

生体観察を目指した TEM エンバイロメンタルセルの開発状況

○ 大貫 惣明 奥寺 公也 濱田弘一
北海道大学大学院工学研究科材料科学専攻

【緒言・目的】 生体の含水組織の透過電子顕微鏡観察の要望は高く、その方策として、いわゆる環境セル（エンバイロメンタルセル）の作成が試みられてきた。しかしながら、十分な成果が得られてはいない。これは電子ビームに対する透過性で強度の高い真空隔膜の開発が鍵となっているためである。我々は、反応性の高いガス環境での透過電顕観察を目的としてエンバイロメンタルセルの改良を行っている。その結果、大気圧でも観察可能な装置を開発するにいたっている。今回はこの開発の状況を概説し、含水性の生体を観察するための方途について、その経過について報告する。

【実験方法】 製作したクローズ型環境セルの模式図を Fig. 1 に示す。試料取付部に 0.5mmφ の孔があり、約 50nm 厚さの強化カーボン膜を張った 2 枚の 3mmφ グリッド間に試料と反応ガスを通すものである。試料は水素反応性の高い Mg の微粉末を用いた。まず、MgH₂ 粉末を真空中で約 250℃、30 分程度保持して脱水素化した後、活性な粉末表面を観察するために、Ar 雰囲気グローブボックス中で環境セル内に装填した。その後、加速電圧 200kV の汎用型 TEM により室温・大気圧の水素雰囲気中で連続的に写真撮影を行った。

【結果・考察】 Fig.2 は水素導入前（左）と水素を導入して約 30 分後（右）の Mg 粒子の様子である。水素化に伴い粒子は 10%程度膨張することが示された。また、Fig.3 は Fig.2 に対応した部位と時間での電子回折像である。リングの径が減少していることから、水素化によって格子間隔が増加したことがわかり、粒子が膨張した Fig.2 に対応する結果となった。以上のように、環境セルを用いて Mg の水素化過程を直接観察することに成功した。今後は、生体への適用をこころみる。

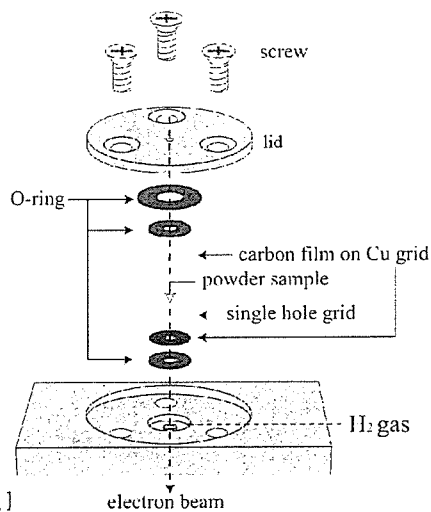


Fig.1

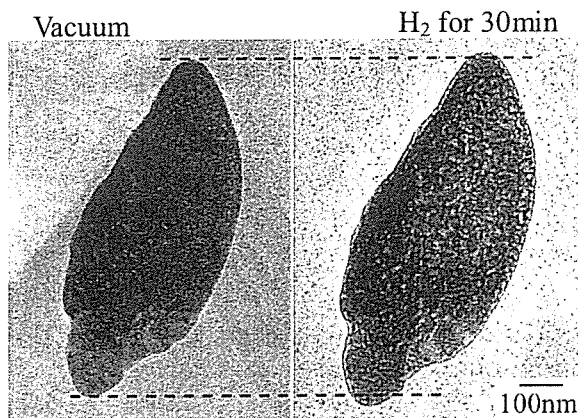


Fig.2 Expansion of Mg particle by hydrogenation under 0.1 MPa H₂ at RT.

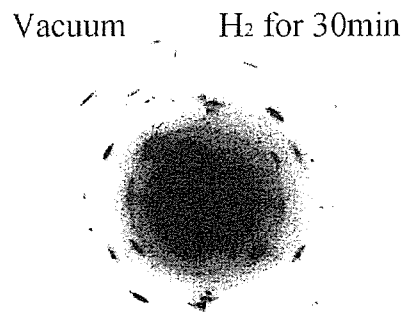


Fig.3 Diffraction patterns before and after Hydrogenation.

チタン摩耗粉・微粒子と体内動態

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部

○浅岡憲三

1. ナノ微粒子の体内動態

図1に示すように、人工関節の摺動部でポリエチレンなどの摩耗粉が生成すると、骨のみならず軟組織に対しても臨床さまざまな問題を引き起こすことが知られている。特に、骨に対しては摩耗粉がマクロファージに貪食される過程で種々のサイトカインが分泌され、これが破骨細胞の働きを活性化させる。その結果、人工関節の周囲に骨融解が生じ、人工関節の弛みへと進行し、最終的に再置換術を余儀なくされることが報告されている。こうした、微粒子と組織との関係は、骨のみならず他の生体組織においても免疫反応と関係して、生体機能、形態形成に影響があると考えられる。

2. 摩耗粉生成の環境因子

インプラント、歯科材料についても、体内で微粒子が生成されている可能性は否定できない。特に、卑金属系材料では、表面皮膜の剥離により酸化物の微粒子が生成することが懸念される。

2-1 チタンと水素

チタンは活性な金属であるが酸化膜により耐食性が発現している。そして加工・熱処理のプロセスと関係して、酸化膜が非晶質、アナターゼ、ルチルなどの構造をとる。酸化膜の諸性質はその構造と組成により異なる。

チタンは水素吸蔵合金として知られている。すなわち、水素を取り込み脆化（水素脆性）する。非晶質の酸化膜は水素を透過するが、結晶化した酸化膜は水素透過の遮蔽効果をもつ。

