

## $\alpha$ -リン酸三カルシウム/リン酸四カルシウム系 セメントの硬化反応生成物

足立正徳 後藤隆泰 若松宣一  
亀水秀男 飯島まゆみ 金昇孝  
土井 豊

朝日大学歯学部歯科理工学講座 (主任: 土井 豊教授)

**抄録** リン酸三カルシウム( $\alpha$ -TCP)とリン酸四カルシウム(TeCP)のモル比が異なるセメント粉末を合成し, 3種類の溶液で練和した場合の生成相について検討した。20wt%リン酸二水素ナトリウム( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )水溶液で練和した場合, いずれも結晶性の良いアパタイトが生成し, SEM観察からもフレーク状のものがアパタイト結晶と考えられた。20wt%リンゴ酸水溶液の場合, 生成したアパタイトの結晶性は低く, 未反応粒子が残っていた。また, 20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 20\text{wt}\%$ リンゴ酸水溶液の場合, アパタイトの結晶性は前二者の中間的なものであり, 20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 水溶液の場合と類似した結晶形態を示し, 未反応粒子も見られなかった。これらの結果から, 練和液の組成を変えることによって生成するアパタイトの結晶性や生成量を設定できると予想され, 生体活性材料として広範囲に応用できる可能性があると考えられた。

**キーワード:**  $\alpha$ -TCP/TeCP系セメント,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot$ リンゴ酸水溶液, アパタイト, 結晶性, 生体活性

### 緒 言

ハイドロキシアパタイトは, 骨や歯などの生体硬組織を構成する重要な成分であり, 生体組織に無刺激で親和性に優れていることから生体材料として用いられ, 歯科用インプラント<sup>1,2)</sup>や形成・整形外科領域に応用されている<sup>3-8)</sup>。しかしながら, そのほとんどが焼結体もしくは粉末であり, 結晶性は骨に比べてかなり良く, 生体内では非吸収性材料として機能する<sup>9)</sup>。

一方, リン酸カルシウム系セメントは練和液に希薄リン酸水溶液を用い, 練和後, 経時的にアパタイトを生成しながら硬化するために, 生体親和性に富むとの報告がある<sup>10-17)</sup>。著者らはハイドロキシアパタイトを高温加熱して分解したリン酸三カルシウム( $\alpha$ -TCP)とリン酸四カルシウム(TeCP)の混合物をセメント粉末にし, 練和液にリン酸水溶液を用いるとアパタイト

を生成しながら硬化することを報告した<sup>18,19)</sup>。しかしながらこのセメント粉末作製法では, 粉末中の $\alpha$ -TCP/TeCPのモル比を変えることができない。そこで, 先ず $\alpha$ -TCPとTeCPを別々に合成し, さらに湿式合成した他のリン酸化合物を添加して混合, 粉碎する方法でセメント粉末を作製してきた。前報<sup>20)</sup>では乾式合成だけで種々の $\alpha$ -TCP/TeCPモル比から成るセメント粉末の合成を試み, その物理化学的性質を検討した。その結果, 根管充填材などに応用できる適度な強度を持つうえに, 練和泥のpHはほぼ中性であることを示した。本研究では, この試作 $\alpha$ -TCP/TeCP系セメントの硬化反応時の析出相の経時変化を, X線回折, SEM観察を通して検討し, セメントの硬化挙動を明らかにすること試みた。

### 材料および方法

#### 1. 乾式合成法によるセメント粉末の作製

セメント粉末は前報<sup>20)</sup>と同様の方法で作製した。つまり, 乾式合成後のセメント粉末がTeCP単相,  $\alpha$ -TCP/TeCPモル比で2/3, 2, 6, および $\alpha$ -TCP単相になるように機械混合した炭酸カルシウム( $\text{CaCO}_3$ )と

第二リン酸カルシウム二水塩( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )を1500°Cの電気炉内で5時間加熱し反応させた。得られた焼成塊は粉碎し, 74 $\mu\text{m}$ 以下に粒度調整してセメント粉末とした(Table 1)。

#### 2. X線回折による硬化反応時の固相の同定

練和液には前報<sup>20)</sup>で用いた20wt%リン酸二水素ナトリウム( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )水溶液, 20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 20\text{wt}\%$

(平成15年1月15日 受理)

