

図1 d 炭酸カルシウムブロックを 1 mol/L (NH₄)₂H₂PO₄ 水溶液に 60°C で 14 日間浸漬した後の試料の SEM 像。バーは 5 μm

かったが析出反応が進行していることが確認された。

図2は炭酸カルシウムブロックを 60°C で 1 mol/L (NH₄)₂H₂PO₄ 水溶液に浸漬した場合の試料の粉末 X 線回折パターンである。リン酸二水素アンモニウム水溶液への浸漬に伴い当初は急激に炭酸カルシウムに対応するピークが減少し、アパタイト構造に起因するピークが出現していることがわかる。反応は経時的に進行し、ほぼ 14 日間で完了することもわかった。

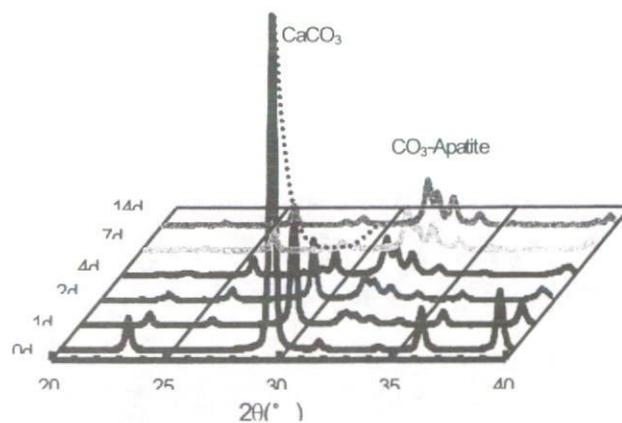


図2 炭酸カルシウムブロックを 60°C で 1 mol/L (NH₄)₂H₂PO₄ 水溶液に浸漬した場合の試料の粉末 X 線回折パターン。

粉末 X 線回折パターンによって結晶構造がアパタイトであることは確認できたが、アパタイトの種類同定は正確さを欠く。そのため、次にフーリエ変換分光光度計による試料の分析を行った。

得られたフーリエ変換赤外分光スペクトルを図3に示す。いずれのリン酸アンモニウム水溶液で処理した場合も骨アパタイトと同じリン酸基の一部が炭酸基に置換している B 型炭酸アパタイトに特徴的な吸収スペクトルが観察され、粉末 X 線回折パターンによる解析結果とあわせて炭酸カルシウムをリン酸化することによって、骨アパタイトと同じナノ結晶子 B 型炭酸アパタイトが調製できることがわかった。

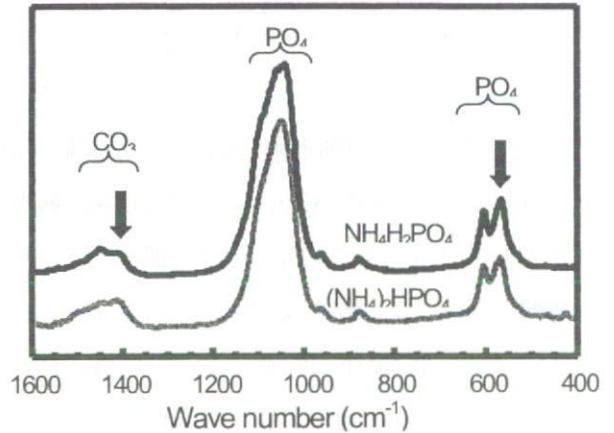


図3 炭酸カルシウムブロックを 60°C で 1 mol/L (NH₄)₂H₂PO₄ 水溶液および 1 mol/L (NH₄)₂HPO₄ 水溶液に浸漬した場合の試料のフーリエ変換赤外分光スペクトル

次に、ナノ結晶子炭酸アパタイトにおける炭酸基含有量の測定を行った。炭酸基含有量の測定は CHN コーダーにて炭素量を計測し、炭酸基量として析出した。結果を表1に示す。ヒト骨の組成であるナノ結晶子炭酸アパタイトの炭酸基含有量は 6–9% 程度であることが知られており、本研究において調製されたナノ結晶子炭酸アパタイトもほぼ同様の炭酸基含有量を示すことから炭酸カルシウムの溶解析出反応によってきわめて骨と類似性の高いナノ結晶子炭酸アパタイトが調製できることがわかった。

