

水酸アパタイトの生体活性ガラス上の析出に
おける電気分極の影響

天岡, 恵美子 / AMAOKA, Emiko

(発行年 / Year)

2006-03-24

(学位授与年月日 / Date of Granted)

2006-03-24

(学位名 / Degree Name)

修士(工学)

(学位授与機関 / Degree Grantor)

法政大学 (Hosei University)

2005 年度 修士論文

水酸アパタイトの生体活性ガラス上の
析出における電気分極の影響

THE EFFECT OF ELECTRICAL POLARIZATION ON THE PRECIPITATIONS
OF HYDROXYAPATITE ON BIOACTIVE GLASS

指導教員

守吉佑介 教授

山下仁大 教授 (東京医科歯科大学)

中村聡 助手 (東京医科歯科大学)

Jukka I Salonen 教授 (Turku University)

法政大学大学院 工学研究科
物質化学専攻 修士課程

04R2102

アマカ エミコ
天岡 恵美子

目次

1. 序論	1
1.1 研究背景	1
1.2 研究目的	2
1.3 生体材料	3
1.4 生体活性ガラス	5
1.4.1 骨修復用材料	5
1.4.2 歯修復用材料	8
2. 生体活性ガラス MBG サンプル	9
2.1 X線回折(XRD)による解析	9
3. 生体活性ガラス MBG の電気的特性評価	11
3.1 複素インピーダンス測定	11
3.1.1 はじめに	11
3.1.2 イオン導電率および活性化エネルギーの算出	11
3.1.3 実験方法	14
3.1.4 結果および考察	14
3.2 電気分極	21
3.2.1 電気分極処理	21
3.3 熱刺激脱分極電流(TSDC)測定	23
3.3.1 はじめに	23
3.3.2 蓄積電荷量と活性化エネルギーの算出	23
3.3.3 実験方法	25
3.3.4 結果および考察	26
4. 分極 MBG の生体活性評価	27
4.1 擬似体液(SBF)について	27
4.2 実験方法	29
4.2.1 SBF 作製方法	29
4.2.2 SBF 浸漬方法	29
4.3 結果および考察	30
4.3.1 X線回折(XRD)による解析	30
4.3.2 走査型電子顕微鏡(SEM)による解析	30

4.3.3 エネルギー分散型 X 線分析(EDS)による解析	30
4.3.4 フーリエ変換赤外吸収分光光度計(FT-IR)による解析	31
4.3.5 高周波誘導結合プラズマ発光分析(ICP)による解析	31
4.4 分極 MBG 高生体活性ガラス S53P4 の生体活性評価	48
4.5 SBF 中での分極 MBG における水酸アパタイト析出機構	50
5. 結論	55
6. 参考文献	56
7. 研究発表履歴	58
8. 謝辞	59

1. 序論

1.1 研究背景

疾病や事故により、骨を損傷、損失すると骨移植が適用される。自家骨移植だけでは、骨量が不足する場合や変形関節症により、骨置換が必要な場合には人工骨移植が行われる。また、近年問題となっている高齢化社会における骨粗鬆症や骨疾患に対する有効な骨置換材料(人工骨)の開発が期待されている。

現在、歯科医療や整形外科医療で人工歯根、人工骨、骨補填材、人工関節に幅広く臨床応用されている材料としては、アルミナ(Al_2O_3)、ジルコニア(ZrO_2)、Bioglass[®]、水酸アパタイト($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; HA)、リン酸三カルシウム($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; α -TCP、 β -TCP)などが挙げられる。なかでもHAは生体硬組織である骨や歯の無機主成分に近いこと、優れた生体親和性および生体活性を示し、自家骨と直接化学結合する。しかし、HAは結晶性が高いため、生体内においてほとんど溶解性や吸収性を示さないことから骨置換材料としては不向きであるといえる。

一方、Bioglass[®]などの生体活性ガラスは、組成を適当に選ぶことにより、骨や軟組織との適合性を変化させることができ、目的に応じての使い分けが可能であること、生体活性の極めて高い材料を得ることができること、成型加工が容易であること、結晶化ガラスの特徴はガラス組成と析出結晶相を適当に選ぶことにより、高い生体活性に加えて高い機械的切削性や機械的強度を併せ示すものを得ることができることなどにある¹⁾。Bioglass[®]を繊維や顆粒にするとBioglass[®]は結晶化し、生体活性の低下が起こる。トゥルク大学(フィンランド)との共同研究として用いた生体活性ガラスMBGはMgOおよび B_2O_3 を含有することにより、Bioglass[®]よりも繊維や顆粒に成型加工が容易であり²⁾、歯周補綴材や骨補填材としての使用が期待されているが、低生体活性を示すため、臨床応用には至っていない。

一方、近年、山下らはセラミックスの電気分極という画期的な手法に着目し、HAに電気分極処理を施すことで表面に誘起電荷を形成させ、分極表面が高生体活性を発現することを明らかにしている。さらに、HAが高温下において、プロトン導電性を示すことを見出し、HAは電気分極が可能であることを報告している^{3,4)}。分極HAの材料表面に形成された電荷によって、擬似体液(simulated body fluid; SBF)中での骨類似アパタイト結晶形成の促進および生体内における新生骨の形成促進、骨芽細胞様細胞の増殖に対する生体活性が向上することを見出している⁵⁻⁷⁾。また近年では、ナトリウムイオンをキャリアーとしてもつ Bioglass[®]においても電気分極ができ、SBF中における骨類似アパタイト結晶形成の促進を見出していることから^{8,9)}、電気分極によるセラミックスの骨再生促進効果が発現可能であることが示唆され、高生体活性化への応用が期待される。

1.2 研究目的

本研究では、繊維や顆粒に成型加工が容易な生体活性ガラス MBG に着目し、これに骨再生促進効果が発現可能な電気分極という手法を応用することを目的とした。

MBG の電気的特性および分極処理を施した MBG の擬似体液中での挙動について評価した。また分極 MBG と高生体活性なガラス(S53P4)の擬似体液中での生体活性を比較検討した。生体活性ガラス MBG の電気分極が可能となれば、骨再生能を促進させ、骨との結合性を早める新規高生体活性ガラスに成り得ることが期待できる。

1.3 生体材料

生体材料とは、生体内に埋め込んで病気や事故などで失われた生体組織や器官の代替をし、生体機能の回復を計ることを目的とした材料である。

生体不活性材料、生体吸収性材料、生体活性材料の3つに大きく分類される。生体不活性材料とは、生体内で溶解することなく安定に存在する材料であり、アルミナやジルコニアなどが挙げられ、機械的強度や耐久性の高さから人工股関節や人工膝関節などに用いられている。生体活性材料とは、体内で材料表面に骨類似アパタイトを形成し、骨と直接化学結合する材料であり、水酸アパタイト、Bioglass[®]、A-W結晶化ガラスなどが挙げられ、人工骨、骨補填材などに用いられている。生体吸収性材料とは、材料自身が生体内で溶解しながら骨と結合する性質を持っており、リン酸三カルシウムが挙げられる。生体材料の応用例と機能性をTable1,2に示す¹⁰⁾。

Table 1. Biomedical applications of bioceramics.

Devices	Function	Biomaterial
Artificial total hip, knee, shoulder, elbow, wrist	Reconstruct arthritic or fractured joints	High-density alumina, metal bioglass coatings
Bone plates, screws, wires	Repair fractures	Bioglass-metal fiber composite, Polysulfone-carbon fiber composite
Intramedullary nails	Align fractures	Bioglass-metal fiber composite, Polysulfone-carbon fiber composite
Harrington rods	Correct chronic spinal curvature	Bioglass-metal fiber composite, Polysulfone-carbon fiber composite
Permanently implanted artificial limbs	Replace missing extremities	Bioglass-metal fiber composite, Polysulfone-carbon fiber composite
Vertebrae Spacers and extendors	Correct congenital deformity	Al ₂ O ₃
Spinal fusion	Immobilize vertebrae to protect spinal cord	Bioglass
Alveolar bone replacements, mandibular reconstruction	Restore the alveolar ridge to improve denture fit	Polytetra fluoro ethylene (PTFE) - carbon composite, Porous Al ₂ O ₃ , Bioglass, dense-apatite
End osseous tooth replacement implants	Replace diseased, damaged or loosened teeth	Al ₂ O ₃ , Bioglass, dense hydroxyapatite, vitreous carbon
Orthodontic anchors	Provide posts for stress application required to change deformities	Bioglass-coated Al ₂ O ₃ Bioglass coated vitallium

Table 2. Characteristic features of ceramic biomaterials.

Material	Young's Modulus (GPa)	Compressive Strength (MPa)	Bond strength (GPa)	Hardness	Density g/cm ³	K _{1c} (MPam ^{1/2})
Inert Al ₂ O ₃	380	4000	300-400	2000-3000 (HV)	>3.9	5.0-6.0
ZrO ₂ (PS)	150-200	2000	200-500	1000-3000 (HV)	≈6.0	4.0-12.0
Graphite (LTI)	20-25	138	NA	NA	1.5-1.9	NA
Pyrolytic Carbon	17-28	900	270-500	NA	1.7-2.2	NA
Vitreous Carbon	24-31	172	70-207	150-200 (DPH)	1.4-1.6	NA
Bioactive HAP	73-117	600	120	350	3.1	<1
Bioglass	≈75	1000	50	NA	2.5	0.7
AW Glass	118	1080	215	680	2.8	≈2
Ceramic						
Bone	3-30	130-180	60-160	NA	NA	NA

The variation in Young's Modulus noted for some of the materials listed is due to variation in density of test specimens
 PS - Partially Stabilized; HA - Hydroxyapatite; NA - Not Available; AW - Apatite-Wallastonite; HV - Vickers Hardness;
 DPH - Diamond Pyramid Hardness

1.4 生体活性ガラス

1.4.1 骨修復用材料

骨はその 70%が無機質の水酸アパタイトの微粒子からなっている。CaOとP₂O₅を含むガラスは骨の有効な修復材料になり得る。人工材料を骨の欠損部に埋入すると線維性の被膜がこれを取り囲み、周囲の生体系から隔離しようとする。しかしCaO-P₂O₅-SiO₂を主成分とするガラスの中には、その周囲に線維性被膜を全く形成せず生体の骨と直接接し、強い化学結合をつくるものがある。これらは生体活性材料と呼ばれ、その最初に見出されたのはNa₂O-CaO-SiO₂-P₂O₅系のBioglass®である。Bioglass®は骨組織とだけでなく、軟組織とも結合し得る。Bioglass®は、1971年、米国でHenchによって発明され、これまでにない優れた骨親和性を持つセラミックスとして注目を浴びた。機械的強度があまり高くないので、適当な応用域を見出すのに時間を要し、1984年に中耳の耳小骨として、また1987年に歯槽骨埋入材として実用化されるに至った。Bioglass®に次いで1973年にはNa₂O-K₂O-MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅系のガラス中にアパタイト結晶を析出させた結晶化ガラスCeravital®が開発された。1982年にはMgO-CaO-SiO₂-P₂O₅系ガラス中にアパタイト[Ca₁₀(PO₄)₆(O,F₂)]と -ウォラストナイト(CaO・SiO₂)を析出させたA-W結晶化ガラスが開発され、Bioglass®に近い生体活性を示すとともに、水酸アパタイト焼結体なら1分以内に折れると推定される、体液内の応力下で10年間は折れないと推定される。しかし、これらの生体活性材料も、未だ大腿骨のように大きい荷重の加わる部分の骨を置き換えられるまでには至っていない。それらの弾性率が骨より高く、破壊靱性が骨より低く、体内の応力下における機械的強度の低下が大きいためである。ヒトの骨の力学的性質をTable 6に示す。

骨と結合することが未だ確認されていないが、それを期待して開発されたものにCaO-Al₂O₃-SiO₂-P₂O₅系のガラス繊維、β-CaO・P₂O₅結晶が一方向に配列して析出したCaO・P₂O₅組成の結晶化ガラスなどもある。それらの力学的性質をTable 4に示す。

高強度結晶化ガラスも、生体環境下で応力を受け続けると、その機械的強度を低下させる。そこで、より高い生体活性材料を得る試みとして、Bioglass®やCeravital®をステンレスやCo-Cr-Mo合金上に焼き付ける方法、Bioglass®やステンレス繊維によって補強する方法、A-W結晶化ガラスをSiCウイスキーやZrO₂(Y₂O₃)粒子によって強化する方法などが試みられており、A-W結晶化ガラス中にZrO₂(Y₂O₃)粒子を30wt%分散させると、アルミナ焼結体をしのぐ強度を示す生体活性材料も得られると報告されている。

生体活性ガラスは、生体内で体液と反応してその表面に骨に類似した組成および構造の炭酸イオン含有アパタイト微結晶の層を形成する。例えば、A-W結晶化ガラスは、ウォラストナイトとガラス相から溶出したカルシウムイオンとSiイオンが体液中のリン酸イオンと反応して形成される。体液は通常の状態でもアパタイトに対して過飽和であるが、結晶化ガラスから溶出した

カルシウムイオンが体液のアパタイトに対する過飽和度をさらに高め、Siイオンが結晶化ガラス表面にアパタイトの核形成に有利な位置を形成する。体内でその表面に骨類似アパタイト層を作るガラスは、擬似体液中で他の材料と1mm以下の間隔に置かれると、その材料がガラス、セラミックス、金属、有機高分子いずれであってもその表面に骨類似アパタイト層を形成する。アパタイト層を各種基板上にコーティングする試みは、プラズマ溶射法によっても行われているが、本方法は熱処理過程をとまなわないので、生体のアパタイトに近いアパタイト層を形成させることができること、および有機高分子材料上にもアパタイトを形成させることができるなどの特徴を有する¹¹⁾。

Table 3. 生体活性ガラスの種類

A. ガラス	
Bioglass®	(組成例: Na ₂ O 24.5, CaO 24.5, SiO ₂ 45, P ₂ O ₅ 6 wt%) ¹¹⁾
B. 結晶化ガラス	
Ceravital® (結晶相: アパタイト)	
	組成例: Na ₂ O 5~10, K ₂ O 0.5~3.0, MgO 2.5~5.0, CaO 30~35, SiO ₂ 40~50, P ₂ O ₅ 10~50 wt%) ¹¹⁾
A-W (結晶相: アパタイト (Ca(PO ₃) ₂ (O,F)), ウォラストナイト (CaO・SiO ₂))	組成例: MgO 4.6, CaO 44.7, SiO ₂ 34.0, P ₂ O ₅ 16.2, CaF ₂ 0.5 wt%) ¹¹⁾
Implant®-LI (結晶相: アパタイト, ウォラストナイト)	組成例: Na ₂ O 4.6, K ₂ O 0.2, MgO 2.8, CaO 31.9, SiO ₂ 44.3, P ₂ O ₅ 11.2, CaF ₂ 5.0 wt%) ¹¹⁾
A-W-M(ここだけの仮称) (結晶相: アパタイト, β-ウォラストナイト, ジオプサイト (MgO・CaO・2SiO ₂))	組成例: MgO 11.2, CaO 36.0, SiO ₂ 43.8, P ₂ O ₅ 9.2, CaF ₂ 微量 wt%) ¹¹⁾
Bioverit® (結晶相: アパタイト, 金雲母 ((Na,K)Mg ₃ (AlSi ₃) ₃ F ₂))	組成例: Na ₂ O/K ₂ O 3~8, MgO 2~21, CaO 10~34, Al ₂ O ₃ 8~15, SiO ₂ 19~54, P ₂ O ₅ 2~10, F 3~23 mol%) ¹¹⁾
A-A(ここだけの仮称) (結晶相: アパタイト, AlPO ₄ (β-石英型))	組成例: Na ₂ O 24.1~25.7, CaO 24.9~31.2, Al ₂ O ₃ 9.9~14.5, FeO/Fe ₂ O ₃ 1.2~6.2, P ₂ O ₅ 30.7~33.1, F 2.4~2.4 mol%) ¹¹⁾
C. 複合材料	
Bioglassコーティングステンレスまたはアルミナ ¹¹⁾	
Ceravitalコーティングステンレスまたはアルミナ ¹¹⁾	
ステンレススチール繊維強化Bioglass (Na ₂ O 24.5, CaO 24.5, SiO ₂ 45, P ₂ O ₅ 6 wt% ガラス+316ステンレス(100μmφ, 4mm長) 60vol%) ¹¹⁾	
チタン粒子強化結晶化ガラス (結晶相: アパタイト)	
	組成例: SiO ₂ 46.2, Ca(PO ₃) ₂ 25.5, Na ₂ O 4.8, K ₂ O 0.4, MgO 2.9, CaO 20.2 wt% ガラス+チタン(Ti) 粒子30%) ¹¹⁾
SiCウィスカー強化アパタイト, ウォラストナイト析出結晶化ガラス	
	(結晶相: アパタイト, β-ウォラストナイト)
	組成例: CaO 50.4, SiO ₂ 33.6, P ₂ O ₅ 16.0 wt% ガラス +30wt% SiC ウィスカー) ¹¹⁾
ZrO ₂ 粒子強化アパタイト, ウォラストナイト析出結晶化ガラス	
	(組成例: CaO 44.7, SiO ₂ 43.8, P ₂ O ₅ 8.5, MgO 1.5, CaF ₂ 0.5 wt% ガラス+Y ₂ O ₃ 4.65, ZnO 0.10 wt% 含有ZrO ₂ 微粒子) ¹¹⁾

Table 4. 生体活性ガラスの力学的性質

材料	ヤング率(GPa)	曲げ強度(MPa)	圧縮強度(MPa)	破壊靱性(MPa ^{1/2})
Bioglass®	35	42(引張)	—	—
Ceravital®	—	100~150	500	—
A-W	117	180~200	1040	2.0
Implant®-LI	—	170	—	2.5
結晶化ガラスA-W-M	125	270	1100	2.0
Bioverit®	70~88	100~160(Max 200)	500	0.5~1.0
結晶化ガラスA-A	機械的強度は比較的低いと報告されている。			
Bioglass or Ceravital	コーティングステンレス			
	200	600~700(引張)	—	100
Bioglass or Ceravital	コーティングアルミナ			
	380	300~500	5000	3.5~5.0
ステンレス繊維強化Bioglass	65	340	—	—
チタン粒子強化結晶化ガラス	—	—	—	—
SiCウィスカー強化結晶化ガラス	150	460	—	4.3
ZrO ₂ 粒子強化結晶化ガラス	~100	600	—	3.0
CaO-Al ₂ O ₃ -SiO ₂ -P ₂ O ₅ ガラス繊維	—	—	—	—
CaO-P ₂ O ₅ 一方向結晶化ガラス	85	600(乾燥空气中)	—	—

—: 報告なし

Table 5. 生体活性ガラスの応用例

材 料	応 用 例
Bioglass®	人工耳小骨、顎堤維持埋入材
Ceravital®	人工耳小骨
A-W	人工椎体、人工椎間板、人工腸骨 骨充填材、人工歯根
Ilmplant®-Li	顎骨、頭蓋骨補綴材
結晶化ガラスA-W-M	人工歯根
Bioverit®	人工椎体、人工歯根
Bioglassコーティング	
Fe-Co-Cr-Ni合金	人工歯根
チタン粒子強化結晶化ガラス	人工歯根
SiCウィスカー強化結晶化ガラス	人工歯根
ZrO ₂ 粒子強化結晶化ガラス	人工歯根

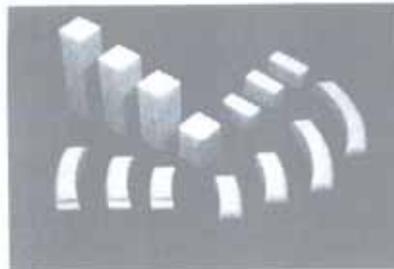


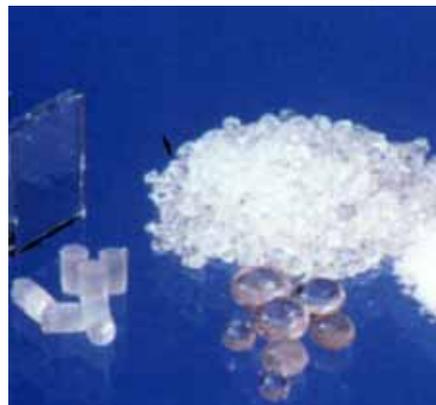
写真. A-W 結晶化ガラスの人工椎間板(右上)および腸骨(下)

Table 6. ヒトの骨の力学的性質

骨	ヤング率	曲げ強度	引張り強度	圧縮強度	破壊靱性
皮質骨	7~30 GPa	160~190 MPa	50~150 MPa	90~230 MPa	2~12 MPam ^{1/2}
海綿骨	0.2~0.3			1~7	

(J. D. Currey, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, No. 73, p.210(1970);
W. Bonfield, *Biomaterials and Clinical Applications*, ed. by A. Pizzoferrato
et al., Elsevier, Amsterdam, 1987, p.13)

