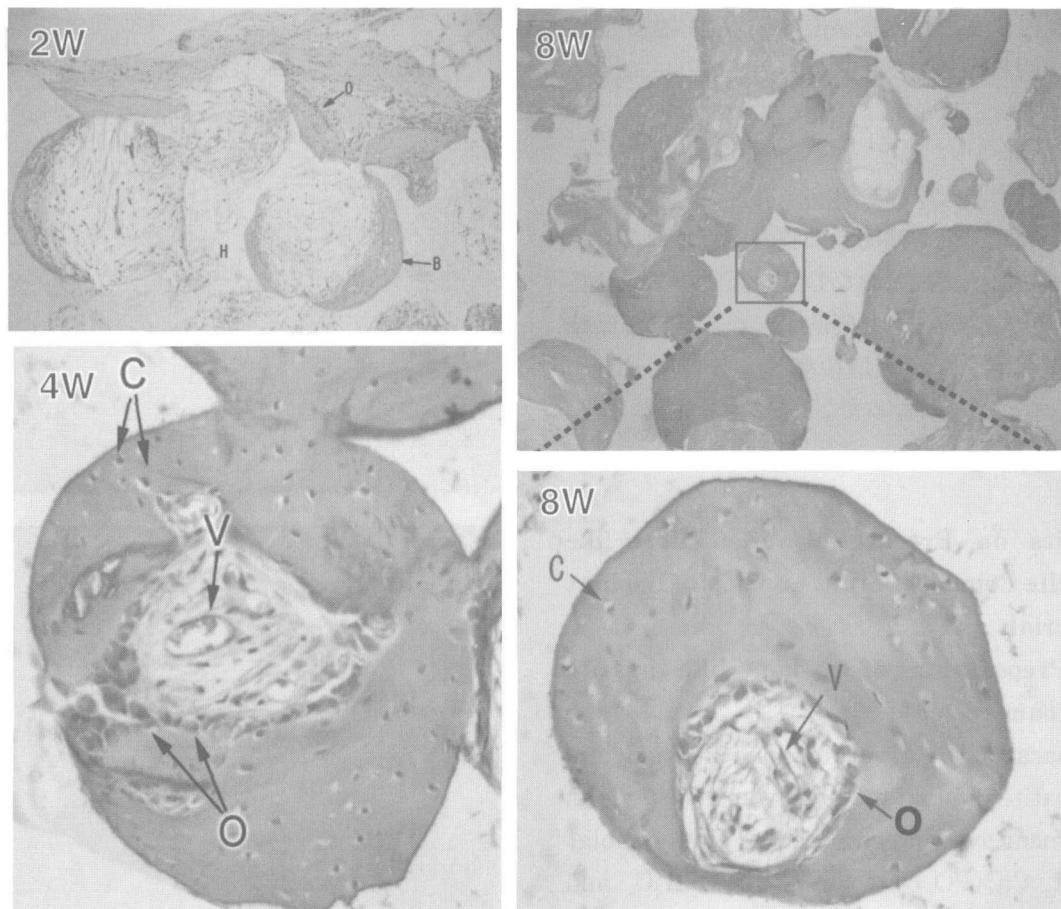


Fig. 5.2 Hematoxylin and eosin stained histological sections of cultured bone using porous hydroxyapatite after implanted into rats' subcutaneous tissue. B and C indicate newly formed bone, O, osteoblasts, V, blood vessel and H, porous hydroxyapatite. Bone formation in the pores was observed at 2 weeks' after operation and the bone matured with increasing in implantation time.

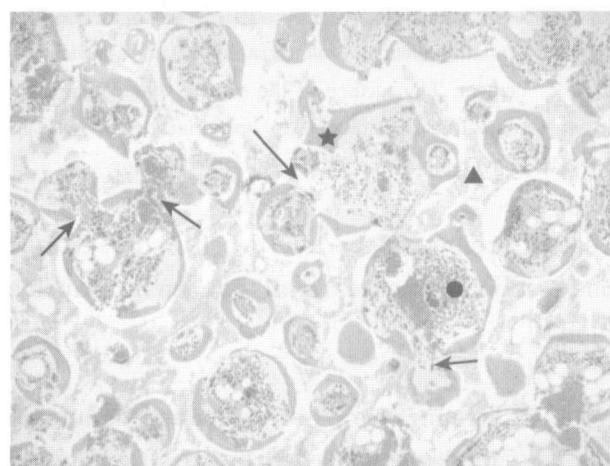


Fig. 5.3 Hematoxylin and eosin stained histological section of porous hydroxyapatite implanted into rabbit's femur for 6 weeks at 3 mm depth from the implant surface. Bone matrices (★) and bone marrow (●) grew in the pores of porous hydroxyapatite (▲). Bone tissues also grew over two pores through the path between the pores (arrow).

行っている。その途中経過では、すべての症例において、セラミックスの移植後、炎症等の異常な生体反応は認められず、わずか数ヶ月で骨欠損部に移植した泡セラミックス顆粒の部分およびその周囲のX線透過性が低下しており、従来品に比べて泡セラミックスの優れた骨伝導性が予想される。臨床試験の最終結果は本年4月中に明らかになる予定である。

5. 1. 4 結論

本章では、ゲルキャスティング法を応用して高気孔率・高強度・高開気孔径を持つ新規 HA多孔体を作製した。新規 HA多孔体は、従来の HA多孔体の2倍以上の強度を示し、人工椎体としての応用が可能であると考えられた。さらに、この高い強度により組織工学における細胞培養や、医療現場における移植時の操作性にすぐれていることが分かった。作製した多孔体を用いて、骨組織再生試験をおこなったところ、本多孔体は、scaffoldとしてすぐれた組織再生能を示した。また、ウサギを用いた骨内反応試験では、従来のもの

と比較して、内部まで骨組織が侵入し、高い生体活性を示すことが明らかとなった。

5. 1. 5 謝辞

動物実験は、大阪大学整形外科学教室の越智隆弘教授・吉川秀樹教授・名井陽助手の協力によりおこなった。また、細胞培養実験はおなじく大阪大学の越智隆弘教授・吉川秀樹教授・名井陽助手、ならびに工業技術院産業技術融合領域研究所の植村寿公博士・Dr.J. Dong の協力によりおこなった。ここに深く感謝いたします。

5. 2. Studies on Preparation of a Bone-like Apatite Cement, Porous Composite Implant Materials

5. 2. 1 Preparation of a bone-like apatite foam cement

The preparation of a porous bone-like calcium deficient apatite implant material was investigated. A novel cement system composed of an equimolar mixture of $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ and CaCO_3 was used. At a liquid/powder ration of 0.83 ml/g low density open framework foam cements were formed due to the rapid evolution of CO_2 . The initial product of the reactants was $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ which then reacted with $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, forming a calcium deficient carbonated apatite, upon soaking of the cement blocks in SBF. Foam-like cements were composed of a plate-like apatite due to epitaxial overgrowth and conversion of the brushite plate precursor (Fig. 5.4). Cylinders of the foam cement were reinforced with an outer layer of a solid apatite cement to form a material suitable for application as a bone-section implant.

The inorganic component of bone is known to consist of a plate like calcium deficient carbonated hydroxyapatite (HAp). Implant cements that mimic this composition should be advantageous, the degree of porosity is also an important factor in promoting bone ingrowth. The high porosity of the foam cement structure suggests the structure should be osteo-conductive and the bone-like HAp composition, together with the presence of OCP, should allow the material to show good biological resorption properties. An outer coat of solid cement

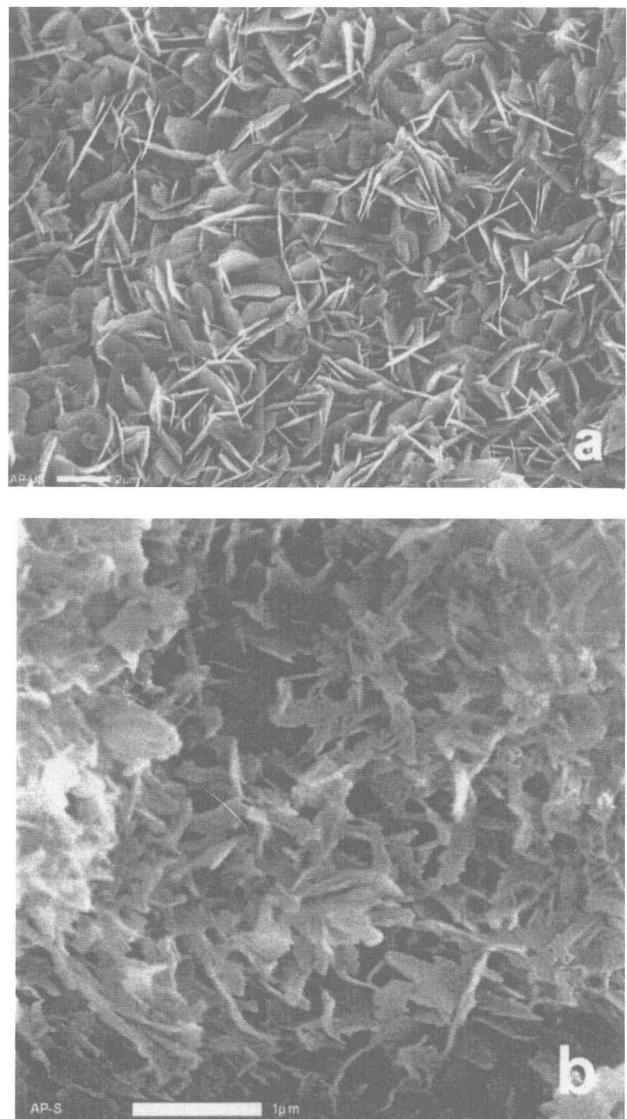


Fig. 5.4 Scanning electron micrographs of an apatite foam cement. The surface of the cement was covered with plate-like apatite due to epitaxial overgrowth and conversion of the brushite plate precursor.

is used to reinforce the low-density core, to form bone section implant material that can be shaped as required.

5. 2. 2 Preparation of porous composite implant materials by in-situ polymerization of porous apatite containing ϵ -caprolactone or methyl methacrylate

Biodegradable and biostable composite foams were formed from porous apatite cement infiltrated with ϵ -caprolactone (CL) or methylmethacrylate (MMA) using a high over vacuum. For CL composites in-situ polymerization was induced using trace water as an initiator and heating at 120°C for up to

10 days or at 80°C for 60 days. MMA composites were polymerized using AIBN initiator at 70°C for 8 hours. CL preparations gave composites with a polycaprolactone (PCL) number average of molecular weight (M_n) up to maximum of 7.1×10^3 g/mol after 10 days and 16.8×10^3 g/mol after 60 days. The PCL and PMMA contents were close to 50 wt% and 40 wt% respectively, polymer was present as thin coating on the apatite crystal plates and was evenly distributed throughout the samples. Re-evacuation of apatite saturated with monomer during preparation ensured that the upwards of 200 nm microchannels within the apatite cement were largely free of polymer, and the overall macroporous structure of the apatite foams was partly retained (Fig. 5.5). Maximum compressive strengths increased from 9 MPa to 37 and 64 MPa for PCL and PMMA composites respectively. The water drop contact angle of the PCL composite was 64°, and therefore suitable for cell attachment. PMMA composite surfaces were more hydrophobic. Composites were subjected to corona discharge to induce suitable moderate hydrophilicity at the surface. The use of a high vacuum procedure was successful in infiltrating monomer into porous apatite blocks which could then be polymerized in-situ whilst largely retaining the porous morphology. The resulting products (Fig. 5.6) were of much higher

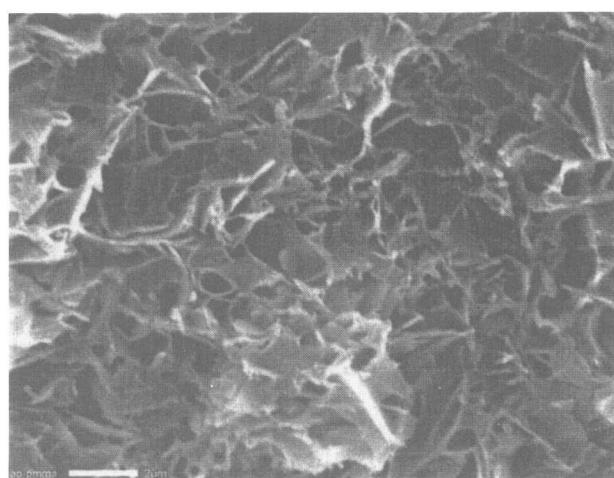


Fig. 5.5 Scanning electron micrograph of a porous apatite-polymer composite. The upwards of 200 nm microchannels within the apatite cement were largely free of polymer, and the overall macroporous structure of the apatite foams was partly retained.

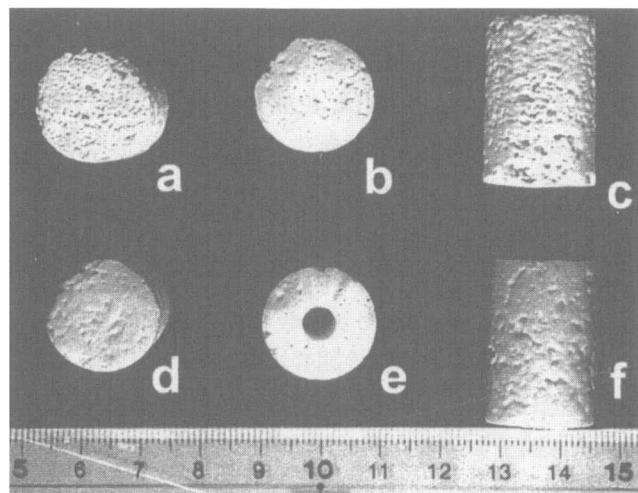


Fig. 5.6 Appearance of porous apatite-polymer composites. The composites were of much higher compressive strength and should be expected to have different biodegradation properties than the starting material.

compressive strength and should be expected to have different biodegradation properties than the starting material. The hydrophobicity of the PCL composite was suitable for cell attachment; in both composites the surface wettability could be temporarily altered as required using a corona discharge treatment. The products are suitable as bone and tooth implant materials and as cell scaffolds for tissue engineering.

5. 3 エマルション中におけるハイドロキシアパタイトの結晶成長^{20,21)}

5. 3. 1 はじめに

ハイドロキシアパタイト (HAp) は医療分野において、その高い骨伝導能、骨誘導能から骨および歯の再建、補綴用材料として応用されている²²⁾。

青木らは HAp 焼結体が生体の硬組織ばかりでなく、皮膚、筋肉、あるいは歯茎といった軟組織に対しても非常によい細胞接着性を示すことを見いだし、医療用経皮デバイスの経皮部における細菌感染等の問題を克服するため、HAp の焼結体ディスクと経皮カテーテルを組み合わせた新規医療用デバイスを提案した²³⁾。しかし、このデバイスは柔軟性に欠ける HAp 焼結体ディスクを患者の皮下に埋入し、固定するために患者の可動性を大きく損ない、患者の QOL を低下させる結果となつた。Zabetakis らはこの問題を克服するために、柔軟性を持つ高分子製カテーテル表面に pulsed laser deposition により HAp を熔射し、薄膜を形成させることに

成功した²⁴⁾。しかし、このデバイスをラットの皮下組織に埋入したところ、周辺組織に炎症が認められ、実用には至らなかった。これは、生成した HAp 薄膜が非晶質成分および HAp の熱分解生成物を含むためであると考えられる。

上記の研究に鑑み、我々はシリコーンなどのカーテル用高分子基材表面に HAp 粉体を共有結合により強固に固定し、コーティング層を作成する新しい方法を開発した²⁵⁾。この手法の開発にあたって用いた HAp 粒子は直径2μm の球形状を持つものであったが、球形の HAp 粒子と平らな高分子基材との接触面積は小さく、粒子と基材間の接着強度が十分得られないことが予想された。用いる HAp 粒子の形態をコントロールすることにより粒子-基材間の強度の向上を図ることができるのでないかと考え、エマルション中での HAp 粒子合成を試みた。

5. 3. 2 実験

5. 3. 2. 1 試薬

水酸化カルシウムは和光純薬工業製炭酸カルシウム（アルカリ分析用）を1050°Cで焼成した後純水を添加し、加水消化することにより得た。リン酸2水素カリウム、界面活性剤であるペンタエチレングリコールドデシルエーテル($C_{12}E_5$)、油相となるドデカン、エタノールは和光純薬工業製特級試薬をそのまま用いた。水は Millipore 社製 Milli-Q 純水製造装置で精製したもの用いた。

5. 3. 2. 2 測定

生成物の同定はフーリエ変換赤外分光法と粉末X線回折法で行った。拡散反射赤外スペクトルの測定は Perkin-Elmer 社製 Spectrum2000 を用い、分析サンプルは臭化カリウムで希釈した粉体を用いた。X線回折装置には Philips 社製 PW1789 を用い、CuK α 線を X 線として分析を行った。分析サンプルはガラスセル上に薄く膜状に充填して測定を行った。生成物の粒子形状は透過電子顕微鏡日本電子製 JEM-2000EXII および JEM-1010 により観察した。

5. 3. 2. 3 HAp 粒子の合成

マグネティックスターラによる攪拌下、水酸化カルシウム懸濁液（水酸化カルシウム1.85g (2.50mmol) を10mlの純水に分散させたもの）をドデカン40ml と $C_{12}E_5$ 0.5g の混合液に滴下し、1時間熟成させた。次いで、リン酸2水素カリウム水溶液 (2.04g (1.50mmol) を

10mlの純水に溶解させたもの）を反応混合物に滴下し、24時間反応を行った。反応は25, 35, 50および70°Cで行った。反応終了後、得られた粉末状の生成物を遠心分離し、純水(50ml, 2回)，次いでエタノール(50ml, 2回)で洗浄した後、1晩乾燥機中60°Cで乾燥させた。最後に残留する有機分、および水分を除去するために、粉体を電気炉中650°Cで1時間焼成し、最終生成物を得た。

また、反応媒体であるエマルションが HAp 粒子形状に与える影響を評価するために、界面活性剤を加えない非エマルション系で同様の反応を行い、対照サンプルを合成した。

5. 3. 3 結果と考察

図5.7にエマルション系で得られた生成物の FT-IR スペクトルを示す。スペクトル中、602/572および474cm⁻¹の吸収はそれぞれ $\nu_4 PO_4^{3-}$ および $\nu_2 PO_4^{3-}$ に帰属される。1092/1045および963cm⁻¹の吸収は $\nu_3 PO_4^{3-}$ および $\nu_1 PO_4^{3-}$ に由来する。水酸イオンの伸縮、振動に基づく吸収がそれぞれ3573, 632cm⁻¹にみられ、HAp 粒子の結晶性が高いことが示された。877および1413/1456cm⁻¹にみられる吸収は HAp の結晶格子中のリン酸イオンを置換している炭酸イオンに基づく吸収である。使用した試薬中に炭酸イオンは含有されていないが、反応系が開放系であることから、空気中の二酸化炭素が反応系に溶解し、HAp の結晶格子に組み込まれたものであると推測される。炭酸イオンを含有する HAp は、生体に含まれるアパタイトに組成が近いため、化学量論組成の HAp に比べ生体適合性が高いことが知られており²⁶⁾、本実験

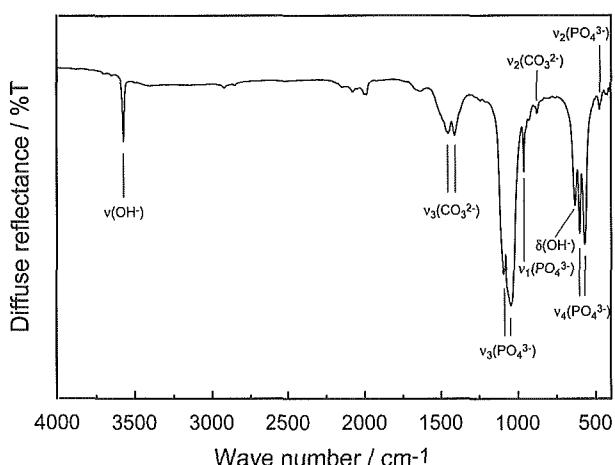


Fig. 5.7 Typical diffuse reflectance of FT-IR spectrum of the HAp particles prepared in this study.

で得られた HAp 粒子はよい生体親和性を示すことが期待できる。

すべてのサンプルにおいて、図5.7と同様のスペクトルが得られたため、サンプル間での大きなイオン組成の変動はないと考えられる。

図5.8に得られた生成物の典型的な X 線回折パターンを示す。このパターンから、リン酸 3 カルシウム、リン酸 8 カルシウムなどの HAp 以外の結晶相は観察され

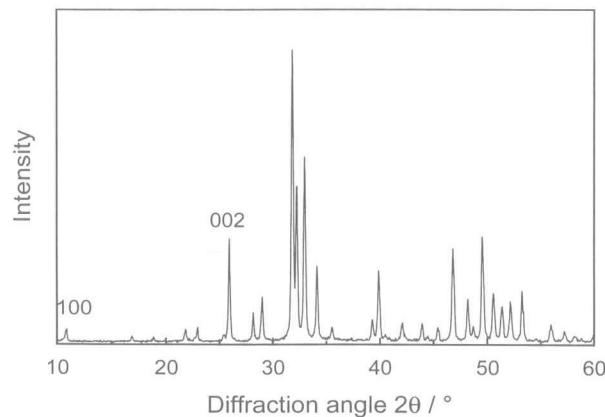


Fig. 5.8 Typical XRD profile of the HAp particles. Any other calcium phosphate phase than HAp was not detected from this profile.

なかつた。赤外分光法の結果とあわせて、得られたサンプルが炭酸イオン含有 HAp の単相からなることがわかつた。

図5.9および5.10にそれぞれエマルション系、非エマルション系で得られた粉末サンプルの電子顕微鏡像を示す。すべての像において、球形から柱状の形状を有するナノサイズの粒子が確認された。また、粒子のサイズが反応温度の上昇に従って大きくなる傾向がみられた。また、非エマルション系で合成された粒子が比較的平らな結晶面で囲まれているのに対し、エマルション中で合成された HAp 粒子表面は曲面により構成されているという傾向が得られた。図5.11にエマルション中50°Cで得られた HAp 単粒子の拡大図を示す。挿入図は当該粒子の電子線回折像である。この回折像から、この微結晶の長軸が HAp の結晶格子の c 軸に一致することがわかる。すなわち、この結晶は結晶格子の c 軸方向に成長しているといえる。従つて、すべての粒子においても同様に長軸が c 軸方向であると考えられる。

HAp 粒子の長軸方向、短軸方向の結晶子径をそれぞれ X 線回折図中の 002, 100 反射の広がりから Scherrer の式に従つて算出した^{27,28)}。また、結晶子のアスペクト比 d_{002}/d_{100} を得られた d_{100} および d_{002} から算出した。結

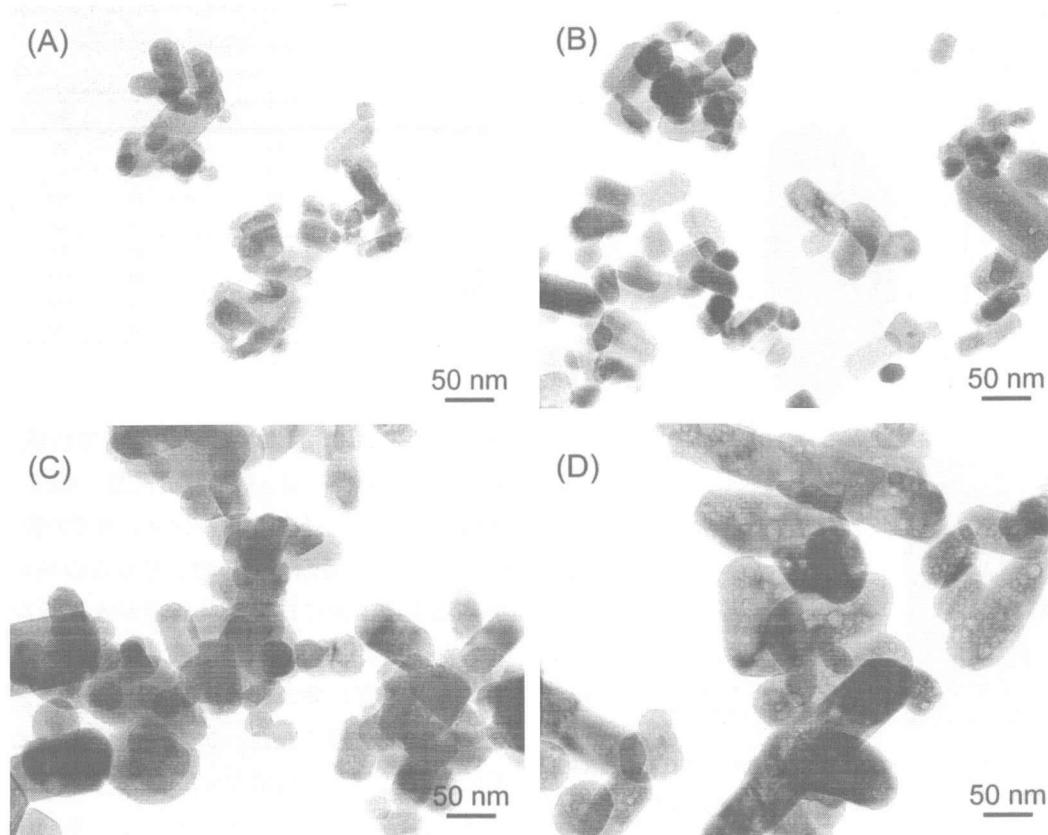


Fig. 5.9 Transmission electron micrographs of the HAp particles prepared in emulsion systems; prepared at (A) 25°C, (B) 35°C, (C) 50°C, and (D) 70°C.