Table 1. Molar ratios of the starting materials and of  $\alpha$ -TCP and TeCP in the cements

Sample	$\alpha$ -TCP : TeCP (Molar ratio)
TeCP	0 : 1
2 $\alpha$ /3TeCP	2 : 3
2 $\alpha$ /TeCP	2 : 1
6 $\alpha$ /TeCP	6 : 1
$\alpha$ -TCP	1 : 0

リンゴ酸水溶液に加えて20wt/%リンゴ酸水溶液の3種類を用い、粉液比1.8(粉1.5g/液0.83ml)<sup>20)</sup>で練和した。練和泥はプラスチックリング(内径13mm, 高さ3mm)に填入後、直ちに37°C蒸留水中に浸漬し、経時的に表面のX線回折(XD-3A島津社製)を行い、硬化反応時の固相の同定を行った。

### 3. セメント硬化体表面の走査電子顕微鏡(SEM)観察

X線回折の場合と同様の方法で準備した試料を所定の時間経過後に水中から取り出して凍結乾燥し、Pt-Pd蒸着を施してSEM観察をおこなった。

## 結果および考察

### セメントの硬化反応生成物

Fig. 1は練和液に20wt%NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>・20wt%リンゴ酸水溶液を用い、練和泥を37°C蒸留水中に浸漬し、1週間の経時的なX線回折の結果を示したものである。これは前報<sup>20)</sup>で示したように大きな強度が得られた練和液

との組み合わせであり、浸漬一日以降ではいずれの組成のセメントにおいても、アパタイト相が生成していることがわかる。どの $\alpha$ -TCP/TeCPモル比組成のセメント粉末でも、浸漬一日以降において32°/2 $\theta$ 近傍に幅の広いピークが出現し、26°/2 $\theta$ 付近にも微弱ながら

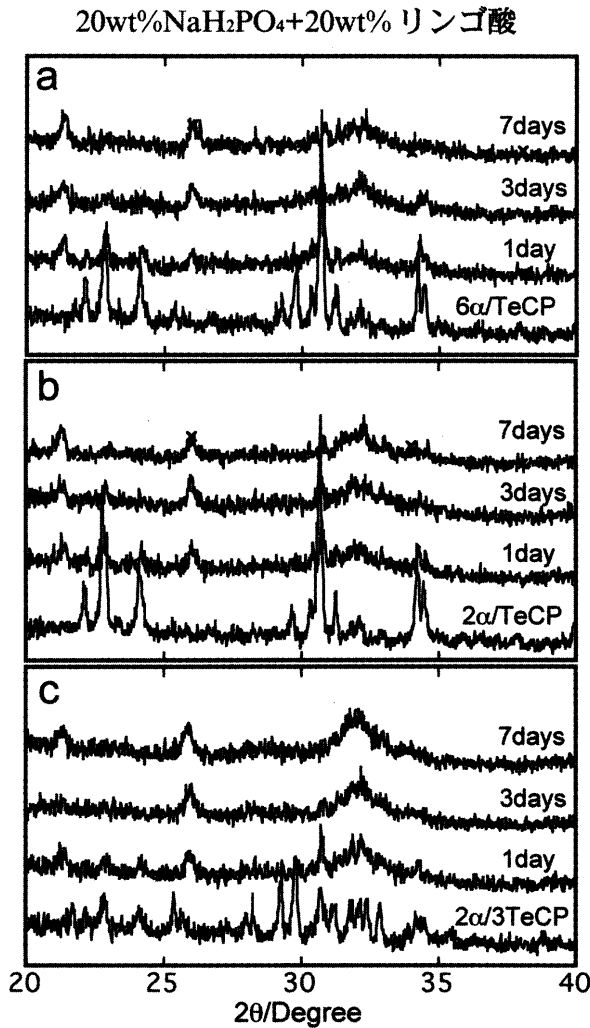


Fig. 1. Time dependence of X ray diffraction patterns of three cements immersed in distilled water after mixing with 20wt% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·20 wt% DL-malic acid solution.

