

## D. 考察

### D 1. バイオ用 CNT の開発

CNT をバイオ応用するには現状のものそのままでは不相当である。これは CNT と称しても含有率が低く、触媒としての Ni 微粒子を含んでおり、また疎水性で凝集しやすく単体として取り出せない、直径は nm でも長さは数  $\mu\text{m}$  と長過ぎる、またサイズが不揃いであること等のためである。これらには次のような課題がある。

1)大量合成、2)精製：アモルファスカーボン除去、3)高純度化：触媒(Ni)除去、4)凝集：可溶化・分散化・単離、5)サイズ：切断、6)表面修飾：分子結合

これに対して 1)アーク放電法を使用し、種々の触媒金属を用いることにより、単層・多層ナノチューブの大量合成が可能になり、2),3)燃烧酸化、酸処理などにより精製高純度化を達成した。

さらに 4)凝集：可溶化・分散化・単離、5)サイズ：切断、6)表面修飾：分子結合の問題を解決することが必要である。

CNT は疎水性で凝集しやすく、通常の使用時はバンドルの状態にあり、さらなるバイオ応用のためには可溶・分散性付与、サイズ制御が必要である。加熱焼却・酸処理溶解による精製高純度化後、強酸中で超音波照射して切断、水酸基・カルボキシル基の親水基を付加し、メンブレンフィルターで順次ろ過し、平均長の異なる CNT(670, 545, 220 nm)、CNF(2370, 1160, 590nm)を得て、高分解能透過型電顕を用い合成、単離、形状の確認を行うとともに、バイオ用実験に供した。また太さによる分級も試みた。とりわけハット型ナノファイバー(CNF)は円錐(ハット)形のグラフェンシートが長軸方向に積み重なった結晶構造を取るため、弱いファンデルワールス力で結合しているハット層間は切断されやすく、細胞内に侵入できる大きさに調整可能であり、また表面にグラフィンのエッジが存在するため、多くの親水基や特異的な官能基を付加しやすく、バイオ用として注目し作製した。

### D 2. 微粒子と生体反応

#### (1) 微粒子サイズ依存性 ①

—マクロ～サブミクロン領域

Ti をはじめとするバイオマテリアルに対しても生体反応は、微粒子サイズが小さくなると炎症性反応が増加し貪食を誘発するサイズ依存性を示す。約  $100\mu\text{m}$  以上の Ti 粒子は生体親和性を示すが、 $50\mu\text{m}$  以下では炎症性反応を惹起し、 $10\mu\text{m}$  以下になると貪食を誘発し、長期間強い炎症を引き起こす。

これはマクロなサイズの試料で通常支配的な、材料の化学的性質に基づきイオン溶出を經由して現れる生体為害性とは異なり、生体親和性を示す材料にも微粒子になると現れる材質非依存的な物理的サイズ依存性を示す細胞毒性である。

mm, cm, m のマクロサイズ領域ではこうした物理的効果は無視できるほど小さい。しかしおよそ  $100\mu\text{m}$  の臨界径以下になるとサイズ効果、形状効果等の物理的因子が次第に亢進し、細胞大の  $10\mu\text{m}$  以下になるときわめて顕著になり、この傾向は  $\mu\text{m}$  以下まで続いている。人工関節の骨頭摺動部に発生する摩耗粉等で典型的に問題になるが、例えば歯科用バーで Ti を切削すると摩耗粉の大きさは  $10\mu\text{m}$  から  $5\text{nm}$  の範囲に分布し、その分布の割合は  $5\mu\text{m}$  近傍(60%)、 $800\text{nm}$  近傍(30%)、 $250\text{nm}$  近傍(7%)、 $60\text{nm}$  近傍(3%)のように、いずれも物理的刺激性を惹起するサイズに含まれる。

粒径のほかに、ナノパーティクルでは比表面積が大きい、反応活性度が高い、浮遊しやすい、等の性状が顕著になることから、もともと為害性がある Be, Cd, V, Mn, Ni 等では当然、毒性は強くなる。Ni 微粒子のラット軟組織長期(6ヵ月)埋入試験では 3 匹中、2 匹に腫瘍が発生した。ナノ/マイクロ微粒子になると為害性もまた著しく昂進する典型的なナノトキシコロジー効果の例である。

では生体親和性(bioactive)・生体不活性(bioinert)材料の微粒子ではどのようなになるだろうか。

#### 1) in vitro :

bioactive, bioinert 材料では物理的微粒子刺激性が物質によらず、ほぼ同程度に発生する。本研究の細胞機能性試験で明らかにした結果によれば、物理的サイズ効果に起因する細胞刺激性の強さは細胞内毒素に比べれば  $1/100 \sim 1/10000$  のレベルである。一般にバイオマテリアルは bioinert であるから、影響が細胞のみに限定される in vitro での反応場では、細菌やあ

る種の蛋白質の刺激に比べ、材料のサイズ・形状効果という材質非依存的な物理的刺激はきわめて低く、むしろ微粒子が患者から飛散した場合やあるいはある種の処理をした際には、付着している細菌や蛋白質によって為害性が桁違いに強く現れ、材料からの影響は無視できるほど小さい。

## 2) in vivo :

しかし問題はそう単純ではなく、単一試験のみでの判断は尚早である。微粒子のナノトキシコロジー効果は細胞レベルから、動物埋入試験の組織レベルになると状況はさらに複雑になる。in vivo でこれらの微粒子を軟組織に埋入すると、炎症性細胞浸潤、毛細血管拡張、食食誘発等の炎症を引き起こす。

材料によっては細胞に貪食された後、その場に残留するものと血流にのって他臓器へ移送されるものがある。またそのサイズによって臓器で処理されるものとフィルター機能をすり抜けて血中を回流するものがある。それぞれ人体に及ぼす影響が異なり、危険性や予防性・対策もまたそれぞれに質が異なる。

細菌等による内毒性のレベルは桁違いに高く、局所的に顕著な為害性をもたらすものの、多くの場合、回復治癒とともに原因物質は除去され、一過性のイベントとして完了し、またもとの状態に回復する。

しかし Ti, Fe, Ni 等の金属系微粒子ではマクロファージ、好中球等に貪食された後、他の臓器への移送、体外への排出はされずに、細胞死を誘導し、炎症性サイトカインを放出して炎症性細胞浸潤を誘発しながら、局所に残留する。ことに人工関節の骨頭摺動部から発生する摩耗粉のように、局所に原因物質が次々に組織に追加的に注入され、生体組織は経時的に炎症発現要因が増加する一方の状況にさらされるならば、上記のプロセスを繰返し、炎症が長期継続する。こうした状況下で治癒力が低下し、長期的には生体防御機構が対応できなくなる事態になる可能性も考えられ、注意が必要である。良く知られているアスベストによる発癌性は、肺癌が発症するまで 20 年以上かかると言われている。

我々は先に微粒子サイズが 10 $\mu\text{m}$  以下になると物理的サイズ効果による刺激性が急激に昂進することを明らかにしたが、今年度はさらにサブミクロン以下でどのようになるのか調べた。

また塊状、針状微粒子等の形状依存性の影響を調べ、さらに呼吸器系を通してナノ微粒子が体内に取込まれるかどうか、強制露曝試験を行った。

## (2) 微粒子サイズ依存性 ②

—サブミクロン以下領域

活性酸素産生能、サイトカイン(TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ )産生量などの細胞機能性試験の各指標は 10 $\mu\text{m}$  以下急激に増加し 3 $\mu\text{m}$  ~ 500nm 付近で最高値を示した後、それ以下ではむしろ低下した。そしてそれらの数値はオーダー的に TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, FePt 等 bioactive, bioinert 材料でおおよそ類似していた。例えば CNT では平均長 670 nm、540 nm、220 nm と小さくなるほど、各指標は低下し、刺激性が低下することを意味している。CNT の in vivo での組織埋入試験でも炎症反応の程度の観点から同様に低下し、in vitro 試験と傾向が一致した。

即ち、この材料非特異的、物理的刺激性は 3 $\mu\text{m}$  ~ 500nm にかけて最も強くなり、200nm 付近以下ではむしろ減少する。従って微粒子サイズと生体適合性の関係は下記のようにまとめられる。

微粒子サイズ： 生体反応性

>100 $\mu\text{m}$  : マクロ特性に同じ  
100 ~ 10 $\mu\text{m}$  : 刺激性  
10 $\mu\text{m}$  : 食食誘発、刺激性・炎症反応  
~ 500nm 著しく昂進  
500 ~ 50nm : 刺激性減少するも食食・炎症反応誘発。あるサイズ以下から食食によらず細胞内に侵入する可能性も考えられる。

## (3) 形状依存性

大きさが同じで形状が塊状、針状と異なる TiO<sub>2</sub> 粒子を用い、細胞機能性試験を行うと細胞生存率、LDH から針状粒子のほうがより強い刺激性を示した。TNF- $\alpha$  産生ではサイズ依存性を同様に示し違いが無かったが、IL-1 $\beta$  では食食が困難な大きさの粒子でも針状微粒子は産生量が高く刺激性を示した。これは TNF- $\alpha$  の放出は食食作用に密接に関係しているのに対し、IL-1 $\beta$  はより全般的な刺激性に関連するということがよく理解できる。TiO<sub>2</sub> 粒子は bioinert でイオン溶出等の化学的効果はほとんど

ど無視できると考えてよく、材質、サイズが同じでも針状のほうが塊状よりも刺激性が強いという物理的・形状効果が定量的に示された。アスベスト等の針状結晶の特異的有害性の理解につながるものである。

### D3. 生体防御機構とナノトキシコロジー

#### (1) 強制露曝試験

呼吸器系を通してナノ微粒子が体内に取込まれるかどうか、強制露曝試験を行った。

粉塵の人体への影響については、粒径が10 $\mu\text{m}$ 以上では鼻道や上気道で捕捉・排出される、5 $\mu\text{m}$ 以下では肺胞まで到達する、5 $\mu\text{m}$ 以上でも繊維状・針状粒子では肺に到達する可能性がある、また呼吸器粘膜に付着し刺激性を引き起こす、可溶性や親油性の強い粉塵は血中に溶解し全身中毒の原因となる等、主として吸入時のフィルター効果に関する情報が一般的に知られている。

ラットへの強制露曝試験を行うと、30nmのTiO<sub>2</sub>粒子は肺胞に多数到達、集積し、肺胞から血管内への移行が確認された。さらに全身のX線走査型分析顕微鏡(XSAM)によるTi元素マッピング像から、肺、膀胱等に移送、濃縮されていることが見出された。こうしたTiO<sub>2</sub>ナノ粒子は化粧品などの一般大衆商品に既に広汎に使用されているものであるが、ナノ粒子は呼吸によってそのままリンパ液や血液に取り込まれる可能性が示された。また呼吸器系のほかにも消化器系を通して体内に取り込まれる。

#### (2) 単一試験による生体反応素過程検索と全身の生体防御機構

nmサイズでの刺激性の減少は一見、都合が良さそうであるが、全身の生体防御機構を考える上で単純に安全性が増すとは短絡的には言えないであろう。刺激性が減少して生体防御機構に認知されず、生体内に侵入できるようになれば、生体防御上、適切かどうかわからないからである。むしろ一部位における炎症反応で影響を局限したほうが、全身にリスクが拡散しないとも考えられる。

軟組織に埋入するとサブマイクロ・ナノ粒子では細胞間隙を通過しやすくなり、組織内での移動や血管内皮細胞の間隙への侵入が起き、広範囲に残留し炎症が継続した。ナノ粒子になると安定化されることなく、生体の防御機能を免

れ、細胞の中や血中・リンパへの移行、血流を介しての全身への拡散により、暴露部位以外の臓器に影響を及ぼす可能性もある。

*in vitro* 試験での結果はいわば生体反応素過程の結果であってすべての基本となるものであり、組織・臓器レベルにもその結果が反映する蓋然性は高いと一般には思われる。しかしナノパーティクルの場合には、人体が生体防御機構の対象として想定してこなかった新たな異物であるため、従来の生体防御機構にはかからずに体内に侵入し、影響を及ぼす可能性があり、全身環境中での微粒子の動態はさらに複雑になる可能性があり、未知の部分も多い。こうしたナノトキシコロジー問題に対応するためには、①生体反応素過程レベル、②局所組織・臓器レベル、③呼吸器系・消化器系も含めた全身動態レベルでの挙動を把握することが必要がある。

#### (3) ナノ粒子の体内侵入

ミクロン～サブミクロンレベルの粒子状物質は、肺に吸い込まれるとマクロファージなどの免疫細胞に捕食され、炎症を起こす。他に移送されず、その場に残留すると貪食、集積、貪食のループを繰り返して長期慢性的に炎症が継続し、異物処理のために放出される活性酸素、サイトカインなどが自己組織を損傷するおそれがある。微粒子がアスベストのように特殊な形状をしていると、体外排出されずに20数年にわたる滞留の後、肺癌を誘発する場合もある。

大食細胞(マクロファージ)は通常肺に入る異物を処理するが、50nm以下の粒子に対するマクロファージの反応が低下する結果から、50nm以下のナノ粒子に対しては異物除去反応が十分に機能しなくなり、呼吸によってそのままリンパ液や血液に取り込まれ、全身に循環してしまう恐れもある。体内や臓器に蓄積されるのか、排出されるのか、細胞内に侵入しどのような影響を及ぼすのか検討が必要である。

#### (4) 全身での様々な可能性

*in vitro* での刺激性が低いという結果は体内下でも同様である蓋然性は高いと考えられるものの、全身の生体防御機構との関連では生体が想定していなかった異物、体内侵入であり、単一試験、単一部位における組織反応のみでは限定的であり、最終的な結論はくたせない。

多くの bioinert な材料に対する生体反応は細胞内毒素等の強い毒性、抗原抗体反応、非自己

血液や臓器などに対する免疫拒否反応などに見られる重篤な急性反応ではなく、刺激性が弱いだけに、生体防御機構に認知されず、捕捉されることなく侵入できてしまう可能性も考えられる。50nm以下のナノ微粒子であると呼吸器系から血中に取り込まれ、血流、リンパ系による全身循環、特定臓器への凝集、フィルター機能による濃縮堆積あるいは尿など体外排出あるいはフィルター網を通過して特定部位に滞留することも可能性として考えられる。

こうしたバイオマテリアルは一般に inert(無反応、不活性)であり、あまり重大な反応を急性には引き起こさない。むしろ影響が現実化するのには長期的な集積と時間経過効果と考えられる。

#### D 4. ナノトキシコロジー問題に対する対応

本研究で明らかにされた微粒子の物理的なサイズ効果による生体為害作用は、微粒子の体内分布・動態、あるいは炎症や免疫システムへの影響といったナノトキシコロジーの最も基本的な現象であり、ナノテクノロジーが生体へ及ぼす影響を検討する上で必須の知見と考えられる。

##### (1) ナノトキシコロジー/安全性基準の策定

ナノ粒子の製造と使用はアメリカでもその他のどこでも規制はまったくない。さらに産業界もナノ粒子の製造、使用、廃棄における安全な取り扱いのための規準をなんら規定していない。現在、ナノパーティクルはこうした問題を認知あるいは解明することなく、既に商品として使用されているのである。

ナノテクノロジー開発にあたっては通常その生体への影響は考慮されないままか、無視される場合がほとんどである。一方、ナノトキシコロジーを強調するにあたっては具体的な基礎資料が無いままに倫理的観点からの議論に進みがちである。バイオ応用開発にあたってはこれら微粒子の二大側面：為害性と高機能性の両者を科学的に把握し、環境及び人間の健康への影響について検討しナノトキシコロジー/安全性条件を見極めた上で開発を進める必要があるだろう。ナノテクノロジーの開発、とりわけバイオ応用開発にあたってはこの問題は一度は検証し、研究開発者のみならず一般国民にも公知の情報として開示する段階が必要になるだろう。

##### (2) 全身環境下での微粒子動態の組織的分類

生体組織中で貪食を誘発した微粒子は例えば金属チタン(Ti)では細胞死を誘導して貪食による凝集を繰返しながらその場に残留するのに対し、二酸化チタン(TiO<sub>2</sub>)では細胞死することなく、挙動が異なる。

微粒子の材質によって、局所に残留するものと細胞・血液とともに全身循環するもの、特定臓器のフィルター作用で臓器に濃縮されるものとフィルターをすり抜けるもの、臓器で濃縮後体外に排泄等処理されるものと臓器に残留するもの、フィルターをすり抜け全身回流する中で特定組織に到達滞留して2次的な障害を引き起こすもの等、体内での動態が異なる可能性がある。

全身レベルでの影響を調べるには貪食の有無、細胞死の有無、体内循環の有無、臓器内蓄積、体内吸収・分解、溶解吸収性等の項目について組織的な検索研究を行って各微粒子の挙動を明らかにして分類し、細胞毒性、生体・環境への危険度・作用、安全性の評価基準の確立を行う必要がある。特にアスベスト等の針状結晶、CNT等の繊維状・針状微粒子については気管内注入・曝露、長期発癌性試験を行い、系統的な比較検討が望ましい。これらのデータはまた既に商品として使用されているナノパーティクルの健康に及ぼす判断を行う上でも重要である。

##### (3) ナノトキシコロジー/安全性条件とバイオ応用

こうしたメカニズムが解明できれば、ナノトキシコロジー/安全性条件を認識し、逆に薬物の体内導入過程としてステルス機能を持たせ生体防御機構に捕捉されることなく、ドラッグデリバリーシステム(DDS)など患部へのスムーズな移送に応用できる可能性が生まれてくる。

#### D 5. CNTの生体反応性

CNTに対する生体反応性を、検査用プローブとして多岐にわたる細胞(in vitro)および軟組織(in vivo)を用い、種々の検査項目について調べた。下記にそれらの種類を示す。

-----  
[検査用プローブ細胞・組織]

in vitro :

ヒト好中球

ヒト歯根膜由来線維芽細胞

ヒトマクロファージ THP-1  
ヒト由来真皮繊維芽細胞 HF (p17)  
ヒト HEK293(human embryonic kidney)  
ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 Saos2  
H1299 肺ガン細胞  
ラット腹腔・肺胞マクロファージ  
マウス脾臓細胞(C57BL/6)  
マウス筋芽細胞 C2C12 細胞  
マウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞株  
MC3T3-E1 細胞  
不死化した  
ミニブタ由来歯根膜細胞株(TesPDL)  
単細胞個体(ゾウリムシ)

in vivo :

ラット皮下軟組織

---

[検査項目]

in vitro :

細胞生存率、LDH 活性値、活性酸素放出量  
サイトカイン放出量(IL-1 ,TNF- ,)  
炎症性サイトカイン IL-1 ,TNF- ,  
好中球走化性因子 IL-8  
マクロファージ刺激因子 GM-CSF  
細胞増殖率  
細胞形態  
ラット経口投与試験ー血液検査・生化学  
検査(白血球、グロブリン、...)  
ゾウリムシー細胞生存率、細胞増殖率  
血管内投与(Ce カーボンナノカプセル)

in vivo :

ラット軟組織病理組織像

---

主な細胞・組織に対する生体反応性は下記の通りである。

5.1) in vitro

(1) 単細胞個体(ゾウリムシ)(in vivo か?):

ゾウリムシの食胞形成能に大きな影響は与えず、摂食行動に有害な影響は残らなかった。

分裂停止期の細胞に対して、NiO および NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> では細胞生存率は濃度に依存して低下し、細胞死を導くが、CNT は濃度によらず生存率に影響は認められず、細胞は生きてままであった。

細胞増殖に対する影響では、NiO および NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> は共に強い増殖阻害効果を示したのに

対し、CNT では濃度を増しても阻害効果には限度があった。

(2)ヒト好中球、ヒト歯根膜由来線維芽細胞、ラット腹腔・肺胞マクロファージ:

CNT 上でヒト線維芽細胞は生着が早く、増殖および伸展は微粒子サイズの影響を受けた。細胞突起が伸長し、細胞膜との嵌合や細胞外基質との結合のため、トリプシン処理を行っても剥離されない細胞が多数認められた。炎症性サイトカインの放出を認めたが、為害作用は低かった。

また同一サイズの針状 TiO<sub>2</sub> 粒子と比較して CNT の炎症性サイトカインの産生レベルは低く刺激性は低かった。

(3)ヒトマクロファージ THP-1、マウス脾臓細胞(C57BL/6):

CNT および CNF は、生体にとって異物として認識されるものの、その活性は微生物由来物質に比べると 1/2000 以下できわめて弱い。

(4)マウス筋芽細胞 C2C12 細胞、マウス頭蓋骨由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 細胞:

DNA 合成量ならびに生細胞数は有意差はほとんど認められなかった。

(5)ヒト由来真皮繊維芽細胞 HF (p17) :

ヒト由来真皮繊維芽細胞 HF (p17) に対して CNT による影響は全く観察されず、可溶化 CNT は細胞増殖促進能、障害能のどちらも有していなかった。

(6)ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 Saos2 :

CNT 上で骨芽細胞の増殖は促進され、細胞は伸展した形態を示した。トリプシン処理を行った後も、細胞は球状に形態は変化するものの、CNT が細胞に複雑に嵌合し剥離されない細胞が多数認めら、増殖細胞と CNT は強固に結合していることが示された。

(7)ミニブタ由来歯根膜細胞株(TesPDL)

不死化したミニブタ由来歯根膜細胞株(TesPDL)の増殖に及ぼす CNT, CNF の影響を細胞増殖活性(DNA 合成量)、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性で調べると骨芽細胞様細胞と線維芽細胞様細胞では作用に細胞特異性を示した。

(8)ラット経口投与試験:

CNFs/Na-ALG コロイドを内包したアルギン酸塩球状中空カプセル内をラットへ経口投与し血液成分の生化学的試験を行ったが、急性毒性症状等は観察されず、為害性は認められなかつ

た。

(9)ヒトマクロファージ THP-1、ラット腹腔・肺胞マクロファージ：

血管内投与試験(カーボンナノカプセル(Ce-CNC))において、ラットの肺胞、腹腔マクロファージ及び THP-1 細胞に対する Ce-CNC の細胞刺激性はチタン微粉末と同程度であり、為害性が十分に低いことが示唆された。

## 5.2) in vivo

(1)ラット皮下軟組織：

①ヒト好中球、ヒト歯根膜由来線維芽細胞、ラット腹腔・肺胞マクロファージ：

CNT および CNF を皮下組織に埋入した場合、周囲組織に短期的な炎症症状が発現するが、長期に持続する強い炎症反応は惹起しなかった。

CNF はマクロファージや異物巨細胞に貪食され、異物として生体反応を惹起するが、その反応は他バイオマテリアルと比較すると弱かった。

②ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 Saos2：

CNF および CNT を皮下組織に埋入した場合、周囲組織に強い炎症反応は惹起しなかった。

CNF の多くはマクロファージや異物巨細胞に貪食されるが、CNT はほとんど貪食されなかった。

③長期埋入試験

6ヶ月の長期埋入試験では肉芽腫の発生は認められず、範囲は限定的で生体に強い影響を及ぼす所見は観察されなかった。

## 5.3) CNT の生体反応性

以上、一般の微粒子と同様に細胞生存率、増殖率、LDH 産生量、活性酸素産生能、サイトカイン(TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, GM-CSF)産生量などの細胞機能性試験の各指標はサイズ依存性を示し、3 $\mu$ m ~ 500nm にかけて最も強くなり、それ以下ではむしろ低下した。形状効果についても同一サイズの針状 TiO<sub>2</sub> 粒子と比較して CNT の刺激性は低く、6ヶ月の長期埋入試験でも肉芽腫の発生は認められず、生体への強い影響は観察されなかった。

以上の結果はいずれも、試験開始時の組織の開創や培養液への添加など異物挿入に伴う細胞・組織刺激性が沈静化した後は、材料に非特異的に起きる物理的サイズ効果が主となり、その反応の程度は生体親和性(bioactive)・生体不活性(bioinert)材料一般に起きるのと同程度か、よ

り弱いことで一致している。この微粒子サイズ効果による細胞刺激性は細胞内毒素に比べると 1/1000 以下と低い。貪食後、金属 Ti, Fe, Ni(Ni は化学的に本来、為害性あり)や一部の酸化物(NiO, NiFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)では細胞死するが、CNT は細胞死をほとんど引き起こさない。

## 5.4) CNT と他のカーボン材料

カーボンにはアモルファス(無定形)、グラファイト(黒鉛)、ダイヤモンド、フラーレン、カーボンナノチューブ(CNT)の結晶構造の異なる多形が存在し、CNT にも単層カーボンナノチューブ(SWCNT)、多層カーボンナノチューブ(MWCNT)、カーボンナノファイバー(CNF)、カーボンナノホーン(CNH)ほかの派生体がある。また炭素繊維、活性炭、ガラス状炭素(グラッシカーボン)、ダイヤモンド状カーボン(DLC)、熱分解炭素(パイロリティックカーボン PC)等、多様な 2 次炭素材料群がある。バイオマテリアルとしては抗血栓性の特徴を活かした人工心臓弁用材料としてグラファイトや熱分解炭素が多用されている。

今回行った様々なバイオ応用開発研究ではグラファイトや活性炭をコントロールして比較に用いた。アパタイト析出性、細胞付着性・伸展性、細菌吸着性等いずれも CNT はすぐれていた。逆にグラファイトはいずれもきわめて悪く、抗血栓性にすぐれる特性によく合致したと言える。同じ炭素でありながらグラファイトと CNT は特性がきわめて異なり、当初の bioinert (生体不活性)という予想に比べ、すぐれたバイオ応用特性を有していると言える。

このように今回行った試験条件におけるあらゆる結果は、CNT には bioinert 材料一般に起きる程度の微粒子刺激性は有するものの、特異的な生体為害性は認められないことを示している。むしろ実験結果は細胞・組織に対する特異的な種々の親和性を有することを示唆している。

CNT 表面は本来、疎水性で細胞付着性にすぐれ、また糖鎖または高分子糖化合物が吸着しやすく、一旦付くとまた容易にはがれない。生体組織を構成する重要な蛋白質線維であるコラーゲンと相互作用が強く吸着しやすい。人工体液等のカルシウム塩、リン酸塩の存在下でアパタイトが析出しやすい。また細胞が増殖しやすく、増殖細胞の形態は伸展している。また薬液で CNT スカフォールドから細胞中央部を剥離

しても突起が嵌入しているため、細胞が剥離しない。屈曲しやすい。... 等である。

この中の性質の一部には CNT 表面に蛋白質やリン酸カルシウムなど細胞培養液成分を吸着している、CNT がきわめて微小になると起きやすい凝集効果が起き、結果として粒径の大きな粒子として働く等の 2 次的効果が作用している可能性もある。

#### 5.5) 様々な CNT 群

今回、平均長の異なる MWCNT(670, 545, 220 nm)、CNF(2370, 1160, 590nm)および SWCNT, CNC など様々な CNT 群を用い、特性を調べた。これら純度(Ni, Fe 触媒等の不純物除去)、精製度(アモルファスカーボン等、他の同素体除去)、形状(長さ)をコントロールし、素性が明確な試料を様々な研究に共通に使用した。その結果、サイズ依存性ととも、いくつかの特性では結晶構造(CNT の種類)にも依存する結果が得られた。in vitro での炎症性サイトカイン産生、in vivo での炎症の程度、マクロファージの異物処理能、細胞内ライソゾームでのある種の biodegradation の進行等、CNF のほうが CNT よりも刺激性、起炎性が少ないようである。CNF はその結晶構造からハット層間の劈開により長軸方向に寸断されやすく、また表面未反応基が親水性になりやすいため、機械的、化学的、したがって生物学的にも相対的に CNT よりも処理されやすい可能性が考えられる。またスカフォールドとしての細胞付着・伸展性や焼結バルク体の特性に単層および多層 CNT 間に差が見られた。

#### 5.6) アスベストとの関連

アスベストには肺ガンを引き起こす発ガン性があることはよく知られているが、繊維状結晶という類似の形態を持つ連想から、同様な危険性があるという指摘がなされている。6ヶ月の長期埋入試験を行った結果からは Ni 微粒子では腫瘍が発生したが、CNT では肉芽腫の発生は認められず、範囲は限定的で生体に強い影響を及ぼす所見は観察されなかった。また同一サイズの針状 TiO<sub>2</sub> 粒子と比較して CNT の炎症性サイトカインの産生レベルは低く刺激性は低かった。今回行った短中期的な試験結果の範囲内では、特異的なあるいは強い生体為害性は認められず、むしろ生体材料として有利な生体親和性的性質が多数見出された。

#### 5.7) バイオ応用に使用する CNT 試料の調整

市販の CNT は物理・化学・工業的応用を念頭に置いており、そのままではバイオ応用には不適當である。アモルファスカーボンや触媒としての Ni や Fe 微粒子を含んでおり、とりわけ Ni 微粒子は強い為害性を誘起する。本研究では精製高純度化を行い、アモルファスカーボンや触媒を除去し、その他の諸特性も含め素性の明らかな試料を使用している。文献の中には厳密に精製処理をせぬままに試験しているため、不純物という副次的な効果を拾っているものも含まれている可能性がある。生体親和性(bioactive)・生体不活性(bioinert)材料で生体適合性試験を行うと条件に左右されやすく結論が曖昧なわかりにくい結果になりやすいが、生体為害性物質を入れると、途端にきわめて明快な結果になるのは、この分野の研究でよく経験することである。

#### D 6. CNT のバイオ応用開発

CNT については前年と同様、為害性はあまり観察されず、短中期的には発癌性は認められていない。むしろますますバイオ応用の観点上、有利かつ興味深い特性が明かとなった。CNT の様々な派生体間の差異、結晶構造依存性が認められた。これらはいまだ萌芽的段階といえるものであるが、将来の発展性は十分大きいと言える。

##### ① アパタイトのバイオミメティック・コーティング

擬似体液に Ti を浸漬すると表面にリン酸カルシウムが析出することが知られているが、CNT でも CNT をコアとしてアパタイト結晶が放射状に析出し、容易に表面修飾が可能であった。

##### ② 細胞増殖用スカフォールド

CNT の表面は疎水性で細胞の生着性にすぐれ、細胞は広く伸展しながら成長し、細胞末端では突起が CNT 叢内部に伸展、嵌入して強固に結合し、すぐれた細胞付着・伸展性を示した。

##### ③ 細菌吸着

殺菌等の化学的・薬理的効果によらず、物理的吸着により著しく細菌数を低減する効果を認めた。

##### ④ コンポジットレジジン/歯質 接着界面マーカー：コラーゲンとの相互作用による歯質への選

## 択吸着

CNTは疎水性でコラーゲンに吸着しやすく、エッチング処理した歯質のうちで、エナメル質に吸着されず、コラーゲン線維が露出した象牙質にのみ選択的に吸着される。このことを利用し、コンポジットレジン修復時に歯質に塗布し、レジン再削合時の過剰な歯質の削合を回避する肉眼認識用レジン/歯質界面マーカーとして応用した。再削合時の削合の誤差は最大120 $\mu$ m程度で不要な過剰歯質削合はほとんどない。

### ⑤ 環境浄化用選択吸着剤－CNTゾル内包アルギン酸ビーズ

環境中の芳香族系有害性物質をはじめとする汚染物質の選択吸着・除去、将来的には生体内の有害物質の選択除去に応用可能な、CNT/アルギン酸ナトリウムコロイドを内包したアルジネート酸ビーズを開発した。

### ⑥ アルギン酸ビーズによる経口投与試験

CNFが酸性の胃液中で凝集するのを避け、腸から吸収されるようにCNFs/Na-ALGコロイドを内包したアルギン酸塩球状中空カプセルを作製し、ラットへの経口投与、吸収を介しての血液成分の生化学的試験に応用した。

### ⑦ リポソームへのCNT組み込み

生体膜へのCNT,CNFの作用を調べるモデルの作成、およびドラッグデリバリーシステムの担体としての物理的、化学的性質の改善を目的に、リポソームへのCNT組み込みを行った。

### ⑧ 糖鎖、タンパク質による表面修飾

疎水性のCNTは物理吸着により容易に糖鎖、タンパク質による表面修飾が可能である。糖鎖修飾により細胞付着性ほかを制御できる可能性あり。

### ⑨ 遺伝子導入用担体への応用

CNFs/Na-ALG複合体にpCMV b-Gal発現プラスミドを結合し、H1299肺ガン細胞株への輸送に応用した。

### ⑩ カーボンナノカプセル

Ce含有カーボンナノカプセルの有害性が低いことを確認後、血管内投与し、体内循環、臓器への濃縮を検知した。

### ⑪ CNT焼結固化体

放電プラズマ焼結で作製した焼結体は機械的特性が骨と類似し、また破壊時、繊維状のCNTの引抜きの摩擦抵抗のため、破壊が徐々に進行し、見かけ上、擬似塑性変形を示し、破

壊靱性が向上した。

### ⑫ ナノアパタイト/CNTコンポジット

放電プラズマ法により50nm以下のアパタイト粒とMWCNTからなるナノアパタイト/CNTコンポジット(nHA/CNT)を作製した。コラーゲンとナノアパタイト微結晶からなる骨に類似し、骨再生への応用が期待される。

### ⑬ CNT複合材料

CNTとの繊維強化金属(FRM)、繊維強化プラスチック(FRP)を試作した。

## D7. カーボンナノチューブ焼結バルク体の作製とその特性

### ① SPS

CNTの物性を利用する用途としては通常単体としての利用が念頭にあり、バルク体としての発想とその開発は本研究が初めてである。その大きな理由の一つとして炭素材料では焼結が困難で超高温で焼結を強行するとナノチューブ構造が解体し、本来目標とする材料が容易に損なわれてしまう点があった。本研究では日本で開発された放電プラズマ焼結法を採用することにより実現を可能とした。この方法では粉末粒子間にプラズマが発生し、焼結促進、焼結温度の低温化が図れるとされる。

### ②多層カーボンナノチューブ(MWCNT)固化体

バインダーとしてフェノール、ポリカルボシランを使用し作製

### ③単層カーボンナノチューブ(SWCNT)固化体

バインダーとしてフェノール使用。また結合材を用いず、生体為害性の少ないバインダーレスも実現。

### ④機械的特性－骨と類似

密度1.7g/cm<sup>3</sup>、ヤング率3-10GPa、ビッカース硬さH.70と骨の物性(1.6-2.1g/cm<sup>3</sup>, 7-30GPa, H.<60)に近い。

### ⑤機械的特性

従来、セラミックスは金属に較べると化学的に不活性で生体適合性にすぐれてはいるものの、脆性材料で破壊しやすく信頼性に劣り、破面が鋭角状で組織を傷つけやすい欠点があった。また骨に比べてヤング率が高く、衝撃力の応力緩和が図れないために、周囲組織に過大な負担を課すことや逆に組織への重力負荷刺激が少なく、骨が菲薄化するなど、インプラントとして硬すぎる難点があった。



CNT 固化体では弾性限を越えても通常のセラミックスのような脆性破壊は示さず、繊維状の CNT の引抜きのために、破壊が徐々に進行し、見かけ上、擬似塑性変形を示す。ナノチューブ繊維が引き抜かれる摩擦抵抗力により、通常のセラミックスで見られるような亀裂の進展が阻止され、荷重を保持し続けるものと考えられる。

ナノチューブバルク体に見られる準脆性はセラミックスの機械的特性としてきわめて特異的で、今後、最適作製条件、物性の改善などさらなる改良が必要であるが、破壊靱性値やヤング率の観点から生体にやさしい新しいセラミックス生体材料になり得る可能性がある。加えて化学的に不活性で耐食性に富むから、為害性を惹起する要因は少ない。またその結晶構造から各種成長因子や薬剤等の吸蔵性にも富むと予想され、体内中で患部に近接して長期徐放する等の応用に向けた吸蔵性、徐放性も応用の可能性と考えられる。

#### ⑥アパタイトコーティングー SPS

$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  と  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  の懸濁液を固化 CNT の表面に塗布後、SPS で加圧・加熱することによりハイドロキシアパタイト被膜を作ることにより成功した。

#### ⑦アパタイトコーティングー二重カプセル(擬似 HIP)

熱間等方静水圧プレス (HIP) を擬似的に実現する二重構造カプセル法を開発し、強固な HA/Ti 接合強度を有するアパタイトコーティング材を作製することができた。

生体不活性な材料の表面に HA をコーティングする方法として、従来用いられているプラズマ溶射などによるセラミックスコーティングと比較すると、本法で作製された HA コーティングは、結晶成長によるものであり、熱分解は認められず、生体内での溶解などによる消失は起きにくいと考えられる。

#### ⑧動物埋入試験

バインダーとしてフェノール、ポリカルボシランを使用し作製した MWCNT 固化体では結合材濃度が高いほど炎症性が増した。アパタイトコーティング材では良好な新生骨形成が認められた。

