

リン酸八カルシウムの層間有機修飾

—バイオメディカル応用の試み—

Organic Modification of the Interlayer of Octacalcium Phosphate — Attempts for Biomedical Applications —

Key-words : Octacalcium phosphate, Organic modification, Incorporation, Fluorescence, Biomedical applications

横井 太史・島袋 将弥・
川下 将一

Taishi YOKOI, Masaya SHIMABUKURO and Masakazu KAWASHITA
(Tokyo Medical and Dental University)

1. はじめに

リン酸カルシウム系化合物は代表的なバイオセラミックスであり、これらを用いた骨修復材料の開発が進められている。近年では炭酸アパタイトやリン酸八カルシウム（OCP, Octacalcium phosphate）を用いた骨修復材料が国内で実用化されている。筆者らは特にOCPに注目している。

OCPの組成式は $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ である。OCPはアパタイト層と呼ばれる無機層と水和層からなる層状構造を有する。その層間には本来 HPO_4^{2-} が存在しており、これをさまざまなカルボン酸イオンに置換することができるという層状化合物らしい性質を持っている。このような性質を持つリン酸カルシウム系化合物はOCPだけである。OCPへのカルボン酸導入現象は1983年に日本で初めて見出され¹⁾、カルボン酸を導入して層間を有機修飾したOCPの合成や機能開拓には日本の研究者が貢献してきた。本稿では、OCPの層間有機修飾を概説するとともに、この特長を利用した次世代バイオセラミックス創製に関する筆者らの研究について紹介する。

2. OCPの層間有機修飾

これまでにOCPへの導入が報告されたカルボン酸は25種類である²⁾。それらの内訳を見ていくと、OCPに導入可能なカルボン酸の多くはジカルボン酸であることが分かる。トリカルボン酸としてはクエン酸³⁾、テトラカルボン酸としては1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸⁴⁾の導入が報告されている。多価カ

ルボン酸であることはOCPに導入可能なカルボン酸に求められる要素のようである。これはOCPの層間に導入されたカルボン酸が上下の無機層を連結する役割を担っているためであると考えられる（図1⁵⁾）。

OCPに導入できるカルボン酸イオンは主にジカルボン酸であり、その中でもコハク酸イオンやスベリン酸イオンなどの脂肪族ジカルボン酸イオン（ $^-\text{OOC}(\text{CH}_2)_n\text{COO}^-$ ）が代表的である。ジカルボン酸イオンを含有しないOCPとコハク酸イオン、アジピン酸イオンおよびスベリン酸イオンを含有するOCPの(100)、(010)、(002)面間隔を表1⁶⁾にまとめた。主鎖骨格のメチレン基（ $-\text{CH}_2-$ ）の数に比例してOCPの(100)面間隔は大きくなる。ジカルボン酸イオンの導入により(100)面間隔が明確に変化するのに対し、(010)面間隔や(002)面間隔は系統的には変化しない。これらのことから、図1に示したように水和層に導入されたジカルボン酸イオンの主鎖骨格はOCPの a 軸に平行になっていると推定される。

OCPの層間有機修飾の特徴をまとめると以下のようになる。

- 1) 層間に導入可能な有機分子は現在のところカルボン酸イオンに限られる。
- 2) カルボン酸イオンでも導入できる分子と導入できない分子がある。
- 3) カルボン酸イオンはOCPの合成時に層間に導入する必要がある。

OCPの層間有機修飾は他の層状化合物におけるインターカレーションとは性質が異なることが示唆されている⁷⁾。例えば、アニオンを層間に導入できる典型的な層状化合物に層状複水酸化物がある。層状複水酸化物の場合、アニオンであれば基本的に層間に導入できる。しかし、OCPの場合にはカルボン酸イオンで