表1 炭酸カルシウムのリン酸化によって調製されたナノ結晶子炭酸アパタイトに含有される炭酸基量

リン酸塩の種類	炭酸基量 (%)
(NH ₄) ₂ HPO ₄	9.4%
(NH ₄) ₂ H ₂ PO ₄	7.8%

図4に調製したナノ結晶子炭酸アパタイトの機械的強さを間接引張強さ(DTS)を指標としてまとめた。リン酸塩水溶液への浸漬時間の増大、すなわちナノ結晶子炭酸アパタイトの形成に伴い試料の機械的強さが増大していることがわかった。リン酸二水素アンモニウムで処理した試料の方がリン酸水素二アンモニウムで処理した試料より大きい機械的強さを示すこともわかった。

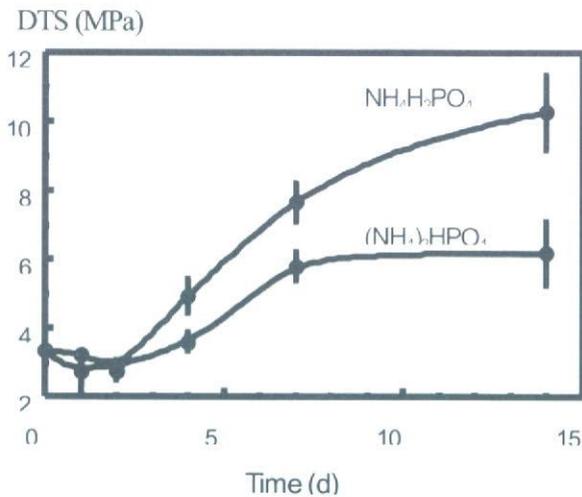


図4 2MPaで成形した水酸化カルシウム圧粉体から調整した炭酸カルシウムブロックを60℃で1mol/Lの $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 水溶液および1mol/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液に浸漬した試料の間接引張強さの経時変化

図5aは対照試料である水酸アパタイト焼結体上で破骨細胞を培養した場合のSEM像である。破骨細胞は水酸アパタイト焼結体表面に接着していることがわかるが、破骨細胞性吸収窩は認められない。すなわち、破骨細胞は水酸アパタイト焼結体を吸収できないことがわかる。水酸アパタイト焼結体は骨欠損部にインプラントした場合、リモデリングを受けることなく、生体内において安定に存在することが知られているが、この臨床的知見が細胞レベルの実験でも説明できることとなる。

一方、図5bはナノ結晶子炭酸アパタイトの試料上で破骨細胞を培養した場合のSEM像である。図5aと異なり破骨細胞がナノ結晶子炭酸アパタイトを吸収していることがわかる。破骨細胞による吸収を受けることから生体内においてもリモデリングプロセスによって骨に置換される可能性が高いことが予測された。

