

で11.1GPaとなっている。高密度が 2.0g/cm^3 と大きい炭素製品のヤング率が16GPaであることを考えると、先の固化体のヤング率は小さくはない。骨のヤング率が7~30GPaであり[9]、固化体のヤング率はこれと同じ大きさとなっている。1000°C 固化体のポアソン比が負になっているが、これはこの温度で緻密化が十分に進行していないためである。その他の固化体のポアソン比は小さく、歪みがチューブ構造で吸収されていることが考えられる。曲げ試験を行ったが塑性変形に類似する変形のために強度測定はできなかった。図3には1200°C で固化した試料の曲げ試験後の破断面の走査型電子顕微鏡写真を示す。カーボンナノチューブの一部は破断されているが、大部分は破断されずに引き抜かれた状態になっている。この破断面の様子は、破壊が一気に進行しないで、カーボンナノチューブが引き抜かれながら徐々に進行することを示している。黒鉛材料は弾性変形後、塑性変形的挙動を伴うことなく破断する。この写真中のカーボンナノチューブの直径はほとんどが $20\text{-}40\mu\text{m}$ であり、この太さは襲発原料のそれに一致し、固化中にカーボンナノチューブが成長し直径が大きくなることはない。



図3 1200°C で固化された試料の破断面のSEM像

3.2 ハイドロキシアパタイトの被覆

従来から行われているハイドロキシアパタイトの合成には、原料を酸で溶解し、PH を調整して沈殿を作り、800°C での焼成で結晶を大きくする方法、水蒸気雰囲気中で1200°C で反応させる方法、水熱法で200°C で析出させる方法の3種類がある。

本研究においては水熱合成で使われる6モルの $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と4モルの Ca(OH)_2 とを原料にして、これから懸濁液を作りその中に基盤を浸して膜を作り、それをSPSにて反応させてハイドロキシアパタイトを生成させ、同時に基盤と密着させる方法を開発した。6モルの $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と

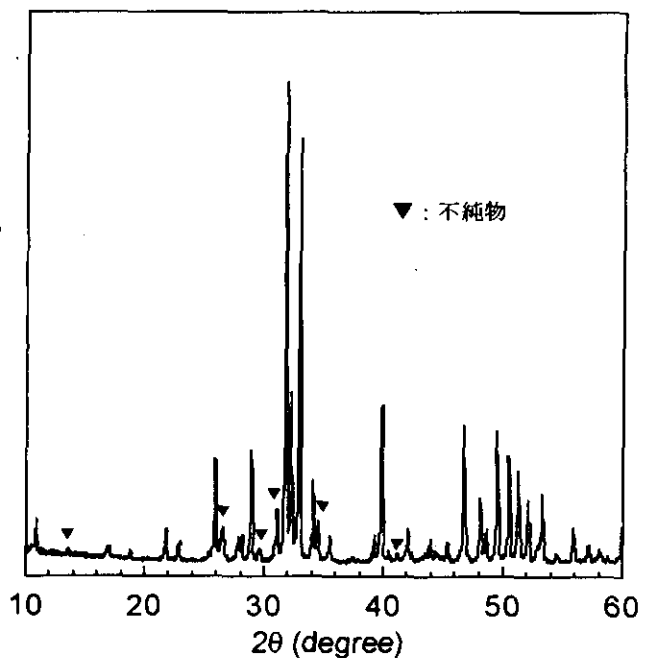


図3 120MPa の1000°C で生成したハイドロキシアパタイトのX解回折図

4 モルの $\text{Ca}(\text{OH})_2$ との混合原料を、通常の方法で 1000°C 以上に加熱してもハイドロキシアパタイトは生成しない。SPS 法により高圧下で 500°C 以上に加熱することでハイドロキシアパタイトが生成することを見つけた。