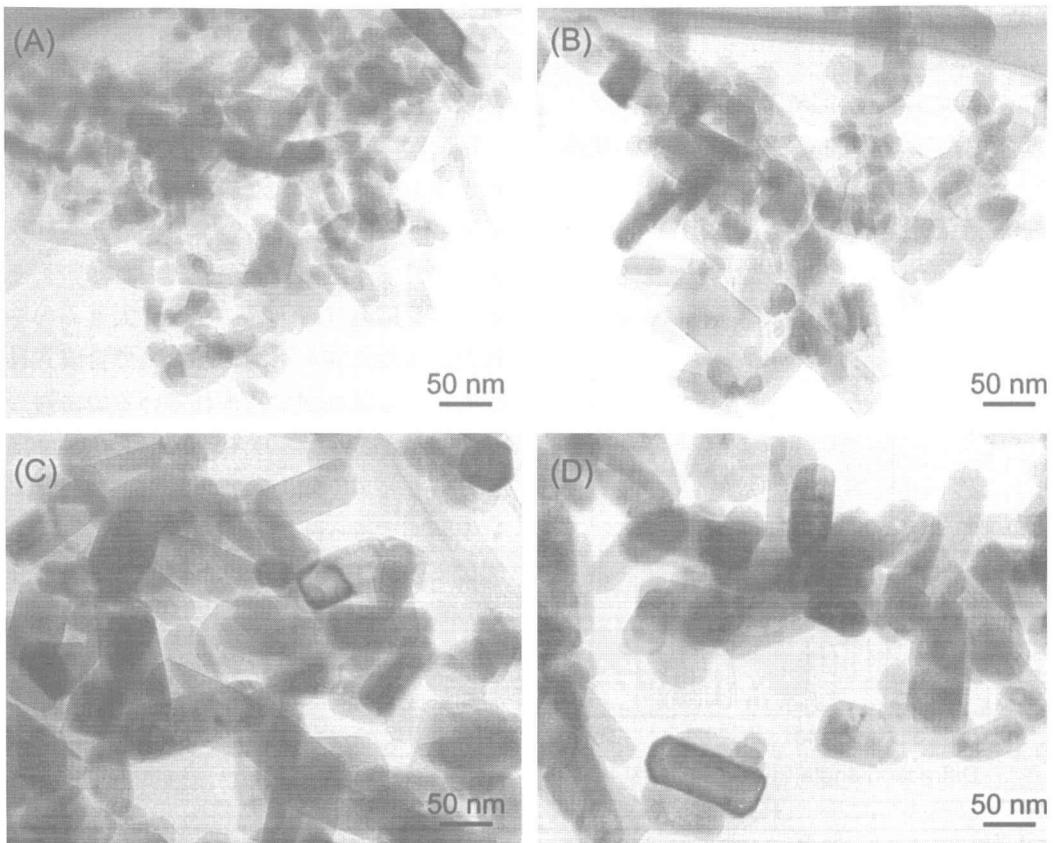


Fig. 5.10 Transmission electron micrographs of the HAp particles prepared in non-emulsion systems; prepared at (A) 25°C, (B) 35°C, (C) 50°C, and (D) 70°C.

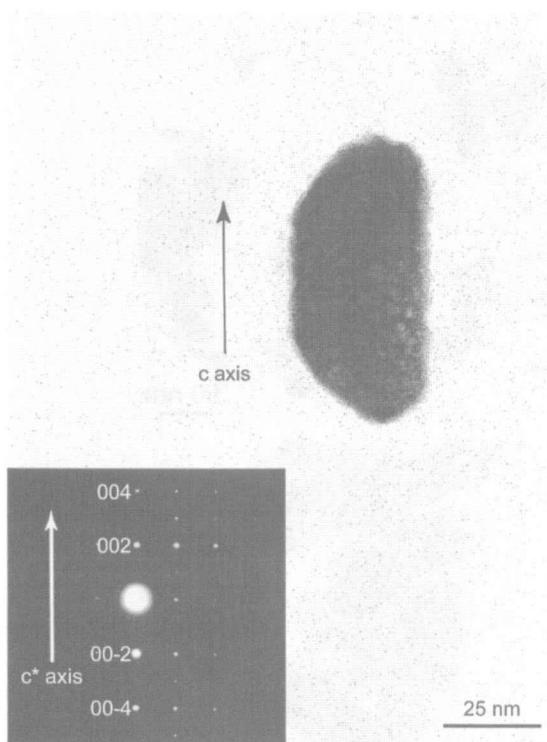


Fig. 5.11 Transmission electron micrograph and electron diffraction pattern (inlet) of a HAp particle prepared at 50°C in an emulsion system. A crystal elongation along c -axis was observed from the electron diffraction pattern.

Table 5.2 Calculated crystallite sizes of HAp particles in emulsion and non-emulsion systems.

Reaction system	Reaction Temperature / °C	Crystallite size / nm		Aspect ratio (d_{002}/d_{100})
		d_{100}	d_{002}	
Emulsion	25	22	55	2.5
	35	34	90	2.6
	50	50	113	2.3
	70	43	126	2.9
Non-emulsion	25	28	84	3.0
	35	41	131	3.2
	50	62	182	2.9
	70	63	186	3.0

果を表5.2に示す。エマルジョン中で合成された HAp 粒子の d_{100} および d_{002} はそれぞれ22~43, 55~126nm の範囲であった。一方非エマルジョン系での粒子は28~63, 84~186nm の範囲であった。どちらの系においても、反応温度の上昇に従い結晶子径が大きくなる傾向がみられた。また、同温度で比較した場合、エマルジョン系の結晶子径は非エマルジョン系のものと比べ小さいという結果が得られた。アスペクト比はエマルジョン系において2.3~2.9, 非エマルジョン系において2.9~3.2 であった。すなわち、エマルジョン系で粒子を合成することにより結晶子の c 軸方向への成長が妨げられたものと考えられる。

X線回折図より算出された結晶子径と電子顕微鏡により観察された粒子径とはよく一致した。つまり、電子顕微鏡で観察される個々の粒子がそれぞれ単結晶であるといえる。

一般に非イオン系界面活性剤は温度の上昇に従い疎水性が増大し、水溶液中でその物質に固有の疊点を示す事が知られている。このことから、本研究におけるHAp粒子径および粒子形態の変化もまた反応温度の差に起因すると考えられる。非エマルション系において、反応温度の上昇に従いHAp粒子が成長するという結果が得られたが、これは、温度の上昇により結晶成長速度が高まったためと推測できる。一方、エマルション系において反応温度が25°Cと低い場合、C₁₂E₅分子からなるミセルの壁は、疊点以上の高い温度における場合よりも安定であると推察される。リン酸2水素カリウム水溶液を滴下した後、反応混合液中ではカルシウムイオン、リン酸イオンを含む小さなミセルの衝突・合一・分割のプロセスによりイオンの拡散が起きると考えられる。そのため、HAp結晶は球形のミセル内で成長し、安定なミセル壁が成長が速いc軸方向への結晶成長を阻害する。その結果、低アスペクト比の粒子が得られるものと考えられる。非エマルション系で得られたHAp粒子と比較して、エマルション系の粒子が低アスペクト比を示し、曲面形状を呈するのはこのc軸方向の結晶成長阻害効果によるものと考えられる。

反応温度が高くなると、界面活性剤分子の親水性は減少し、エマルションは不安定になる。その結果、ミセル径は大きくなり、より大きな結晶がその内で成長することになる。しかし、エマルション系70°Cで合成されたHAp粒子においても、その結晶が曲面形状を有することから、上述のc軸方向への結晶成長の阻害効果は維持されていると思われる。

以前の研究によれば、マイクロエマルションおよびエマルション中で合成されたHAp粒子は、ほぼ球状から柱状の形態を示し、そのサイズは20~100nmであり^{29,30)}、本研究における粒子径の数値よりもやや低い。これはその実験系における界面活性剤濃度が本研究の系よりも非常に高いことに起因していると考えられる。つまり、界面活性剤の濃度が結晶成長の場であるナノ水滴空間の大きさに非常に大きな影響を与え、その水滴空間の大きさによりHAp粒子の大きさが制限されるといえる。

5. 3. 4 結論

HApナノ粒子の形態とサイズに対する反応媒体であ

るエマルションの効果について検討を行った。エマルション中で合成されたHAp粒子は非エマルション系で合成されたものと比べ、粒径および粒子のアスペクト比が小さいことが明らかとなった。電子顕微鏡による粒子形態の観察から、非エマルション系における粒子が比較的結晶面が発達した結晶であったのに対し、エマルション系における粒子は丸みを帯びた曲面形状を持っていた。この形態とサイズの違いは、反応媒体の違いによるものと思われ、エマルションが結晶成長に対し阻害効果を示すことを示していると思われる。

エマルションを反応媒体として用い、反応温度を変化させることにより、HAp微結晶の形態、大きさをコントロールすることが可能となったことから、HAp粒子を高分子表面に共有結合により導入し、生体適合性に富む医療用具を開発する上で、最適な形状をもつHAp粒子の作成が可能になったと思われる。これらの粒子を用いて、今後実際の医療用具開発への応用を試みる。

参考文献

- 1) A.I. Caplan, and S.P. Bruder, "Principles of Tissue Engineering" (ed. R.P. Lanza, R. Langer and W.L. Chick), p603 (Academic Press, New York, 1997).
- 2) S.E. Haynesworth, M.A. Baber and A.I. Caplan, Bone **13**, 69 (1992).
- 3) J.E. Dennis and A.I. Caplan, J. Oral Implantol. **19**, 106 (1993).
- 4) T. Yoshikawa, H. Ohgushi and S. Tamai, J. Biomed. Mater. Res. **32**, 481 (1996).
- 5) T. Yoshikawa, H. Ohgushi, Y. Dohi and J.E. Davies, Biomed. Mater. Eng. **7**, 49 (1997).
- 6) T. Yoshikawa, H. Ohgushi, M. Akahane, S. Tamai and K. Ichijima, J. Biomed. Mater. Res. **41**, 568 (1998).
- 7) T. Yoshikawa, H. Ohgushi, T. Uemura, H. Nakajima, K. Ichijima, S. Tamai and T. Tateishi, Biomed. Mater. Eng. **8**, 311 (1998).
- 8) T. Noshi, T. Yoshikawa, H. Ohgushi, Y. Dohi, M. Ikeuchi, K. Horiuchi, M. Sugimura and K. Ochiai, Bioceramics **12**, 241 (1999).
- 9) T. Uemura, A. Nemoto, J. An, Y-K. Liu, T. Yoshikawa, H. Ohgushi, Y. Kuboki, T. Ushida and T. Tateishi, Bioceramics **12**, 265 (1999).
- 10) J. Dong, H. Kojima, T. Uemura, J. Tanaka, T. Yoshikawa, H. Yamazaki and T. Tateishi, International Workshop on Bio-Integrated Materials & Tissue Engineering,

- (Tsukuba, 2000).
- 11) 特開昭56-166843号公報.
 - 12) 特開昭60-21763号公報.
 - 13) 特開昭60-16879号公報.
 - 14) P. Sepulveda, American Ceramic Society Bulletin **76**, No.10, 61 (1997).
 - 15) 井村浩一, 上本英雄, 田中順三, 菊池正紀, 山崎拓, 第21回日本バイオマテリアル学会大会, (1999)
 - 16) S. Chander, and D.W. Fierstenau, "Solubility and Interfacial Properties of Hydroxyapatite: A review, in Adsorption on and Surface Chemistry of Hydroxyapatite" (ed. D.N. Misra), p29 (Plemium Press, New York, 1984).
 - 17) J. Dong, H. Kojima, T. Uemura, M. Kikuchi, T. Tateishi and J. Tanaka, J. Biomed. Mater. Res. submitted.
 - 18) 大阪大学にて投稿準備中.
 - 19) C. Maniatopoulos, J. Sodek and A.H. Melcher, Cell Tissue Res. **254**, 317 (1988).
 - 20) T. Furuzono, D. Walsh, K. Sato, K. Sonoda and J. Tanaka, J. Mater. Sci. Lett. *in press*.
 - 21) K. Sonoda, T. Furuzono, D. Walsh, K. Sato and J. Tanaka, *in contribution*.
 - 22) H. Aoki, "Medical Applications of Hydroxyapatite", p90 (Ishiyaku EuroAmerica Inc, Tokyo, 1994).
 - 23) M. Taniguchi, H. Takeyama, I. Mizuno, N. Shinagawa, J. Yura, N. Yoshikawa and H. Aoki, Jpn. J. Artif. Organs **20**, 460 (1991).
 - 24) P.M. Zabetakis, C.M. Cotell, D.B. Chrisey and R.C.Y. Auyeung, ASAIO J. **40**, M896 (1994).
 - 25) T. Furuzono, K. Sonoda and J. Tanaka, J. Biomed. Mater. Res. *in press*.
 - 26) R.Z. LeGeros, "Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine" (ed. H.M. Hyers), (Karger, New York, 1991).
 - 27) P. Sherrer, Nachr. Ges. Wiss. Gottingen, Math.-Phys. Kl. **2**, 96 (1918).
 - 28) R. Jenkins and R.L. Snyder, "Chemical Analysis vol. 138, Introduction to X-ray Powder Diffractometry" (ed. J.D. Winefordner), p89 (John Wiley & Sons, New York, 1996).
 - 29) L.M. Qi, J.M. Ma, H.M. Cheng and Z.G. Zhao, J. Mater. Sci. Lett. **16**, 1779 (1997).
 - 30) G.K. Lim, J. Wang, S.C. Ng, C.H. Chew and L.M. Gan, Biomaterials **18**, 1433 (1997).

第6章 非アパタイト系関連研究

6. 1 MO/MD 計算に関する研究 一固体界面におけるヘテロメタロキサン結合生成過程の計算機シミュレーションによる解析—

6. 1. 1 はじめに

複合酸化物中の異なる金属元素 Me(I), Me(II) を酸素原子 O で架橋した, “Me(I)-O-Me(II) ヘテロメタロキサン結合” の安定性は, 核形成に代表される初期反応, 更には複合酸化物合成の成否に大きく影響する。

「メカノケミカル反応」は, 固体の混合粉末に機械的なエネルギーを与えて固相反応を促進する方法である。原料に水酸化物を用いると, 短時間で, 均一な複合酸化物前駆体を得ることができる。例えば $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 系では, 以下の反応機構が提案されている。(1) 混合摩碎を行うと, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ と SiO_2 の界面で, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の水酸基と SiO_2 の表面に存在するシラノール基が反応して脱水が起こる; (2) それに伴って, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 表面の OH 基が減少し, 表面の Ca 原子が低配位になる; (3) その結果, Ca-O-Si ヘテロメタロキサン結合が形成され, カルシウムシリケートの前駆体が生成される。しかし, この反応機構は未だ十分に解明されていない。

本研究では, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面における原子の挙動を, 分子動力学法 (プログラム MXDORTO¹⁾) によって予測し, それに伴って変化する電子の挙動を, 分子軌道法 Discrete variational (DV)- $X\alpha$ 法²⁾ によって評価した。これにより, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 系の実験から得られた仮説を検証し, メカノケミカル反応の機構解明の手掛かりを得ることが目的である。

6. 1. 2 計算方法

反応モデルとして, 分子動力学法から得られた $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面 (図6.1) の原子構造の一部から成る, $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{SiO}_2$ クラスターを用いた。このクラスター モデルの原子に対して, 原子間の重なり電子密度 (Overlap population) を計算した。この値から, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面で新たに形成される化学結合の強さを評価した。計算方法の詳細は参考文献^{3,4)}に示す。

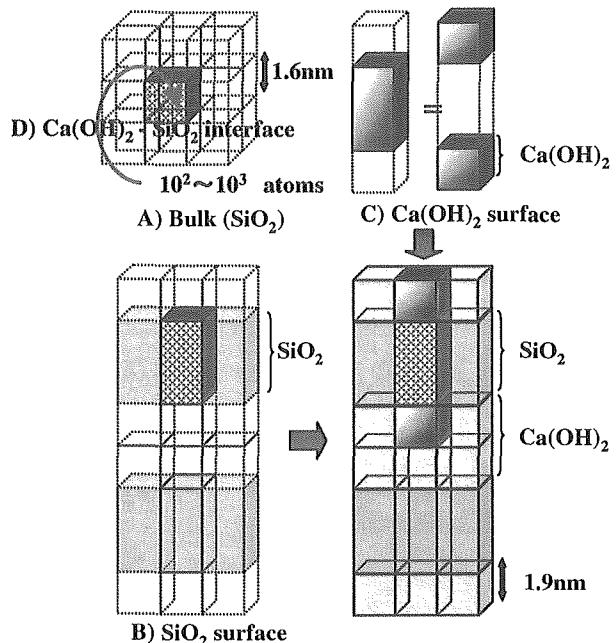


Fig. 6.1 Unit cells for MD calculation.

6. 1. 3 結果および考察

6. 1. 3. 1 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面構造の変化(1)：脱水反応

図6.2に, 分子動力学(MD)計算で得られた $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面構造の時間変化を示す。図6.2の 8 psec から 10 psec の間に, アモルファス SiO_2 表面のプロトンが $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の OH 基に移動し, H_2O を形成した。この時の界面原子配置を切り取ったクラスター モデルを, DV- $X\alpha$ 法を用いて解析したところ, 図6.3に示すとおり, $\text{Ca}-\text{OH}$ の O 原子と $\text{SiO}-\text{H}$ 基の H 原子とが接近するにつれて, $\text{Ca}-\text{OH}$ の O 原子と $\text{SiO}-\text{H}$ の H 原子との間で形成される O-H 重なり電子密度が増大した。同時に, $\text{SiO}-\text{H}$ および $\text{Ca}-\text{OH}$ との重なり電子密度が減少し, 最終的に殆ど消失した。これらの原子移動, および電荷密度分布の変化から, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 表面の OH 基と SiO_2 表面の OH 基が接近・接触することによって, H_2O 分子の形成および脱水反応が生じることが示唆された。

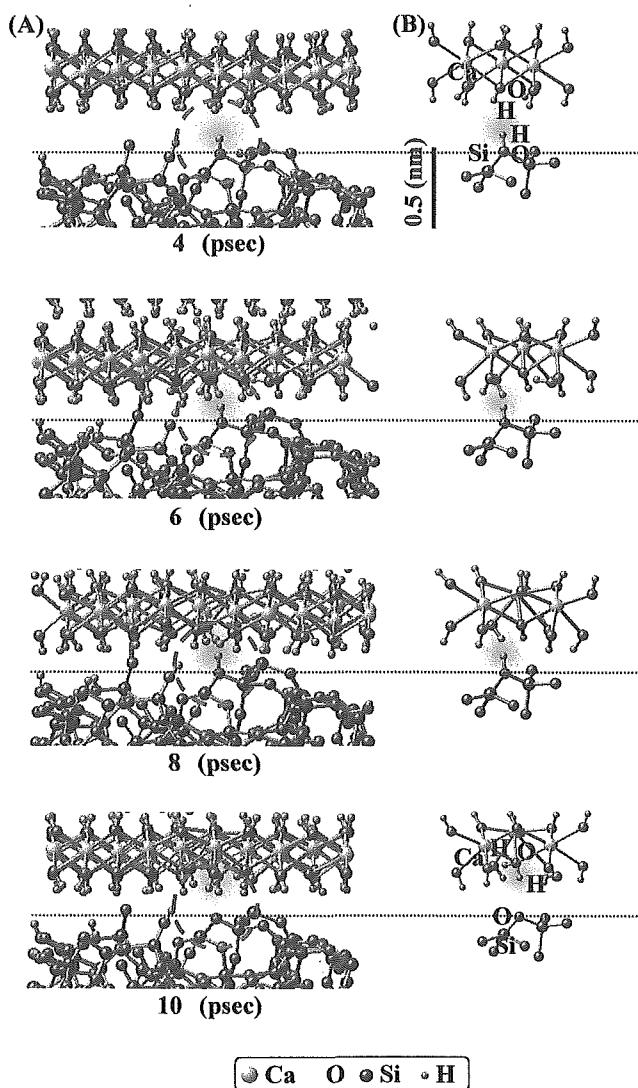


Fig. 6.2 (A) Configurations of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 interface at 300K, 0.1MPa. (B) Schema of proton transfer at $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and SiO_2 interface.

6. 1. 3. 2 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面構造の変化(2) : Ca-O-Si ヘテロ-メタロキサン結合形成

本節では、ヘテロ-メタロキサン結合がメカノケミカル反応初期に形成されることを確認するため、分子動力学計算を用いて、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面に対し、加圧・剪断といった、メカノケミカル反応に特有な現象に対応する変化を与え、得られる界面原子配列の変化を観察した。結果を図6.4に示す。ここで、状態 A は分子動力学計算を行う前の原子配列、状態 B はメカニカルな応力を加えず、大気圧(0.1MPa)のみを加えた状態、状態 C は、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面に平行な、10GPa の圧縮応力を印加した状態、状態 D は、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面に垂直な、10GPa の圧縮応力を印加した状態である。

メカノケミカル反応において可能な最大圧力は15GPa

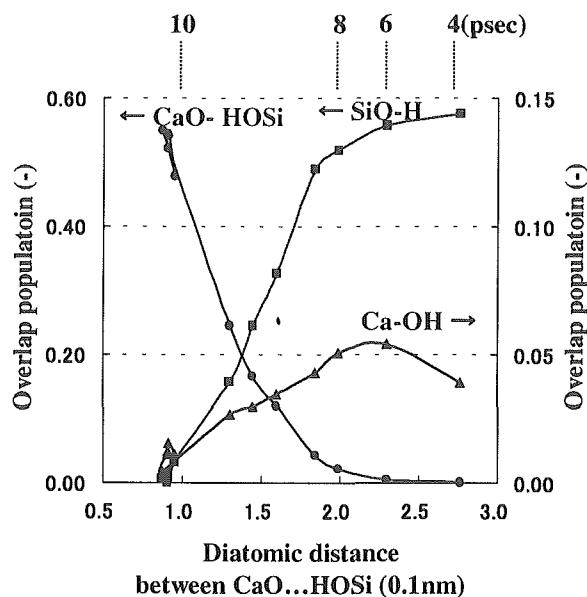


Fig. 6.3 Overlap population between atoms in $\text{Ca}_3(\text{OH})_{13}\text{-Si}_2\text{O}_7\text{-H}_1$ cluster model calculated as a $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 interface.

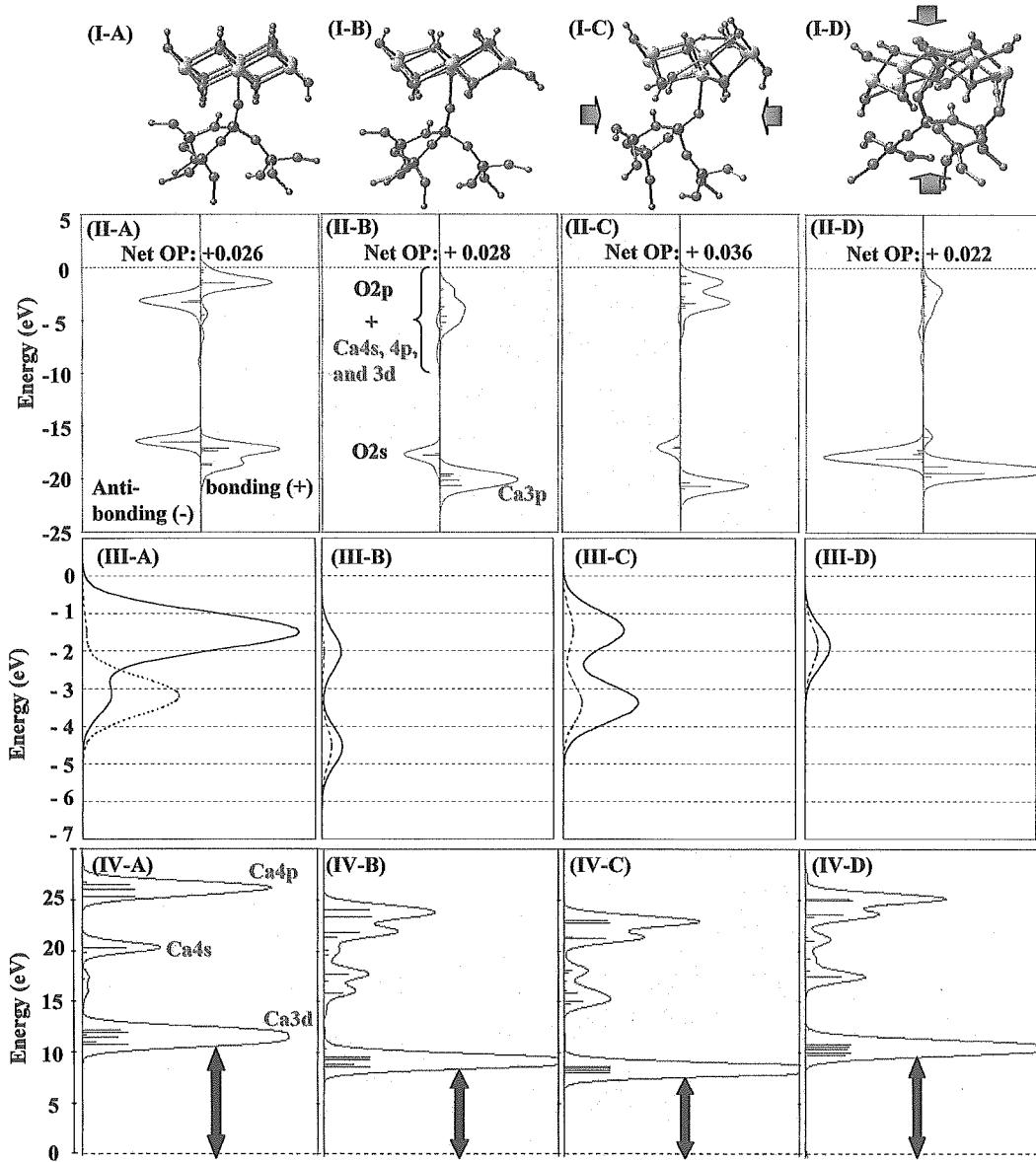
以下といわれている⁵⁾。一方、いくつかの金属結合の降伏圧力はAFM測定から2~3GPa程度と求められている⁶⁾。従って、図6.4の原子配列の変化は、メカノケミカル反応において可能な変化であると考えられる。

温度300K、大気圧の条件で行った分子動力学計算の結果(図6.4-I-B)によると、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 表面に存在するCa原子の、明確な位置の変化は観察されない。ところが、図6.4-I-Cに示すとおり、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面に平行な、10GPaの圧縮応力を印加した状態では、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 表面に存在するCa原子が、明らかに SiO_2 表面側に変位していた。10GPaの圧縮応力を $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面に対し垂直に印加した場合は、多くの原子が変位し、複数のCa-O-Si結合が形成された(図6.4-I-D)。

6. 1. 3. 3 重なり電子密度の解析

図6.4-Iにおいて、CaとOSi間に結合が形成されたかどうかを確認するため、図6.4-IIに、エネルギー準位毎のCa-OSi間重なり電子密度への寄与の大きさを表した図(Overlap Population Diagram)を示す。図6.4-II-B、図6.4-II-C、図6.4-II-Dに、明確な違いが現れた。加圧によってCa原子の変位が生じた図6.4-I-Cにおける、Ca-OSi間の重なり電子密度は、他の状態より明らかに大きな値(0.036)を示した。図6.4-Iの全てのCa-OSi結合は、Ca-O間の距離が数pmしか異なっていないため、この重なり電子密度増大は、結合距離の違いだけでは説明できない。

10GPaの圧縮応力を $\text{Ca}(\text{OH})_2$ - SiO_2 界面に対し垂直

Fig. 6.4 Calculations of electronic structures of Ca-OSi bonding at the $\text{Ca}(\text{OH})_2 / \text{SiO}_2$ interface.