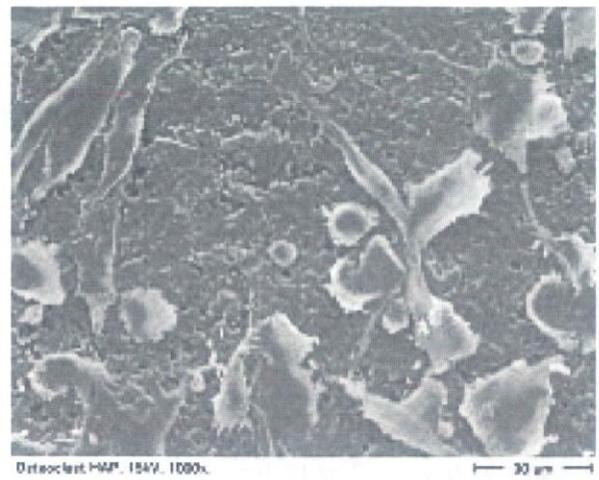


図5a 対照試料である水酸アパタイト焼結体上で破骨細胞を4日間培養した場合の試料表面のSEM像。



図5b ナノ結晶子炭酸アパタイトの試料上で破骨細胞を4日間培養した場合の試料表面のSEM像。矢印は破骨細胞性吸収

D. 考察

水酸化カルシウム圧粉体を二酸化炭素に暴露することにより調製した262-306 nmと極めて小さい結晶子を持つ炭酸カルシウム(カルサイト)をリン酸塩水溶液に浸漬することによってナノ結晶子炭酸アパタイトが調製できることがわかった。調製できたナノ結晶子炭酸アパタイトは結晶子がナノサイズであること、炭酸含有量が生体骨と近似していること、アパタイト構造においてリン酸基のBサイトの一部を炭酸基が置換しているBタイプ炭酸アパタイトであることなどから極めて生体骨と類似した炭酸アパタイトが調製できたと考えられる。

炭酸カルシウムからナノ結晶子炭酸アパタイトへの組成変換反応の詳細は解明されていないが、基本的には熱力学的安定性の差異に基づく溶解析出型組成変換反応であると推察される。すなわち、炭酸カルシウムはリン酸塩水溶液中において熱力学的最安定相ではないため一部が溶解し、カルシウムイオンと炭酸イオンが反応場に提供される。反応場にはリン酸塩が過剰に存在しており、反応場は炭酸アパタイトに対して過飽和であるため、カルシウムイオン、炭酸イオン、リン酸イオンは熱力学的最安定相である炭酸アパタイトとして析出する。析出反応に関しては図1b-dのSEM像からも確認できる。また、炭酸カルシウムブロックの間接引張強さが約3.4MPaであったのに対して炭酸アパタイトへの組成変換後に伴い試料の機械的強さが約6-10MPaまで経時的に増大した(図4)。この現象も溶解析出反応によって結晶の絡まりあいが増大した結果として考えられる。

調製したナノ結晶子炭酸アパタイトが破骨細胞によって吸収された(図5)ことはナノ結晶子炭酸アパタイトの骨置換材としての可能性を示唆していると考えられる。骨のリモデリングに関与している細胞は骨芽細胞と破骨細胞であり、破骨細胞が骨を吸収し、骨芽細胞が新しい骨を形成する。破骨細胞によって吸収されない水酸アパタイト焼結体はリモデリングプロセスが進行できない。一方、破骨細胞によって吸収されるナノ結晶子炭酸アパタイトブロックはリモデリングプロセスによって骨と置換される可能性がある。

破骨細胞による吸収プロセスと対極をなす骨芽細胞による骨形成プロセスに関してはアパタイトが骨

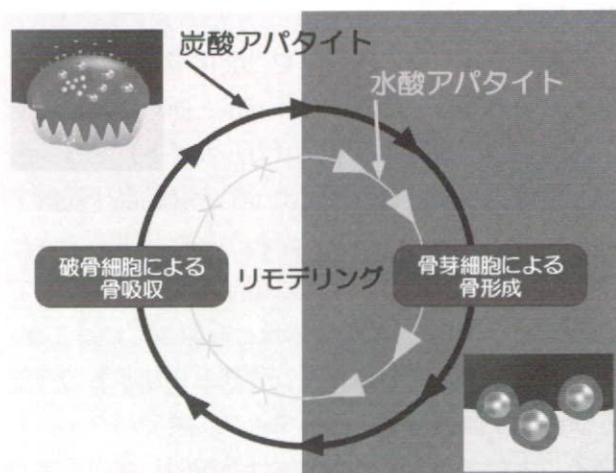


図5 骨のリモデリングプロセスの概念図。

伝導性を示すことからいずれのアパタイトにおいても進行することが推察される。

E. 結論

ナノ結晶子炭酸カルシウムブロックを1モル濃度リン酸アンモニウム水溶液に60°Cで14日間浸漬することによってナノ結晶子炭酸カルシウムブロックが形態を保持したままで、その組成が炭酸カルシウム(カルサイト)から炭酸アパタイトに変換されることがわかった。得られた炭酸アパタイトの間接引張強さは約10MPaであり、炭酸基含有量は7.8%であった。