Table 7. 生体活性ガラスの様々な形状



1.4.2 歯修復用材料

顎骨内に埋入される歯根材料と歯冠材料に分けられる。歯根材料は顎骨と自然に強く化学的に結合し、顎骨を覆う歯肉や上皮とも強固に結合することが求められる。人工歯根と歯肉の間から雑菌が侵入しないためである。生体活性ガラスは唾液との反応によりその表面にアパタイト層を形成し、それにより歯肉、上皮とも結合し、歯根材料としても有用である。歯冠材料としては、数種の結晶化ガラスが報告されている (Table 8)。融液の状態でもり容易に任意の歯冠の形状のガラスに成型できること、そのガラスを加熱処理することによって形状変化を生じさせることなく、透光性、硬度、弾性率、熱伝導度、熱膨張係数が天然歯に近く、有害イオンを溶出させることなく、天然歯より高い機械的強度を有する人工歯冠に変化させることができるなどの特徴を有する。Table 8 の結晶化ガラスはいずれも天然歯のエナメル質(10.3MPa)よりはるかに高い 100 ~ 300MPaの曲げ強度を有するがそれでも厚さ 1mm以下の歯冠や抜けた歯を挟んだブリッジ型の歯冠を作ることはできない。より機械的強度の高いものの開発が望まれる¹¹⁾。

Table8. 歯冠用結晶化ガラス

名称	組成	結晶相
Dicor	$K_2O-MgO-SiO_2-F$ $K_2O-MgO-B_2O_3-Al_2O_3-SiO_2-F$	金雲母($K_2Mg_3OSi_4O_{12}F$) ²¹⁾
OCC	$Li_2O-Na_2O-MgO-ZnO-Al_2O_3-TiO_2-SiO_2-F$	金雲母($NaMg_3(Si_3AlO_{10})F_2$) ²²⁾ β-スフェジュメン($Li_2O \cdot Al_2O_3 \cdot 4SiO_2$) ²³⁾
CMP	$CaO-Al_2O_3-P_2O_5$	β-CaO · P ₂ O ₅ ²⁴⁾
Crystraceram	$CaO-Al_2O_3-P_2O_5$	β-CaO · P ₂ O ₅ +AlPO ₄ ²⁵⁾
CeraPearl	$MgO-CaO-SiO_2-P_2O_5-F$	アパタイト($Ca_{10}(PO_4)_6(O,F)_2$) ²⁶⁾
Casmic	$MgO-CaO-SiO_2-TiO_2-P_2O_5-F$	アパタイト+チタン酸マグネシウム($MgTiO_3$) ²⁷⁾
Bioran-C	$MgO-CaO-B_2O_3-Al_2O_3-SiO_2-P_2O_5-F$	アパタイト+β-3CaO · P ₂ O ₅ +MgO · CaO · 2SiO ₂ ²⁸⁾

2. 生体活性ガラス MBG サンプル

2.1 X線回折(XRD)による解析

MBG ガラスバルクをダイヤモンドカッターにより切断した後、ダイヤモンドディスク (30-15-6 μ m; 粒径)を用いて、表面を順々に研磨し、サンプルとした。

MBG の組成を以下に示す。

Na₂O: 20.00 wt%

K₂O: 3.75

CaO: 17.50

MgO: 1.50

B₂O₃: 3.00

P₂O₅: 3.00

SiO₂: 51.25

MBG を XRD (PHILIPS PW1700) を用いて分析を行った。
MBG の XRD 結果を Fig 1 に示す。31°付近にハローが見られ、非晶質であることを確認した。
以下に回折条件を示す。

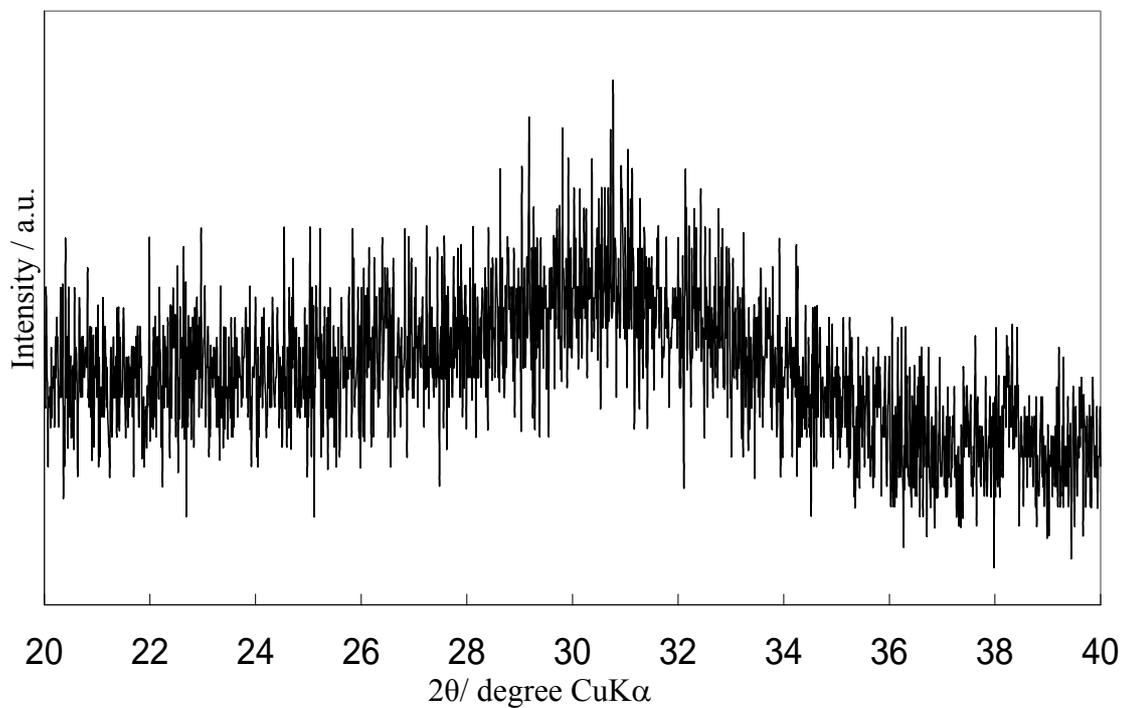


Fig. 1 XRD pattern of MBG surface.

Measurement condition of XRD analysis

Target Cu

Generator settings 40kV, 10mA

Scan mode step 2θ 20° -40°

Step size, sample time 0.010 deg, 2.00s, 0.005 deg/s

Peak angle range 20.000-40.000 deg

3. 生体活性ガラス MBG の電気的特性評価

3.1 複素インピーダンス測定^{12,13)}

3.2 はじめに

導電率の測定法には直流法と交流法がある。直流法は簡便であるが、直流電流によってイオンの分極が起こるような場合、電極の近傍に電圧降下が集中するため、試料本来の導電率の測定は困難である。試料が固体電解質である場合は、電極の界面では電荷の分布が不均一になり易く、電荷の授受に伴って化学反応も進む。電極と試料界面における分極と試料の電気分解が発生し、導電率測定の精度を下げることになる。交流法では、このような反応を避けられるため、導電率を正確に測定することが可能である。直流法ではセラミックスを均一系とみなしてその特性を測定するのに対して、交流法では適切な測定条件下で測定を行うことで、不均一系である多結晶セラミックス中の粒子、粒内および試料と電極の界面のインピーダンス Z を測定することができる。インピーダンスとは電流を流しにくくする要素の総称である。直流では抵抗 R のみであるのに対し、交流では R の他に誘導電荷のインダクタンス L 、コンデンサーのキャパシタンス C がそれぞれ働く。セラミックスは電気の流れに対する抵抗 R と電荷を蓄積する容量 C の各成分から構成されると考えることができ、Fig 2 のような1つ1つの粒子の挙動、粒界の挙動および固体電解質と電極との界面の挙動がそのインピーダンスに現れる。これを等価回路で表すと Fig 3 に示す通りとなる。イオン伝導の妨げとなる抵抗については、粒内(バルク)の抵抗(R_b)、粒界の抵抗(R_{gb})、電荷移動抵抗(R_{ct})が存在し、直流を加えた場合はこれらの抵抗成分を足し合わせたものが全体の抵抗に、交流を加えた場合には、それぞれの挙動の緩和時間が異なるため、別々な周波数応答が現れる。この等価回路のインピーダンスを複素平面上にプロットすると Fig 4 のようになる。抵抗と容量の並列回路を考えると、そのアドミタンス Y (インピーダンス Z の逆数)は次式で表される。

$$Y = \frac{1}{R} + j\omega C \quad (1)$$

従ってインピーダンス Z は

$$\begin{aligned} Z &= \frac{1}{Y} \\ &= \frac{R(1 - j\omega RC)}{1 + \omega^2 R^2 C^2} \end{aligned} \quad (2)$$

となる。 Z の実数部を Z_r 、虚数部を Z_i とおくと、

$$Z_r = \frac{R}{1 + \omega^2 R^2 C^2} \quad (3)$$

$$-Z_i = \frac{\omega R^2 C}{1 + \omega^2 R^2 C^2} \quad (4)$$

ここで(3)と(4)を組み合わせて消去すると、次式(5)で表される円の方程式が得られる。

$$\left(Z_r - \frac{R}{2}\right)^2 + Z_i^2 = \left(\frac{R}{2}\right)^2 \quad (5)$$

この円の半径は $R/2$ 、中心の座標は $(R/2, 0)$ である。よって抵抗と容量の並列回路のインピーダンス応答は Fig 4 で表される実数軸と 0 と R で交わる完全な半円となる。実数軸と半円弧の交点を抵抗 R とした。

3.3 イオン導電率および活性化エネルギーの算出

各温度で観測された半円弧(コール・コールプロット)と Z 軸の交点から R を求め、次式(6)によりイオン導電率 σ を算出した。

$$\sigma = \frac{L}{R \times S} \quad (6)$$

σ :イオン導電率 [$S \cdot cm^{-1}$]、 R :抵抗 [Ω]

L :試料の厚さ [cm]、 S :試料の面積 [cm^2]

試料の活性化エネルギーは、求めたイオン導電率をもとに以下のアレニウスの(7)式によりアレニウスプロットを作成した。

$$\sigma = A \cdot \exp\left(\frac{-Ea}{R \cdot T}\right) \quad (7)$$

A :頻度因子 [$S \cdot cm^{-1}$]、 Ea :活性化エネルギー [$kJ \cdot mol^{-1}$]

R :気体定数 [$J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$]、 T :温度 [K]

ここで頻度因子も温度関数とみなし、自然対数をとることで(8)式が得られる。

$$\ln \sigma = \ln A + \left(\frac{-Ea}{R \cdot T}\right) \quad (8)$$

(8)式より、 $1000 \cdot T^{-1}$ [K^{-1}] を x 軸、 $\ln \sigma$ [$S \cdot cm^{-1}$] を y 軸としてアレニウスプロットを作成し、そのプロットから最小二乗法により傾きを求めた。その傾きに気体定数 R をかけることでイオン伝導の活性化エネルギー Ea を算出した。

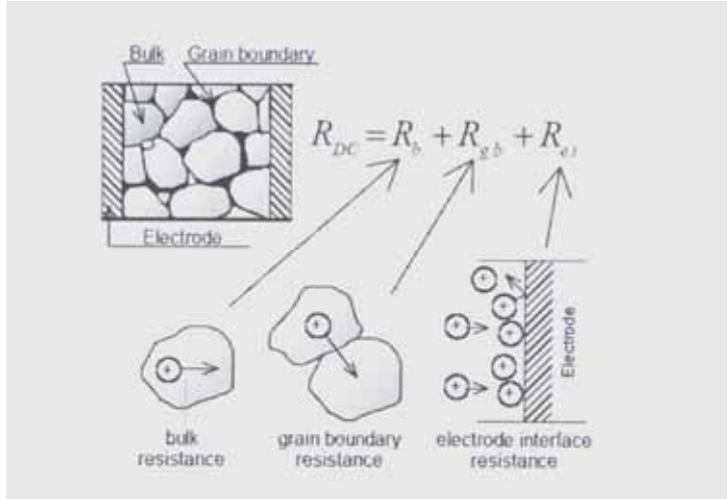


Fig. 2 Schematic figure of ionic conduction in polycrystalline.

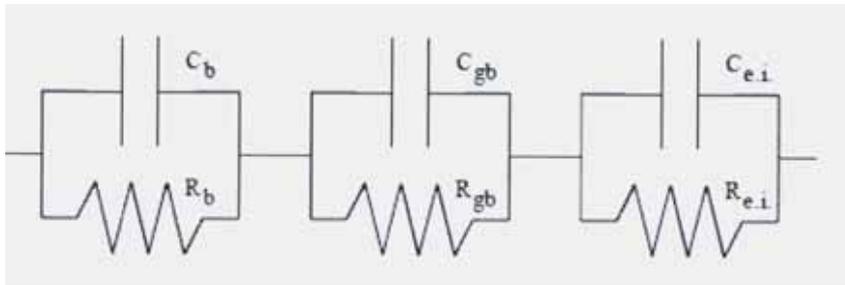


Fig. 3 Equivalent circuit for ionic conduction in polycrystalline sample.

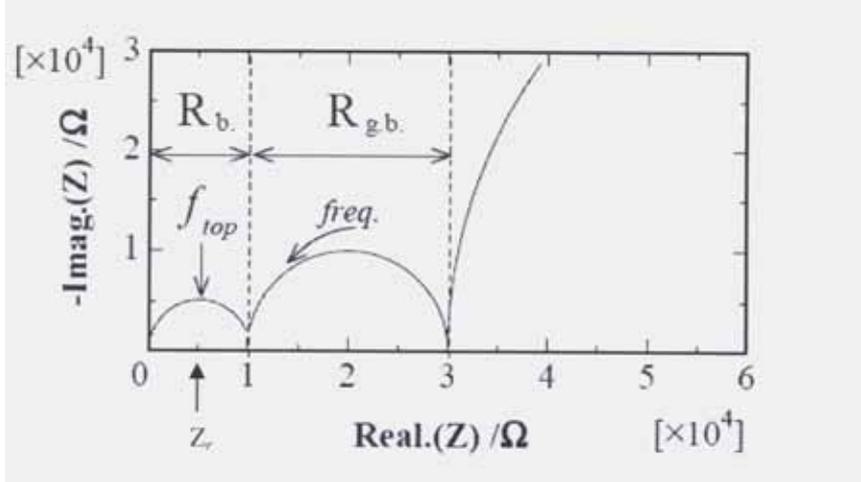


Fig. 4 Example of cole-cole plot for ionic conduction in polycrystalline sample.

3.4 実験方法

MBGサンプル (10x5x1 mm)の両表面に白金をスパッタし、白金板電極で挟み込み、これをアルミナ板で挟み、ステンレス製のクリップで固定し、測定サンプルとした。これをテストリード (HEWLETT PACKARD: 16048A) に つ な ぎ、インピーダンスアナライザー (IMPEDANCE/GAIN-PHASE ANALYZER: HEWLETT PACKARD: 4194A)を用いて、四端子法による複素インピーダンス測定を行った。5°C/minの昇温速度で、室温から 500°Cの範囲で 50°C毎に 10 分間保持し、保持温度にて $10^2\text{Hz} \sim 10^7\text{Hz}$ の周波数を与えてインピーダンスを測定した。

Bioglass®はナトリウムイオン伝導体であり、電気分極によってナトリウムイオンがキャリアとなることが報告されている。MBG においても、その組成からナトリウムイオン伝導体と予測される。

3.5 結果および考察

200°C付近から500°Cの範囲でコール・コールプロットが確認された。コール・コールプロットから得られた抵抗値により、イオン導電率を算出し、アレニウスプロットを Fig 5 に示した。アレニウスの傾きから算出した活性化エネルギーは 1.1eV であった。また各々の温度におけるイオン導電率を Table 9 に示した。

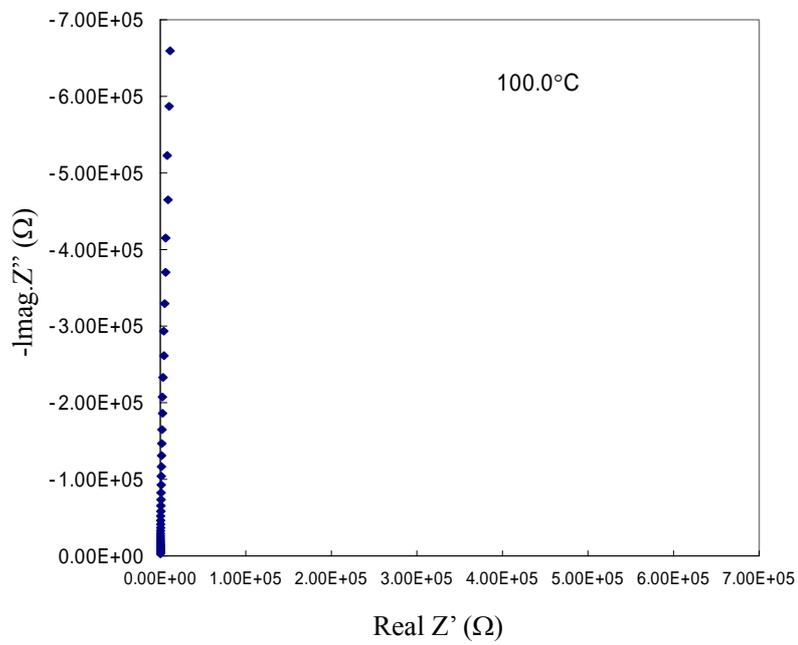
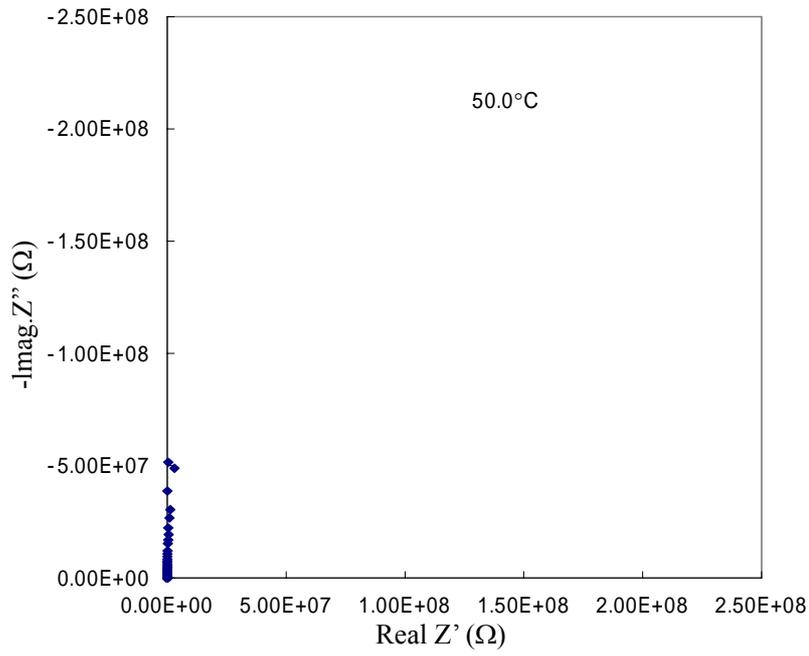


Fig. Complex impedance plots of MBG at various temperatures.

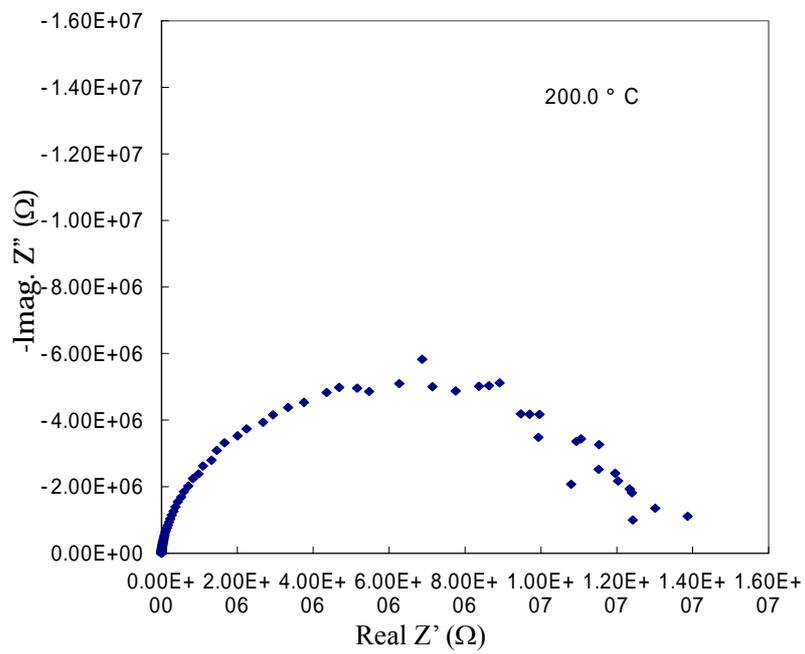
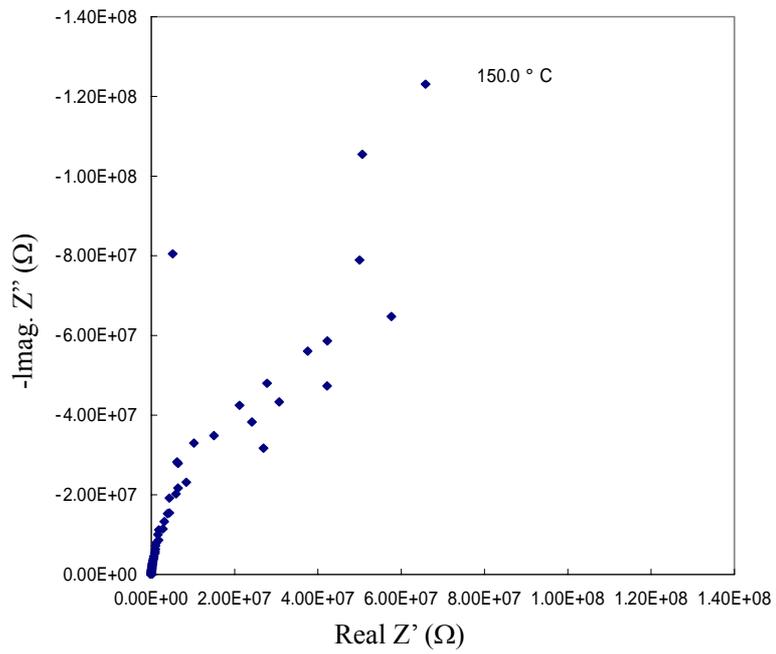


Fig. Complex impedance plots of MBG at various temperatures.