(a)  $\alpha$ -TCP/TeCP= 6/1, (b) 2/1, (c) 2/3

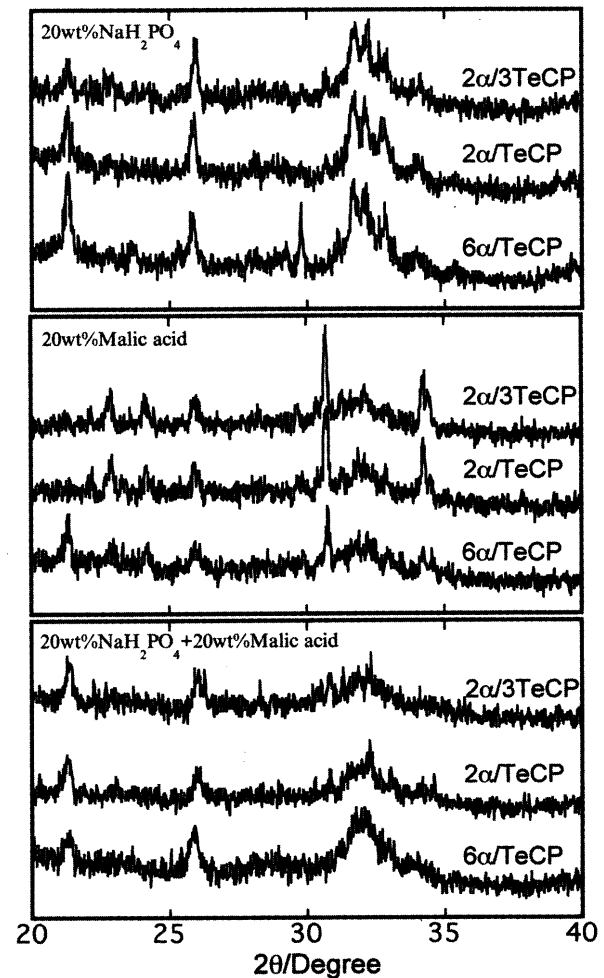


Fig. 2. X ray diffraction patterns of three cements stored in distilled water for seven days after mixing with three kinds of solutions.

新たな回折ピークが出現している。これらの回折ピークはアパタイトに固有なもので、浸漬一日以降から、少量ではあるがアパタイト相が生成しているものと推測できた。アパタイトの生成は浸漬期間に比例して増大する傾向を示すものの、セメント粉末中の $\alpha$ -TCP含有量が少なくなるほど見かけ多くなる。また、浸漬一週間後でも未反応の $\alpha$ -TCPとTeCP相が依然として残存しているが、 $32^\circ/2\theta$ 近傍の幅広いピークは顕著となった。

Fig. 2は浸漬1週間後のすべての粉末と練和液による硬化体のX線回折の結果である。20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 水溶液で練和した場合(Fig. 2a), 浸漬一週間後ではいずれの場合も $\alpha$ -TCPおよびTeCPの回折ピークが衰退し、硬化体はアパタイト単相に移行していた。しかしながら、前報<sup>20)</sup>で示したように、強度的には充分とは言えなかった。20wt%リンゴ酸(Fig. 2b)で練和した場合、アパタイト固有の回折ピークが僅かながら認められたが、浸漬一週間後でも $\alpha$ -TCPおよびTeCPの回折ピークが認められ、未反応粒子がかなり残存していることがわかる。しかしながら、練和液に20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 20\text{wt}\%$ リンゴ酸水溶液を用いれば(Fig. 2c), 20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 水溶液の場合より結晶性は低いが、硬化体はアパタイト単相であることが示された。このことは

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$ とリンゴ酸の濃度を変えた練和液を用いることによって生成するアパタイトの結晶性や量をコントロールできる可能性を示している。

#### セメント硬化体の表面性状

Fig. 3~5は20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 20wt%リンゴ酸, 20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 20\text{wt}\%$ リンゴ酸水溶液で練和した3種のセメント硬化体の浸漬一週間後の表面性状を比較したものである。20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ の場合(Fig. 3), いずれのセメント粉末でも未反応粒子と思われる像は認めがたく、アパタイトと思われるフレーク状の結晶が認められた。このフレーク状結晶はセメント粉末中の $\alpha$ -TCP/TeCPモル比が大きくなる( $\alpha$ -TCP含有量が増加)ほど大きくなった。20wt%リンゴ酸練和の場合(Fig. 4), セメント組成に関係なく未反応粒子と思われる粒子が認められた。また、粒子表層に細かな反応生成物も認められた。20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 20\text{wt}\%$ リンゴ酸溶液の場合(Fig. 5), 各セメント粉末ともに $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 単味の場合とほぼ同様な像を呈していた。