対照である水酸アパタイト焼結体上で破骨細胞を培養しても吸収窩は認められなかったが、炭酸アパタイトブロック上で破骨細胞を培養すると破骨細胞による吸収と見られる吸収窩が認められた。破骨細胞性吸収窩の形成からナノ結晶子炭酸アパタイトはリモデリングを受けると考えられる。したがって、ナノ結晶子炭酸アパタイトは骨欠損部で骨に置換される人工骨置換材料となる可能性が高いと結論した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Shigeki Matsuya, Xin Lin, Koh-ichi Udoh, Masaharu Nakagawa, Ryoji Shimogoryo, Yoshihiro Terada, Kunio Ishikawa: Fabrication of porous low crystalline calcite block by carbonation of calcium hydroxide compact. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(7), 1361-1367, 2007.
2. R. Lowmunkong, Sohmura T, Takahashi J, Suzuki Y, Matsuya S, Ishikawa K: Transformation of 3DP gypsum model to HA by treating in ammonium phosphate solution, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 80B, 386-393, 2007.
3. Y. Lee, Yeong M. Hahm, Matsuya S, Nakagawa M, Ishikawa K: Development of macropores in calcium carbonate body using novel carbonation method of calcium hydroxide/sodium chloride composite. *Journal of Materials Science*, 42, 5728-5735, 2007.
4. Y. Lee, Y. M. Hahm, Matsuya S, Nakagawa M, Ishikawa K: Characterization of macroporous carbonate-substituted hydroxyapatite bodies prepared in different phosphate solutions. *Journal of Materials Science*, 42, 7843-7849, 2007.

5. Xin Lin, Shigeki Matsuya, Masaharu Nakagawa, Yoshihiro Terada, Kunio Ishikawa: Effect of molding pressure on fabrication of low-crystalline calcite block. Journal of Materials Science: Materials in Medicine in press.

2. 学会発表

1. 石川邦夫：生体に学ぶ：炭酸アパタイト骨置換材日本バイオマテリアル学会（大阪市）

G 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案取得

無し

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

物質動的化学マッピング技術の開発

分担研究者 朝倉清高 北海道大学触媒化学研究センター教授

研究要旨 本研究においては、化学マッピングが可能な X 線光電子放出顕微鏡 (EXPEEM) と X 線励起走査探針顕微鏡 (XANAM) の開発を行った。EXPEE 装置の特徴は、多極子 Wien filter を用いることで、光軸を直線に保ちながら、顕微像を測定し、化学状態を分析できることになる。この多極子 Wien filter は、内部の電磁場を調整することで、filter の収差を 3 次の項まで補正できるものであり、感度、分解能が向上する。また、放射光のような大型な加速器を必要としないように、実験室規模高輝度 X 線源を作り、これを用いて、元素分析像の取得を行った。さらに、ソフトマテリアル測定のための高感度化に取り組んだ結果、10-100 倍の高感度化に成功した。これを用いて Ni₂P の表面構造の変化を追跡した。また、XANAM 法は、NC-AFM と放射光を組み合わせることで原子レベル元素マッピングを行う未踏技術である。本年の成果として、力場測定に成功し、放射光による原子間力場制御のメカニズム解明に道を開いた。

A. 研究目的

DDS をはじめとするナノテクノロジーのバイオ医用応用は 21 世紀高齢社会における個人の健康・QOL 実現に必須の課題である。一方で、その安全性を確認することは重要であり、それに対して必須である体内挙動を解明するために、化学分析可能でかつダメージの少ない X 線光電子放出顕微鏡 (EXPEEM) や X 線励起走査探針顕微鏡 (XANAM) を開発し、ナノ粒子やソフトマテリアルの挙動を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1. EXPEEM

光電子放出顕微鏡 (PEEM) は、光を照射し、飛び出す電子を用いて、結像拡大することで、物質の動的移動の画像化をする手法である。しかしながら、化学識別性が小さい。そこで、PEEM と X 線光電子分光法を組み合わせることで、化学的なマッピングをしながら、表面の情報を得る EXPEEM 法の開発

を行った。すなわち、X 線を用いることで、内殻光電子を励起して、表面から外部に取り出させる。このときに、電子の持つ運動エネルギーは、含まれる元素の種類や化学状態のより変化するので、この運動エネルギーを分析して、画像化することで、元素の種類や化学状態の分布をナノオーダで知ることができる。この手法をわれわれは EXPEEM (Energy-filtered X-ray photoemission electron microscopy) と呼ぶ。この方法は、従来、放射光のような大きな加速器を必要とした。又単純に XPS と PEEM を組み合わせたことから、XPS で通常使われる半球型エネルギー分析器をそのままのせたため、光軸が曲がってしまい、電子顕微鏡の調整には不向きであるという欠点がある。われわれは、図 1 に示すような Wien filter 型エネルギー分析器を用いた EXPEEM 装置の開発を行っている。

2. XANAM

実験は茨城県つくば市の高エネルギー加速器研究機

構 放射光科学研究施設 (KEK-PF) で行った。装置は、以下のコンポーネントよりなる。

1. 超高真空到達可能な試料導入室・試料処理室
2. 超高真空到達可能な XANAM 測定室
3. NC-AFM 制御コントローラ
4. 放射光 X 線光軸に対する AFM ステージ位置調整機構

装置は普段は施設内準備棟に設置され、実験時のみビームラインハッチに導入・設置する。ビームライン (BL) -7C 設置時の様子を図 2 に示す。放射光施設内での装置可搬性を重視するため、できるだけコンパクトな設計とした。表面-プローブ間の力場相互作用の X 線エネルギー依存性測定に関する測定信号の流れを図 3 に示す。NC-AFM として通常のトポグラフ測定後、BL-7C の X 線吸収微細構造 (XAFS) 測定装置に試料スキャナの Z ピエゾ応答信号、もしくはカンチレバーの周波数シフト信号を入力したデータの記録を行った。

放射光 X 線の実験では X 線光軸と装置の位置調整が要である。本装置では測定室下部に測定室を垂直方向に移動する機構を、内部の AFM ステージに PZT インチウォームによる XY θ 3 軸移動ステージを組み込み、精密な位置調整を実現した (X、Y は水平方向の軸、 θ は XY 平面の面内回転軸)。金属の K α 吸収端といった高エネルギーの X 線を用いるため、装置を防 X 線用ビームラインハッチに入れる必要がある。そこで、各軸をハッチの外から遠隔で操作し、CCD カメラで測定室内部を通る X 線ビーム位置をモニターしながら位置を調整できるようにした。測定室は X 線入射口と出射用の 2 つの Be 窓を備え、さらに各 Be の大気側に電離箱を配置することで、測定室から出射する X 線の強度を計測した。

本装置の AFM ヘッドは、XYZ 円筒型 PZT 試料スキャナと PZT 積層薄膜型カンチレバー、カンチレバーへの試料アプローチ粗動機構よりなる。PZT 積層薄膜型カンチレバーは、レバーの撓みを PZT 電気信号に直接変換し自己検知する。ゆえに AFM カンチレバーの撓み検出用の光源、位置検出器、ミラーは不要であり、AFM ヘッドの簡略化による視界確保と X 線位置調整機構の組み込みを容易にできるメリットがある。PZT 積層薄膜型カンチレバーにある探針先端は Si $_3$ N $_4$ であり、用いたカンチレバーの共振周波数は 90~115 kHz、Q 値は 500~1600 であった。

試料は別途蒸着装置にて Au を室温で 20 nm の厚みで Si 基板に蒸着し用いた。

BL-7C の Sagital 集光可能な Si(111)二結晶集光光学系をもちいた。本実験では、カンチレバーがアプローチした状態の試料表面に集光 X 線を照射できるように測定室や AFM ヘッドの位置調整を行った。この時、X 線入射角は試料表面方向に平行となるようにし、全反射条件を選んだ。X 線位置は、試料フォルダの一部に蛍光剤を塗布することで確認できるようにした。以上の X 線照射条件下、表面-プローブ間の力場相互作用の X 線エネルギー依存性測定、元素マッピングのための準備段階として行った X 線による力場応答の二次元画像化、さらに最も力場相互作用の直接的測定であるフォースカーブの X 線エネルギー依存性の 3 種の測定を行った。