### D 8. ナノコンポジット

#### (1) ナノアパタイトの機能性

人工アパタイトは典型的な bioactive 材料で骨誘導性に富むが、通常生体中で非吸収性であり骨に置き換わることは無い。したがって骨代替用構造材としてインプラントに使用される。骨のアパタイトは約 50 ~ 100nm の結晶性の劣る、約 6%ほど炭酸化したハイドロキシアパタイトのナノ結晶からなり、コラーゲン線維との複合材料として気孔の大きい構造を形づくりながら、骨を構成する。人工アパタイトも 50nm 程度のナノ結晶になると生分解性に变化し、生体に吸収されつつ骨再生を促し新生骨に置き換わる骨置換性に機能が変化する。

このナノアパタイトコンポジットとして本プロジェクトでは(1)室温における湿式と(2)高温における乾式合成の全く異なる2つの方法で作製した。

#### (2) ナノ炭酸化アパタイト/コラーゲンコンポジットの開発

① 新しい骨置換性材料として、骨に組成、結晶サイズ、気孔形状の類似したナノ炭酸ハイドロキシアパタイト/コラーゲン(nCHAC)複合体を室温にてバイオミメティック法で作製した。このナノアパタイトは 2.8-14.7 wt%の炭酸基を含有するため、低結晶性で溶解性が高く、より早く骨置換が進行すると期待される。

② この複合体の機械的特性をさらに改善するために、生分解性ポリ乳酸-グリコール酸共重合体で強化した骨置換性ナノコンポジット(nCHAC/PLGA)も作製した。

③ このナノコンポジットを骨や歯周組織の再生治療時に用いられる GTR 法に応用するために、ナノ炭酸ハイドロキシアパタイト+コラーゲン/ポリ乳酸-グリコール酸共重合体コンポジット(nCHAC/PLGA)をシート状にし、さらに内面と外面に異なる機能性を持たせるために、厚さ方向にアパタイト含有率を傾斜させた傾斜機能型 GTR 膜を開発した。in vitro での degradation (崩壊性)試験では内面と外面の崩壊速度が異なり、アパタイト含有側では約 8 週後から分解速度が加速され Ca イオンの放出が増大した。

#### (3) ナノアパタイト/CNT コンポジットの開発

④  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  [=DCPD]と  $4\text{Ca}(\text{OH})_2$  の混合粉末からアパタイトを生成させる乾式合成を、放電プラズマ法(SPS)による 1200℃での MWCNT との焼結時に同時に進行させ、50nm

以下のアパタイト粒と MWCNT からなるナノアパタイト/CNT コンポジット(nHA/CNT)を作製できた。コラーゲンとナノアパタイト微結晶からなる骨に類似している点で、きわめて興味深い構造をしている。

#### D 9. 耐摩耗性窒化チタンインプラントの開発

以上のような物理的サイズ効果が臨床的に顕在化する例として摩耗粉の問題がある。この問題に対する対策として本研究では窒化チタンに注目し、その機械的特性と生体適合性を調べた。表面窒化チタンの硬さ、引っかかり硬さ、耐摩耗性ともチタンの約 10 倍増であり、耐摩耗性は著しく改善される。一方、その微粒子の細胞毒性が高ければ生体材料として適当でないことになるが、マクロ大インプラントの生体親和性、微粒子の生体為害性ともチタンとほぼ同等の結果を示した。インプラント全体が窒化チタンの場合、ヤング率が高すぎ、脆性で衝撃力に弱いから実用的には不適當であり、表面のみ窒化した表面窒化チタンインプラントのほうがバルク体内部は金属で信頼性に富み耐摩耗性も兼ね備える点で実際的である。窒化チタンの膜厚は本研究では約 2 $\mu$ m としたが、あまり厚くなるとマトリックスのチタン金属とのコヒーレンシーを失い、容易に剥離しやすくなることを考慮すると、適切な膜厚と考えられる。

これらの結果から、チタン表面に表面窒化層を形成することにより、チタンと同等の生体親和性を有しながら、摩耗粉発生を著しく抑制できると期待され、人工関節等の骨頭摺動部を有する大腿骨置換インプラント、定期的に歯石除去作業を行う必要のあるデンタルインプラントのアバットメント部等、摩耗粉の問題に対処できる耐摩耗性インプラントとして有効であると期待される。

従来、チタンインプラントのアバットメント部（上皮貫通部）の超音波スケーラーによる歯石除去には、表面に傷をつけないために超音波スケーラーにはプラスチック製のチップを用いていた。臨床で歯石除去作業に負荷する荷重は約 50g であるが、約 2 $\mu$ m 厚の窒化チタン層を形成することにより、500g の負荷でステンレス製チップを用いても機械的研磨傷を形成することなく除去作業が可能であることが示された

(図 12, 13)。臨床時の操作効率の著しい向上とインプラントの長期維持率の増大に寄与すると期待される。

#### D 10. 可視光応答型光触媒二酸化チタンの開発と応用

従来、光触媒は紫外線を必要とし生体への応用は困難であった。今回、金属イオン光析出法というきわめて簡便な方法で可視光応答性を付与することができた。この可視光応答型二酸化チタン光触媒は日常歯科治療に用いられている 470nm をピークとするコンポジットレジンの光重合照射器をそのまま使用することができ、特別な装置を必要としない点で汎用性に富むものである。

その応用として、最も代表的な齲蝕原生菌である *streptococcus mutans* に対し、85%以上の抗菌効果を示し、またヒト天然歯に対する漂白応用においても 20 分の照射で十分な漂白効果が得られた。

従来、歯牙漂白には 35%過酸化水素水を用いるため、術式の過程で様々なリスクが存在したが、本可視光応答型光触媒を用いれば、過酸化水素水を使用することなしに、漂白効果を得ることができる。Ag イオンの歯科臨床使用については以前から銀セメント、銀ポイントなどの根管治療用材料や硝酸銀による腐食、収斂作用、フッ化ジアンミン銀のう触予防作用など解離した Ag イオンによる薬理作用を期待した様々な薬品が用いられてきており、また二酸化チタンは医薬品に多く用いられているから、Ag イオン修飾二酸化チタン光触媒の口腔内使用に大きな問題は無いと考えられる。体内使用の可能性は今後の検討課題である。

#### E. 結論

材料の生体適合性は通常イオン溶出性などの化学的性質の影響が支配的であり材質に依存性する。ナノ/マイクロ微粒子になると比表面積や反応活性点が増加するから、ある種の触媒のように反応性は著しく増大し、ナノテクノロジーのメリットを享受できるが、またある場合には為害作用が昂進するデメリットとして発現する場合も起こり得る。もともと化学的に為害性がある Be, Cd, V, Ni 等では当然毒性は強くな

り、発癌性などのナノトキシコロジーを引き起こすことになる。

生体親和性(bioactive, bioinert)材料においてはおよそ 100 $\mu\text{m}$  以上の粒子は巨視的サイズのインプラントと同様の生体親和性を示すが、100 $\mu\text{m}$  以下粒子径が小さくなるほど刺激性は増大し、50 $\mu\text{m}$  以下では炎症性反応を惹起し、10 $\mu\text{m}$  以下になると貪食作用を誘発し、3 $\mu\text{m}$  ~ 500nm の領域で炎症性サイトカイン・活性酸素の放出等の細胞障害性、血管拡張・細胞浸潤等の周囲組織の炎症は最も顕著になる。500nm ~ 50nm ではその程度はやや低下する傾向を示し、ナノサイズの CNT, TiO<sub>2</sub> では細胞障害性は低くなる。微粒子の形状依存性については針状粒子は塊状粒子よりも為害性が高かった。

このような効果は bioactive, bioinert な金属、セラミックス、ポリマー材料のいずれにも見いだされ、物質によらない効果であると考えられる。そのメカニズムは主として微粒子と細胞・組織とのサイズの相対的な関係に由来する効果である。

即ち、マクロサイズの生体適合性には通常、溶解イオンとして発現する材質依存的な化学的効果が支配的であるが、 $\mu\text{m}$  ~ nm になると bioactive, bioinert 材料でも、材質非依存的な物理的サイズ効果が顕在化し、細胞・組織刺激性を生起する。

その為害性の程度は細胞内毒素に比べると 1/1000 以下と低いが、組織内では貪食を誘発し、金属微粒子の場合には細胞死を導いて局所に残留し長期間炎症を継続し、創傷治癒の遅延を引き起こす点で注意が必要である。人工関節の骨頭摺動部に発生する摩耗粉などで典型的な問題になると考えられる。

この微粒子の物理的サイズ依存性に基づく細胞・組織刺激性、障害性は 3 $\mu\text{m}$ -500nm の微粒子に対して最も強く、それ以下ではむしろ低下したが、このことは一局面では刺激性が低下するという点で好都合という反面、全身レベルでの生体防御機構の観点からは単純に無害になるとは結論づけられないであろう。ナノパーティクルは人体が生体防御機構の対象として想定してこなかった新たな異物である。50nm 以下になるとマクロファージ等の細胞がナノ粒子を異物と認識できない、あるいは処理できない可能性があり、そのままリンパ液や血液に取り込ま

れ、生体の防御機構に捕捉されずに全身に拡散し、暴露部位以外の他臓器に影響を及ぼす可能性もある。

逆に薬物導入の観点からはこうしたサイズ領域では粒子に異物と認識されないステルス機能を持たせられる可能性があり、DDS における患部への移送過程上の一つの障害を取り除くバイオ応用上のメリットとして活用できる可能性がある。

「ナノテクノロジーは新しい機能性を生み出すとともに、新たな毒性の発生源ともなるのか？」というナノトキシコロジー問題に対応するためには、in vitro, in vivo 局所領域での生体反応素過程とともに、全身環境中での微粒子動態も代表的な材料に対してシステムチックに検索し、ナノトキシコロジー/安全性条件を見極めた上で提起したナノテクノロジー開発指針に沿ってバイオ応用展開を図ることが必要と考えられる。

一部からアスベストと同様な毒性の可能性が指摘されている CNT について、今回行った試験条件におけるあらゆる結果は、bioinert 材料一般に起きる程度の微粒子刺激性は有するものの、短中期的には発癌性などの特異的な生体為害性は認められないことを示している。むしろバイオ応用の観点から生体材料として有利な細胞・組織に対する種々の特徴的な親和性が多数見出された。また CNT の様々な派生体間の差異、結晶構造依存性が認められた。

バイオ用 CNT として、バイオ応用に適したサイズに調整した可溶性 CNT および処理性の高い CNF、親水性と分散性に富むナノチューブ/アルギン酸ナトリウムコロイドの作製、細胞・細菌との結合性を制御できる糖鎖修飾およびアパタイト析出による表面修飾法を開発した。

CNT 単体のバイオ応用として、アパタイトのバイオミメティック・コーティング、細胞増殖用スカフォールド、細菌吸着剤、コラーゲンとの相互作用による歯質の選択吸着を利用したコンポジットレジン/歯質 接着界面マーカー、CNT ゾル内包アルギン酸ビーズによる環境浄化用選択吸着剤および経口投与試験、リポソームへの CNT 組み込み、糖鎖・タンパク質による表面修飾、遺伝子導入用担体への応用、カーボンナノカプセルの血管内投与、CNT 複合材料の作製を行った。

また放電プラズマ焼結法により CNT を焼結し、骨に類似した機械的特性と擬似塑性変形、高い破壊靱性を示す CNT 焼結バルク体を作製した。

ナノアパタイトコンポジットとして、湿式によるナノ炭酸化アパタイト/コラーゲンコンポジット、および厚さ方向にナノ炭酸化アパタイト+コラーゲン/ポリ乳酸-グリコール酸共重合体コンポジットの組成を変化させた傾斜機能型 GTR 膜、また乾式高温合成によるナノアパタイト/CNT コンポジットの開発を行った。