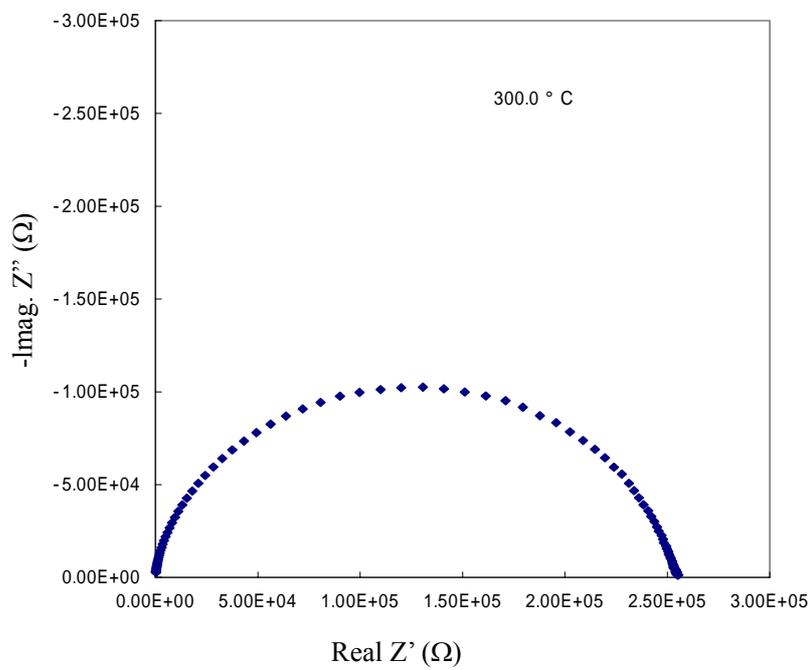
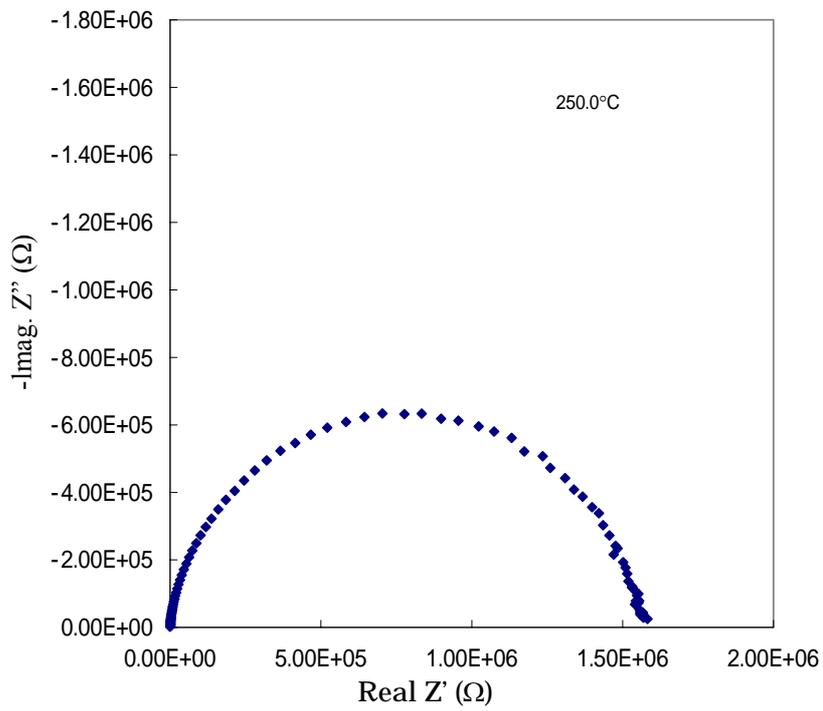


Fig. Complex impedance plots of MBG at various temperatures.

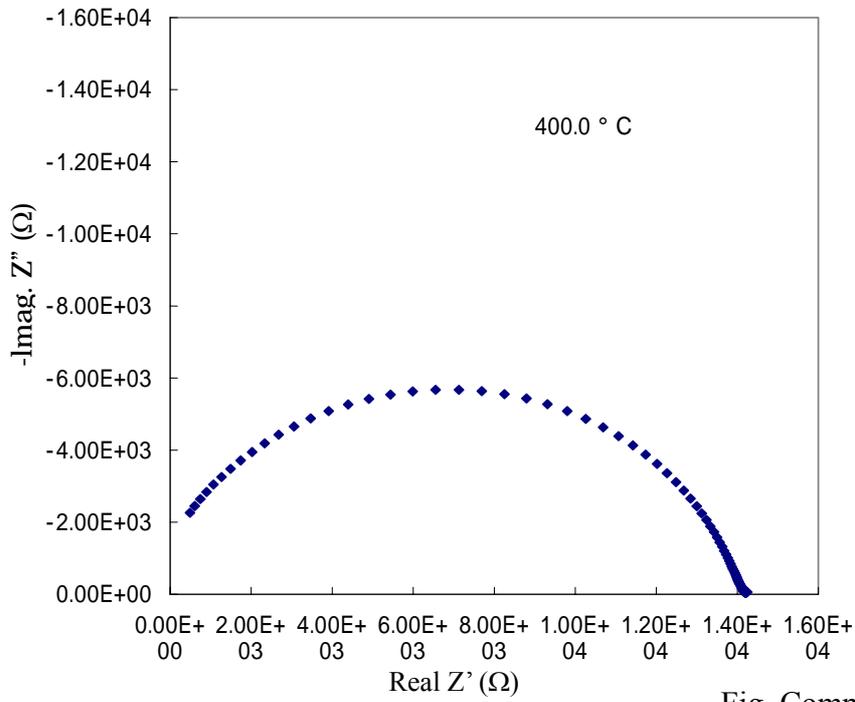
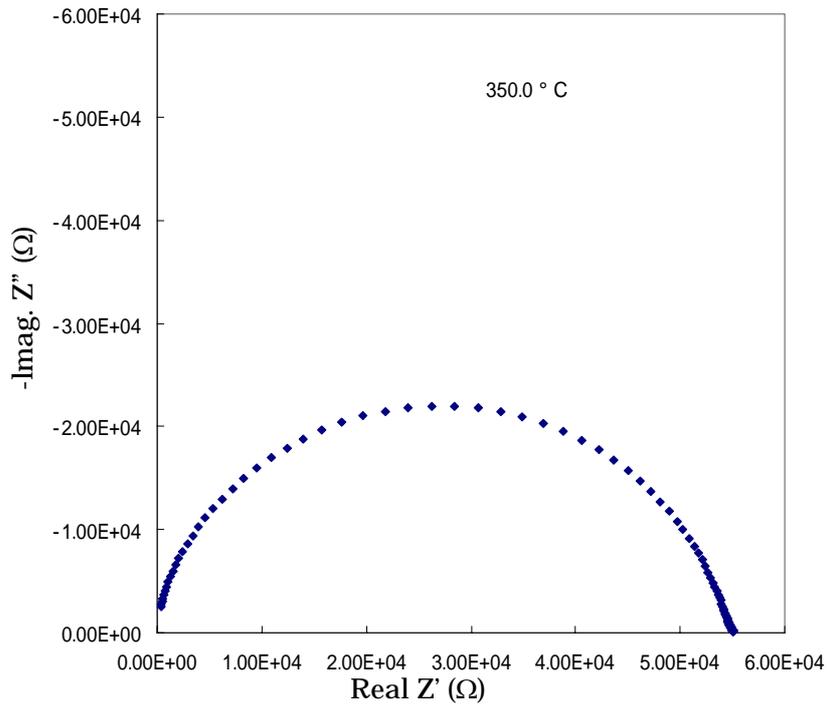


Fig. Complex impedance plots of MBG at various temperatures.

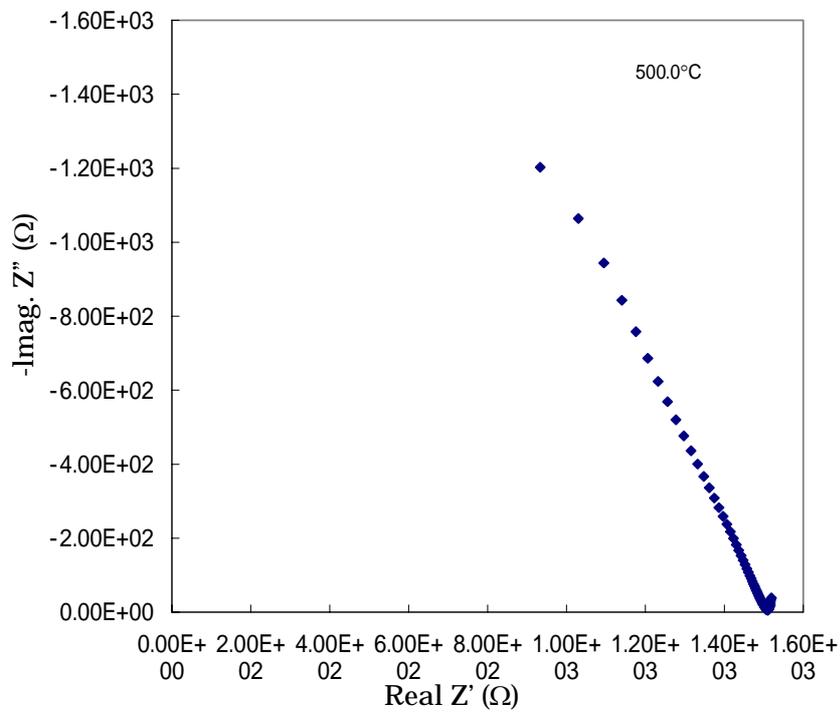
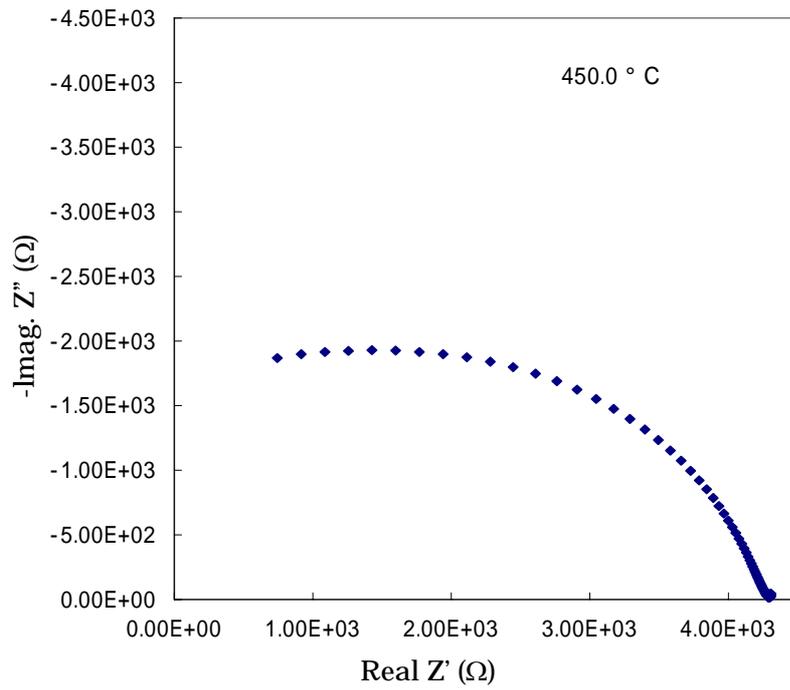


Fig. Complex impedance plots of MBG at various temperatures.

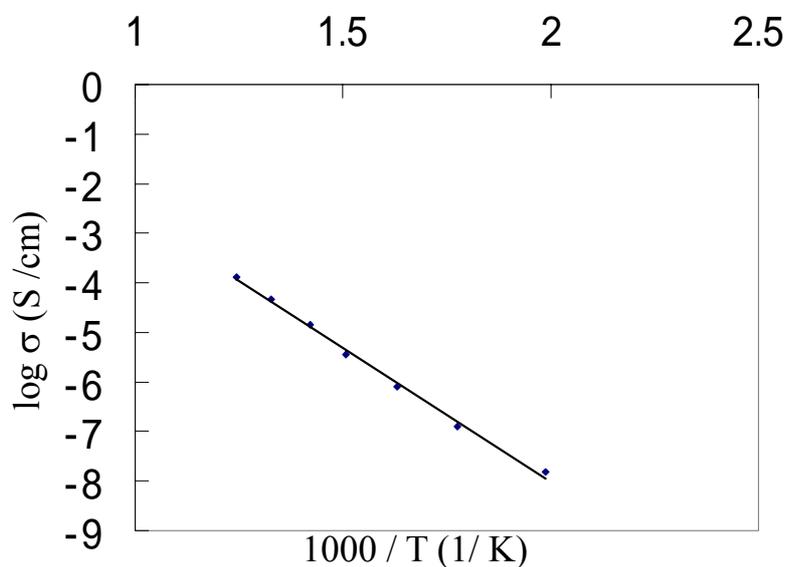


Fig. 5 Arrhenius plot of ion conductivity of MBG.

Table 9. Ion conductivity of MBG.

Temperature (°C)	Resistance (Ω)	Ion conductivity σ (S/ cm)
200	1.27×10^7	1.52×10^{-8}
250	1.53×10^6	1.27×10^{-7}
300	2.44×10^5	7.98×10^{-7}
350	5.34×10^4	3.65×10^{-6}
400	1.38×10^4	1.41×10^{-5}
450	4.12×10^3	4.65×10^{-5}
500	1.51×10^3	1.29×10^{-4}

3.2 電気分極

セラミックス(絶縁体)内の電子、正孔(空孔)およびイオンなどは、外部からの電場によって固体内部にて変位を生じる。固体内部には、電荷の分布に偏り(双極子モーメント)が生じ表面に電荷が誘起される。この現象を分極という。外部からの電界によって電荷の偏りを生じる性質を誘電性といい、この性質を持つ物質を誘電体と呼ぶ。分極はその生じる原因により、以下の3つに大別される。

電子分極: 原子の電子雲の変位に起因する分極

イオン分極: 正負のイオンの相対的な変位に起因する分極

双極子分極(配向分極): 永久双極子モーメントの配向の変化に起因する分極

誘電体に観測される分極はこれらの分極の総和であり、物質によってどの分極が主として働いているか異なる¹⁴⁾。

分極が可能なセラミックスは、従来は固体中に自発的に双極子モーメントを持つごくわずかな強誘電体(チタン酸バリウム)などに限られていた。

分極の原理

外部電界が存在しない状態では、正負のイオンの重心は同一である。これに外部電界をかけると正負の重心が電界の方向にシフトする。この状態で電界を取り去ると電子分極の場合には正負の変位は元の状態に緩和するが、イオン分極では大きくイオンが変位するため分極状態がそのまま保持される。

3.2.1 電気分極処理

分極方法の Fig 6 を以下に示す。MBG サンプル(10x5x1 mm)を白金板電極で挟み込み、管状炉にて 5°C/min の昇温速度で、室温から 350°C まで加熱させた。目的温度まで達した時点で、低電圧電源装置 (HEWLETT PACKARD E3602A DUAL OUTPUT DC POWER SUPPLY) を用いて、直流電界を 1 時間印加し、室温まで降温させ、分極処理を施した。分極緩和を防ぐため、直流電界は室温まで保持した。

負電荷が誘起した MBG の表面を Negatively charged surface から N 面、正電荷が誘起した表面を Positively charged surface から P 面、分極処理を施していない表面を 0 面とした。

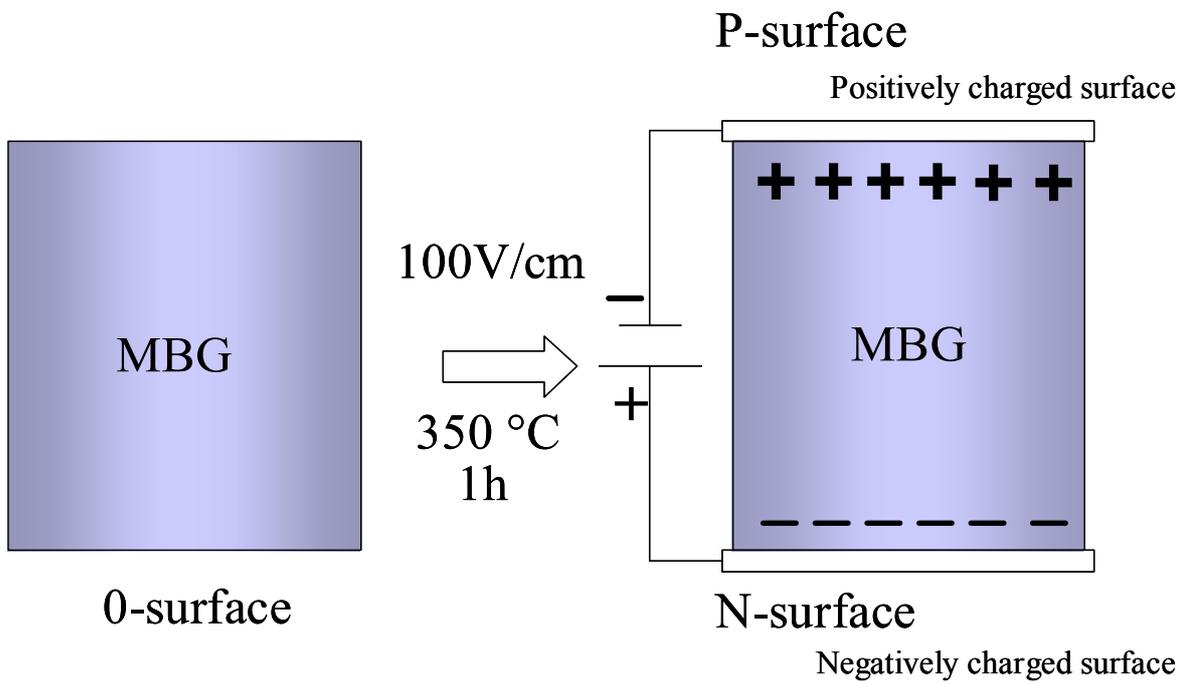


Fig. 6 Schematic illustration of electrical polarization process.