1) 力場相互作用の X 線エネルギー依存性測定 (定点測定)

まず、島状に Au を蒸着した Si 基板を用い、Au 上と Si 上でのそれぞれで、AFM 探針と試料表面間の力場相互作用と入射 X 線エネルギーの関係を調べた (定点測定)。力場相互作用測定パラメータとして、フィードバック制御により Δf を一定とし Z 応答信号を測定した。またいずれもカンチレバーの加振電圧をフィードバック制御する振幅一定モードで行った。具体的な手順を下記に示す。

- イ) X 線エネルギーを Au L $_3$ 吸収端より約 50 eV 低エネルギー側とし、表面に X 線を入射する。
- ロ) 試料表面を NC-AFM 観察し、Au 領域と Si 領域を高さの差から区別しつつ画像化する。
- ハ) Au もしくは Si 領域の任意の点にカンチレバーを設置する。設置後、スキャナの PZT ヒステリシスや熱的ドリフトの影響を緩和するため、しばらく静置する。
- ニ) 入射 X 線エネルギーの掃印を開始し、Z 応答信号を V/F コンバータ NVF-02 (ツジ電子(株)) で、デジタル化し、これをカウンターで積算した。

以上の手順により、力場相互作用の X 線エネルギー依存性測定を行った。

2) Au 蒸着表面でのフォースカーブの X 線エネルギー依存性

1) と同様の Au 蒸着 Si 基板にて、入射 X 線エネルギーを変化させながら、各エネルギーに対するフォースカーブ測定、 Δf の探針-試料間距離依存性の測定を行った。1つのフォースカーブは3回の連続測定の平均として求め、Au L3 吸収端前後 50 eV について 1 eV 間隔で 100 点の測定を行った。またエネルギーの 1 点の保持時間は 4 s である。なお、カンチレバーが表面へ接触する際のダメージを軽減するため、ここでの振幅制御は加振電圧一定モードで行った。また Δf と同時に、カンチレバーの振幅値と入射 X 線強度も測定・記録を行った。

3) X 線による力場応答の二次元画像化 (二次元測定)

上記の定点測定とフォースカーブの結果より、実際に NC-AFM 像に Z 応答が現れる様子を二次元的に観測し、X 線に対する Z 応答が試料表面構造と区別できるか確認した。試料は 1) 2) と同様に Au 蒸着 Si 基板を用いた。X 線非照射下における通常の NC-AFM 観察を行った後、X 線エネルギーを Au L3 吸収端前 E1 : 11896 eV を 40 s、吸収端エネルギー付近 E2 : 11916 eV を 40 s、吸収端後 E3 : 11951 eV、E4 : 11952 eV を各 40 s 毎に変えながら NC-AFM 観察を行った。

C. 結果

1. EXPEEM

X線2次電子像

得られた X 線による 2 次電子像を図 4 に示す。これは、X 線を励起源として放出された電子のうち、エネルギーを失った 2 次電子を用いて得た像である。2 次電子は、その放出量が多いため、ビーム強度が強い。そのため、ビデオレート (1/30 秒程度の短時間) でも撮影可能である。

XPS スペクトル

同じ試料での XPS スペクトルを図 5 に示す。なお、試料にはバイアス電圧として 150 eV 印加されている。従って、光電子本来のエネルギーに比べて 150 eV 分大きな運動エネルギー値となる。(この電圧により、0 eV のエネルギーを持つ 2 次電子が、150 eV のエネルギーを持ってインプットレンズに入射できるようになる。)