これら CNT のバイオ応用開発はいまだ萌芽的段階であるが、将来の発展性は十分大きいと言える。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Ryuichiro KUMAZAWA, Fumio WATARI, Yasunori TOTSUKA: Effects of particle size on cell function and morphology in titanium and nickel, *Materials Transactions* 43(12), 3052-3057, 2002
- 2) Ryuichiro KUMAZAWA, Fumio WATARI, Noriyuki TAKASHI, Yukihiko TANIMURA, Motohiro UO, Yasunori TOTSUKA: Effects of Ti ions and particles on cellular function and morphology of neutrophils, *Biomaterials* 23, 3757-3764, 2002
- 3) Yutaka Tamura, Atsuro YOKOYAMA, Fumio WATARI, Motohiro UO, Takao KAWASAKI: Mechanical properties of surface-nitrided titanium for abrasion resistant implant materials, *Materials Transactions* 43(12), 3043-3051, 2002
- 4) Yutaka TAMURA, Atsuro YOKOYAMA, Fumio WATARI, and Takao KAWASAKI: Surface Properties and Biocompatibility of Nitrided Titanium for Abrasion Resistant Implant Materials, *DENTAL MATERIALS JOURNAL* 21(4), 355-372, 2002
- 5) 谷村幸広、亘理文夫、宇尾基弘、戸塚靖則：金属イオン修飾による二酸化チタン光触媒の可視光応答性付与と歯科応用のための基礎研究、*歯科材料・器械* 21(6), 342-350, 2002
- 6) 亘理文夫、近藤英臣、宮尾里香、大森 守、大久保昭、平井敏雄、横山敦郎、宇尾基弘、田村 豊、川崎貴生：FGMインプラントの特性に及ぼすSPS焼結圧の効果と生体適合性、*粉体および粉末冶金*、49(12), 1063-1069, 2002
- 7) 小西順子、亘理文夫、大川昭治、宇尾基弘、佐野英彦：冷間等方加圧法を用いた陶材インレーの焼成後収縮に及ぼす中間酸化物添加の影響、*歯科材料・器械* 21(6), 357-367, 2002

- 8) 亘理文夫：先進歯科材料研究に関する最近の動向、*日本学術振興会・材料の微細組織と機能性*第133委員会第174回研究会資料, 13-18, 2002
- 9) 亘理文夫、田村一央、高師則行、宇尾基弘、赤坂司、戸塚靖則、古月文志、佐藤義倫、田路和幸：微粒子と生体反応、*ナノ学会会報* 2(1), 33-37, 2003
- 10) 亘理文夫、松尾晋吾、佐藤範幸、上田康夫、大畑昇：傾斜機能型デンタルポストの応用緩和効果、*2002年度傾斜機能材料論文集〈FGM2002〉*, 93-97, 2003
- 11) Atsuro Yokoyama, Hironobu Matsuno, Satoru Yamamoto, Takao Kawasaki, Takao Kohgo, Motohiro Uo, Fumio Watari, Masanori Nakasu: Tissue response to a newly developed calcium phosphate cement containing succinic acid and carboxymethyl-chitin, *2003 Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res* 64A: 491-501, 2003
- 12) 亘理文夫：傾斜機能型人工歯根の開発と課題、傾斜機能材料の開発と応用、*シーエムシー出版編*, 149-158, 2003
- 13) 横山敦郎、川崎貴生、亘理文夫：生体材料（デンタルインプラント）を目的とした傾斜機能材料の作製と生体反応、*化学工業* 54(11), 13-18, 2003
- 14) Atsuro Yokoyama, Hironobu Matsuno, Satoru Yamamoto, Takao Kawasaki, Takao Kohgo, Motohiro Uo, Fumio Watari, Masanori Nakasu: Tissue response to a newly developed calcium phosphate cement containing succinic acid and carboxymethyl-chitin, *2003 Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res* 64A: 491-501, 2003
- 15) Min Ho Lee, Dong Joo Yoon, Dae Hee Won, Tae Sung Bae, Fumio Watari: Biocompatibility of Surface Treated Pure Titanium and Titanium Alloy by in vivo and in vitro Test, *METALS AND MATERIALS International* 9(1), 35-42, 2003
- 16) Atsuro Yokoyama, Yoshinori Sato, Yoshinobu Nodasaka, Satoru Yamamoto, Takao Kawasaki, Masanobu Shindo, Takao Kohgo, Tsukasa Akasaka, Motohiro Uo, Fumio Watari, Kazuyuki Tohji: Biological Behavior of Hat-Stacked Carbon Nanofibers in the Subcutaneous Tissue in Rats, *Nano Letters* 5(1), 157-161, 2005
- 17) Fumio Watari, Yutaka Tamura, Atsuro Yokoyama, Motohiro Uo, Takao Kawasaki: Mechanical Properties and Biocompatibility of Surface-Nitrided Titanium for Abrasion Resistant Implant, *Bioceramics* 16, (Key Engineering Materials Vols. 254-256), 873-876, 2004
- 18) K. Tamura, N. Takashi, T. Akasaka, I. D. Rosca, M. Uo, Y. Totsuka, F. Watari: Effects of Micro/Nano Particle Size on Cell Function and Morphology, *Bioceramics* 16, (Key Engineering Materials Vols. 254-256), 919-922, 2004
- 19) Fumio WATARI, Atsuro YOKOYAMA, Mamoru OMORI, Toshio HIRAI, Hideomi KONDO, Motohiro UO, Takao KAWASAKI: Biocompatibility of materials and development to functionally graded implant for bio-medical application, *Composites Science and Technology* 64(6), 893-908, 2004
- 20) B. Fugetsu, S. Satoh, T. Shiba, T. Mizutani, Y. Nodasaka, K. Yamazaki, K. Shimizu, M. Shindoh, K. Shibata, N. Nishi, Y. Sato, K. Tohji, F. Watari: Large-Scale Production of Ba<sup>2+</sup>-Alginate-Coated Vesicles of Carbon Nanofibers for DNA-Interactive Pollutant Elimination, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 77, 1945-1950, 2004

21)B. Fugetsu, S. Satoh, A. Iles, K. Tanaka, N. Nishi, F. Watari: Encapsulation of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) in Ba<sup>2+</sup>-alginate to form coated micro-beads and their application to the pre-concentration/elimination of dibenzo-p-dioxin, dibenzofuran, and biphenyl from contaminated water, *The Analyst (London)*, 129, 565-566, 2004

22)Bunshi Fugetsu, Shuya Satoh, Toshikazu Shiba, Takeo Mizutani, Yong-Bo Lin, Norifumi Terui, Yoshinobu Nodasaka, Katsushi Sasa, Kiyoko Shimizu, Tsukasa Akasaka, Masanobu Shindoh, Ken-Ichiro Shibata, Atsuro Yokoyama, Masanobu Mori, Kazuhiko Tanaka, Yoshinori Sato, Kazuyuki Tohji, Shunitz Tanaka, Norio Nishi, Fumio Watari: Caged Multiwalled Carbon Nanotubes as the Adsorbents for Affinity-Based Elimination of Ionic Dyes, *Environmental Science & Technology* 38(24), 6890-6896, 2004

23)赤坂 司、佐藤義倫、田路和幸、亘理文夫：糖鎖によるカーボンナノチューブの表面修飾、2003年度傾斜機能材料論文集〈FGM2003〉, 116-121, 2004

24)田村一央、高師則行、赤坂 司、ロスカ・イオシフ、宇尾基弘、戸塚靖則、田路和幸、亘理文夫：カーボンナノチューブ、ナノ・マイクロ微粒子に対する生体反応、2003年度傾斜機能材料論文集〈FGM2003〉, 22-27, 2004

25)Josif Daniel Rosca, Fumio Watari, Motohiro Uo: Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation, *J.of Controlled Release* 99, 271-280, 2004

26)Hideomi Kondo, Atsuro Yokoyama, Mamoru Omori, Akira Ohkubo, Toshio Hirai, Fumio Watari, Motohiro Uo, Takao Kawasaki: Fabrication of Titanium Nitride/Apatite Functionally Graded Implants by Spark Plasma Sintering, *Materials Transactions* 45(11), 3156-3162, 2004

27)近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、亘理文夫：放電プラズマ焼結法で作製した窒化チタン/アパタイト系傾斜機能型インプラントの物性と生体適合性、2003年度傾斜機能材料論文集〈FGM2003〉, 40-45, 2004

28)Josif Daniel ROSCA, Fumio WATARI, Motohiro UO, Tsukasa AKASAKA, Kazuchika TAMURA: Mechanism of biodegradable polymer microparticle formation by emulsification solvent evaporation method, *Proceedings of the 15th FGM 2003 Sapporo*, 87-92, 2004

29)横山敦郎、松野浩宜、川崎貴生、水越孝典、石川誠、戸塚靖則、野田坂佳伸、宇尾基弘、亘理文夫、向後隆男：各種顕微鏡および発光分光分析装置を用いた摘出インプラント周囲組織中のチタンの分析、*北海道歯学雑誌* 25(2), 330-338, 2004

30)Motohiro Uo, Masaya Tanaka, Fumio Watari: Quantitative Analysis of Biologic Specimens by X-Ray Scanning Analytic Microscopy, *J.Biomed.Mater.Res.Part B: Appl.Biomater.* 70B, 146-151, 2004

31)宇尾基弘、亘理文夫、熊澤隆一郎、田村一央、戸塚靖則、横山敦郎、川崎貴生：歯科技工士にも理解できる X 線分析顕微鏡の歯科医療への応用、*日本歯技* 420, 33-39, 2004

20)宇尾基弘、赤坂 司、亘理文夫：X 線分析顕微鏡の生体内金属財郎及び周囲組織分析への応用、2003年度傾斜機能材料論文集〈FGM2003〉, 127-132, 2004

## 2. 学会発表

1)谷村幸広、熊沢龍一郎、戸塚靖則、宇尾基弘、菅原敏、大川昭治、亘理文夫：イオン修飾二酸化チタンの可視光応答性光触能と抗菌性、2002年3学協会北海道支部研究発表会講演要旨集、p.19, 2002  
H14/1/16, 札幌(北海道大学工学部)

2)小西順子、川本千春、佐野英彦、宇尾基弘、亘理文夫：球状粉末および中間酸化物を用いた CIP 成形歯科用陶材、平成13年度日本金属学会・日本鉄鋼協会両支部合同冬季講演大会概要集、p.39, 2002  
H14/1/17-18, 札幌(北海道大学学術交流会館)

3)宇尾基弘、亘理文夫：X線分析顕微鏡による生体軟組織埋入金属試料の溶出挙動の定量評価、平成13年度日本電子顕微鏡学会北海道支部学術講演会予稿集、p.5, 2002  
H14/2/9, 札幌(北海道大学歯学部)

4)近藤英臣、宮尾里香、横山敦郎、川崎貴生：傾斜機能型歯科インプラントの機械的・組織学的特性、*北海道外科学会誌* 47(1),80,2002

第14回代用臓器研究会, H14/3/2, 札幌(北海道大学学術交流会館)

5)田村一央、熊沢龍一郎、亘理文夫、戸塚靖則：チタン微粒子のサイズに依存性した生体為害性の評価、*北海道外科学会誌* 47(1), 81, 2002

第14回代用臓器研究会, H14/3/2, 札幌(北海道大学学術交流会館)

6)C.KAWAMOTO, J.KONISHI, F.WATARI, H.SATO: Improved Contraction of Porcelain Inlays by CIP Method, *J.Dent.Res.*81, 251, 2002

80th IADR, San Diego, California, USA, March 6-9, 2002

7)S.MATSUO, F.WATARI, N.OHATA, M.UO, S.OHKAWA, T.SUGAWARA: Fabrication of Functionally Graded Composite Resin Post by Laser Lithography,*J.Dent.Res.*81, 323, 2002

80th IADR, San Diego, California, USA, March 6-9, 2002

8)谷村幸広、熊沢龍一郎、戸塚靖則、宇尾基弘、大川昭治、菅原敏、亘理文夫：イオン修飾二酸化チタンの可視光応答性光触媒能の検証、*歯科・材料器械* 21(S39), 107, 2002

平成14年度春期第39回日本歯科理工学会学術講演会, H14/4/13-14, 東京(日本大学歯学部)

9)小西順子、川本千春、佐野英彦、宇尾基弘、亘理文夫：冷間等方加圧法で作製した陶材インレーに及ぼす粉末の影響、*歯科・材料器械* 21(S39), 155, 2002

平成14年度春期第39回日本歯科理工学会学術講演会, H14/4/13-14, 東京(日本大学歯学部)

10)宮尾里香、亘理文夫、横山敦郎、田村 豊、近藤英臣、宇尾基弘、川崎貴生、大森 守、大久保昭、平井敏雄：FGM インプラントの特性に及ぼす SPS 焼結圧の効果と生体適合性、*粉体粉末冶金協会平成14年度春期大会(第89回講演大会)講演概要集*、p.89, 2002

H14/5/27-29, 東京(早稲田大学・国際会議場)

11)亘理文夫：先進歯科材料に関する最近の動向、*日本学術振興会・材料の微細組織と機能性*第133委員会第174回研究会資料、p.13-18, 2002

H14/7/26, 札幌(北海道大学工学部)