#### 練和液と生体親和性

現時点では、前報<sup>20)</sup>で報告したように強度を向上させるためには比較的体親和性に富む生体有機酸であるリンゴ酸を添加する必要がある。一般に、リン酸カルシウム系骨補填材などの生体材料は生体親和性に優

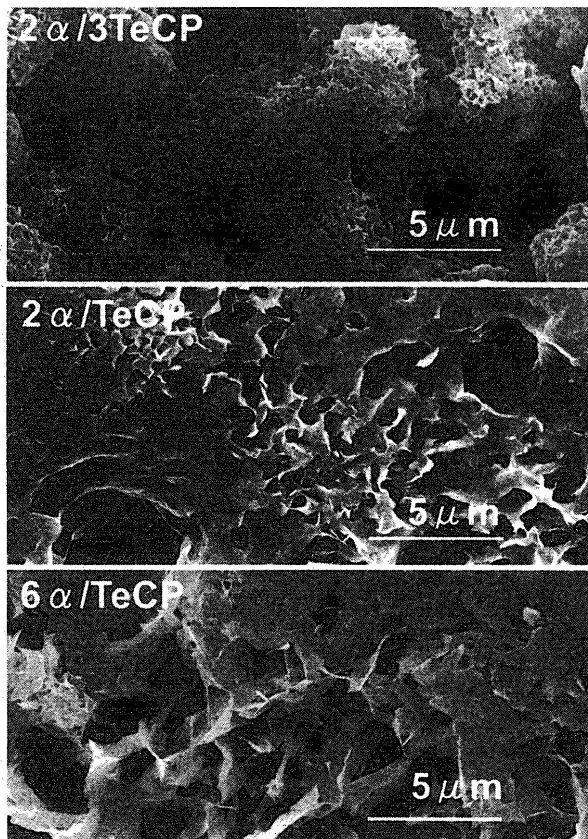


Fig. 3. SEM microphotographs of three cements immersed in distilled water for seven days after mixing with 20 wt%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  solution.

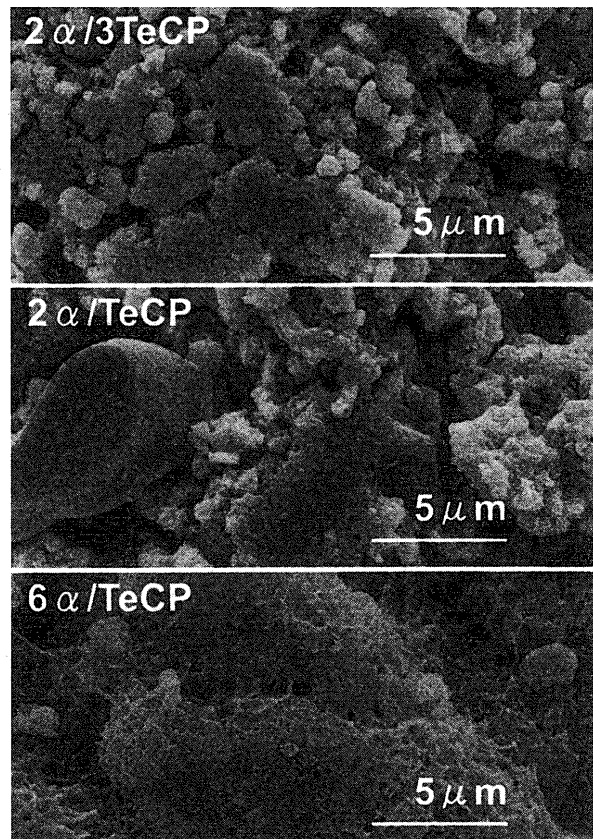


Fig. 4. SEM microphotographs of three cements immersed in distilled water for seven days after mixing with 20 wt% DL-malic acid solution.

