

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25289225

研究課題名(和文)アパタイト表面修飾イオンの持つ局所電子状態の解明

研究課題名(英文)Local electronic structures of foreign ions segregating at apatite surfaces

研究代表者

松永 克志 (Matsunaga, Katsuyuki)

名古屋大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20334310

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、水溶媒の誘電率効果を考慮した量子力学計算を行い、ハイドロキシアパタイト(HAP)表面構造および表面修飾イオンの熱力学的安定性評価を行った。また、HAP表面に希薄にイオン添加したモデル試料を用い、添加イオンの電子・原子構造を実験解析し、理論計算結果と比較検討した。修飾イオンとしてはZn<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>を検討した。その結果、Zn<sup>2+</sup>およびMg<sup>2+</sup>はともに表面偏析する傾向にあるが、その安定性はZn<sup>2+</sup>の方がより顕著であった。Zn<sup>2+</sup>は4～5配位構造、Mg<sup>2+</sup>は5配位構造となり、Zn<sup>2+</sup>は最近接酸素イオンとより共有結合的な化学結合を形成していることがわかった。

研究成果の概要(英文)：Since bone formation occurs at interfacial regions between HAP and aqueous solution, it is essential to reveal locations and stability of dopants at the interface. In this study, first-principles based electronic structure calculations were performed to investigate segregation sites and thermodynamic stability of dopants (Zn<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>) at the interface. Special treatments for aqueous solution environments were made by using the COSMO (COnductor like Screening Model) model. Calculated results were also compared with available experiment. It was found that both Zn<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup> tend to segregate at the interface. However, the ion exchange energy of Zn<sup>2+</sup> is much smaller than that of Mg<sup>2+</sup>, which indicates that Zn<sup>2+</sup> more favorably segregates at the interface between HAP and aqueous solution. Zn<sup>2+</sup> forms stronger covalent bonds with its nearest neighboring oxygen ions, which makes Zn<sup>2+</sup> more stable at the interface even compared with Mg<sup>2+</sup>.

研究分野：セラミック材料学

キーワード：ドーパント 第一原理計算 表面偏析

## 1. 研究開始当初の背景

わが国は、2030年までに65歳以上が全人口の25%以上を占める高齢社会を迎えるといわれており、その結果として、骨疾病患者の急激な増加が予測される。高齢者の骨折や骨粗鬆症に起因する骨欠損が起こると、若年者のような速やかな自然治癒が困難である場合が多い。症状によっては自立した日常生活ができず、介護システムを必要とするなど、極めて深刻な社会問題となりうるものが危惧されている。実際、日本の骨粗鬆症患者は現在約1100万人にもおぼり、自覚症状の無い潜在的患者を含めると2000万人にも達するとされ、その数からして、もはや看過できない状況にある。したがって、複雑骨折などの致命的症状を早期に改善し、自立した日常生活への復帰を速やかに実現する生体骨代替材料の開発は、我々の生活の質(QOL)向上には欠かせないものとなってきた。

これまでも骨代替材料開発は進められており、ハイドロキシアパタイト( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ 、以下HAPと略称)焼結体(例えば、アパセラム(HOYA株))が人工骨として市販されている。しかし、重篤な骨疾病を治療するために骨移植を行う際、人工骨を用いる割合は全体の40%程度であり、患者本人の健全な他部位の骨を移植する自家骨移植の割合(約56%)に較べると依然低い水準となっている。自家骨移植は健全な部位の骨を切り取るため患者への負担が大きい。それにもかかわらず、その代替として人工骨の使用割合が低い理由は、現状の人工骨材料の生体材料特性が臨床に用いる水準に十分達していないためである。特に人工骨は、移植後、破骨細胞(骨を溶かす細胞)による骨吸収と骨芽細胞(骨を作る細胞)による骨形成の繰り返し(骨代謝)を経て、周囲の生体骨と速やかに直接結合し、最終的には数ヵ月後に生体骨に置き換わるような生体活性性能を持つことが望まれる。しかし、現状の人工骨用市販材は、生体内での骨置換速度が極めて遅いという問題があり、これを根本的に克服することが切望されている。そのためには、生体活性性能の起源となる材料因子を正確に解明・理解し、それに基づいて材料開発することが重要である。