12)近藤英臣、横山敦郎、田村 豊、川崎貴生、宇尾基弘、大川昭治、菅原敏、亘理文夫：窒化チタン/アパタイト系傾斜機能型インプラントの作製と評価、*歯科*

- ・材料器械 21(S40), 33, 2002  
平成14年度秋期第40回日本歯科理工学会学術講演会, H14/8/31-9/1, 長野(塩尻市文化会館)
- 13)宇尾基弘、菅原 敏、大川昭治、亘理文夫: エックス線分析顕微鏡を用いた口腔内金属の迅速分析法, 歯科・材料器械 21(S40), 39, 2002  
平成14年度秋期第40回日本歯科理工学会学術講演会, H14/8/31-9/1, 長野(塩尻市文化会館)
- 14)田村一央、高師則行、宇尾基弘、大川昭治、菅原敏、戸塚靖則、亘理文夫: 金属微粒子の細胞機能性試験と粒径効果, 歯科・材料器械 21(S40), 94, 2002  
平成14年度秋期第40回日本歯科理工学会学術講演会, H14/8/31-9/1, 長野(塩尻市文化会館)
- 15)亘理文夫: 「ナノチューブ、ナノマイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」の課題、厚生労働科学研究補助金 萌芽の先端医療技術推進研究事業 ナノメディスン分野「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」(課題番号: H14-ナ-021) 平成14年度第1回目標策定研究発表会抄録集、H14/9/9-10, 赤井川(ヤマハリゾートキローホテルピアノ)
- 16)F.WATARI: Development of Functionally graded Implant and dental post for bio-medical application, Abstracts of the 7th Int.Symp.on Functionally Graded Materials FGM2002, p.11, 2002  
Oct.15-19, Beijing, China
- 17)亘理文夫、松尾晋吾、佐藤範幸、上田康夫、大畑昇: 傾斜機能型デンタルポストの応用緩和効果、第14回傾斜機能材料国内シンポジウム<FGM2002>講演要旨集、p.25, 2002  
H14/11/19-20, 名古屋(財団法人ファインセラミックセンター)
- 18)田村一央、戸塚靖則、亘理文夫: チタン粒子が及ぼす細胞為害性のサイズ依存と粒形効果, Abstracts of JADR, p.26, 2002  
第50回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会・学術大会, H14/11/30-12/1, 仙台(仙台市情報・産業プラザ)
- 19)亘理文夫: ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用、平成14年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業 萌芽の先端医療技術推進研究 ナノメディスン研究成果発表会要旨集、p.61-62, 2003  
H15/2/5, 東京(財)がん研究振興財団内 国際研究交流会館)
- 20)亘理文夫: 「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」の課題、厚生労働科学研究補助金 萌芽の先端医療技術推進研究事業 ナノメディスン分野「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」(課題番号: H14-ナ-021) 平成14年度第2回研究発表会抄録集、H15/2/17-18, 岐阜(岐阜観光ホテル十八楼別館・岐阜市生涯学習会館)
- 21)田村一央、高師則行、古月文志、宇尾基弘、田路和幸、ロスカ・イオシフ、戸塚靖則、亘理文夫: ナノ・マイクロ微粒子が及ぼす生体為害性の評価、第15回代用臓器研究会抄録、2003  
H15/3/21, 札幌(札幌医科大学)
- 22)近藤英臣、横山敦郎、宇尾基弘、亘理文夫、川崎貴生: 放電プラズマ焼結法で作成した傾斜機能型インプラントの機械的・組織学的評価、第15回代用臓器研究会抄録集、2003  
H15/3/21, 札幌(札幌医科大学)
- 23)田村一央、戸塚靖則、赤坂 司、宇尾基弘、大川昭治、菅原 敏、亘理文夫: カーボンナノチューブとナノ・マイクロ微粒子に対する生体反応、歯科材料・器械 22(2), 57, 2003  
平成15年度春期第41回日本歯科理工学会学術講演会, H15/4/18-19, 学術総合センター(東京)
- 24)近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、大川昭治、菅原 敏、赤坂 司、亘理文夫: 放電プラズマ焼結法で作製した窒化チタン/アパタイト系傾斜機能型インプラントの物性と生体適合性の評価、歯科材料・器械 22(2), 55, 2003  
平成15年度春期第41回日本歯科理工学会学術講演会, H15/4/18-19, 学術総合センター(東京)
- 25)亘理文夫、田村一央、高師則行、野田坂佳伸、戸塚靖則、宇尾基弘: ナノチューブ・ナノ微粒子・マイクロ微粒子と細胞・組織の相互作用、日本顕微鏡学会第59回学術講演会発表要旨集、156, 2003  
日本顕微鏡学会第59回学術講演会, H15/6/7-9, 札幌コンベンションセンター
- 26)宇尾基弘、亘理文夫: 走査型X線分析顕微鏡による生体軟組織中の元素マッピング、日本顕微鏡学会第59回学術講演会発表要旨集、9, 2003  
日本顕微鏡学会第59回学術講演会, H15/6/7-9, 札幌コンベンションセンター
- 27)K.TAMURA, N.TAKASHI, B.HUGETU, K.TOHJI, Y.TOTUKA, M.UO, T.AKASAKA, F.WATARI: In vitro and In vivo Study of the Effects of Fine Particles on Biocompatibility, J.Dent.Res.82(IADR Abstracts), 389, 2003  
81th IADR(Int.Assoc.for Dent Res.),Goteborg(Sweden), June 25-28, 2003
- 28)M.UO, F.WATARI, T.KOHGO: The Application of X-ray Scanning Analytical Microscope (XSAM)for the Analysis of Biological Tissues, J.Dent.Res.82(IADR Abstracts), 62, 2003  
81th IADR(Int.Assoc.for Dent Res.), Goteborg(Sweden), June 25-28, 2003
- 29)T.TAKASHI, K.TAMURA, F.WATARI, Y.YOKOYAMA: Effects of Exudates on the Function of Human Neutrophils, J.Dent.Res.82 (IADR Abstracts), 219, 2003  
81th IADR(Int.Assoc.for Dent Res.), Goteborg(Sweden), June 25-28, 2003
- 30)S.OHKAWA, K.ISHII, M.UO, T.SUGAWARA, F.WATARI: Production of a Ti-Cu Solder by Mechanical Alloying, J.Dent.Res.82(IADR Abstracts), 61, 2003  
81th IADR(Int.Assoc.for Dent Res.),Goteborg(Sweden), June 25-28, 2003
- 31)亘理文夫: 「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」の課題、厚生労働科学研究補助金 萌芽の先端医療技術推進研究事業 ナノメディスン分野「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」(課題番号: H14-ナ-021) 平成15年度夏期・第3回目標策定研究発表会抄録集、H15/9/9-10, 松島(松島大観荘)
- 32)亘理文夫: 傾斜機能デンタルインプラントの作製、

第2回傾斜機能材料の実用化に関するワークショップ資料, 41, 2003  
H15/9/12, 工学院大学新宿校舎  
33)田村一央、高師則行、赤坂 司、ロスカイオシフ、宇尾基弘、菅原 敏、大川昭治、戸塚靖則、亘理文夫：歯根膜由来細胞に対する微粒子の影響、歯科材料・器械 22(5), 315, 2003  
平成15年度秋期第42回日本歯科理工学会学術講演会, H15/9/19-20, 盛岡市民文化ホール  
34)赤坂 司、宇尾基弘、大川昭治、菅原 敏、亘理文夫：象牙質へのカーボンナノチューブ吸着による表面改質、歯科材料・器械 22(5), 397, 2003  
平成15年度秋期第42回日本歯科理工学会学術講演会, H15/9/19-20, 盛岡市民文化ホール  
35)近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、大川昭治、菅原 敏、赤坂 司、亘理文夫：乾式合成法によるTi-HAP複合体の作製と評価、歯科材料・器械 22(5), 332, 2003  
平成15年度秋期第42回日本歯科理工学会学術講演会, H15/9/19-20, 盛岡市民文化ホール  
36)Tae Sung Bae, Min Ho Lee, Dae Hee Won, Oh Sung Kwon, Il Song Park, Shoji Ohkawa, Fumio Watari: Characterization of Ca- and P-Enriched Anodized Ti-6Al-7Nb, 歯科材料・器械 22(5), 369, 2003  
平成15年度秋期第42回日本歯科理工学会学術講演会, H15/9/19-20, 盛岡市民文化ホール  
37)田村一央、高師則行、赤坂 司、ロスカ・イオシフ、宇尾基弘、戸塚靖則、田路和幸、亘理文夫：カーボンナノチューブ、ナノ・マイクロ微粒子に対する生体反応、FGM2003 札幌講演概要集, 6, 2003  
第15回傾斜機能材料国内シンポジウム, H15/11/20-21, 北星学園大学(札幌市)  
38)赤坂 司、佐藤義倫、田路和幸、亘理文夫：糖鎖によるカーボンナノチューブの表面修飾、FGM2003 札幌講演概要集, 39, 2003  
第15回傾斜機能材料国内シンポジウム, H15/11/20-21, 北星学園大学(札幌市)  
39)近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、亘理文夫：放電プラズマ焼結法で作製した窒化チタン/アパタイト系傾斜機能型インプラントの物性と生体適合性、FGM2003 札幌講演概要集, 13, 2003  
第15回傾斜機能材料国内シンポジウム, H15/11/20-21, 北星学園大学(札幌市)  
40)宇尾基弘、赤坂 司、亘理文夫：X線分析顕微鏡の生体内金属財部及び周囲組織分析への応用、FGM2003 札幌講演概要集, 41, 2003  
第15回傾斜機能材料国内シンポジウム, H15/11/20-21, 北星学園大学(札幌市)  
41)田村一央、ロスカ・イオシフ、宇尾基弘、戸塚靖則、亘理文夫：サイズに依存したマイクロ・ナノ粒子の炎症誘導作用  
Abst.51st Ann.Meet.JAPANESE ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH, 74, 2003  
第51回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会・学術大会,  
H15/12/1-2, 千里ライフサイエンスセンター  
42)宇尾基弘、亘理文夫、谷 和俊、森田 学：コンポジットレジ用蛍光性ガラスフィラーの作製と応用  
Abst.51st Ann.Meet.JAPANESE ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH, 73, 2003  
第51回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会・学術

大会,  
H15/12/1-2, 千里ライフサイエンスセンター  
43)赤坂 司、亘理文夫、田村一央：カーボンナノチューブを用いた培養基材の表面改質、第25回日本バイオマテリアル学会大会予稿集, 215, 2003  
H15/12/16-17, 大阪国際会議場  
44)田村一央、高師則行、戸塚靖則、ロスカ・イオシフ、赤坂 司、宇尾基弘、亘理文夫：ナノ・マイクロ微粒子バイオマテリアルの組織障害の機序、第25回日本バイオマテリアル学会大会予稿集, 216, 2003  
H15/12/16-17, 大阪国際会議場  
45)Iosif Daniel ROSCA, Fumio WATARI, Motohiro UO, Tsukasa AKASAKA, Kazuchika TAMURA: Biodegradable Polymer Microspheres with Controlled Structure and Release Profile, 第25回日本バイオマテリアル学会大会予稿集, 233, 2003  
H15/12/16-17, 大阪国際会議場  
46)亘理文夫：微粒子と生体反応、第26回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集, 5, 2004  
H16/1/7-9, 岡崎コンファレンスセンター  
47)田村一央、高師則行、宇尾基弘、赤坂 司、田路和幸、戸塚靖則、亘理文夫：炭素ナノ微粒子の刺激によるマクロファージのサイトカイン放出、第26回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集, 78, 2004  
H16/1/7-9, 岡崎コンファレンスセンター  
48)赤坂 司、佐藤義倫、田路和幸、亘理文夫：バイオ応用のための糖鎖によるカーボンナノチューブの表面修飾、第26回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集, 166, 2004  
H16/1/7-9, 岡崎コンファレンスセンター  
49)宇尾基弘、赤坂 司、ロスカ・イオシフ、亘理文夫、横山敦郎、大森 守、佐藤義倫、田路和幸：カーボンナノチューブの歯科・生体材料への応用、第26回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集, 115, 2004  
H16/1/7-9, 岡崎コンファレンスセンター  
50)横山敦郎、山本 悟、川崎貴生、野田坂佳伸、向後隆男、赤坂 司、宇尾基弘、亘理文夫、佐藤義倫、田路和幸：カーボンナノファイバーに対する組織反応、第26回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集, 113, 2004  
H16/1/7-9, 岡崎コンファレンスセンター  
51)古月文志、佐藤秀哉、野田坂佳伸、柴 肇一、進藤正信、西 則夫、亘理文夫：生体に優しい可溶化カーボンナノチューブ、第26回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集, 34, 2004  
H16/1/7-9, 岡崎コンファレンスセンター  
52)王蔚、近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、亘理文夫、大森 守：多層カーボンナノチューブの固化の試み、平成15年度日本金属学会日本鉄鋼協会両支部合同冬季講演大会概要集, 12, 2004  
H16/1/15-16, 北海道大学学術交流会館  
53)朱 禹赫、宇尾基弘、亘理文夫：電子レンジを用いたチタンの炭化、平成15年度日本金属学会日本鉄鋼協会両支部合同冬季講演大会概要集, 25, 2004  
H16/1/15-16, 北海道大学学術交流会館  
54)赤坂 司、佐藤義倫、田路和幸、亘理文夫：糖鎖によるカーボンナノチューブの表面修飾、第16回代用臓器研究会プログラム抄録集, 7, 2004  
H16/1/24, 北海道大学歯学部講堂