多層カーボンナノチューブの固化体上にハイドロキシアパタイトの被覆を 1000°C で生成させた。加圧力を 120MPa とすると得られたハイドロキシアパタイト膜は密着性がよく剥げ落ちることはなかった。この 1200° で生成したハイドロキシアパタイトの X 線回折図を図4に示す。少し不純物が存在するものの、結晶性のよいハイドロキシアパタイトが生成している。この不純物は 1200°C の高温にすると無くなる。ハイドロキシアパタイトが乾式でこのように生成することはなく、この生成は SPS の効果による。この被覆膜の光学顕微鏡写真を図5に示す。膜にはクラックがなく密着性もよいように見える。切断などの加工を施しても剥げ落ちないことから、かなり密着性のある膜ではないかと推定される。

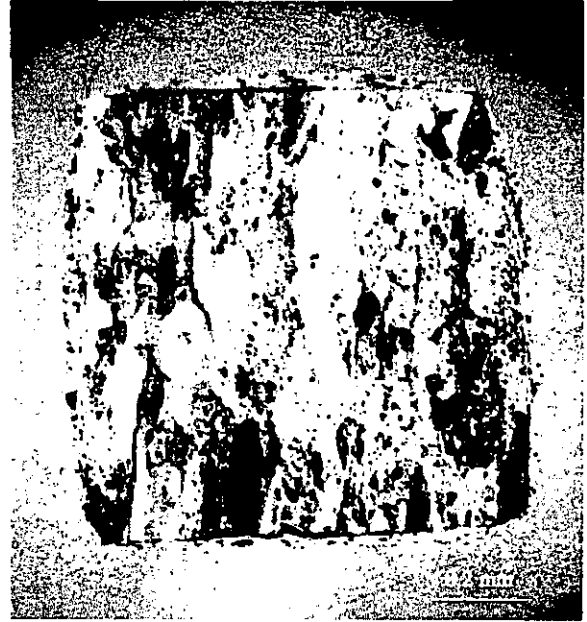


図4 ハイドロキシアパタイトを被覆した固化カーボンナノチューブ

4. まとめ

SPS 法により、フェノール樹脂から変化した非晶質炭素を結合材として、多層カーボンナノチューブを固化することが出来た。この固化体の嵩密度、ヤング率は骨のそれらにほぼ一致している。その破壊はカーボンナノチューブの引き抜きの効果によって塑性変形的になり、破断が一気に進行する従来の黒鉛材料とは異なっている。

固化されたカーボンナノチューブの表面を生体活性にするために SPS を用いてハイドロキシアパタイトを被覆した。 120Mpa の加圧下で 1000°C で被覆した膜には不純物が少し含まれているが、密着性がよく割れもない良い膜である。

謝辞

本研究を遂行するに当たり、透過電子顕微鏡観察で協力頂いた伊藤俊氏と、走査型電子顕微鏡観察で協力頂いた村上義弘氏に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) R. L. Jacobsen, T. M. Tritt, J. R. Guth, A. C. Ehrlich and D. J. Gillespie, Carbon, 33 (1995), 1217.
- 2) A. Bougrine, N. Dupont-Pavlovsky, A. Naji, J. Ghanbaja, J. F. Mareche and D. Billaud:

Carbon, 39 (2001), 685.

3) H. Boeder and E. Fitzer: Carbon, 8 (1970), 453.

4) M. Omori: Mater. Sci. Eng., A287 (2000), 183.

5) P. E. Wang and T. K. Chaki: J. Mater. Sci. Mater. Med., 4 (1993) 150.

6) B. Koch, J. G. C. Wolke and K. de Groot: J. Biomed. Mater. Res., 24 (1990) 655.

7) J. L. Ong, L. C. Lucas, W. R. Lacefield and E. D. Rigney: Biomater., 13 (1992) 249.

8) K. Hosoi, T. Hashida, H. Takahashi, N. Yamazaki and T. Korenaga: J. Am. Ceram. Soc., 79 (1996), 2771

9) L. H. Hench: J. Am. Ceram. Soc., 81 (1998), 1705.

