

フラーレンでは、光の照射によりフラーレンに光エネルギーを吸収させ、吸収したエネルギーを近傍の酸素に与えて活性酸素を生成させることが可能である。この方法を応用し、超音波によって溶液中に生じる気泡が、破裂する際に発する微弱な光エネルギーで、フラーレンを励起できるという報告がある。同様なことが、カーボンナノチューブでも起こりうるとすれば、超音波処理によって分散した MWCNT には生成された活性酸素が含まれると考えられ、より高い発光度を示したことも説明できる。

E. 結論

可溶化したカーボンナノチューブおよび超音波処理によって精製水に分散させたカーボンナノチューブにおいて、活性酸素除去能は確認されなかった。また、フラーレンで見られる活性酸素生成能を考えると、分散化された MWCNT も活性酸素生成能を持つ可能性は否定できない。今回の計測ではコントロールとの間に有意な違いは確認できないが、可能性としては否定できない。

3. MTS 法を用いた細胞生存率測定によるアルギン酸ビーズに内包されたカーボンナノチューブの細胞増殖促進物質としての機能評価

A. 研究目的

マウス細胞 (Balb 3T3) のアルギン酸ビーズに内包されたカーボンナノチューブ (CNT) が与える影響について評価した。

B. 研究方法

古月らの方法により調製したカーボンナノチュ

ーブ (CNT) 内包アルギン酸ビーズ、活性炭内包アルギン酸ビーズ、およびそれらを含まないコントロールアルギン酸ビーズを、精製水によって 5 倍希釈しオートクレーブ滅菌した。これらを滅菌済み精製水によってさらに希釈し、1000、500、100 mg/ml をそれぞれ調製した。調製したアルギン酸ビーズ溶液と 10 % の FBS を含む DMEM 培地を 1 対 9 の比で混合し、終濃度 100、50、10 mg/ml の各種アルギン酸ビーズ溶液を含む培地を調製した。

Balb 3T3 を、96 穴プレート 3 枚 (各 60 穴) に 2000 cell/well ずつまき、10% FBS を含む DMEM 培地 200 μ l で 37 $^{\circ}$ C において 3 日間培養した。培養液を除去後、上記の各種アルギン酸ビーズを含む培地 200 \cdot l を 5 穴ずつ加え、37 $^{\circ}$ C において培養を継続し、処理を開始した。

処理後 1 日目の細胞生存率を MTS 法により確認した。MTS 法は Promega 社製 CellTiter 96 AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Kit を用い、そのプロトコールに従った。

C. 研究結果

Balb 3T3 を各種アルギン酸ビーズにて処理後、1 日目の細胞生存率を MTS 法により測定した結果をそれぞれ図 1 に示す。但し、生存率は MTS 処理 120 分後の A_{495} の値から求めた。

図 1 に示した処理後 1 日目の結果では、コントロールとして用いたアルギン酸ビーズで処理した細胞はアルギン酸ビーズ未処理細胞に比べて、100 mg/ml、50 mg/ml、10 mg/ml 処理下において細胞増殖における活性化が顕著に見られた。例えば、10 mg/ml アルギン酸ビーズ処理下では、未処理の約 1.6 倍に相当した。

一方、活性炭、又は CNT を内包したアルギン酸ビーズにて処理した細胞は、50 mg/ml、10 mg/ml 下では、同様に細胞増殖における活性化

が観察されたが、細胞増殖活性化への効果は、コントロールとして用いたアルギン酸ビーズ処理下における効果と同程度であった。また、100 mg/ml 下でも同様に細胞増殖の効果が観察されるものの、明らかにその効果が低下していることが分かった。

つまり、50 mg/ml、10 mg/ml 下ではアルギン酸ビーズによる細胞増殖の活性化が顕著に見られ、活性炭及び CNT を内包することによる細胞増殖活性化における効果に差異は認められなかった。

D. 考察

本研究ではカーボンナノチューブを内包したアルギン酸ビーズが Balb 3T3 の生育に与える影響を解析した。実験には古月らの方法により調製したアルギン酸ビーズ、カーボンナノチューブを内包したアルギン酸ビーズ、活性炭を内包したアルギン酸ビーズを用い、濃度範囲は 10⁻100 mg/ml とした。その結果(図 6)、Balb 3t3 細胞はアルギン酸ビーズの濃度に関わらず、約 1.6 倍程度の細胞増殖活性化効果が見られた。また、活性炭、又は CNT を内包することにより、100 mg/ml 濃度下では本来のアルギン酸ビーズの細胞増殖活性化効果よりも低下するものの、50 mg/ml、10 mg/ml 下ではアルギン酸ビーズのみの処理化で見られた効果と同程度の細胞増殖活性化効果が見られた。

このことから、活性炭、又は CNT を内包したアルギン酸ビーズ処理は、Balb 3T3 の生存率が未処理に比べて増加したが、未内包のアルギン酸ビーズ下と同程度であったことから、増殖の促進および阻害のどちらにも影響しないといえる。

E. 結論

MTS 法を用いた Balb 3T3 生存率の測定結果より、アルギン酸ビーズへの CNT または活性

炭の内包は、細胞増殖促進能および細胞障害能のどちらも有していないことが明らかとなった。

4. カーボンナノチューブを内包したアルギン酸ビーズへの芳香族化合物の吸着及び解離—細胞増殖テストによる観察—

A. 研究目的

マイトマイシン C (MMC) を用いた細胞毒性を指標として、カーボンナノチューブ(CNT)を内包したアルギン酸ビーズへの芳香族化合物の吸着力の程度を評価した。

MMC は、芳香族骨格を持つ抗腫瘍抗生物質である。まず、これをあらかじめ CNT を内包したアルギン酸ビーズに吸着させ、次に、未吸着画分である上清を培養液に添加して細胞の生存率を測定することにより、MMC の未吸着量を測定した。

CNT を内包したビーズが MMC を吸収して培地中の MMC 濃度が下がれば、細胞毒性も低下するはずである

B. 研究方法

CNT を内包したアルギン酸ビーズ 2 g を、マイトマイシン C (MMC) (100, 25, 6.25, 1.56, 0 µg/ml)を加えた培養液 (10 % FBS/ DMEM) 中に懸濁、混和しながら室温で 1 時間放置した。その後、遠心によりビーズを分離し、上清液を分離した。

一方、細胞 (Balb 3T3) を 48 穴プレートに 1 ウエル当り 2 千細胞まき、37 °Cで 3 日間培養した。培養後、上記の上清液を培養液として培地交換を行い、37 °Cで培養して、MMC の毒性を評価した。CNT を内包したビーズが MMC を

吸収して培地中の MMC 濃度が下がれば、細胞毒性も低下するはずである。コントロールとして何も含まないビーズ、活性炭を含むビーズを用いて同様の実験を行った。

細胞生存率を MTS 法により確認した。MTS 法は Promega 社製 CellTiter 96 AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Kit を用い、そのプロトコールに従った。

C. 研究結果

その結果 CNT を含むビーズ、活性炭を含むビーズで処理した培養液ともに、何も内包しないビーズで処理した培養液とほぼ同等の細胞毒性を示した。したがって本実験の条件では、CNT による MMC の吸着除去効果は観察されなかった (図 7)。

