

論文の内容の要旨

論文題目

Inorganic/Organic Interfacial Interactions in Biomineralization Processes
(生体鉱化作用における無機・有機界面相互作用)

氏名 佐藤 公 泰

生体硬組織中の無機物質は一般に生体鉱物と呼ばれ、その形成プロセスは生体鉱化作用として知られている。このプロセスは、生物が生きている穏和な常温・常圧環境下で、無機イオンを水溶液(体液)から固体として固定する過程である。生体鉱化作用の結果として得られた材料はナノ・マイクロメートルの範囲で必要に応じてそのサイズが制御されている。またその形状・結晶相・結晶学的方位なども、生体内でうまく機能するように高度に制御されている。この生体鉱化作用には、タンパク質、多糖などの生体高分子と無機結晶の界面での相互作用が重要な役割を演じていると考えられている。一方で、生体内のメカニズムを解明し、それを利用して付加価値の高い人工材料を創成する技術へと発展させようとする分野(生体模倣)が存在する。生体鉱化作用を生体模倣技術の視点から捉え、わずかなエネルギーでナノスケールから構造の制御された高機能材料をつくるための知見を得ることを目的として、以下のような研究をおこなった。

水酸アパタイト界面の構造決定：硬組織の形成機構をナノレベルで理解する研究は、生体材料の開発指針を得るため、同時に生体模倣による材料合成のヒントを得るために必要不可欠である。骨、歯の主要構成鉱物である水酸アパタイト(以下 HAp、組成式 $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$)はすでに医療分野などで広く利用されているが、HAp の生体内における形成メカニズムは未だに明確でない。HAp の結晶構造は通常六方晶系($R\bar{6}_3/m$)であり、Ca には2種類のサイト(Ca1、Ca2)が存在する(図1)。OH は c 軸方向に伸びたチャンネル中に存在する。結晶表面の原子配列の決定は、結

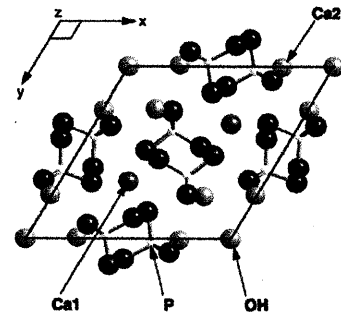


図1 HAp の原子配置 (c 軸投影)

晶の安定性(特にナノ結晶においては結晶の全エネルギーにおける表面エネルギーの割合は飛躍的に増大する)や生体高分子との相互作用を論じるのに非常に重要である。高分解能 TEM により例えば HAp 表面や結晶粒界の構造を原子分解能で解明していくことが可能であると考え、筆者は HAp 焼結体の高分解能 TEM 観察をおこなった。図 2a は電子線損傷によって形成された HAp の {100} 面と電子線により非晶質化した領域の界面の高分解能 TEM 像である。高分解能 TEM 像のコントラストをコンピュータシミュレーション(図 2b)との比較から解析し、HAp の {100} 面は OH チャンネル、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(図 2c)。HAp 焼結体中の結晶粒界において、{100} を界面にもつ結晶粒を探しその終端構造を調べたところ、上記の電子線損傷によって形成される {100} 界面と同様であることがわかった。HAp 表面の原子分解能による観察は今までのいかなる手法によっても他に報告例がなく、筆者の示した結晶/非晶質界面及び結晶粒界の原子配列に関する知見は、今後 HAp を利用したナノ構造の創製を考える上で非常に有用な情報となると考えられる。

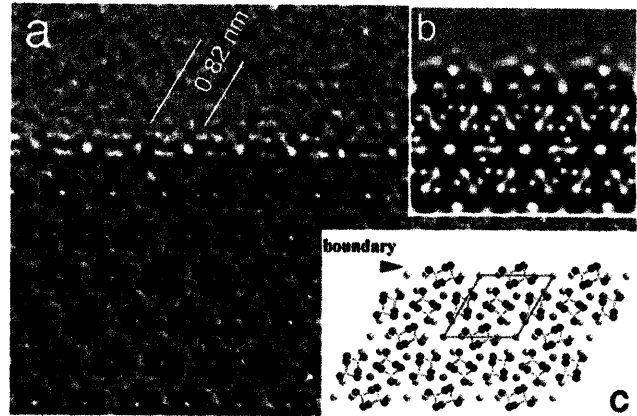


図 2 (a) 結晶質/非晶質界面の高分解能 TEM 像 (b) 界面近傍のコントラストのシュミレーション (c) 構造モデル

有機単分子膜上での HAp 形成：生体内硬組織を構成する無機結晶はすべて常温常圧の環境

で周囲の体液から形成される。生体は高分子からなる有機マトリックス上のある特定のサイトに選択的に無機結晶を析出させて硬組織をつくる。この無機・有機界面相互作用を理解するため、無機イオン濃度と pH がほぼ体液に等しい擬似体液 (Simulated Body Fluid, 以下 SBF) を用いて HAp の形成実験をおこなった。無機イオン供給源としての SBF に対し、有機基質を模倣するものとしてラングミュア・プロジェクト膜(以下 LB 膜)を用いて HAp 形成機構を調べた。アラキジン酸を用いて表面にカルボキシル基が配列した単

分子膜を用いると、膜上に HAp が成長する。図 3 は LB 膜上に形成された HAp 凝集体の高分解能 SEM 像である。板状の構造をもつ結晶が半球状に凝集している。図 4