カーボンナノチューブの筋芽細胞ならびに骨芽細胞培養系における 細胞増殖活性と細胞機能に及ぼす影響

北海道大学大学院歯学研究科、東北大学大学院環境科学研究科*
衣斐美歩, 秋本結輝*, 佐藤義倫*, 田路和幸*, 川崎貴生, ○田村正人

1. 目的

ナノチューブ、ナノ/マイクロ微粒子の生体へ応用するための基盤として、それらの生体への組織反応性とその機構を明らかにすることが必須である。本研究では、筋芽細胞ならびに骨芽細胞の細胞培養系を用い、サイズ制御し可溶化処理したカーボンナノファイバーの細胞増殖活性ならびに細胞機能に与える影響について調べ、カーボンナノ/マイクロ微粒子の細胞レベルにおける反応性を明らかにすることを目的とした。

2. 材料と実験の方法

<材料> サイズ制御したナノファイバーならびに酸もしくはオゾン処理によって切断し、可溶化した以下のナノファイバーを実験に用いた。

- a: ac_size_670nm_NL2_MW_031126a (NanoLab社製)
- b: ac_size_550nm_NL2_MW_031126b (NanoLab社製)
- c: ac_size_220nm_NL2_MW_031126c (NanoLab社製)
- d: acid_cut_NL2_MW_031003 (NanoLab社製)
- e: ET_ozon_cut_NL2_MW_031003 (NanoLab社製)
- f: acid_cut_CNF_031003 (田路研製)

<方法>

マウス筋肉由来細胞様細胞であるC2C12細胞ならびにマウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞株であるMC3T3-E1細胞を、10%ウシ胎児血清を加えた α -MEM培地にて5%CO₂, 95%Airの条件下にて細胞培養用プラスチックdish上で培養した。この細胞を、 1×10^4 /mlの濃度で24-well dishに0.5mlの培地を用いて播種し、24時間後に種々の量の上記の可溶化したナノファイバーを培地中に添加し引き続き培養を行なった。

48から72時間後、生細胞数についてはMTTを用いた方法、DNA合成量についてはBrdUを用いたELISA法によって測定し、可溶化したナノファイバーがそれぞれの細胞の増殖に与える影響を調べた。また、細胞の機能に対する効果について、骨芽細胞の細胞膜上に存在するリン酸加水分解酵素であるアルカリフォスファターゼ活性法を、活性染色法を用いて測定した。

3. 結果ならびに考察

acid_cut_NL2_MW, ET_ozon_cut_NL2_MWもしくはacid_cut_CNFを, C2C12細胞に添加し培養し, DNA合成ならびに生細胞数を無添加のコントロールと比較した. DNA合成量と生細胞数の両者ともに有意な変化 ($p < 0.01$) を示すものはなかった. acid_cut_NL2_MW, ET_ozon_cut_NL2_MWもしくはacid_cut_CNFは, C2C12細胞における細胞増殖活性に変化を与えないことが明らかになった.

サイズ制御したNL2_MWをC2C12細胞に添加し培養したところ, ac_size_670nm_NL2_MWではDNA合成量と生細胞数は, 無添加のコントロールとの有意差は認められなかった. 一方, ac_size_550nm_NL2_MWもしくはac_size_220nm_NL2_MWを加えた場合, DNA合成量と生細胞数の値ならびにその濃度依存性の相関がはっきりしないデータもあるが, DNA合成量が増加 ($p < 0.01$) し生細胞数も増加 ($p < 0.01$) した. また, その増加の程度は, 550nmに比べて220nmでは大きかった.

この結果は, 220nm, 550nmといったサイズのナノファイバーが何らかのメカニズムを介して, 細胞の増殖活性に対して影響を与えうることを意味している. 正常な細胞の増殖の活性化は, 細胞死の誘導と違って毒性には直接結びつくとは考えられない. あるサイズのカーボンナノファイバー粒子は, 細胞に対して何らかの機構を介して, その細胞内シグナル伝達機構を活性化しうる可能性が考えられた.