- I: Cluster models of $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-SiO}_2$ interface under compressive stress at the beginning of structural change are happened; approximately 0.5-3 psec from the start of calculation (depends on the starting structure).
- II: Overlap population diagrams in cluster models shown in Figs. (I-A) - (I-D).
- III: Partial density of states for calcium orbitals in occupied molecular orbitals of cluster models shown in Figs. (I-A) - (I-D). Real lines represent $\text{Ca}3d$, $\text{Ca}4s$ and $\text{Ca}4p$, and dashed lines represent $\text{Ca}3s$ and $\text{Ca}3p$.
- IV: Partial density of states for calcium orbitals in unoccupied molecular orbitals of cluster models shown in Figs. (I-A) - (I-D).

に印加した、状態 D における Ca-OSi 間の重なり電子密度は、他の状態よりも明らかに小さい。これは、図 6.4-I-D のように複数の Ca-OSi 結合が形成されているため、Ca-OSi 結合一つあたりの重なり電子密度が小さくなつたと考えられる。実際、図 6.4-I-D ではおよそ 3 つの Ca-OSi 結合が見られ、重なり電子密度はそれぞれ 0.022, 0.021, 0.007 となっている。これらの合計(0.050)は、図 6.4-I-C の値より大きい。しかし、ここでは原子配列の変化に伴う Ca-OSi 結合一つあたりの電子密度

の変化を観察しているため、図 6.4-I-D の結合についてこれ以上議論しない。

6. 1. 3. 4 Ca-OSi 結合に寄与する結合性軌道の内訳

Ca-OSi 結合間の重なり電子密度に最も大きく寄与していたのは $\text{O}2p$ と Ca 軌道の結合性重なり電子密度であった。そこで、 $\text{O}2p$ と Ca 軌道の重なり電子密度について、その内訳を観察した。その結果、結合性の重な

り電子密度が大きいものほど、O_{2p}とCa軌道の重なり電子密度に占める、Ca外殻非占有軌道(Ca3d, Ca4s, Ca4p)の割合が大きいことが分かった。逆に、結合性の重なり電子密度が小さいものは、O_{2p}とCa軌道の重なり電子密度に占めるCa内殻占有軌道(Ca3s, Ca3p)の割合が大きいことが分かった。このことから、重なり電子密度が増大した原因について、次のように考察した。模式図を図6.5に示す。

結晶に圧力が加えられない状態においても、Ca4sをはじめとするCa外殻軌道とO_{2p}は結合性の分子軌道を形成する。しかし、界面原子の置かれる結晶場は非対称となるため、もともとの軌道の直交性が失われ、その結果Ca原子の内殻軌道と外殻軌道の混成が生じ⁷⁾、同時にO_{2p}-Ca外殻の分子軌道にCa3pなどの内殻軌道成分が混入する。このときCa3pは、O_{2p}-Ca外殻の結合性分子軌道に対し、O_{2p}と反結合的な重なりを生じてしまう。Ca3pは、既にO_{2p}と、結合性軌道を形成しているためである。よって、O_{2p}-Ca外殻の結合性分子軌道の、正味の結合的な寄与が減少する。

一方、結晶の歪みが生じると、結晶を構成するCaやOなどのイオンが、歪を持つ前の結晶の格子点からずれて、マーデルングポテンシャルによる安定化の効果が減少する。このため、Ca外殻および内殻のエネルギー準位が低下する。その結果、Ca外殻軌道とO_{2p}軌道のエネルギー差は減少し、逆にCa内殻軌道とO_{2p}軌道のエネルギー差は増大する。これらの結果、分子軌道形成におけるO_{2p}-Ca外殻軌道間の相互作用は増大し、O_{2p}-Ca内殻軌道間の相互作用は減少する。従って、もともと結合的分子軌道を形成していたO_{2p}-Ca外殻

の結合性は増大し、逆に反結合的分子軌道を形成していたO_{2p}-Ca外殻軌道間の反結合性は減少する。これらは共に、Caと酸素原子間の相互作用を増大させる方向の変化である。

以上のことから、加圧に伴う原子の変位によって、より安定なCa-O-Si結合が形成されたと考えられる。このことは、メカノケミカル過程における反応性増大の原因の一つである可能性が高い。また、Ca(OH)₂-SiO₂系に限らず、O_{2p}, O_{2s}の準位より低エネルギーの内殻準位を持つ元素を含む全ての系で、今回の結果と同じような電子状態の変化が生じ、その結果、いくつかの系では本研究の結果と同様、原子の変位によってMe-O-Meが安定化すると考えられる。

6. 1. 4 まとめ

Ca(OH)₂-SiO₂界面で起こるメカノケミカル反応の初期段階について、界面原子の挙動を分子動力学法によって解析した。さらに、原子の配置に伴って変化する電子の挙動を、分子軌道法 Discrete variational (DV)-X_α法によって評価した。その結果、以下の結論が得られた。

I. Ca(OH)₂表面のOH基とSiO₂表面のOH基が接近・接触することによって、H₂O分子の形成および脱水反応が生じる。

II. Ca(OH)₂-SiO₂界面に対して平行方向に、10GPaの圧力を加えると、Ca(OH)₂表面のカルシウム原子が、SiO₂表面の酸素原子側に変位する。これにより、結晶の歪みが生じ、軌道の直交性が部分的に失われ、Ca原子の内殻軌道と外殻軌道の混成が生じる。このため、Ca内殻由来の反結合性軌道に結合的な軌道が混入し、一部が結合的な軌道に変化する。その結果、より安定なCa-O-Si結合が形成される。

6. 2 チタン酸ストロンチウム(111)単結晶表面の熱による表面緩和とMBE法によるチタン酸バリウム薄膜の作製

6. 2. 1 はじめに

ペロブスカイト構造をもつ複合酸化物は、半導体・圧電・焦電・誘電性などの電気的特性を示すことから、電子セラミックスとして広く応用されている。基板の表面状態は薄膜の結晶成長に大きく影響を及ぼし、layer-by-layerで結晶成長させるためには、原子オーダーで制御された基板を使用することが必要である。本研究においては、単結晶基板の表面構造を明らかにするために、SrTiO₃(111)面を各種雰囲気で熱処理して、

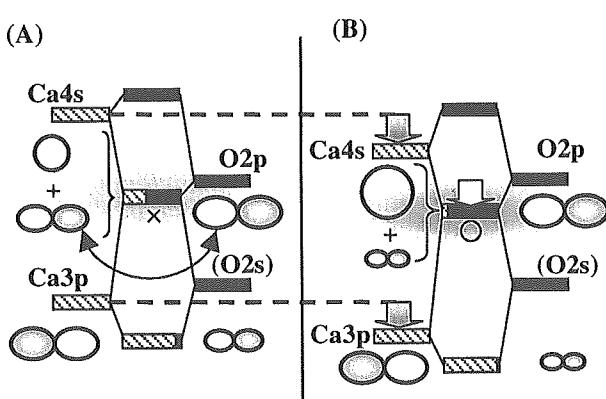


Fig. 6.5 Scheme of molecular orbital change due to the compressive stress at Ca(OH)₂-SiO₂ interface. Only the interactions between only Ca4s, Ca3p, and O_{2p} are shown. (A) Without compressive stress; (B) compressive stress.

ステップ構造および表面状態の変化について調べた。また、薄膜作製において、基板と薄膜とのヘテロ界面での結晶成長の制御が大きな問題となる。ヘテロ界面での結晶成長を原子層単位で制御することが今後、重要度を増すと考えられる。強誘電体である BaTiO_3 薄膜表面については、 BaO 終端面と TiO_2 終端面とで大きく酸素の吸着状態がことなり、表面構造の安定化や結晶成長に大きく関与していると考えられる。そこで本研究においては、基板材料として SrTiO_3 (001) と (111) を選びその上に、MBE 法による BaTiO_3 薄膜を作製し成長過程の比較を行った。

6. 2. 2 実験内容および検討結果

酸素雰囲気中で熱処理した SrTiO_3 (111) 基板表面を AFM にて観察したところ、その表面には幅 150~300 nm で深さ 5 nm 程度の溝が形成されていた。アルゴン雰囲気中で熱処理を行った基板表面には SrTiO_3 (111) 面に由来する正三角形のテラスが集合し比較的単純なステップテラス構造が現れた。(図 6.6 参照) 热処理の時間を増すとともに表面の平坦化は進行したが、アルゴン雰囲気中で熱処理した基板は酸素雰囲気中で熱処理をしたものよりも平坦化が進行していた。さらに、空气中で熱処理を行った基板表面を AFM にて観察したところ、大小さまざまな大きさの正三角形が集合した特異なステップテラス構造が自己組織的に出現した。(図 6.7 参照) AES で組成分析を行ったところ、アルゴン雰囲気で熱処理した基板の表面は還元されていることが分かった。また、XPS による O_{1s} のスペクトル分析の結果、その表面には格子酸素に帰属されるピークの他に高エネルギー側に別のピークが観測された。

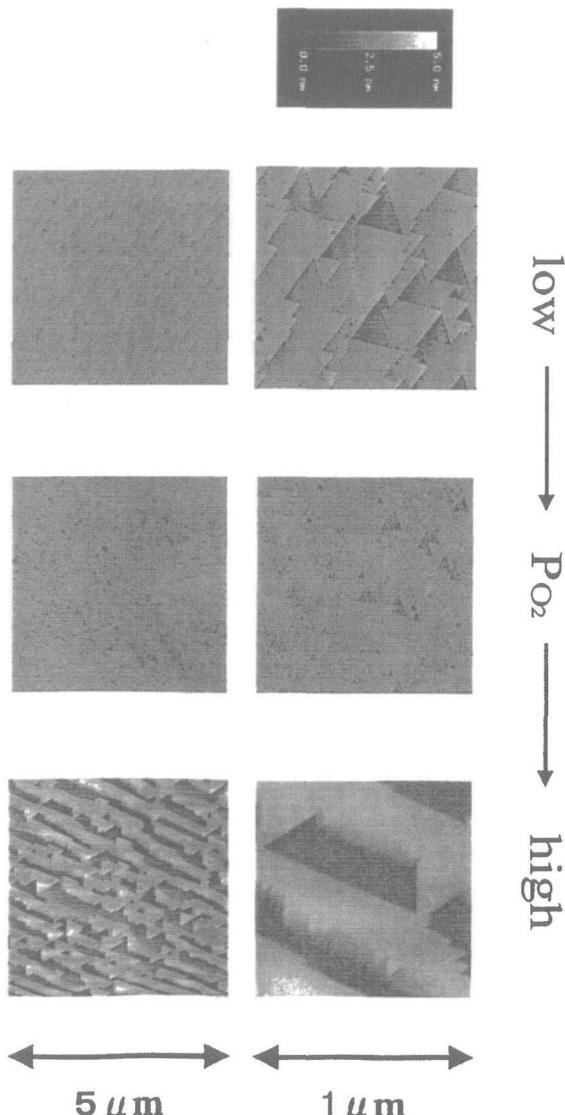


Fig. 6.6 Relationship between the SrTiO_3 surface morphology and oxygen partial pressure.

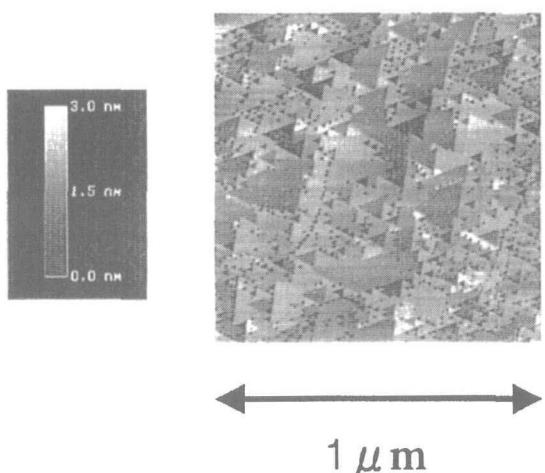


Fig. 6.7 Right: AFM image of SrTiO_3 (111) surface annealed under intermediate oxygen pressure at 1000 for 5h. Left: the Fractal shape called Siepinski's gasket.

CAICISSによるTOFスペクトル分析では、酸素雰囲気で熱処理した基板表面とアルゴン雰囲気で熱処理をした基板を分析した。両試料ともにSr,TiおよびOのピークが観測され、SrO₃面およびTi面の両方の面が混在していることを示している。しかし、SrとTiの強度比を比べてみると、酸素雰囲気で熱処理した基板はSr/Ti=0.56であったが、アルゴン雰囲気で熱処理した基板はSr/Ti=1.25であった。つまり、酸素雰囲気で熱処理した基板はTi面が優勢であり、アルゴン雰囲気で熱処理した基板はSrO₃面とTi面がほぼ同程度の確率で存在していた。

つぎにSrTiO₃単結晶(001)と(111)界面におけるMBE法によるBaTiO₃薄膜の成長過程の違いについて調べた。SrTiO₃(001)面上layer-by-layerで結晶成長したBaTiO₃薄膜のXPSのO_{1s}のスペクトル分析の結果、結合エネルギーが530eV付近のピークは格子の酸素によるもので、533eV付近のピークは吸着酸素によるものであると考えられる。吸着酸素のスペクトルがBaO終端面ではTiO₂終端面より大きいことから、BaO-layerの上に多くの酸素が吸着している構造であると考えられる。また、成膜中のRHEEDの回折強度では、BaO-layerの成長により回折強度が減少し、TiO₂-layerの成長により回折強度が減少している。このことは以下のように考えることができる。BaO-layerの成長時には、結晶成長と同時に表面で酸素の吸着が起こり表面の平坦性が損なわれ、回折強度が減少する。一方、TiO₂-layerの成長時には、TiがBaO-layer上の吸着酸素あるいは酸素ラジカルから照射された酸素と結合してTiO₂-layerが形成される。このとき、Tiには酸素が吸着されにくいためTiO₂-layerの成長とともに表面は原子オーダーで平坦化し、RHEEDの回折強度は増加すると考えられる。Kangら⁸⁾のDV-X α 法によるBaTiO₃表面の電子状態のシミュレーション結果によると、TiO表面では酸素が吸着するとTi-Oの結合が不安定になるため、酸素が吸着されにくいという結果を得ている。このシミュレーション結果はXPSで測定された結果と一致する。

SrTiO₃(111)面上にBaTiO₃成膜時のRHEEDの回折強度変化は前述の場合と異なり、BaO-layerの成長とともに回折強度は増加し、TiO₂-layerの成長時には減少する結果となった。また、成膜中のRHEEDによる観察では、SrTiO₃(111)基板とは異なるストリークパターンを示すようになり、なおかつ回折像はスポット状になったことから、前述のSrTiO₃(001)面上にBaTiO₃薄膜を成長させたときとは結晶成長過程がことなり、

layer-by-layerでエピタキシャル成長するのではなく、3次元的なアイランドが生成するVMモードの結晶成長であることが認められる。

6. 3 SrTiO₃粒界の電子状態に関する研究

6. 3. 1 背景

近年、電子デバイスの小型化・薄層化が著しく進む中、デバイスを構成する各材料の占有体積が小さくなり、材料の界面・粒界がデバイス特性に与える影響がより顕著になっている。薄膜材料の電極との界面が電気特性に大きく影響を与えることがその一例である。また一方で、材料の界面・粒界の特性を積極的に利用したデバイスも実現されている。p-n接合を利用した半導体デバイス、セラミックスの粒界を利用したコンデンサ・バリスタなどがその例である。

このような中、材料の界面・粒界特性を制御することが重要になっており、界面・粒界を原子・電子レベルで研究する試みが盛んになっている。界面・粒界特性を理解するには、原子・電子レベルのミクロな幾何学的、化学的、電子的構造の把握が必要不可欠となる。界面・粒界のミクロな構造を調べる面では、TEM(透過型電子顕微鏡)による原子レベルの観察がなされている^{9,10,11,12)}。しかし現状では、実際の界面原子種や電子状態を正確に把握することはできない。一方、現在の計算機環境の飛躍的な発展により、理論計算からミクロな構造を解析することが行われている^{13,14,15,16,17)}。しかし現状では、実際の作製条件や材料内部に存在する不純物や欠陥などの考慮まで十分に取り入れた計算はできない。界面や粒界のミクロな幾何学的、化学的、電子的構造を把握するには、これら両者をおりませる必要があると考える。

本研究では、コンデンサ・バリスタとして利用されているSrTiO₃セラミックスをターゲットとし、SrTiO₃粒界の電気特性を評価するとともに、理論計算から粒界の電子構造を解析する。材料の界面特性を、よりミクロな面から解析・考察することを目的とする。

6. 3. 2 SrTiO₃粒界の電気特性評価

6. 3. 2. 1 SrTiO₃セラミックスの一粒界モデル

6. 3. 2. 1. 1 セラミックスの粒界

セラミックス中の粒界といっても、一つ一つの粒界の状態・機能は異なるものであるといえる。一般に粒界は、図6.8(a),(b)に示すように粒界を挟む2つの結晶の相対方位関係から、対称粒界と非対称粒界に分けられる。この内、対称粒界は、図6.8(c),(d)に示すよ

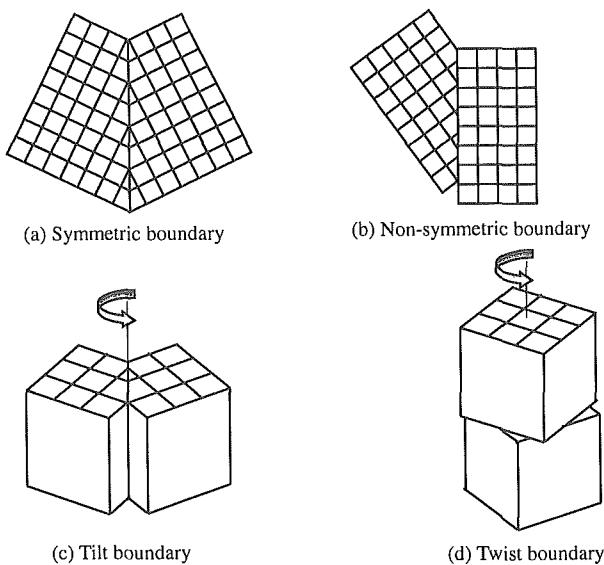


Fig. 6.8 Schematic figure of grain boundaries.

うに傾角粒界(Tilt boundary)とねじれ粒界(Twist boundary)に分けられる。

6. 3. 2. 1. 2 粒界のモデル

粒界を記述するモデルとして最も一般的なものとして CSL(Coincident Site Lattice: 整合格子)モデル^{18,19)}がある。この粒界のモデルは方位の異なる2つの結晶格子を重ねあわせたとき、お互いに共有する原子(Coincident Site)をもつということが大前提となる。2つの結晶があるねじれ角をとったとき、2つの結晶の界面において1つのサイトを共有する原子が存在する場合、その共有原子の集合が粒界を形成し、これを CSL 界面と称する。図6.9に単純立方格子における CSL 界面の例として $\Sigma 5$ 界面(結晶格子5個に対し1つ整合)を示す。

6. 3. 2. 1. 3 一粒界モデル

ここでは、SrTiO₃の一粒界モデルとして、 $\Sigma 5$ 傾角界面をもつバイクリスタルを作製し、界面の電気特性を評価する。

6. 3. 2. 2 SrTiO₃バイクリスタルの作製・評価方法

6. 3. 2. 2. 1 SrTiO₃バイクリスタルの作製

表面が(310)面のSrTiO₃単結晶基板(Nb:0.05w%ドープ)2枚を方位が対称になるよう張りあわせ固定した。これを、界面に垂直な方向に0.6Paの圧力をかけながら1623K、5時間大気中で保持することで、 $\Sigma 5$ 傾角界面をもつバイクリスタルを作製した。

6. 3. 2. 2. 2 界面の電気特性評価

界面の電気特性を測定するため、バイクリスタルの両表面を研磨した後、電極としてIn-Ga合金を塗布した。ここでは、電流-電圧(I-V)特性・容量-電圧(C-V)特性を測定した。

6. 3. 2. 2. 3 バイクリスタルのアニール処理

界面特性がアニール処理により変化するかどうか調査した。電極を研磨除去した後、バイクリスタルをAr雰囲気中アニール処理(1573K, 3時間)し、再測定した。その後、さらに大気中アニール処理(1573K, 2時間)を実施した。

6. 3. 2. 3 電気特性評価結果

6. 3. 2. 3. 1 I-V 特性

作製したバイクリスタルのI-V特性を図6.10に示す。

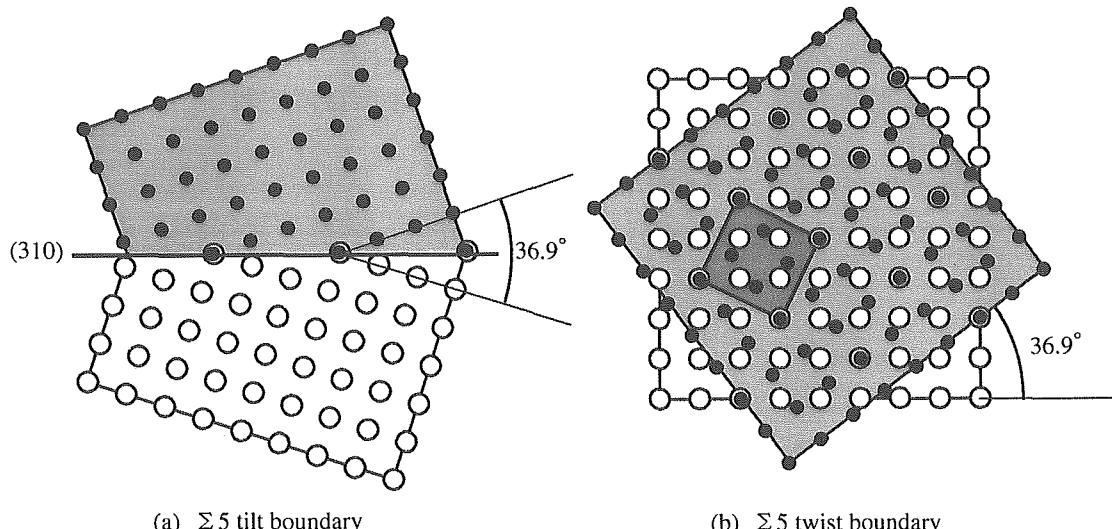
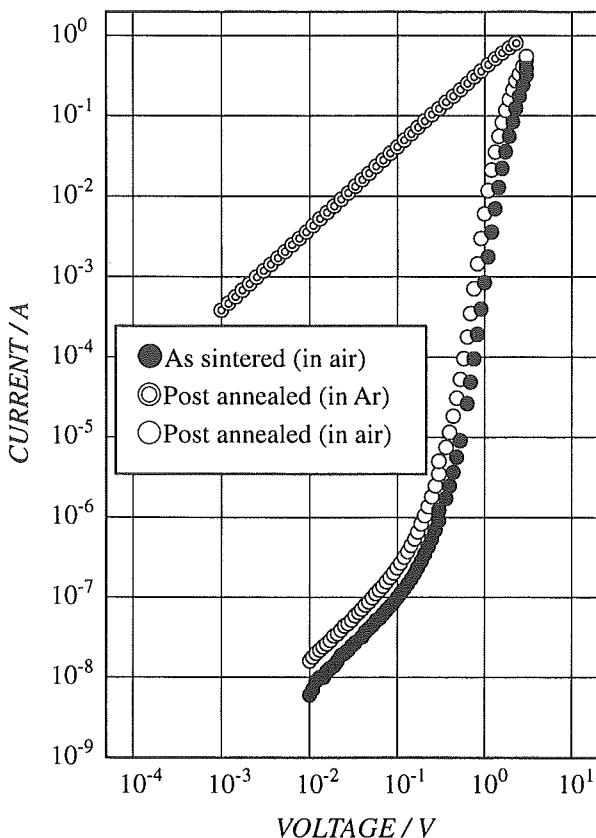


Fig. 6.9 Schematic figure of Coincident Site Lattice.

Fig. 6.10 Current-voltage characteristics of SrTiO_3 bicrystal.