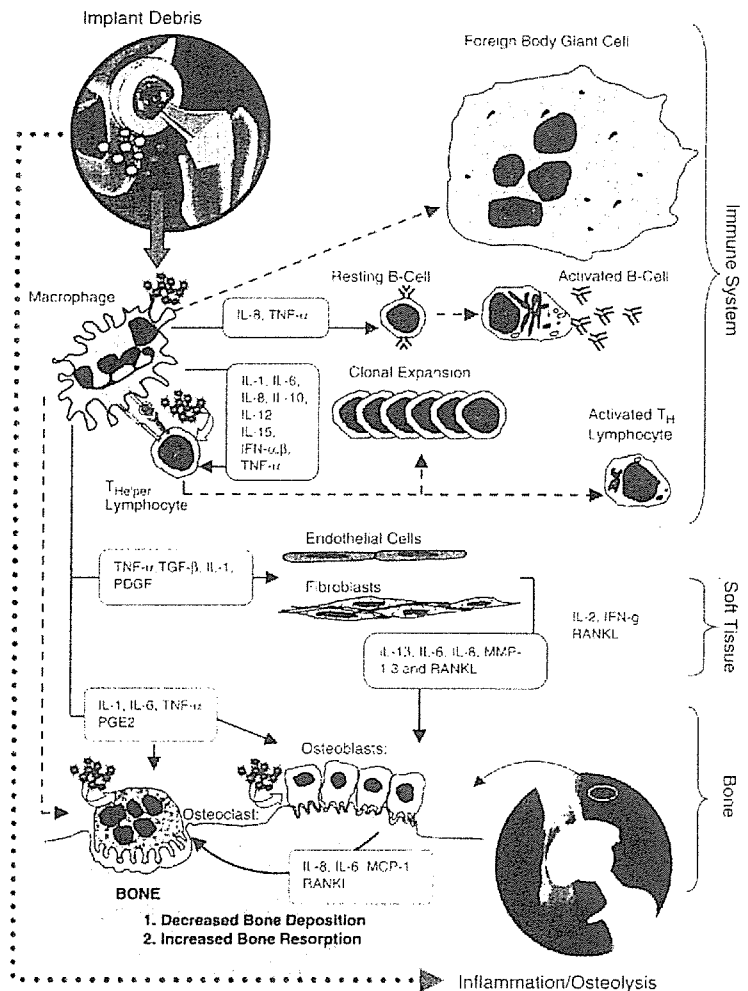


図1 人工関節・人工骨脱落の機構

図2にチタン-水素の状態図を示した。 α -Ti中に拡散した水素はほとんど固溶しないで水素化物(TiH_2)として析出する。

2-2 生体内での水素吸蔵のメカニズム

a) 生体内水素イオンの吸蔵：タンパクの吸着などによる局所的な pH の変化など生体反応との関係で表面水素濃度が高くなり、材料中に水素が拡散する。
 b) ガルバノ電池：チタンはステンレス鋼やニッケル・クロム鋼よりもカソードになるため、相手側金属の腐食を促進するが、自身は変化せず表面で水素が発生する。

c) 摩耗による再不動態化：チタン酸化物が剥ぎ取られた後に表面が再不動態化する過程で水素が発生する。

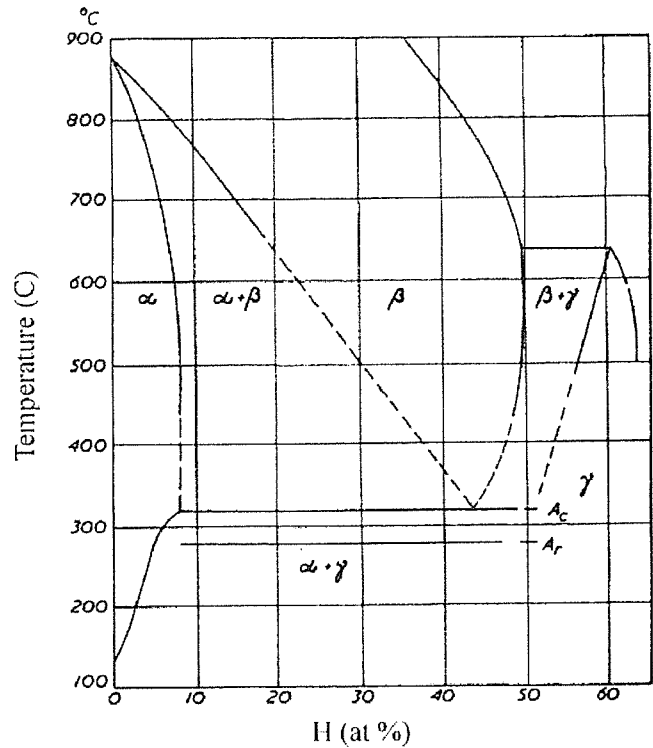


図2 チタン-水素の状態図

Constitution of Binary Alloys: McGraw-Hill, 1958, p. 800.

2-3 クラック先端での水素吸収促進のメカニズム

表面に微小クラックが発生するとクラック内に体液が閉じ込められる。クラック先端で酸化膜が剥離するが、剥離すると近傍の液が酸性化し、水素吸収が促進される。また、局所的な溶存酸素の濃度分布の違いができ、濃淡電池の作用で金属イオンは開口部付近の陰極部に吸い寄せられ、水、酸素を還元し、自身は酸化物となって析出する。その際に水素イオンが過剰になり、これが閉じ込められた体液を酸性化して水素吸蔵反応を加速的に促進する。

3. 研究課題

- 1) チタンの水素吸蔵と摩耗粉生成機構：上記の水素が介在した摩耗粉、微粒子の生成機構の仮説を実験的に検証する。
- 2) ナノ微粒子の体内動態と免疫系への影響：人為的に作製した摩耗粉、微粒子の免疫反応について実験的に検証する。

研究事業名：平成18年度厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業
研究課題：「ナノ微粒子体内動態可視化法の開発」
(課題番号) (H18-化学一般-006)

第1回研究発表会

口腔癌における PET 診断
北海道大学大学院歯学研究所口腔病態学講座 口腔診断内科学教室

齊藤正晃、北川善政

PET(positron emission tomography)はポジトロン標識薬剤を用いて、生体の代謝情報を定量的な画像として表示する優れた診断法である。悪性腫瘍では各種代謝が亢進していることが知られ、口腔外科、頭頸部外科領域においても腫瘍診断にトレーサーとしてグルコース代謝をみる¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG)を用いた PET 検査が最もよく行われている。FDG PET を用いることにより、癌の検出のみならず癌の増殖や代謝を反映した情報が得られることから、癌診療面においても貢献する潜在能力は極めて大きいと考えられる。

私共は1994年より口腔悪性腫瘍のPET研究を行ってきた。PETにより従来の形態診断では得られないブドウ糖の代謝活性(viability)を反映する全身の機能画像が得られ、腫瘍の存在診断、病期分類、治療効果判定、再発の早期診断など临床上多くの有益な情報が得られている。

口腔癌の治療においては生存率の向上のみならず口腔機能や審美性の温存も重要な課題である。近年、外科的侵襲を軽減するため、術前にNeoadjuvant therapyとして放射線化学療法が行われ、その有用性が報告されている。しかし、縮小手術で機能を温存するためには正確な治療効果判定、残存腫瘍の有無の評価が非常に重要である。従来、癌の治療効果判定は形態的手段により、腫瘍容積の減少を指標に行われているが、放射線化学療法後の腫瘍活性能の変化を診断することは困難であった。一方、PETは代謝活性(viability)を表わしているので、癌の治療効果を直接評価できると考えられる。また、腫瘍の糖代謝、すなわちFDGの集積程度をstandardized uptake value (SUV)を用いて定量化することによって、より客観的評価が可能になる。

ここでは、放射線併用動注化学療法(ケモラジ)をPETで評価し、低侵襲手術により実際に口腔機能や器官温存が可能になってきているので臨床例を紹介し、PETの有用性についてまとめてみたい。