3.3 熱刺激脱分極電流(thermally stimulated depolarization current; TSDC) 測定¹⁵⁾

3.3.1 はじめに

誘電体中の電荷現象や半導体中のトラップ準位の解析に用いられていたが、近年では高分子などの分子運動や緩和過程に応用され、その分解能の高さ、装置の簡便さから注目されている。これは、試料を高温下で電場をかけて分極させ、そのまま降温させ、分極を凍結させた試料を、電場を切った後に、等速昇温させ熱的平衡状態に戻る電荷の時間変化を脱分極電流として観測するものであり、分極させた試料に蓄積された総電荷量を算出することが出来る。本研究では、TSDC 測定を用いて、分極させた MBG の脱分極電流を観測し、TSDC 曲線の面積を積分することにより、蓄積総電荷量を算出した。

3.3.2 蓄積電荷量と活性化エネルギーの算出

$$Q(T) = \frac{1}{\beta} \int J(T) dT \quad (1)$$

ここで、 Q は蓄積電荷量[nC·cm⁻²]、 $\beta(=dT/dt)$ は昇温速度[K·sec⁻¹]、 J は電流密度[nA·cm⁻²]とする。また緩和時間 $\tau(T)$ をアレニウスの式で表すと(2)式になる。

$$\tau(T) = \tau_0 \cdot \exp\left(\frac{H}{RT}\right) \quad (2)$$

ここで H は活性化エネルギー[kJ·mol⁻¹]、 R は気体定数[J·K⁻¹·mol⁻¹]、 T は絶対温度[K]、 τ_0 は絶対温度 0[K]における時定数とする。

さらに TSDC の緩和速度は次式(3)で表すことができる。

$$\frac{dQ(t)}{dt} = -\frac{Q(t)}{\tau(T)} \quad (3)$$

ここで $\beta=dT/dt$ を代入すると以下の(4)式となる。

$$\frac{dQ(T)}{dT} = -\frac{1}{\beta} \frac{Q(T)}{\tau(T)} \quad (4)$$

上記の式に(1)式および温度関数で表した脱分極電流 $J(T) = -\beta \cdot dQ(T)/dT$ を代入すると、(T)を次式(5)で得られる。

$$\tau(T) = \frac{1}{\beta} \cdot \frac{1}{J(T)} \int J(T) dT \quad (5)$$

したがって(2)式と(5)式より

$$\tau_0 \cdot \exp\left(\frac{H}{RT}\right) = \frac{1}{\beta} \cdot \frac{1}{J(T)} \int J(T) dT \quad (6)$$

が得られ、この自然対数をとることで(7)式が得られ、アレニウスプロットから脱分極に生じた活性化エネルギー-Hが算出できる。

$$\begin{aligned} \ln \tau_0 + \frac{H}{RT} &= \ln \left[\frac{1}{\beta} \int J(T) dT \right] - \ln J(T) \\ &= \ln \tau(T) \end{aligned} \quad (7)$$

3.3.3 実験方法

分極MBGサンプルを白金箔で挟み込み、それをアルミナ板で挟み、ステンレス製のクリップで固定することで測定サンプルとした。これを微小電流測定装置(μA METER: HEWLETT PACKARD 社製: 4140B)に設置し、測定を行った。5°C/minの昇温速度で、室温から450°Cまで加熱し、脱分極電流を測定した。

3.3.4 結果および考察

脱分極の緩和に起因する電流が 300°C付近から観測され、その電流値は約 400°Cで最大となり、その後、下降した。このことから、MBGは電気分極能を有し、分極できることが分かった。MBGに蓄積された電荷量Qは 217 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ であった。また脱分極によって生じた活性化エネルギーHは 1.3eVであった。蓄積電荷量の半減期 $\tau_{1/2}$ は 4.9×10^5 yearであった。

さらに、電気分極によって移動するナトリウムイオンの量を蓄積電荷量Q 217 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ の値から予測し算出した結果、4.00ppmとなった。以下の式を参考にし、算出した。

双極子モーメントP

$P (\text{C} \cdot \text{cm}) = \text{材料に含まれるキャリアーイオンの数}(\text{mol}) \times \text{アボガドロ数}(\text{mol}^{-1}) \times \text{電子の電荷量}e(\text{C}) \times \text{キャリアーイオンの移動距離}(\text{cm})$

ここでキャリアーイオンの移動距離は 1/2 と仮定した。

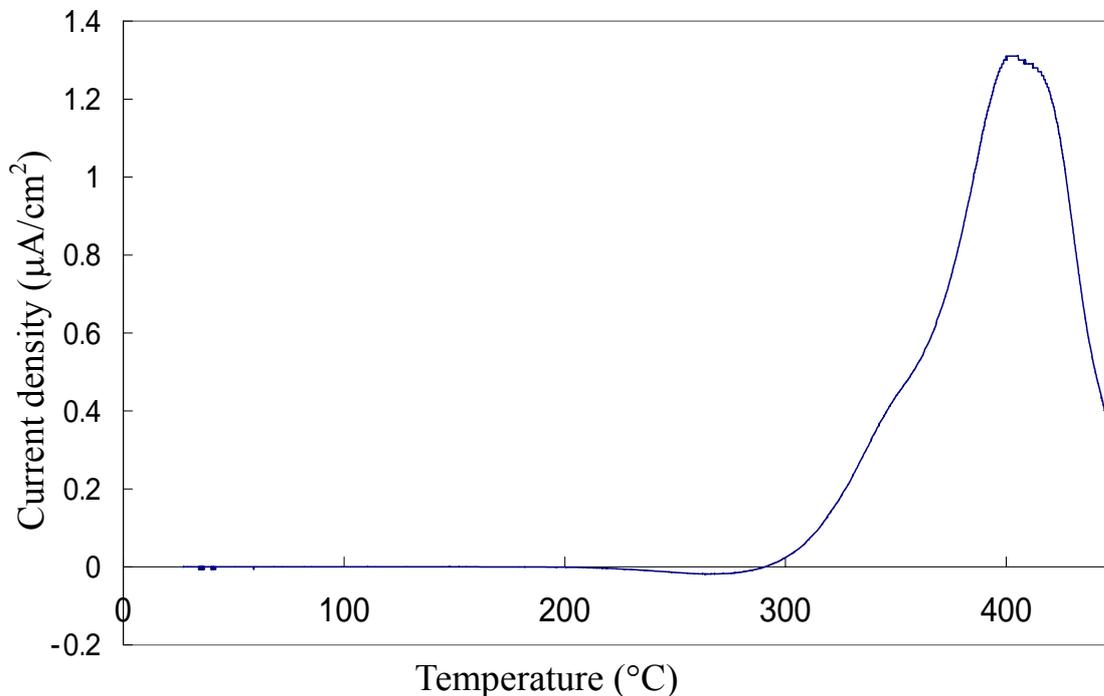


Fig.7 TSDC spectrum of polarized MBG in a dc field at 350 °C for 1h.

4. 分極 MBG の生体活性評価

4.1 擬似体液(SBF)について ¹⁶⁻²⁰⁾

生体材料が体内に埋入されるとその表面は必ず生体組織と接する。体内における材料表面の構造変化を生体内(*in vitro*)実験で予測し、材料の機能を評価することはきわめて重要である。骨組織を修復する材料には、体内で異物反応を起こさず骨と結合する性質(生体活性)の発現が望まれる。生体活性を示すセラミックスは骨欠損部に埋入されると、その表面に骨組織を構成する水酸アパタイトに類似した結晶からなる薄膜を形成する。このアパタイト層の形成が、体内で人工材料が生体骨と直接接して骨伝導を発現するための条件となる。生体内における生体活性材料の表面アパタイトの形成を生体外で発現するために、小久保らは細胞やタンパク質などの有機成分を含まず、無機イオン濃度をヒトの血漿成分(細胞外液)にほぼ等しくした水溶液(擬似体液;SBF)を用いる評価法を提案した。

ウサギの頸骨に埋入されたA-W結晶化ガラスは、5～10日で表面にアパタイト層を形成する。SBFを用いても浸漬後7日以内に同結晶化ガラス表面は骨類似アパタイト層で覆われる。一方、体内でアパタイトを形成せず骨と結合しない材料では、SBFに浸漬してもアパタイトは形成されない。このことから、SBFを用いれば、*in vitro*実験で生体活性を発現する材料のスクリーニングが可能になるといえる。このSBFは、水酸アパタイトに対して過飽和な量のカルシウムイオンとリン酸イオンを含んだ準安定な水溶液である。一般的に使用されているSBF(conventional SBF: c-SBF)の無機イオン濃度を示す(Table 10)。c-SBF以外にもいくつかのSBFが報告されており、r-SBF(revised SBF)、i-SBF(ionized SBF)、m-SBF(modified SBF)などがあり、イオン濃度がそれぞれ異なる(Table 10) ^{21,22)}。

Table 10. Ion concentration of SBFs, in comparison with human blood plasma concentrations.

Ion	Concentration/ mM			
	Blood Plasma	c-SBF	r-SBF	m-SBF
Na ⁺	142.0	142.0	142.0	142.0
K ⁺	5.0	5.0	5.0	5.0
Mg ²⁺	1.5	1.5	1.5	1.5
Ca ²⁺	2.5	2.5	2.5	2.5
Cl ⁻	103.0	147.8	103.0	103.0
HCO ₃ ⁻	27.0	4.2	27.0	10.0
HPO ₄ ²⁻	1.0	1.0	1.0	1.0
SO ₄ ²⁻	0.5	0.5	0.5	0.5

4.2 実験方法

4.2.1 SBF 作製方法

本研究では従来から多く使用されている c-SBF を作製し、生体活性ガラス MBG の評価を行った。

SBF 作製に用いる器具を 1N-HCl とアルカリ性洗浄液にそれぞれ 1 日漬け置き洗浄し、その後、超音波洗浄させた。使用する蒸留水を煮沸させ、脱炭酸させた。Table 11 に示した試薬を順に、試薬を 36.5°C 付近に保たれた約 700 mL の脱炭酸水へ少しずつ溶解させた。溶解させる際は、前の試薬が完全に溶解したことを確認してから、次の試薬を溶解させた。最後に Tris バッファーと 1.0M-HCl により水溶液の pH を 7.40 に調整した。これをメスフラスコへ移し、脱炭酸水を注いで全量を 1000 mL にし、これを SBF とした。

4.2.2 SBF 浸漬方法

0、N、P の各面を 30 mL の SBF に所定時間 (12h、1d、3d、5d、7d、10d)、浸漬させ、インキュベータ内(37°C)で保持した。3 日間おきに液交換し、所定の時間でサンプルを取り出し、サンプルを蒸留水で洗浄し、インキュベータ内で乾燥させた。MBG サンプル表面を X 線回折 (XRD: PHILIPS PW1700)、走査型電子顕微鏡 (SEM: S-4500 HITACHI)、エネルギー分散型 X 線分析 (EDS: EMAX-7000 Horiba)、フーリエ変換赤外吸光度計 (FT-IR-500 JASCO) を用いて観察し評価した。また、SBF 中での溶解度を高周波誘導結合プラズマ分析 (ICP: Leeman Labs, Inc) を用いて測定した。

Table 11. Reagents, amounts and purity for preparing 1000mL of c-SBF.

	Reagents	Amounts / g	Purity
1	NaCl	8.035	99.9%
2	NaHCO ₃	0.355	99.5%
3	KCl	0.225	99.5%
4	K ₂ PO ₄ · 3H ₂ O	0.231	99.0%
5	MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.311	98.0%
6	1.0M-HCl	39 mL	
7	CaCl ₂	0.292	95.0%
8	Na ₂ SO ₄	0.072	99.0%
9	TRIS	6.118	99.0%
10	1.0M-HCl	~ 1.5 mL	

TRIS: Tris-hydroxymethylaminomethane ((HOCH₂)₃CNH₂)

4.3 結果および考察

4.3.1 X線回折(XRD)による解析

Fig 8-12 に浸漬期間が 1、3、5、7、10d までの MBG 表面の XRD パターンを示す。1d、3d 浸漬後では、O、N、P いずれにおいても、ハローが見られ非晶質であることを確認した。5d 浸漬後では、O、N、P いずれにおいても、 26° 付近に(0 0 2)面を、 32° 付近に(2 1 1)面を示すピークが見られた。このピークは HA を示し、5d 浸漬後では、MBG 表面に HA 結晶が析出していることが分かった。7d、10d 浸漬後においても、5d と同様、 26° 付近に(0 0 2)面を、 32° 付近に(2 1 1)面を示すピークが見られ、HA 結晶が析出していることを確認した。

4.3.2 走査型電子顕微鏡(SEM)による解析

Fig 13-18 に浸漬期間が 12h、1、3、5、7d までの MBG 表面の SEM 像を示す。12h 浸漬後では、O、N、P いずれにおいても、クラックが多く見られた。SBF による MBG 表面の溶解によるものと考えられた。1d 浸漬後では、O、P においては、MBG 表面の溶解がさらに進んでいるのが見られた。しかし、N においてのみ、網目状の結晶の析出が見られた。3d 浸漬後では、O、P においては、一部に網目状の結晶の析出が見られ、N においては網目状の結晶が 1d よりも、旺盛に析出しているのが見られた。5d では、網目状の結晶が成長した球状の結晶が多く見られた。7d では、球状の結晶が 5d よりも密になって析出しているのが見られた。析出層の剥離も見られ、5d よりも析出量が多いことが分かる。

SBF 浸漬期間が初期の段階 (1d、3d)において、MBG 表面の結晶析出に分極の影響が見られた。

4.3.3 エネルギー分散型 X線分析(EDS)による解析

Fig 19-21 に浸漬期間が 12h、1、3d までの MBG 表面の EDS 分析による MBG 表面の原子数濃度の結果を示す。12h 浸漬後では、N における Ca、P の原子数濃度は、O、P におけるそれらよりも高いことが分かり、1d 浸漬後では、それらがより明確となった。SEM 観察で、1d 浸漬後の N、3d 浸漬後の O、N、P に見られた網目状の結晶はリン酸カルシウムであることが分かった。浸漬前の MBG 表面の Ca/Si 比は 0.36、1d 浸漬後の O、N、P の Ca/Si 比は、それぞれ 0.011、3.6、0.049、3d 浸漬後では、それぞれ 0.14、133、0.88 であった。このことから、MBG 材料から SBF 中へ溶解したカルシウムイオンならびに SBF 中に初めから含まれているカルシウム

イオンが、MBG 表面のリン酸カルシウム結晶の析出に消費されていることが分かった。また N における Ca/Si 比は、O、P のそれらよりも著しく高く、リン酸カルシウム結晶の形成促進に関与し、N がより高生体活性であることが分かった。以下に EDS 分析条件を示す。

Measurement condition of EDS analysis

測定時間 :100sec	加速電圧: 15.00kV
パルス処理時間 :P3	電子線入射角 :90.0
デッドタイム :3%	X 線取り出し角度 30.0
プローブ電流 :0.200nA	
BG 点 :1.39、4.25、4.79、5.25、10.12keV	

4.3.4 フーリエ変換赤外吸収分光光度計(FT-IR)による解析

Fig 22-24 に浸漬期間が 5、7、10d までの MBG 表面の析出層の FT-IR 測定結果を示す。浸漬後の O、N、P における析出層を KBr 法を用いて測定した。O、N、P いずれにおいても、HA に帰属する PO_4^{3-} のピークが 600cm^{-1} 付近に見られた。また、析出層のスペクトルの形状が HA のそれと近似していた。FT-IR と XRD の結果から、析出層は HA であることが分かった。

4.3.5 高周波誘導結合プラズマ発光分析(ICP)による解析

Fig 25-27 に浸漬期間が 1、3、7d までの SBF 中での MBG の溶解量を示す。MBG サンプル (10 x 10 x 1 mm) の O、N、P の各面を 20mL の SBF に 1d、3d、7d 浸漬した。片側の面はエポキシ樹脂で固定した。所定時間浸漬後の SBF 溶液を ICP 測定に用いて、Si、Ca、P の濃度を測定した。

1d 浸漬後の O、N、P における Si^{4+} の溶解量は、それぞれ 34.8、58.3、69.6 ppm であった。3d 浸漬後では、O、N、P それぞれ、106、113、111 ppm であった。SBF 浸漬期間が初期の段階において、 Si^{4+} は未分極 MBG よりも、分極 MBG から溶出が容易に起こり、分極は SBF 中での MBG の溶解性に変化を与えることが分かった。1d 浸漬後の O、N、P における Ca^{2+} の溶解量はそれぞれ 9.9、26.7、29.0 ppm であり、3d 浸漬後ではそれぞれ 28.7、65.4、39.5 ppm、7d ではそれぞれ 14.0、4.3、22.1 ppm であった。1d から 3d では、O、N、P いずれにおいても、SBF 中の Ca^{2+} の溶解量は増加し、MBG 材料表面からの Ca^{2+} の溶解量の増加によると考えられた。また、3d では N における溶解量が最も多いことが分かった。3d から 7d では、溶解量が減少していた。これは MBG 表面における HA 結晶の析出に消費されているためであると考えられた。溶解量の減少は N が最も大きく、N が HA 結晶析出促進に関与していることが分かった。 Si^{4+} と同様、 Ca^{2+} は未分極

MBGよりも、分極MBGから溶解が容易に起こることが分かった。1d浸漬後の 0、N、Pにおける P^{5+} の溶出量は 7.0、10.1、9.6 ppmであり、3dではそれぞれ-4.9、1.6、7.4 ppmであり、7dではそれぞれ-28.5、-27.6、-24.6 ppmであった。 P^{5+} は Ca^{2+} と同様、MBG表面におけるHA結晶析出に消費され、浸漬時間が経過するにつれて減少していることが分かった。

電気分極による MBG のキャリアーはナトリウムイオンと考えられることから、0、N、P でナトリウムイオンの溶解量に差があると推測し、蒸留水中(3d)における MBG(0、N、P)からのナトリウムイオンの溶解量を ICP によって測定した。測定結果は、0、N、P でそれぞれ 1.1、1.1、1.7 ppm であり、有意な差は見られなかった。分極を施した MBG は、蒸留水でのナトリウムイオンの溶解性には変化を示さないことが分かった。

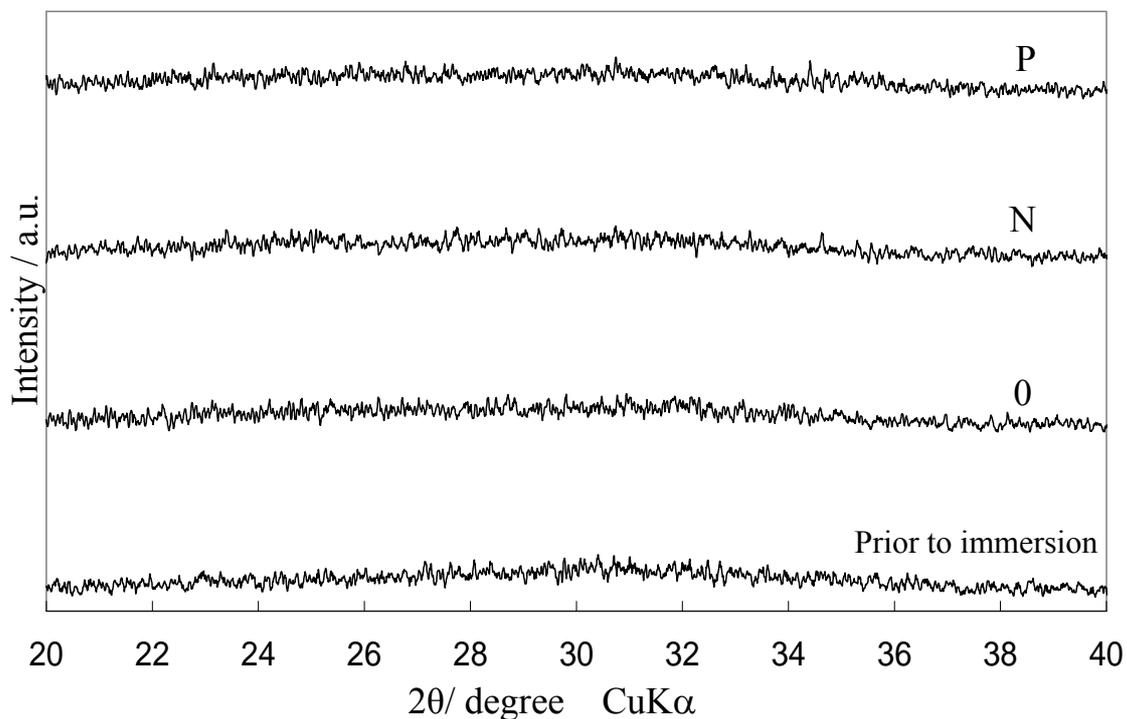


Fig.8 XRD patterns of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 1 d immersion in SBF.

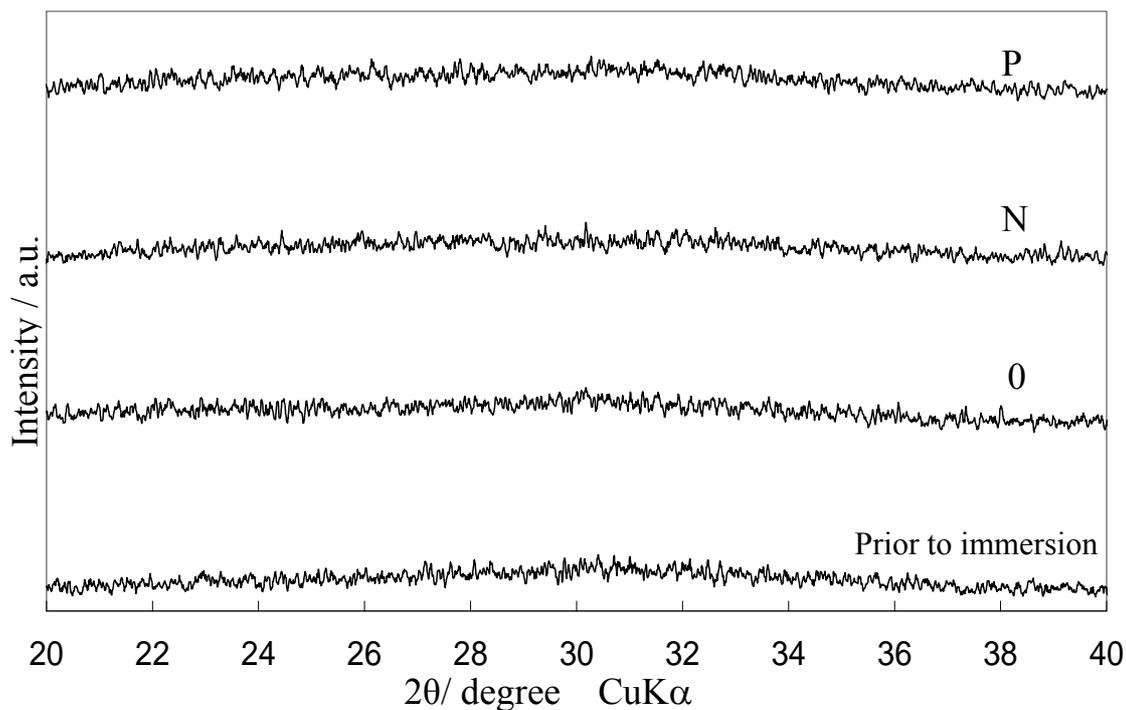


Fig.9 XRD patterns of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 3 d immersion in SBF.

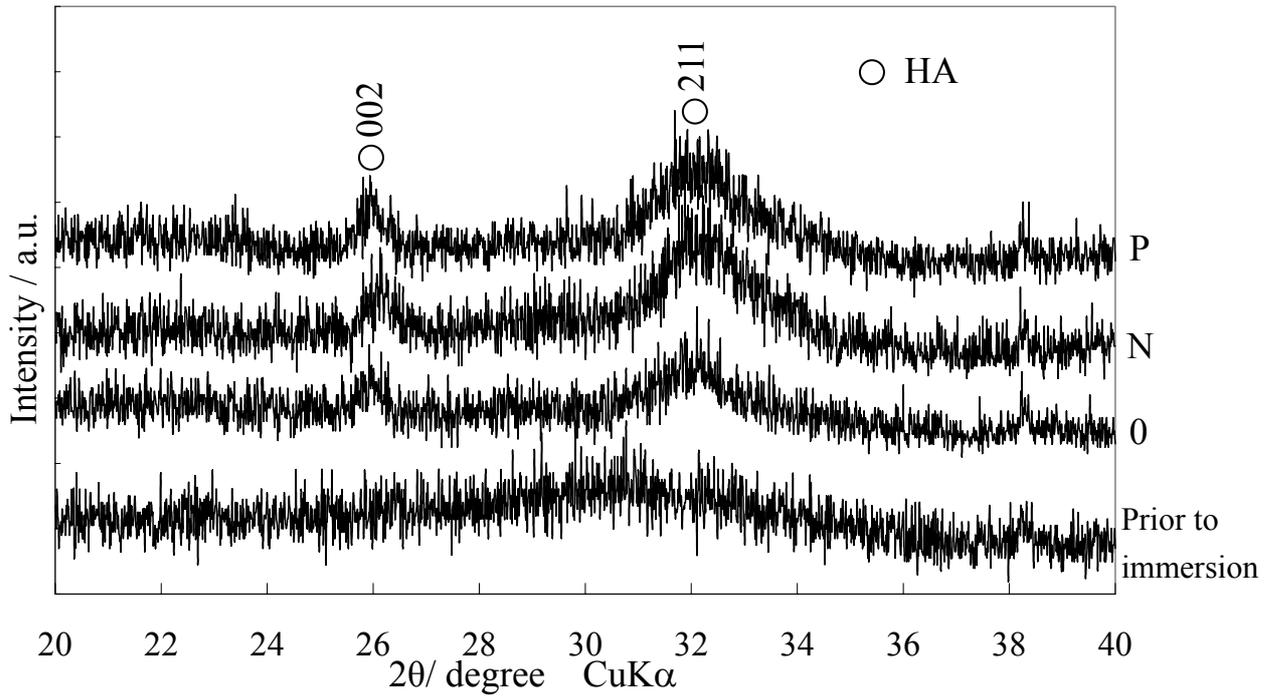


Fig.10 XRD patterns of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to SBF immersion and after 5 d immersion in SBF.

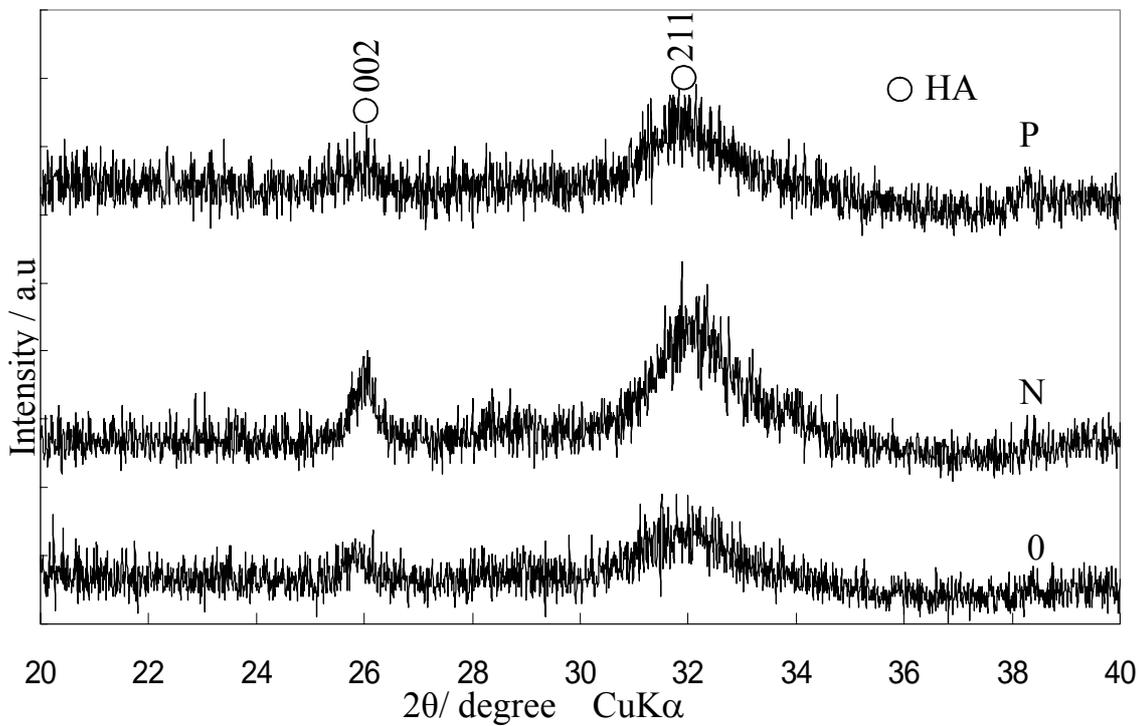


Fig.11 XRD patterns of polarized and non-polarized MBG surfaces after 7 d immersion in SBF.

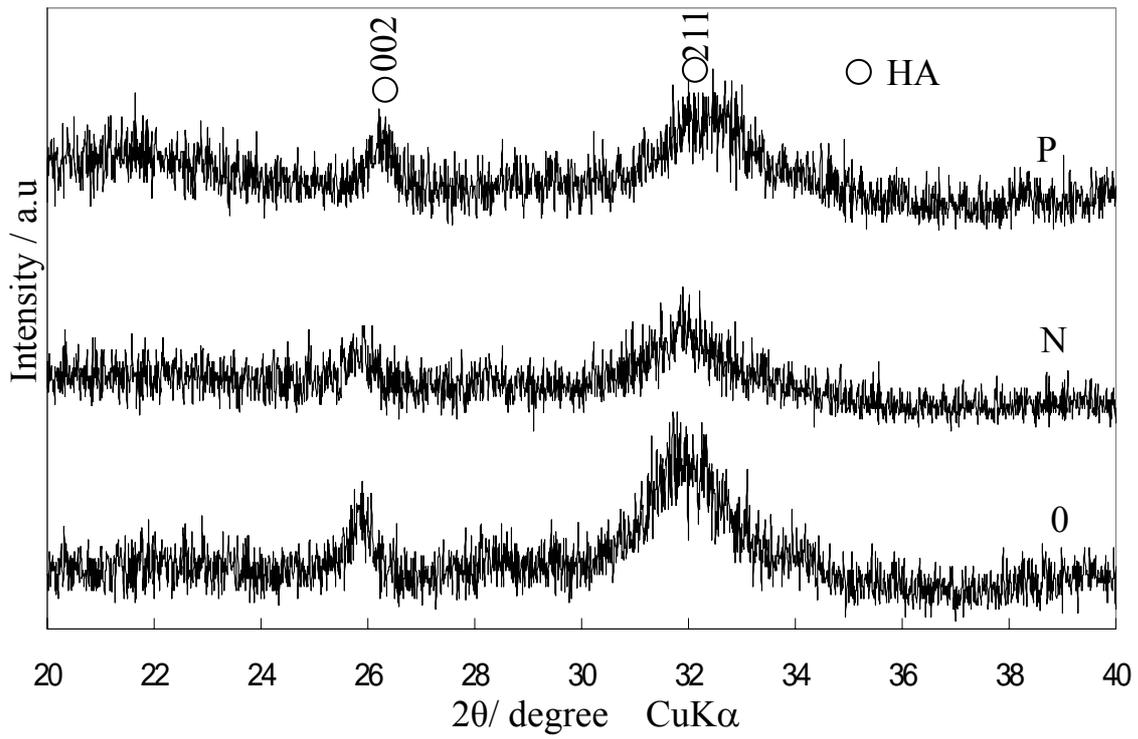
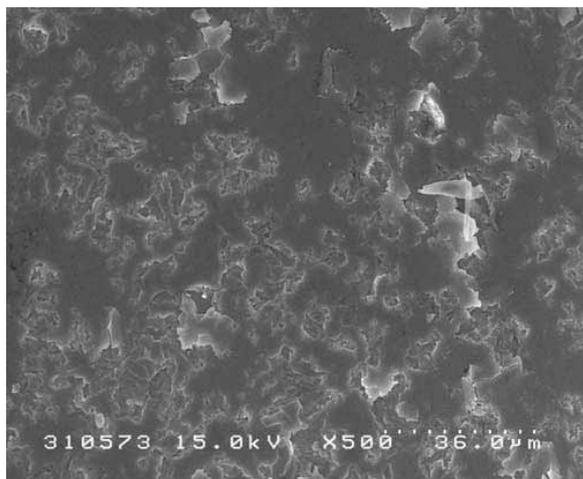
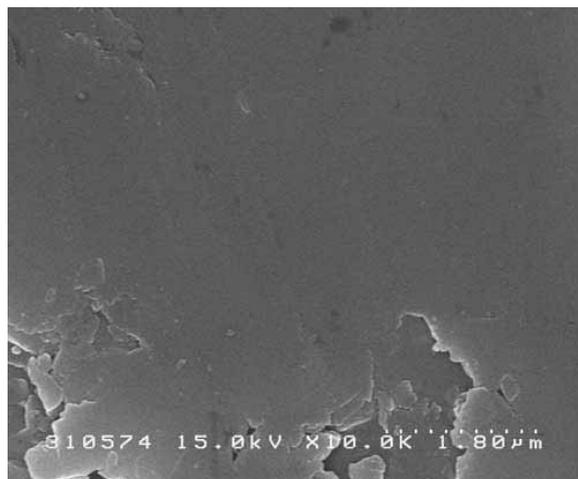


Fig.12 XRD patterns of polarized and non-polarized MBG surfaces after 10 d immersion in SBF.



— 10μm



— 1μm



— 100nm

Fig.13 SEM images of MBG surfaces before immersion in SBF.

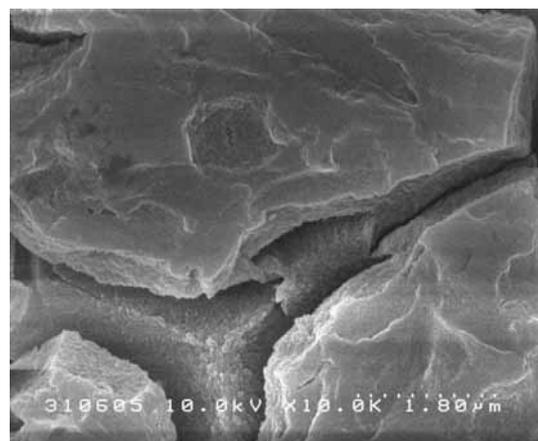
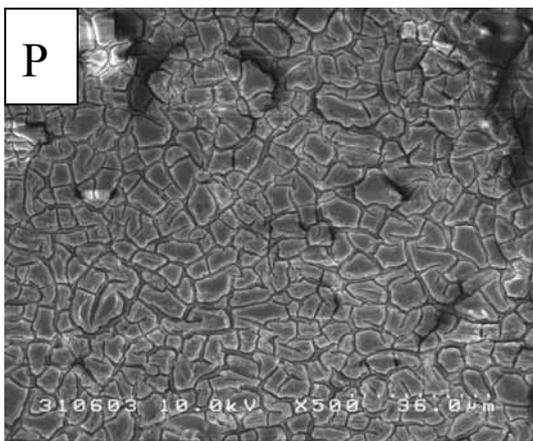
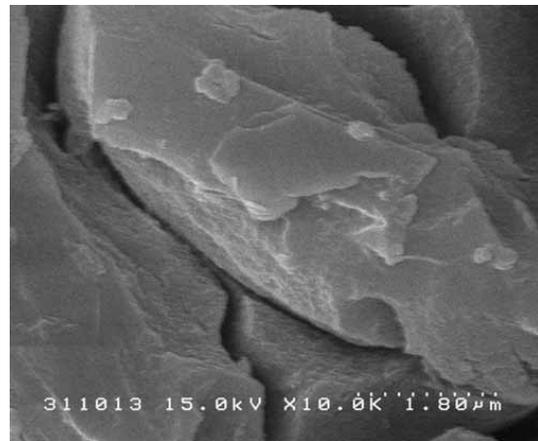
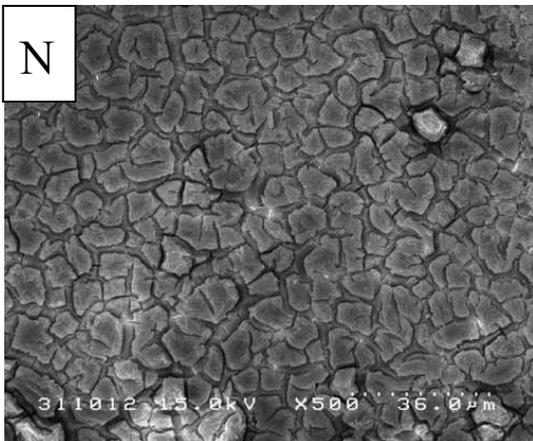
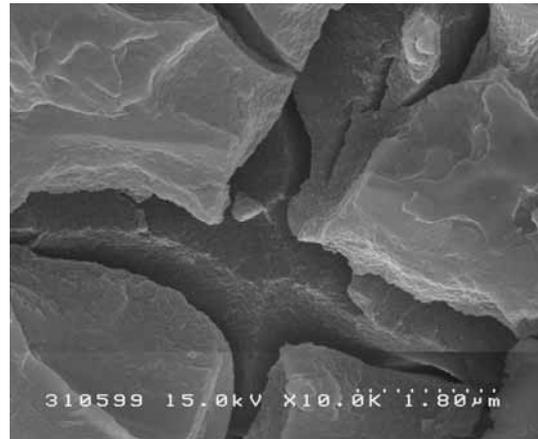
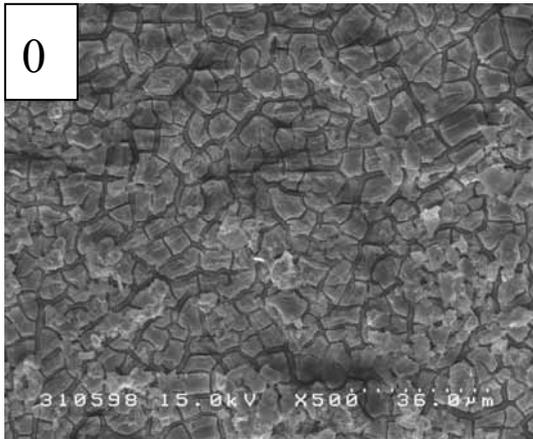
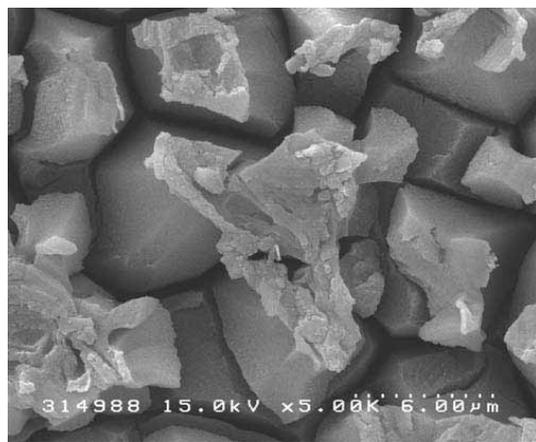
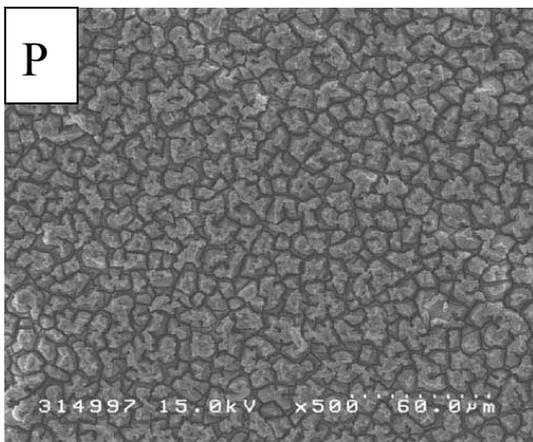
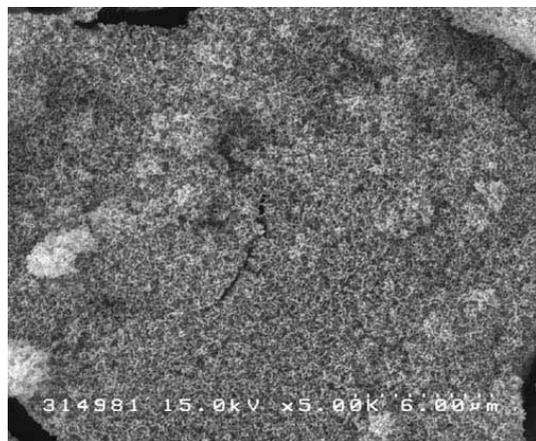
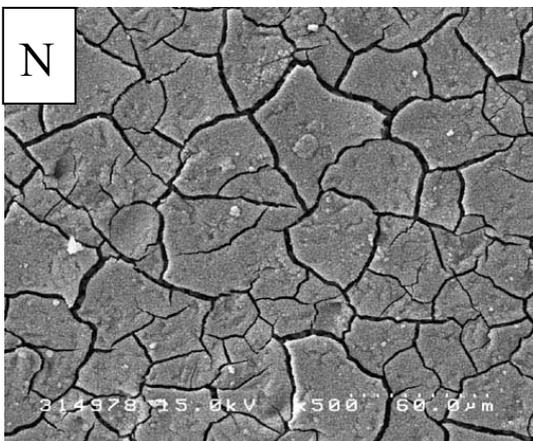
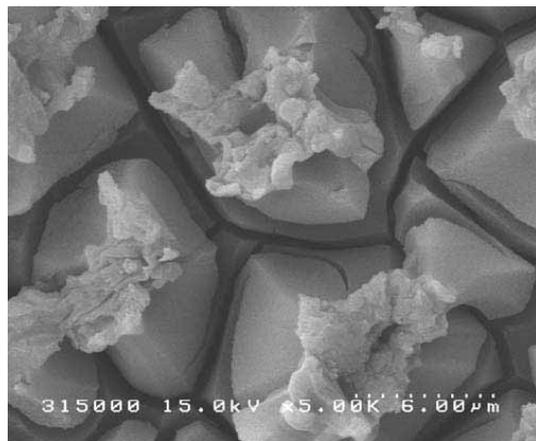
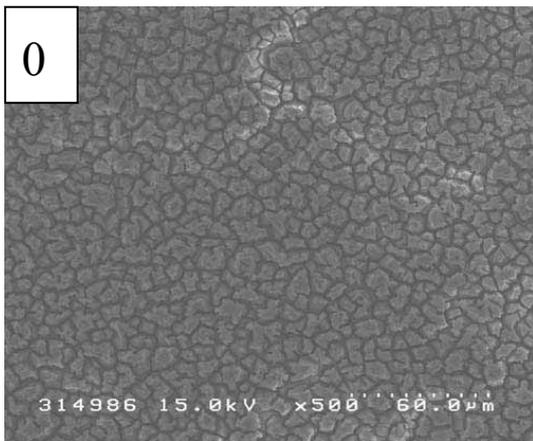


Fig.14 SEM images of non-polarized (0-surface) and polarized (N, P-surface) MBG surfaces after 12h immersion in SBF.



— 10µm

— 1µm

Fig.15 SEM images of non-polarized (0-surface) and polarized (N,P-surface) MBG surfaces after 1d immersion in SBF.