初期試料の I-V 特性は非線形性を示し、非線形係数 α 値は8程度であった。次に Ar 霧囲気中でアニールした後は、I-V 特性は線形性 ($\alpha = 1$) となりオームの法則に従う結果となった。さらに大気中でアニールした後は、I-V 特性は再び $\alpha = 8$ 程度の非線形性を示す結果になった。

6. 3. 2. 3. 2 C-V 特性

作製したバイクリスタルの C-V 特性を図6.11に示す。初期試料の C-V 特性は、電圧印加に伴い始めは容量が若干増加し、その後は大きく減少した。次に Ar 霧囲気中でアニールした後は、抵抗値が低い（図6.10参照）ため容量測定不能であった。大気中でアニールした後は、C-V 特性の傾向は初期試料と同じであった（容量絶対値の差は、界面酸化層厚みに起因すると推測される）。

6. 3. 2. 4 界面の電気特性

I-V 特性、C-V 特性より、大気中で焼成したバイクリスタルの界面には、図6.12に示すような“二重ショットキー障壁”及び“電子を捕獲する界面準位”が存在すると考えられる。これに対し、Ar 霧囲気中で焼成したバイクリスタルの界面には、障壁もトラップ準位

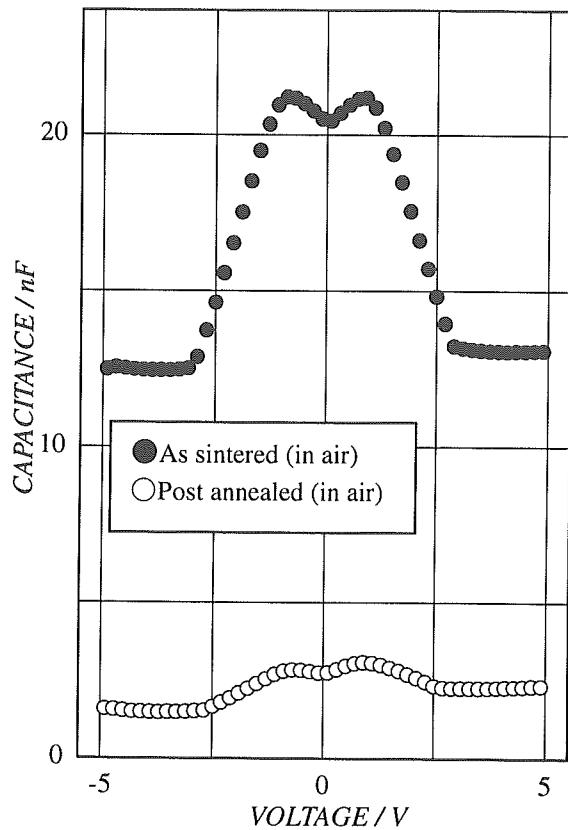
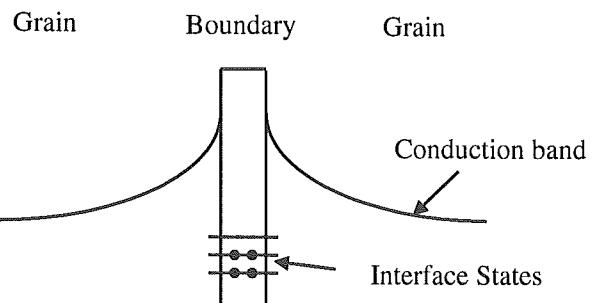
Fig. 6.11 Capacitance-voltage characteristics of SrTiO_3 bicrystal (at 1MHz).

Fig. 6.12 Schematic figure of a double Schottky barrier.

もなく、電子は界面を通してオーミックに流れると考えられる。

6. 3. 3 SrTiO_3 界面の理論計算

6. 3. 3. 1 界面の原子構造計算

6. 3. 3. 1. 1 計算方法

SrTiO_3 バイクリスタル界面の原子構造を理論面から解析するため分子動力学 (MD: Molecular Dynamics) 法を用いた。 SrTiO_3 の $\Sigma 5$ 傾角界面のモデルを形成し、定温・定圧を仮定した分子動力学計算を行った。計算は、完全イオン性 2 体ポテンシャルを用い、各温度における界面原子構造のダイナミカルな変

位を解析して、界面の原子構造を調べた²⁰⁾。

6. 3. 3. 1. 2 計算結果

図6.13にSrTiO₃のΣ5傾角界面構造の計算結果を示す。本結果は、実際のプロセスを考慮して、計算上でも昇温・降温過程を設けて構造緩和させたものである(但し、計算上での最高温度は2900K)。界面では原子が密な構造となり、図6.14に示すSrTiO₃Σ5傾角界面のTEM像⁹⁾とよく一致している。しかし、計算結果より界面近傍を詳しく解析してみると、多数の酸素欠陥が生じていることがわかった。

6. 3. 3. 2 界面の電子構造計算

6. 3. 3. 2. 1 計算方法

SrTiO₃バイクリスタル界面の電子構造を理論面から解析するためDV-X α 法を用いた。分子動力学法で得た安定構造から界面近傍の原子座標を抽出し、Sr・Ti・Oの点電荷場の中にTiO₆クラスターを埋め込んで、界面のエネルギー準位を計算した。計算した界面TiO₆ク

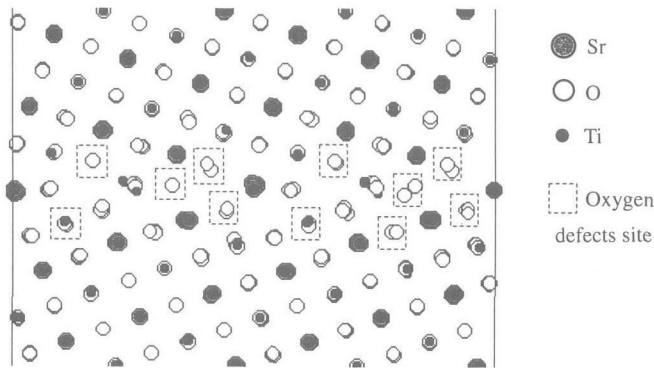


Fig. 6.13 Σ5 tilt boundary of the SrTiO₃ simulated by an MD calculation.

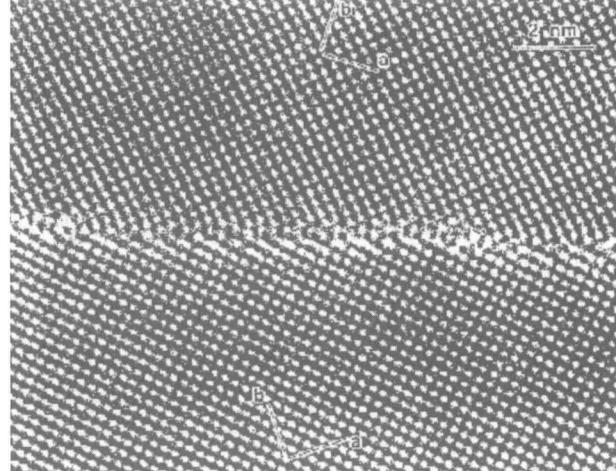


Fig. 6.14 TEM image of Σ5 tilt boundary of the SrTiO₃⁹⁾.

ラスターの形状を図6.15に示す。ここでTiO₆は、TiO₅ピラミッド形状と、それより若干離れた位置に存在するOより構成されている。

6. 3. 3. 2. 2 計算結果

界面TiO₆クラスターの計算結果を図6.16に示す。(a)は離れた位置に存在する酸素を、通常のO²⁻とした時の結果、(b)は同酸素をO⁰とした時の結果を示している。

(a)ではTi-3d軌道を主成分とする伝導帯とピラミッド配位O-2p軌道を主成分とする価電子帯で形成されるバンド中に、離れた位置に存在するO-2p軌道を主成分とする界面準位が形成されている。(b)では、界面準位は存在せず、価電子帯近傍に空準位(アクセプター)が存在する結果となった。尚、図示はしていないが、離れた位置に存在する酸素をO¹⁻として計算した場合も価電子帯近傍に空順位(アクセプター)が存在する結果となった。

6. 3. 3. 3 界面のエネルギー準位

SrTiO₃Σ5傾角界面において、TiO₅ピラミッド形状

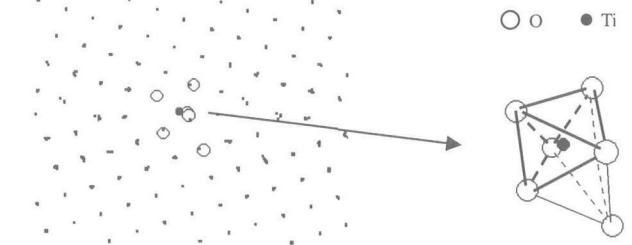


Fig. 6.15 TiO₆ Cluster in Σ5 tilt boundary of the SrTiO₃ simulated by an MD calculation.

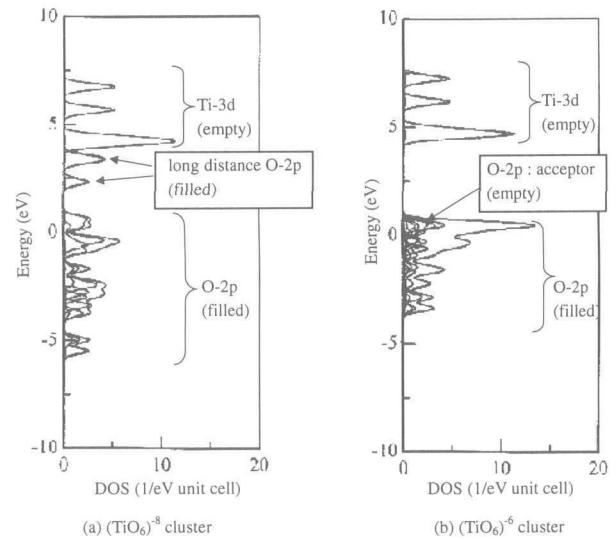


Fig. 6.16 Density of states calculated for the TiO₆ cluster.

に酸素(O^0)が吸着したと仮定する。吸着の瞬間は、界面近傍のエネルギー準位は図6.17(a)に示すようになる。しかし、吸着直後に結晶粒側のドナー準位から電子が流れ込み、吸着酸素は O^{2-} 、または O^{1-} の状態となり、界面近傍のエネルギー準位は図6.18(b)に示すようになると考えられる。これが、“二重ショットキー障壁”及び“電子を捕獲する界面準位”をつくるメカニズムと推察する。

6. 3. 4 まとめ

$\Sigma 5$ 傾角界面をもつ $SrTiO_3$ バイクリスタルを作製し、界面の電気特性を評価した。 $\Sigma 5$ 傾角界面の I-V 特性

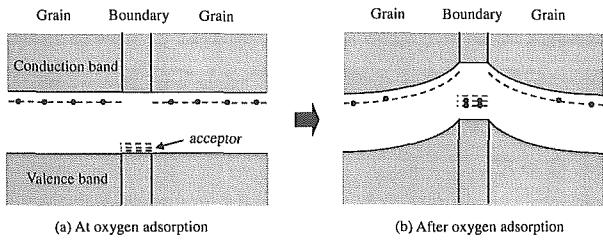


Fig. 6.17 Schematic mechanism of formation of a double Schottky barrier.

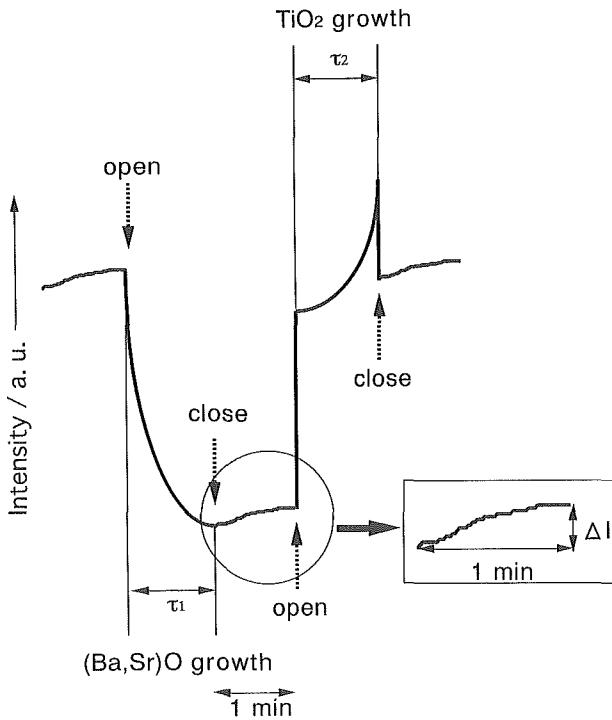


Fig. 6.18 A schematic RHEED oscillation corresponding to a unit cell growth of $(Ba, Sr)TiO_3$ thin film. After opening the shutter, the intensity decreases for $(Ba, Sr)O$ and increases for TiO_2 by a logarithmic function of time. Dotted arrows indicate close/open of respective shutter. The inlet indicates surface reconstruction after closing the shutter.

は、大気で焼成されることにより非線形性を示すことがわかった。この起源について理論計算から電子構造を解析した。非線形性の起源は、大気焼成により $\Sigma 5$ 傾角界面に酸素が吸着し、界面に“二重ショットキー障壁”及び“電子を捕獲する界面準位”を形成するため（図6.17参照）と推察した。界面準位の化学種は、まだ明確に同定できていないが、 $TiO_5 +$ 吸着酸素(O)であることが強く示唆された。

6. 4 分子線エピタキシー法による $(Ba, Sr)TiO_3$ 固溶体薄膜の生成に関する研究

6. 4. 1 目的

本研究では、 $(Ba, Sr)TiO_3$ (BST) の系において、ヘテロエピタキシャル成長の機構、ヘテロ界面の格子歪みと緩和機構、原子レベルの表面構造についての解説を試みる。

6. 4. 2 内容および検討結果

$(Ba, Sr)TiO_3$ (BST) 薄膜は A サイトの置換率によって構造や誘電特性を制御することができる。本研究では、分子線エピタキシー(MBE)法によって Ba と Sr を同時に供給して成長させた BST 薄膜の成長機構、ヘテロ界面の格子歪みと緩和機構、原子レベルの表面構造に関して検討した。

実験には 1 つの Knudsen セル (K セル)、酸素ラジカル源、反射高エネルギー電子線回折 (RHEED) を備え、高真真空ラインでオージェ電子分光法 (AES)・X 線電子分光法 (XPS) の装置とつながった複合化 MBE 装置を用いた^{21,22)}。基板として、酸素中、1000°Cで 1 時間アーニール処理した Nb ドープ (0.5wt%) の $SrTiO_3$ (001) を用いた。BST 薄膜は、基板を $\sim 10^{-8}$ Pa の MBE チャンバー内に導入し、酸素ラジカル照射下で 800°C・1 時間熱処理の後、 $(Ba, Sr)O$ 単原子層と TiO_2 単原子層を 20 回 (膜厚 8 nm) 交互に積層した。金属の供給は図6.18に示すように RHEED の強度振動の時間変化をその場観察しながら K セルのシャッターを開閉して行った。 $(Ba, Sr)O$ 単原子層は Ba と Sr を同時供給して作製した¹⁾。薄膜の成長過程は RHEED、原子間力顕微鏡 (AFM)、同軸型直衝突イオン散乱分光法 (CAICISS)²³⁾ から総合的に評価した。CAICISS の方位角依存プロファイルは、プローブ (2keV He⁺) を (001) 面に対して 35.3°で入射し、方位角を 3°おきに 360°回転させながら散乱粒子が試料から検出器に到達する時間 (Time-of-Flight: TOF) を測定して得た。尚、He⁺では Ba と Sr の TOF は分離できなかった。

薄膜表面を AFM 観察すると、多くのアイランドが観察され、BST 薄膜がアイランド成長したことが示唆された。図6.19に RHEED 強度振動の時間変化から求めた $(\text{Ba}, \text{Sr})\text{O}$, TiO_2 単原子層の一原子層の成長に要する時間 τ の Arrhenius プロットを示す。各単原子層とも 700°C 以下で直線性を示す。基板温度 800°C では薄膜組成中の Sr の割合が大きく減少することが AES の結果からわかったので、800°C のデータが直線から外れた理由は、Sr が成長表面上から再蒸発する割合が大きくなるためと推察される。図6.19の直線部分の傾きから得られた見かけの活性化エネルギー E_a は $(\text{Ba}, \text{Sr})\text{O}$ 単原子層で 0.31eV, TiO_2 単原子層で 0.33eV であった。RHEED から求めた活性化エネルギーは表面への吸着エネルギーと表面拡散エネルギーの差であると考え、成長表面上の原子の平均拡散距離 $\lambda_s^{(24)}$ を算出すると、両原子層とも ~ 3 nm 以下となった。薄膜作製前の基板表面には原子レベルで平坦なステップ・テラス構造が存在し、テラスの長さが 100~150nm であったことを考えると、算出した平均拡散距離 λ_s は非常に小さく、BST 薄膜は二次元の層状成長をしないと推察される。これは AFM によるアイランド成長の観察事実と対応する。

さらに、酸素アニール処理基板、Sr/Ba 比が約 2 (BST-480: $\text{Ba}_{0.304}\text{Sr}_{0.700}\text{TiO}_{3.50}$) あるいは 1 (BST-520: $\text{Ba}_{0.514}\text{Sr}_{0.425}\text{TiO}_{3.56}$) の 2 種類の薄膜について CAICISS の測定を行った。図6.20に CAICISS の方位角依存プロファイル(チャネリング情報)を示す。いずれのプロファイルもほぼ 4 回対称でありペロブスカイト構造を反映し

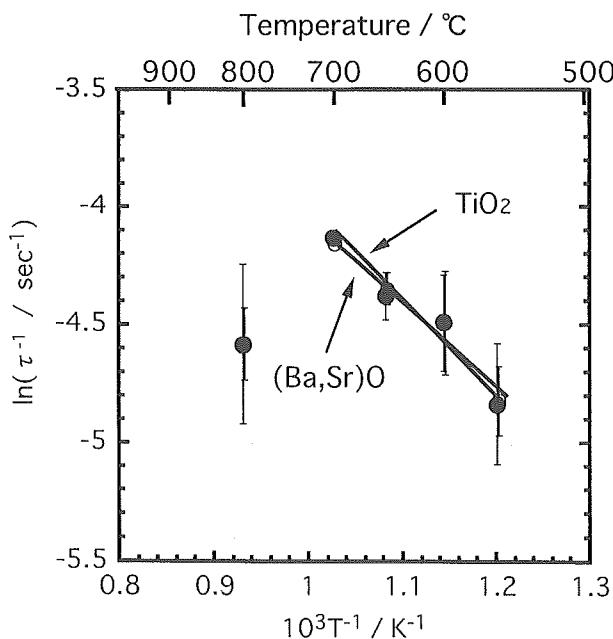


Fig. 6.19 Arrhenius plots of the growth time for (a) $(\text{Ba}, \text{Sr})\text{O}$ and (b) TiO_2 monolayers.

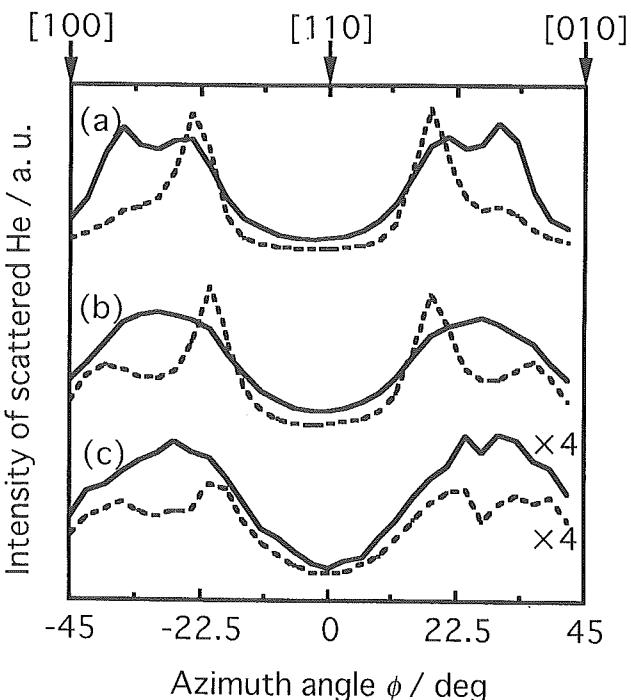


Fig. 6.20 Azimuth angle dependence of $(\text{Sr} + \text{Ba})$ and Ti signal intensities in CAICISS spectra for (a) O_2^- -annealed SrTiO_3 (001) substrate, (b) BST-480 and (c) BST-520.

ている。BST-520(c) は基板(a)と BST-480(b)に比較してディップ構造が浅く、ピークがシャープではない。XRD の結果から BST 薄膜はエピタキシャル成長しており、Ba 量が増加によって単位格子の c 軸が伸長していることが確認できた。Ba 量が増加によって格子歪みが大きくなっているが、格子の並びが乱され、最表面の原子配列も変化したと推察される。しかし、結晶性のよい BST-480(b) の角度依存性は基板(a)と微妙に異なっている。 $\langle 111 \rangle$ 入射の TOF スペクトルから、基板の最表面はほとんど TiO_2 面で終端されているのに対して、BST 薄膜の最表面は $(\text{Ba}, \text{Sr})\text{O}$ 面と TiO_2 面が混在していることがわかった。これは、BST 薄膜の成長機構がアイランド成長したことに対応している。

6.5 酸化亜鉛の表面に関する研究

6.5.1 酸化亜鉛単結晶の表面形態

6.5.1.1 緒言

ZnO 単結晶はウルツ鉱型の結晶であり、その表面は Zn で終端した (0001) 表面と O で終端した (0001) 表面をもつ。この結晶は極性結晶であり、その二つの表面は、構造や化学的性質が異なっている²⁵⁾。本研究では、表面形態について atomic force microscopy (AFM) によりしらべた²⁶⁾。

6. 5. 1. 2 実験方法

$10 \times 10 \times 1 \text{ mm}^3$ の (0001), (000 $\bar{1}$) 面の酸化亜鉛单結晶を用いた。超音波洗浄機で 20 分間アセトン及びエタノール中で洗浄したあと, 0.066M-HNO₃, 0.2M-HCl 水溶液によるエッティングまたは酸素雰囲気, 真空中で 800°C, 950°C で熱処理した。HNO₃ や HCl 水溶液によるエッティングの時間は, それぞれ 1 min, 5 sec, また酸素雰囲気および真空中での熱処理時間は, 3 hour という条件で行った。それらの処理で得られた試料について, 表面形状を AFM (Nanoscope III-a, Digital Instruments Ltd., USA) によって観察した。測定はコンタクトモードを用いて大気中で行った。

6. 5. 1. 3 結果, 考察

研磨後の ZnO 单結晶は, AFM による測定の結果, Zn で終端している (0001) 表面, O で終端している (000 $\bar{1}$) 表面ともに約 ± 1 nm の表面荒さが見られ, 原子制御されていなかった。この試料に対して, まず HNO₃, HCl 水溶液によるエッティングをおこなった。AFM の測定で, (0001) 表面にはステップ・テラス構造が見られた。しかし, (000 $\bar{1}$) 表面は ± 10² nm 程度の高さで表面が荒れていた。真空中 800°C でアニールした場合には, 水溶液によるエッティングと同様, (0001) 表面にはステップ・テラス構造が見られたが, (000 $\bar{1}$) 表面は原子制御されずに荒れていた。つぎに酸素雰囲気でアニールをおこなった。酸素雰囲気 800°C でアニールした表面は, (0001), (000 $\bar{1}$) とともにステップ・テラス構造が見られた。さらに処理温度を上げて 950°C で処理した場合, よりクリアにステップテラスが現れた。このときの AFM 像を図 6.21 に示す。このステップの高さは, (0001), (000 $\bar{1}$) 両面共に約 0.26 nm であった。この高さは, ZnO の格子定数 $c_0 = 0.52 \text{ nm}$ の 1/2 の長さに相当する。ここでウルツ鉱型の結晶構造を考えると, このステップを挟んだ二つのテラスは, 同種の原子で終端しており, またそれらの原子配置はちょうど c 軸に対して 60° 回転した位置関係になっているということがわかる。

6. 5. 2 酸化亜鉛单結晶極性表面の表面緩和

6. 5. 2. 1 緒言

ZnO は, 格子定数が $a_0 = 0.325 \text{ nm}$, $c_0 = 0.520 \text{ nm}$ のウルツ鉱型結晶であり, Zn で終端した (0001) 表面と O で終端した (000 $\bar{1}$) をもつ。近年, LED やレーザー材料として ZnO 薄膜が盛んに研究されている^{27,28)}。これらの高品質化, 長寿命にはバッファーレイヤーの探索や成長様式の研究が必要であるが, その中で表面・界面

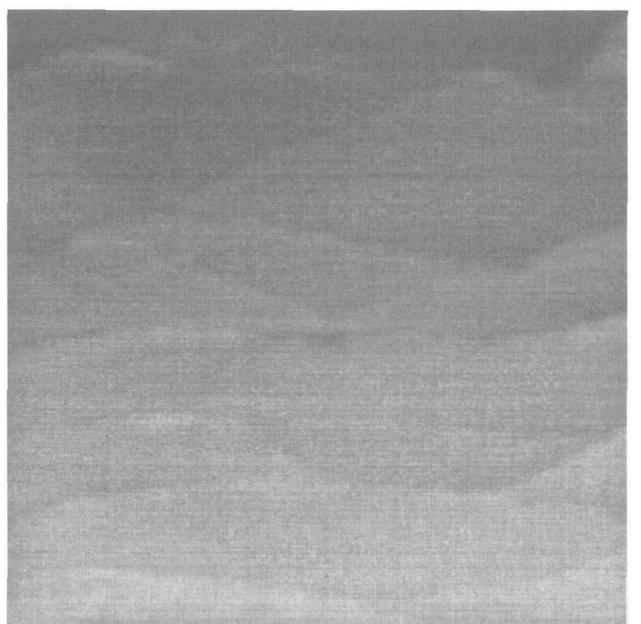
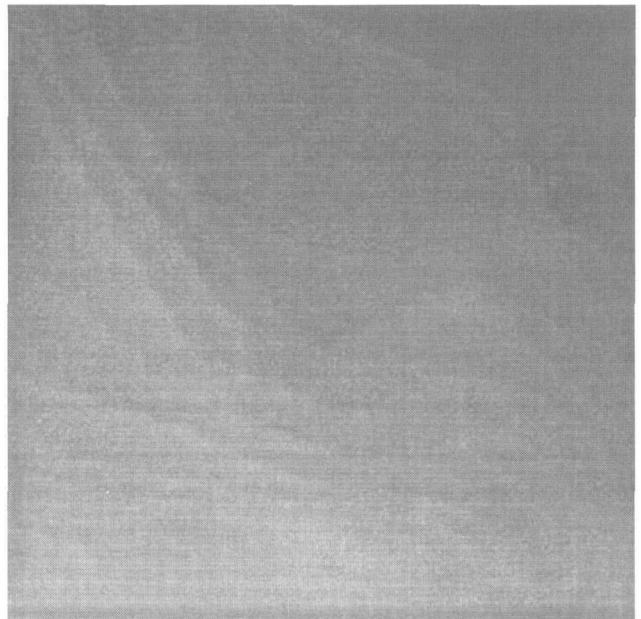


Fig. 6.21 AFM images of ZnO surfaces annealed in O₂ gas at 950°C. (a): (0001) and (b): (000 $\bar{1}$) surfaces.