HAPの生体活性性能を支配している材料因子を考えるには、生体骨中のHAP結晶の特徴を理解することが重要である。生体骨のHAP結晶はコラーゲン繊維に付着した、大きさ数十ナノメートルの微細粒子であることが知られている。このナノ粒子は、多様なイオン( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ 等)を含んでおり、これらのイオンはHAP粒子の化学的安定性に大きく影響すると指摘されている(Dorozhkin, *J. Mater. Sci.* (2007))。また、 $\text{Mg}^{2+}$ や $\text{Zn}^{2+}$ 等の添加は骨形成を促進し、骨粗鬆症を予防する効果が期待されている(例えば Bigi, *J. Inorg. Biochem.* (1995))。これら不純物・添加イオンの存在はHAPの生体活性能

と深く関連していることが予測されるが、複雑な化学組成を持つ生体HAPを対象とし、各種イオンの存在状態と材料特性の関係を研究することは実験的にも理論的にも容易でない。その結果、各種イオンの生体活性能に果たす役割について本質的理解は得られていない。さらに、骨形成に対する添加イオン効果の従来研究は、動物を使い、ドーピング後の骨量や骨密度の経時変化を観察するような現象論的アプローチがほとんどであった。つまり、添加イオンの役割に関するナノレベル、さらには電子レベルでの研究はほとんど前例が無い。

上記のような国内外の研究状況を背景に、HAP中の点欠陥と材料特性との関係について系統的な材料科学研究を行う必要性を感じ、申請者はこれまで第一原理計算を用いた研究を進めてきた。具体的には、平成18-19年度若手研究(B)、その後平成21-23年度基盤研究(B)において、生体材料にとって重要な水溶液環境における点欠陥熱力学と第一原理計算の連携手法を開発し、HAPに適用した。その手法を用いて、各種添加イオンのバルクHAP結晶への置換固溶安定性やその水溶液pH依存性を解析し、従来の実験結果とその傾向を合理的に説明することに成功した。欧米の研究グループも第一原理計算による研究成果を報告しているが、バルク中の点欠陥の電子構造に関する内容であり(Calderin et al., *Phys. Rev. B* (2003))、本研究手法のような熱力学的安定性の解析まで至っていない。

以上のようなバルク結晶に関する研究経過を踏まえ、これをさらに発展させたものとして、HAP表面に関する本提案を着想するに至った。その理由は、HAPの人工骨材料としての生体材料特性はすべて、水溶液と接するHAP表面におけるイオンや分子の吸着や離脱に関係しているためである。具体的には、人工骨の生体活性能は、(a)人工骨表面が破骨細胞により一部吸収(溶解)された後、(b)新しいHAP結晶核や骨基質となるコラーゲンがHAP表面に吸着され、(c)さらにそれらが成長していくプロセスがいかに速やかに進むか、という過程と密接に関係する。特に(b)のHAP結晶核やコラーゲンの表面吸着能は、HAP表面の電子状態が重要因子であると言って過言ではない。しかしこれまでは、HAP表面がどのような電子状態・原子構造を持つかについて定性的な議論しかなされていなかった。よって、HAP表面および表面修飾イオンの持つ局所電子状態の解明が、今後の高性能バイオセラミックス開発には不可欠であるといえる。

## 2. 研究の目的

本研究では、水溶液の誘電率効果を考慮したHAP表面の第一原理計算を行い、表面構造および表面修飾イオンの熱力学的安定性評価を行う。一方で、HAP表面に希薄イオン添加したモデル試料を用い、表面修飾した添

加イオンの電子・原子構造を実験解析し、理論計算結果と比較検討する。これにより、HAP 表面修飾イオン特有の電子構造の観点から、添加イオン効果について解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

HAP 表面モデルを構築し、添加イオンによる表面修飾の可能性を第一原理計算により検討する。具体的には、次に記す4つの段階での検討を進める。

#### (1) HAP 表面スラブモデルの構築

図1に示す六方晶系の HAP 結晶構造を基準とし、HAP 結晶表面モデルを構築するところからはじめる。HAP の安定表面としては、(10-10)面もしくは(0001)面が知られているが、本研究では、イオンや分子の吸着で重要と考えられている(10-10)面に焦点を絞る。

表面モデルとして、結晶から切り出した表面スラブと十分広い真空領域を含むスーパーセルを用いる。表面スラブは、スラブ中心部の原子配列・原子間距離・結合角、さらには電子構造が完全結晶のそれと同じになるような十分な厚みを持つようにする(図2)。