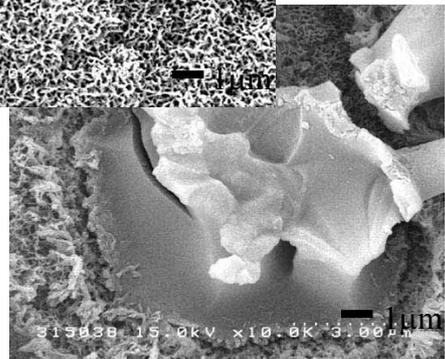
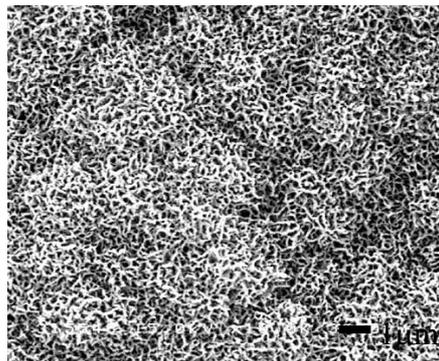
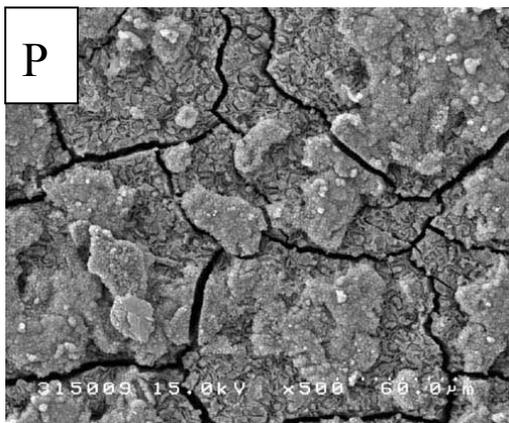
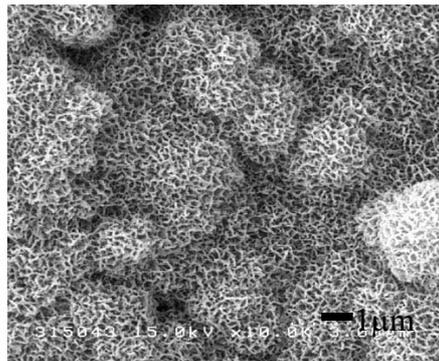
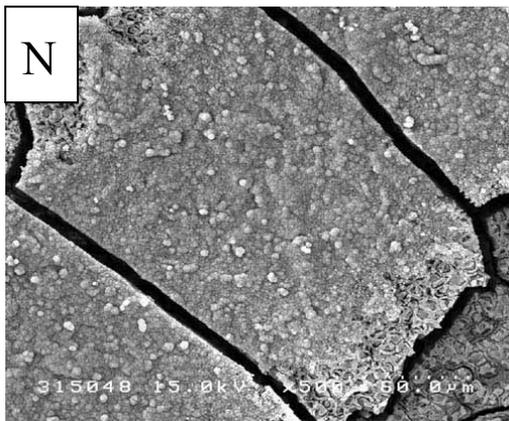
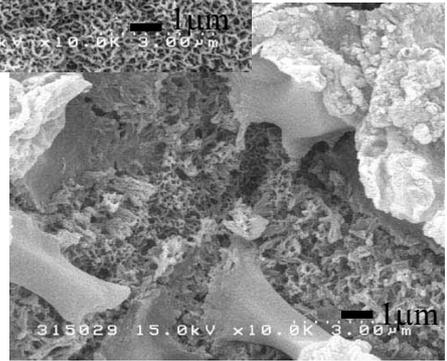
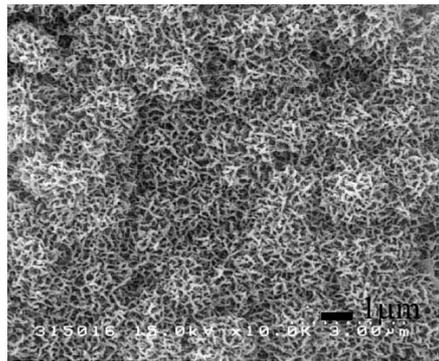
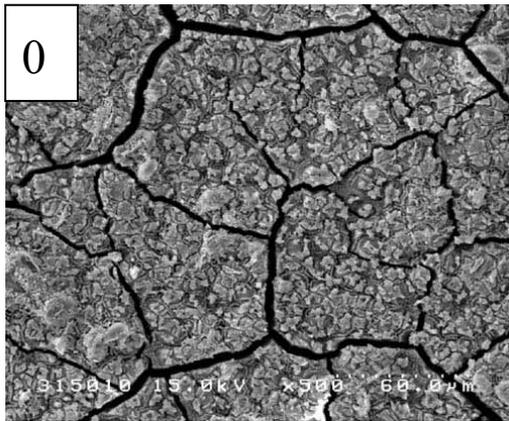
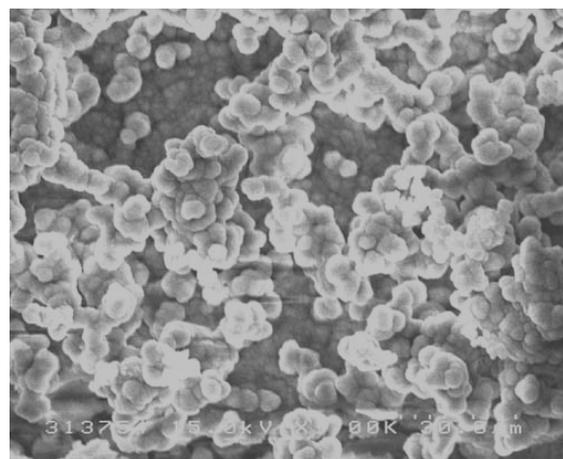
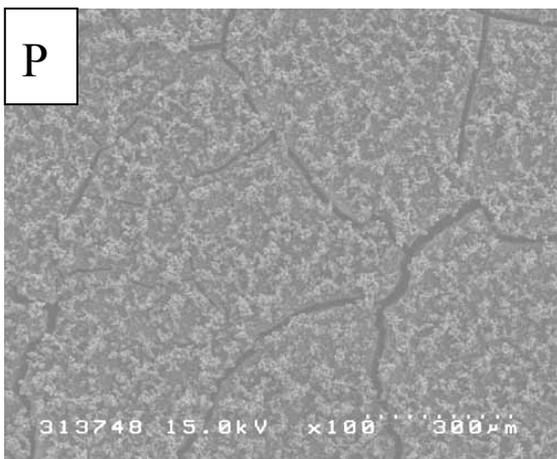
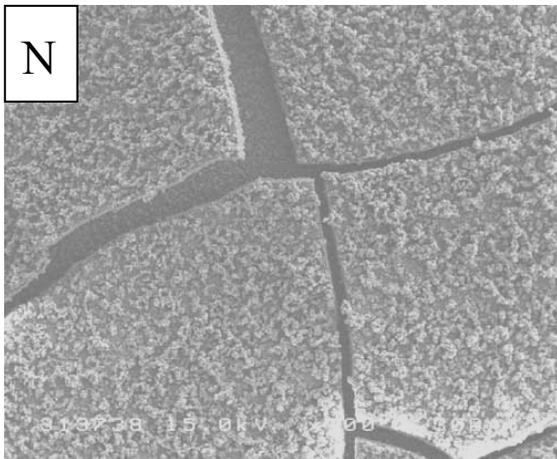
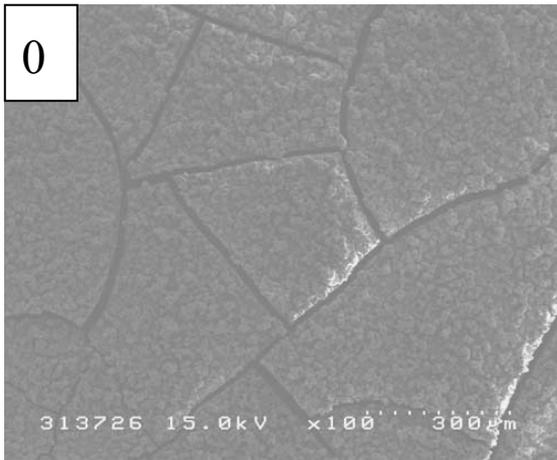


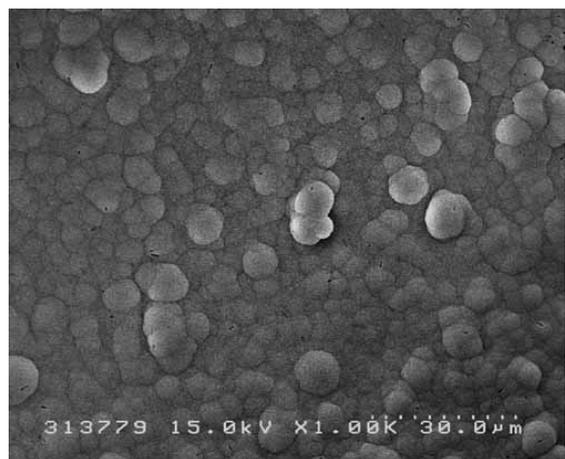
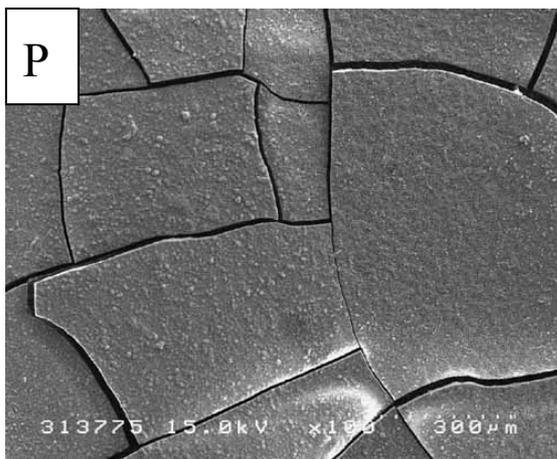
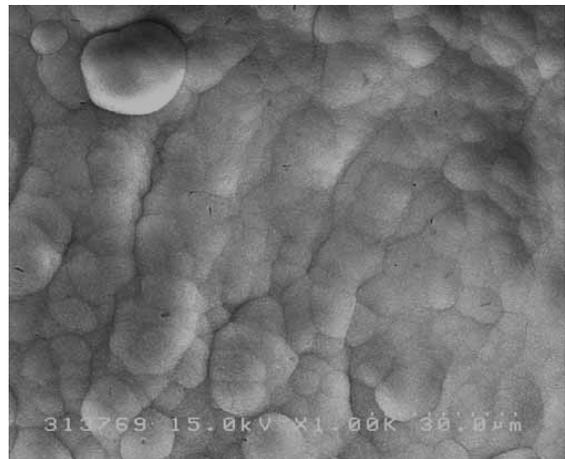
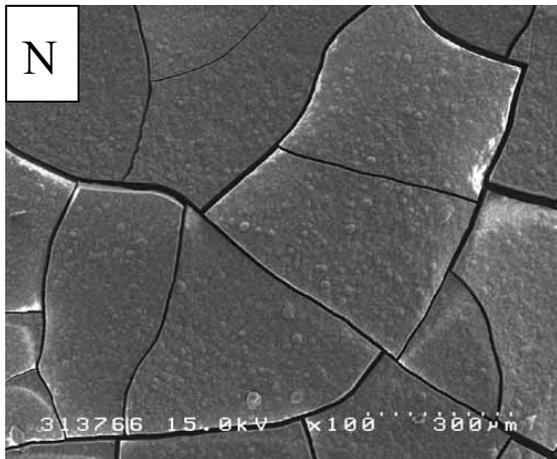
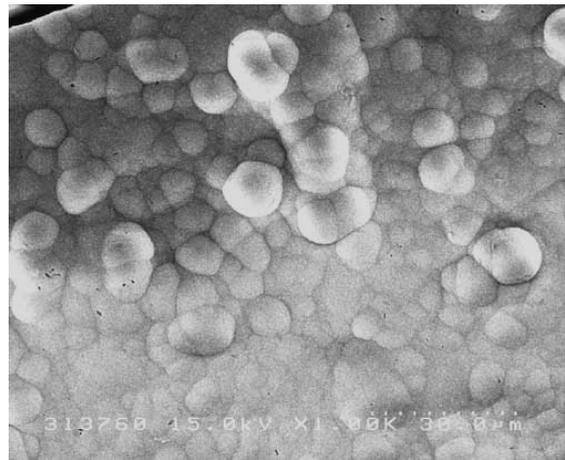
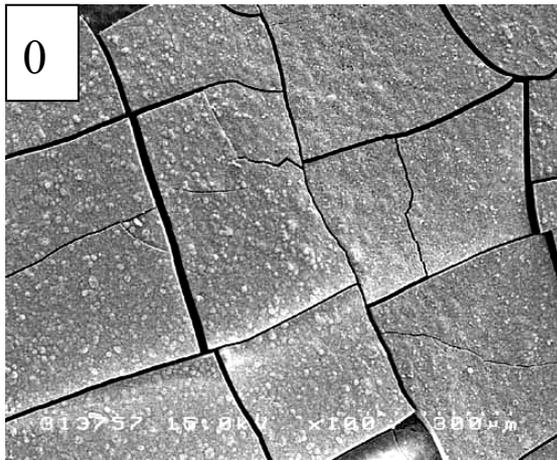
Fig.16 SEM images of non-polarized (0-surface) and polarized (N, P-surface) MBG surfaces after 3d immersion in SBF.



— 100µm

— 10µm

Fig.17 SEM images of non-polarized (0-surface) and polarized (N, P-surface) MBG surfaces after 5d immersion in SBF.



— 100µm

— 10µm

Fig.18 SEM images of non-polarized (0-surface) and polarized (N, P-surface) MBG surfaces after 7d immersion in SBF.

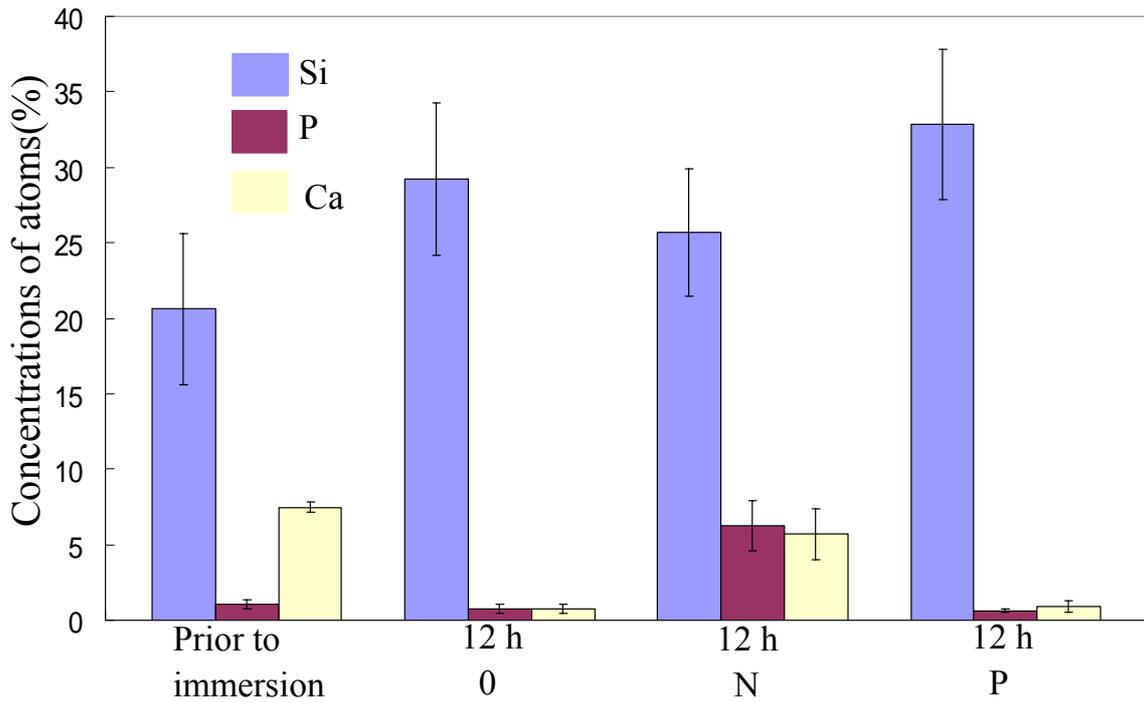


Fig.19 Comparison of atomic concentrations obtained from EDS spectra of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 12 h immersion in SBF.

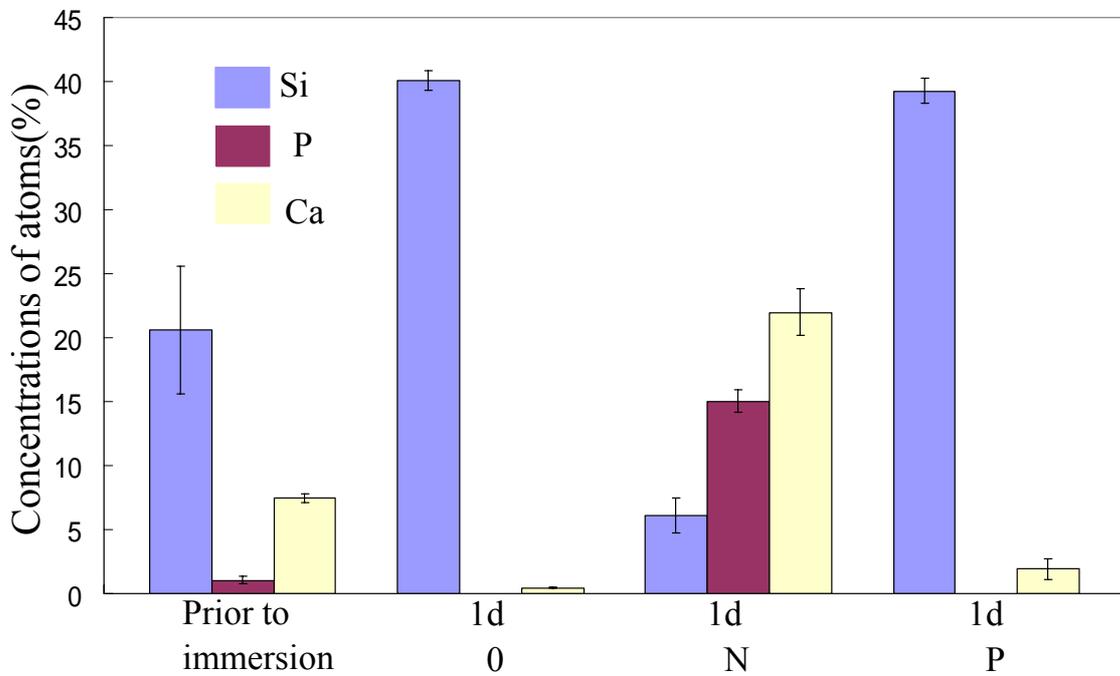


Fig.20 Comparison of atomic concentrations obtained from EDS spectra of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 1d immersion in SBF.

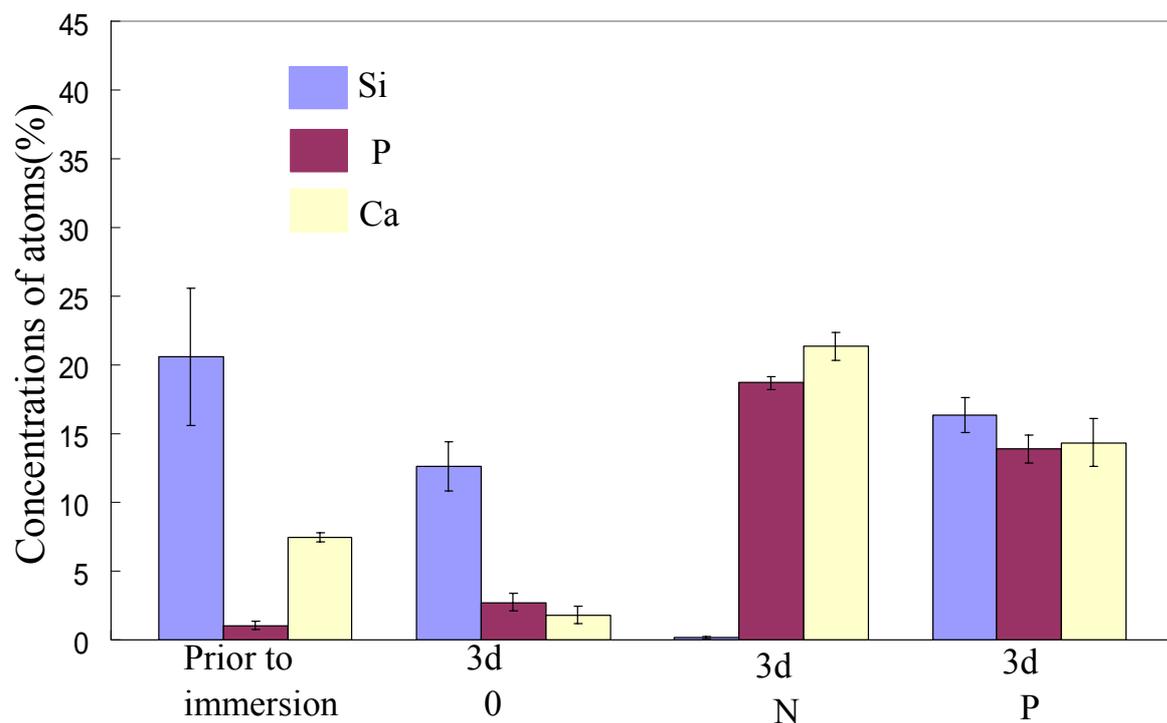


Fig.21 Comparison of atomic concentrations obtained from EDS spectra of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 3d immersion in SBF.

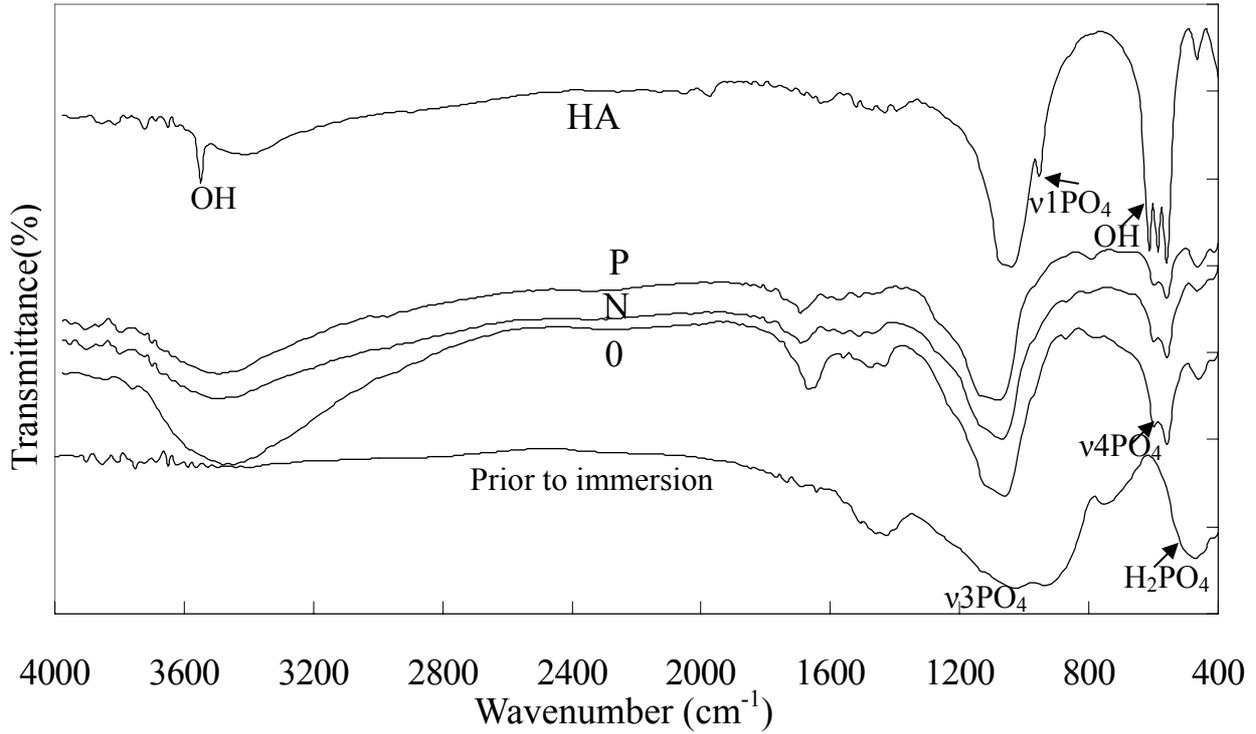


Fig.22 FT-IR spectra of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 5d immersion in SBF.