の研究は非常に重要である。ウルツ鉱型の結晶である ZnO は極性結晶であり, Zn で終端した表面 (+c) と O で終端した表面 (-c) をもつ。表面の原子はバルク内部と周囲の環境が異なるために, 本来の位置から変位している (表面緩和)。本研究では ZnO 单結晶の Zn 終端表面 (+c) の格子緩和について, 反射高速電子回折法 (RHEED) および同軸型直衝突イオン散乱分光法 (CAICISS) を用いて検討した²⁹⁾。

また, この表面緩和の原理を分子軌道法により検討した³⁰⁾。

6. 5. 2. 2 実験方法

ZnO 単結晶表面を原子オーダーで制御するため、超音波洗浄機で20分間アセトン及びエタノール中で洗浄したあと、酸素雰囲気 1 atm, 950°C で熱処理した。その試料の(+c)表面を RHEED および CAICISS により測定し、表面構造を解析した。CAICISS は、イオン源と time of flight (TOF) エネルギーアナライザーをもち、TOF アナライザーはイオン源と同軸上に位置している。試料は表面の法線およびそれに直交する軸の周りに回転することができるマニピュレーター上のフォルダーに取り付けられ、コンピューターにより自動制御される。入射される He^+ イオンビームの加速電圧は 2keV で、ビームカレントは約 30nA という条件で測定を行った。CAICISS の測定結果をコンピュータシミュレーションと比較することにより、表面での格子緩和を決定した。測定直前には酸素ラジカル照射中で熱処理し、表面のコンタミ層を取り除いた。

電子状態計算には DV-X α 法を用いた。最表面 Zn 層と第 2 層目 O 層の距離をバルクの位置から外側に Δd 表面緩和させて計算した

6. 5. 2. 3 結果、考察

酸素ラジカルの照射によって、CAICISS の TOF スペクトルでの Zn, O ピークの増加、C ピークの消失が見られ、表面が清浄化されたことを確認した。ZnO 単結晶 (+c) 表面の REHED パターンを図6.22に示す。 (1×1) 構造のパターンが見られた。入射角 [1010] 方向で CAICISS の測定を行い、Zn ピークの polar 角依存性を観測した。その結果、主に 3 つのピークが現れた。それらの中で、最表面の Zn 原子を含むフォーカシング効果により現れたピークのみが、コンピュータ

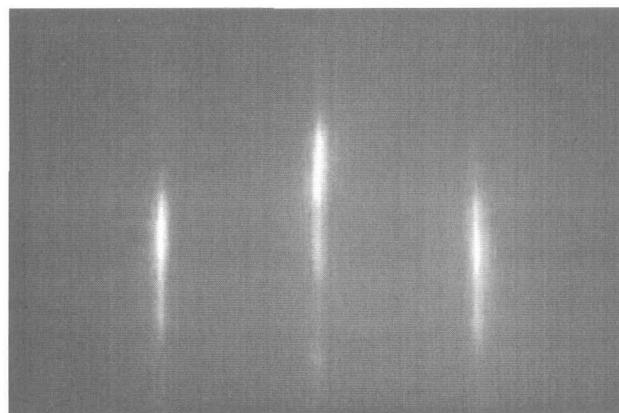


Fig. 6.22 A RHEED pattern of ZnO (0001) surface after annealing at 900°C with the irradiation of Oxygen radicals. Incident electron beam was parallel to the [1 $\bar{1}$ 00] direction of ZnO single crystal.

シミュレーションより高角側に約 2° シフトしていた。その結果を図6.23に示す。これにより、最表面の Zn 原子が結晶の外側に 0.035nm 格子緩和していることがわかった。

また、分子軌道計算では、最表面 Zn 層と第 2 層目 O 層の距離をバルクの位置から外側に Δd 表面緩和させて計算したところ、約 $\Delta d = 0.04\text{nm}$ で最表面と 2 層目の間の Bond Overlap population (BOP) が極大となった(図6.24)。これは、反結合性が表面緩和なしでは強いが、表面緩和させることによって弱まることによる。

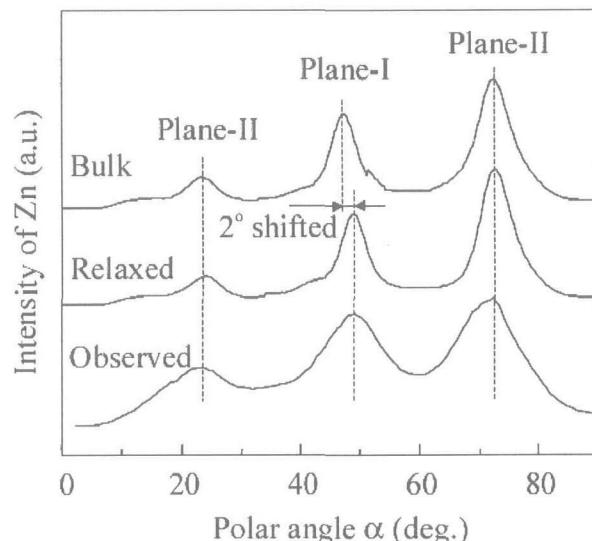


Fig. 6.23 The polar angle dependence of the Zn signal intensities along [11 $\bar{2}$ 0] direction for (0001) surface. The bottom curve is observed data, and upper and middle curves are simulation results for bulk terminated and relaxed surfaces, respectively.

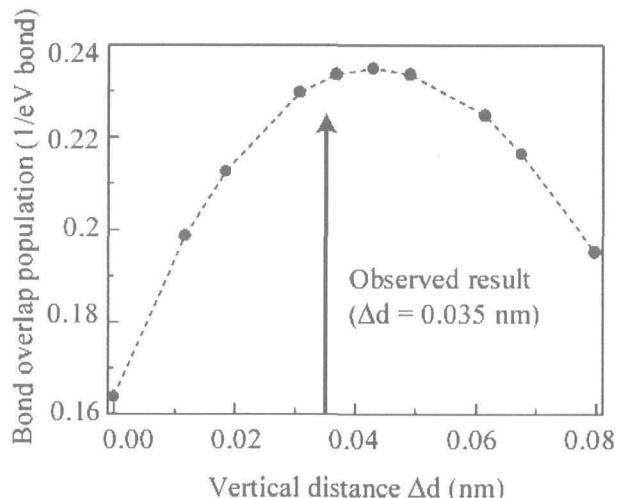


Fig. 6.24 Bond overlap population between uppermost Zn layer and second O layer at the ZnO (0001) surface as a function of the vertical distance elongation (Δd)。

6.5.3 酸化亜鉛単結晶表面の窒素処理効果

6.5.3.1 緒言

酸化亜鉛を発光素子、スイッチング素子として利用するためには、高品質の p 型酸化亜鉛の作成が望まれる。最近、アクセプターとして期待されている窒素をドープした酸化亜鉛薄膜で p 型伝導性が確認された^{31,32,33)}。しかし、再現性よく p 型酸化亜鉛を得るのは難しいとされている。そのため、酸化亜鉛表面・結晶内での窒素の状態分析と状態制御が重要であると考えられる。本研究では酸化亜鉛単結晶(0001), (000 $\bar{1}$)表面に対して窒素ラジカル処理を行い、表面近傍での窒素の挙動を調べた。

6.5.3.2 実験方法

酸化亜鉛単結晶の (0001), (000 $\bar{1}$) 表面に対して 3 段階の処理を施した。最初に ECR プラズマ表面窒化処理(基板温度 150°C)を施し、その後、真空中(10⁻⁹ torr)での熱処理(~800°C)，最後に酸素ラジカル照射処理(基板温度 200°C)を行った。得られた試料は RHEED, XPS, AES で評価した。

6.5.3.3 結果、考察

図6.25に真空中800°Cでの熱処理後の窒素1s領域のXPSスペクトルを示す。ピーク分離により(0001)表面では少なくとも4本、(000 $\bar{1}$)表面では少なくとも3本のN1sピークが確認された。それらは、窒素の有効電

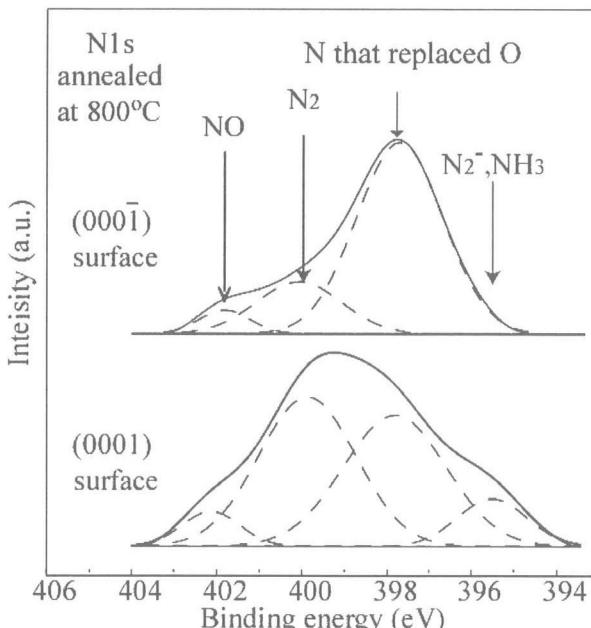


Fig. 6.25 XPS spectra of N1s for (a): Zn terminated (0001) surface, (b): O terminated (000 $\bar{1}$) surface after annealed at 800°C in vacuum.

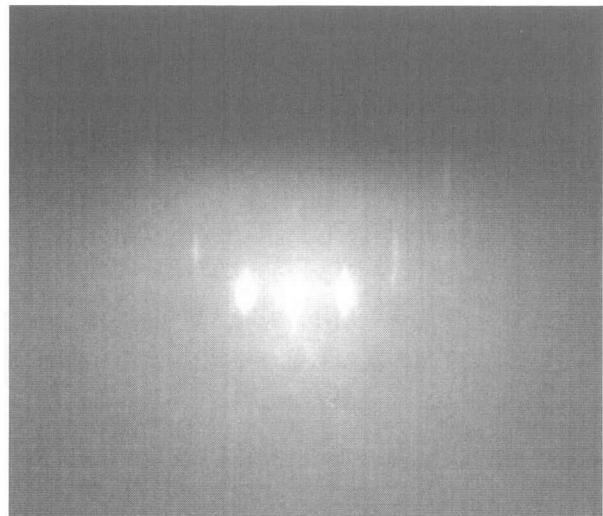


Fig. 6.26 RHEED pattern of 3×1 structure for ZnO (0001) surface after the irradiation of nitrogen radicals.

荷と XPS での結合エネルギーの関係から図6.25に示すような化学種に関係づけられた。特に、(0001)表面は、NH₃あるいは、N²⁻と同定されたピークが顕著に見られた

図6.26に窒化処理後の酸化亜鉛(000 $\bar{1}$)表面の RHEED パターンを示す。窒化処理により、3×1 の表面超構造が観察された。この試料に酸素ラジカル処理を施すことによって超構造は消失し、1×1 構造に戻った。3×1 表面超構造は、表面での欠陥配列の秩序化によると考えられる。XPS 測定から、Zn-N 結合の存在が示唆されており、窒素による酸素サイトの置換または、窒化処理によってできた酸素欠陥が表面で規則配列してこの3×1 構造が形成されたと考えられる。

6.6 短波長X線を用いた結晶構造・電子密度分布解析

6.6.1 はじめに

物質中の化学結合の性質を理解するための手段の一つとして、正確な X 線回折強度測定による実験・解析が挙げられる。この方法により、原子座標、熱振動による平衡位置からの原子変位量、さらには物質中の電子密度分布などを導出することが可能である。X 線回折実験において、これらの構造パラメータをより正確に得るために一つの方法としては、短波長 X 線を用いた実験を挙げることができる。例えば、通常用いられている X 線を線源に用いた場合と比べると、重元素試料を含む試料による X 線の吸収効果の減少、低次の反射における回折強度の減衰の原因となる消衰効果の軽減、回折強度の空間測定領域が広くなることによる空

間分解能の向上などを挙げることができる。これらの点を踏まえ、短波長X線を用いた単結晶によるX線結晶構造解析および電子密度分布解析を行いそれらの解析結果を検討した。測定には重原子と軽原子により構成される希土類六硼化物 RB_6 (R =Rare-Earth) 単結晶を試料として用いた。これらの物質は希土類が異なることにより多様な物理的性質を示すことが知られており、現在まで理論的・実験的両面から多くの研究が行われている^{34,35,36,37,38,39,40,41)}。中でも LaB_6 は高効率熱電子放射物質として実用化されている^{42,43)}。希土類六硼化物の結晶構造は $CsCl$ 型の立方晶で、空間群は $Pm-3m$ である。6個の硼素原子共有結合により結合された正八面体を形成して、立方の対称性を示す硼素格子を形成する。この正八面体格子間に希土類原子が占める。原子番号の増大に伴って希土類イオンのイオン半径が減少するのに対して、希土類六硼化物の格子定数はイオン半径に伴った格子収縮を伴わない。また希土類六硼化物は多様な結合一共有性、イオン性、金属性一を持っていることから、結合電子の空間分布が複雑な結晶であると考えられる。

そこで、本研究では重元素を含む物質として希土類六硼化物に着目し、短波長X線を用いた回折実験による短波長X線を用いたX線実験の有効性を検討し、希土類六硼化物の結晶構造解析及びマキシマムエントロピー法を用いた電子密度分布解析の結果について報告する。

6. 6. 2 実験・解析

X線回折法による積分強度の測定は、無機材質研究所内に設置された超短波長フォトン電子密度分布解析システムを用いた。本装置の最大出力は2kWである。X線発生部分は固定対陰極開放型管球であり線源の安定性は非常によい。実験装置には四軸回折計(Model 512 Huber)及び、検出効率およびエネルギー分解能が高い半導体検出器(SSD, pure-Ge, Canberra)を用いた。さらに、Canberra社製の主増幅器(Main Amp.)及び波高分析器(Pulse Height Analyser), NAIG社製の多重波高分析器(Multi Channel Analyser)を測定に使用した。X線発生装置はX線のターゲットとしてタンクステン($WK\alpha_1$, $\lambda=0.209\text{Å}$)を使用しており、従来の実験室系におけるX線線源では発生が困難な短波長領域のX線を線源とした⁴⁴⁾。

RB_6 ($R=Y, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd$) 単結晶は、無機材質研究所内において溶媒移動型浮遊帶溶融法(FZ法)により合成された試料を用いた^{45,46)}。円柱状の試料

をダイヤモンドカッターにより切り出し、 $1.5\text{mm} \times 1.5\text{mm} \times 1.5\text{mm}$ 程度の立方状に形成した。これらの試料を新しく考案した FRITSCH 社製の遊星型微粒粉碎機と、めのう製ボールミルを用いた方法により、直徑 $2r=0.56\text{mm}$ 程度の球形に加工した⁴⁷⁾。球形試料をX線回折実験に用いることにより、試料によるX線の吸収補正が容易になり、また等価反射の一一致度の向上により実験精度が高くなるものと考えられる。

これらの測定用の試料に対して、重元素の $K\alpha$ 線による蛍光X線分析を行った。 RB_6 ($R=La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd$) 単結晶による蛍光X線分析の結果を図6.27に示す。 $K\alpha$ 線による重元素の定性分析は本装置により十分可能であることを示している⁴⁸⁾。この結果から測定に用いた試料は、重元素の不純物が存在しないことがわかる。これらの試料を用いて結晶構造解析のためのX線積分強度データ測定を行った。

短波長X線利用の有効性を論じるために測定した LaB_6 単結晶のデータについては、逆空間における測定範囲を $8/48, \sin\theta/\lambda < 2.0$ までとした⁴⁹⁾。また、 RB_6 ($R=Y, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd$) の構造パラメータを比較するために測定したデータの実験条件は全て同一条件となるように、測定範囲を逆空間全球、 $\sin\theta/\lambda < 1.3$ までとした。試料測定温度は室温($T=295\text{K}$)で行った⁵⁰⁾。

得られたX線回折強度を用いた希土類六硼化物のX線結晶構造解析は、全てコンピュータプログラム Xtal Ver.3.4⁵¹⁾を用いて行い、結晶構造パラメータを決定した。解析においては測定した反射全てを用いた。測定した反射強度を独立反射のみに平均化し、ローレンツ

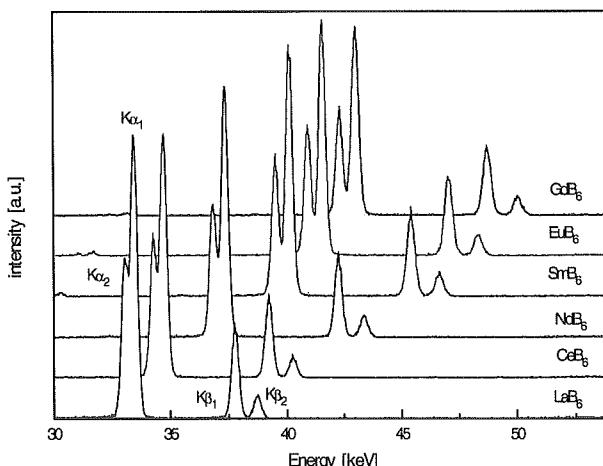


Fig. 6.27 X-ray fluorescence spectra from single crystals of rare-earth hexaborides RB_6 ($R=La, Ce, Nd, Sm, Eu$ and Gd) taken at 150 kV tube voltage and 12 mA tube current.

ポーラリゼーション補正を行った。その後、吸収補正を行い、スケール因子、温度因子、等方性消衰因子を決定し、結晶構造因子および構造パラメータを導出した。 RB_6 におけるR原子、B原子の位置対称性はそれぞれm-3m, 4mmである。R原子の平均二乗振幅は等方性であり、 U_{iso} と記述する。一方、硼素の平均二乗振幅は非等方性であり、 U_{11} 、 $U_{22=33}$ と記述する。構造パラメータの精密化では、希土類は R^{3+} イオン、硼素については中性原子の散乱因子をそれぞれ用いた⁵²⁾。構造解析結果の例として、表6.1に LaB_6 の $\sin\theta/\lambda < 2.0$ までのデータを用いて解析した精密化後の結果を示す。

室温における LaB_6 の電子密度分布に関する詳細な検討をフーリエ合成法および、近年新しい電子密度分布解析の手法として知られているマキシマムエントロピー法(Maximum Entropy Method)を用いて解析した^{53,54,55)}。MEMの計算はコンピュータプログラム MEED を用いて実行した⁵⁶⁾。本解析では、単位胞を128-128-128 Pixelに分割して、総電子数を F(000)とした(LaB_6 : 87[e])。この解析において、MEMにおける信頼度因子 R_{MEM} は = 0.7% であった。

さらに、MEMにより得られた結果と比較するために、 LaB_6 の電子密度分布を第一原理計算である FLAPW 法により試みた。計算にはコンピュータプログラム WIEN97を用いて行った⁵⁷⁾。計算は相対論的効果を取り入れて行った。La, B の MT 半径はそれぞれ 2.0 Å, 1.5 Å とした。格子定数及び硼素の原子位置は、本研究の実験により得られた室温での LaB_6 の結晶構造の値を用いた($a = 4.156 \text{ Å}$, $Z_B = 0.19950$)。この計算から得られた結果と、実験により得られた LaB_6 の電子密度分布とを比較した。

Table 6.1 Structure refinement data for LaB_6 single crystal.

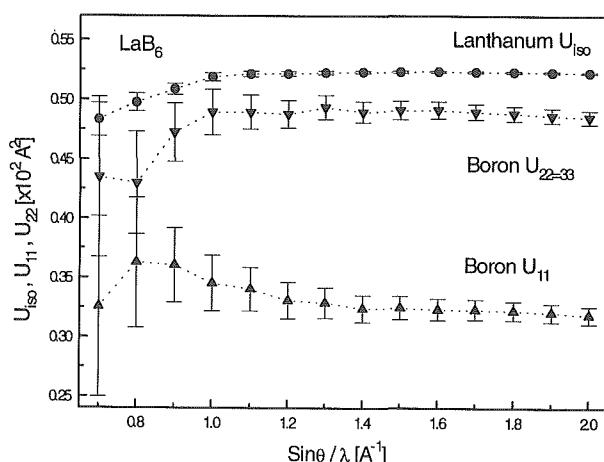
Space group	Pm-3m (cubic symmetry)
Lattice constant [Å]	4.1560(3)
Temperature [K]	295
Number of reflections	543
Atom coordinates	La(0,0,0) B(x,0,0) ($x = 0.19955(7)$)
U_{iso} [\AA^2] for La atom	0.005225(6)
U_{11} [\AA^2] for B atom	0.00318(7)
$U_{22=33}$ [\AA^2] for B atom	0.00485(6)
Occupancy of B atoms	0.988(3)
R-factor [%]	0.8
wR-factor [%]	0.6
Goodness of fit S	1.26(4)
Extinction y_{\min}	0.81 ($y_{(110)}$)

6. 6. 3 結果・考察

6. 6. 3. 1 結晶構造解析

結晶構造パラメータである原子の平均二乗振幅 $\text{La}-U_{\text{iso}}$, $\text{B}-U_{11}$, $U_{22=33}$ の値における $\sin\theta/\lambda$ 依存性を図 6.28 に示す。誤差の大きさは反射数の増加に従って小さくなる。このような傾向は、硼素位置 X, 消衰パラメータなどの他の解析パラメータについても同様である。 $\sin\theta/\lambda < 0.8$ までの低次の反射のみを用いた場合の精密化では、誤差が非常に大きく一定値にならない。特に La と比べると軽原子である硼素の $U_{11,22=33}$ は非常に誤差が大きいことがわかる。反射数を増やして、高次の反射を含めた解析を行うのに従って、それぞれの平均二乗振幅のパラメータが $\sin\theta/\lambda \sim 1.3$ 程度から、一定値に収束していくことが分かる⁴⁹⁾。

希土類元素 Y, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd の 6 種類の六硼化物について、 $\sin\theta/\lambda = 1.3$ までのデータを用いた室温における解析から得た、構造パラメータの比較に関する以下に記述する。解析結果は、信頼度因子 R が $R = 0.4 \sim 0.7\%$ であり、実験精度が同程度の良質なデータが得られた。図 6.29(a)-(d) に、硼素位置 X_B , 格子定数、希土類間距離、およびこれらの値から得られた、硼素八面体内(intra B-B)と八面体間(inter B-B)の結合距離を示す。この結果から、硼素八面体の結合距離は八面体間の結合距離よりも長いが、八面体の結合距離はほとんど変化せず、八面体間の結合距離の変化が格子定数の変化に影響を与えることが分かる。従って、硼素八面体は硬い結合により結ばれており、八面体の形状があまり変化しないことが分かる。図 6.30 に希土類及び硼素の平均二乗変位量を示す。R = Sm, Eu を除くと、原子番号の増加に従って希土類イオンの温

Fig. 6.28 Values of the three temperature parameters, U_{iso} of La atoms, U_{11} and $U_{22=33}$ of B atoms against $\sin\theta/\lambda$.

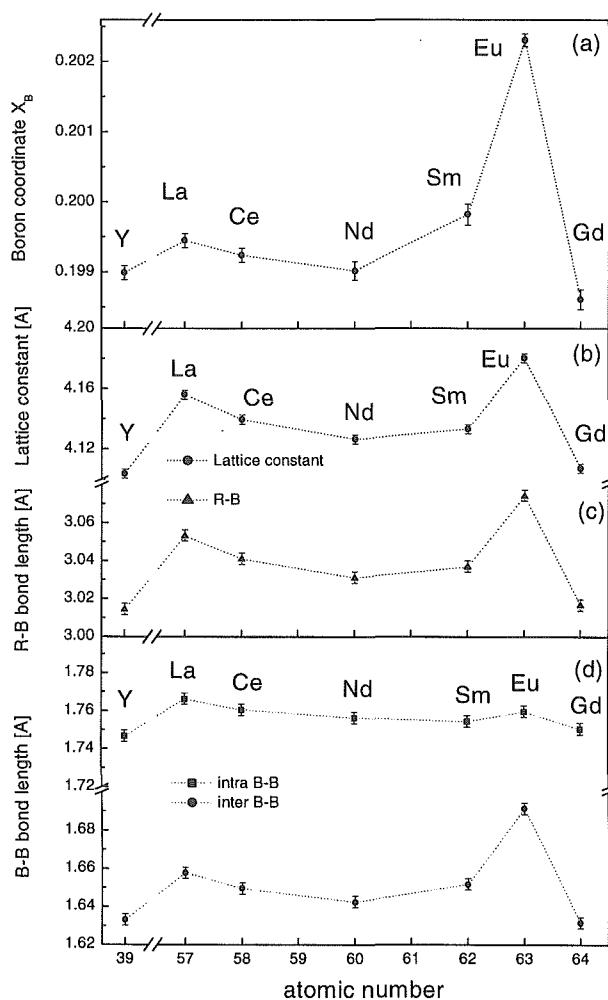


Fig. 6.29 (a) Boron coordinate X_B , (b) lattice constant, (c) bond length between rare earth metals R and Boron atom and (d) intra and inter bond lengths between boron atoms in rare earth hexaborides RB_6 ($R=Y, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd$) against atomic number.

