

内20-46

早稲田大学大学院理工学研究科

博士論文概要

論文題目

Growth Mechanism of Hydroxyapatite
under Pseudophysiological Conditions:
Experimental and Computer Chemistry Investigations

擬似生体環境下における水酸アパタイト成長機構の
実験及び計算機化学的研究

申請者

神崎 紀子

Noriko Kanzaki

資源及び材料工学専攻 非金属鉱物学研究

2000年12月

水酸アパタイト($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; 以下HAP)は、歯骨の主要無機成分であり人体に有益な役割を演じているが、腎臓や膀胱に結石として析出したり、血管を石灰化して心筋梗塞を引き起こすなど有害な側面も併せ持つ。従って、生体環境下におけるHAPの生成メカニズム解明は医学的見知から極めて重要である。一方、HAPは生体適合性の高い材料として人工歯根や骨代替材料などに広く用いられており、バイオガラスなど埋入後の表面にHAPが析出する高機能性材料の開発も近年盛んである。これら材料の生体内での最適条件探索、あるいは高機能化のための基礎データという見知からも、HAPの生体環境下における生成メカニズム解明が重要となる。

細胞学的見知からはHAPの生成メカニズムは、ほぼ明らかにされていると言って良い。例えば骨の場合、マトリックスベシクル中のCa濃度や PO_4 濃度が高い溶液中でHAPの核が形成され、その核がマトリックスベシクルから排出されて、コラーゲン上に配列し、成長する。その後、骨芽細胞と破骨細胞の働きで骨のリモデリングが繰り返される。

一方、細胞が大きな影響を与えているとしても、HAP生成の問題は最終的には結晶表面における化学反応、すなわち無機結晶の成長としての問題に帰結する。HAPの結晶成長機構解明の研究は、すでに30年以上の歴史があるが、不明な点が多い。その大きな理由としては2点挙げられる。一つ目は、結晶面を特定した成長速度測定がなされていないことである。成長速度は成長機構を鋭敏に反映するため、最も重要なパラメータである。HAPのように形状異方性が強い結晶の場合、結晶面ごとに成長速度は大きく異なることが予想される。従って、成長機構を解明するには、結晶面を特定した精度の高い測定が必要である。しかしながら、これまでは多結晶体を溶液中で成長させ、重量変化や溶液の化学組成変化から成長速度を見積もるといった低精度の手法でのみ研究が行われていた。二つ目は、結晶表面観察が行われていないことである。表面観察は成長様式を直接検証できるため、成長機構解明の研究において、今日不可欠になっている。しかしながら、HAPに関しては結晶表面観察が行われたことはなく、その成長様式は精度の低い成長速度データから推測するにすぎなかった。

更に近年、計算機化学的アプローチから成長機構を検証する研究が多くなり、実験では検証できない有益なデータが得られている。計算機化学的手法は、実験、理論に次ぐ第三の柱となりつつあり、近い将来必須手法になると考えられる。しかしながら、HAPに関しては計算機化学的研究の報告例は、ほとんどない。

本研究では以上の背景を踏まえ、擬似生体環境下におけるHAPの成長機構を解明するために、実験的手法と計算化学的手法の両面からアプローチを行った。実験的手法としては、HAP単結晶を用いて(0001)面の成長速度や表面観察を行い、詳細かつ信頼のおけるデータを基に成長機構の検討を行った。更に実験的ア

プローチからだけでは解明が難しいHAPの成長単位に関して、計算機化学的手法を用いて検討を行った。本論文は六章で構成されており、以下にその概要を述べる。

第一章では、意義、背景、目的及び各章の内容に関して述べている。

第二章ではHAP(0001)面の表面観察及び成長速度測定のための装置、サンプル作製に関して述べている。本研究では表面観察は原子間力顕微鏡(AFM)を用い成長速度測定は干渉計を用いた。AFMによる測定では高低差 $5\mu\text{m}$ 以内の平らな結晶面が必要なため、単結晶X線回折用のゴニオメータを改良した軸立て装置を用い、サンプルを作製した。(0001)面の成長速度は通常の無機塩類より2桁程度遅いため、高分解能の干渉計の構築が不可欠である。本研究では振動等の外乱に強い共通光路型の干渉計を構築し、干渉縞の解析にはモアレ位相シフト法を用いることで、高精度の成長速度測定を可能にした。

第三章では、第二章で説明した装置やサンプルを用いて、擬似生体環境下において成長表面観察及び成長速度測定を行った。溶液は人間の体液に近い組成の擬似体液を用いた。表面観察の結果、(0001)面の成長様式は多重二次元核形成様式であった。成長速度の結果を多重二次元核形成様式の数理論式を用いて解析を行った結果、二次元核形成に最も重要な物理量であるエッジ自由エネルギーが算出された。その値は $3.3kT$ (k =ボルツマン係数、 T =絶対温度)であり、他の可溶性無機塩類結晶の一般値($<1KT$)と比べて数倍大きく、タンパク質結晶の値と近いことが判明した。この結果は、HAPの成長単位が高分子に匹敵するサイズ(直径約 0.8nm)のリン酸カルシウムクラスターであるとする説を裏付けるものであった。また表面観察の結果からも、成長初期にクラスターと同程度の大きさの二次元核が観察され、クラスター成長説を裏付けていた。

第四章では、第三章と同様の手法を用いて、生体必須微量元素で体液中にも含まれるマグネシウムと亜鉛の不純物効果について検討した。マグネシウム及び亜鉛は共に(0001)面の成長速度を阻害し、亜鉛の阻害効果はマグネシウムの約1000倍であった。ただし、マグネシウムまたは亜鉛存在下におけるエッジ自由エネルギーを測定した結果、両元素のエッジ自由エネルギーに対する不純物効果は見られず、これらの元素はHAPの核形成自体には影響を与えていないことが判明した。この結果を考慮して、マグネシウム及び亜鉛存在下での成長速度を様々な吸着モデルで解析したところ、ラングミュアのキंक吸着モデルに最も良く当てはまり、吸着定数はマグネシウム $1.3 \times 10^4 \text{L/mol}$ 、亜鉛 $1.2 \times 10^6 \text{L/mol}$ であった。このことから、マグネシウム及び亜鉛は二次元核のエッジ部分のキंकに優先的に物理吸着して、HAPの成長を阻害することが判明した。表面観察の結果においても、不純物の存在下で二次元核のサイズが減少することが確認された。

第五章では、*ab initio*計算により、HAPの成長単位と考えられるクラスターの安定性について検証した。すでに述べたようにHAPの成長単位が直径約 0.8nm の

リン酸カルシウムクラスターであるという説が報告されている。本研究においても(第三章)、その説を裏付ける結果が得られた。そこで様々なリン酸カルシウムクラスターの安定性について計算を行った。本研究では、真空中において組成が $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_n$ ($n=1$ から 4) の様々な異性体の計算を行い、それぞれのポテンシャルエネルギー面上で、エネルギー極小値に対応する異性体を求めた。波動関数計算は原子価殻二倍基底関数系(SVP)を用いて制限Hartree-Fock法で行った。計算の正確さは、異なる基底関数及び異なる波動計算法を用いて確認した。その結果、シンメトリーが S_6 の $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_3$ という化学組成を持つクラスターがHAPの成長単元である可能性が示された。

第六章では、第一章から第五章までの研究結果の総括に関して述べている。