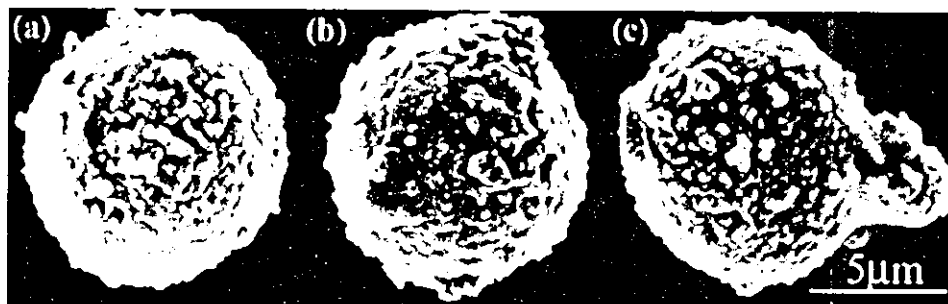


- 55)近藤英臣、横山敦郎、宇尾基弘、亘理文夫、川崎貴生：乾式合成法による窒化チタン/アパタイト系傾斜機能型インプラントの作製、第16回代用臓器研究会プログラム抄録集、7、2004  
H16/1/24, 北海道大学歯学部講堂
- 56)宇尾基弘、赤坂 司、Rosca Iosif Daniel、亘理文夫：X線分析顕微鏡の生体内金属材料及び周囲組織分析への応用、第16回代用臓器研究会プログラム抄録集、4、2004  
H16/1/24, 北海道大学歯学部講堂
- 57)谷野之紀、比嘉 昌、西村生哉、黒江敏史、亘理文夫、大畑 昇、三田村好矩：各種支台築造法が歯質に及ぼす影響、第16回代用臓器研究会プログラム抄録集、6、2004  
H16/1/24, 北海道大学歯学部講堂
- 58)田村信太郎、上田康夫、二宮隆明、大畑 昇、大井一浩、井上農夫男、亘理文夫：領域拡張法を用いた三次元CTデータからの頭蓋骨形態の抽出と実体模型の作製、第16回代用臓器研究会プログラム抄録集、6、2004  
H16/1/24, 北海道大学歯学部講堂
- 59)Iosif Daniel ROSCA, F.WATARI, M.UO, T.AKASAKA, K.TAMURA: Optical microscopic observation of the macroparticle formation in emulsification solvent evaporation method, 平成15年度日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会プログラム予稿集、7、2004  
H16/2/7, 北海道大学大学院歯学研究科講堂
- 60)宇尾基弘：X線分析顕微鏡による金属アレルギー患者の歯科修復物の迅速分析、平成15年度日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会プログラム予稿集、7、2004  
H16/2/7, 北海道大学大学院歯学研究科講堂
- 61)亘理文夫：ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用、ナノメディシン研究成果発表会要旨集、29、2004  
平成15年度厚生労働科学研究費研究成果等普及啓発事業 萌芽的先端医療技術推進研究 ナノメディシン研究成果発表会、  
H16/2/18, (財)がん研究振興財団内国際研究交流会館(東京)
- 62)亘理文夫：「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」の課題、厚生労働科学研究補助金 萌芽的先端医療技術推進研究事業 ナノメディシン分野「ナノチューブ、ナノ微粒子、マイクロ微粒子の組織反応性とバイオ応用」(課題番号：H14-ナノ-021)平成15年度冬期・第4回研究発表会抄録集、  
H16/2/19-20, 登別(登別グランドホテル)
- 63)田村一央、高師則行、イオシフ ロスカ、赤坂 司、瀧美 崇、佐藤義倫、亘理文夫、戸塚靖則：ナノ・マイクロ微粒子の生体への影響、歯科材料・器械 23(2), 129, 2004  
平成16年度春期・第43回日本歯科理工学会学術講演会、H16/4/10-11, 千葉(東京歯科学)
- 64)近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、大川昭治、赤坂 司、菅原 敏、亘理文夫：乾式合成法による窒化チタン/アパタイト系傾斜機能型インプラントの作製と評価、歯科材料・器械 23(2), 60, 2004  
平成16年度春期・第43回日本歯科理工学会学術講演会、H16/4/10-11, 千葉(東京歯科学)
- 65)王 蔚、近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、大川昭治、赤坂 司、菅原 敏、大森守、亘理文夫：カーボンナノチューブ焼結体の作製とその特性、歯科材料・器械 23(2), 133, 2004  
平成16年度春期・第43回日本歯科理工学会学術講演会、H16/4/10-11, 千葉(東京歯科学)66)K. Tamura, N. Takashi, M. Uo, T. Akasaka, R. Iosif, Y. Totsuka, K. Tohji, F. Watari: Biologic Effects Induced By Micro/Nano Particles In Vivo And In Vitro Study, 7th World Biomaterials Congress Final Program, 68, 2004  
7th World Biomaterials Congress, Sydney, May 17-21, 2004
- 67)F. Watari, H. Kondo, Y. Tamura, A. Yokoyama, M. Omori, T. Hirai, M. Uo, T. Kawasaki: Fabrication and Properties of Titanium Nitride and Titanium Nitride/Apatite Functionally Graded Material for Abrasion Resistant Implant, 7th World Biomaterials Congress Final Program, 118, 2004  
7th World Biomaterials Congress, Sydney, May 17-21, 2004
- 68)Iosif D. Rosca, Fumio Watari, Motohiro Uo, Tsukasa Akasaka, Kazuchika Tamura: In situ optical microscopic observation of microparticle formation in emulsification solvent evaporation method, 8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy (8APEM) Program and Summaries, 113, 2004  
8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy (8APEM), Kanazawa, June 7-11, 2004
- 69)Kazuchika Tamura, Motohiro Uo, Noriyuki Takashi, Yoshinori Sato, Kazuyuki Toji, Yasunori Totsuka, Fumio Watari: Influence of Carbon nano capsule on cell function and proliferation of Human Fibroblast, Abstracts of The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, 31, 2004  
The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, Tokyo, July 28-30, 2004
- 70)Naofumi Aoki, Atsuro Yokoyama, Takao Kawasaki, Yoshinobu Nodasaka, Tsukasa Akasaka, Motohiro Uo, Fumio Watari, Yoshinori Sato, Kazuyuki Tohji: Development of Scaffold made of Carbon Nanotubes for Cell Culture, Abstracts of The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, 200, 2004  
The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, Tokyo, July 28-30, 2004
- 71)Tsukasa Akasaka, Fumio Watari, Yoshinori Sato, Kazuyuki Tohji: Biomimetic coating of carbon nanotube surface, Abstracts of The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, 201, 2004  
The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, Tokyo, July 28-30, 2004
- 72)Yoshinori Sato, Balachandran Jeyadevan, Kazuyuki Tohji, Rikizo Hatakeyama, Kazuchika Tamura, Tsukasa Akasaka, Motohiro Uo, Atsuro Yokoyama, Ken-ichiro Shibata, Fumio Watari: Water-soluble hat-stacked-type carbon nanofibers for biomedical applications, Abstracts of The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, 202, 2004  
The 27th Fullerene-Nanotubes General Symposium, Tokyo, July 28-30, 2004
- 73)赤坂 司、宇尾基弘、亘理文夫：バイオミメティックコーティングを用いたカーボンナノチューブの表面修飾、平成16年度日本歯科理工学会北海道・東北支