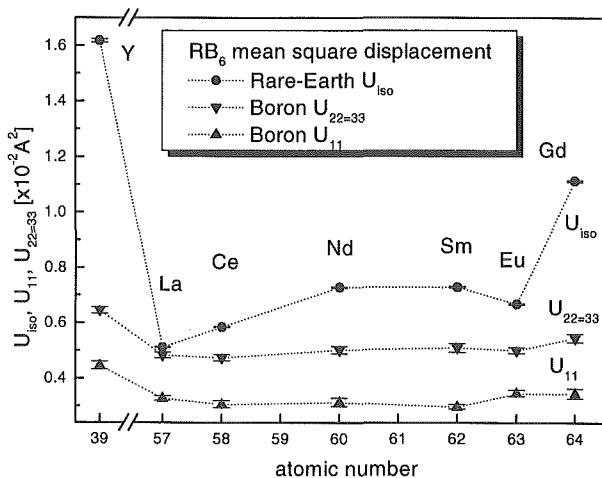


Fig. 6.30 Values for mean square displacement of atoms, U_{iso} , U_{11} and $U_{22=33}$ in rare-earth hexaborides RB_6 ($R=Y, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd$) against atomic number.

度因子が増大することが分かる。希土類イオンの原子価が R^{3+} であるのに対して, Eu, Sm はそれぞれ, R^{2+} , $R^{2.7+}$ であることに起因していると考えられる。 R^{3+} の六硼化物は希土類イオン半径の増大に伴い変位量が小さくなることが分かる。また、硼素の変位は希土類イオンの種類による特徴的な変化は見られなかった。このことから、希土類イオンと硼素八面体の振動は独立であると考えられる⁵⁰⁾。

6.6.3.2 電子密度分布解析

最初に、フーリエ合成法による電子密度分布解析方法について記述する。Fourier 合成により正確な電子密度分布 ρ を導くためには、原理的には無限数の構造因子が必要であるが、実験的に無限の反射の強度を測定することは不可能である。短波長 X 線を用いた実験により、従来の波長の X 線 ($MoK\alpha$ 線, $\lambda = 0.71\text{ Å}$ など) では測定不可能な領域の高次の反射を測定することが可能になった。そこで、結晶構造解析における短波長 X 線利用の有効性を論じると共に、高次の領域の反射を含めたフーリエ解析による、電子密度 ρ , 差電子密度 $\Delta\rho$ の改善点、問題点について以下に述べる。LaB₆ 単結晶試料から得られた解析には $\sin\theta/\lambda < 2.0$ までの構造因子を用いた。

図6.31に $\sin\theta/\lambda = 2.0$ までのデータを用いた際の LaB₆ (110) 面の電子密度分布を示す。等高線の高さは全て等しく、step は $2.0\text{ e}/\text{Å}^3$ である。高次の反射を含めずに解析した際に、電子密度に負の部分が残ることから、解析に高次の反射データを含めたフーリエ法を適用す

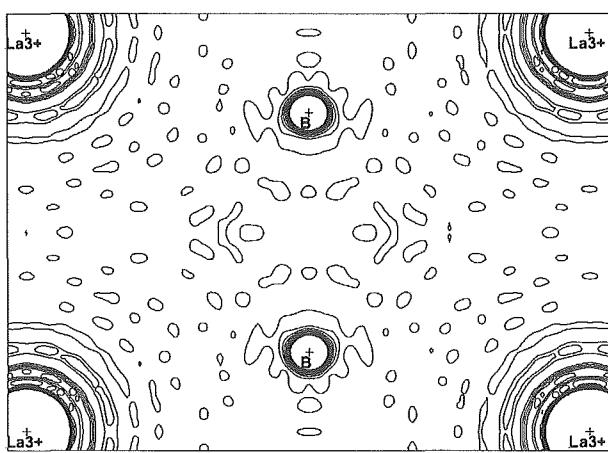


Fig. 6.31 Electron density distributions for LaB₆ (110) layer obtained by Fourier method with the use of data sets up to $\sin\theta/\lambda = 2.0$. Contours are drawn from $0.0\text{ e}/\text{Å}^3$ at intervals of $2.0\text{ e}/\text{Å}^3$.

ることにより、打ち切り効果が改善されることが分かった。また、硼素原子の EDD の形状が $\langle 110 \rangle$ 方向に伸びているのがわかるが、これは $\langle 100 \rangle$ 方向 (U_{11}) よりも $\langle 110 \rangle$ 方向 ($U_{22=33}$) の方が硼素の原子変位量が大きく、熱振動による影響を反映している。

図6.32に $\sin\theta/\lambda = 1.0$ までの範囲のデータを用いた、球状電子密度からの差と考えられる差フーリエ合成図の結果を示す。差フーリエ図の面は、 LaB_6 (200)面であり硼素八面体の結合を示している。等高線の間隔は $0.05 \text{ e}/\text{A}^3$ 刻みであり、実線は正、点線は負の電子密度分布を示している。硼素-硼素間に、共有結合によるものと考えられる電子密度分布の高い山がみられる。また、硼素間の電子密度の高さから、硼素の結合は八面体内に比べて八面体間の結合が強いことが予想される。しかしながら、これらの結果から、共有結合などに関する定量的な議論を進めることは難しいと考えられる。フーリエ合成では、高次の反射を用いることにより打ち切り効果が改善されるが、差フーリエ合成では高次の反射を用いると、図6.32の結果と一致せず電子密度の異方性を議論することが困難であることが分かった⁴⁹⁾。

硼素間の結合に関して、さらに詳しい議論を行うために、マキシマムエントロピー法(MEM)を適用した電子密度分布解析を行った⁵⁸⁾。図6.33(a)に $\sin\theta/\lambda = 1.3$ までの範囲の構造因子を用いた MEM による解析から得られた、 LaB_6 の La 及び B 原子を含む(110)面の電子

密度分布を示す。等高線の高さは $0.0-2.0$ の範囲で、ステップは $0.05 \text{ e}/\text{A}^3$ 刻みで示す。La と B はほとんど結合していないことが分かる。硼素間の結合は、硼素八面体間は電子密度が高く、また硼素八面体内で特徴的な結合をしている様子が分かる。図6.33(b)に第一原理計算法である FLAPW 法により、理論的に得られた LaB_6 の電子密度分布を示す。電子密度の面および等高線の高さは図6.33(a)と同一である。この結果から、MEM と FLAPW 法による実験的・理論的方法により得られた LaB_6 の電子密度分布は、特に硼素の結合などの詳細な電子密度分布に関して非常に良い一致を示した。

図6.34に硼素八面体の中心を通過する(002)面の電子密度分布を、図6.35に硼素原子間の結合に着目した 1 次元電子密度分布をそれぞれ示す。図6.35から硼素間の結合中心位置での電子密度の高さは、それぞれ、B-B 間 ($0.81 \text{ e}/\text{A}^3$)、B-B 内 ($0.65 \text{ e}/\text{A}^3$)、 B_6 八面体中心 ($0.48 \text{ e}/\text{A}^3$) となった。この結果から、 LaB_6 における硼素格子の結合において、硼素八面体間の結合がもっとも強いことが分かる。結晶構造解析から得られた硼素

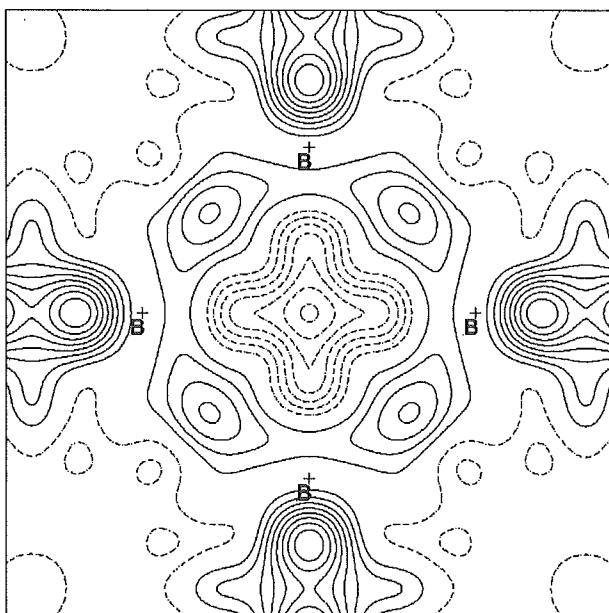


Fig. 6.32 Differential electron density distributions for LaB_6 (002) obtained by difference Fourier method with the use of data sets up to $\sin\theta/\lambda = 1.0$. Contours are drawn from $-0.5 \text{ e}/\text{A}^3$ at intervals of $0.05 \text{ e}/\text{A}^3$.

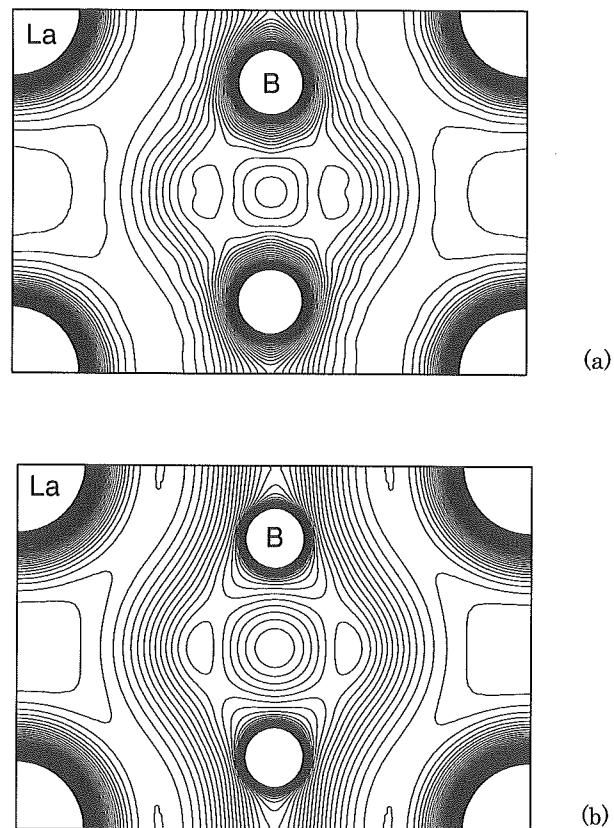


Fig. 6.33 Electron density distributions for LaB_6 (110) layer obtained by MEM (a) with the use of data sets up to $\sin\theta/\lambda = 1.3$ and FLAPW method (b), respectively. Contours are drawn from $0.0 \text{ e}/\text{A}^3$ at intervals of $0.05 \text{ e}/\text{A}^3$.

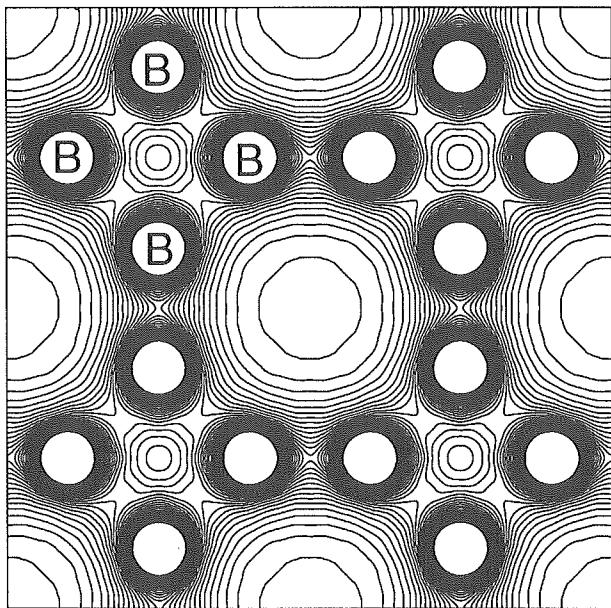


Fig. 6.34 Electron density distributions for LaB₆ (002) layer passing through the center of B₆ octahedron obtained by MEM. Contours are drawn from 0.0 e/A³ at intervals of 0.05 e/A³.

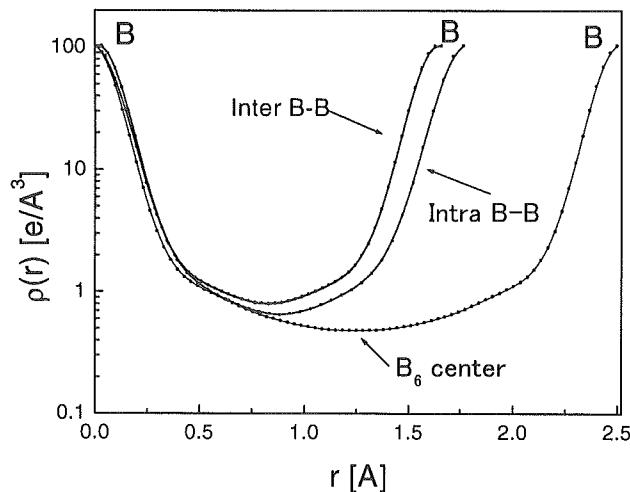


Fig. 6.35 One dimensional electron density distribution of Boron-Boron covalent bonding.

結合距離は八面体間(1.659Å)の方が八面体内(1.766Å)よりも短く、電子密度分布の高さと非常によく対応していることが分かる。また、硼素八面体中心位置でも、最も電子密度が低いLa-La間(0.120e/A³)と比べると比較的電子密度が残っていることから八面体が複雑に結合していることが分かる。このことから、硼素八面体自身の結合が強く、希土類六硼化物の格子定数は、主に八面体間の距離の変化によるものであるという構造パラメータの結果と良い一致を示した。

6. 6. 4 まとめ

短波長X線を用いた希土類六硼化物単結晶の結晶構造・電子密度分布解析を行った。X線回折実験の際、構造パラメータの決定などには、ある程度高次の領域の回折強度が必要であることを示した。室温による希土類六硼化物の構造パラメータを決定した。その結果、硼素原子は希土類の種類に独立であり、希土類原子の熱振動振幅は、イオン半径と格子定数の値に密接な関係があることを系統的な測定により示した。フーリエ合成によるLaB₆電子密度分布の解析では、高次の反射を含めることにより、フーリエ合成による電子密度分布の打ち切り効果の改善が見られたが、詳細な電子密度分布を見出すには至らなかった。マキシマムエンタロピー法をLaB₆単結晶の電子密度分布に適用した結果、第一原理計算から得られたと良い一致を示し、硼素八面体に関する詳細な電子密度分布が得られた。今後、様々な物質にこれらの方法を適用することにより、実験的・理論的両面から物質中の電子密度分布に関するさらに詳細な議論を進めることができると考えられる。

6. 7 Electron density studies

6. 7. 1 Introduction

Accurate electron density study can provide important insights into electronic state and thereby into the origin of technologically important properties of materials. ZnO and YTiO₃ are two such materials. However, a number of corrections must be made to raw X-ray data before electron density analysis. In particular, single crystals of inorganic compounds are often highly perfect and consequently are sometimes severely affected by extinction (multiple reflection of diffracted X-rays). As extinction models are only reliable for small levels of extinction, it was also necessary in the course of the work to develop a method of extinction correction which would allow reliable determination of structure factors for more severe levels of extinction.

6. 7. 2 YTiO₃

YTiO₃ is a semiconductor at room temperature, becoming ferromagnetic below 29K. Magnetic measurements indicate that the Ti atom is a d¹ system⁶⁹⁾. The ferromagnetic interaction is thought to

be mediated by superexchange along the Ti-O-Ti bond in the structure. The electron density above the transition temperature was studied with the expectation that signs of the Ti-O-Ti interaction would be visible.

6.7.2.1 Experimental information

YTiO_3 crystals were grown by the floating zone method in a reducing atmosphere. Measurements on the 20x5mm crystal obtained indicated that it was an insulating ferromagnet, with magnetic and thermal properties close to those previously reported. A small sample of this larger crystal was ground into a 0.8mm diameter sphere using a ball-milling technique⁶⁰⁾ and a complete sphere of X-ray diffraction data collected using $\text{W}\text{K}\alpha$ radiation (0.21 Å) at both room at low temperature. Corrections for absorption were applied and a spherical, harmonically vibrating free atom model used to refine structural parameters together with extinction. Finally, the model structure factors were subtracted from the observed structure factors and Fourier transformed to give the difference electron density.

6.7.2.2 YTiO_3 results

The electron density around the Ti atom is of considerable interest. In an octahedral field, the Ti d-orbitals should split into e_g orbitals directed along the bonding directions (higher energy) and t_{2g} orbitals directed between the bonds. This is indeed consistent with the observed difference density, where the highest depletion relative to the neutral atom is directed along the bonds.

However, the pattern of difference density further from the atom centre is not consistent with the local bonding geometry. The extra depletion along the Ti-O₂ bond bisectors does not have the expected octahedral symmetry, and neither does it appear to be related to the symmetry of the second coordination sphere. The consistency of the near-nuclear electron density with expectations indicates that this is unlikely to be an artefact. (Fig.6.36)

Integration of the electron density around the Ti atom suggests that Ti has lost a single d electron, in agreement with magnetic measurements. Analy-

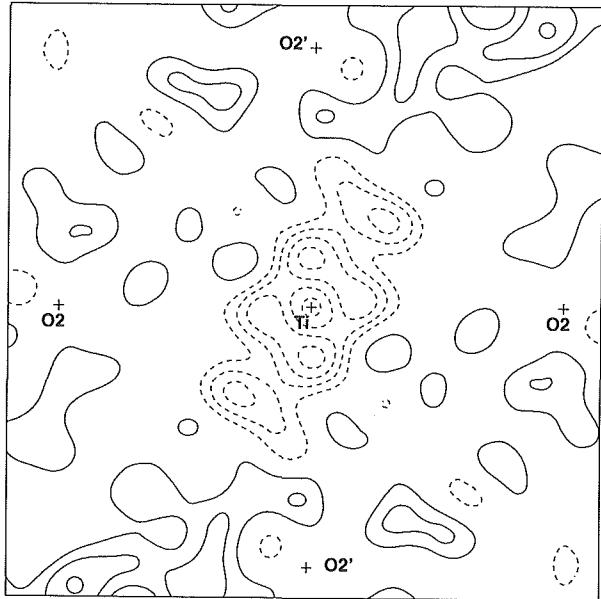


Fig. 6.36 Difference electron density in the TiO_6 octahedron

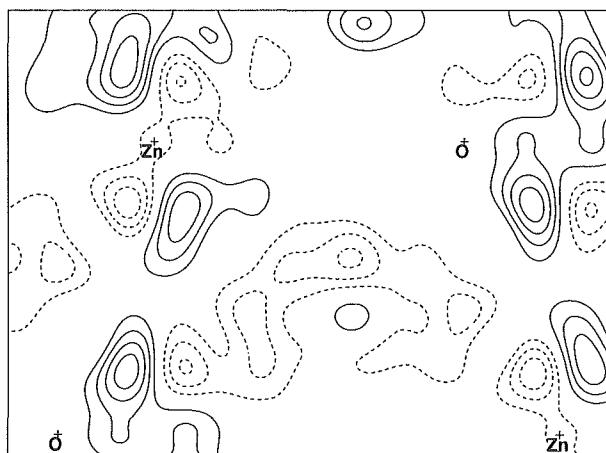


Fig. 6.37 Difference density in Zn-O

sis of the Y electron density and thermal parameters indicate a significant Y-O1 interaction. Furthermore, the characters of the Ti-O₂ and Ti-O₁ interactions are quite different, based on both thermal parameters and Ti/O electron density.

These results lead us to speculate that the Ti-O₁-Ti bond is crucial for ferromagnetism, perhaps by strengthening the overlap of Ti t_{2g} orbitals with O₁ sp^2 orbitals when it changes at low temperature. This interaction may be sensitive to the Y-O₁ interaction as well.

6.7.3 Improvement of extinction correction

Before any work could begin on ZnO, which is well known as being strongly extinction-affected, a

new method of extinction correction needed to be developed. The availability of a white radiation spectrum from the WK α source, and an energy-dispersive detector to select wavelengths, meant that an empirical multiple-wavelength approach was most convenient.

6.7.3.1 Background

Usually, extinction correction is carried out by refining a model parameter during least-squares refinement of the structural model. This is unsatisfactory for several reasons: first, the standard models assume fairly small extinction; second, correlation with the scale parameter is often large; and third, the model can quite effectively refine away real difference density associated with depletion of atomic cores. For these reasons, we sought a method which was model-independent, did not involve refinement of a parameter during least-squares structure refinement, and was not restricted to small extinction parameters.

The method developed involved measuring datasets at several different wavelengths, and then extrapolating to zero wavelength. The underlying assumption was that, close enough to zero wavelength, the effect of extinction could be modelled as a linear function, so that simple linear extrapolation of structure factor intensities would be sufficient to determine the extinction-free intensity.

6.7.3.2 Results

The table compares extrapolated values with the accurate values for Si derived by Saka and Kato⁶¹⁾ from Pendellosung measurements. While the extrapolated values are not particularly precise, they have the advantage of being model-independent. (Table 6.2)

This technique was used to determine whether or not previously published work on K₂PdCl₄⁶²⁾ had properly assessed the extinction correction, and was able to show that, in that case, refinement of an extinction model during least squares would have produced reasonable extinction corrections.

Table 6.2 Comparison of extrapolated and exact values for Si.

Reflection	Extrapolated F_c	Exact F_c
1 1 1	62(2)	60.131(3)
0 2 2	69(1)	67.343(5)
0 0 4	58(1)	56.234(3)
1 1 3	44.7(6)	43.634(6)
2 2 4	50.2(5)	49.106(4)
1 3 3	38.5(5)	38.224(5)
0 4 4	45(1)	42.885(6)
0 2 6	38.2(3)	37.587(7)
1 1 5	33.1(4)	32.941(3)
3 3 3	31.7(5)	32.833(3)
1 3 5	28.8(1)	28.81(1)
4 4 4	32.1(3)	33.18(1)
0 0 8	25.8(2)	26.227(8)
2 4 6	28.75(9)	29.42(1)
3 3 5	25.5(2)	25.357(6)

6.7.4 Study of ZnO

A ZnO crystal was cut from a larger block and ground into a flat plate. The data collection and refinement procedure was similar to that described for YTiO₃, with the addition of supplementary data collections at shorter wavelengths to enable model-independent extinction correction as described above.

6.7.4.1 Results

Both room and low-temperature difference density maps show small areas of depletion close to the Zn atom along the Zn-O vector, and there appear to be large lobes of electron accumulation near the O atom next to the Zn-O interatomic vector. The maps are generally noisy, suggesting residual problems with the data collection. FLAPW calculations using WIEN95 predicted simpler difference maps. Those calculations suggested that observable distortions to the model spherical atoms would be limited to expansion and contraction of the O and Zn electron clouds, with some coupling of Zn d and O_p orbitals. Questions remain regarding which result to believe: FLAPW calculations do not necessarily model electron exchange interactions well, and so the discrepancy may be due to theoretical limitations rather than experimental problems.