ナノ・マイクロ微粒子に対する細胞・組織の反応

所属・氏名

北海道大学大学院歯学研究科口腔病態学講座口腔顎顔面外科

○高師則行・田村一央・戸塚靖則

1. 研究目的

近年様々なバイオマテリアルが開発され、医療に応用されている。しかし、生体親和性に優れたバイオマテリアルでも生体内で磨耗、溶出することで、局所の組織の炎症、壊死、アレルギーあるいは全身症状を引き起こすことが知られている。これまで、歯科用材料では、生体に対する為害性の評価として、細胞毒性試験が行われてきた。細胞毒性試験では主に細胞の生死、増殖能、形態変化、溶血性を指標としているが、臨床成績と関連性が見られないことが多い。これは、細胞機能について評価されていないことが原因と述べている報告がある。したがって、ナノマイクロ微粒子をバイオ応用する際の生体に対する影響については、細胞機能も含めた評価をする必要がある。

これまでわれわれは、ナノマイクロ微粒子が生体に与える影響について、病理組織学的変化と細胞機能的変化の観点で研究してきた。その結果、微粒子の組織細胞為害性因子について知見が得られた。今回その概要を報告する。

2. 実験方法

ナノ・マイクロ微粒子

チタン、鉄、ニッケル、金、石英ガラス、アルミナ、CNT、CNCを用いた。これらは、遠沈、フィルターや濃度勾配などで平均粒径をそろえた。

細胞

健康人より採血し、分離した好中球を用いた。

ラット

6から10週のウィスター系ラットを用いた。

細胞機能変化の評価として、好中球と微粒子を混和して下記項目を測定した。

細胞生存率。

乳酸脱水素酵素 (LDH)

活性酸素産生量

サイトカイン (TNF- α , IL1- β)

病理組織学的変化の評価としてラットの皮下に微粒子を埋入し、1,4週後に周囲組織を含めて摘出し、病理組織学的に観察した。

3. 結果

①細胞機能・病理組織学的変化におけるチタンマイクロ微粒子のサイズ依存性について

in vitroで、3 μ mのチタン微粒子は10 μ m以上のチタン微粒子よりも、有意に高いTNF- α の放出を誘導した。

in vivoで、50 μ m以上のチタン粒子は線維性結合組織に覆われていた。3 μ mの粒子では、細胞に貪食されていた。

②細胞機能変化から見た微粒子の材質依存性について

ニッケル微粒子の細胞生存率は、チタンや鉄と比較して有意に低下していた。

③細胞機能変化から見たナノ・マイクロ微粒子のサイズ依存性について

500～800nmの微粒子は30～100nmの微粒子よりも有意に高く、好中球からのTNF- α 、IL1- β 、活性酸素放出を誘導した。

④病理組織学的変化から見たナノ・マイクロ微粒子のサイズ依存性について

ナノレベルのCNT、二酸化チタンを皮下組織に埋入したところ、周囲組織の血管拡張、炎症細胞浸潤が観察された。しかし、炎症の程度は3 μ m～500nmと比較して軽度であった。

⑤細胞機能変化から見たナノ・マイクロ微粒子の形状依存性について

針状粒子は同サイズの球状粒子と比較して、細胞生存率が低く、LDH放出量は高かった。TNF- α 放出量は形状による差を認めず、サイズによる有意差が認められた。IL1- β はサイズによる差を認めず、形状による差を認めた。

4. 結論

ナノマイクロ微粒子が生体に与える影響因子として、材質、サイズ、形状との関連性が示唆された。今後、ナノマイクロ微粒子のバイオ応用を考える際にはこれらのことを考慮する必要があると考えられた。

蛍光ラベリングによる体内分布表示

古月文志（北大環境科学院）

ナノ粒子を特異的な蛍光色素で標識（ラベリング）することにより、その生体内での挙動を画像にする所謂「イメージング技術」を紹介する。また、蛍光色素をナノ粒子につける所謂「ドッキング方法」についても概説する。

表1 代表的な（汎用）細胞染色用色素（参考文献 Dojindo）

名称	構造	分子式	性質
Calcein-AM 3', 6'-diacetyl-4', 5'-bis [N, N-bis (carboxymethyl) aminomethyl] fluorescein, tetraacetoxymethyl ester		$C_{46}H_{46}N_2O_{23}$	カルセインの4つのカルボキシル基をアセトキシメチルエステル（AM）化することにより、細胞膜透過性が増される。Calcein-AM 自体は殆ど蛍光を示さないが、細胞内のエステラーゼによる加水分解で、カルセインとなる。カルセインは膜不透過性の化合物であり、強い黄緑色の蛍光 ($\lambda_{ex} = 490 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 515 \text{ nm}$) を示す。 —生細胞染色用蛍光色素
Propidium Iodide (PI) 3, 8-diamino-5-[3-(diethylmethylammonio)propyl]-6-phenyl phenanthridinium diiodide		$C_{27}H_{34}I_2N_4$	Propidium Iodide (PI) は phenanthridium 系の染料に分類されるカチオン性の蛍光色素であり、DNA の二重螺旋構造に挿入することにより特有の赤色蛍光 ($\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 610\text{-}620 \text{ nm}$) が増強される核酸染色の色素である。一般に生細胞の細胞膜は透過せず、死細胞にのみ入り込み核内の DNA に挿入し赤色蛍光を発する。 ——死細胞染色用蛍光色素

表2 代表的な「ドッキング方法」 (参考文献 Dojindo)

ドッキング部位 (官能基)	ラベル化剤	反応条件	蛍光特徴
カルボン酸	3-Bromomethyl-6, 7-dimethoxy-1-methyl-1, 2-dihydroquinoxaline-2-one	アセトニトリルに溶かし、炭酸カリウム (縮合剤)、80℃、20分加熱、流水冷却	$\lambda_{ex} = 370 \text{ nm}$ $\lambda_{em} = 450 \text{ nm}$
	4-Bromomethyl-7-methoxycouarin	アセトンに溶かし、縮合剤 (K_2CO_3) 存在下で40分加熱、冷却	$\lambda_{ex} = 360 \text{ nm}$ $\lambda_{em} = 410 \text{ nm}$
水酸基	3-Chlorocarbonyl-6, 7-dimethoxy-1-methyl-2-quinoxalinone	ベンゼンに溶かし、100℃40分加熱、冷却	$\lambda_{ex} = 400 \text{ nm}$ $\lambda_{em} = 500 \text{ nm}$
アミノ基	4-Chloro-7-nitrobenzofurazan 4-Dluoro-7-nitrobenzofurazan	アセトニトリルに溶かし、60℃加熱、氷水冷却	$\lambda_{ex} = 464 \text{ nm}$ $\lambda_{em} = 512 \text{ nm}$ $\lambda_{ex} = 470 \text{ nm}$ $\lambda_{em} = 530 \text{ nm}$

表3 カーボンナノチューブの蛍光ラベリングのための前処理

出発 CNT	誘導化剤	結合部位
酸化 CNT	なし	カルボン酸基
酸化 CNT	Ethylenediamine (DMF) (Composites Sci & Tech, 65 (2005) 1703)	アミノ基
酸化 CNT	Isobutylchloroformate ($(Et)_3N$) Anal. BioChem, 130 (1983) 485	Anhydride

Electroporation 技術 (NEPA GENE CO., LTD.) による蛍光化ナノ粒子の細胞内導入の試み
(強制導入による蛍光化ナノ粒子の細胞内導入技術について紹介する)

カーボンナノカプセルの特性と生体内での分布について

○宇尾基弘・赤坂 司・亘理文夫（北大院 歯学研究科）

佐藤義倫・田路和幸（東北大院 工学研究科）

1. 目的

金属炭化物含有カーボンナノカプセル(MECNC)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。このナノカプセルは内部に希土類を含有し、周囲をグラフェン構造で覆われるため、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適している。今回はナノカプセル精製時、特に大気酸化時の変化を検討した。



図1 MECNCのTEM像

またMECNCsをラットに投与し、生体内での蓄積挙動を調査した。さらにX線顕微鏡による生体内の金属分布分析についても報告する。

2. 方法

【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(以下Ce-CNC等と記す)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、超音波処理したものについても同様に調査した。

MECNCsの生体内挙動の評価については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坩堝内で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。

生体内の金属分布については、Cu, Niなどの金属棒をラット皮下に埋入し、2週後に摘出して、X線分析顕微鏡(堀場製作所XGT-2000V)により、金属棒周囲の溶出元素の分布を評価した。

3. 結果及び考察

【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℃で大気酸化した場合の希土類炭化物の変化を図2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。La-CNCsとNd-CNCsについては途中で炭酸塩に類似した化合物を作る傾向が見られた。またGd-CNCsについては比較的耐酸化性があり、450℃の処理でも一部ナノカプセルの残留が確認された。

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。

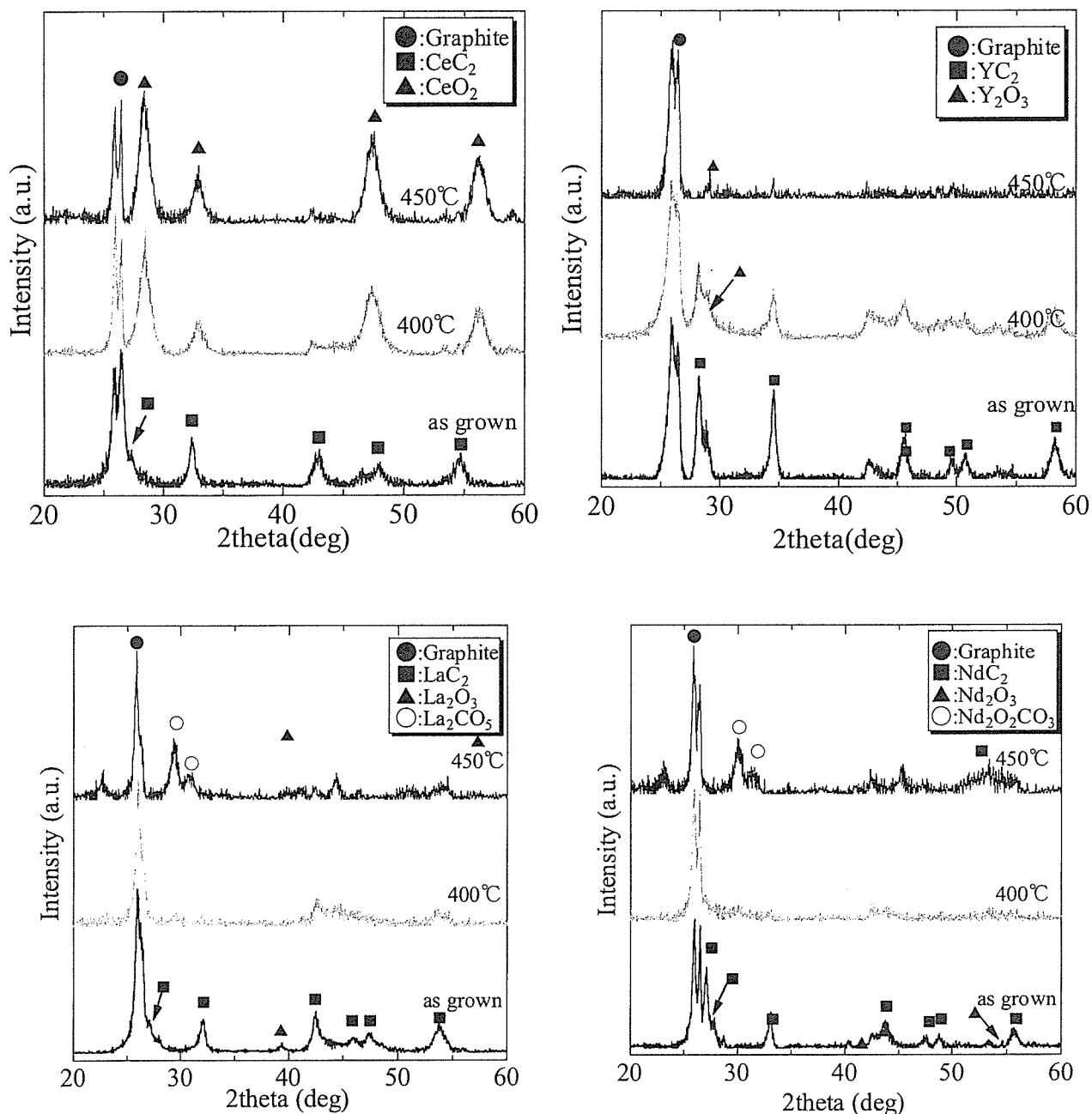


図2 加熱処理後の各種 MECNCs の XRD スペクトル

【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 5μg と推定され、投与した Ce-CNC が 300μg (50ppmCe-CNC 1ml

× 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貪食や尿への放出が考えられるため、今後さらに検討する必要がある。

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	—

【X 線分析顕微鏡による生体内元素分布】

Fe, Cu 及び Ni 小片を埋入した組織中の溶出元素の分布を図3に示す。

いずれの試料でも周囲組織への明らかな溶出が見られた。濃度標準試料を用いた実験から Fe, Cu, Ni の組織中への最大溶出濃度はそれぞれ約 5, 0.2, 0.1wt%と見積もられ、Fe が特に高濃度で存在することが分かった。これは Fe 小片が腐食して、いわゆるサビの微粒子が組織中に散在するためと考えられる。周囲組織の損傷は Ni と

Cu の場合には激しい損傷が見られるが、Fe の場合には大きな損傷は見られない。組織中濃度の低い Ni や Cr の方が組織損傷が激しいことから、Fe に比べてこれらの元素の毒性が相対的に強いことが示唆された

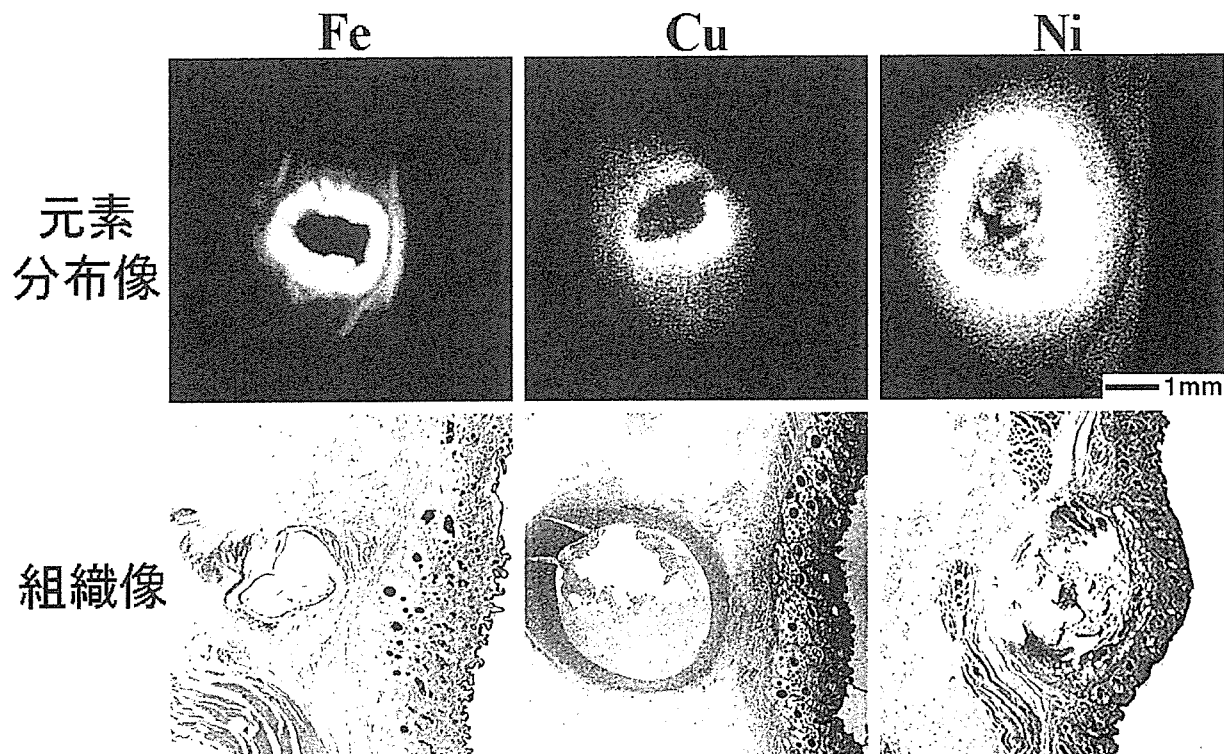


図3 金属埋入皮下組織中の溶出元素の分布

ナノサイズ結晶子炭酸アパタイトによる骨置換材の創製

九州大学大学院歯学研究院

○石川邦夫

1. 緒言

超高齢社会の到来に伴い骨再建術が急増している。骨再建術の第一選択は自家骨移植であるが、自家骨移植には健全部位への侵襲、採取可能骨の量的、形態的制限があり、自家骨と同様の機能を示す骨置換材の開発が望まれている。骨の無機主成分はナノサイズの炭酸アパタイトであるが、炭酸アパタイトは熱的に不安定で焼成すると分解するため、熱的に安定な水酸アパタイト焼結体が骨補填材として臨床応用されている。水酸アパタイト焼結体は骨伝導性を示すため自家骨が不足する症例には極めて有効であるが、自家骨と異なり生体骨に置換されないことが最大の問題点である。

骨補填材が生体骨に置換されるにはリモデリング

(図1：破骨細胞に吸収されるプロセスと骨芽細胞による骨形成プロセスが調和すること。)を受ける必要がある。破骨細胞が骨補填材を吸収するメカニズムはハウシッブ窩が形成する酸性環境による骨補填材の溶解であり、結晶性と炭酸基の含有量が溶解性に密接に関連している(図2)。

本研究においては生体骨に置換される骨置換材を創製するには焼結以外の方法で炭酸アパタイトブロックを形成する必要があるとの考えに基づき、炭酸アパタイトの熱力学的安定性を利用した相変換反応(溶解-析出反応)によって炭酸アパタイトブロックを調整し、その有用性を破骨細胞および実験動物にて検討した。

2. 材料と方法

炭酸アパタイトブロックは水酸化カルシウムの炭酸化によって調整した炭酸カルシウムブロッ

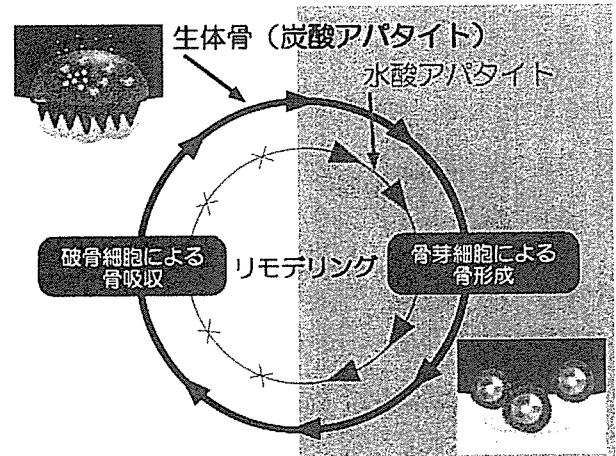


図1 リモデリングの概念図。
⇒破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が調和して進行し、骨はリモデリングされる。水酸アパタイトは破骨細胞により吸収されないためリモデリングされない。

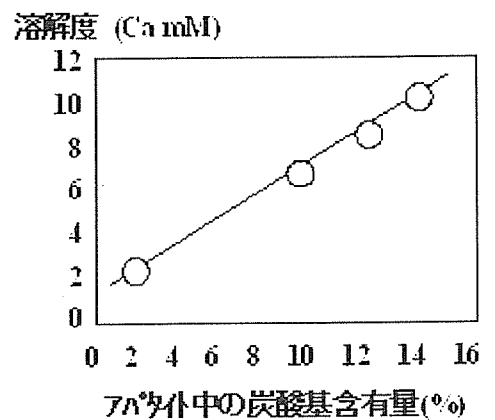


図2 アパタイト中の炭酸基量がアパタイトの解度に及ぼす影響
LeGeros and Ming: Caries Res 1983

クをリン酸ナトリウム水溶液中に浸漬し、溶解析出反応によってその組成を、炭酸アパタイトに変換した。組成は粉末X線回折装置およびフーリエ変換赤外分光光度計、CHNコーダー等により分析した。破骨細胞は胎生家兎よりChamber法にて調整した。実験動物としてはウイスター系ラットを用いた。

3. 結果と考察

水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素雰囲気中で静置することにより、その組成は炭酸カルシウム（カルサイト）となり硬化体を形成するため水中に浸漬しても崩壊しなくなることがわかった。また炭酸カルシウムブロックをリン酸水素二ナトリウム水溶液などに浸漬することにより形態を保持したまま低結晶性炭酸アパタイトブロックとなることがわかった。

水酸アパタイト焼結体は破骨細胞によって吸収されないものの、炭酸アパタイトブロックは破骨細胞により吸収されることがわかった（図3）。また、炭酸アパタイト顆粒はラット頭蓋骨に24週埋入するとほとんどが生体骨に置換することもわかった（図4）。