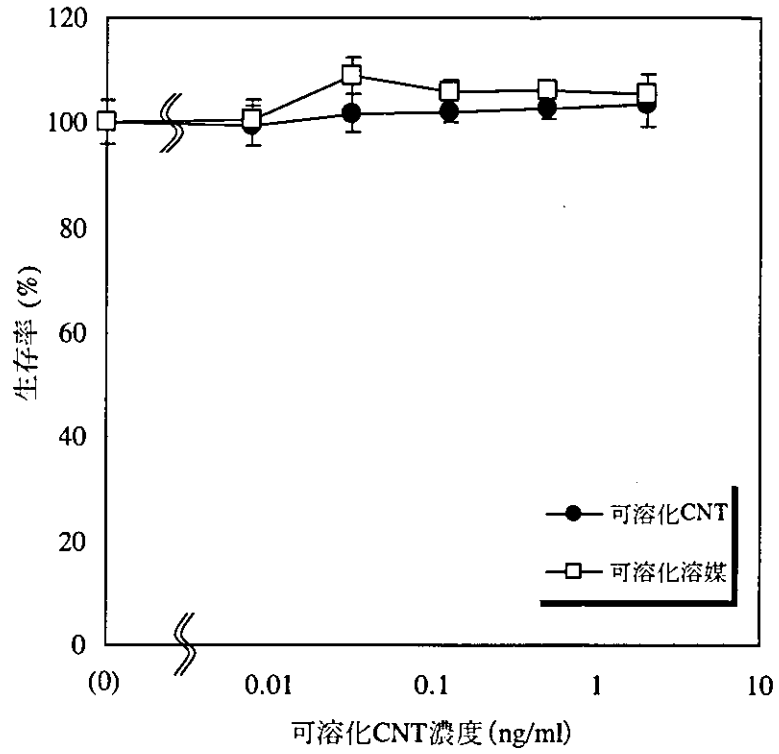
D. 考察

本実験において、CNT を含むビーズ、活性炭を内包するビーズでも効果がなかったことから、内包されている CNT や活性炭の量に比べて MMC の濃度が高すぎて、吸着のキャパシティーを超えていた可能性もある。今後さらに吸着量とのバランスを考えて評価を行う必要がある。

E. 結論

マイトマイシン C (MMC) を用いた細胞毒性を指標として、カーボンナノチューブ(CNT)を内包したアルギン酸ビーズへの芳香族化合物の吸着力の程度を評価した。CNT を内包したアルギン酸ビーズをマイトマイシン C(MMC)を加えた培養液中に懸濁、混和しながら放置した。その後、遠心によりビーズを分離し、上清の培養液を用いて細胞 (Balb 3T3)を培養して、MMC の毒性を評価した。CNTを内包したビーズがMMCを吸収して培地中の MMC 濃度が下がれば、細胞毒性も低下するはずである。コントロールとして何も含まないビーズ、活性炭を含むビーズを用いて同様の実験を行った。その結果 CNT を含むビーズ、活性炭を含むビーズで処理した培養液ともに、何も内包しないビーズで処理した培養液とほぼ同等の細胞毒性を示した。したがって本実験の条件では、CNT による MMC の吸着除去効果は観察されなかった。ただし、活性炭を内包するビーズでも効果がなかったことから、内包されている CNT や活性炭の量に比べて MMC の濃度が高すぎて、吸着のキャパシティーを超えていた可能性もある。今後さらに吸着量とのバランスを考えて評価を行う必要がある。