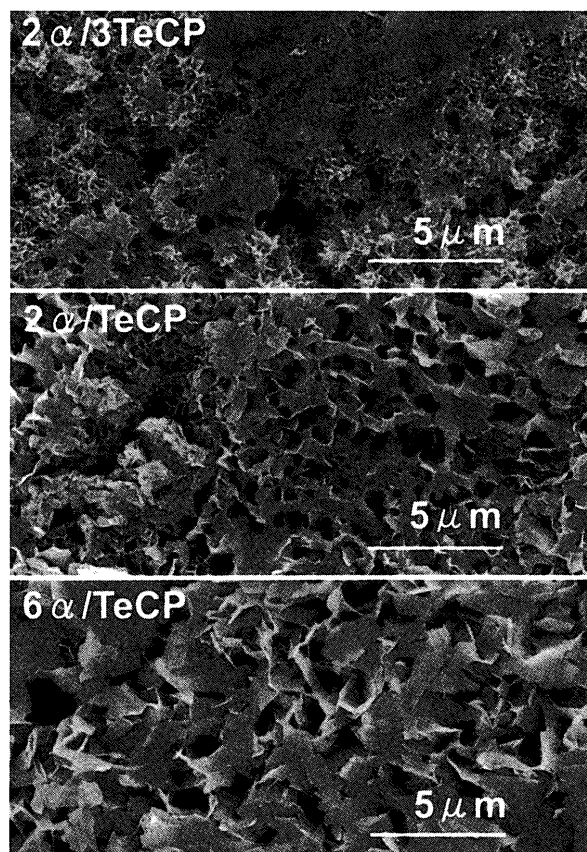


Fig. 5. SEM microphotographs of three cements immersed in distilled water for seven days after mixing with 20wt%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 20\text{wt}\%$  DL-malic acid solution.

れるが、 $\alpha$ -TCP/TeCP系セメントの場合、使用方法によっては生体親和性が損なわれることがある。特に、術者が操作性および便宜性のみを追求し、必要以上にセメント泥の流動性を高める場合、硬化時間が長くなるだけでなく硬化体強度が極めて貧弱となる場合にこ

## 結 論

本研究で試作したリン酸カルシウム系セメントは、練和液に20wt%リン酸二水素ナトリウム水溶液、20wt%リンゴ酸水溶液あるいは両者を併用した場合でもアパタイトを生成しながら硬化することがわかった。こ

の問題が生じる可能性がある。アパタイトが生体親和性に優れるのは、焼結体などのように各アパタイト結晶、もしくは一次粒子が強固に結合し、ある大きさを確保していることが前提条件になっている。 $\alpha$ -TCP/TeCP系セメントの場合も、アパタイトが生成するセメントほど生体親和性に優れると考えられるが、これは練和泥が血液および組織液中で崩壊しないことが大きな前提となる。この意味ではセメント硬化体の強度は大きな意味を有する。本研究においてリンゴ酸を添加した大きな理由は、初期強度を向上し、練和泥の組織液ならびに血液中での崩壊を回避するためである。これまでの研究により、クエン酸に比べリンゴ酸の方が細胞親和性に優れることも<sup>21)</sup>、これを練和液に添加した大きな理由の一つである。

本 $\alpha$ -TCP/TeCP系セメントの硬化反応において、実験結果の項では示さなかったが、20wt% $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 水溶液で練和した場合、特に練和直後（練和開始1時間後）の6 $\alpha$ /TeCPでは $11.7^\circ/2\theta$ 近傍に第二リン酸カルシウム二水塩(DCPD:  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )の回折ピークが認められた。このことは、練和直後にはDCPDが生成することを示すものであるが、前報<sup>20)</sup>で示したようにpHが中性からアルカリ側に傾くことによって、アルカリ領域で溶解度が高いDCPDが溶解され、従来の自己硬化型セメント(TeCP, DCPD混合)と同様な硬化反応を起こしているものと推測される<sup>22-24)</sup>。いずれにしても、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 水溶液、あるいは強度増加のためのリンゴ酸水溶液の併用の場合でも、硬化体がアパタイト単相に成ることは、セメント泥をそのまま組織に填入しても、生体親和性が確保できる可能性があり、本研究で開発した $\alpha$ -TCP/TeCP系セメントが今後生体活性セメントとして有用なものとなることを示唆している。

のことは走査型電子顕微鏡での組織観察からも明白であり、特に練和液がリン酸二水素ナトリウムの場合には、アパタイトと思われるフレーク状の結晶が認められ、硬化体はアパタイト単相であることが示された。