これらの結果から、低結晶性炭酸アパタイトは極めて有用な骨置換材となる可能性が高いことがわかった。

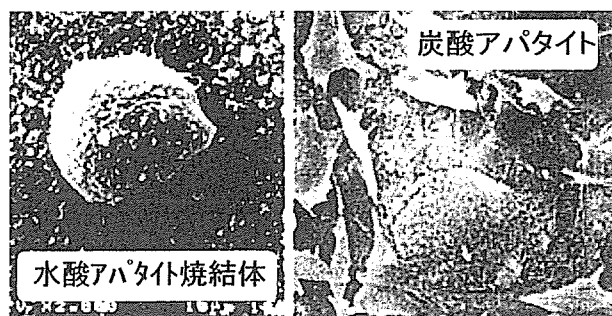


図3 水酸アパタイト焼結体および炭酸アパタイト構造体上で破骨細胞を培養した場合のSEM像。

⇒水酸アパタイトは破骨細胞により吸収されないが生体骨と同じ低結晶性炭酸アパタイトは破骨細胞に吸収される。

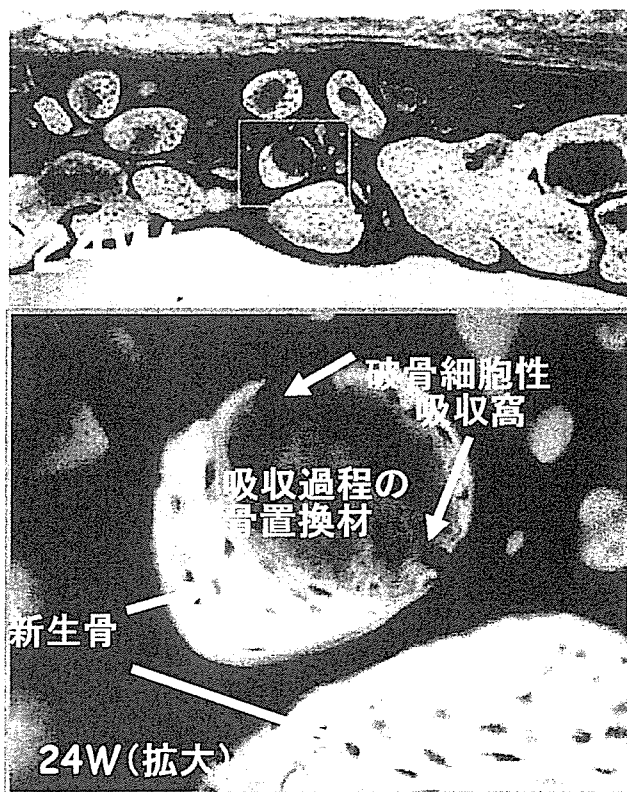


図4 低結晶性炭酸アパタイト顆粒でラット頭蓋骨に形成した骨欠損部を再建した場合の移植24週後の病理組織像。骨置換材の大部分は骨と置換している。一部の骨置換材は新生骨に覆われており、その表面に破骨細胞性吸収窩が認められる。

電界放出 X 線源

名古屋工業大学

奥山 文雄

1. FEX 線源とは

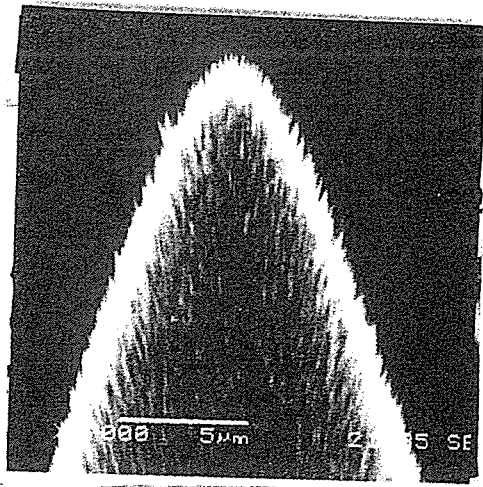
次世代の医療 X 線技術の課題は、微小病巣の検出・治療に加えて微細生体組織のイメージングであろう。このことは、X 線発生源の小型化及び X 線像の高解像度化が X 線技術のすう勢になることを示唆するが、目下の主流である TE 型 X 線源（制動 X 線源）は原理上、これらに対処することはできない。

電界電子放出(field-electron emission, FE)は、高電界下にある非絶縁体表面のフェルミレベルから電子がトンネル放出される、量子力学現象である。FE に必要とされる電界強度($10^7 \sim 10^8 \text{ V/cm}$)を得るには、電子放出源（エミッター）の曲率半径がナノメートル領域でなければならない。もしこの FE が利用できれば、X 線源の飛躍的な性能の向上と用途の拡大が望める。しかしながら、FE は表面現象であり、その特性は、エミッター表面の化学状態(吸着の有無)に決定的に左右される。この事実は、化学的に安定なエミッター材料の開発が実用 FE 電子源を実現する上での鍵となることを意味する。

カーボンは、化学的に安定である。しからば、カーボンナノチューブ(CNTs)を X 線管電子源に使うことが出来るのではないか？この予測は、我々独自の実験により立証されることになる(1)。一方、FEX 線源が、実用に耐え得るか否かは、通常真空中($10^{-5} \sim 10^{-7} \text{ Pa}$)で、長時間(100 時間以上)、作動できるか否かにより決まる。換言すれば、FE 電子源の泣きどころは、寿命(life time)とであり、実用 FEX 線源を実現するには、この関門を突破しなければならない。これに比べ得るのが、パラジウム (Pd) 誘起 CNTs (仮称 : Pd-emitter) である (2, 3)。

2. 結果の一例

次ページの Fig. 1 に、Pd-emitter の一例と、同エミッターにより得られた生魚の X 線像である。このエミッターは、Mo の electro-polished tip 上に CNT s を生長させた、所謂、CNT s -on-tip emitter (3) である。理論的に算出された像分解能は、約 $20 \mu\text{m}$ である。生魚は、多量の水分を含んでいることを考えると、この程度の鮮映度が得られたことは、“良し”とせねばならない。



(a)



100 (b)

Fig. 1 .Pd-emitter ,(a),と同エミッターで記録した生魚の X 線像、(b)。

References

1. H. Sugie, M. Tanemura, V. Filip, K. Iwata, K. Takahashi and F. Okuyama, Appl. Phys. Lett. 78(2001)2578.
2. A. Haga, S. Senda, Y. Sakai, M. Mizuta, S. Kita and F. Okuyama, Appl. Phys. Lett. 84(2004)2208.
3. S. Senda, Y. Sakai, Y. Mizuta, S. Kita and F. Okuyama, Appl. Phys. Lett. 85(2004)5679.

カーボンナノチューブセラミックス複合材料の合成とその生体応用

東北大学大学院工学研究科

大森守、渡辺孝、田中雅明、山本剛、横溝健児、橋田俊之

東北大学金属材料研究所

木村久道、大久保昭

1. 緒言

カーボンナノチューブ(CNT)は種々の優れた特性を示しており、その応用に関しても多くの報告がされてきた。そのうちの機械的性質に関しては、強度とヤング率大きいため高分子、セラミックス、金属の補強材として利用する研究が盛んに行われている。CNTは電気伝導性であるために絶縁性の高分子やセラミックスに混入させることで、電気伝導性の複合材料の合成が可能である。CNT-高分子複合材料では、電気伝導性を付加することで従来とは異なる工業製品として販売され利用されている。セラミックスと金属とに関しては、CNTの複合化によって性能の優れた複合材料の開発は未だで、製品として流通するまでにはなっていない。その大きな理由は、混合が高分子の場合に比べて困難なこと、CNTとマトリックスとの間の熱膨張差による残留応力緩和の問題が解決されていないためである。セラミックスとCNT複合材料の合成は、通常セラミックス粉を原料にしている。この方法によって、CNTの性能を発揮した複合材料の合成は報告されていない。これは実用化のためには新しい技術の開発が必要であることを示している。

本研究では、セラミックスとCNTとの複合材料を合成するに際し、セラミックス粉の代わりにその前駆体の使用を試みている。多層カーボンナノチューブ-ハイドロキシアパタイト複合材料では、韌性の向上に成功している。現在他のセラミックスについて、同様の方法での複合材料の作成を行っている。

2. 実験方法

2-1. MWNT-HA 複合材料

実験に使用したCNTは価格の低い多層カーボンナノチューブ(MWNT) (ナノラボ社、直径20-40nm)である。ハイドロキシアパタイト(HA)の前駆体には、固相反応でこれを生成する6モルの $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD)と4モルの $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (CDH)との混合原料を使用した。MWNT,DCPD,CDHの三つの原料に水を加えてスラリーとし、自転・公転スーパーミキサー((株)シンキー製、AR-100)を使って1時間混合した。このスラリーを乾燥後、放電プラズマ焼結機(住友石炭製、SPS-1050)を使って、真空中において120MPaの加圧下もと1200°Cで焼結して複合材料を得た。

焼結した複合材料について、X線回折装置(マックサイエンス製、M21X)を用いてハイドロキシアパタイトの生成を調べた。透過電子顕微鏡(TEM)(日本電子製、JT-007)にて微細組織を観察した。水を使ったアルキメデス法にてかさ密度を測定した。2x3x25mm³の試料について、万能試験機(インストロン製、5582)を用い、スパン20mmで3点曲げ試験を行った。微小硬度計(島津製作所製、HMV-21)を用い9.8Nの荷重下で硬度を測定し、同時に

圧痕の角から発生するクラックの長さを走査型電子顕微鏡(SEM) (日立製作所製、FE-SEM S-4700) を用いて測定して靱性を求めた。破断した試料の破断面を SEM によって観察した。

2-2. MWNT-セラミックス複合材料

セラミックスの一つとしたアルミナについて、その前駆体として水酸化アルミニウムを使用し、複合材料を先に述べたと類似の方法で合成している。

3. 結果と考察

3-1. MWNT-HA 複合材料

焼結によって得られた複合材料をX線回折で調べた結果、6モルのCDPHと4モルのCHOからのハイドロキシアパタイトの生成が確かめられた。多層カーボンナノチューブの混合割合を変えて得られた複合材料のかさ密度は、ハイドロキシアパタイトに軽い多層カーボンナノチューブを加えるため、かさ密度は添加量を多くすると小さくなる。かさ密度の減少が一樣であり、多層カーボンナノチューブの添加量によって不規則な変化は現れない。ヴィカース硬度の多層カーボンナノチューブ添加に対する変化は、ハイドロキシアパタイトに多層カーボンナノチューブを2wt%添加することで、急激に硬度は小さくなっているが、4wt%より多い添加では、かさ密度の変化と似たような現象を示している。多層カーボンナノチューブを6wt%添加した試料の3点曲げ試験を行ったときの応力-変異曲線は、ハイドロキシアパタイトのそれと同じで、荷重に伴って試料は弾性変形し破壊していることを示している。擬似塑性変形は全く見られず、完全な脆性破壊挙動となっている。この曲線の直線の弾性変形領域を使ってヤング率を計算で求めた。多層カーボンナノチューブの添加量が増えるにつれて小さくなっている。これはかさ密度とヴィカース硬度の添加量に対する変化に類似しているが、添加量に対する減少割合は大きく、多層カーボンナノチューブの添加で構造変化が起きている可能性がある。3点曲げ試験を行った結果に関し、曲げ強度は2wt%と4wt%の多層カーボンナノチューブを加えた複合で一番大きくなり、ハイドロキシアパタイトのみに比べて1.4倍程になっている。

多層カーボンナノチューブの添加量が8wt%以上では強度の変化がなくなり一定の値となる。

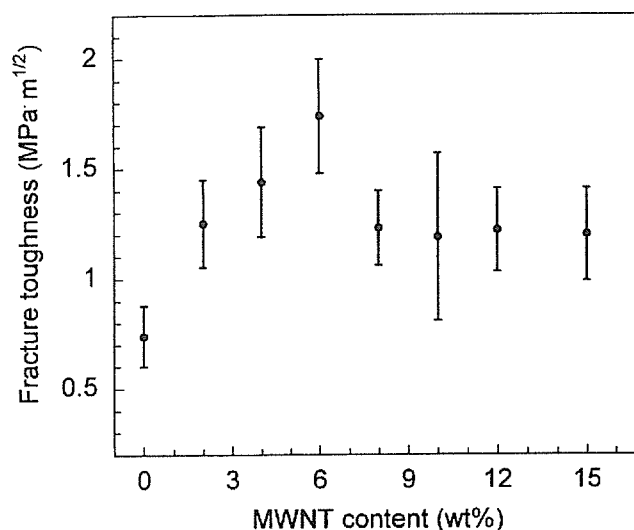


図1 MWNT-HA 複合材料のMWNT 添加量に対する靱性の変化

多層カーボンナノチューブを 15wt%添加した複合材料の強度は、ハイドロキシアパタイトのそれより大きい。複合材料と比較のためのハイドロキシアパタイトの靱性をビッカース圧痕法で求め、クラックの長から靱性を計算で求めている。複合材料の靱性値の多層カーボンナノチューブの添加量に対する変化を図 1 に示す。靱性は添加量が多くなるにつれて大きくなり、6wt%の添加で最大となり、ハイドロキシアパタイトのその 2.3 倍になっている。それより多く多層カーボンナノチューブを添加しても靱性には変化なく、約 1.6 倍の一定の値となる。ハイドロキシアパタイトの靱性は、この図にも示されるように非常に小さい値である。多層カーボンナノチューブの添加による靱性の向上は著しい。この靱性の向上を調べるために、微細組織の観察を TEM で行いその結果を図 2 に示した。ハイドロキシアパタイト粒と多層カーボンナノチューブとがナノ複合化されている状態が観察される。この部分のハイドロキシアパタイト粒は 50nm 以下と小さくなっている。この小さい粒が多層カーボンナノチューブと絡み合ったナノ複合組織を形成している。多層カーボンナノチューブの添加量が少ないと、このナノ複合組織がハイドロキシアパタイト多結晶マトリックス中に分散した状態になっている。

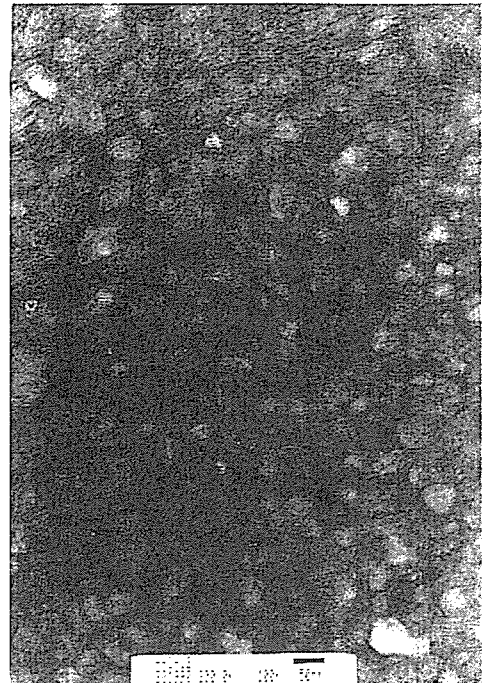


図 2 MWNT-HA 複合材料のナノ複合組織

4. MWNT-セラミックス複合材料の生体実験及び生体材料への応用

4-1. セラミックス微粒子の作成

微粒子の作成は、需要があればメーカーが競って製造販売するので、購入は容易である。しかし、需要が全く期待できないものに関しては、実験者が合成するしか方法はない。ナノサイズの微粒子を合成は気相法や溶液法で行われているが、装置の組み立てや、技術の開発が必要であり、時間と費用が無視できないものになる。CNT-セラミックス複合材料を 600℃以上の温度において空气中で焼成すれば、CNT は燃焼してなくなりセラミックスの微細粒が残る。この方法で各種セラミックスの微細粒の合成は可能である。60wt%MWNT-40wt%HA 複合材料を、800℃の空气中で焼成して得られた HA の微粒

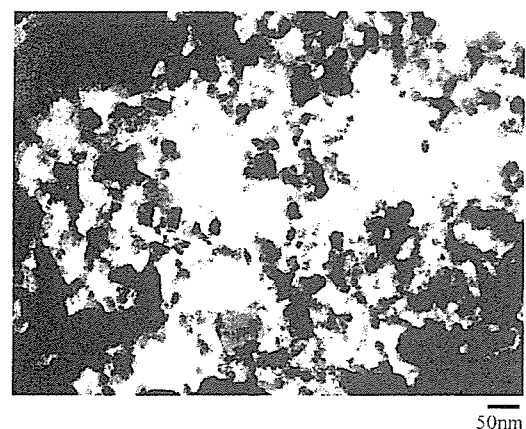
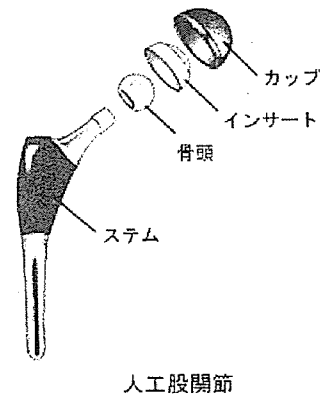


図 3 60wt%MWNT-40wt%HA 複合材料の燃焼により生成した HA のナノ結晶

子の写真を図3に示す。この図に示されるように50nm以下微細なHAの結晶粒の生成が確認される。しかし、それより大きい結晶も観察されるので、MWNTの含有量を増やして、全体がナノ複合組織から成る複合材料を合成する必要がある。

4-2. 磨耗特性を利用した人工股関節

黒鉛は最も潤滑性に優れており、各種の習動部分で耐磨耗性材料として利用されている。現在利用されている人工股関節は、磨耗による人工骨の消耗と微細粒生成の問題を抱え、その耐用は15-20年とされている。人工股関節ではインサート部分に超高密度ポリエチレンが使われているが、0.2-0.5mm/yearで消耗するといわれている。この消耗をMWNT-セラミックス複合材料を使うことで軽減できれば、微細粒の生成も少なくでき、その上耐用年数も伸びると期待できる。この場合のセラミックスとしては、すでに人工骨として応用されているアルミナが適当と考えられる。



レーザーアブレーション/マスマスペクトル・マッピング用 フラーレン誘導体マーカの調製

北海道大学 大学院歯学研究科 ○赤坂 司、横山敦郎、宇尾基弘、亘理文夫
東北大学 大学院環境科学研究科 佐藤 義倫、田路 和幸
ブルカー・ダルトニクス 株式会社 蕪澤 崇

1. 目的

炭素系ナノ微粒子の体内動態の可視化を目的として、レーザーアブレーション/マスマスペクトル・マッピング用のフラーレン誘導体として、細胞が有するレセプターや抗原に対する親和性を持ったフラーレン誘導体の合成を検討する。また、得られた誘導体の *in vitro*での機能評価を実施する。

2. 合成目標とするフラーレン誘導体

○ 1年目：

- ・ 水溶化フラーレン：基本的なコントロール化合物。水酸基の導入。
- ・ 糖鎖結合型フラーレン：肝臓のアシアログライコプロテインをターゲット。ガラクトースまたはマンノースを各々1残基または2残基導入。

○ 2年目：

- ・ アビジン結合型フラーレン：ビオチン結合性タンパク質。数多くの分子生物学的な研究用試薬が利用可能となる。また、一般的なタンパク質結合型フラーレンの合成条件の設定。

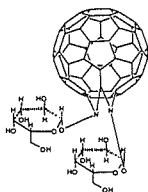
○ 3年目：

- ・ 抗体結合型フラーレン：腫瘍に対するマーカー。各種の腫瘍に対する市販抗体の利用。

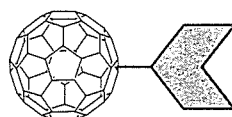
3. 研究計画の概要

最終的に抗体（強固な結合・各種市販）を結合させたフラーレンマーカーを合成する。抗体は、高次構造を持つ、水溶性（有機溶媒に不溶）、高価であるため合成上扱いづらい性質を持っている。そこで研究計画の初年度にて、合成上比較的取り扱いが容易である糖鎖をフラーレンに結合させる。得られた糖鎖結合型フラーレンは、早期に問題点を把握するための動物試験、続くマッピングに使用する。必要ならば分子設計の変更を行う。

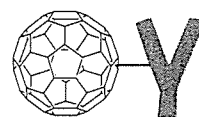
また一般的なタンパク質結合型フラーレンの合成条件の設定として、比較的安価でありビオチンとの強固な結合性を示すアビジンに対して、フラーレンマーカーの調製を行う。その後、得られた合成条件を基に、抗体を用いたフラーレンマーカーの調製を検討する。



糖鎖結合型フラーレン



アビジン結合型フラーレン



抗体結合型フラーレン