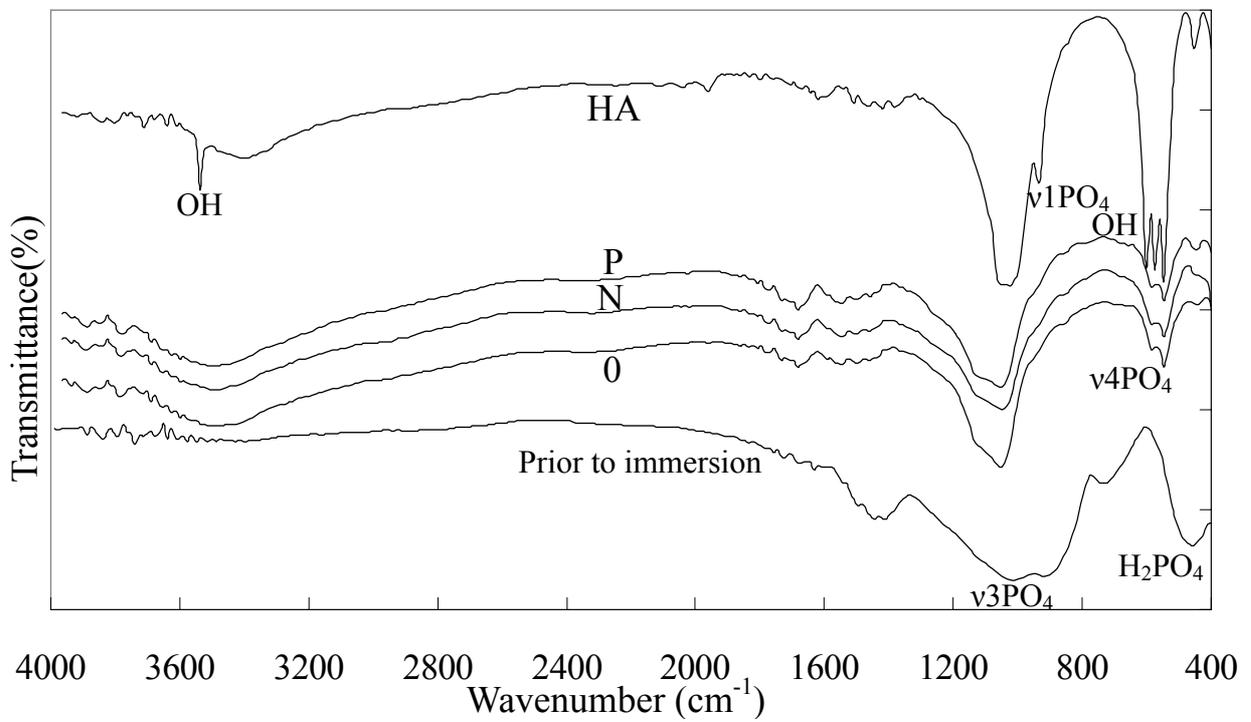


Fig.23 FT-IR spectra of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 7d immersion in SBF.

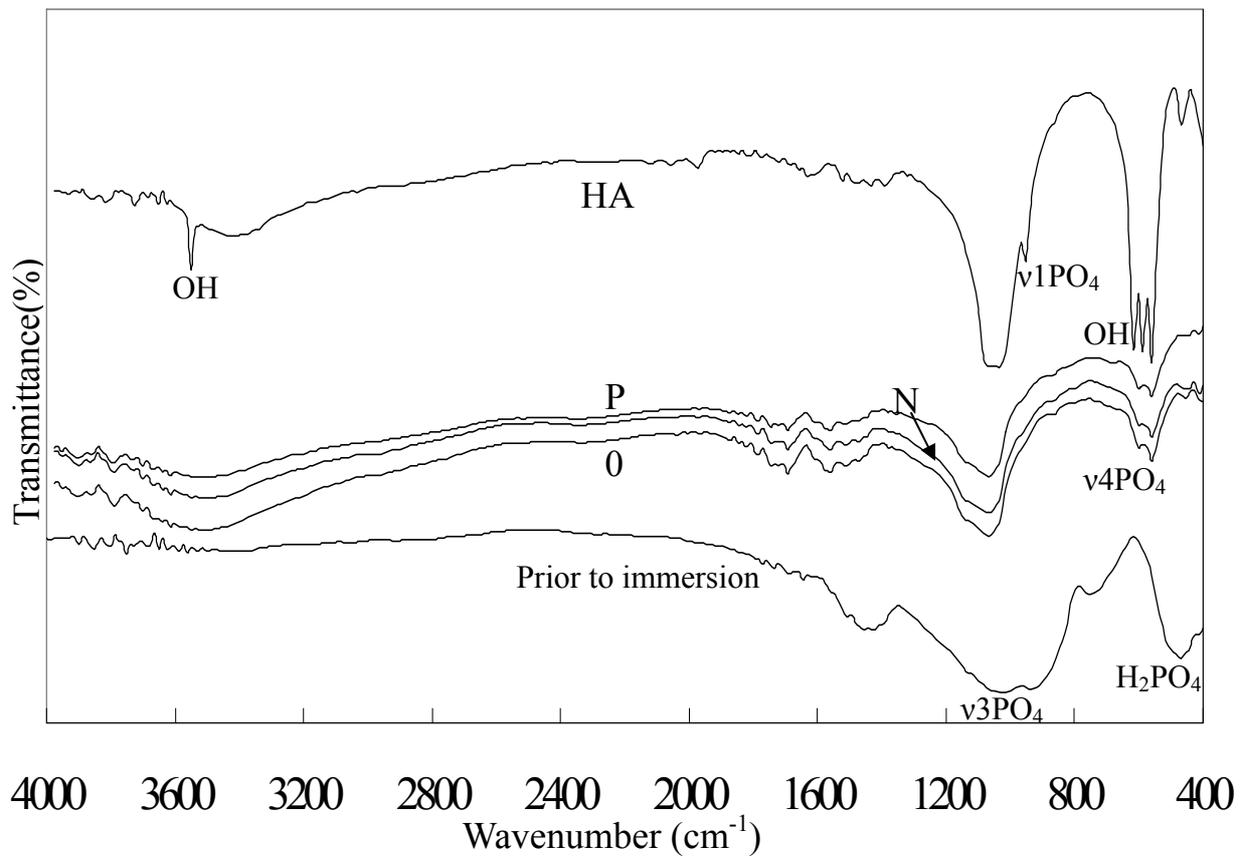


Fig.24 FT-IR spectra of polarized and non-polarized MBG surfaces prior to immersion and after 10d immersion in SBF.

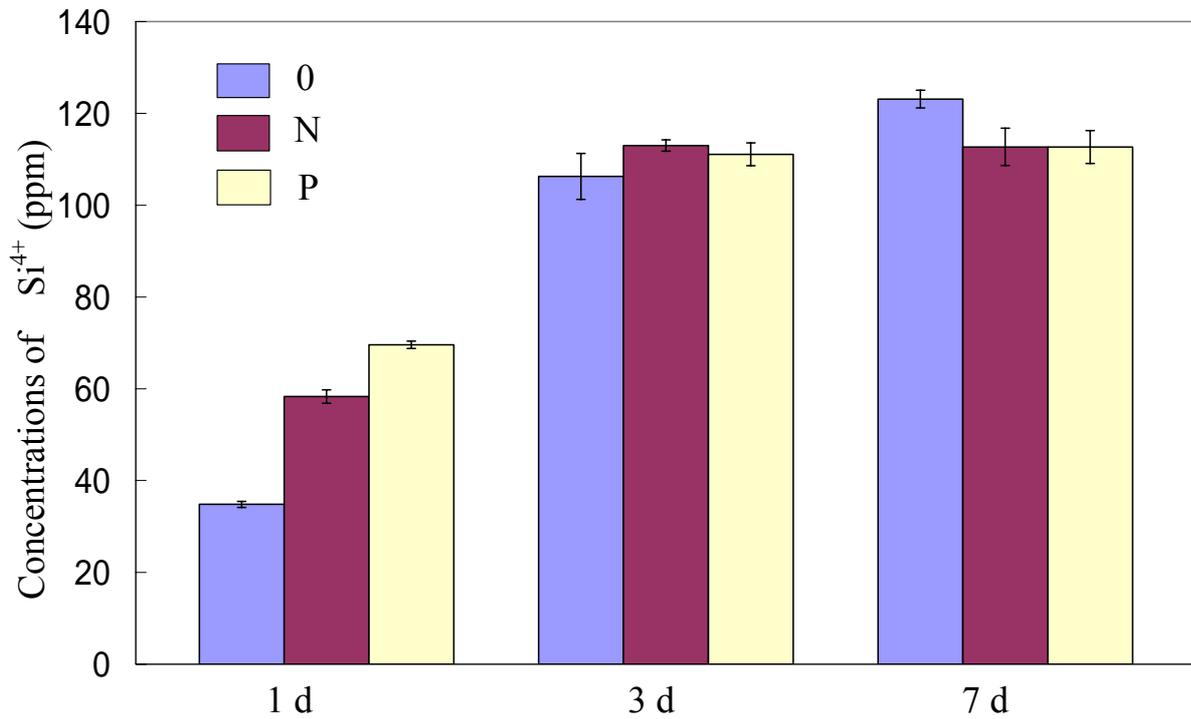


Fig.25 Comparison of concentrations of Si ions of polarized and non-polarized MBG in SBF.

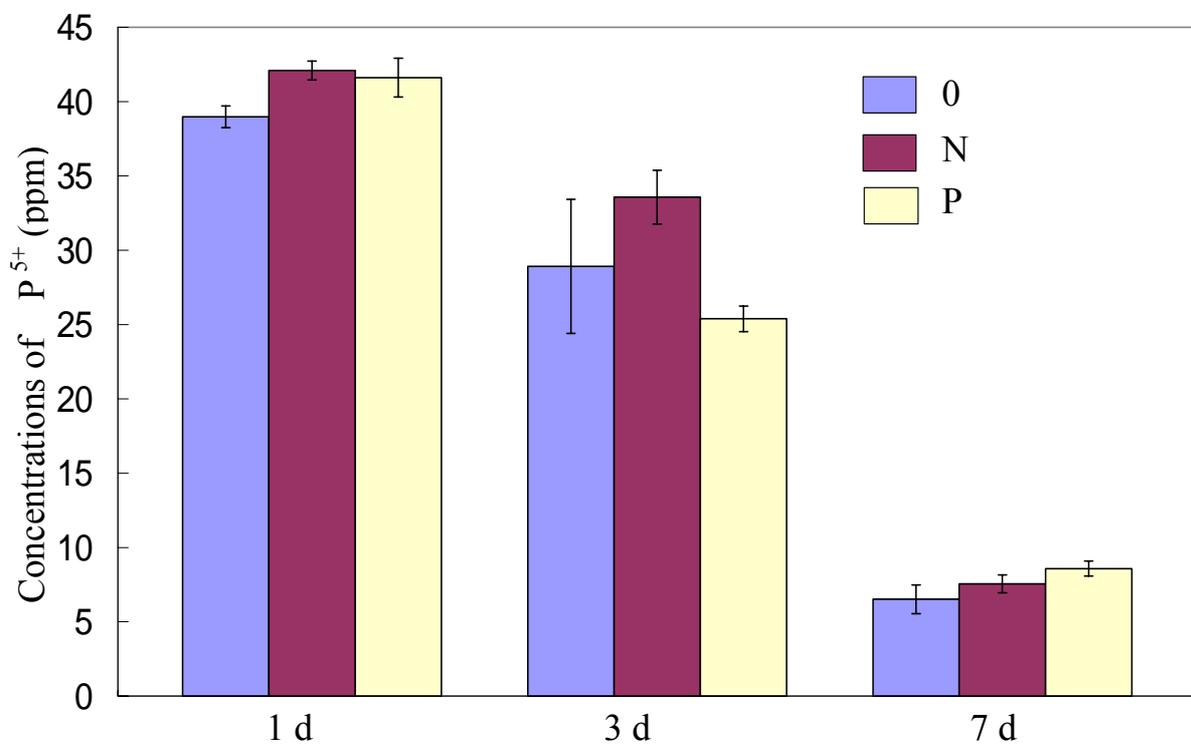


Fig.26 Comparison of concentrations of P ions of polarized and non-polarized MBG in SBF.

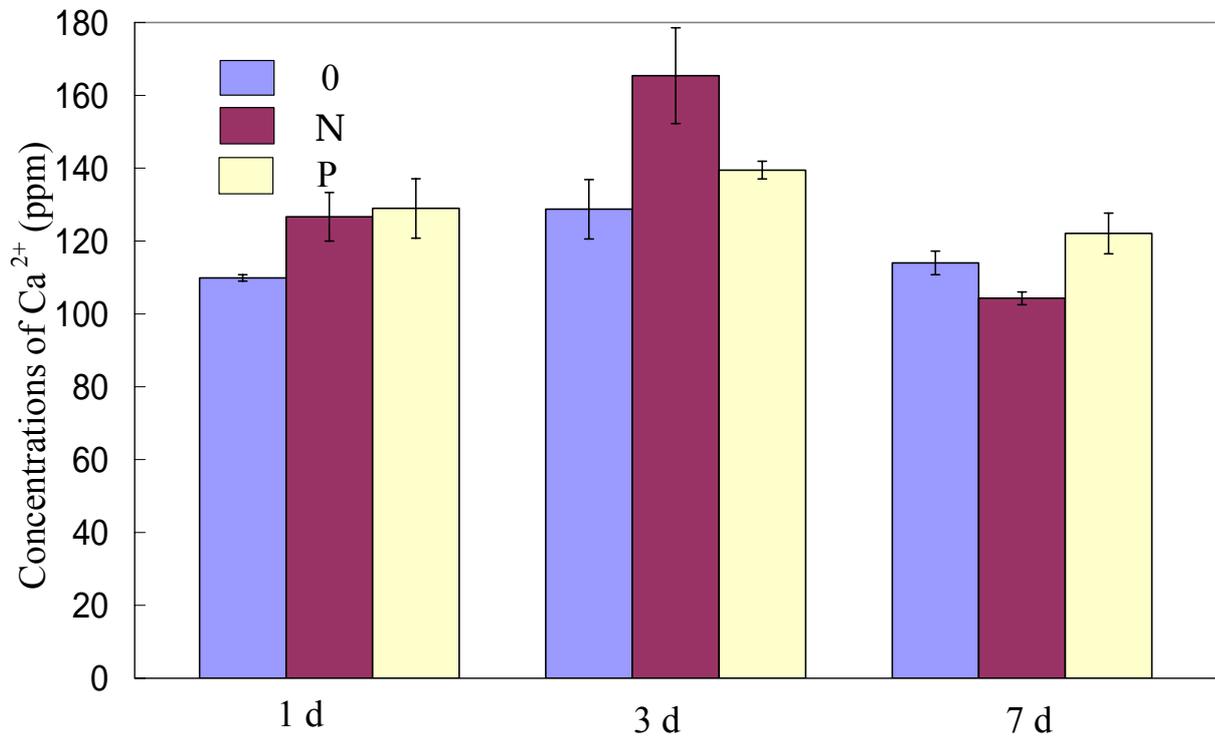


Fig.27 Comparison of concentrations of Ca ions of polarized and non-polarized MBG in SBF.

4.4 分極 MBG と高生体活性ガラス S53P4 の生体活性の比較

S53P4 は、Bioglass®と同様、生体活性が高いガラスであり、既に臨床応用されている。分極を施した MBG と分極を施していない S53P4 の生体活性を比較することで、分極の効果を検討した。SBF 浸漬 1d 後の MBG の N の表面と浸漬 3d 後の S53P4 の表面を SEM によって観察し、比較した(Fig 28)。MBG の N 面では、網目状のリン酸カルシウム結晶が MBG 表面に一様に析出していた。S53P4 の表面では、一部に網目状のリン酸カルシウム結晶が析出しており、MBG の N と比較して、表面を覆った一様な結晶析出は見られなかった。このことから、分極を施した MBG の N は、分極を施していない高生体活性ガラス S53P4 よりも、SBF 中での活性が高いことが分かった。

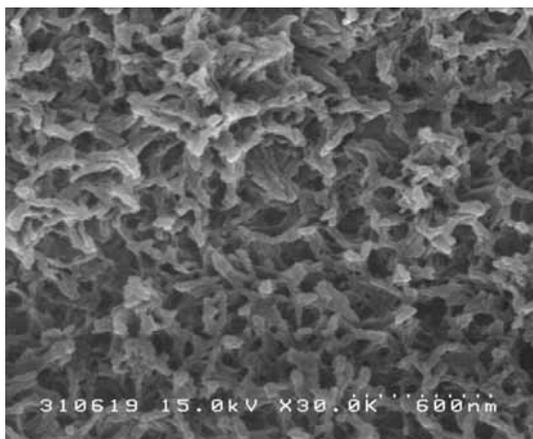
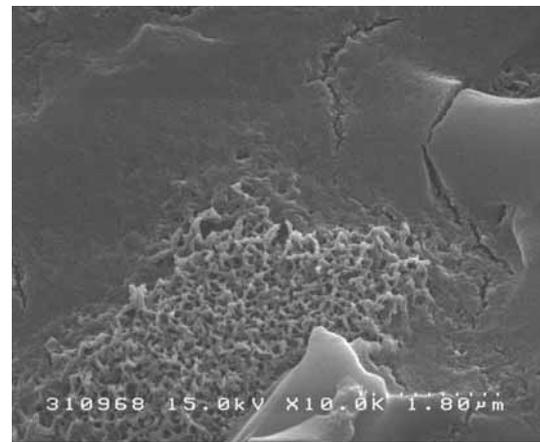
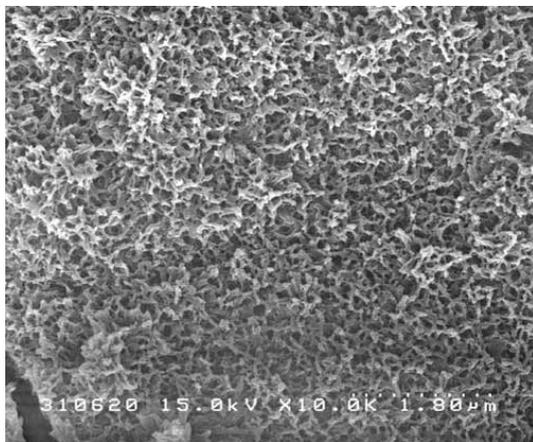
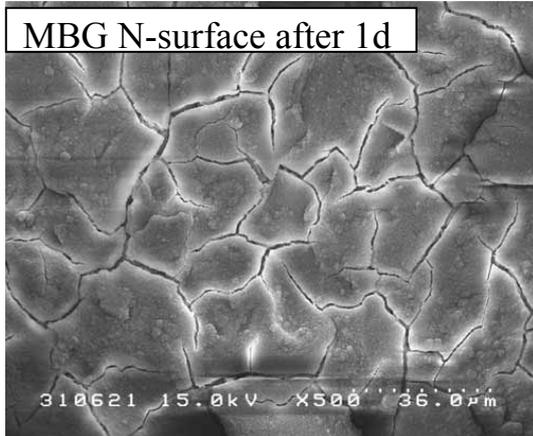


Fig.28 SEM images of polarized MBG surface (N-surface) after 1d immersion in SBF and non-polarized S53P4 surface (0-surface) after 3d immersion in SBF.