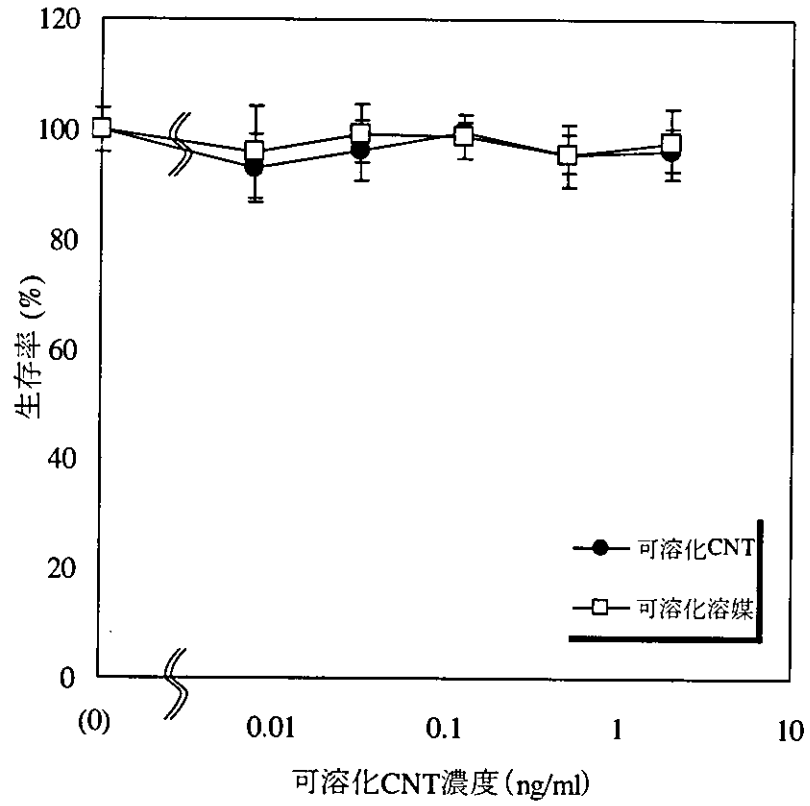
図1



注1) (0)には5%FBSのみを含む培地で培養した際の値を示した。

注2) 各プロットの上には標準偏差を示した。

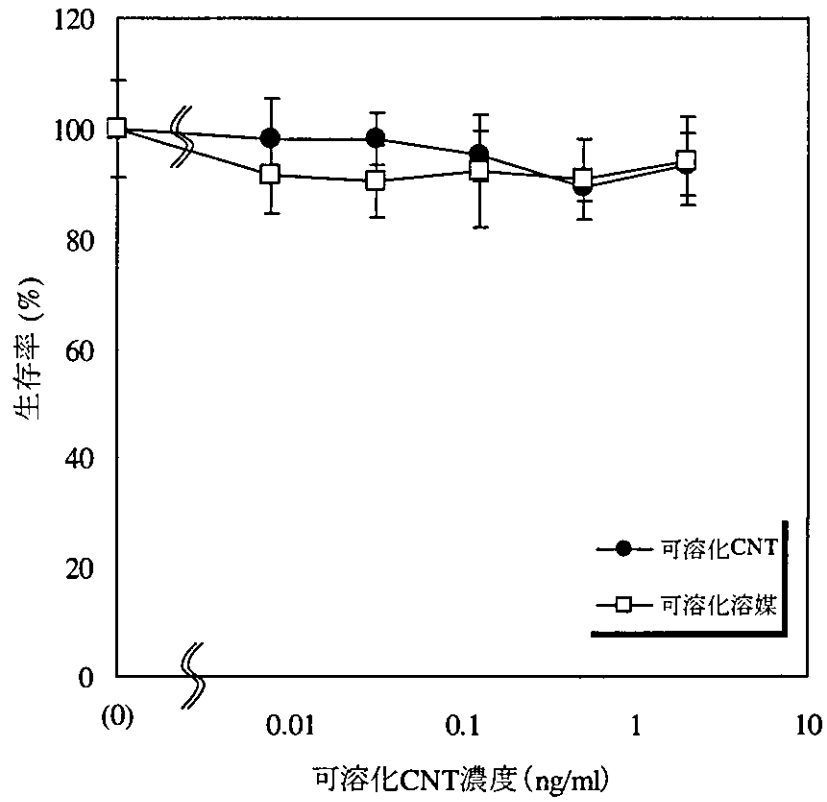
図 2



注1) (0)には5%FBSのみを含む培地で培養した際の値を示した。

注2) 各プロットの上には標準偏差を示した。

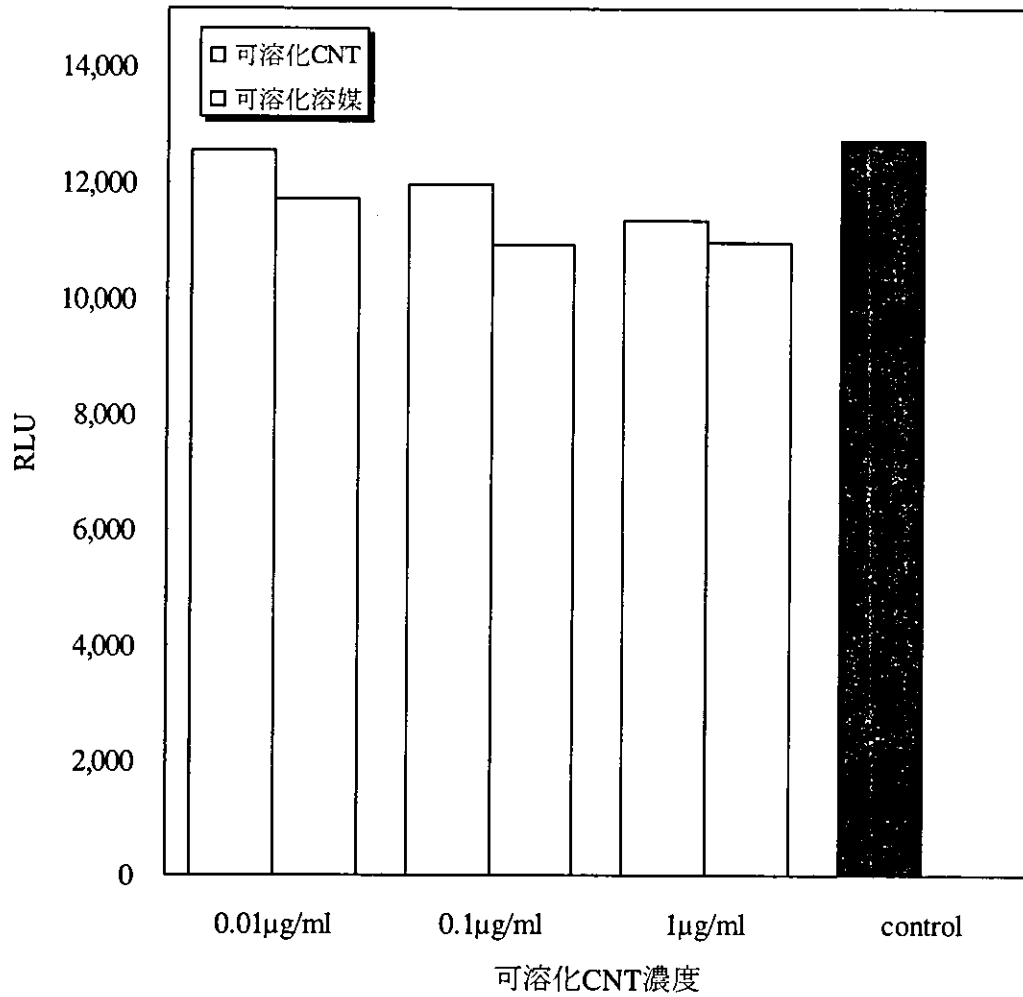
図3



注1) (0)には5%FBSのみを含む培地で培養した際の値を示した。

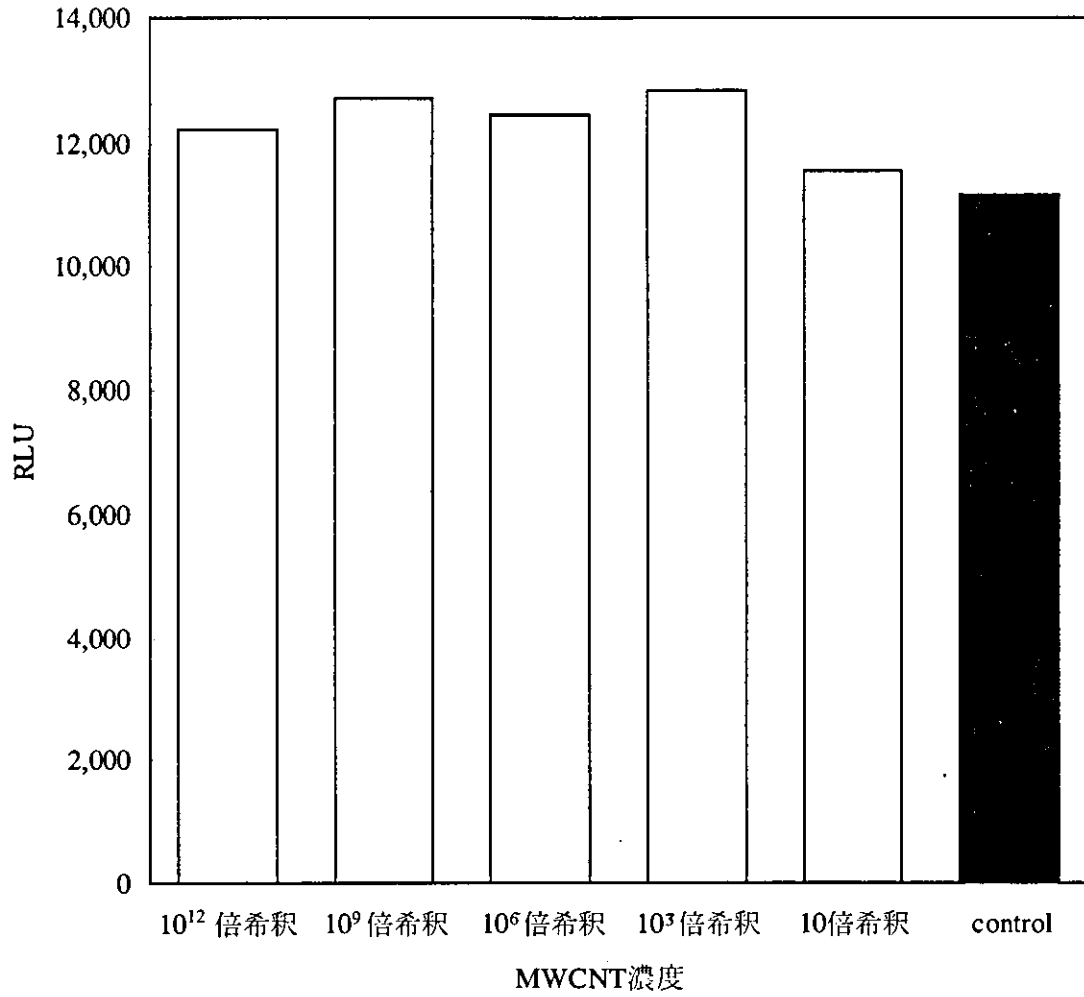
注2) 各プロットの上下には標準偏差を示した。

図4



注1) 但し、可溶化溶媒の発光度は、各濃度の可溶化 CNT 調製時と同様の希釈倍率のものを比較として示した。

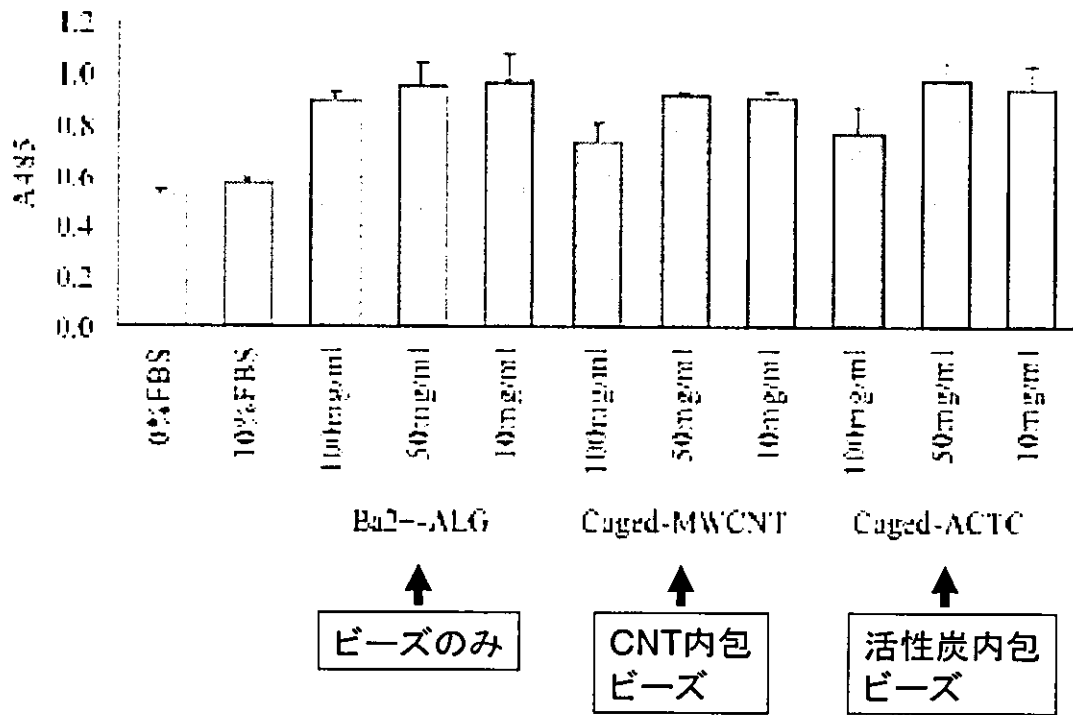
図 5



注1) 但し、MWCNT 濃度は未知のため、希釈倍率を示した。

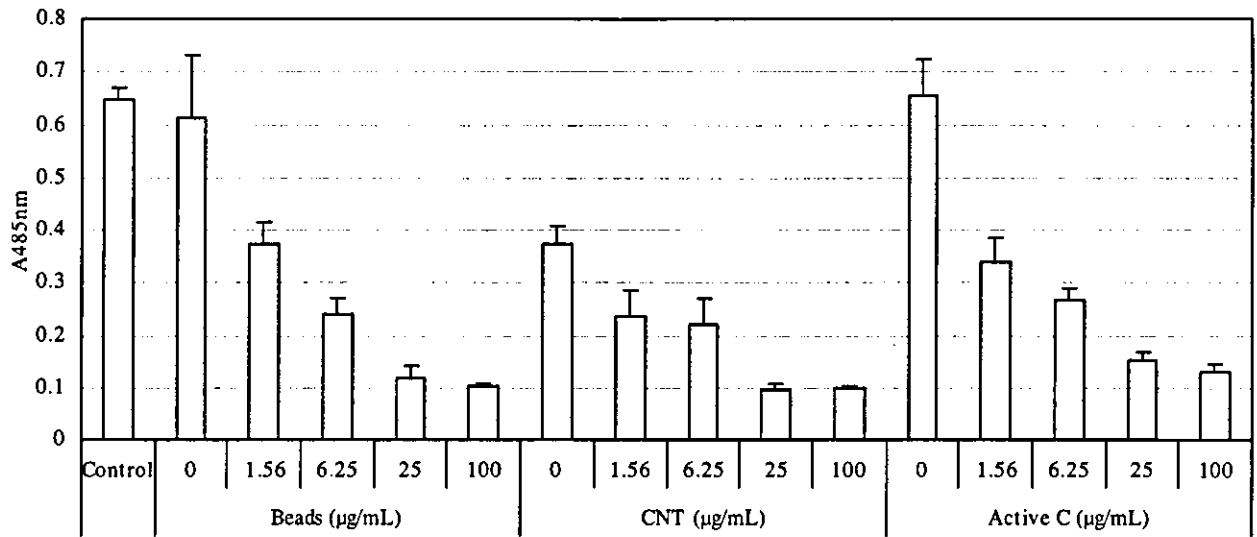
図 6

各種アルギン酸ビーズの細胞増殖に対する影響



注1) 各バーの上下には標準偏差を示した。

図 7



注1) 各プロットの上には標準偏差を示した。

カーボンナノチューブの複合材料への応用、カーボンナノカプセルの生体為害性 評価及び生体内ナノ微粒子の状態分析に関する研究

主任研究者	亘理 文夫	北海道大学大学院歯学研究科 教授
研究協力者	宇尾 基弘	北海道大学大学院歯学研究科 助教授
研究協力者	朝倉 清高	北海道大学触媒化学研究センター 教授
研究協力者	横山 敦郎	北海道大学病院歯科診療センター 講師
研究協力者	赤坂 司	北海道大学大学院歯学研究科 助手
研究協力者	田村 一央	北海道大学大学院歯学研究科 大学院生

カーボンナノチューブ (CNT) と金属またはポリマーとの複合材を作製し、繊維強化金属 (FRM) や繊維強化プラスチック (FRP) のような高比強度の生体材料を合成することを目的として研究を行い、Ti/CNT及びアクリルレジン/CNT複合材料を作成し、その強度を検討した。またカーボンナノカプセルの生体内での挙動や生体為害性を調査し、その生体為害性は現在金属中で生体適合性に最も優れるとされるチタンが微粉末化したものと同程度であり、為害性が十分に低いことが示唆された。さらに生体内の微量Tiの状態をX線吸収微細構造 (XAFS) 測定で分析し、金属Ti微粒子、及びanatase型の酸化チタン微粒子の存在を確認した。

A. 研究目的

カーボンナノチューブと金属またはポリマーとの複合材を作製し、繊維強化金属/プラスチックのような高比強度の生体材料を合成することを目的とした。

またカーボンナノカプセルは希土類炭化物 (CeC₂など) の周囲をグラフェンシートで覆われた直径20~30nmの粒子である (図1)。これは内部に希土類を含有するため、希土類をトレーサーとして生体内でのカーボンナノ粒子の挙動を調査するのに好適である。そこでこのナノカプセルをラット及び培養細胞に投与し、生体内での蓄積挙動を調査した。

さらに生体内の微量Tiの状態を強力かつ良質なX線源である放射光を用いたX線吸収微細構造 (XAFS) 測定で分析した。

B. 研究方法

【CNT/Ti複合材料の作製と評価】

多層CNT (Nanolab社製) と水素化チタン (住友シチックス製) をCNT含有量が0, 5, 10, 15wt%となるよう秤量・メノウ乳鉢で混合し、放電プラズマ焼結装置 (SPS) で焼結した後、断面が1mm角の棒材に加工した。焼結条件は表1の通り。得られた試験片は万能試験機 (インストロン: 4204) により支点間距離15mm、クロスヘッドスピード0.5mm/minの条件下で3点曲げ試験を行い、強度を評価した。また断面をSEM (日立: H-2380) にて観察するとともに、XRD (リガク: Multiflex) により結晶相の同定を行った。

【CNT/樹脂複合材料の作製と評価】

BisGMA(bis-phenol-A di-glycidyl-methacrylate)とTEGDMA(Triethyleneglycol-dimethacrylate)を重量比1:1に混合し、0.3wt%のカンファーキノンと0.7wt%の過酸化ベンゾイルを添加したレジンマトリクスを作製した。これに多層CNT

(Nanolab社製)を0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0wt%となるよう秤量・混合し、内径1.3mmのポリエチレンチューブに充填し、可視光重合器(モリタ: α Light)により30分光照射を行って表面を重合させた後、チューブから取り出して、さらに80℃のオープンで3時間以上加熱重合を行った。得られた試験片は万能試験機(インストロン: 4204)により支点間距離15mm、クロスヘッドスピード0.5mm/minの条件下で3点曲げ試験を行い、強度を評価した。

【ナノカプセルの生体内挙動の評価】

Ce含有カーボンナノカプセル(以下Ce-CNC)を無菌的に生理食塩水中に濃度50ppmとなるよう分散し、ラット尾静脈より2回/日で3日間投与した後、屠殺し各臓器を摘出した。各臓器は乾燥後にB培皿内で800℃×2時間加熱して灰化した後、5N硫酸で溶解、25mlに希釈した後、ICP(日立:P-4010)にてCe量を定量し、臓器へのナノカプセルの集積状態を調査した。また同懸濁液を無菌的に生理食塩水中に濃度0.1~100ppmとなるよう分散し、ラットの肺胞、腹腔マクロファージ及びTHP-1細胞に0.01~20ppmの各濃度で投与して6時間培養し、通法に従ってTNF- α 及びIL1- β の産生量からCe-CNCの有害性を評価した。

【生体組織中のチタン類似微粒子の分析】

チタンインプラント二次手術の際に患者より除去された口腔粘膜組織を凍結乾燥し、以下の分析に供した。なお本実験は北海道大学大学院歯学研究科倫理委員会の認可及び患者本人の了承の元で行った。XAFS測定は高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所放射光科学研究施設(KEK-PF)BL-9Aにて行った。シンクロトロン放射光はSi(111)モノクロメーターにて分光され、高次光除去用ミラーにより高次高調波を除去した。X線分析顕微鏡にてTiの局在が見られた位置を中心に約1mm四方の面積に入射光を照射し、蛍光法によりXAFSスペクトルを測定した。蛍光法は19素子半導体により行った。

【ナノカプセルの加熱時安定性】

Y, Ce, La, Nd, Gd, Dy含有カーボンナノカプセルを大気中で400℃, 450℃で30分加熱し、加熱前後の変化をX線回析測定(Rigaku Multiflex)により評価した。また一部試料については、大気酸化後に混酸中で50℃×5時間、超音波処理したのものについても同様に調査した。

C. 研究結果

【CNT/Ti含有複合材料の特性】

図2にTi/CNT複合材断面のSEM像を示す。Ti粉末のみをSPSにて焼結した場合は若干の気孔が見られるが概ね緻密に焼結されていることがわかる。CNT含有量が5%の場合でも断面像に大きな変化は見られないが、CNT含有量が10%以上では内部に多くの気孔が見られ、粗造になっていることがわかる。焼結体の密度はTiのみで4.19g/cc, Ti-10%CNTで4.20g/ccであり、大きな差は見られなかった。Tiのみを焼結した場合でも、Ti本来の密度(4.51)に比べて低くなっており、これは図2に見られるような気孔に起因するものと推測された。

図3はX線回析スペクトルを示しており、CNT10%含有複合材ではTiのピーク以外に炭化物であるTiCのピークが明瞭に観察され、CNTに由来するピーク($2\theta=26^\circ$ 付近)は観察されず、CNTの大部分がチタンの炭化に消費されていると考えられた。

本実験ではSPSによる焼結性の向上を考えて水素化チタンを使用した。水素化物使用による還元性雰囲気により、炭化が進行しやすくなった可能性があるため、今後材料の検討を要する。

図4はTi/CNT複合材の3点曲げ試験結果を示す。CNT含有量の増加とともに、曲げ強さ、破断歪ともに低下している。この原因としては上述の通りCNTがTiと反応して炭化物を形成したため、図2に示した通り気孔率の高い構造となったことに起因すると推測される。

【CNT/樹脂複合材料の特性】

図5にTi/Bis-GMA複合材の3点曲げ試験における荷重/変形量線図の例を示す。CNTの添加によって僅かに弾性率の向上が見られるが、破断時

の変形量や最大荷重はいずれもCNTの添加によって低下している。

図6は曲げ弾性率とCNT濃度の関係を示している。●は無処理のCNTを用いた場合、□は空気酸化後に6N塩酸及び6N硝酸で酸処理して触媒金属を除去し、分散性を改善したものを超音波ホモジナイザーで混合した場合である。無処理のCNTを用いた場合にはCNT濃度が0.5wt%において若干の弾性率の向上が見られるが、それ以上のCNT濃度ではCNTを含まない樹脂とほとんど同程度である。精製処理したCNTの場合にはCNT濃度が1.2wt%でやや弾性係数が高くなり、CNTによる強化効果が現れていると考えられる。従ってCNTによる複合材の強化にはCNTの樹脂中への分散性が重要であり、超音波ホモジナイザーによる強制分散やCNTの空気酸化・硝酸処理による分散性の改良などでCNT複合樹脂の強度向上を図る必要があることが判明した。

【ナノカプセルの生体内挙動の評価】

Ce-CNCを投与したラットの各臓器内のCe濃度を表2に示す。表中Controlは坩堝のみで灰化・溶解を行った場合のバックグラウンドのCe濃度を示す。また本ICP装置におけるCeの検出限界は0.02~0.03ppm程度と考えられる。表中の○、△、×はバックグラウンドと比較してCe濃度の信頼性を示しており、○はほぼ信頼に足る、×はバックグラウンドと大差ない。この結果から一部の臓器（肺、心臓、腎臓）には、ややCeの存在が認められるが最も多く存在するのは血液中であることがわかる。

またここで検出された全Ce量は約5 μ gと推定され、投与したCe-CNCが300 μ g（50ppmCe-CNC 1ml \times 6回）であり、その重量の大部分がCeであることを考えると、検出されたのはごく一部である。他の代謝・蓄積としては血管内皮の食食や尿への放出が考えられる。

【ナノカプセルの生体内挙動の評価】

ラットマクロファージ及びTHP-1細胞にCe-CNCを投与した場合のTNF- α 産生量を図7に示す。CNC濃度が1~2ppmを超えた時点からTNF産生量が増大し、細胞への刺激性が増加していると考えられる。本実験で使用したCNCは数ppm以上にな

ると凝集が起こり目視で確認できる程度の二次粒子を形成することから高濃度域での刺激性はこの凝集体によることが考えられる。

図8は図7で示したTNF- α 産生量（CNC1ppm時）を過去の多様な粒子状物質における値と比較したものである。CNCにおけるTNF- α 産生はTi粒子で最も刺激性が低いもの（150 μ m）と同程度であることが分かった。

図9はCNCと対照としてTiO₂を1ppmとなるよう添加した場合のTNF- α およびIL-1 β 産生量の比較である。肺胞、腹腔マクロファージにおいてTNF- α 、IL-1 β 産生量はともにCNC添加の場合はTiO₂の場合に比べて同等かやや低くCNCの細胞刺激性がTiO₂より低いレベルであると考えられる。またTHP-1細胞ではあまり変化は見られず、これは細胞自体の感受性によると思われる。

【生体組織中のチタン類似微粒子の分析】

Tiインプラントの埋入手術においてはインプラント本体を顎骨に埋入後、骨との十分な固定を得るため、インプラントの上部をTi製カバースクリューで封鎖し、粘膜を縫合して3~6ヶ月負荷を与えず静置する。この間粘膜はTiと接触することになる。その後、インプラントの上方の粘膜を一部切除してX線分析顕微鏡（XSAM）によりTiの元素分布を測定した結果を図10に示す。試料Aでは粒子状の、試料Bでは広範囲に広がったTiが検出された。

図10の試料AのTi局在部及びTi foil（参照試料）のTi K-edge XAFSスペクトルを図11（左）に示す。試料AのスペクトルにはTi foil即ち金属Tiに特有な、いくつかのピークが見られており、同試料中に存在しているTiが金属状態と推測される。図1のXSAMの元素分布像からも粒子状物質の存在が推測されることから、試料A中のTiはインプラント埋入時などに発生した摩耗粉のような金属Ti粒子と考えられた。試料BのXAFSスペクトルを図11（右）に示すが、TiO₂（anatase）と思われるTiが検出された。

【ナノカプセルの加熱時安定性】

各種希土類含有ナノカプセルを400、450 $^{\circ}$ Cで大気酸化した場合の希土類炭化物の変化を図12に示す。

いずれのCNCにおいても400℃という比較的低温から酸化が起こることが分かる。大気酸化によるアモルファスカーボンなどの除去については、MWCNTでは500℃程度の高温で行っていたが、MECNCについては更に低温での大気酸化か、湿式酸化などを用いる必要があることが判明した。

D. 考察

CNTと金属及び樹脂との複合材料についてはチタンを用いた場合には炭素との反応性が極めて高いチタンの特性からCNTが残留せずチタンと反応して炭化物(TiC)を生成するため、CNT分散による強化がおこらず、むしろ反応により消失したCNTが空隙を作り強度を低下させたと考えられる。これを防ぐには炭素と反応しにくい(炭化物を形成しにくい)金属を用いることが考えられる。アクリル系の樹脂との複合に関してはCNTを精製処理し、超音波ホモジナイザーで強撹拌することで目視的に均一な複合体を作成できた。同複合体では若干の曲げ弾性率および曲げ強さの向上が見られた。今後の改良によっては更に強度の向上が期待される。

カーボンナノカプセルについては動物への血中投与によって生体内で一部臓器に蓄積する可能性が示唆された。培養細胞を用いた刺激性試験ではチタン微粉末と同レベルの刺激性であることが分かった。チタンは金属材料の中では最も生体適合性に優れるものの一つであり、チタンと同レベルの刺激性であれば実用上の生体為害性は無視し得ると考えられた。またカプセルの精製においては比較的低温で大気酸化処理をする必要があることが判明した。

生体内のTiのXAFS測定においては、Tiに隣接した口腔粘膜組織から金属Ti(微粒子状)とTiO₂(anatase)が検出され、XAFS測定の有効性が確認された。金属Tiに関してはインプラント埋入手術時に発生した摩耗分の可能性が示唆された。またanataseの形態でTiが生体組織中に存在する理由としては、インプラント表面の酸化物皮膜が脱落して組織中に移行したか、溶出したTiが組織中で酸化物を形成したことが考えられ、極めて興味深い結果が得られた。

E. 結論

カーボンナノチューブ(CNT)と金属またはポリマーとの複合材を作製し、繊維強化金属/プラスチックのような高比強度の生体材料を合成することを目的として研究を行い、アクリルレジンに添加した場合には曲げ弾性率がやや向上し、CNTによる強化の可能性が示唆された。またカーボンナノカプセルの生体内での挙動や生体為害性を調査し、その生体為害性は現在金属柱で生体適合性に最も優れるとされるチタンが微粉末化したものと同程度であり、為害性が十分に低いことが示唆された。

またXAFSを用いることで生体試料中の微量チタンの状態を分析することが可能となった。チタンインプラント周囲組織に含まれるチタンの状態は金属Ti, TiO₂(anatase)などの形態を取り得ることが判明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1)Uo M., Sjögren G., Sundh A., Watari F., Bergman M., Lerner U.: Cytotoxicity and bonding properties of dental ceramics, *Dental Materials*, 19, p.487-492, 2003

2)Uo M., Berglund A., Cardenas J., Pohl L., Watari F., Bergman M., Sjöberg S.: Surface analysis of dental amalgams by x-ray photoelectron spectrometry and x-ray diffraction spectrometry, *Dental Materials*, 19, p.639-644, 2003

3)Uo M., Watari F.: Rapid analysis of dental metallic restoratives using X-ray Scanning Analytical Microscope, *Dental Materials* 20, p.611-615, 2004

4)Uo M., Tanaka M., Watari F.: Quantitative analysis of biological specimens by X-ray scanning analytical microscope, *Journal of Biomedical Materials Research*,

5)Uo M., Okamoto M., Watari F., Tani K., Morita M., Shintani A.: Rare earth oxide containing fluorescent glass filler for composite resin, *Dental Materials Journal*, 24(1), 2005 掲載予定

2. 学会発表

1)○ Uo M., Watari F., Kohgo T., The application of X-ray scanning analytical microscope for the analysis of biological tissues, IADR annual meeting, (Göteborg, June 25-28) ,*J Dent Res*, SI82, B-62, 2003

2) ○宇尾基弘・亓理文夫：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，平成14年度日本電子顕微鏡学会北海道支部学術講演会（札幌，2002年2月8日），同講演予稿集，p. 8, 2003

3) ○宇尾基弘・亓理文夫：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（札幌，2002年6月7～9日），同講演予稿集，p.9, 2003

4)Uo M., Akasaka T., Rosca I.D., Watari F., Yokoyama A., Omori M., Sato Y., Tohji K., Preparation of the carbon nanotubes mixed metal and resin for dental materials, 205th Symposium of Electro Chemical Society (San Antonio, 2004/5)

5)○宇尾基弘・赤坂 司・ロスカイオシフ・亓理文夫・朝倉清高・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（岡崎，2004年1月7～9日），同要旨集，p.115, 2004

6)○宇尾基弘・赤坂 司・ロスカイオシフ・大川昭治・菅原 敏・亓理文夫・谷 和俊・森田 学：蛍光性を持つコンポジットレジン用ガラスファイバーに関する研究，第43回日本歯科理工学会学術講演会（千葉，2004年4月10,11日），*歯科材料・器械*，23(2), p.135, 2004

7)○宇尾基弘・赤坂 司・亓理文夫・朝倉清高・横山敦郎・田村 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，第7回XAFS討論会（京都，2004年7月29～30日），同要旨集，p.43-45, 2004

8)○宇尾基弘・赤坂 司・亓理文夫：インプラント周囲組織のXAFSによる分析，第44回日本歯科理工学会秋期学術講演会（京都，2004年9月24,25日），*歯科材料・器械*，23(5), p.327, 2004

表1 Ti/MWCNT複合材のSPS焼結条件

MWCNT含量 (wt%)	圧力 (MPa)	温度 (℃)	保持時間 (分)
0	40	1070	5
5	120	1075	5
10	120	1045	5
15	120	990	5

表2 Ce-CNC投与ラット各臓器内のCe濃度

臓器名	臓器重量 (g:wet)	25ml溶解後濃度 (ppm)	臓器内濃度 (ppm)
脳	0.35	0.038	0.20 ×
脾臓	0.80	0.039	0.13 ×
肺	2.50	0.060	0.24 △
心臓	1.36	0.060	0.46 △
肝臓	20.16	0.042	0.01 ×
腎臓	3.27	0.057	0.17 △
血液	4.40	0.137	0.58 ○
Control	—	0.035	—



図1 カーボンナノカプセルの透過電子顕微鏡像

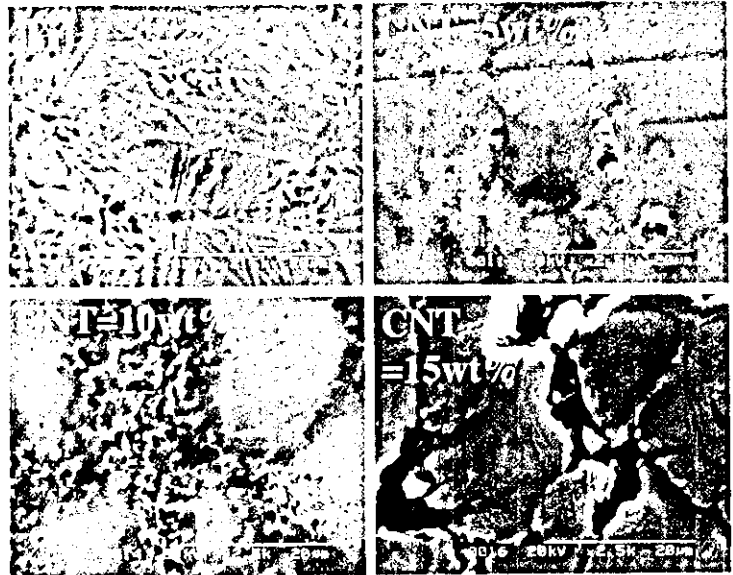


図2 SPSにて焼結したTi/CNT複合材断面のSEM像

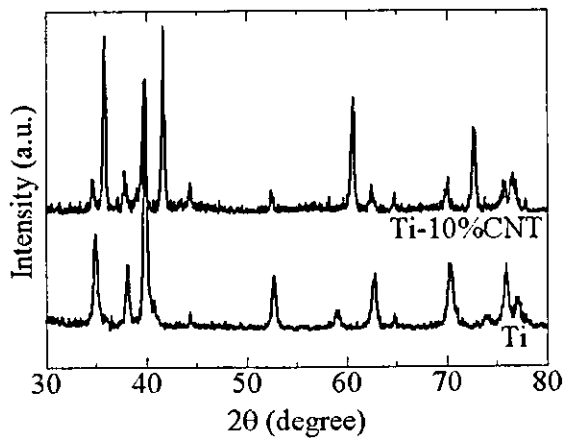


図3 Ti/CNT複合材のX線回折結果

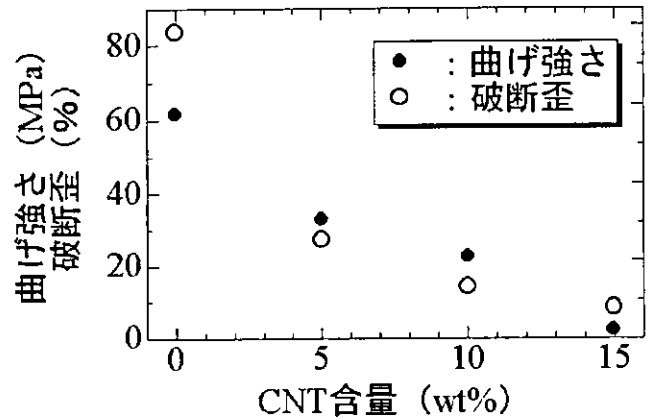


図4 Ti-CNT複合材の3点曲げ試験結果

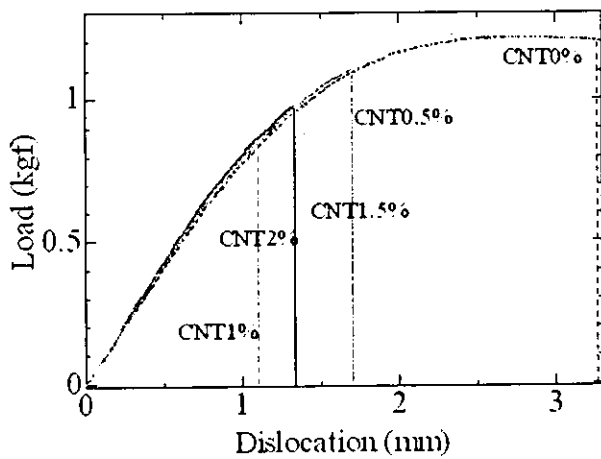


図5 Ti/Bis-GMA複合材の荷重-変形量線図

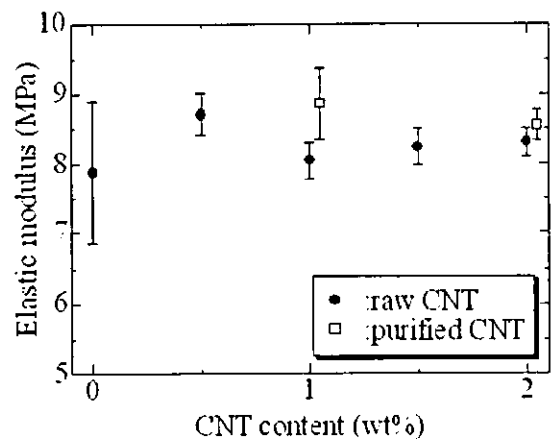


図6 Ti/Bis-GMA複合材の曲げ弾性係数のCNT濃度依存性

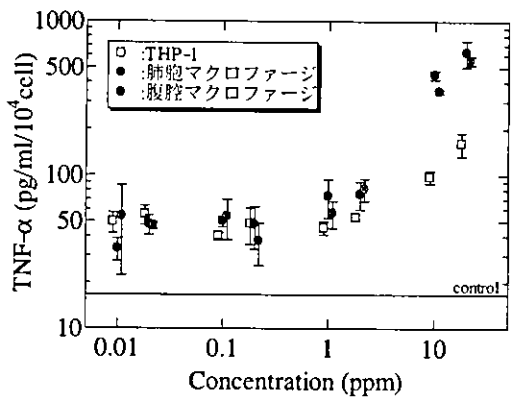


図7 TNF- α 産生量のCNC濃度依存性

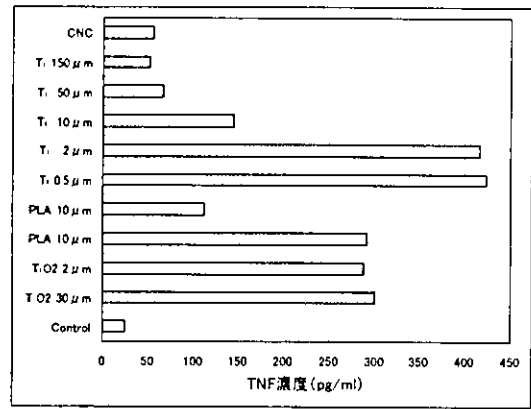


図8 CNC及び他粒子のTNF- α 産生量の比較

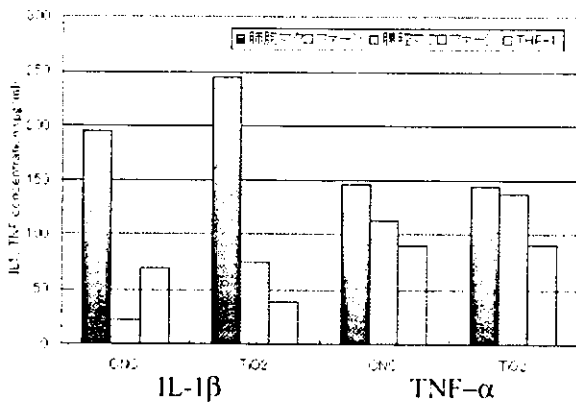


図9 CNC及びTiO₂ (1ppm) のTNF- α 、IL-1 β 産生量の比較

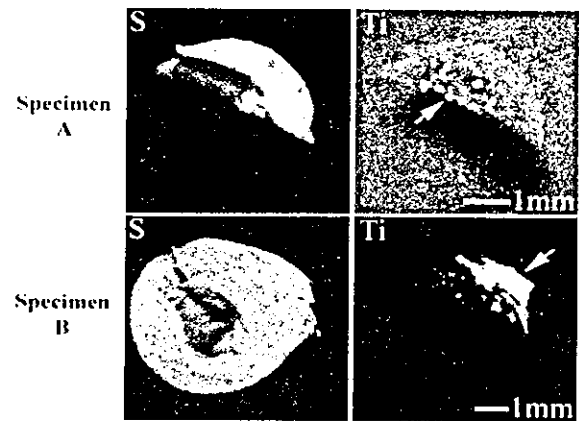


図10 Ti含有口腔内組織のXSAM像

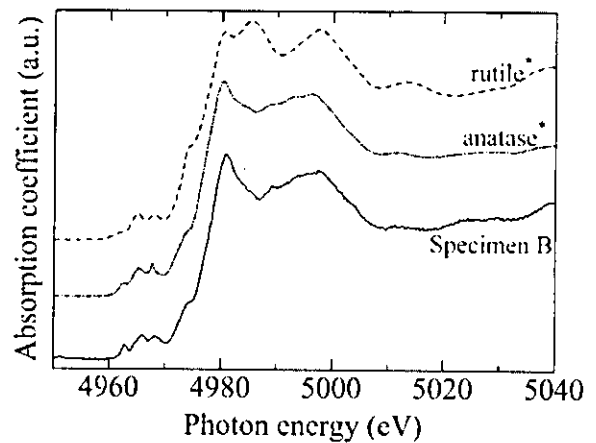
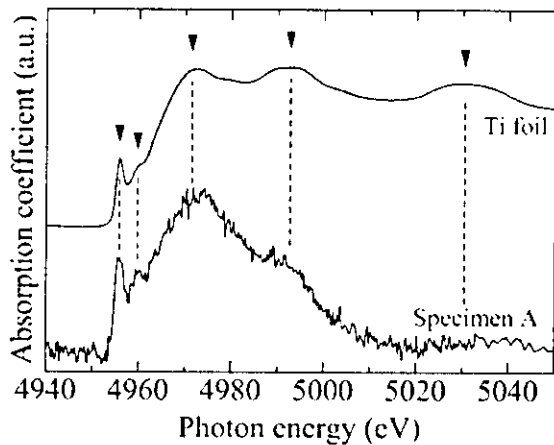


図11 Tiインプラント周囲組織のXANESスペクトル (左: 金属Ti, 右: anatase)