エネルギー分散像

Wien フィルターの出口スリットを開放にし、Wien フィルターによってエネルギー分散された像を図 6 に示す。投影レンズを調整することによって Wien フィルター出口部分のビームの様子を見ることができる。この状態で、Retarding のエネルギーを変化させ、Cu 2p_{3/2} が画像の中心にくるようにし、次にスリットを徐々に占めていき、希望するピークのみを選別する。(図 7)

内殻光電子選別像

内殻からの光電子を用いたエネルギー選別像を図 8 に示す。これまで、同じような選別像を得るための積算時間は 1 時間を要した。しかし、今回はこれを大きく更新する 2 分でアイランドパターンを観察できた。

2. XANAM 法

力場相互作用の X 線エネルギー依存性測定

図 9 は、周波数シフト Δf でフィードバックをかけたままカンチレバーを Au 領域上に固定し、X 線の入射エネルギーを変えながら試料の垂直方位 Z の信号を計測した結果である。横軸を X 線エネルギー、縦軸を Z 応答信号とした結果を示す。測定条件はカンチレバー共振周波数 f_0 : 114.8 kHz、周波数シフト Δf : -1 Hz、振幅 A_0 : 2.9 nm、また V/F コンバーターの積算時間は 2 s、ゲインは 0.1 MHz/V である。Figure 3(b) は、別途 Au 薄膜を用いて X 線透過法にて測定した Au L3 X 線吸収端スペクトルである。ちょうど X 線吸収端のエネルギー付近において Z 応答信号に上に凸の応答が現れていることがわかる。またピーク状の変化以外の特徴としては、X 線吸収端前までにゆるやかに増加し、吸収端以後は増加率が減少、もしくは変化しなくなった。これは吸収端前まで引力的な力成分が増大し、吸収端後はこれが抑制された(または斥力成分が増大した)事を意味する。Au 蒸着表面でのフォースカーブの X 線エネルギー依存性

Figure 10 に左横軸に X 線エネルギー、右横軸に表面-探針間距離、縦軸に Δf とした結果を示す。確かに Δf の距離依存性は Au L3 吸収端を境にして変化する事が見いだされた。X 線吸収端前においては、よく観測されるフォースカーブ、すなわち、z が大きい場合には、引力であり、近づくにつれ引力が増大し、極小をとったのち、急激な斥力の増大が観測される。一方、吸収端後では近づくにつれて、引力増大はほんのわずかであり、しかもポテンシャル

ル井戸が浅く、急激に斥力領域に入ってしまうことが観測された。これは、斥力ポテンシャルの変化が起こったためと考えられる。斥力ポテンシャルの変化は吸収端後で広く観察されるものである。

XANAM 像

次に、実際に Au 蒸着表面のトポグラフを観察しながら X 線エネルギーを変化させ、Z 応答がどのように観測されるか調べた。図 11 は NC-AFM 観察中に吸収端前と吸収端後の X 線掃印を繰り返した結果で、X 線エネルギー吸収端位置に縞状の Z 応答が二次元に観測された。このような縞状応答は通常の NC-AFM 像 (図 11 右) にはなく、この有無を利用した元素マッピング法への展開が期待できる。

D. 考察

EXPEEM

今回、大幅に感度向上した状態でエネルギー選別像の取得に成功した。ここには示していないが、Au の 4f 光電子ピークでも選別像の取得に成功している。倍率はほぼ同じ程度であり、65-70 倍である。ただ、投影レンズを調整すればもっと倍率は稼げる。空間分解能やエネルギー分解能はこれから算出する。

高感度な選別像を取得できた要因を 5 つ挙げる。

1. 磁界レンズと試料の距離

磁界レンズから発生する磁場は、磁界レンズとの距離が離れると急峻に減少する。したがって、試料を磁界レンズになるべく近づける事が大切である。そのため、厚みの薄い試料ホルダーを用意し、試料の高さを大きく下げて磁界レンズぎりぎりまで近づけた。

2. インพุットレンズの値

これまで、内殻光電子選別像を得るために、サンプルバイアスを考慮してインพุットレンズを計算できるプログラムに修正した。その結果、内殻光電子での結像する条件を見出すことができた。