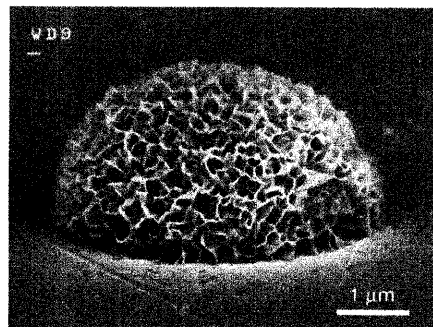


図 3 SBF から LB 膜上に析出した HAp ナノ結晶凝集体

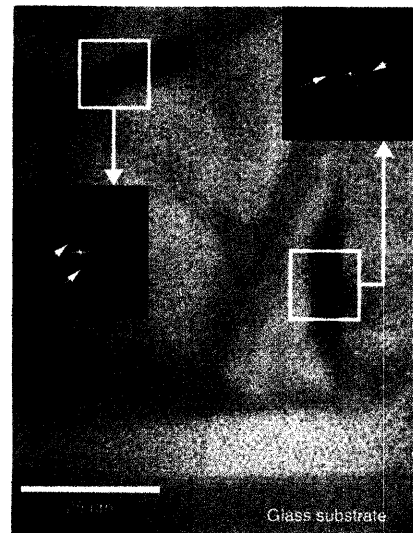


図 4 HAp 凝集体の高分解能 TEM 像。挿入された図は四角い枠で囲まれた領域のフーリエ変換像を示す。矢印は {100} 面に対応した回折スポットを示す。

に凝集体の高分解能 TEM 像を示す。HAp ナノ結晶は {100} 面の一つが伸張した板状結晶になってお

り、これは図3の板状結晶を断面方向から見たものに対応している。骨などに含まれるHApは{100}面が大きく成長した結晶形態をとっており、本実験で得られたHApと同じである。通常体液やSBFはHApに対して過飽和な状態にあるが、緩衝効果のためHApの自発沈殿(均一核形成)が起きるほどには過飽和度は高くない。擬似生体環境下でのLB膜表面のカルボキシル基の状態を赤外分光測定によって調べた(図5)。SBF浸漬前のLB膜のスペクトルでは 1702cm^{-1} にカルボキシル基中のC=O結合による吸収帯が見られる(図5a)。SBF浸漬後では、C=O結合の吸収帯は完全に消失し、 -CO_2^- の逆対称伸縮振動が 1576cm^{-1} と 1543cm^{-1} にダブルレットとして現れた(図5b)。これは、配列したカルボキシル基に Ca^{2+} イオン、 PO_4^{3-} イオンが吸着し、膜構造の対称性が下がったことによる(固態効果)と考えられる。赤外分光の結果から、カルボキシル基に Ca^{2+} イオン、 PO_4^{3-} イオンが吸着することで不均一核形成が生じ、HApが形成していることがわかった。

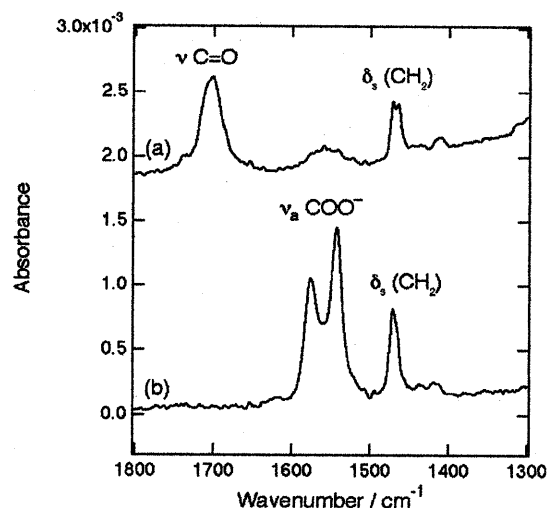


図5 アラキジン酸 LB 膜の赤外分光測定結果 (a)SBF 浸漬前 (b) SBF に 1 時間浸漬後

炭酸カルシウムの方位成長：構造を高度に制御した有機基質を用いることで、常温常圧下で通常得られない特異な微構造の無機結晶を合成するという、生体模倣の考え方に即した実験をおこなった。LB膜を構成する両親媒性分子間に重合を導入することで、LB膜表面のカルボキシル基の配列を制御し、その上に炭酸カルシウム結晶を析出させた(図6)。炭酸カルシウムの過飽和水溶液中から析出した結晶は、紡錘形の凝集体の形をとっている。凝集体はカルサイト微結晶からなっており、そのc軸が紡錘体の長軸方向に一致していた。また基板には島状のドメイン構造が見られ、その内部に筋状のクラックが走っている。紡錘状の結晶は、その長軸方向がクラックに対して垂直であり、かつ基板に対して一定の角度で傾いている。図7は重合LB膜の原子間力顕微鏡像である。この基板上的クラックは、重合LB膜によるものであり、その方向は膜内の重合の方向に対応する。LB膜中の分子配列の異方性が、上に析出した炭酸カルシウムの結晶学的方位を規定していると推測される。この結果、核形成のマトリックスとなる重合LB膜の構造により、無機結晶の方位をコントロールすることが可能であることが明らかとなった。



図6 重合 LB 膜上に析出したカルサイト凝集体。紡錘状の凝集体の長軸が全て揃っている。

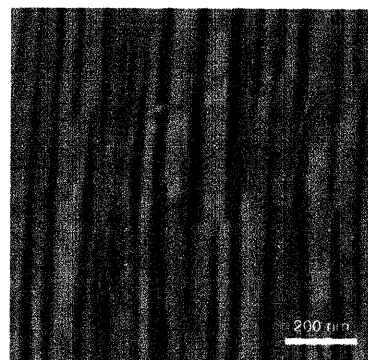


図7 重合 LB 膜の AFM 像。クラックは膜の重合方向に対応する。