参考文献

- 1) 平尾一之, 河村雄行, “パソコンによる材料設計” (裳華房 1994)
- 2) 小和田善之, 田中 功, 中松博英, 水野正隆, “はじめての電子状態計算” (三共出版 1998)

- 3) Y. Fujiwara, T. Isobe, M. Senna, and J. Tanaka, *J. Phys. Chem. A* 103(48), 9842-9846(1999).
- 4) Y. Fujiwara, T. Isobe, M. Senna, and J. Tanaka, *J. Phys. Chem. A* (submitted)
- 5) Senna, M.; Schonert, K. *Powder Technol.* 32, 217(1982).
- 6) Landman, U.; Luedtke, W.D.; Gao, J.: *Langmuir* 12, 4514 (1996).
- 7) Satoko, C.; Tsukada, M.; Adachi, H.; *J. Phys. Soc. Japan*, 45(4), 1333(1978).
- 8) S. Kang, I. Tanaka, H. Adachi, and S. J. Park, *Bulletin of the Society for Discrete Variational Xα*, 8(2) (1995) 201.
- 9) V. Ravikumar and V. P .Dravid : *Ultramicroscopy*, 52, 557-563 (1993).
- 10) M. M. McGibbon, N. D. Browning, M. F. Chisholm, A. J. McGibbon, S. J. Pennycook, V. P. Dravid : *Science*, Vol. 226, 102-104 (1994).
- 11) Browning N. D., Pennycock S. J., Chisholm M. F., McGibbon M. M. and McGibbon A. J. : *Interface Science*, 2(4), 397 (1994)
- 12) G. H. Campbell : *J. Am. Ceram. Soc.*, 79(11), 2883-91 (1996).
- 13) D. M. Duffy and P. W. Tasker : *Philosophical Magazine A*, Vol.47, No.6, 817-25 (1983).
- 14) D. M. Duffy and P. W. Tasker : *Philosophical Magazine A*, Vol.50, No.2, 155-69 (1984).
- 15) D. M. Duffy : *J. Phys. C: Solid State Phys.* 19, 4393-4412 (1986)
- 16) L. Q. Chen and G. Kalonji : *Philosophical Magazine A*, Vol.66, 11-26 (1992).
- 17) H. Chang, R. P. Rodrigues, J. -H. XU, D. E. Ellis and V. P. Dravid : *Ferroelectrics*, Vol. 194, 249-262 (1997).
- 18) D. G. Brandon : *Acta Met.*, 12, 813-15 (1964).
- 19) D. G. Brandon : *ibid.*, 14, 245-51 (1966).
- 20) M. Nomura, K. Yamaji, N. Ichinose and J. Tanaka: *Journal of Electroceramics*, 4:S1, 91-98 (1999)
- 21) T. Kawano, T. Isobe, M. Senna, and J. Tanaka, *Thin Solid Films* 352 57-61 (1999).
- 22) H. Shigetani, K. Kobayashi, M. Fujimoto, W. Sugimura, Y. Matsui, and J. Tanaka, *J. Appl. Phys.*, 81 [2] 693-93 (1997).
- 23) M. Katayama, E. Nomura, N. Kanekama, H. Soejima, and M. Aono, *Nuc. Instrum. & Methods*, B33, 857-61 (1988).
- 24) I.Irisawa, Y. Arima, and T. Kuroda, *J. Cryst. Growth*, 99, 491-95 (1990).
- 25) A. N. Mariano and R. E. Hanneman, *J. Appl. Phys.*, 34, 384 (1963).
- 26) H. Maki, N. Ichinose, S. Sekiguchi, N. Ohashi, H. Haneda and J. Tanaka, *Key Eng. Mat.*, 169-170, 109-112 (1999).
- 27) T. Ohnishi, A. Ohtomo, M. Kawasaki, K. Takahashi, M. Yoshimoto and H. Koinuma, *Appl. Phys. Lett.* 72, 824 (1998).
- 28) H. Ohta, K. Kawamura, M. Orita, N. Sarukura, M. Hirano and H. Hosono, *Electron. Lett.*, 36, 984 (2000).
- 29) H. Maki, N. Ichinose, N. Ohashi, H. Haneda and J. Tanaka, *Surf. Sci.*, 457, 377-382 (2000).
- 30) H. Maki, N. Ichinose, N. Ohashi, H. Haneda and J. Tanaka, *J. Cryst. Growth*, submitted
- 31) K. Minegishi, Y. Koiwai, Y. Kikuchi, K. Yano, M. Kasuga and A. Shimizu: *Chem. Phys. Lett.* 222 349 (1994).
- 32) T. Yamamoto and H. K. Yoshida: *Jpn. J. Appl. Phys.* 38 L166 (1999).
- 33) M. Joseph, H. Tabata and T. Kawai: *Jpn. J. Appl. Phys.* 38 L1205 (1999).
- 34) H. C. Longuet-higgins and M. de V. Roberts : *Proc. Roy. Soc. (London)* A224, 336 (1954).
- 35) T. Kasuya, K. Takegahara, M. Kasaya, Y. Ishikawa and T. Fujita : *J. de Phys.* 41, C5-161 (1980).
- 36) S. Kunii, T. Kasuya, K. Kadokami, M. Date and S. B. Woods : *Solid State Commun.* 52, 659 (1984).
- 37) S. Sato : *J. Magn. Magn. Mater.* 52, 310(1985)
- 38) T. Ito and I. Higashi : *Chemica Scripta*. 26, 479(1986)
- 39) M. M. Korsukova : *Proc. 11th Int. Symp. Boron Borides and Related Compounds*, Tsukuba, 1993, JJAP Series 10, 15(1994)
- 40) M. K. Blomberg, M. J. Merisalo, M. M. Korsukova and V. N. Gurin : *J. Alloys and Compounds* 217, 123(1995)
- 41) K. Tanaka, Y. Kato and Y. Onuki : *Acta Cryst. B53*, 143 (1997)
- 42) Y. Ishizawa, T. Tanaka, E. Banni and S. Kawai : *J. Phys. Soc. Jpn.* 42, 42(1977)
- 43) R. E. Watson and M. L. Perlman : *Surf. Sci.* 122,371 (1982)
- 44) K. Yamamoto, Y. Takahashi, K. Ohshima, F. P. Okamura and K. Yukino : *Acta Cryst. A52*,606 (1996)
- 45) S. Ohtani and Y. Ishizawa : *J. Cryst. Growth* 118 ,461 (1992)

リン酸炭酸カルシウムに関する研究

- 46) S. Ohtani, S. Honma, Y. Yajima and Y. Ishizawa : J. Cryst. Growth 126, 466(1993)
- 47) Y. Takahashi, K. Yamamoto, K. Ohshima, K. Yukino and F. P. Okamura : J. Appl. Cryst. 29, 206. (1996)
- 48) Y. Takahashi, K. Yamamoto, K. Ohshima, K. Yukino and F. P. Okamura : Jpn. J. Appl. Phys. 37, L556 (1998).
- 49) Y. Takahashi, K. Ohshima, K. Yamamoto, K. Yukino and F. P. Okamura : J. Appl. Cryst. 31, 917 (1998).
- 50) Y. Takahashi, K. Ohshima, F. P. Okamura, S. Otani and T. Tanaka : Jpn. Phys. Soc. Jpn. 68, 2304 (1999).
- 51) Hall, S. R., Flack, H. D. & Stewart, J. M. Editors. Xtal3. 4 Reference Manual. Perth, Australia: Lamb Printers (1994).
- 52) International Tables for X-ray Crystallography (1974). Vol. IV. Birmingham: Kynoch Press. (Present distributor Kluwer Academic Publishers, Dordrechty.)
- 53) M. Sakata and M. Sato : Acta Cryst., A46, 263(1990)
- 54) M. Takata, B. Umeda, E. Nishibori, M. Sakata, Y. Saito, M. Ohno, H. Shinohara, Nature London 377,46 (1995)
- 55) M. Fujimori, T. Nakata, T. Nakayama, E. Nishibori, K. Kimura, M. Takata and M. Sakata : Phys. Rev. Lett. 82, 4452(1999)
- 56) S. Kumazawa, Y. Kubota, M. Takata, M. Sakata and Y. Ishibashi : J. Appl. Crystallogr. 26, 453(1993)
- 57) P. Blaha, K. Schwarz and J. Luitz: WIEN97, Vienna University of Technology 1997. [Improved and updated Unix version of the original copy-righted WIEN code, which was published by P. Blaha, K. Schwarz, P. Sorantin and S. B. Trickey: Comput. Phys. Commun. 59, (1990) 399.
- 58) Y. Takahashi, K. Ohshima, S. Kumazawa and F. P. Okamura : to be submitted.
- 59) J. P. Goral, J. E. Greeden, and D. A. MacLean, *J. Solid State Chem.*, 43, 244-250(1982)
- 60) Y. Takahashi, K. Yamamoto, K. Ohshima, K. Yukino, and F. P. Okamura, *J. Appl. Cryst.*, 29, 206-207(1996)
- 61) T. Saka and N. Kato, *Acta Cryst.*, A412, 469-478(1986)
- 62) J. R. Hester, E. N. Maslen, N. Spadaccini, N. Ishizawa, and Y. Satow, *Acta Cryst.*, B49, 842-846(1993)

第7章 残された問題と将来展望

最後に、本研究に関連して今後の問題点について記載する。

骨材料は、体重を支える物理的な特性と、生体の代謝系と共に存する生化学的な特性の二つが求められる。手足の骨（四肢長管骨）については外部から支えることができるから、材料に初期強度がなくても本当の骨を再生できれば医療材料として使うことが可能である。しかし、背骨の骨（椎体）は手術に失敗すれば、下半身不随などの重篤な疾患につながる。したがって、椎体の治療には、初期強度があり、なおかつそれを維持したまま骨になる、あるいは骨と10年以上の長期にわたって共存しうる材料が求められる。本研究（第5章）では、そのような材料を実現できなかったが、高強度で、なおかつ短期間の内に骨組織が侵入する多孔体開発の方向をつかむことができた。今後さらに研究を進めたいと考えている。

また、第2章で述べた骨類似材料の開発は、動物実験では本当の骨に変わることを実証することができた。現在、大型骨折の治療には自家骨移植が最も頻繁に行われている。腰の骨（腸骨）などを採ってきて、骨折部位に移植する治療法である。骨類似材料は、腸骨の代わりになる、あるいは採取した腸骨を再生させる材料として、将来利用できると期待される。本研究では、材料合成の簡便化、信頼性の向上、初期強度の向上などいくつかの問題を解決しないまま残している。これについてもさらなる研究を続けていきたいと考えている。

さらに、我々の体内で起きている骨の自己組織化について、一定程度の理解を深めることができた。その知見を元に、骨の合成から軟骨などさらに多くの材料に展開していくことが肝要であると考えている。

第8章 研究発表

8. 1 発表論文

- J. R. Hester and F. P. Okamura, "Elimination of extinction effects by extrapolation to zero wavelength" *Acta Cryst.*, A52, 700-704 (1996)
- K. Yamamoto, Y. Takahashi, K. Ohshima, F. P. Okamura, K. Yukino, "Analysis of Electron-Density Distributions for Silicon and Diamond using Short-Wavelength X-rays(WKα)", *Acta Cryst.*, A52, 606-613 (1996)
- J.R.Hester,F.P.Okamura, "Examination of extinction Effects by Extrapolation to Zero Wavelength",*Acta Cryst.*,A52, 700-704 (1996)
- Y.Takahashi,K.Yamamoto,K.Ohshima,F.P. Okamura, "A new technique for making spheres of single crystals", *J.Appl.Cryst.*,29, 120-124 (1996)
- Yu.A.Abramov,F.P.Okamura, "A Topological Analysis of Charge Densities in Diamond, Silicon and Germanium", *Crystals*,*Acta Cryst.*,A53, 187-198 (1996)
- J.R.Hester,K.Tominoto,H.Noma,J.Akimitsu, "Electron Density in YTiO₃", *Acta Cryst.*,A53, 739-744 (1996)
- 田中滋, 田中順三, "セラミックス粒界の組成と電子状態", 日本化学会誌, 3, 217-224 (1996)
- 菊池正紀, 趙晟佰, 田中順三, "新しい人工骨材の開発－有機・無機複合化技術", BIO INDUSTRY, 13, 8, 28-34 (1996)
- 田中順三, "ナノスペースラボ 一材料のインテリジェント化-", *Boundary*,12, 7, 13-19 (1996)
- 西原克成, 丹下剛, 松田良一, 濑野久和, 梁井皎, 藤井和子, 田中順三, 広田和士, "実験進化学手法によるハイブリット型人工器官の開発と新しい免疫学的概念", 人工臓器, 25, 3, 753-758 (1996)
- 西原克成, 丹下剛, 松田良一, 田中順三, 広田和士, 横沢洋, "人工骨髄造血巣の誘導実験と新しい免疫系の概念", 日本口腔診断学会雑誌, 9, 2, 217-231 (1996)
- 西原克成, 田中順三, 広田和士, "実験進化学手法による力学対応進化学の検証", 日本口腔診断学会雑誌, 9, 2, 232-249 (1996)
- 田中順三, "アパタイトの不思議", 材料科学, 33, 4 (1996)
- 180-182
- T.ISHIGAKI, H.HANEDA, J.TANAKA, Y.MORIYOSHI, "Titanium Carbide Powders Modified By In-Flight Induction Plasma Treatment", *Proc. 3rd Asia-Pacific Conference on Plasma Science & Technology*, APCPST'96, 559-563 (1996)
- H.HANEDA, J.TANAKA, T.ISHIGAKI, "Oxygen Diffusion and Defect Structure in PTCR-Barium Titanate", *Proc. 3rd International Conf. on Intelligent Materials '96*, (1996).
- H.HANEDA, I.SAKAGUCHI, A.WATANABE, J. TANAKA, "Oxygen Grain Boundary Diffusion in Zinc Oxide Ceramics", *International Conf. on Diffusion in Materials* (1996).
- H.Nagata, H.Haneda, I.Sakaguchi, T.Takenaka, J. Tanaka, "Reactivity of Ag Electrode with PLZT Ceramics", *Proc. of Electroceramics V*, (1996).
- H.Nagata, H.Haneda, I.Sakaguchi, T.Takenaka, J. Tanaka, "Reaction and Diffusion between PLZT Ceramics and Ag Electrode", *Proc. MRS Symposium of Japan'96*, (1996).
- Y.Wada, N.Matsushita, J.Tanaka, T.Mitsuhashi, "Dependence of polaron, soliton, and self-trapped exciton relaxation on excitation photon energy in quasi-one dimensional MX-complexes", *Journal of Luminescence*, 66&67, 120-124 (1996)
- 竹本稔, 大橋直樹, 鶴見敬章, 福長脩, 田中順三, "Temperature dependence of Hall angle in superconducting La_{1.85-x}Nd_xCa_{1.15}Cu₂O_{6-δ}", *PHYSICA C*, 265, 171-177 (1996)
- 田中順三, 末次寧, 大橋直樹, "Electronic States of F- and OH-Apatite Studied by a DV-X α Method", *Transaction of Materials Research Society of Japan*, 20, 910-913 (1996)
- P.Zhou, M.Hosonuma, M.Kikuchi, J.Tanaka, S. Nakamura, M.Ohgaki, M.Akao, "Thermal Decomposition Methods For HA And CaTiO₃ Coating On Titanium", *Bioceramics* 9, 349-352 (1996)
- S.B.Cho, Y.Suetsugu, J.Tanaka, R.Azumi, M.Mat-

- sumoto, "Bio-Solid-Chemical Process of Apatite Formation on LB Monolayer in Simulated Body Fluid", *Bioceramics* 9, 403-406(1996)
- K.Nishihara, J.Tanaka, "Successful Inducement of Hybrid Type Artificial Bone Marrow Using Bioceramics in Vertebrates", *Bioceramics* 9, 69-72(1996)
- 関口象一, 田中順三, "セラミック構造のマイクロ化技術と新機能", *化学工学*, 2, 26-29(1996)
- H.Shigetani, M.Fujimoto, W.Sugimura, Y.Matsui, J.Tanaka, "BaTiO₃/SrTiO₃ thin films grown by an MBE method using oxygen radicals", *MATERIALS SCIENCE & ENGINEERING B*, 41, 148-151(1996)
- 竹本稔, 大橋直樹, 鶴見敬章, 福長脩, 田中順三, "Effect of lanthanide substitution on superconductivity of LA_{1.85-x}R_xCa_{1.15}Cu₂O_{6-δ}", *PHYSICA C*, 268, 279-286(1996)
- N.Ohashi, O.Fukunaga, J.Tanaka, "Electric States of Dopants in Diamond Calculated by a DV-Xa Method", *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, 20, 906-909(1996)
- I.Sakaguchi, H.Haneda, J.Tanaka, T.Yanagitani, "Effect of Composition on the Oxygen Tracer Diffusion in Transparent Yttrium Aluminium Garnet(YAG) Ceramics", *J. Am. Ceram. Soc.* 79,6, 1627-1632(1996)
- 西原克成, 田中順三, "骨格系組織の力学対応システムとリモデリングの遺伝子工学", 日本機械学会第74期全国大会講演論文集(I), 96-15, 155-156(1996)
- 田中順三, 趙晟佰, "自己組織化に基づいた有機・無機複合体人工骨の開発", 頸顎面バイオメカニクス学会誌, 2, 2, 14-19(1996)
- 西原克成, 立川 統, 田中順三, 広田和士, "実験進化手法によるセメント質誘導型のアパタイト人工歯根の開発", 頸顎面バイオメカニクス学会誌, 2, 2, 59-70(1996)
- Y.Suetsugu, I.Shimoya, M.Kikuchi, J.Tanaka, "CRYSTAL GROWTH OF CARBONATE APATITE USING CaCO₃-Ca(OH)₂ FLUX", *Phosphorus Research Bulletin*, 6,225-228(1996)
- S.B.Cho, Y.Suetsugu, J.Tanaka, "PRECIPITATION OF CALCIUM PHOSPHATES FROM AN ACCELLULAR SIMULATED BODY FLUID", *Phosphorus Research Bulletin*, 6, 309-312(1996).
- 趙晟佰, 末次寧, 田中順三, 阿澄玲子, 松本陸良, "Effects of divalent cations on calcium phosphates precipitation on a Langmuir-Blodgett monolayer", *Bioceramics*10, 545-548(1996)
- J. R. Hester, K. Tomimoto, H. Noma, F.P. Okamura, and J. Akimitsu, "Electron density in YTiO₃" *Acta Cryst.*, B53, 739-744(1997)
- Y.Suetsugu, Y.Takahashi, S.B.Cho, F.Okamura, J. Tanaka, "Space Group Determination of Hydroxyapatite and Carbonate Apatite", *Key Eng Materials*, 132-236(1997)
- 重谷寿士, 関口象一, 藤本正之, 杉村涉, 松井良夫, 田中順三, "MBE法で作製した BaTiO₃薄膜の結晶構造と表面構造", センサ材料・プロセス技術研究会資料, SMP-97-3, 13-17(1997)
- 田中順三, "セラミックス", 平成8年度「マイクロマシンの基礎技術の調査研究」成果報告書(1997)
- H.Shigetani, K.Kobayashi, M.Fujimoto, W. Sugimura, Y.Matsui, J.Tanaka, "BaTiO₃ thin films grown on SrTiO₃ substrates by a molecular beam epitaxy method using oxygen radicals", *Journal of APP. PHYSICS*, 81, 2, 693-697(1997)
- N.Ohashi, O.Fukunaga, J.Isoya, J.Tanaka, "The Electronic States of Nickel ions in Diamond Calculated by Discrete-Variational Xa Method", *Journal of APP. PHYSICS*, 36, 3A, 1126-1131(1997)
- H.Haneda, I.Sakaguchi, A.Watanabe, J.Tanaka, "Oxygen Grain Boundary Diffusion in Zinc Oxide Ceramics", *Defect and Diffusion Forum*, 143-147, 1219-1224(1997).
- S.B.Cho, M.Kikuchi, Y.Suetsugu, J.Tanaka, "Novel Calcium Phosphate/Polylactide Composites:Its in vitro Evaluation", *Key Engineering Materials*, 132-136, 802-805(1997)
- 永田肇, 羽田肇, 坂口勲, 竹中正, 田中順三, "PLZTセラミックスとAg電極間の反応及び拡散", *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 105, 9, 805-810(1997)
- 清田英夫, 松島栄一, 佐藤啓介, 大串英世, 安藤寿浩, 田中順三, "Electrical properties of B-doped homoepitaxial diamond(001) film", *Diamond and Related Materials*.
- 山地克彦, 一ノ瀬昇, 松井良夫, 田中順三, "SrTiO₃バリスターの粒界モデル", *インテリジェント材料*, 7,

- 2, 9-13(1997)
- 西原克成, 田中順三, “海から陸へ脊椎動物の上陸劇の重力対応”, バイオメカニズム学会誌21, 4, 1-8(1997)
- 小松正二郎, 岡田勝行, 趙晟佰, 重谷寿士, 田中順三, 佐藤洋一郎, “Etching of diamond(100) surface by atomic hydrogen:real-time observation by reflection high energy electron diffraction”, Journal of Vacuum Science & Technology A16, 749-753 (1998)
- 柴垣茂樹, 古賀明宏, 白川義徳, 大西宏子, 横川晴美, 田中順三, “Chemical reaction path for thin film oxidation of stainless steel”, Thin Solid Films, 303, 101-106(1997)
- J.S.CROSS, S.KOMATSU, J.TANAKA, M.MIENO, Y.SUETUGU, J.SAKAGUCHI, Y.MORIYOSHI, “Hydrogen plasma transport and deposition of films from a solid boron source”, J. of Materials Science, 32, 3277-3282(1997)
- W.Sugimura, A.Yamazaki, H.Shigetani, J.Tanaka, T.Mitsuhashi, “Anatase-Type TiO₂ Thin Films Produced by Lattice Deformation”, Jpn.J.Appl.phys.Vol.36, 7358-7359(1997)
- 田中順三, “有機・無機複合材料の開発”, 金属, 68, 3, 33-42(1998)
- 田中順三, “酸化物粒界の構造と機能”, 表面, 36, 1, 29-38(1998)
- 藤本正之, 鈴木利昌, 西湯二, 新井克彦, 田中順三, “Calcium-Ion Selective Site Occupation at Ruddlesden-Propper-Type Faults and the Resultant Dielectronic Properties of A-Site-Excess Calcium Titanate-Ceramics”, J.Am.Ceram.Soc., 81.1, 33-40(1998)
- Y.Suetsugu,I.Shimoya,J.Tanaka, “The Detailed Configuration of Carbonate Ions in Apatite Structure Determined by Polarized IR Spectroscopy”, Bioceramics10, 249-252(1997)
- Y.Suetsugu,I.Shimoya,J.Tanaka, “Configuration of Carbonate Ions in Apatite Structure Determined by Polarized Infrared Spectroscopy”, J.Am.Ceram.Soc.81,3, 746-748(1997)
- Y.Suetsugu,Y.Takahashi,S.B.Cho,F.P.Okamura,J.Tanaka, “Hydroxyapatite and Carbonate Apatite”, Key Eng Materials, 132,136, 2037-2039 (1997)
- 趙晟佰, 佐藤公泰, 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, “Zeta Potential of Various Bioactive Ceramics and Organic/inorganic Composites” 日韓セラミックスシンポジウム, 11月, 123-126(1997)
- S. Shibagaki, A. Koga, J. Tanaka, “Calcium-doping effect on temperature coefficients of dielectric constants in SrTiO₃ capacitors”, J. of Materials Science, 32, 1449-1453(1997)
- W. Sugimura, A. Yamazaki, H. Shigetani, J. Tanaka, “Anatase-Type TiO₃ Thin Films Produced by Lattice Deformation”, Jpn.J.Appl.Phys.,36, 7358-7359 (1997)
- 大橋直樹, 大山孝, 竹本稔, 鶴見敬章, 田中順三, 福長脩, “Variation of La3d photoelectron spectra of La_{1.1-x}Ca_xCu₂O_{6+δ}” PhysicaC,298.1&2, 73-79 (1998)
- 重谷寿士, 関口象一, 藤本正之, “MBE 法で作製した BaTiO₃薄膜の結晶構造と表面構造”, NEEDS & SEEDS, 14, 16-21(1998)
- 関口象一, 藤本正之, 野村雅信, 田中順三, 趙晟佰, 姜美求, “Atomic Force Microscopic Observation of SrTiO₃ Polar Surface” Solid State Ionics” 108, 73-79 (1998)
- 前背戸智晴, 原龍雄, 田中順三, 井上悟, 藤井知, 小舟正文, “Examination of Glass-Lined Discharge Electrodes” J.of the Ceramic Society of Japan, 106,6, 627-603(1998)
- 蔣麗萍, 丹下剛, 横澤洋, 田中順三, 西原克成, “組織免疫・HLA と重力作用”, 頸顎面バイオメカニクス学会誌, 4, 1, 54-57(1998)
- 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, 萬代佳宣, 中谷伸一, “水酸アパタイト/コラーゲン複合体の合成と自己組織化”, 頸顎面バイオメカニクス学会誌, 4.1, 42-43(1998)
- 関口象一, 藤本正之, 姜敏求, 小泉聰, 趙晟佰, 田中順三, “Structure Analysis of SrTiO₃(111) Polar Surfaces”, JPN.J.Appl.Phys.,37, 4140-4143(1998)
- 関口象一, 重谷寿士, 藤本正之, 田中順三, “Fabrication of BaTiO₃ Thin Film by Molecular Beam Epitaxy”, Manufacturing of Electronic Materials and Components”, 90, 141-151(1998)
- 田中順三, 野村雅信, 一ノ瀬昇, “機能性無機材料の粒界”, 粉体および粉末冶金, 45, 12, 1178-1185(1998)
- 李相勲, 田中順三, “Hydroxyapatite Coating on a Collagen Membrane by a Biomimetic Method”, J. Am.Ceram.Soc., 81-11, 3029-3031(1998)

- 関口象一, 重谷寿士, 藤本正之, 田中順三, "Fabrication of BaTiO₃ Thin Film by Molecular Beam Epitaxy", Ceramic Transactions, 90, 141-151 (1998)
- 大橋直樹, 田中滋, 鶴見敬章, 田中順三, 福長脩, "プラセオジム及びコバルト添加酸化亜鉛バリスターのオージェ電子スペクトル", J.Ceramic Soc.of Japan, 106-9, 914-919(1998)
- 竹本稔, 井川博行, 大橋直樹, 大山孝, 鶴見敬章, 福長脩, 田中順三, 渡辺明男, "Cu K edge X-ray absorption spectra of La₂SrCu₂O₆-type superconductor", PHYSICA C, 302, 151-158(1998)
- 田中順三, "生体材料と無機・有機複合化", 無機マテリアル, 5-11, 512-516(1998)
- 村田直文, 尾坂明義, 伊藤憲治, 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, "Organic/Inorganic Interaction between Hydroxyapatite and Derivatives of Poly(Etylene Glycol)", Transactions of the Materials Research Society of Japan, 24-4, 549-552(1999)
- N.Ohashi, S. Mitarai, O. Fukunaga, J. Tanaka, "Magnetization and Electric Properties of Pr-doped ZnO", J. of Electroceramics 4:S1, 61-68 (2000)
- 佐藤公泰, 末次寧, 菊池正紀, 熊谷友里, 田中順三, "Electrostatic and Structural Analysis of Phosphate/Organic Materials Interfaces", Proceedings of the 11th International Symposium on Ceramics in Medicine, 485-488(1998)
- 末次寧, 菊池正紀, 佐藤公泰, 田中順三, "Crystal Growth and Analyses of Carbonate Hydroxyapatite", Proceedings of the 11th International Symposium on Ceramics in Medicine, 93-95 (1998)
- 秋田千芳, 田中滋, 田中順三, "電子セラミックスの粒界の評価—ICTS の原理と応用—", 半導体セラミックス, 81-98(1998)
- J. R. Hester and F.P. Okamura, "CIF Applications. X. Automatic Construction of CIF Input Functions: CifSieve", J. Appl. Cryst., 31, 965-968 (1998)
- 石垣隆正, 佐藤忠夫, 田中順三, 目義雄, 守吉祐介, "高周波熱プラズマで処理したチタンカーバイド粉末の Al₂O₃-Tic 複合セラミックスの応用", 日本国学会誌, 63-1, 83-89(1998)
- 大橋直樹, 中田智一, 関口隆史, 細野秀雄, 水口雅史, 鶴見敬章, 田中順三, 羽田肇, "Yellow Emission from Zinc Oxide giving an Electron Spin Resonance Single at g=1.96", Jpn.J.Appl.Phys., 38, L113-L115(1998)
- 大橋直樹, 関口隆史, 羽田肇, 寺田, 大垣, 田中順三, 鶴見敬章, 福長脩, "Ultraviolet light emission properties of ZnO single crystals", Materials Science and Engineering Serving Society, 61-65 (1998)
- 田中順三, 菊池正紀, 平岡陽介, 萬代佳宣, 中谷伸一郎, "The Influence of pH and Temperature on the Self-Organization Mechanism of Hydroxyapatite and Collagen", International Symposium on Advanced Biomaterial & Tissue Engineering, O1 (1999)
- 李相勲, 田中順三, "Self-Assembly Phenomenon in a Hydroxyapatite/Chondroitin Sulfate Composite", International Symposium on Advanced Biomaterial & Tissue Engineering, O6(1999)
- 田中順三, "人工骨と自己組織化—試験管の中で骨をつくるー", HAP-TCP '99 (横浜) プログラム・抄録集 (ページ表示なし) (1999)
- 河野哲夫, 磯部徹彦, 仙名保, 西原隆治, 田中順三, "(Ba,Sr)TiO₃ solid solution thin-films grown by Ba/Sr coevaporation molecular beam epitaxy method", J.Applied Physics, 352, 57-61(1999)
- 羽田肇, 石垣隆正, 田中順三, 坂口勲, 一ノ瀬昇, "Diffusion Mechanism of Oxide Ions in Mn-Zn-ferrites", 粉体および粉末冶金, 46-1, 28-35(1999)
- 末次寧, 下矢一良, 田中順三, "Configuration of Carbonate Ions in Apatite Structure Determined by Polarized Infrared Spectroscopy", J.of the American Ceramic Society, 81-3, 746-748(1998)
- N. Ohashi, Y. Terada, T. Ohgaki, S. Tanaka, T. Tsurumi, O. Fukunaga, H. Haneda, J. Tanaka, "Synthesis of Bicrystals of ZnO doped with Co or Mn and Their Electric Properties", J.J.A.P. 38, 5028-5032 (1999)
- Sang-Hoon Rhee, Junzo Tanaka, "Chemical Interaction between Hydroxyapatites and collagen Fibrils", J.Am.Ceram.Soc. 投稿中
- 田中順三, "超高齢化社会を助ける生体材料", 科学技術ジャーナル, 99-6, 18-19(1999)
- Y. Fujiwara, T. Isobe, M. Senna and J. Tanaka, "Effects of reduced coordination number for Ca