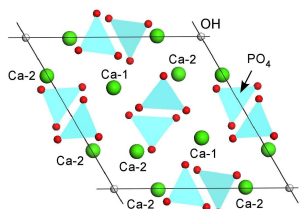


図1. 六方晶 HAP の結晶構造

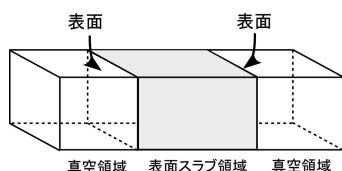


図2. スーパーセルの概形

#### (2) 水溶液との界面モデル構築

HAP は水溶液環境で合成・使用されるため、表面修飾イオンの電子状態や熱力学的安定性を論じる場合、水溶媒効果を考慮する必要がある。したがって、(1)で構築したスーパーセルの真空領域内に、水溶媒の連続体モデルを導入したスーパーセルを用いる。本研究では、水溶媒効果を考慮する手法として、COSMO(Conductor like Screening Model)法を用いる(Kalmt, J. Phys. Chem. (1995))。これは水溶媒を連続体として近似し、その中に存在する溶質分子やイオンの電子状態を量子力学的に計算する方法である。具体的には下の図3のように、溶質分子の電荷密度と同時に、溶媒側の表面電荷をつじつまが合う(セルフコンシステントになる)ように量子力学計算する。その結果、溶媒による分子電

荷密度のスクリーニング効果を取り入れた電子状態計算が可能となる。

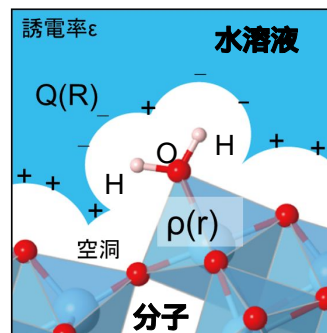


図3. COSMO 法の模式図

分子表面と溶媒との間に空洞領域を考え、分子の表面電荷密度 $\rho$ とスクリーニングする溶媒側電荷  $Q$  をセルフコンシステントに計算。溶媒分極によるエネルギー利得を考慮可能。

この水溶媒連続体モデルは、水溶媒効果を取り込むための有効な手法である。しかし連続体モデルであるため、HAP と水分子との詳細な量子力学的相互作用は考慮されていない。実際は、水分子についても量子力学的に扱う方が、高い計算精度を期待できる。従来研究においても、水溶液中のイオンの第一原理計算には、少なくとも第2水和圏の配位水分子までを考慮することが必要であると指摘されている(Wander et al., J. Phys. Chem. A (2010))。そこで本研究では、図4に示すような HAP 表面から第2吸着水分子層まで含めた構造モデルを用いる。このとき、吸着水分子の配置が問題となるが、最近 Pareek らが、表面敏感な GIXRD 法を用いた HAP(10-10)面上の水分子配列の実験解析結果を報告している。本研究ではその実験結果を参照し、計算モデルの初期構造とする(Pareek et al., Phys. Rev. B (2007))。

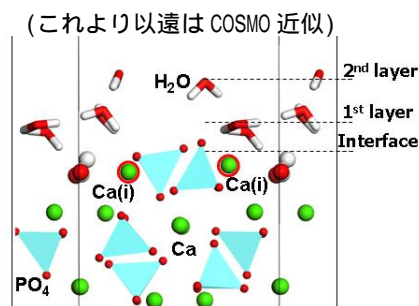


図4. HAP / 水界面の構造モデル

図中 Ca(i)は界面に存在する Ca サイトを意味し、これを含めた Ca サイトをを異種カチオンで置換する。

### (3) 表面修飾イオンの熱力学的安定性評価

上記の計算モデルを用い、HAP 表面近傍からバルク領域に添加イオンを置換固溶させた計算を行う。添加イオンとしては、骨形成促進効果が期待されている  $Mg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  を検討する。得られる電子状態について部分状態密度解析を行い、表面およびバルク中に置換固溶させたイオンの局所電子状態の違いを精査することで、電子レベルでの表面修飾効果を明らかにする。また、局所電子状態に対する水溶媒効果についても検討する。