4.5 SBF 中での分極 MBG における水酸アパタイト析出機構

SBF 中での HA 結晶析出における MBG の電気分極の効果は、浸漬期間が 1d、3d という初期の段階で変化を示すことが分かった。SEM 観察、EDS 分析から、1d では、N が 0、P よりも HA 結晶の析出が多く、HA 結晶析出量は $N > 0 = P$ と表せる。3d では、N、P、0 の順で HA 結晶の析出が多く、HA 結晶析出量は $N > P > 0$ と表せる。カルシウムイオンの ICP 測定の結果から、1d では N、P が 0 よりも溶解量が多く ($N = P > 0$)、3d では N、P、0 の順で溶解量が多かった ($N > P > 0$)。

生体内における生体活性ガラスの反応系は Hench によって 5 段階で提唱されている (Table 12)。この反応系によると、生体活性ガラスの溶解性と材料表面近傍の体液中のカルシウムイオン濃度および pH などが、骨類似アパタイト結晶層の析出に大きく関与していると考えられている。この反応系をもとに、SBF 中での分極 MBG における HA 結晶析出機構を考察した。

SBF 浸漬直後から 12h までは、0、N、P いずれにおいても、MBG 材料表面が溶解し、MBG 表面にシリカゲル層が形成されていると考えられる。MBG 材料の N 面は、分極によって負の電荷が誘起されているため、材料表面近傍に正電荷をもつカルシウムイオンが静電的に引き寄せられ、N 面近傍は、カルシウムイオンの濃度が 0、P 面よりも上昇していると考えられる。

12h から 1d までは、N 面では、カルシウムイオンを含むアモルファスリン酸カルシウムが形成されていると考えられる。一方、0、P 面では、アモルファスリン酸カルシウムの形成は起こっていないと考えられる。また、MBG 材料の溶解量は、0 よりも N、P の方が多いため、N、P においては、SBF 中のカルシウムイオンが増加し、カルシウムイオンがより過飽和になっていると考えられる。カルシウムイオンがより過飽和であることと、MBG 材料に誘起された負の電荷によって、N 面においてはリン酸カルシウムが形成され易くなっていると考えられる。

1d から 3d では、N 面においては、表面に形成されたアモルファスリン酸カルシウムに、SBF 中からカルシウムイオンとリン酸イオンが徐々に取り込まれ、HA 結晶が析出したと考えられる。MBG の溶解は、N で最も多く、次に P、0 の順であった。N で最もカルシウムイオンの溶解量が多いにもかかわらず、HA 結晶の析出が起こっているのは、それ以上に、カルシウムイオンの溶解が起こっており、より過飽和になっているため、HA が析出し易くなっていると考えられる。P 面においては、0 面よりもカルシウムイオンの溶解量が多いため、P 面近傍のカルシウムイオンの濃度が高いことと、分極によって MBG 材料表面に誘起された正の電荷に、リン酸イオンが静電的に引き寄せられることによって、P 面におけるリン酸カルシウム結晶析出が、0 面よりも早く起こったと考えられる。

この結果から、1d、3d で、HA 結晶の析出量が N 面で最も多く見られたのは以下のように考えられる。N 面の近傍は、0、P 面よりもカルシウムイオンの濃度が高いことと、電気分極によって、負の電荷が MBG 材料に誘起されていることから、カルシウムイオンが N 面により引き寄せられ、HA 結晶析出の促進が観察されたと考えられる。

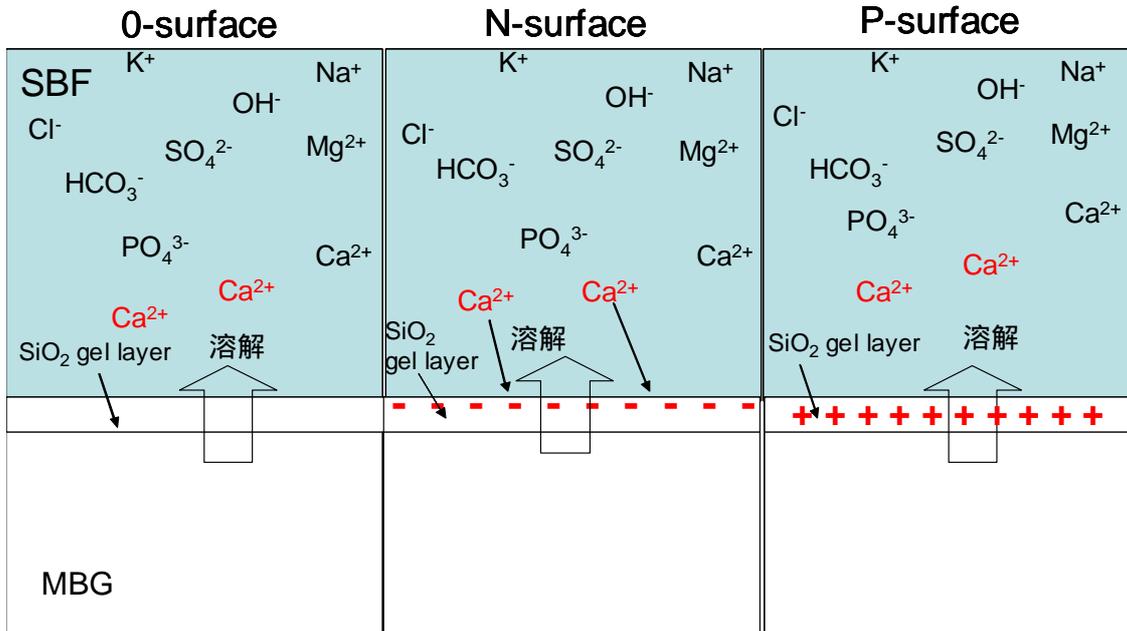
電気分極によって、MBG 材料に誘起された負の電荷と SBF 中のカルシウムイオンならびに MBG 材料から溶解したカルシウムイオンとの静電的相互作用により、HA 結晶析出の促進が起こったと考えられる。また、電気分極は、MBG 材料の溶解性に変化を示すことが分かった。分極によって、材料にゆがみ(電荷の偏り)が生じ、材料内部に電荷量として蓄積され、この蓄積されたエネルギーが、溶解性の増加をもたらし、分極を施した MBG は、分極を施していない MBG よりも、溶解量が多かったと考えられる。

HA 結晶析出における電気分極の効果は、材料に誘起された電荷と、材料の溶解性によると示唆された。

Table 12. Reaction stages of a bioactive glass implant.

STAGE	
1	<p>Rapid exchange of Na⁺ or K⁺ with H⁺ or H₃O⁺ from solution:</p> $\text{Si-O-Na}^+ + \text{H}^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{Si-OH} + \text{Na}^+ (\text{solution}) + \text{OH}^-$ <p>This stage is usually controlled by diffusion and exhibits a $t^{-1/2}$ dependence.</p>
2	<p>Loss of soluble silica in the form of Si(OH)₄ to the solution, resulting from breaking of Si-O-Si bonds and formation of Si-OH (silanols) at the glass solution interface:</p> $\text{Si-O-Si} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Si-OH} + \text{OH-Si}$ <p>This stage is usually controlled by interfacial reaction and exhibits a $t^{1.0}$ dependence.</p>
3	<p>Condensation and repolymerization of a SiO₂-rich layer on the surface depleted in alkalis and alkaline-earth cations:</p> $\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{O-Si-OH} \end{array} + \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{HO-Si-O} \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{O-Si-O-Si-O} \end{array} + \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{O-Si-O} \end{array} + \text{H}_2\text{O}$
4	<p>Migration of Ca²⁺ and PO₄³⁻ groups to the surface through the SiO₂-rich layer forming a CaO-P₂O₅-rich film on top of the SiO₂-rich layer, followed by growth of the amorphous CaO-P₂O₅-rich film by incorporation of soluble calcium and phosphates from solution.</p>
5	<p>Crystallization of the amorphous CaO-P₂O₅ film by incorporation of OH⁻, CO₃²⁻ or F⁻ anions from solution to form a mixed hydroxyl, carbonate, fluorapatite layer.</p>

SBF 浸漬直後から 12h まで



浸漬 12h から 1d まで

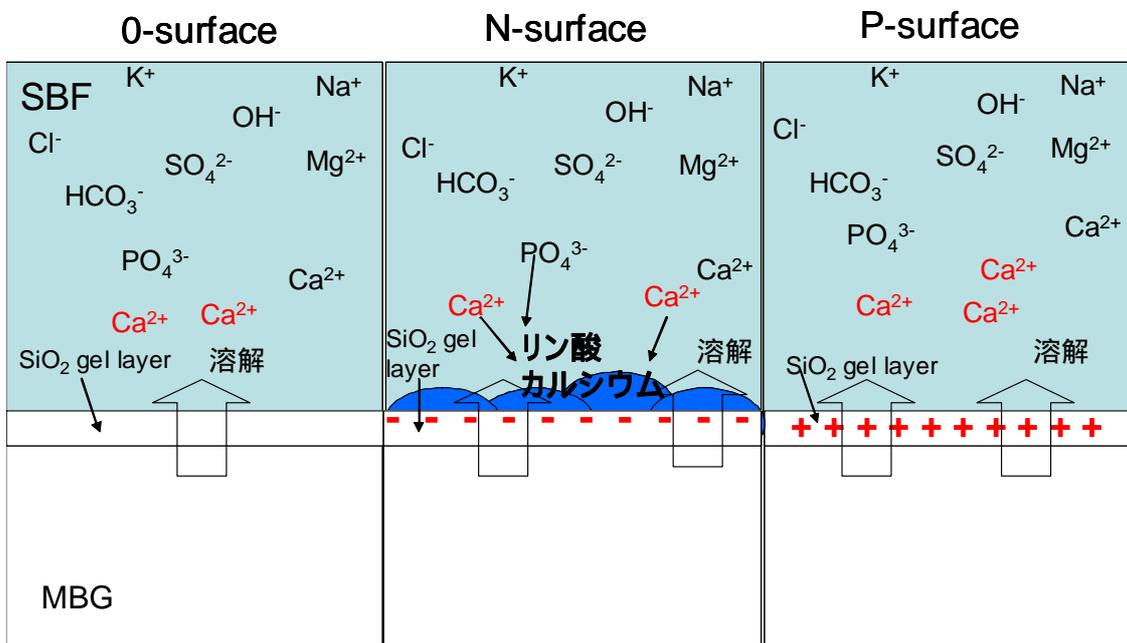


Fig.29 Schematic illustrations of amorphous calcium phosphate formation on 0, N and P-surfaces of MBG in SBF.

浸漬 1d から 3d まで

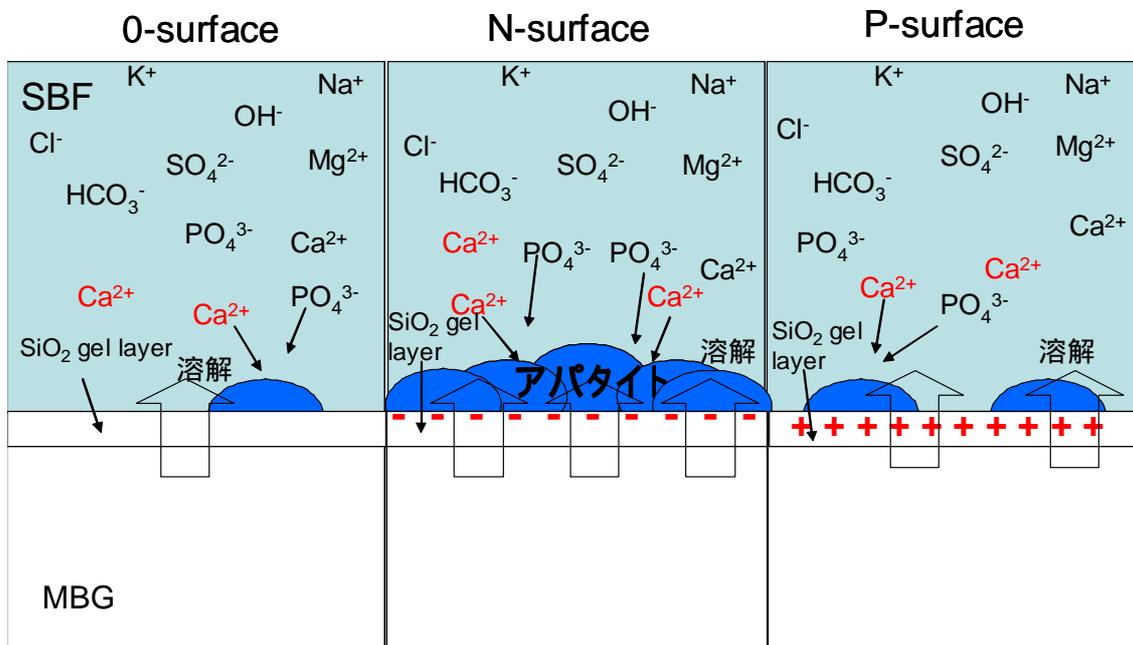


Fig.30 Schematic illustrations of hydroxyapatite formation on 0, N and P-surfaces of MBG in SBF.

5. 結論

電気分極処理を生体活性ガラスMBGに応用した結果、MBGは電氣的に分極でき、電気分極によってMBG表面に誘起された電荷により、SBF中でMBG表面における水酸アパタイト結晶の析出を促進させることが分かった。

負電荷が誘起されたMBG表面(N-surface)は、正電荷が誘起されたMBG表面(P-surface)、分極処理を施していないMBG表面(0-surface)よりも生体活性が高いことが分かった。

分極MBG(N-surface)は、高生体活性ガラスS53P4よりも生体活性が高いことが分かった。

電気分極は、SBF中で、MBG材料表面における水酸アパタイトの結晶析出量、MBG材料の溶解性に効果を及ぼすことが示唆された。

以上のことから、電気分極によって、より高度な生体活性を持つMBGガラス材料の作製が可能であることが分かり、様々な骨疾患に対する骨再生促進材料としてのMBGの有効性が示唆された。高生体活性を持つ顆粒状、繊維状MBGの作製への応用が期待できた。

6. 参考文献

1. 山根正之, ニューガラスその機能と応用, 日本規格協会, (1989), pp.200-203
2. MariaBrink, "The influence of alkali and alkaline earths on the working range for bioactive glasses", *J. Biomed. Mat. Res.*, 36, 109-117 (1997).
3. K.Yamashita, K.Kitagaki and T.Umegaki, "Thermal instability and proton conductivity of ceramic hydroxyapatite of high temperatures", *J. Amer. Ceram. Soc.*, 78, 1191-97 (1995).
4. S.Nakamura, H.Takeda and K.Yamashita. "Proton transport polarization and depolarization of hydroxyapatite ceramic", *J. Appl. Phys.*, 89, 5386-5392 (2001).
5. K.Yamashita, N.Oikawa and T.Umegaki, "Acceleration and deceleration of bone-like crystal growth on ceramic hydroxyapatite by electric polarization", *Chem.Mater.*, 8, 2697-2700 (1996).
6. T.Kobayashi, S.Nakamura and K.Yamashita, "Enhanced osteobonding by negative surface charges of electrically polarized hydroxyapatite", *J. Biomed. Mater. Res.*, 57, 477-484 (2001).
7. N.C. Teng, S.Nakamura, Y.Takagi, Y.Yamashita, M.Ohgaki and K.Yamashita, "A new approach to enhancement of bone formation by electrically polarized hydroxyapatite", *J. Dent. Res.*, 80, 1925-29 (2001).
8. A.Obata, S.Nakamura, Y.Moriyoshi and K.Yamashita, "Electrical polarization of bioactive glass and assessment of their in vitro apatite deposition", *J.Biomed. Mater. Res.*, 67A, 413-420 (2003).
9. A.Obata, S.Nakamura and K.Yamashita, "Interpretation of electrical polarization and depolarization mechanisms of bioactive glasses in relation to ionic migration", *Biomaterials*, 25, 5163-5169 (2004).
10. T.V.Thamaraiselvi and S.Rajeswari, "Biological evaluation of Bioceramics Materials-A Review", *Trends. Biomater. Artif. Organs*, 18, 9-17 (2004).
11. 機能性ガラスの応用, シーエムシー, (1990), pp.218-225
12. 生田博将, "交流インピーダンス法(固体電解質系)", *Electrochemistry*, 68, 5, 336-360 (2000).
13. セラミックスの評価法, 日本セラミックス協会, (1993), pp.205-213.
14. 基礎無機固体化学, 古山昌三, 村石治人, 三共出版, pp.69-70 (1995).
15. 日野太郎, 森川鋭一, 串田正人, 基礎電気・電子工学シリーズ 5 電気・電子材料, 森北出版, (1999), pp.148-165.
16. セラミックス工学ハンドブック[第2版] 応用 日本セラミックス協会 技報堂
17. T.Kokubo, H.Kushitani, S.Sakka, T. Kitsugi and T.Yamamuro, "Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W", *J. Biomed. Mater. Res.*, 24, 721-734 (1990).

18. T.Kokubo, S.Ito, ZT.Huang, T.Hayashi, S.Sakka, T.Kitsugi, K.Yamamuro, “ Ca, P-rich layer formed on high strength bioactive glass-ceramic A-W”, *J. Biomed. Mater. Res.*, 24, 331-343 (1990).
19. T.Kokubo, H.Kushitani, Y.Ebisawa, T.Kutsugi, S.Kotani, K.Ohura, K.Yamamuro,” Apatite formation on bioactive ceramics in body environment”. In: Ohnishi H, Aoki H, Sawai K, editors. *Bioceramics*, 1, 157-162 (1989).
20. T.Kokubo, H-M Kim, M.Kawashita, “Novel bioactive materials with different mechanical properties”, *Biomaterials*, 24, 2161-2175 (2003).
21. A.Oyane, K.Onuma, A.Ito, H-M Kim, T.Kokubo, T.Nakamura,” Formation and growth of cluster in conventional and new kinds of simulated body fluids, *J. Biomed. Mater. Res.*, 64A, 339-348 (2003)
22. A.Oyane, H-M Kim, T.Furuya, T.Kokubo, T.Miyazaki, T.Nakamura,” Preparation and assessment of revised simulated body”, *J. Biomed. Mater. Res.*, 65A, 188-195 (2003).
23. 山根正之、はじめてガラスを作るひとのために、内田老鶴園 (1989).
24. L.L.Hench, I.O.Xynos and J.M.Polak: *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.*, 15 No.4 (2004), p 543
25. S.Nakamura, T.Kobayashi and K.Yamashita: *J. Biomed. Mater. Res.*, 61, (2002), p. 593
26. K.Yamashita and S.Nakamura: *J. Ceram. Soc. Japan* , 113, (2005), p. 1
27. L.L.Hench and J.Wilson: Bioactive glasses. In *Advanced Series in Ceramics Vol.1* (1993).
28. T.Jaakkola, J.Rich, T.Tirri, T.Narhi, M.Jokinen, J.Seppala and A.Yli-Urpo, “In vitro Ca-P precipitation on biodegradable thermoplastic composite of poly and bioactive glass (S53P4)”, *Biomaterials*, 25, 575-581 (2004).
29. P.Saravanapavan, J.R.Jones, R.S.Pryce and L.L.Hench,” Bioactivity of gel-glass powders in the CaO-SiO₂ system: A comparison with ternary (CaO-P₂O₅-SiO₂) and quaternary glasses (SiO₂-CaO-P₂O₅-Na₂O)”, *J. Biomed. Mater. Res.*, 66A, 110-119 (2003)
30. H-M Kim, F.Miyaji and T.Kokubo, “ Bioactivity of Na₂O-CaO-SiO₂ Glasses”, *J. Am. Ceram. Soc.*, 78[9], 2405-11 (1995).
31. T.Kokubo, H-M Kim, M.Kawashita, “Novel bioactive materials with different mechanical properties”, *Biomaterials*, 24, 2161-2175 (2003).
32. O.Peitl, E.D.Zanotto, L.L.Hench, “Highly bioactive P₂O₅-Na₂O-CaO-SiO₂ glass-ceramics”, *J. Non-Crystalline Solids*, 292, 115-126 (2001).
33. I.M.O.Kangasniemi, E.Vedel, J. de B-Hogerworst, A.U.Yli-Urpo and K. de Groot, “Dissolution and scanning electron microscopic studies of Ca,P particle-containing bioactive glasses”, *J. Biomed. Mater. Res.*, 27, 1225-1233 (1993).
34. M.Cerruti, D.Greenspan and K.Powers, “Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass 45S5”, *Biomaterials*, 26, 1665-1674 (2005).

7. 研究発表履歴

天岡恵美子, 中村美穂, 中村聡, 守吉佑介, 山下仁大, “Na₂O-P₂O₅-CaOガラスの電気分極特性とSBF活性評価”, 第8回生体関連セラミックス討論会, 2004(12月) 東京

Emiko Amaoka, Erik Vedel, Satoshi Nakamura, Yusuke Moriyoshi, Jukka I. Salonen and Kimihiro Yamashita, “Effect of Electrical Polarization on the Behavior of Bioactive Glass Containing MgO and B₂O₃ in SBF”, The 18th Bioceramics, Dec.5~8 2005 in Kyoto(Japan)

研究論文

Emiko Amaoka, Erik Vedel, Satoshi Nakamura, Yusuke Moriyoshi, Jukka I. Salonen and Kimihiro Yamashita, “Effect of Electrical Polarization on the Behavior of Bioactive Glass Containing MgO and B₂O₃ in SBF”, *Key Engineering Materials*, Vol.309-311 (2006)

8. 謝辞

本研究は法政大学物質化学科無機材料化学研究室と東京医科歯科大学生体材料工学研究所素材部門無機材料分野との共同研究として行い、東京医科歯科大学生体材料工学研究所山下研究室にて研究をさせて頂きました。Turku University、Åbo Akademi University (Finland)との共同研究として MBG ガラス材料を用いました。研究を行うにあたり、適切な御指導、御助言を頂きました法政大学大学院 守吉佑介教授, 東京医科歯科大学 山下仁大教授, Turku University Jukka I Salonen 教授に深く感謝致します。多くの御助言を頂きました中村聡先生、大柿真毅先生、関島安隆先生に深く感謝致します。SEM の御指導を頂きました東京医科歯科大学機器分析センターの市野瀬先生に深く感謝致します。ICP 装置を貸して頂き、御指導頂きました東京医科歯科大学生体材料工学研究所金属材料分野の土居先生に深く感謝致します。また本研究は、多くの先輩方による御指導、御協力により本論文として完成させることが出来ました。改めて感謝申し上げます。最後に、研究活動および学生生活において様々な形で支えて下さった守吉研究室ならびに山下研究室の皆様へ感謝申し上げます。どうもありがとうございました。

2006 年 2 月 天岡恵美子