## 参考文献

- 1) Blitterswijk, C. A., Hesselink, S. C., Grote, J. J., Koerten, H. K. and Groot, K. : The biocompatibility of hydroxyapatite ceramic. *J. Biomed. Mater. Res.*, **24** : 433~453, 1990.
- 2) Ozawa, S., Kasugai, S. : Evaluation of implant materials (hydroxyapatite, glass-ceramics, titanium) in rat bone marrow stromal cell culture. *Biomaterials*, **17** : 23~29, 1996.
- 3) Friedmann, C. D., Costantono, P. D., Jones, K., Chow, L. C., Pelzer, H. J. : Hydroxyapatite cement II Obliteration and reconstruction of the cat frontal sinus. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.*, **117** : 385~389, 1991.
- 4) Bruijn, J. D., Bovell, Y. P., Davies, J. E., Blitterswijk, C. A. : Osteoclastic resorption of calcium phosphates is potentiated in postosteogenic culture conditions. *J. Biomed. Mater. Res.*, **28** : 105~112, 1994.
- 5) Doi, Y., Shibutani, T., Moriwaki, Y., Kajimoto, T., Iwayama, Y. : Sintered carbonate apatites as bioresorbable bone substitutes. *J. Biomed. Mater. Res.*, **39** : 139~143, 1998.
- 6) Yamamoto, H., Niwa, S., Hori, M., Hattori, T., Sawai,

- S., Aoki, A., Hirano, M., Takeuchi, S. : Mechanical strength of calcium phosphate cement in vivo and in vitro. *Biomaterials*, **19** : 1587~1591, 1998.
- 7) 服部秀樹, 平野昌弘, 勝田真一, 佐藤秀隆, 杉本茂, 竹内啓泰 :  $\alpha$ -TCP/DCPD/TeCCP系バイオアクティブ骨セメントの生体適合性. *生体材料*, **16** : 78~87, 1998.
- 8) Doi, Y., Iwanaga, H., Shibutani, T., Moriwaki, Y. and Iwayama, Y. : Osteoclastic responses to various calcium phosphates in cell cultures. *J. Biomed. Mater. Res.*, **47** : 424~433, 1999.
- 9) Doi, Y., Wakamatsu, N., Goto, T., Kamemizu, H., Moriwaki, Y., Adachi, M., and Suwa, Y. : Influence of carbonate on sintering of apatite. *J. Dent. Res.*, **72** : 1279~1284, 1994.
- 10) Brown, W. E., Chow, L. C. : A new calcium phosphate setting cement. *J. Dent. Res.*, **62** : 672, 1983.
- 11) Fukase, Y., Eanes, E. D., Takagi, S., Chow, L. C., Brown, W. E. : Setting reaction and compressive strengths of calcium phosphate cements. *J. Dent. Res.*, **69** : 1852~1856, 1990.
- 12) Friedmann, C. D., Costantono, P. D., Jones, K., Chow, L. C., Pelzer, H. J. : Hydroxyapatite cement. Basic chemistry and histologic properties. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.*, **117** : 379~384, 1991.
- 13) 飯島智彦, 大森良幸, 奥隆司 :  $\alpha$ 型リン酸三カルシウム-リン酸四カルシウム系アパタイトセメントの特性. *Gypsum & Lime*, **238** : 159~167, 1992.
- 14) Ginebra, M. P., Fernandez, E., Maeyer, E. A. P., Verbeeck, R. M. H., Boltong, M. G., Ginebra, J., Driessens, F. C. M., Planell, J. A. : Setting reaction and hardening of an apatite calcium phosphate cement. *J. Dent. Res.*, **76** : 905~912, 1997.
- 15) Kon, M., Miyamoto, Y., Asaoka, K., Ishikawa, K., Lee, H. H. : Development of calcium phosphate cement for rapid crystallization to apatite. *Dent. Materials*, **17** : 223~232, 1998.
- 16) Takagi, S., Chow, L. C., Ishikawa, K. : Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements. *Biomaterials*, **19** : 1593~1899, 1998.
- 17) 中野由美子 :  $\alpha$ 型リン酸三カルシウムを添加した多孔質リン酸八カルシウム硬化体の作製と材料科学的評価. *歯材器*, **19** : 65~76, 2000.
- 18) 足立正徳, 土井豊, 後藤隆泰, 若松宣一, 亀水秀男, 飯島まゆみ, 西川元典, 志水雄一郎, 森脇豊 : リン酸カルシウム系セメントに関する基礎的研究(第I報)アパタイト硬化体の生成. *歯材器*, **16**特別号 : 112, 1997.
- 19) 足立正徳, 土井豊, 後藤隆泰, 若松宣一, 亀水秀男, 飯島まゆみ, 西川元典, 志水雄一郎, 堀口敬司, 森脇豊 : リン酸カルシウム系セメントに関する基礎的研究(第II報)硬化体の物性について. *歯材器*, **17**特別号 : 112, 1998.
- 20) 足立正徳, 後藤隆泰, 若松宣一, 亀水秀男, 飯島まゆみ, 金昇孝, 土井豊 : 試作 $\alpha$ -リン酸三カルシウム/リン酸四カルシウム系セメントの物理化学的性質. *岐歯学誌*, **29**(3) (印刷中)
- 21) Doi, Y., Shimizu, Y., Moriwaki, Y., Aga, M., Iwanaga, H., Shibutani, T., Yamamoto, K. and Iwayama, Y. : Development of a new calcium phosphate cement that contains sodium calcium phosphate. *Biomaterials*, **22** : 847~854, 2001.
- 22) 土井豊, 竹沢保政, 柴田俊一, 若松宣一, 亀水秀男, 後藤隆泰, 飯島まゆみ, 森脇豊, 宇野克美, 久保文信, 生内良男 : 自己硬化型アパタイトセメントI 試作セメントの物理化学的性状. *歯材器*, **6** : 53~58, 1987.
- 23) 竹沢保政, 土井豊, 柴田俊一, 若松宣一, 亀水秀男, 後藤隆泰, 飯島まゆみ, 森脇豊, 宇野克美, 久保文信, 生内良男 : 自己硬化型アパタイトセメントII 硬化促進材としてのHApの検討. *歯材器*, **6** : 429~431, 1987.
- 24) 土井豊, 柴田俊一, 竹沢保政, 若松宣一, 亀水秀男, 飯島まゆみ, 森脇豊, 宇野克美, 久保文信, 生内良男 : 自己硬化型アパタイトセメントIII 硬化反応機構. *歯材器*, **7** : 176~183, 1988.

## Reaction Products of $\alpha$ -Tricalcium Phosphate/Tetracalcium Phosphate Cements

MASANORI ADACHI, TAKAYASU GOTO, NOBUKAZU WAKAMATSU,  
HIDEO KAMEMIZU, MAYUMI IJIMA, S. -H. KIM and YUTAKA DOI  
*Department of Dental Materials and Technology, School of Dentistry, Asahi University*  
(Chief: Prof. Yutaka Doi)

**Key words:**  $\alpha$ -TCP/TeCP cement,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ·Malic acid solution, Apatite, Crystallinity, Bioactive

**Abstract** The change of crystal phase after mixing  $\alpha$ -tricalcium phosphate ( $\alpha$ -TCP)/tetracalcium phosphate (TeCP) cements with three solutions was investigated by X ray diffraction and SEM.  $\alpha$ -TCP/TeCP cements with different molar ratios ( $\alpha$ -TCP/TeCP=0/1, 2/3, 2/1, 6/1, and 1/0) were directly synthesized by firing mixtures of calcium carbonate and dicalcium phosphate dihydrate at 1500°C for 5 hrs. When the cements were mixed with 20 wt%  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  solution at a powder-liquid ratio of 1.8 (powder g/liquid ml) and their pastes were stored in distilled water at 37°C for one week, apatite phase was identified in every cement. The of crystal shape was flake like and the size become smaller with an increase in the TeCP content in the cement. When 20 wt% DL-malic acid solution was used as a liquid, the crystallinity of apatite was lower and non-reacted particles remained to an appreciable extent. When 20 wt%  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  and 20wt% DL-malic acid solution was used as a liquid, the apatite phase detected in the cements showed an crystallinity between those of the above two cements. No non-reacted particles were detected after one week immersion in distilled water for these cements. Our results suggested that the crystallinity and quantity of apatite could be controlled by changing the composition of solution, and hence this cement was applicable to a wide field as a bioactive cement.