次に表面修飾した添加イオンの熱力学的安定性を評価する。添加イオンの置換エネルギーは、添加イオン置換前後のスーパーセルの全エネルギー差と、欠陥形成に必要な添加・構成イオンの電気化学ポテンシャルを用いて算出できる。この電気化学ポテンシャルはスーパーセル計算とは別途用意しなければならない。化学ポテンシャルは系の熱力学的平衡状態に依存するため、ここでは HAP 飽和水溶液と HAP 結晶の化学平衡関係を使う。水溶液に溶存するイオンの標準生成エネルギーおよび HAP 飽和溶液中のイオン濃度を用いて、各種構成イオン・添加イオンの化学ポテンシャルを計算する。溶液中のイオン濃度と化学ポテンシャルは pH に依存して変化するため、置換エネルギーも pH 依存性を示すことになる。本研究では生体中の pH 条件 (pH=7.4) 近傍を対象とし、表面修飾安定性を解明する。

### (4) 実験による偏析イオンの電子状態検証

溶液法を用い HAP 試料を合成する。硝酸カルシウム ( $Ca(NO_3)_2$ ) とリン酸水素二アンモニウム ( $(NH_4)_2HPO_4$ ) の高純度水溶液を pH=8~12 のアルカリ条件下で作製する。室温において、前者の水溶液に後者を徐々に滴下しながら攪拌することで HAP 結晶を晶出させる。pH 条件により HAP の Ca/P モル比が定比組成 (Ca/P=1.67) から Ca 欠損側へ変化 (非化学量論組成の HAP 生成) もしくは他のリン酸カルシウム相が生成することが知られている。よっていくつかの pH 条件下で合成し、HAP 単相となる条件を探索し、単結晶粒子を得る。

HAP の六方晶結晶構造に起因して、c 軸方向に長く、側面を (10-10) 面とするようなアスペクト比の大きな結晶子が得られることが期待される。いま、表面修飾した添加イオンの電子状態分析を行うため、表面偏析量および (10-10) 面の面積を稼ぐために、結晶サイズをなるべく大きくすることが望ましい。そのために、原料溶液混合後の反応時間および溶液温度を調整しながら、HAP 結晶の大型化を目指す。

表面修飾イオンの分布・電子状態評価を行う。所属機関に既設の SEM を用いて HAP 粒子の形状を観察するとともに、粒子表面・断面の TEM-EDS 分析により添加イオンの偏析状態を解析する。また、EELS 分光 (Electron

Energy Loss Spectroscopy) を用い、表面修飾イオンに由来するエネルギー損失スペクトルの吸収端近傍微細構造 (Energy Loss Near Edge Structure, ELNES) を測定する。ELNES は注目元素の内殻電子を伝導帯に遷移させる過程で得られ、その元素の電子状態 (局所電子状態密度) や配位構造を反映している。したがって、本研究の第一原理計算による電子状態の結果と比較検討し、ELNES スペクトルの詳細な解析を行う。

## 4. 研究成果

Pareek らは湿潤 HAP(10 $\bar{1}$ 0) 表面の X 線構造解析を行い、HAP 表面から 2 原子層程度までは、 $H_2O$  分子が特定の規則的配列を持った構造をとることを報告している (Pareek et al., Phys. Rev. B (2007))。我々はこの実験結果に基づき、HAP(10-10) 表面に  $H_2O$  分子 2 レイヤーが吸着した表面モデルを構築することにした。さらに、水溶液の溶媒効果の連続体近似 (the conductor like screening model) を用い、 $H_2O$  分子 2 レイヤー以遠の溶媒効果を考慮した。このようにして計算した界面近傍の原子配列を図 5 に示す。

図 6 に、計算で得られた HAP バルクおよび表面  $Ca^{2+}$  サイトでのイオン交換エネルギーの pH 依存性を示す。 $Zn^{2+}$  および  $Mg^{2+}$  のどちらの場合も、バルクに較べて表面でのエネルギーが小さく、表面偏析する傾向にあることがわかる。表面でのイオン交換エネルギーの低さは  $Zn^{2+}$  の方が顕著であり、とくに Ca-A サイト置換では負のエネルギーとなっている。したがって、とくに  $Zn^{2+}$  は HAP 表面に強く偏析すると考えられる。実験的にも、 $Zn^{2+}$  は HAP の結晶成長を阻害する効果や骨形成に関わる細胞の活性化などが報告されており、これらは生体 HAP もしくは人工 HAP 表面に  $Zn^{2+}$  が強く偏析することによる効果と考えることができる。