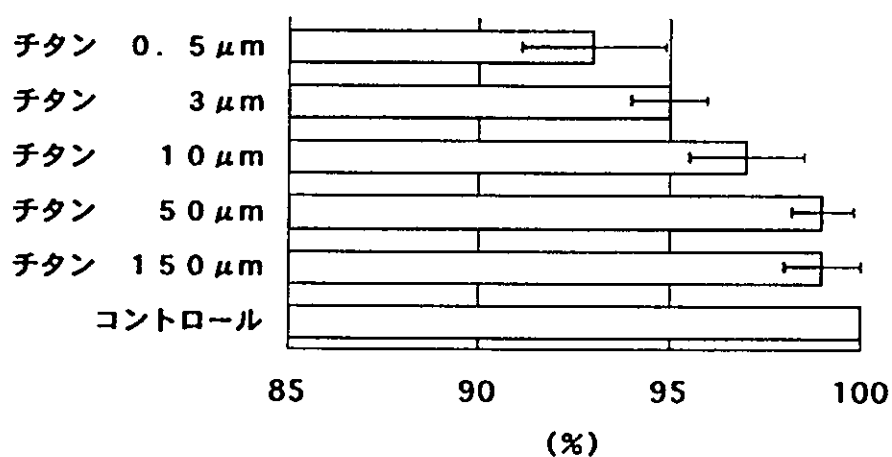


- 部夏期セミナープログラム、 、2004  
 平成16年度日本歯科理工学会北海道・東北支部夏期セミナー、H16/7/31, 郡山(市民プラザ)
- 74)宇尾基弘、赤坂 司、亘理文夫：XAFSを用いた金属インプラント周囲組織の分析、平成16年度日本歯科理工学会北海道・東北支部夏期セミナープログラム、 、2004  
 平成16年度日本歯科理工学会北海道・東北支部夏期セミナー、H16/7/31, 郡山(市民プラザ)
- 75)Fumio Watari, Kazuchika Tamura, Noriyuki Takashi, Takao Kohgo, Motohiro Uo, Yoshinobu Nodasaka, Takafumi Domon, Yasunori Totsuka: Size Dependence of Cytotoxicity in Fine Particles of Titanium, Nickel and Others, Archives of BioCeramics Research Vol.4, 78, 2004  
 Archives of BioCeramics Research, Kongju (Korea), September 6-8, 2004
- 76)宇尾基弘、赤坂 司、亘理文夫、横山敦郎、田村一央、戸塚靖則：XAFSを用いた金属インプラント周囲組織の分析、歯科材料・器械 23(5), 327, 2004  
 平成16年秋期・第44回日本歯科理工学会学術講演会、H16/9/24, 京都(テルサホール)
- 77)王 蔚、近藤英臣、横山敦郎、川崎貴生、宇尾基弘、大川昭治、赤坂 司、菅原 敏、亘理文夫、大森 守：カーボンナノチューブ固化体の焼結と生体適合性、歯科材料・器械 23(5), 330, 2004  
 平成16年秋期・第44回日本歯科理工学会学術講演会、H16/9/24, 京都(テルサホール)
- 78)廖 素三、田村一央、亘理文夫：好中球と骨芽細胞を用いたナノアパタイト/コラーゲン複合体の生体親和性評価、歯科材料・器械 23(5), 339, 2004  
 平成16年秋期・第44回日本歯科理工学会学術講演会、H16/9/24, 京都(テルサホール)
- 79)赤坂 司、宇尾基弘、大川昭治、菅原 敏、亘理文夫：バイオメテックコーティングを用いたカーボンナノチューブの表面修飾、歯科材料・器械 23(5), 392, 2004  
 平成16年秋期・第44回日本歯科理工学会学術講演会、H16/9/24, 京都(テルサホール)
- 80)WATARI Fumio, AKASAKA Tsukasa, SATO Yoshinori, TOHJI Kazuyuki: Apatite formation on carbonnanotubes, Program & Abstracts of the Second Asia Symposium on Biomineralization, 61, 2004  
 The Second Asia Symposium on Biomineralization, Tsinghua University(China), October 4-6, 2004
- 81)Y. Sato, M. Ohtsubo, B. Jeyadevan, K. Tohji, K. Motomiya, R. Hatakeyama, G. Yamamoto, M. Omori, T. Hashida, K. Tamura, T. Akasaka, M. Uo, A. Yokoyama, F. Watari: Biocompatibility of carbon nanotube disk, Proceedings of SPIE Reprint, 623, 2004  
 The International Society for Optical Engineering, Philadelphia(USA), October 25-28, 2004
- 82)中田景子：カーボンナノチューブを用いたレジン/歯質界面の修飾、日本歯科医師会雑誌 57(4), 153, 2004  
 第20回日本歯科医学学会総会、H16/10/29-31, 横浜(パシフィコ横浜)
- 83)亘理文夫、田村一央、横山敦郎、青木尚史、宇尾基弘、古月文志、大森 守、佐藤義倫、田路和幸：生体反応性に及ぼす微粒子の影響、粉体粉末冶金協会講演概要集, 92, 2004  
 粉体粉末冶金協会平成16年度秋季大会、H16/11/9-11, 広島(広島県情報プラザ)
- 84)田村一央、高師則行、宇尾基弘、佐藤義倫、渥美崇、ロスカ・イオシフ、田路和幸、戸塚靖則、亘理文夫：ナノ微粒子に対する in vivo/in vitro でのラットマクロファージの反応、第11回つくばバイオマテリアル研究会予稿集, 55, 2004  
 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 第11回つくばバイオマテリアル研究会、H16/11/15-16, つくば(つくば国際会議場エポカル)
- 85)赤坂 司、亘理文夫：複合糖質高分子によるカーボンナノチューブの表面修飾、第11回つくばバイオマテリアル研究会予稿集, 134, 2004  
 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 第11回つくばバイオマテリアル研究会、H16/11/15-16, つくば(つくば国際会議場エポカル)
- 86)Susan Liao, Fumio Watari, Kazuchika Tamura, Shoji Ohkawa, Motohiro Uo: The nano-hydroxyapatite/collagen based biomimetic materials for orthopaedics and dentistry, 第11回つくばバイオマテリアル研究会予稿集, 223, 2004  
 日本バイオマテリアル学会シンポジウム2004 第11回つくばバイオマテリアル研究会、H16/11/15-16, つくば(つくば国際会議場エポカル)
- 87)Fumio Watari: Particles and Reaction of Cells and Tissue, Abstract of International Symposium of Tissue Response and Biomedical Application of Carbon Nanotubes, Nanofibers, and Nanoparticles, 1, 2004  
 International Symposium of Tissue Response and Biomedical Application of Carbon Nanotubes, Nanofibers, and Nanoparticles, Matsushima(Miyagi), December 20, 2004
- 88)青木尚史、横山敦郎、野田坂圭伸、赤坂 司、宇尾基弘、亘理文夫、佐藤義倫、田路和幸：細胞培養用担体としてのカーボンナノチューブの応用、第28回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム 講演要旨集, 21, 2005  
 第28回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム、H17/1/7-9, 名古屋(名城大学)

## 好中球によるチタン微粒子の貪食



### 細胞生存率



### 炎症性サイトカイン IL-1β の放出

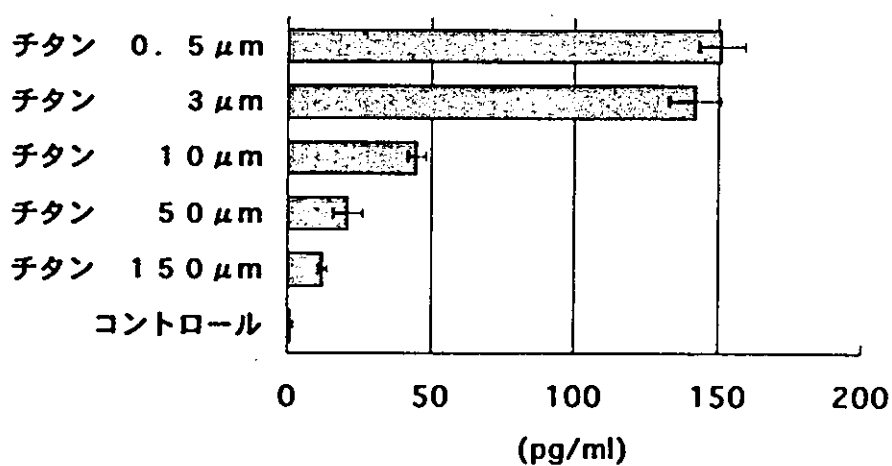


図1 ヒト好中球 (a)、チタン微粒子混在時 (b)、貪食時 (c) の SEM 像ならびに細胞生存率、IL-1β 放出のチタン微粒子サイズ依存性

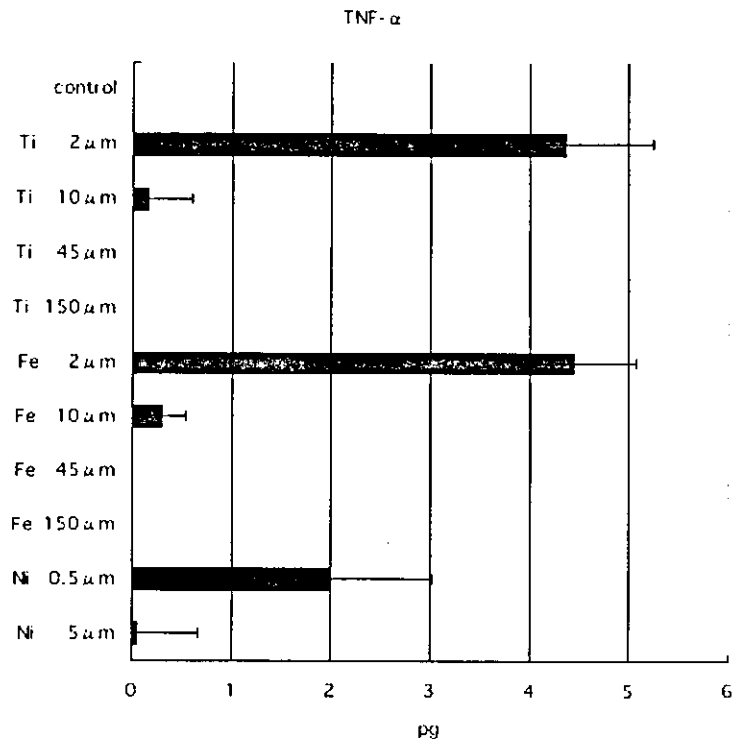


図2 ヒト好中球からの TNF- $\alpha$  放出の Ti, Fe, Ni 微粒子サイズ依存性

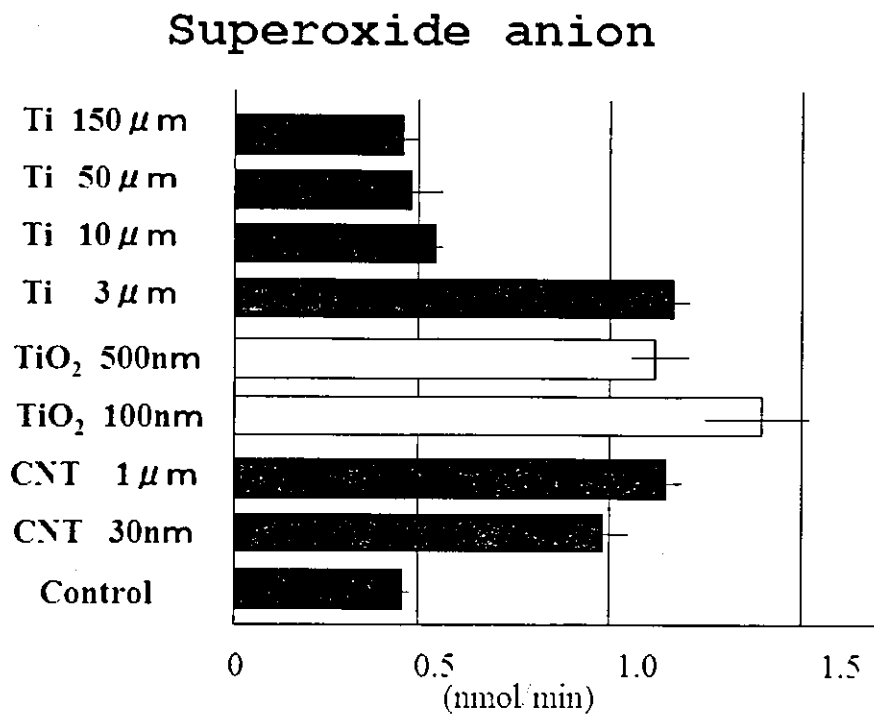


図3 ヒト好中球からの活性酸素産生量の各種微粒子サイズ依存性

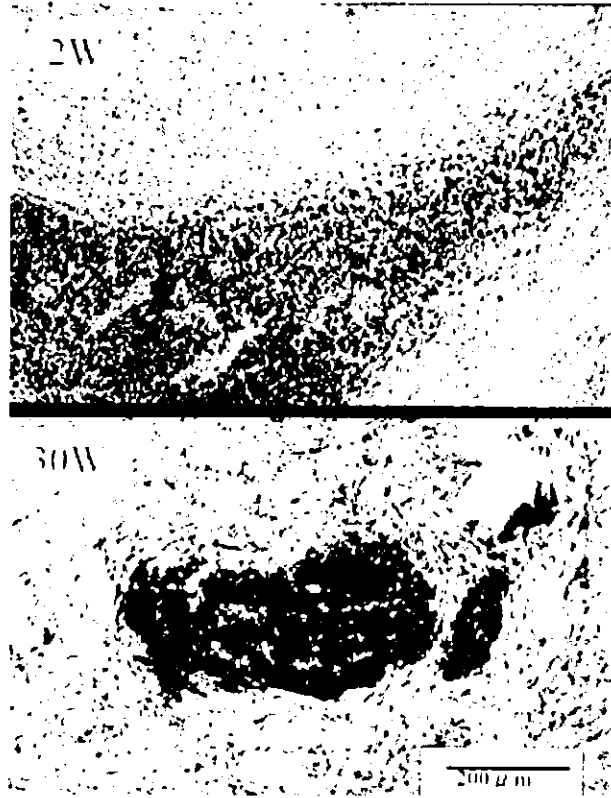


図4 3 $\mu$ m Ti 微粒子を埋入した軟組織の経時変化(1 週後および 30 週後)。

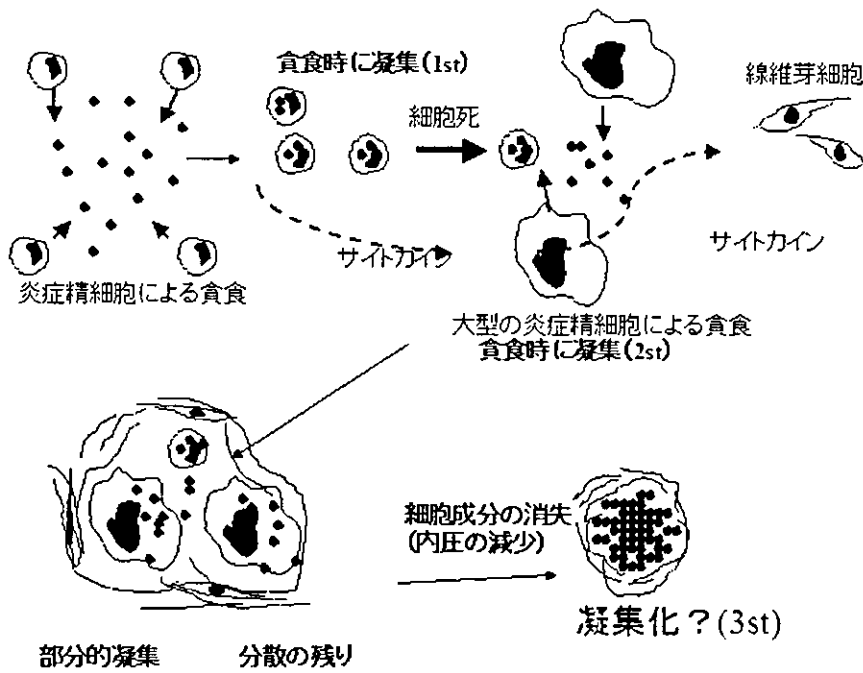


図5 Ti 微粒子に対する組織反応概念図