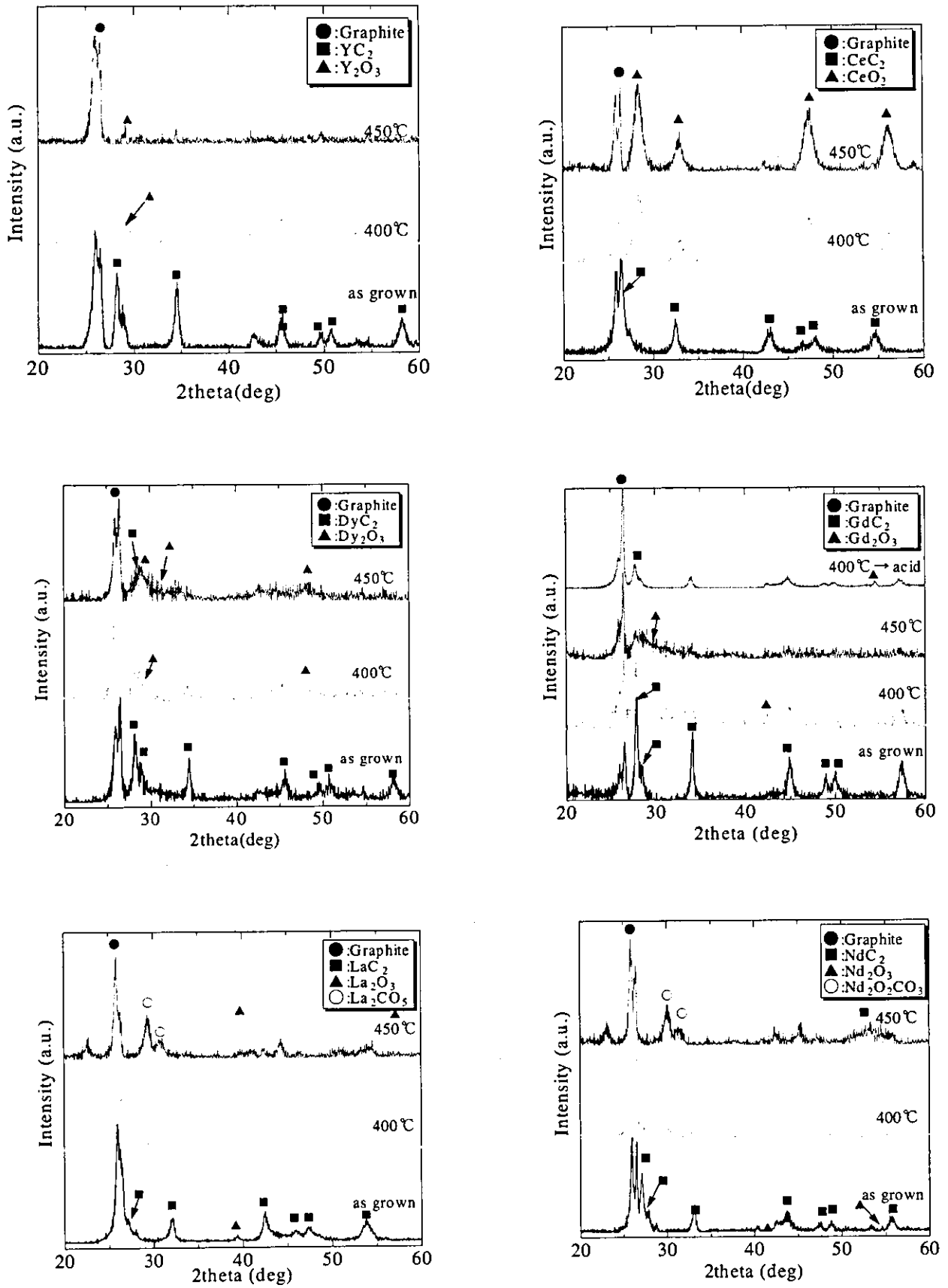


図13 各種カーボンナノカプセルの加熱処理によるX線回折パターンの変化

分担研究報告書

生体医療応用を目指したカーボンナノチューブ・ナノファイバーの合成・高純度精製・水溶化・サイズ制御、およびハイパーサーミア（温熱療法）への医療応用を目指した磁性ナノ粒子の合成・サイズ分級に関する研究

分担研究者 田路和幸 東北大学大学院 環境科学研究科 環境科学専攻 教授

研究要旨 本研究班では、フラーレン（Fullerenes）、カーボンナノチューブ（Carbon Nanotubes: CNTs）、カーボンナノファイバー（Carbon Nanofibers: CNFs）などの特異形状ナノ炭素物質、および磁性ナノ粒子を生体材料（臓器）、HIV、癌治療、遺伝子治療のベクター、また細胞増殖培養の足場材であるスキャホールドとして応用するために、フラーレン・カーボンナノチューブ・ナノファイバーの合成・高純度精製・水溶化・サイズ制御、磁性ナノ粒子の合成・サイズ分級に関する研究を中心に行った。以下に本研究で行った内容を示す。

- ・ カーボンナノチューブの高効率合成・高純度精製
- ・ フラーレンの水溶化
- ・ カーボンナノチューブ、ナノファイバーの水溶化・サイズ分離
- ・ ポリオール法・共沈法によるナノ粒子の合成
- ・ 磁性流体ハイパーサーミアの理論的検討
- ・ 磁性流体ハイパーサーミアへの適応を目指した磁性ナノ粒子の合成とサイズ分級

様々なナノ炭素材料と磁性ナノ粒子を合成し、これらを医療応用するために水溶化させ、さらにサイズの異なる細胞に侵入できる大きさに分級した。このように、カーボンナノチューブ・ナノファイバー、ナノ粒子の生体親和性実験、生体医療応用への基礎的実験を行える試料を調製することに成功した。

1. カーボンナノチューブ合成法の開発

A. 研究目的

フラーレン、カーボンナノチューブは、「グラフェンシートが籠状に閉じた構造」を持つ新たな炭素物質である。これらの物質の特徴は、グラファイトやダイヤモンドには存在しないナノ

スペースを持つことである。フラーレン（Fullerenes）は球状であり、カーボンナノチューブ（Carbon Nanotubes; CNTs）は、グラフェンシートで構成された繋ぎ目のないチューブ状の物質である。特にカーボンナノチューブは、一枚のグラフェンシートで構成される単層カーボンナノチューブ（Single-Walled Carbon

Nanotubes; SWCNTs)、複数のグラフェンシートで構成される多層カーボンナノチューブ (Multi-Walled Carbon Nanotubes; MWCNTs) がある。CNTs は直径、カイラリティーの基本構造から由来する電子物性と、長さ、形などの形状から由来する機械特性、吸着特性を組み合わせることによって、様々な分野で新たな現象や特性が引き出されると期待されている。

フラーレン、カーボンナノチューブは、「分子や元素が入る空間」がある。これらのナノスペースを利用して、フラーレンやカーボンナノチューブは、バイオナノテクノロジーに応用される可能性がある。例えば、中空に造影剤元素が入れられたフラーレンは、従来の MRI の造影剤以上の感度で診断できる造影剤と期待されている。カーボンナノチューブは、中空を利用した「薬剤の生体内輸送と放出」などのバイオメディシンとしての応用が検討されている。したがって、フラーレン、ナノチューブに見られる様々なナノスペースを持った炭素物質のバイオテクノロジーは、今後の医療技術において有効な手段になりうる。本研究では、バイオテクノロジーにカーボンナノチューブを応用するために、様々なナノスペース形態をもつカーボンナノチューブの合成を行った。

B. 研究方法

-高速道路型 SWCNTs の合成-

高速道路型 SWCNTs の合成は、触媒金属として Fe/Ni を用いたグラファイトロッドのアーキ放電によって行った。この触媒による SWCNTs は直径が約 1.0 nm、長さ数 μm と非常に長く互いに絡み合った高速道路のような形態を持つ。この触媒で合成されたススは、SWCNTs の含有量が多く、チャンバー内壁にシート状に堆積する。アーキ放電では、陰極には直径 10 mm のグラファイトロッドを、陽極には Fe/Ni 金属の濃度が約 5.0 atm.% の直径 6 mm のグラファイト棒

を用いた。合成手順を以下に示す。

- ① 電極を取り付けた装置内をロータリーポンプで 1 Pa まで真空引きする。
- ② 脱気を続けながら両電極を接触させ、100 A の直流電流を 7 分間流し、陽極に詰めた粉末をグラファイトの抵抗加熱によって焼結させる。
- ③ 装置をしばらく放置し冷却させた後、チャンバー内に He ガスを 100 torr まで満たし、70 A でアーキ放電を行う。放電中は電極間の距離を約 5 mm に保持する。
- ④ 装置をしばらく放置し冷却させた後、煤を回収する。

-ウニ型 SWCNTs の合成-

ウニ型 SWCNTs は、直径が約 1.5–2.0 nm、長さ数 50–100 nm が金属触媒から放射状に突き出た形態をもっている。ウニ型 SWCNTs は、チャンバー内壁に堆積したススに含まれる。ウニ型 SWCNTs の合成は、炭素に対して 1.7 atm.% の Ce 金属を含んだグラファイトロッドのアーキ放電によって行った。以下に合成手順を以下に示す。

- ① 電極を取り付けた装置内をロータリーポンプで 1 Pa まで真空引きする。
- ② 脱気を続けながら両電極を接触させ、80 A の直流電流を 15 分間流し、陽極に詰めた粉末をグラファイトの抵抗加熱によって焼結させる。
- ③ 装置をしばらく放置し冷却させた後、チャンバー内に He ガスを 500 torr まで満たし、75 A でアーキ放電を行う。放電中は電極間の距離を約 5 mm に保持する。
- ④ 装置をしばらく放置し冷却させた後、煤を回収する。

-MWCNTs の合成-