さらにこのようにして得られた計算構造に基づき理論 ELNES スペクトルを計算し、本研究での実験結果との比較検討を行った。計算結果より、表面偏析した  $Zn^{2+}$  は 4~5 配位構造をとることが判明し、ELNES スペクトルもそれを反映した結果となった。これは実験スペクトルともよく対応してした。本来、HAP 中の陽イオンは 6 配位構造であるが、4 配位構造を好む  $Zn^{2+}$  は、周囲の原子配列を大きくひずませるとともに、最近接の酸素イオンと強い共有結合を形成することで安定化しているといえる。一方、 $Mg^{2+}$  は 6 配位構造を好む陽イオンであるが、 $Ca^{2+}$  と同じように最近接酸素イオンとイオン結合するが、イオン半径が小さいため周辺原子の大きなひずみをもたらすため (その結果、表面での  $Mg^{2+}$  の配位数は 5) 表面における顕著な安定化が起こらないと考えることができる。

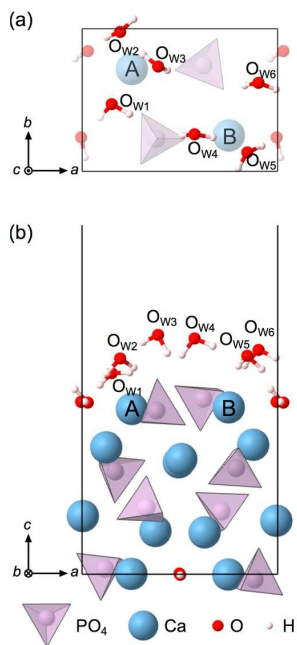


図 5. HAP(10-10)表面—水溶液界面の計算結果

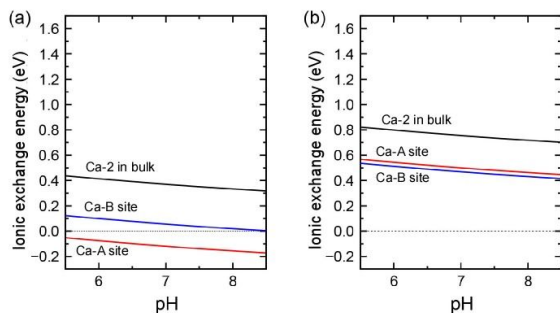


図 6. HAP(10-10)表面—水溶液界面の  $\text{Ca}^{2+}$  サイトへのイオン交換エネルギーの pH 依存性 (a) $\text{Zn}^{2+}$ , (b) $\text{Mg}^{2+}$

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

K. Matsunaga, T. Kubota, K. Toyoura, A. Nakamura: “First-principles calculations of divalent substitution of  $\text{Ca}^{2+}$  in tricalcium phosphates”, Acta Biomater., Vol. 23, 329-337 (2015), 査読有.

DOI:10.1016/j.actbio.2015.05.014

K. Shitara, H. Murata, K. Watanabe, C. Kojima, Y. Sumida, A. Nakamura, A. Nakahira, I. Tanaka, K. Matsunaga: “Cytotoxicity of stoichiometric hydroxyapatites with different crystalline sizes”, J. Asian Ceram. Soc., Vol. 2, 64-67 (2014), 査読有.

DOI: 10.1016/j.jascr.2014.01.002

T. Kubota, A. Nakamura, K. Toyoura, K. Matsunaga: “The effect of chemical potential on the thermodynamic stability of carbonate ions in hydroxyapatite”, Acta Biomater., Vol. 10, 3716-3722 (2014), 査読有.

DOI:10.1016/j.actbio.2014.05.007

M. Mori, K. Matsunaga, T. Kubota, A. Goto, K. Toyoura, A. Nakamura, I. Tanaka: “Theoretical calculations of segregation behavior of zinc and magnesium at hydroxyapatite surface in contact with water”, Mater. Trans., Vol. 54, 1262-1267 (2013), 査読有.

DOI:10.2320/matertrans.ME201317

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

松永 克志 (MATSUNAGA Katsuyuki)

名古屋大学・工学研究科・教授

研究者番号: 20334310

(2)研究分担者

中村 篤智 (NAKAMURA Atsutomo)

名古屋大学・工学研究科・准教授

研究者番号: 20419675

(3)連携研究者

( )

研究者番号: