

図3. 細胞生存率 (チタンの形状による比較)

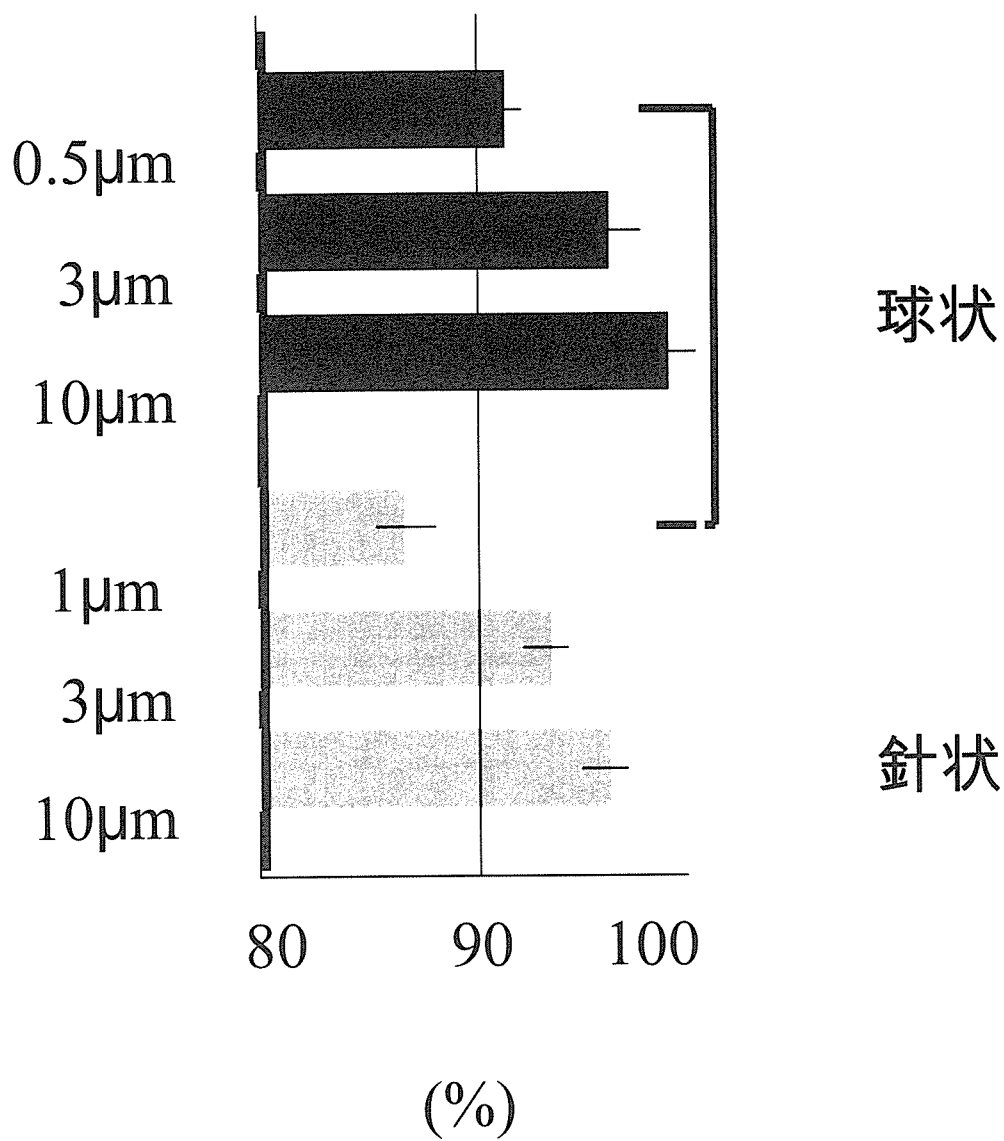


図4 活性酸素産生量 (サイズによる比較)

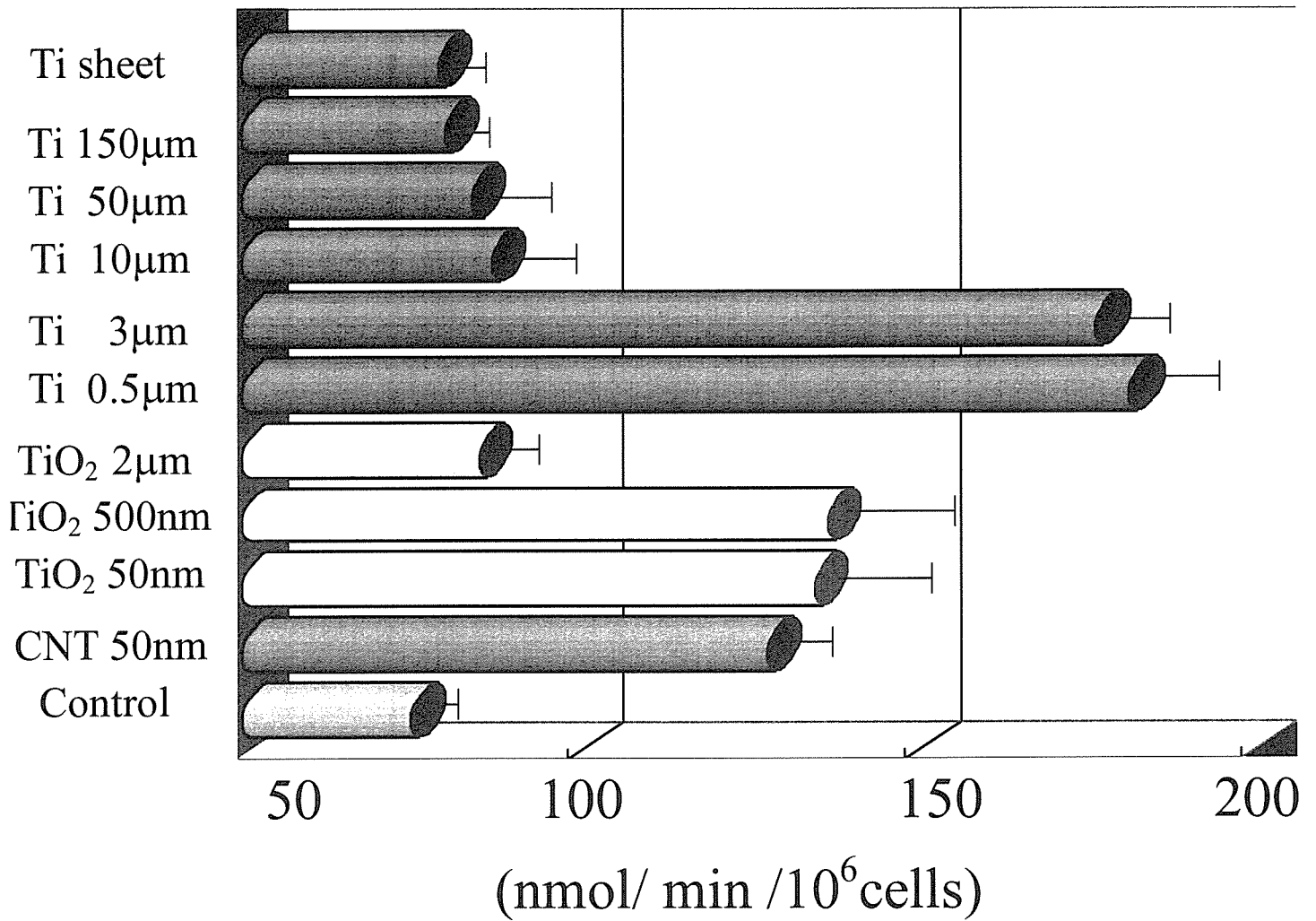


図5 活性酸素産生量（材料による比較）

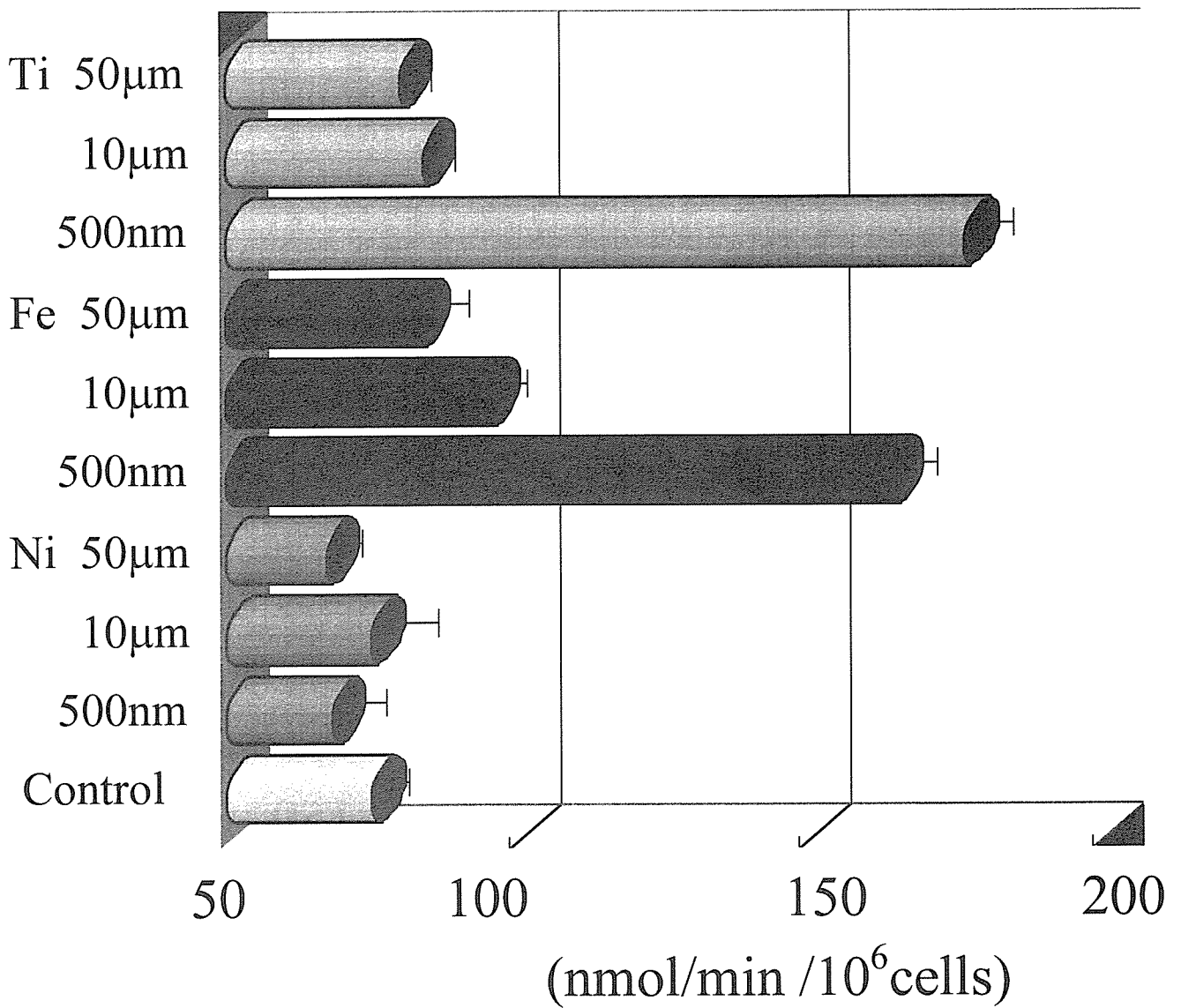


図6 活性酸素産生量 (形状による比較)

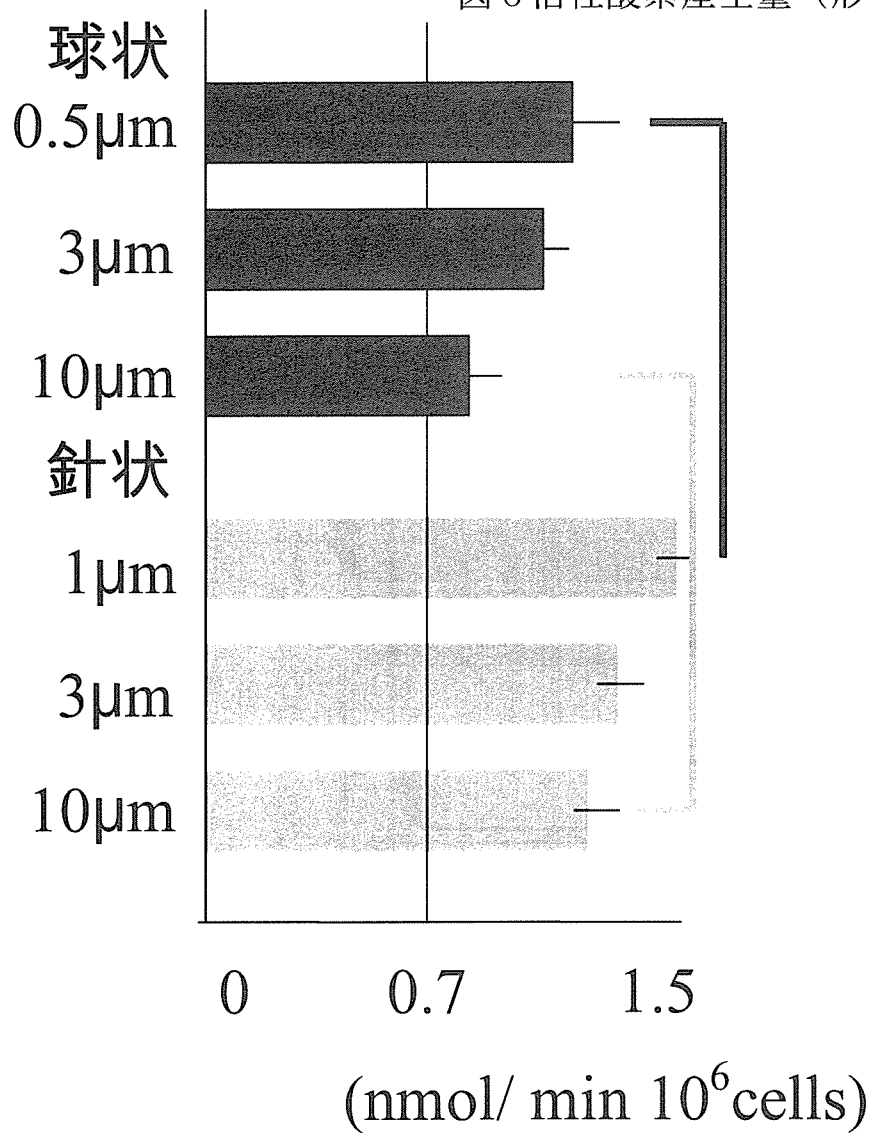


図7 TNF- $\alpha$  産生量 (サイズによる比較)

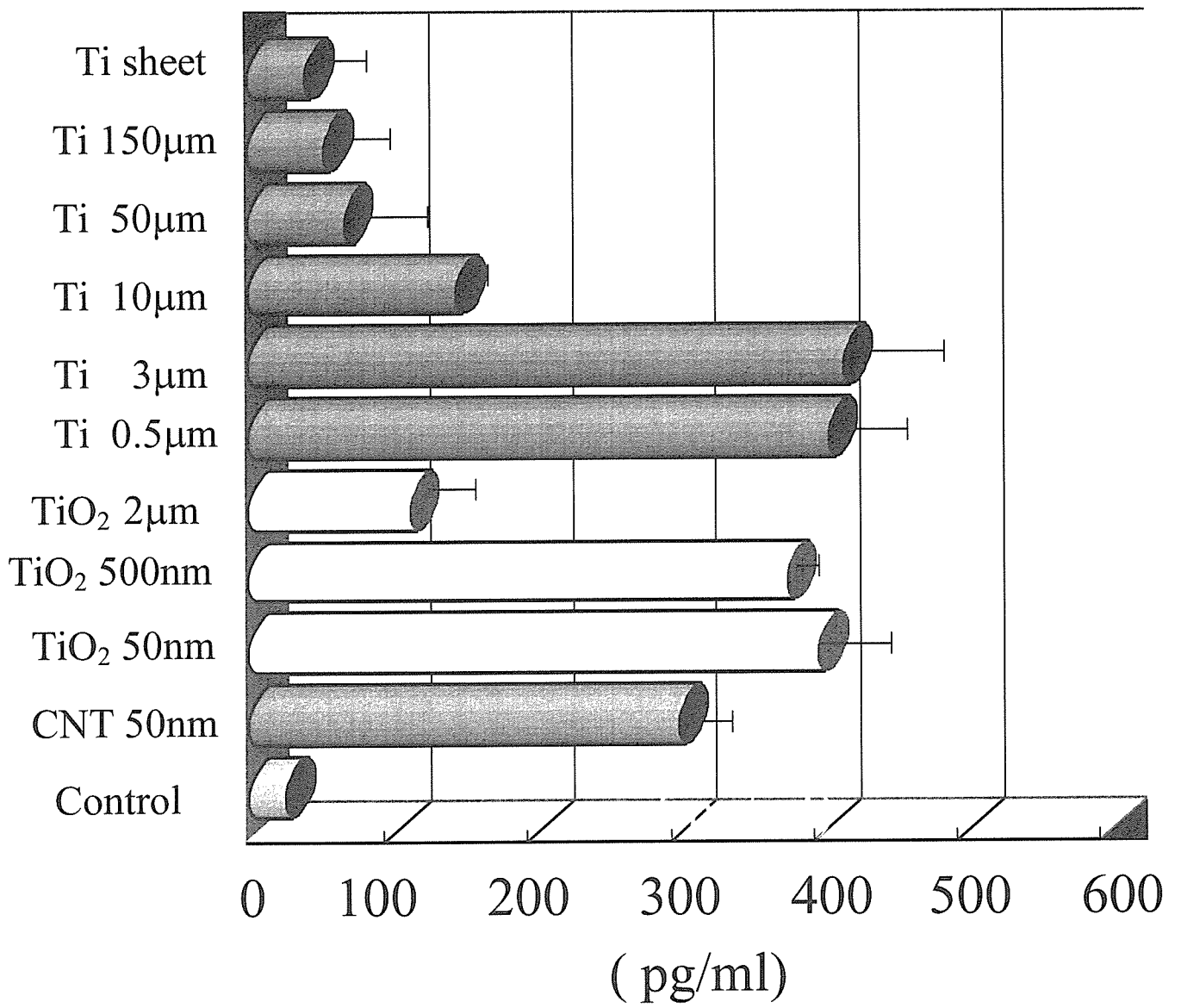


図8 TNF- $\alpha$  産生量 (材料による比較)

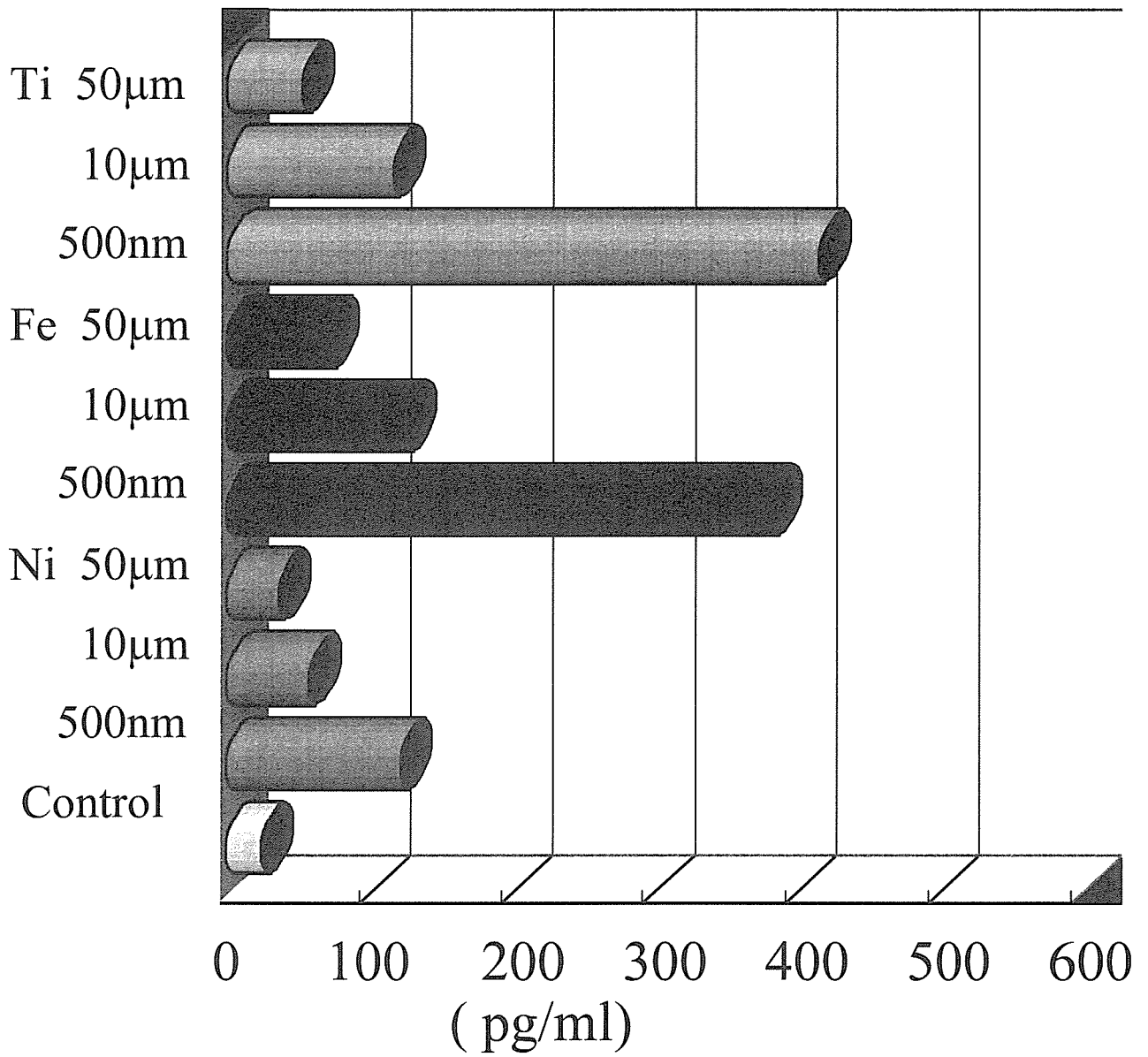
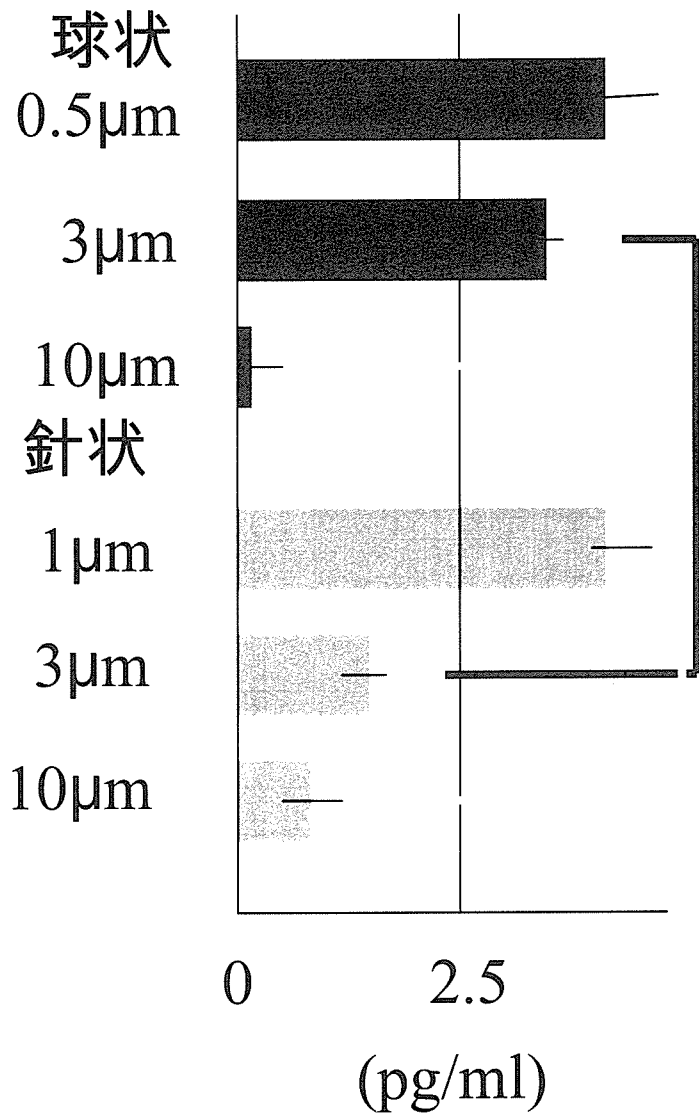


図9 TNF- $\alpha$  産生量 (形状による比較)



### III. 研究成果の刊行に関する一覧表



### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
佐藤義倫	カーボンナノチューブの毒性評価	中山喜萬	カーボンナノチューブの機能・複合化の最新技術	CMC 出版	東京	2006	45
遠山晴一, 安田和則	半月板切除	越智光夫	最新整形外科学体系 17.膝関節・大腿	文光堂	東京	2006	327 頁 -331 頁
遠山晴一, 安田和則	膝関節の診察	守屋秀繁, 糸満盛憲, 内田淳正, 荻野利彦, 黒坂昌弘, 戸山芳昭	整形外科診療実践ガイド	文光堂	東京	2006	47 頁 -51 頁

#### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
亙理文夫	ナノトキシコロジー入門	現代化学	10	54-68	2006
亙理文夫	ナノテク以後	生体材料	24 (4)	235-236	2006
亙理文夫	材料のナノサイジングと生体反応性	生体材料	24 (5)	300-310	2006
亙理文夫、崔福斎	高齢者の QOL を改善するナノバイオマテリアルの開発	日中医学	21 (2)	38	2006
亙理文夫	ナノテクとその健康	平成 18 年度厚生労働科学研究シンポジウム「家庭用化学物質の安心・安全に向けた取組み」抄録集		28-33	2006
芳賀信幸	単細胞個体・ゾウリムシのカーボンナノチューブ細胞内摂取のリアルタイム観察	J. Japanese Society for Biomaterials	24	319-323	2006
Tsukasa Akasaka, Fumio Watari, Yoshinori Sato, Kazunori Tohji	Apatite formation on carbon nanotubes	Material science and Engineering C	26	675-678	2006
Miyaji H, Sugaya T, Kato K, Kawamura N, Tsuji H, Kawanami M.	Dentin resorption and cementum-like tissue formation by bone morphogenetic protein application.	J Periodont Res	41	311-315	2006
本郷哲也, 宮治裕史, 菅谷 勉, 川浪雅光	BMP-2 処理した象牙質表面におけるセメント質様硬組織形成のビスフォスフォネートによる抑制	日歯周誌	48	285-296	2006
Y.Sakai, A.Haga, S.Sugita, S. Kita, S. Tanaka, and F. Okuyama	Electron gun using carbon-nanofiber field emitter	Review of Scientific Instruments	78	(in press)	2007
M. Omori, T. Onoki, T. Hashida, A. Okubo, Y. Murakami	Low Temperature Synthesis of Hydroxyapatite from $\text{CHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Based on Effect of the Spark Plasma System (SPS)	Ceram. International	32	617-621	2006

Uo M., Asakura K., Kohgo T., Watari F.	Selenium distribution in human soft tissue determined by using X-ray scanning analytical microscope and X-ray absorption fine structure analysis	<i>Chemistry Letters</i>	35	66-67	2006
Uo M., Sjögren G., Sundh A., Goto M., Watari F., Bergman M.	Effect of surface condition of dental zirconia ceramic (Denzir) on bonding	<i>Dental Materials Journal</i>	25	626-631	2006
Go Yamamoto, Yoshinori Sato, Toru Takahashi, Mamoru Omori, Toshiyuki Hashida, Akira Okubo, Kazuyuki Tohji	Single-walled carbon nanotube-derived novel structural material	<i>Journal of Materials Research</i>	21	1537	2006
Go Yamamoto, Yoshinori Sato, Toru Takahashi, Mamoru Omori, Akira Okubo, Kazuyuki Tohji, Toshiyuki Hashida	Mechanical properties of binder-free single-walled carbon nanotube solids	<i>Scripta Materialia</i>	54	299	2006
Yutaka Maeda, Yoshinori Sato, Masahiro Kako, Takatsugu Wakahara, Takeshi Akasaka, Jing Lu, Shigeru Nagase, Yumiko Kobori, Tadashi Hasegawa, Kenichi Motomiya, Kazuyuki Tohji, Atsuo Kasuya, Dan Wang, Dapeng Yu, Zhengxiang Gao, Rushan Han, Hengqiang Ye	Preparation of Single-Walled Carbon Nanotubes-Organosilicon Hybrids and Their Enhanced Field Emission Properties	<i>Chemistry of Materials</i>	18	4205	2006
Shin-ichi Ogino, Yoshinori Sato, Go Yamamoto, Kenichiro Sasamori, Hisamichi Kimura, Toshiyuki Hashida, Kenichi Motomiya, Balachandran Jeyadevan, Kazuyuki Tohji	Relation of the Number of Cross-Links and Mechanical Properties of Multi-Walled Carbon Nanotube Films Formed by a Dehydration Condensation Reaction	<i>The Journal of Physical Chemistry B</i>	110	23159	2006
D. Kodama, K. Shinoda, K. Sato, Y. Sato, B. Jeyadevan, K. Tohji	Synthesis of Fe-Co alloy particles by modified polyol process	<i>IEEE Transactions on Magnetics</i>	42	2796	2006
B. Jeyadevan, K. Shinoda, R. J. Justin, T. Matsumoto, K. Sato, Y. Sato, K. Tohji	Polyol process for Fe-based hard (fct-FePt) and soft (FeCo) magnetic nanoparticles	<i>IEEE Transactions on Magnetics</i>	42	3030	2006
D. Kodama, K. Shinoda, K. Sato, K. Sato, Y. Komno, R. J. Joseyphus, K. Motomiya, H. Takahashi, T. Matsumoto, Y. Sato, K. Tohji, B. Jeyadevan	Chemical Synthesis of Sub-micrometer- to Nanometer-Sized Magnetic FeCo Dice	<i>Advanced Materials</i>	18	3154	2006
T. Kaneko, H. Matsuoka, T. Hirata, R. Hatakeyama, K. Tohji	Effects of strong magnetic field on carbon nanotube formation using rf glow-discharge plasma	<i>Thin Solid Films</i>	506-507	259	2006
R. Justin Joseyphus, A. Narayanasamy, K. Shinoda, B. Jeyadevan, K. Tohji	Synthesis and magnetic properties of the size-controlled Mn-Zn ferrite nanoparticles by oxidation method	<i>Journal of Physics and Chemistry of Solids</i>	67	1510	2006
Takeru Okada, Toshiro Kaneko, Rikizo Hatakeyama, Kazuyuki Tohji	Electrically triggered insertion of single-stranded DNA into single-walled carbon nanotubes	<i>Chemical Physics Letters</i>	417	288	2006

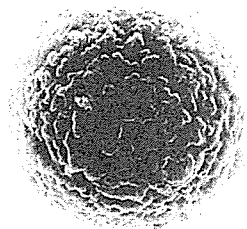
Sergiy Korablov, Kazunori Yokosawa, Dmytro Korablov, Kazuyuki Tohji, Nakamichi Yamasaki	Hydrothermal formation of diamond from chlorinated organic compounds	Materials Letters	60	3041	2006
横山 敦郎	カーボンナノチューブの細胞内挙動	バイオマテリアル	24	324 - 332	2006
N. Aoki, A. Yokoyama, Y. Nodasaka, T. Akasaka, M. Uo, Y. Sato, K. Tohji, F. Watari.	Strikingly Extended Morphology of Cells Grown on Carbon Nanotubes	Chemistry Letters	35	508-509	2006
Onodera S, Ohshima S, Tohyama H, Yasuda K, Nishihira J, Iwakura Y, Matsuda I, Minami A, Koyama Y.	A novel DNA vaccine targeting macrophage migration inhibitory factor protects joints from inflammation and destruction in murine models of arthritis.	Arthritis Rheum.	56	521-530	2007
Nomura, Y., Mitsui, N., Bhawal, U.K. Sawajiri, M., Tooi, O., Takahashi T. and Okazaki M.	Estrogenic activity of phthalate esters by <i>in vitro</i> VTG assay using primary-cultured <i>Xenopus</i> hepatocytes.	Dent Mater J	25	533-537	2006
Yokota R., Hayashi H., Hirata I., Miake Y., Yanagisawa T. and Okazaki M.	Detailed consideration of physicochemical properties of CO <sub>3</sub> apatites as biomaterials in relation to carbonate content using ICP, X-ray diffraction, FT-IR, SEM and HR-TEM.	Dent Mater J	25	597-603	2006
Z. zhu, Y. Zhou, H. Yu, T. Nomura, B. Fugetsu	Photo-degradation of humic substances on MWCNT/nanotubular-TiO <sub>2</sub> composites	Chem. Lett.	35	890-891	2006
Aida J, Ando Y, Aoyama H, tango T, Morita M.	An ecological study on the association of public dental health activities and socio-demographic characteristics with caries prevalence in Japanese 3-year-old children	<i>Caries Res</i>	40	466-472	2006
T. Naito, H. Sugawara, T. Inabe, T. Miyamoto, H. Niimi, and K. Asakura,	Photochemical fabrication of molecular devices	J.Non-crystalline Solid	352	2628	2006
M. Ushiro, K. Uno, T. Fujikawa, Y. Sato, K. Tohji, F. Watari, W. J. Chun, Y. Koike, and K. Asakura	XAFS analyses of Ni species trapped in Graphene sheet of Carbon nanofibers	Phys.Rev.B	73	114103	2006
S.Ohnuki, K.Takase, K.Yashiki, K.Hamada, T.Suda, S.Watanabe	In-situ Observation of Hydride Stability of Vanadium Alloys in Electron Microscope	Korean J. Electron Microscopy	1	57-61	2006
S.Ohnuki, T.Yasuda, K.Yashiki, T.Suda, S.Watanabe	Dynamic and Static Hydrogen Effects on the Mechanical Properties in Vanadium Alloys Hydrogen in Matter	Second International Symposium on Hydrogen in Matter		132-138	2006
K Yokoyama, T Ogawa, K Asaoka and J Sakai	Hydrogen Absorption of Titanium and Nickel-Titanium Alloys During Long-Term Immersion in Neutral Fluoride Solution	<i>Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials</i>	vol. 78B, No.1	204-210	2006

T Ogawa, K Yokoyama, K Asaoka and J Sakai	Effects of moisture and dissolved oxygen in methanol and ethanol solutions containing hydrochloric acid on hydrogen absorption and desorption behaviors of Ni-Ti superelastic alloy	<i>Materials Science and Engineering A</i>	Vol. 422, No.1 -2	218-226	2006
Y Sakamoto, K Asaoka, M Kon, T Matsubara and K Yoshida	Chemical surface modification of high-strength porous Ti compacts by spark plasma sintering	<i>Bio-Medical Materials and Engineering</i>	Vol. 16, No.2	83-91	2006
K Asaoka, K.Maejima	Effect of surface oxide films on degradation of titanium	Materials Science Forum	539-543	3649-3654	2006

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷

# ナノトキシコロジー入門

巨理文夫



ナノテクノロジーの進展に伴って、ナノサイズの微粒子が環境や生体へ及ぼす影響への関心が高まってきた。リスクが未知である現状では、断片的なデータを誇張した議論を避け、まず、基礎データを蓄積することが重要である。環境中や生体内でのナノ粒子の挙動・反応性に関する正しい理解は、ナノテクノロジーの健全な発展にも役立つはずだ。

## 材料の微細化と生体刺激性

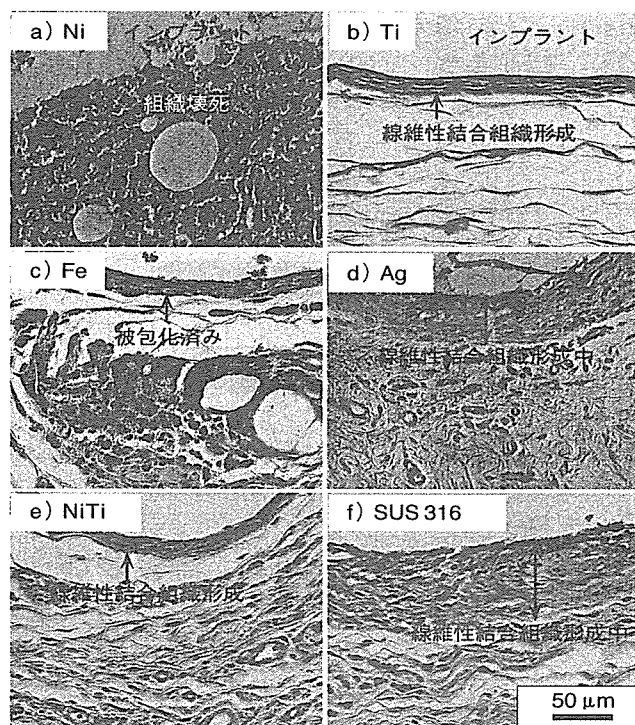
チタンは金属中、最も生体親和性に優れ、インプラント（体内埋植）に最もよく使われているが、人工関節の骨頭摺動部に使用された場合には摩耗粉を発生し、周囲組織に炎症をひき起こす。最近問題が顕在化したアスベストは、材質的には粘土鉱物の一種であり、本来毒性のあるものではないが、長期間大量に吸引曝露すると、20～30年を経て中皮腫を発症するに至る。こうした現象には、単に材質が毒性か生体親和性かという特性とは別に、微粒子特有のサイズ、形状に起因する効果が寄与しているものと考えられる。

材料のナノサイジングは新たな機能性を産み出すことから、ナノテクノロジーの展開が図られている。抗がん剤を健常組織に吸収させず、がん患部にのみ選択的に移送するドラッグデリバリーシステム（DDS）は、バイオ応用をめざした典型的なナノ粒子の応用例である。一方でナノ粒子は、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り、組織傷害性もまた亢進する可能性がある。今後のナノテクノロジーの本格的なバイオ応用開発には、ナノ/マイクロ粒子の生体および環境への影響と、その注意点を把握しておくことが必要である。

筆者らは2000年以来、材料のマイクロ/ナノサイジングによる生体反応性（文献1～3）と、それに基づくバイオ応用、とりわけカーボンナノチューブを中心とした研究開発を行い、このことを提起してきた。この間、2003年に“ナノトキシコロジー”という用語が欧米から現れ、たとえば、つぎのような主張がなされている。

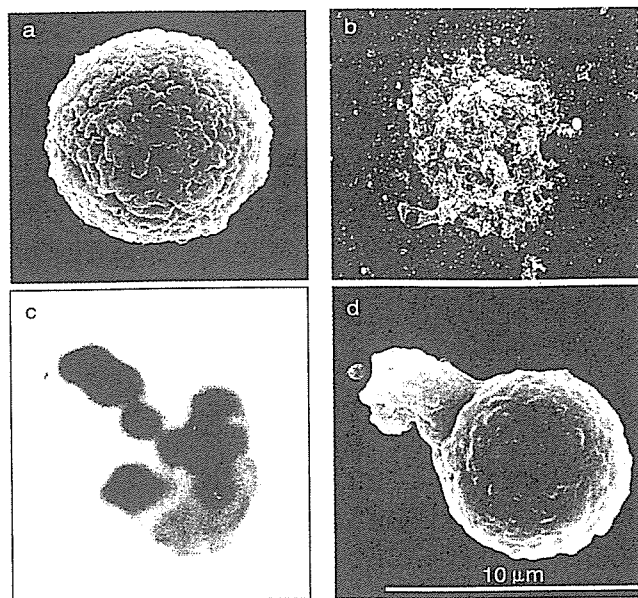
「ナノテクが新たな有害物質を生む？——ナノテクノロジーによって生み出された新しい微粒子が人体にもたらす

健康リスクについて、懸念が寄せられている。粒子は小さくなるにつれて化学反応性が高まるが、毒性もまた高くなると危惧される…」(メールマガジン <http://www.hotwired.co.jp/news/news/20040115302.html>)



直径1 mmの各金属インプラントは、各写真の生体組織の上部に接するように挿入されていた（埋入試験後、組織摘出時に取除かれている）。

図1 各種金属に対するラット皮下軟組織の反応（1週間埋入後）（文献11）



a) コントロール, b) Ni (0.5 μm), c) TiO<sub>2</sub> (0.3 μm), d) Ti (0.5 μm)

図2 各種微粒子に対するヒト好中球の反応：SEM像(a, b, d)および光学顕微鏡像(c) (文献2)

日本では2004年、ナノテクノロジー開発の社会的影響・責任などの検討会が各省庁で設置されている。しかし、国内外とも、こうした関連の研究会ではデータがないままの議論が多く、断片的なデータが誇張して取上げられることも多い。カーボンナノチューブは特に係争中のテーマである。ここで

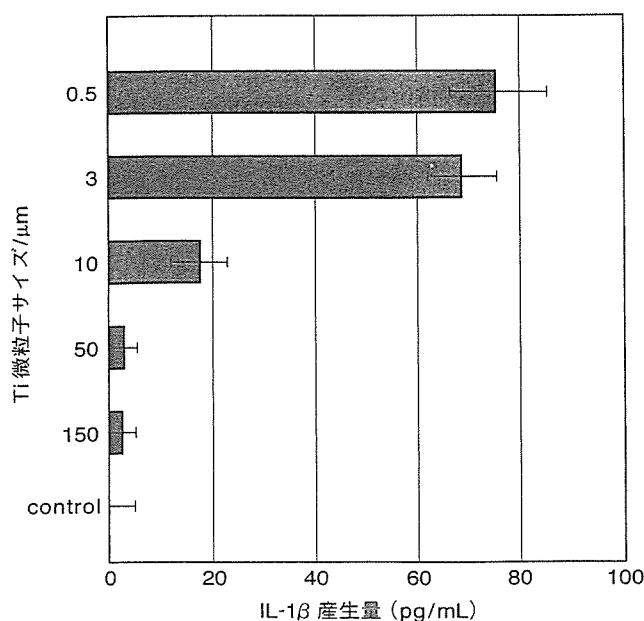


図3 ヒト好中球からのサイトカインIL-1β産生量のTi微粒子サイズ依存性 (文献2)

は以下、筆者らのデータを示しながら説明を進めたい。

### 材料と生体反応：マクロ / 生体内 (*in vivo*) 試験

微粒子の生体反応を見る前に、まず通常の場合、すなわちマクロサイズ材料に対する組織反応性を見ておこう。

図1は各種金属 (a: Ni, b: Ti, c: Fe, d: Ag, e: NiTi, f: SUS316) をラット皮下に1週間埋入したときの周囲軟組織を示したものである。Niでは組織が壊死し、強い有害作用 (生体親和性に対して、アレルギー性、組織傷害性、毒性など強い生体刺激性全般を指す) を示すが、NiTi, Tiでは、インプラントを被包化する線維性結合組織が形成されており、生体親和性に富む材料の典型的な反応が見られる。NiTiでは、表面でのTiによる強固な不動態酸化皮膜形成によるNi溶出の低減の結果として生体親和性を示したと考えられる。TiとNiTiへの反応は類似しているが、より詳細に見ると細胞核の密度、染色濃度はNiTiのほうがTiよりも高く、相対的に生体がより強く反応していることを示している。純Tiのほうが、長期的には生体親和性がより良好と予想される。Feは、溶出は大きいのが害性は小さく、すでに被包化している。AgおよびNiを含有するステンレス鋼 (SUS316) では、まだ線維性結合組織は形成途中である。各材料の生体適合性の程度を敏感に反映して組織反応性が変化していることがわかる。

以上のように、通常 (すなわちマクロサイズでは)、材料の有害性の程度に差異はあるものの、生体適合性は、まず材質、すなわちイオン化傾向に代表されるような材料の化学的イオン溶出性に第一義的な影響を受ける。

### 微粒子の生体反応性：生体外 (*in vitro*) 試験

つぎに材料がマイクロサイズ化したとき、すなわち微粒子の生体反応性を *in vitro* 細胞機能性試験の結果で示す。

図2は各種微粒子を混和した細胞培養用Hanks溶液 (HBSS) 中のヒト好中球の顕微鏡像である。図2aは通常 (コントロール) の好中球の走査型電子顕微鏡 (SEM) 像である。

好中球は白血球の約50%を占める5~10 μmと比較的小さな顆粒球で、生体内の異物に対して非特異的に反応する貪食細胞の一種である。

図3はこのときのヒト好中球からのサイトカインIL-1βの放出をTi微粒子サイズに対して示したものである。サイトカインは細胞から放出される比較的低分子量のタンパク質で、細胞間のシグナル伝達、新たな細胞の分化・誘導などの機能を果たしている。サイトカインは多数存在するが、IL-1βは炎症性反応の程度を示す最も代表的な指標の一つである。

Ti微粒子サイズが150  $\mu\text{m}$ から0.5  $\mu\text{m}$ へ順次小さくなるにつれ、IL-1 $\beta$ の放出量は増加する傾向にあるが、とりわけ10  $\mu\text{m}$ 付近から急激に増加している。同様にヒト好中球からの活性酸素産生量を測定すると、粒径が小さくなるとともに産生量が増加し、細胞生存率については順次低下した(文献1, 2)。これらの指標はいずれも微粒子サイズの減少とともに、細胞刺激性が増加し、細胞がTi微粒子を異物とみなして反応し、特に10  $\mu\text{m}$ を切ると著しく刺激性が増大することで一致している。

図3の実験条件における液中での好中球の形態を観察すると、3  $\mu\text{m}$ 以下の粒子でのみ好中球による貪食像が観察された(図2)。図2c, dは、0.3  $\mu\text{m}$  TiO<sub>2</sub>, 0.5  $\mu\text{m}$  Ti粒子混和液中で観察された好中球の光学顕微鏡像, SEM像である。それぞれ、偽足を伸ばし貪食しようとしている様子をとらえている。この好中球をエネルギー分散型X線分光(EDS)で元素分析すると、Tiが検出され、好中球によるTi粒子の貪食が確認される。図2bはNi微粒子(0.5  $\mu\text{m}$ )について同様な実験を行ったときの好中球のSEM像で、Niの強い為害性のために細胞は破壊されている。好中球の大きさは約5~10  $\mu\text{m}$ であり、3  $\mu\text{m}$ 粒子は貪食可能であるが、10  $\mu\text{m}$ 以上の粒子では不可能と考えられる。図3に示された刺激性は、こうした異物に対する細胞の防御作用と密接に関連しており、微粒子サイズが細胞以下になり、貪食を誘発するようになると刺激性は一段と亢進する。

以上の条件下でTi微粒子からの溶出量の高周波誘導結合プラズマ(ICP)元素分析を行うと、検出限界値以下であり、Tiイオン溶出は無視できると考えられる。すなわち、図3でTi微粒子が示した刺激性・為害性は、化学的イオン溶出が無くとも発生するのであり、同様なサイズ依存性はFeなどの金属、TiO<sub>2</sub>、カーボンナノチューブなどのセラミックス、ポリ乳酸などのポリマーでも、バイオアクティブ\*1、バイオイナー\*2材料全般に見いだされる。微粒子特有の物理的サイズ・形状に由来するものであることがわかる。もともと為害性のあるNiでは、サイズ依存性を示すが、産生量の絶対値などは、やや異なる挙動を示す。

### ナノトキシコロジー効果

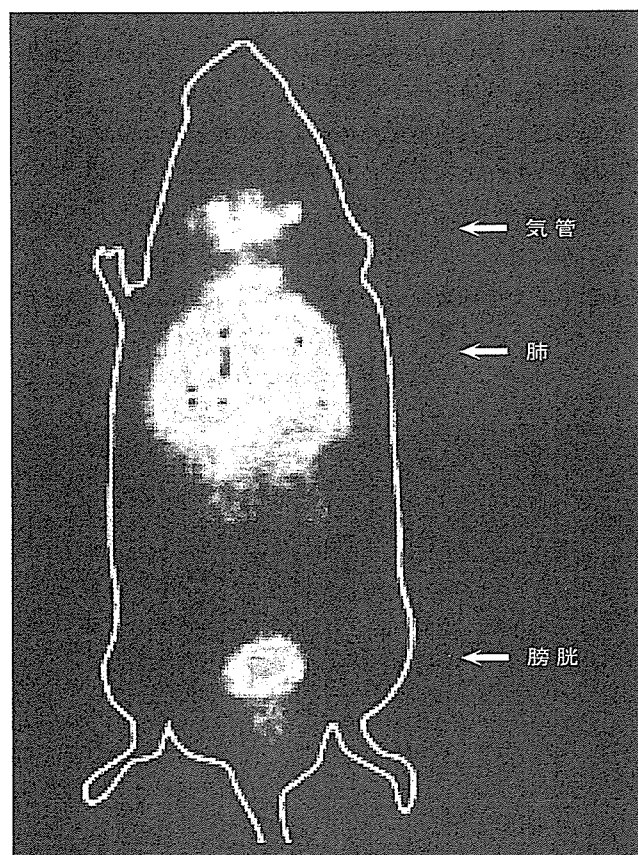
上述のように微粒子になり、材料のサイズが細胞と同程度

\*1 バイオアクティブ(bioactive, 生体活性)；骨誘導性を示すアパタイトなどにより積極的に生体の活性を引出す物質。

\*2 バイオイナー(bioinert, 生体不活性)；Ni, Cd, Beのような為害性は示さないものの、アパタイトのように積極的に生体の作用を誘導することもない物質。アルミナ、カーボンなど。

(約10  $\mu\text{m}$ )になると刺激性が亢進し、Tiのような生体親和性材料でも炎症を誘発する。一方、アレルギー性を示す代表的な金属のNiでは、組織埋入試験を行うと、マクロサイズでは周囲組織の壊死、炎症をひき起こすが、マイクロ/ナノ微粒子になると1年埋入後には腫瘍を誘発する(文献12)。もともと為害性を示す材料では、マイクロ/ナノサイジングに伴う比表面積増大効果(同一体積に対する微粒子の全体の総表面積は、粒径が小さいほど増大する)により、為害性も著しく亢進する典型的なナノトキシコロジー効果である。図3で示された微粒子の細胞刺激性は、約0.5  $\mu\text{m}$ を頂点に、さらに小さくなるとむしろ低下する。応用の観点からは、これは一見都合がよさそうに見えるが、また異物に対する生体の認識能力あるいは防御能力が低下するという意味ももつ。

微粒子は大きさが約10  $\mu\text{m}$ を切ると気管支を通過する。図4は化粧品に使われている30 nmのTiO<sub>2</sub>粉末をラットに強制曝露試験をしたときのX線走査型分析顕微鏡(XSAM)による



ナノ粒子は呼吸器系を通じて体内に取込まれ、全身に拡散する。

図4 ナノトキシコロジー：30 nm TiO<sub>2</sub>粒子の強制曝露試験後の全身のTi元素分布像



るTi元素分布像である(文献12)。吸引後のラットの体内におけるTiO<sub>2</sub>の全身分布を示している。およそ50 nm以下のナノ粒子は、人体が生体防御機構の対象と想定してこなかったサイズであり、呼気によって肺胞に到達し、肺から直接血中に取り込まれ、全身に拡散することを示している。こうした微粒子は、材質や大きさによって細胞死を導きその場に蓄積するものと、血流によって他臓器に到達蓄積するものがある。薬剤の場合は意図的に血液に投与されるのに対し、これらは意図せずして血中に侵入し回流する効果である。

### 形状効果——アスベスト効果

図3で示したサイトカインIL-1 $\beta$ 産生の微粒子サイズ依存性試験を、TiO<sub>2</sub>を用いて球状ないし塊状微粒子(直径)と針状微粒子(長径)について比較すると、塊状微粒子では図3のTi微粒子と同様に、10  $\mu$ mでは3  $\mu$ m以下に比べてIL-1 $\beta$ 産生量が著しく低いのにに対し、針状微粒子では10  $\mu$ m以上でもなお3  $\mu$ m以下のレベルに近い産生量を示し、高い刺激性を示すことが定量的に示される(文献12)。

アスベストの発がん性はよく知られているが、アスベスト自体は粘土鉱物の一種であって、本来材質に為害性があるわけではない。粉末形状が針状結晶であるために生ずる物理的微粒子為害性効果が第一の要因である(文献13)。アスベストと総称される繊維状鉱物のうち、代表的なクリソタイル(白石綿)、クロシドライト(青石綿)、アモサイト(茶石綿)をSEM観察すると、クリソタイルでは比較的湾曲した形態を示すのに対し、発がん性が高いとされるクロシドライト、アモサイトでは顕著な針状形状を示し、またEDS元素分析

を行うと、多量のFeを含有している。

図5はクロシドライトとカーボンナノチューブを混合し、水中かくはん後、乾燥させたときのSEM像である。図の左半分に個別に分散しているものも含め、針状粒子はクロシドライトで、カーボンナノチューブの大部分は、中央から右にかけての微粒子集合体の内部に凝集している。カーボンナノチューブの形態が屈曲性に富み、疎水性で凝集しやすいのに対し、アスベストは親水性で分散しやすく、ダストとなって個々の針状粒子が容易に脱落する。それらの中には気管支を通過し、肺胞に達するサイズのものが多数含まれている。アスベスト代替品(アルミナ)では、直径が5~10  $\mu$ m、長さが数10  $\mu$ mあり、形態の観点からも気管支を通過しにくい大きさになっている。

### カーボンナノチューブのバイオ特性

カーボンナノチューブは、主として電子エミッター、燃料電池などの材料として、電子、化学分野で注目されているが、バイオ応用に注目した研究はほとんどなされていない。欧米からは、肺がん誘発性のあるアスベストとの形状の類似性の連想から、カーボンナノチューブにも重大な為害性の可能性があるという懸念が、ナノトキシコロジーの典型例として出されてきている(文献14)。

筆者らの細胞機能性試験、動物埋入試験からは、バイオナート材料一般に起きる程度の微粒子刺激性はもつものの、短中期的には、アスベストに見られるような特異的な生体為害性は認められず(文献4~6)、むしろ生体材料として有利な細胞・組織に対する特徴的な種々の親和性が多数見いださ

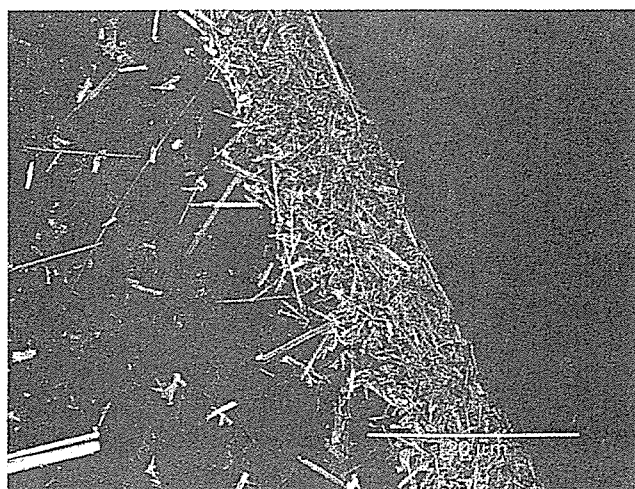


図5 アスベスト(クロシドライト)の分散性(写真左側)とカーボンナノチューブの凝集性(写真中央内部)

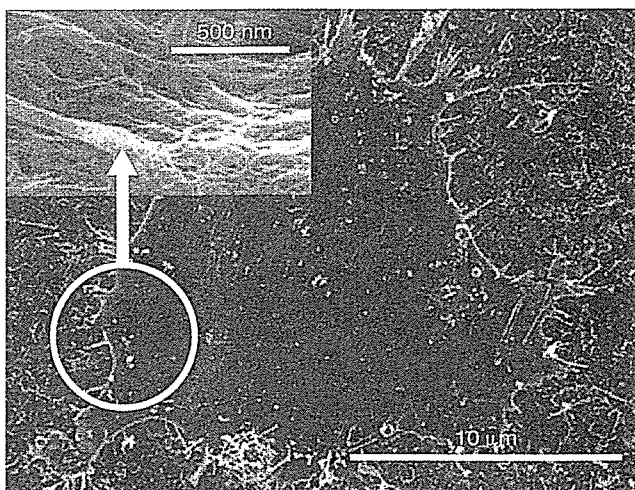


図6 カーボンナノチューブスカフォールド上の培養細胞は高い増殖・伸展性を示し、末端から多数の細胞突起を張り出し強く付着する

れた。バイオ用カーボンナノチューブの開発(文献7, 8), 糖鎖・アパタイトによる表面修飾, 細胞培養・組織再生用の足場(スカフォールド)(文献9, 10)などのバイオ応用のための開発を行ってきた。

図6はカーボンナノチューブを細胞培養のスカフォールドとして用いた際の結果である。元素的には同じカーボンでありながら, グラファイトでは細胞や血球が付着しにくい抗血栓性を有することから人工心臓弁材料として使用されているのに対し, カーボンナノチューブ上では, 細胞は高い付着・伸展性と増殖性を示し, 末端から多数の細胞突起を張り出し強く付着する(文献10)。

### 結 論

およそ100  $\mu\text{m}$ 以上のTi粒子は, 巨視的サイズのインプラント(文献11)と同様の生体親和性を示すが, 50  $\mu\text{m}$ 以下では刺激性が亢進し, 特に10  $\mu\text{m}$ 以下になると貪食作用を誘発し, 長期間炎症反応をひき起こす(文献1)。このような効果は, Ti, Feの金属,  $\text{TiO}_2$ , 磁性微粒子の酸化物, ポリ乳酸の高分子のいずれの材料にも見いだされ, 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, 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。

すなわち, 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,  $\mu\text{m}$ ~ $\text{nm}$ になるとバイオアクティブ, バイオイナート材料でも, 材質非依存的に微粒子の物理的サイズ効果による細胞毒性が顕現化する。その為害性の程度は, 細菌内毒素に比べると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, 長期間炎症を継続する点で注意が必要である。バイオアクティブ, バイオイナート材料の場合, この刺激性は急性の強いものではなく, 通常の日常生活ではあまり問題ないものと思われるが, 長期蓄積するような条件下では炎症が継続して慢性化し, 20~30年かけて中皮腫を発症するに至るアスベスト禍のような効果も可能性として考えられる。

材料のナノサイジングにより化学反応性は亢進するから, 人間の意向とマッチすれば高機能性となるが, 意図せずして為害性に働くナノトキシコロジーとして現れたとしても決して不思議ではない。ナノ微粒子は, 生体がもともと想定していなかった対象である可能性がある。このナノトキシコロジーという用語はナノテクノロジーに対応し, わかりやすい。しかし, 微粒子に特有な生体反応特性は $\mu\text{m}$ 付近から開始し, さらに長期的な組織埋入試験では100  $\mu\text{m}$ 付近から現れる。この意味で, 微粒子効果という観点からは必ずしも正確な用

語ではない。

筆者らは, ナノテクノロジーの人体へのバイオ応用には, あらかじめ起こりうる生体反応と条件を把握する必要があるということデータをに基づき提起してきたが, 日本では必ずしも認知されていない。この間, 必ずしもデータが出て先行しているわけではない欧米が, 積極的に世界標準や規制といった観点から国際的な枠組みをまず構築し, 主導権を握りつつあり, 日本は後発的に参加しようとしている。日本の科学の展開に特徴的な推移である。しかし, 生体反応性への材料のマイクロ/ナノサイジング効果の解明と制御は, ナノテクノロジーの進展にとって, 材料学的にも医学的見地からも新たな大きな発展につながる本質的な学問分野である。今後, 製品の開発後に安全性をチェックするという姿勢から, 社会的責任からもトータルな経済性の観点からも, 当初から応用と安全性をセットにした開発と商品化を行う体制へと, 時代の趨勢は赴くことになるだろう。

### 参 考 文 献

1. R. Kumazawaほか, *Biomaterials*, 23, 3757 (2002).
2. K. Tamuraほか, *Materials Transactions*, 43 (12), 3052 (2002).
3. 亘理文夫ほか, “微粒子と生体反応”, ナノ学会会報, 2 (1), 33 (2003).
4. A. Yokoyamaほか, *Nano Lett.*, 5 (1), 157 (2005).
5. K. Kiuraほか, *J. Biomed. Nanotechnology*, 1, 359 (2005).
6. Y. Satoほか, *Mol. Biosys.*, 1, 176 (2005).
7. Y. Satoほか, *Mol. Biosys.*, 1, 142 (2005).
8. M. Ushiroほか, *Phys. Rev. B*, 73, 144103/1-11 (2006).
9. S. Liaoほか, *Biomaterials*, 26, 7564 (2005).
10. N. Aokiほか, *Chem. Lett.*, 35 (5), 508 (2006).
11. F. Watariほか, *Composites Science and Technology*, 64 (6), 893 (2004).
12. 亘理文夫 編, 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 ナノメディシン分野 平成14~16年度総合研究報告書「ナノチューブ, ナノ微粒子, マイクロ微粒子の組織応用性とバイオ応用」, 1~377 (2005); 亘理文夫 編, 同平成16/15/14年度総括・分担研究報告書, (平成16年度) p.1~227 (2005) / (平成15年度) p.1~262 (2004) / (平成14年度) p.1~168 (2003).
13. 亘理文夫 編, 「ナノトキシコロジーアセスと微粒子・ナノチューブのバイオ応用」第1回研究会抄録集, p.1~35 (2005); 第2回研究会抄録集, p.1~45 (2006).
14. 松田正己, 現代化学2005年12月号, p.14.

# ナノテク以後

JJSB

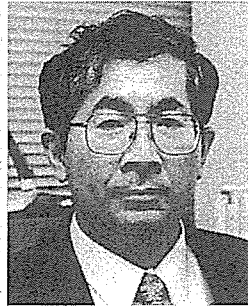
バイオマテリアル—生体材料 24巻4号 平成18年

大きな声では言えないが、(格下?と  
思っていた、あるいはマスコミに  
思わされていた相手に)いよいよに  
されてしまった。6月に開催されたワ  
ールドカップ/オーストラリア戦での  
サッカーである。あと10分という  
ところでバタバタと3点入れられてし  
まった。なんということであろう。こ  
のやり場のないフラストレーション  
をどうしてくれよう。

さて、試合が終わって考えてみる  
と、日本は試合を通しての戦略に欠  
けていたように思える。炎天下、選手  
交代をせずに必死に精神力で頑張っ  
てきた日本勢に対し、オーストラリ  
アは上背のある新手の選手をフォ  
ワードにつきからつぎに投入し、圧  
力をかけてきた。圧倒する圧力に耐  
えきれずついに突破され同点になっ  
たとき、振り出しに戻った日本はも  
う精神的にも立ち直れなかった。日  
本らしい負け方である。相手の監督  
の打つ手がまさに当たったゲームで  
あった。

日本発のスポーツ競技は、柔道、空  
手、相撲、剣道といずれも個人技で、  
団体スポーツがない。団体スポーツ  
の多くは起源が戦闘の訓練に關係が  
ある。日本でも、古来けっして出来な  
いはずはないのだが、ゲームとして  
はつくられていない。団体戦には個  
人戦にはない、人材の適材適所への  
配置と活用、多様多彩な戦術・戦略  
がある。個人技においては道を究め  
る名人による戦術は確立されても、  
さまざまな構成員からなる組織全体  
の運動を図る戦略的思考に長けてい

## 提言



### 亘理 文夫

Fumio Watari

北海道大学大学院歯学研究科  
口腔健康科学講座生体理工学教室教授

るとは限らない。多様性の存在価値  
を認めず、単一効率化を図るのは日  
本文化の特徴の一つでもあるが、こ  
れのみではかつて国際的視野と戦略  
的複眼を持つことなしに、情動的な  
政治変動を繰り返し、戦争に引きず  
り込まれていったドグマ的な視野狭  
窄に陥る可能性がある。

サッカーはイギリスが発祥である  
が、お家芸とはならず、いまや人類  
全体に広汎に愛されているスポーツ  
競技である。野球に音楽に、日本人の  
海外への進出は目覚ましい。こうし  
た活躍の場は、基本的に国際的に開  
かれ、名声や権威が確立している。  
ウィンブルドン・テニス大会、マス  
ターズゴルフ、野球の大リーグ、チャ  
イコフスキー音楽コンクール、ノー  
ベル賞、オリンピック—いずれも  
自国の人間のみが対象とは限らない。

美の都パリは世界中の画家にとって  
憧れであり、どの画家にとっても新  
たな創造を生み出す契機となっている。  
印象派以後を担った多くの画家、  
ゴッホやモジリアーニらはフランス  
人ではなく外国人であった。彼らの  
画業はパリが担ったものともいえ、  
パリは世界の、あるいは人類のパリ  
でもある。

翻って日本は、世界中から人々が  
憧れてやって来る場を提供している  
であろうか。国際的に権威が確立さ  
れた活躍の場は一朝一夕に出来たも  
のではあるまい。日本は評価の確立  
した場に出ていくのは、国内的にも  
認知されやすく得意である。そして、  
日本人が外国に伍して活躍するのを  
みて感動し、日本は外国に追いつい  
たといつてその姿に感動し、涙を流  
すのである。しかし日本の内部から、  
海のものとも山のものともつかない  
ものを提起したらどうであろう。当  
然、失敗はある確率で起きるのであ  
る。責任問題となるから、だれもそ  
んなことはやっていない、無駄なこ  
とに金を費やすべきではないといつて、  
十中八九まず国内で潰されるのでは  
ないか。これはこれでよい。しかし、  
他人がつくりあげた名声ある場を借  
りて参加するだけではなく、日本も  
またこうした場をつくり、提供すべ  
きではないか。

現在、ナノテクノロジー研究開発  
が花盛りである。材料もナノサイズ  
になると、表面の割合が体積内部の  
原子数と同程度になるとともに、量  
子効果の影響もあらわれはじめ、新

たな特性が発現する。こうした材料のナノサイジングに対して生体はどのように反応するのであろうか。

抗がん剤を健康組織に吸収させず、がん患部にのみ選択的に移送するDDS(ドラッグデリバリーシステム)は代表的なナノパーティクルのバイオ応用例である。その一方で、人工関節の骨頭摺動部から発生する摩耗粉は炎症を引き起こして使用の寿命を規定し、アスベストは材質的には粘土鉱物の一種でありながら、長期大量に吸引露曝すると約30年経て中皮腫を発症するに至る。

こうした現象には、たんに材質が毒性か生体親和性かという特性とは別に、微粒子というサイズ、形状に起因する効果が寄与しているものと考えられる。材料のナノサイジングにより化学反応は昂進するから、人間の意向とマッチすれば高機能性となるが、意図せずして為害性に働くナノトキシコロジーとしてあらわれたとしてもけっして不思議ではない。ナノ微粒子は生体がもともと想定していなかった対象である可能性がある。事実、筆者らはすでに、化粧品などに使用されている30nmの二酸化チタンナノ微粒子は生体防御機構をすり抜け、呼吸器系を通じ直接血流に入り全身に拡散することを見いだしている。

筆者らは、ナノテクノロジーの人体へのバイオ応用にはあらかじめ起こりうる生体反応と条件を把握する必要があるということを提起してきたが、必ずしも認知されてはいない。しかし材料のマイクロ/ナノサイジングに対する生体反応性のテーマはきわめて本質的な研究である。

アパタイトは骨伝導性にすぐれ、新生骨形成は促すが、それ自身は体内に残留し、骨に置き換わることはない。その意味で体内の構造材としてのインプラントに適している。し

かし、実際の骨や歯のアパタイトは50nm程度のナノ微粒子である。アパタイトをナノパーティクルにするとはじめは炎症を誘発する。これは用途によっては不適当である。しかし、やがて骨形成がはじまり、自身は骨と置き換わる。すなわち、ナノサイジングにより、骨伝導性から骨置換性に機能が転換するのである。これは、生体反応の微粒子サイズ依存性を調べてきた筆者らにはきわめてよく理解できる。

研究のテーマとして、あるいはもう少し生々しくいえば、研究費申請にナノテクを標榜するのは、これから何年つづくであろうか。ナノテクが為害性にも働くという議論はトキシコロジーの分野には新しいテーマを提供するが、一般にはマイナスと捉えられがちである。こうした場合の一つのパターンは、欧米はその将来に対する重要性を読み取り、逆に、積極的に取り込んで世界標準を作成する主体となって、あらかじめリーダーシップを取る。こうして、必ずしもデータが出て先行しているわけでもない欧米が国際的な枠組みをまずつくってヘゲモニーを握ったあとで、日本はその権威を讃仰して参加国の一つとなるのである。国内的にはその独占代理権を握った代表者や機関が国内的な権威を確立する。しかし、これは国内にのみ通用する姿勢である。

新規研究としてナノテクノロジー開発を標榜できるのはあと5年程度に思う。その後は、現在、ポストゲノムといわれるように、それまでのナノテク開発の成果を各応用分野に取り入れ、実用に適用する収穫期——ポストナノテクの時代になるだろう。ナノテクの研究段階の進展はカーボンナノチューブを例にとるとわかりやすい。最初に電子エミッターやプローブチップなど、電子材料への応

用開発がなされ、つぎに水素吸蔵などの化学材料、その後機械的特性のコンポジットほか構造用強化材としての応用がつづき、バイオ応用はまだほとんどなされておらず、これからであり、最も遅く来る。

そして、ナノサイジングに対する生体反応性は一方で規制の観点から研究を進める立場もあるが、筆者は、ナノサイジングの効果は機能性も生体刺激性も両者併せ持つのであり、その解明とコントロールはナノテクノロジーの進展にとって、材料学的にも医学的見地からも、新たな、大きな発展につながる学問領域とみる。

テレビのいうことは絶対に正しいと思いがちな国民に対して、マスコミに出るとまずいといって情報操作をする——これは長期的観点からみて必ずしも国民に益するとは限らない。自民党をぶっつぶすと言って登場した小泉首相は、その是非には賛否があるものの改革を指向し、歴史的な宰相になりつつある。しかし、その多くは経済の効率化に向けられている。むしろ、日本国内にしか通用しない考え方や意向といった姿勢を改革し、将来の科学の方向性に影響を及ぼす指導的立場にある人々に、日本国内にのみ通用する姿勢ではなく、国内に通用する姿勢が即、世界標準になるような見識を持って施策を執ってほしいと思うのである。すでにナノテク研究が開始して20~30年、日本はナノテク開発に関して資金的にも層の厚さや規模の点からも欧米と並ぶ、世界をリードする3極の一つである。

日本は世界を追いかける日本ではない。世界をリードする日本である。ナノテクにつづくポストナノテクの時代、日本の科学はさてどのようなフィロソフィーをもって推進されるであろうか。