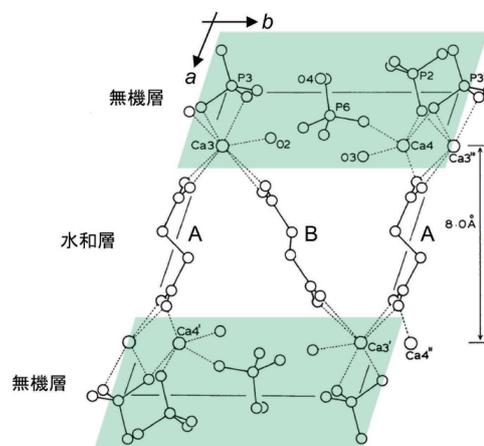


図1 層間をコハク酸（図中A, B）で修飾したOCPの構造の模式図。（文献5より一部改変して転載。）

表1 OCP および層間にジカルボン酸が導入された OCP の(100), (010)および (002) 面間隔⁶⁾.

層間に導入されたジカルボン酸	ジカルボン酸の分子構造	面間隔 /nm		
		(100)	(010)	(002)
-*	N/A	1.87	0.939	0.343
コハク酸イオン	HOOC(CH ₂) ₂ COOH	2.14	0.939	0.342
アジピン酸イオン	HOOC(CH ₂) ₄ COOH	2.36	0.941	0.342
スベリン酸イオン	HOOC(CH ₂) ₆ COOH	2.61	0.938	0.342

*層間にジカルボン酸が導入されていないことを意味する.

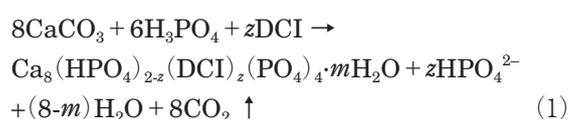
も導入できる分子と導入できない分子がある. 極端な例としては, (R)-(+)−メチルコハク酸は導入できないが, (S)-(−)−メチルコハク酸は導入できる, というように分子の立体構造を認識した導入現象が報告されている⁸⁾. このようなホスト−ゲスト間の分子認識に由来するゲストの選択性は, 他の層状化合物にはほとんど見られない現象であり, OCP の特徴的な性質の一つであると言える. 加えて, OCP では一度層間に導入したゲストを別のゲストに置換することができない⁹⁾ (置換の成功例が報告されていない) という点も他の層状化合物に見られるインターカレーションとは異なっている.

OCP の層間有機修飾が前述の 1)~3) のような特徴を有する原因は今のところ分かっていない. したがって, OCP の層間有機修飾に関する化学の理解を深めることは学術的に意義がある. 一方で, 新規材料開発の側面からは, 3) の特徴のために合成法の開拓が重要となる. そこで次に層間を有機修飾した OCP の合成法について述べる.

3. 層間を有機修飾した OCP の合成法

OCP にカルボン酸イオンを導入できることが分かると, さまざまなカルボン酸イオンの導入が試みられ, OCP の層間に導入可能なカルボン酸イオン種が明らかにされてきた. そこで採られた方法は, ゲストとなるカルボン酸水溶液中において α 型リン酸三カルシウム (α -TCP, Ca₃(PO₄)₂) を OCP に転化させ, 反応溶液中に共存するカルボン酸イオンを結晶中に取り込ませるといったものである¹⁰⁾.

ジカルボン酸イオンを導入した OCP の合成法は, 前述の α -TCP の転化反応を用いる方法以外に, 尿素的加水分解を用いた均一沈殿法も報告されている¹¹⁾. 筆者らは高結晶性の試料が得られる利点から, ジカルボン酸水溶液中において炭酸カルシウムとリン酸を反応させる方法により, ジカルボン酸イオンを含有する OCP を合成している¹²⁾. ジカルボン酸をゲストとした反応式は以下の通りである.



* $0 \leq z \leq 1$, DCI: Dicarboxylate ion

トータルでは(1)式となるが, 実際の反応は, まず炭酸カルシウムとリン酸が反応してリン酸水素カルシウム二水和物 (DCPD, CaHPO₄·2H₂O) が生成し, DCPD がジカルボン酸イオンを含有する OCP に転化している. そのため, DCPD を出発原料に用いる合成方法も筆者らは報告している¹³⁾. DCPD の溶解度は α -TCP よりも小さいため, 難溶性カルシウム塩を形成するカルボン酸を導入した OCP の合成の際に有効な場合がある.