- on the electron redistribution during Ca-O-Si bridge bonding from CaO or Ca(OH)₂ and SiO₂,” *J. Phys. Chem. A* 103(48), 9842-9846(1999)
- Masanori Kikuchi, Yasushi Suetsugu, Junzo Tanaka, Soichiro Iatoh, Shizuko Ichinose, Ken'ichi Shinomiya, Yousuke Hiraoka, Yoshinobu Mandai, Shin'ichi Nakatani, “The Biomimetic Synthesis and Biocompatibility of Self-Organized Hydroxyapatite/Collagen Composites”, *Biocera* 12, 361-365(1999)
- 牧英之, 一ノ瀬昇, 関口象一, 大橋直樹, 羽田肇, 田中順三, “Surface structure of ZnO Single Crystals Analyzed by Ion Scattering Spectroscopy”, *J.J.A. P.*, 38-5A, 2741-2744(1999)
- D.Walsh, J. Tanaka, “Preparation of a bone-like apatite foam cement”, *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 投稿中
- 西原克成, 田中順三, “Successful development of artificial bone marrow bio-chamber using bioceramics by means of experimental evolutionary study-reading trilateral riddles of the vertebrates”, 9th Cimtec-World Forum on New Materials Symposium XI-Materials in Clinical Applications, 353-364(1999)
- 田中順三, 菊池正紀, “バイオミメティックス生体材料の開発”, *セラミックス*, 34-7, 543-546(1999)
- 菊池正紀, 田中順三, “有機/無機複合人工骨材料の開発”, 有機・無機ハイブリッド材料・技術資料集, 260-264 (1999)
- 田中順三, 菊池正紀, “コラーゲンと無機化合物の複合化”, 表面科学, 20-9, 18-24(1999)
- 生駒俊之, 山崎淳司, 赤尾勝, 田中順三, “高温粉末X線回折による水酸アパタイトのRietveld解析”, 理学電気ジャーナル, 30-2, 24-29(1999)
- 大橋直樹, 大垣武, 中田智数, 鶴見敬章, 関口隆史, 羽田肇, 田中順三, “Cathodoluminescence and photoluminescence of zinc oxide single crystals grown by a flux method”, *J.Kore.Phys.Soc.*, 35, s287-290(1999)
- 大橋直樹, 寺田佳弘, 大垣武, 鶴見敬章, 福長脩, 羽田肇, 田中順三, “Fabrication of ZnO bi-crystals with twist boundary using Co doped ZnO single crystals”, *J.Kore.Phys.Soc.*, 35, S213-215(1999)
- 河野哲夫, 磯部徹彦, 仙名保, 西原隆治, 田中順三, “(Ba,Sr)TiO₃ solid solution thin-films grown by a molecular beam epitaxy method”, *Thin Solid Films*, 352, 57-61(1999)
- 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, 伊藤聰一郎, 市ノ瀬志津子, 四宮謙一, 平岡陽介, 萬代佳宣, 中谷伸一, “The biomimetic synthesis and biocompatibility of self-organized hydroxyapatite/collagen composites”, *Bioceramics* 12, 393-396(1999)
- 末次寧, 田中順三, “Crystal growth of carbonate apatite using CaCO₃ flux”, *J. Material Sci.: J. Materials in Medicine*, 10, 561-566(1999)
- 菊池正紀, 藤沢章, 服部昌晃, “バイオセラミックスの新しい応用”, *セラミックス*, 34, 42-46(1999)
- 李相勲, 田中順三, “Effect of citric acid on the nucleation of hydroxyapatite in a simulated body fluid”, *Biomaterials*, 20, 2155-2160(1999)
- H.-Kim, K.Kishimoto, F.Miyaji, T.Kokubo, T.Yao, Y.Suetsugu, J.Tanaka, T.Nakamura, “Composition and structure of the apatite formed on PET substrates in SBF modified with various ionic activity products”, *J.of Biomedical Materials Research*, 46, 228-235(1999)
- 田中順三, 菊池正紀, 伊藤聰一郎, 市ノ瀬志津子, “自己組織化現象による新規骨材料の生体適合化”, 日本ME学会雑誌論文号, 37, 4(1999)
- 藤原康裕, 磯部徹彦, 仙名保, 田中順三, “Effects of reduced coordination number for Ca on the Electron redistribution during Ca-O-Si Bridge bonding from CaO or Ca(OH)₂ and SiO₂”, *The journal of physical chemistry* 103-48, 9842-9846(1999)
- 羽田肇, 坂口勲, 渡辺昭夫, 石垣隆正, 田中順三 “Oxygen Diffusion in Single-and Poly-Crystalline Zinc Oxides” *Journal of Electroceramics* 4:S1, 41-48(1999)
- 高久田和夫, 小山富久, 松本裕子, 宮入裕夫, 伊藤聰一郎, 四宮謙一, 菊池正紀, 田中順三, 永岡勝好, 小坂俊文, 田中茂男, “アパタイト/コラーゲン複合体による骨再建” *Journal of Oromaxillofacial Biomechanics* 5-1, 37-38(1999)
- 菊池正紀, 田中順三, “ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の自己組織化的合成と骨反応” *Journal of Oromaxillofacial Biomechanics* 5-1, 33-34(1999)
- 川瀬清, 田中順三, 広田和士, 横沢洋, 西原克成, “Studies on Development of Biocompatible Biomaterials by Means of Experimental Evolu-

- tionary Studies" Journal of Oromaxillofacial Biomechanics 5-1, 41-42 (1999)
- 伊奈幸雄, 門間英毅, 佐藤公泰, 末次寧, 田中順三
"AFM Observation of the Surface of Hydroxyapatite Single Crystal with and without L-B Monolayers" Transaction of Materials Research Society of Japan 24-4, 639-642 (1999)
- 伊藤聰一郎, 河内敏行, 高久田和夫, 小山富久, 松本祐子, 宮入裕夫, 市ノ瀬志津子, 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, "ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の生体親和性と骨伝導能", The Third Symposium on Tissue Engineering for Hard Tissues", 35-38 (1999)
- 野村雅信, 一ノ瀬昇, 山地克彦, 羽田肇, 田中順三,
"Structure Simulation on Boundaries in Sr TiO₃ Bicrystals by Molecular Dynamics Calculation", Journal of Electroceramics, 4-s1, 91 (1999)
- S. Sekiguchi, M. Fujimoto, Min-Gu Kang., S. Koizumi, Sung-Bae Cho, and J. Tanaka, "Structure analysis of SrTiO₃(111) polar surface", Jpn. J. Appl. Phys. Vol. 37, 4140-4143 (1998)
- 羽田肇, 坂口勲, 渡辺明彦, 石垣隆正, 田中順三,
"Oxygen Diffusion in Single-and Poly-Crystalline Zinc Oxides", Journal of Electroceramics, 4-s1, 41-48 (1999)
- 高久田和夫, 小山富久, 松本裕子, 宮入裕夫, 伊藤聰一郎, 四宮謙一, 菊池正紀, 田中順三, 永岡勝好, 小坂俊文, 田中茂男, "Bone Reconstruction with Hydroxyapatite/Collagen" International Workshop on Bio-integrated Materials & Tissue Engineering, 72-73 (2000)
- 佐藤公泰, 熊谷友里, 田中順三, "Apatite formation on organic monolayers in simulated body environment", Journal of Biomedical Materials Research, 50-1, 16-20 (2000)
- Y. Fujiwara, T. Isobe, M. Senna and J. Tanaka, "A molecular orbital approach toward soft-mechanical synthesis from the view point of heterometalloxane bonds under mechanical stressing," Trans. J. Mater. Res. Soc. 25(1), 139-142 (2000)
- 田中順三, 菊池正紀, 生駒俊之, "自家骨に替わる複合材料", マテリアルインテグレーション, 13-2, 7-12 (2000)
- 田中順三, 田畠泰彦, "生体材料", インテリジェント・古薗勉, 菊池正紀, 田中順三 "バイオセラミックス の開発動向" ファインセラミックス, 18-2, 38-42 (2000)
- 藤原康裕, 磯部徹朗, 仙名保, 田中順三, "A Molecular Orbital Approach Toward Soft - Mechanochemical Synthesis From The View Point Of Hetero-Metalloxane Bonding Under Mechanical Stressing", Transaction of the Materials Research Society of Japan, 25-1, 139-142 (2000)
- 菊池正紀, 田中順三, 伊藤聰一郎, 四宮謙一, 小山富久, 高久田和夫, 宮入裕夫, "骨系細胞誘導機能をもつ HA/Collagen ナノコンポジットの Biomimetic 合成" インテリジェント材料, 10-1 (2000)
- 李相勲, 田中順三, "Effect of Chondroitin Sulfate on the Crystal Growth of Hydroxyapatite", J. of American Ceramic Society, 83-8, 2100-2102 (2000)
- 田中順三, 菊池正紀, "セラミックス材料", 金属系バイオマテリアルの基礎と応用, アイピーシー出版, 554-569 (2000)
- 李相勲, 田中順三, "Hydroxyapatite formation on cellulose cloth induced by citric acid", J. of Materials Science: MATERIALS IN MEDICINE 11, 449-452 (2000)
- 大橋直樹, 田中順三, "固/固界面の特徴", 界面ハンドブック, NTS, (2000)印刷中
- 佐藤公泰, 末次寧, 田中順三, 伊奈幸雄, 門間英毅, "The surface structure of hydroxyapatite single crystal and the accumulation of arachidic acid", J. of Colloid and Interface Science, 224, 23-27 (2000)
- 伊藤聰一郎, 松原正明, 河内敏行, 中村浩, 雪竹修司, 四宮謙一, 市ノ瀬志津子, 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, "ハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の合成と生体親和性", The 2nd symposium on tissue engineering for hard tissues 46-51 (1999)
- 田中順三, 植村寿公, "無機材料", 蛋白質 核酸 酶素, 45-13, 156-161 (2000)
- 羽田肇, 田中順三, "ハイブリッド材料", 物理学辞典 (培風館) (2000) 印刷中
- 牧英之, 一ノ瀬昇, 大橋直樹, 羽田肇, 田中順三, "The lattice relaxation of ZnO single crystal (0001) surface", Surface science, 457, 377-382 (2000)
- 仙名保, 藤原康裕, 磯部徹朗, 田中順三, "Molecular dynamic-molecular orbital combined study on the solid state interfacial reaction under mechanical stressing", Proceedings of International symposium on reactivity of solids, ブダペスト,

- (2000.8.) 印刷中
 伊藤聰一郎, 四宮謙一, 高久田和夫, 小山富久, 松本裕子, 菊池正紀, 末次寧, 田中順三, “荷重部位へのハイドロキシアパタイト/コラーゲン implant 移植実験”, 日整会誌74-8(2000)頁表示なし
 佐藤公泰, 小暮敏博, 生駒俊之, 熊谷友里, 田中順三, “Atomic scale interfacial structure of hydroxyapatite observed with high-resolution transmission electron microscopy”, Proceedings of the 13th International Symposium on Ceramics in Medicine, 283-286(2000)
- Y. Fujiwara, T. Isobe, M. Senna and J. Tanaka, “A molecular orbital study on the formation of hetero-o-metallocxane bonds under mechanical stressing,” *Mater. Sci. Forum* 343-346, 447-452 (2000)
- Sang-Hoon Rhee, Jae Do Lee, 田中順三, “Nucleation of Hydroxyapatite Crystal through Chemical Interaction with Collagen” *J. of American Ceramic Society*, (2000.8.21 accepted)
- 伊藤聰一郎, 高久田和夫, 小山富久, 松本裕子, 一ノ瀬志津子, 河内敏行, 四宮謙一, 田中順三, 菊池正紀, “Osteoconductive activity of a novel hydroxyapatite/collagen composite biomaterial”, *J. of Biomedical Materials Research* (2000.8/25 accepted)
- 菊池正紀, 田中順三, 伊藤聰一郎, 市ノ瀬志津子, 小山富久, 高久田和夫, 長岡勝好, 田中茂男, “Preparation of Hydroxyapatite/Collagen Composites Using Biomimetic Process and Their Biocompatibility”, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* Vol. 599, 51-53 (2000)
- 西原克成, 田中順三, “骨髄造血の発生と重力作用”, *バイオミメティックスハンドブック*, 430-435, エヌ・ティー・エス (2000)
- 田中順三, 生駒俊之, “骨・軟骨材料の自己組織化”, *バイオミメティックスハンドブック*, 436-440, エヌ・ティー・エス (2000)
- 菊池正紀, 田中順三, “コラーゲンと無機化合物”, *バイオミメティックスハンドブック*, 479-482, エヌ・ティー・エス (2000)
- 西原克成, 田中順三, “ハイブリッド型人工歯根の開発－セメント質・歯根質・固有歯槽骨の再生”, *バイオミメティックスハンドブック*, 502-507, エヌ・ティー・エス (2000)
- 萬代佳宣, 平岡陽介, 田中順三, 菊池正紀, “生体骨に近い生物特性をもつアパタイト/コラーゲン複合体製人工骨”, *工業材料*, 48-11, 77-80 (2000)
- 菊池正紀, 伊藤聰一郎, 市野瀬志津子, 四宮謙一, 田中順三, “Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesize vitro and its biological reaction”, *Biomaterials*.
- 末次寧, 高橋靖彦, 岡村富士夫, 田中順三, “Structure Analysis of A-Type Carbonate Apatite by a Single Crystal X-Ray Diffraction Method”, *J. Solid State Chem.*
- Toshiyuki Ikoma, Yoshinori Kubo, Atushi Yamazaki, Masaru Akao, Junzo Tanaka, “Effect of Carbonate Contents on Crystal Structure of A-Type Carbonate Apatites” *Proceedings of the 13th Int. Symp. on Ceramics in Medicine*, Italy, 22-26 Nov. 191-194 (2000)
- Yasushi Suetsugu, Toshiyuki Ikoma, Junzo Tanaka, “Single Crystal Growth and Structure Analysis of Monoclinic Hydroxyapatite” *Proceedings of the 13th Int. Symp. on Ceramics in Medicine*, Italy, 22-26 Nov. 287-290 (2000)
- K. Nishihara, T. Ueda, J. Tanaka, K. Hirota, “Development of Revolutionizing Methods for Hybrid-Type Artificial Organs by Means of Bioceramics and Biomechanics” *Proceedings of the 13th Int. Symp. on Ceramics in Medicine*, Italy, 22-26 Nov. 893-896 (2000)
- Tsuyoshi Kijima, Keisuke Yamaguchi, Akira Miyata, Mitsunori Yada, Masato Machida, Junzo Tanaka, “Crystallization of Calcium Phosphate Templatized by α -Amino Acids Depending on Their Composition, Chain Length, and Enantiomerism” *Chem. Lett.*, 1324-1325 (2000)
- Walsh D, Chapter 1: Morphology and Structure; Section 5: From Biomineralization to Biomimetics. In: “*バイオミメティックスハンドブック*”, NTS, 58-69, (2000)
- 早乙女進一, 植村寿公, 小島弘子, 伊藤聰一郎, 高久田和夫, 四宮謙一, 菊池正紀, 田中順三, 立石哲也, “タンパクの担体としてのハイドロキシアパタイト/コラーゲン複合体の性質” *Bionic Design Workshop 2000 Poster Session*, 26 (2000)
- 古薗勉, 園田賢作, 田中順三, “Nucleation of Hydroxyapatite on an Inert Polymer Surface by

- Covalent Linkage", Transaction of the Materials Research Society of Japan, 25-4, 915-918 (2000)
- 佐藤公泰, 田中順三, "バイオミネラリゼーション", ナノテクノロジーの最新技術, C・M・C 出版, (2001) in printing
- Tatsuro Karita, Kou Imachi, Tetsushi Taguchi, Mitsuru Akashi, Kimiyasu Sato, Junzo Tanaka, "In vitro Calcification Model (2): Apatite Formation on Segmented Polyurethane Thin Films by Using an Alternate Soaking Process: The Effect of Adsorbed Serum Proteins on Calcification", J. of Bioactive and Compatible Polymers, 15 -May, 231-244 (2000)
- 伊藤聰一郎, 菊池正紀, 高久田和夫, 小山富久, 松本裕子, 市ノ瀬志津子, 田中順三, 河内敏行, 四宮謙一, "The biocompatibility and osteoconductive activity of a novel hydroxyapatite/collagen composite biomaterial, and its function as a carrier of rhBMP-2", J. of Biomedical Material Research, 54, 445-453 (2001)
- 李相勲, 田中順三, "Synthesis of a Hydroxyapatite/Collagen/Chondroitin Sulfate Nanocomposite by a Novel Precipitation Method", J. Am. Ceram. Soc., 84, 2, 459-461 (2001)
- 河合潤, 田中順三, "セラミックス", オージェ電子分光法, 丸善株式会社, 161-180 (2000)
- Walsh D, Furuzono T, Tanaka J, "Preparation of porous composite implant materials by in situ polymerisation of porous apatite containing (-caprolactone or methyl methacrylate)", Biomaterials in press (2001)
- Walsh D, Tanaka J, "Preparation of a bone-like apatite foam cement", J Mat Sci: Mat in Med (12) 1-5, (2001) in press
- Furuzono T, Walsh D, Sato K, Sonoda K, Tanaka J, "Effect of reaction temperature on the morphology and size of hydroxyapatite nanoparticles in an emulsion system", J. Mater. Sci. Lett. in press
- 特願平08-193771(1996.07.23)
公開平10-000229(1998.01.06)
- “乳酸系複合体及びその製造方法”
菊池正紀, 田中順三, 末次寧, 柿沢保利*, 志方紀樹*
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平08-288822(1996.10.30)
公開平10-127751(1998.05.19)
- “生体適合性複合体”
菊池正紀, 田中順三, 末次寧, 柿沢保利*, 志方紀樹*
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平08-288823(1996.10.30)
- “乳酸系纖維”
田中順三, 末次寧, 柿沢保利*, 志方紀樹*
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平08-288824(1996.10.30)
特開平10-130952(1998.05.19)
- “吸収性遮断膜”
田中順三, 末次寧, 菊池正紀, 柿沢保利*, 志方紀樹*
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平09-72475(1997.03.25)
- “生体吸収性複合形物, 生体吸収性材料およびそれらの製造方法”
柿沢保利*, 志方紀樹*, 田中順三, 末次寧, 菊池正紀,
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平09-107663(1997.04.24)
特開平10-298108(1998.11.10)
- “生体適合性複合体”
柿沢保利*, 志方紀樹*, 田中順三, 末次寧, 菊池正紀,
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平09-211012(1997.08.05)
特開平10-179715(1998.07.07)
- “吸収性遮断膜”
柿沢保利*, 志方紀樹*, 田中順三, 末次寧, 菊池正紀
*大日本インキ化学工業株式会社
特願平10-6120(1998.01.14)
公開平10-324641(1998.12.08)
- “有機無機配向性複合材料の製造方法”
田中順三, 末次寧, 菊池正紀, 趙晟佰, 森村正博¹, 中谷伸一¹, 萬代佳宣¹
1 新田ゼラチン株式会社
特願平10-007904(1998.1.19)
公開平11-199209(1999.07.27)

8. 2 特許出願

- “骨誘導能ないしは伝導能を有する薬剤徐放可能な生体活性生体吸収型有機無機複合体”
田中順三, 末次寧, 菊池正紀, 柿沢保利*, 志方紀樹*
*大日本インキ化学工業株式会社

リン酸炭酸カルシウムに関する研究

“アパタイトコーティング有機材料の製造方法”

田中順三, 菊池正紀, 森村正博*, 佐藤公泰

*新田ゼラチン株式会社

特願平10-188295(1998.06.17)

公開平2000-005298(2000.1.11)

“新規グリコサミノ無機結合体、その製造方法及びそれを含む医療材料”

田中順三, 菊池正紀, 末次寧, 李相勲*, 宮崎匡輔**

* 韓国化学研究所

* * 生化学工業株式会社

特願平11-112708(1999.3.15)

特開2000-264610(2000.09.26)

“リン酸カルシウム系多孔質焼結体とその製造方法”

井村浩一¹, 上本英雄¹, 北條顯道¹, 田中順三, 菊池正紀, 末次寧, 山崎拓², 木下雅美², 箕輪信昭²

1 東芝セラミックス株式会社

2 東芝電興株式会社

特願平11-105579 (1999.4.13)

特開2000-302567(2000.10.31)

※譲渡手続き=特願2000-313472(2000.10.13)

“生体材料”

田中順三, 菊池正紀, 宮本公博*, 諏訪修司**, 市川俊二**

* 川澄バイオサイエンス株式会社

* * 川澄化学工業株式会社

特願平11-230348(1999.08.17)

“癒着防止材料”

田中順三, 菊池正紀, 宮本公博¹, 諏訪修司¹, 市川俊二¹, 横山悦郎¹, 昭野聰一², 岡田隆雄², 今村有賀里²

1 川澄化学株式会社, 2 多木化学株式会社

特願2000-002240(2000.1.11)

“リン酸カルシウム系生体用セラミック焼結体およびその製造方法”

田中順三, 菊池正紀, 生駒俊之, 北條顯道¹, 井村浩一¹, 上本英雄¹, 山崎拓², 木下雅美², 箕輪信昭²

1 東芝セラミックス株式会社,

2 東芝電興株式会社

特願2000-010943(2000.1.19)

“骨再生誘導材料”

高久田和夫¹, 小山富久¹, 田中茂男², 田中順三, 菊池正紀, 宮本公博³, 白濱憲昭³, 伊藤貴俊³, 市川俊二³, 横山悦郎³, 昭野聰一⁴, 岡田隆雄⁴, 今村有賀里⁴

1 東京医科歯科大学, 2 日本大学,

3 川澄化学株式会社, 4 多木化学株式会社

特願2000-185878(2000.6.21)

“組織再生マトリックス用グリコサミノグリカン-ポリカチオン複合体とその製造方法”

田中順三, 田口哲志*, 宮崎匡輔**, 佐倉義幸**, 大塚龍郎***, 萬代佳宣***

* 科学技術振興事業団

* * 生化学工業株式会社

* * * 新田ゼラチン株式会社

特願2000-273187(2000.9.8)

“ハイドロキシアパタイトナノ粒子およびその製造方法”

田中順三, 古薗勉¹

1 国立循環器病センター

特願2000-333638(2000.10.31)

“リン酸カルシウム系多孔質焼結体とその製造方法”

田中順三, 菊池正紀, 生駒俊之, 北條顯道¹, 井村浩一¹, 上本英雄¹, 山崎拓², 木下雅実², 箕輪信昭²

1 東芝セラミックス株式会社

2 東芝電興株式会社

“生体組織材料を処理する交互浸漬装置および交互浸漬方法”

坂根正孝, 横山能周, 田中順三, 福崎裕延, 太田邦博, 山口勇, 菊池正紀, 生駒俊之

特願2001-17694

8. 3 受賞・表彰

1995年5月19日 (社)日本セラミックス協会 学術賞

“セラミックス粒界の組成・電子状態評価法の確立と界面電子状態の解明に関する研究” 田中順三

1997年4月1日 (社)日本セラミックス協会 セラモグラフィック賞 学術部門銀賞 関口象一、姜敏求、趙晟佰、田中順三

1997年4月16日 科学技術庁長官賞 研究功績者表彰 “生体骨と置換可能な有機向き複合体人工骨に関する研究” 田中順三

1998年5月26日 (社)粉体粉末冶金協会 研究功績賞 “無機材料粒界のミクロ状態に関する研究” 田中順三

1999年5月21日 (社)日本セラミックス協会 優秀論文賞 “プラセオジム及びコバルト添加酸化亜鉛バリスターのオージェ電子スペクトル” 大橋直樹、田中滋、鶴見敬章、田中順三、福長脩

2000年3月16日 インテリジェント材料シンポジウム 高木賞

“The Biomimetic Synthesis of Hydroxyapatite/Collagen Nanocomposites With Bone-Related

Cell Inductive Property” 菊池正紀、田中順三、伊
藤聰一郎、四宮謙一、小山富久、高久田和夫、宮入
裕夫

2000年4月29日 市村学術賞 貢献賞
“自己組織化機構による有機・無機複合構造対の創
出” 田中順三、菊池正紀

発行日 平成14年2月28日

無機材質研究所研究報告書第120号
リン酸炭酸カルシウムに関する研究

編集・発行 独立行政法人 物質・材料研究機構
〒305-0044 茨城県つくば市並木1丁目1番
電話 0298-58-5616
FAX 0298-55-2142