上述の合成法を駆使して得られた層間を有機修飾した OCP の応用が検討され始めている. ここでは筆者らが研究を進めているバイオメディカル応用について紹介する.

4. 層間を有機修飾した OCP のバイオメディカル応用

バイオマテリアル分野において近年, 注目されているキーワードにセラノスティクスがある. セラノスティクスとは, 治療 (Therapy) と診断 (Diagnostics) を融合させた造語であり, 診断と治療を一体化して行う考え方や, その手法のことである. セラノスティクスの概念は, バイオセラミックスの研究・開発における重要な材料設計指針の一つになりつつある.

構造を精密に制御することに対するハードルは, 有機分子よりもセラミックスの方が圧倒的に高い. この観点では, 構造設計の自由度の高い層状化合物はセラミックスを用いたセラノスティクスを実現する切り札になる材料であると考えられる. 冒頭で述べた通り, OCP は骨修復材料として有用な, 生体との親和性に優れた材料である. そのため, 層間を有機修飾した OCP のバイオメディカル分野への応用を考えるのは理にかなっている.

OCP はそれ自体が骨修復材料として作用する. そ

のため、層間有機修飾によって付与することが求められるのは診断に役立つ機能である。そこで注目しているのが蛍光性である。半導体量子ドットや希土類酸化物を用いた *in vivo* 蛍光バイオイメージング技術が進歩している。このようなイメージングを層間有機修飾した OCP を用いて実現できれば、骨欠損修復部位における情報（炎症、感染、骨修復材料の残存量など）を体外に取り出し、診断に役立てることができると期待される。蛍光性を付与した OCP を用いたセラノスティ

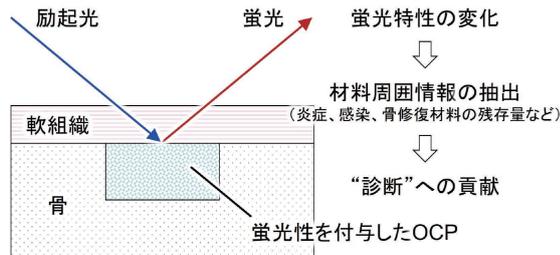


図2 蛍光性を付与した OCP を用いた骨欠損治療の概念図。同 OCP によって骨欠損の修復を行うと同時に、材料周囲の情報を蛍光によって取得することで診断にも貢献する。

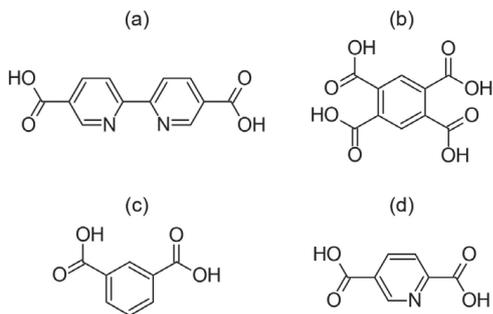


図3 OCP への導入によって蛍光性の発現が報告されているカルボン酸。(a)2,2'-ビピリジン-5,5'-ジカルボン酸、(b)1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸、(c)イソフタル酸および(d)2,5-ピリジンジカルボン酸。

クス概念図を模式的に図2に示す。

これまでに図3に示すカルボン酸を導入した蛍光性を示す OCP が報告されている。2,2'-ビピリジン-5,5'-ジカルボン酸を導入したものが蛍光性を示す OCP として初めて報告された材料である¹⁴⁾。それに続いて蛍光性を発現する OCP として見出されたのは、1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸⁴⁾、イソフタル酸¹⁵⁾、2,5-ピリジンジカルボン酸¹⁶⁾を導入した OCP である。代表的な蛍光性 OCP として、1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸を導入した OCP の3次元蛍光スペクトルと紫外線照射下での試料の写真を図4に示す。1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸の場合には、OCP に導入することにより蛍光波長は長波長側にシフトした。一方で、発光に適した励起光の波長はあまり変化しないことが分かる。しかし、これまでの4例^{4),14)~16)}を調べてみると、蛍光特性の変化は分子によって異なり、そこに一定の傾向は見出されない。共通しているのは、適した励起光の波長が紫外域にあるということである。これは共役系の電子構造が蛍光挙動を支配しているためと考えられる。

図2に示した応用を考えると、励起光の波長は生体の窓と呼ばれる軟組織透過性が高い近赤外域であることが望ましい。この観点からは、蛍光性 OCP をセラノスティクスに応用するためには高いハードルがあると言える。これをクリアするためには、より大きな共役系を有する分子を導入する合成技術や、導入した分子同士を反応させてより大きな共役系の分子を層間で合成する等の工夫が必要である。

一方で、蛍光性 OCP の性質が分かってくると、別のバイオメディカル応用が見えてくる。その一つが、*in vitro* で用いるバイオイメージングプローブである。ただし、この応用の場合には細胞内に導入できるよう

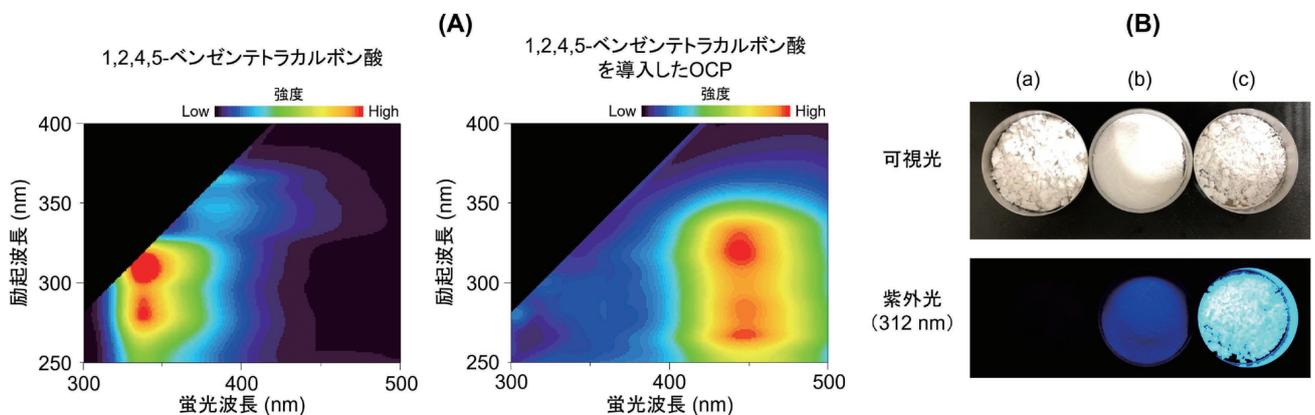


図4 (A)1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸および同カルボン酸を導入した OCP の3次元蛍光スペクトル、および(B)可視光および紫外光 (312 nm) 下で観察した試料の写真 ((a)OCP、(b)1,2,4,5-ベンゼンテトラカルボン酸および(c)同カルボン酸を導入した OCP)。 (文献4より一部改変して転載。)

に粒径を精密制御する必要がある。筆者らは、サブミクロンサイズの蛍光性 OCP の合成に成功している¹⁷⁾。

層間有機修飾によって機能付与した OCP のバイオメディカル応用は始まったばかりの新しい研究である。同材料は未来の高度医療やライフサイエンスの発展に貢献するものと期待される。

5. まとめ

本稿では、OCP の層間有機修飾について概説するとともに、層間有機修飾によって機能付与した OCP のバイオメディカル応用の可能性について述べた。OCP は生体内での利用が認められている数少ない材料の一つであり、これを有機修飾することによって従来に無かった機能を付与できれば、全く新しい材料を創出できる可能性がある。本稿で紹介したセラノステイクスやバイオイメージングはその一例である。蛍光性 OCP のバイオメディカル応用の研究には課題が山積している。それらを一つ一つ丁寧に解決していくことで OCP の化学が深化するとともに、画期的なバイオセラミックスが生み出されると期待される。

謝辞 この研究の一部は JSPS 科研費 (22H04500, 22H03948)、国際・産学連携インヴァースイノベーション材料創出プロジェクトおよび「物質・デバイス領域共同研究拠点」における「人・環境と物質をつなぐイノベーション創出ダイナミック・アライアンス」の CORE ラボ共同研究プログラムの助成を受けたものです。

文 献

- 1) H. Monma and M. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 3843 (1983).
- 2) T. Yokoi, M. Shimabukuro and M. Kawashita, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, **23**, 434 (2022).
- 3) E. Davies, K. H. Müller, W. C. Wong, C. J. Pickard, D. G. Reid, J. N. Skepper and M. J. Duer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **111**, E1354 (2014).
- 4) T. Yokoi, T. Goto, M. Hara, T. Sekino, T. Seki, M. Kamitakahara, C. Ohtsuki, S. Kitaoka, S. Takahashi and M. Kawashita, *Commun. Chem.*, **4**, 4 (2021).
- 5) M. Mathew and W. E. Brown, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 1141 (1987).
- 6) M. Monma and M. Goto, *J. Inclusion Phenom.*, **2**, 127 (1984).
- 7) 金澤孝文, “無機リン化学”, 講談社サイエンティフィック,

1985.

- 8) T. Yokoi, S. Machida, Y. Sugahara, M. Hashimoto and S. Kitaoka, *Chem. Commun.*, **53**, 6524 (2017).
- 9) H. Monma, *Gypsum Lime*, **237**, 108 (1992).
- 10) 例えば H. Monma, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **57**, 599 (1984).
- 11) T. Kijima, K. Yamaguchi, A. Miyata, M. Yada, M. Machida and J. Tanaka, *Chem. Lett.*, **29**, 1324 (2000).
- 12) 例えば T. Yokoi, M. Kamitakahara and C. Ohtsuki, *Dalton Trans.*, **44**, 7943 (2015).
- 13) T. Yokoi, T. Goto and S. Kitaoka, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **126**, 462 (2018).
- 14) I. Yamada and M. Tagaya, *Colloid Interface Sci. Commun.*, **30**, 100182 (2019).
- 15) T. Yokoi, T. Goto, T. Sekino and M. Kawashita, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **130**, 337 (2022).
- 16) T. Yokoi, M. Watanabe, Y. Wang, T. Goto, T. Sekino, M. Shimabukuro and M. Kawashita, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, in press.
- 17) 横井太史, 後藤知代, 関野 徹, 長谷川智香, 島袋将弥, 川下将一, 日本セラミックス協会 第 35 回秋季シンポジウム, 2022 年 9 月 14-16 日 (講演番号: 1L01).

筆 者 紹 介



横井 太史 (よこい たいし)

2012 年 3 月 名古屋大学工学研究科 博士後期課程修了 博士 (工学), 2013 年 4 月 東北大学大学院 助教, 2016 年 1 月 ファインセラミックスセンター (JFCC) 上級研究員補を経て, 2019 年 9 月より東京医科歯科大学 准教授 (JFCC 客員研究員を兼務), バイオセラミックスの研究・開発に従事。

[連絡先] 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

E-mail: yokoi.taishi.bcr@tmd.ac.jp



島袋 将弥 (しまぶくろ まさや)

2020 年 3 月 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 博士後期課程修了 博士 (工学), 2020 年 4 月 九州大学歯学研究院 特任助教を経て, 2022 年 4 月より東京医科歯科大学 助教. 抗菌性バイオマテリアルの研究・開発に従事。



川下 将一 (かわした まさかず)

1998 年 3 月 京都大学工学研究科 博士後期課程修了 博士 (工学), 1998 年 4 月 日本学術振興会特別研究員 (PD), 1999 年 8 月 京都大学助手, 2004 年 4 月 京都大学 講師, 2007 年 11 月 東北大学 准教授を経て, 2019 年 4 月より東京医科歯科大学教授. がんや骨疾患の治療に貢献するセラミックバイオマテリアルに関する研究に従事。