3. 試料元素として Cu を使用したこと

Cu は結合エネルギーが大きいところ (結合エネルギー 932.8eV、運動エネルギー 553.8eV) に光電子ピークをもつ元素である。これは、運動エネルギーが小さい事を意味し、2 次電子のエネルギー 0eV に近い。これまでずっと Au を使用していたが、運動エネルギーは 1400eV 程度と大きい。したがって、Cu の場合は 2 次電子のレンズ条件と比較的近いため、先ほどの内殻光電子専用のレンズ条件を探すことが容易であった。

4. 試料ホルダーの形状

試料ホルダーは金属製とし、かつ試料面積よりも十分大きな面積をもつ平坦なものがよいことがわかった。2 次電子像を用いて光軸調整するとき、試料とレンズの間にサンプルバイアスを印加する必要がある。この際、試料ホルダーにも電圧が印加される。試料面積よりも大きな導体の試料ホルダーであれば、試料近くに均等な電位分布が生成される。これにより、サンプルバイアスを変えたときにビームが大きく逃げる現象が無くなった。、更にサンプルバイアスを変えてもビームが逃げなくなったことで、RV レンズの光軸調整が行えるようになった。

5. Wien フィルターの偏向成分の重畳

Wien フィルターに偏向成分を印加することでビームの逃げを補正することができる。その際、理想的な偏向場が形成されるように Wien フィルターの各コイル電極にそれぞれ異なる値を入力した。これにより、ビームの歪みを抑えることができ、像が歪むことが無くなったと思われる。更に、偏向成分を調整して投影レンズ 1 の光軸にビームを持っていくことに成功した。これにより、投影レンズ 1 までは光軸を通すことができた。ただし、投影レンズ 2 の軸はどうしても合わないので偏光器が必要である。

XANAM

図 10 でわかるように、表面との相互作用は 2 種類からなると考えられる。1 つは吸収端付近の急激に増加する成分と、吸収端に現れるように引力領域がほとんど観察されない部分である。前者量子力学的な結合が関与した相互作用であり、後者は、光電子や 2 次電子放出に伴うチャージによる反発によるものと推測しているが、今後、詳細を検討する必要がある。

E. 結論

ナノ化学顕微鏡である新型 EXPEEM, XANAM を開発し、化学選別像の取得に成功した。今後は本装置で生体等のソフトマテリアルの研究を行う。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. "Improvement of the XANAM System and Acquisition of a Peak Signal with a High S/N ratio", S. Suzuki, M. Nakamura, K.

- Kinoshita, Y. Koike, K. Fujikawa, N. Matsudaira, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *J. Phys. Conf. Ser.*, **61**, 1171-1121, 2007.
2. H. Niimi, W.J. Chun, S. Suzuki, K. Asakura and M. Kato, *Aberration-corrected multipole wien filter for EXPEEM*. *Rev.Sci.Instrum.* **78**,063710 1-8(2007).
 3. H. Niimi, M. Kato, T. Kawasaki, T. Miyamoto, S. Suzuki, W.J. Chun, M. Kudo, N. Kawahara, M. Doi, K. Tsukamoto and K. Asakura, *Development of In-Lab Energy Filtered X-Ray Photoemission Electron Microscope Using Air-Core-Coil-Type Multipole Wien Filter*. *Surf.Sci.* **601**, 4742-4747(2007).
 4. T. Tsutsumi, T. Miyamoto, H. Niimi, Y. Kitajima, Y. Sakai, M. Kato, T. Naito and K. Asakura, *EXPEEM and its applications to surface and organic materials*. *Solid State Electronics.* **51**,1360-1366(2007).
 5. T. Naito, H. Sugawara, T. Inabe, Y. Kitajima, T. Miyamoto, H. Niimi and K. Asakura, *UV-vis-Induced Vitrification of a Molecular Crystal*. *Advanced Functional Materials.* **17**,1663-1670(2007).
 6. “Surface Chemical Mapping by means of XANAM”, S. Suzuki, Y. Koike, M. Nakamura, K. Kinoshita, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *Abst. The 1st GCOE International Symposium*, p. 65, 2008.
 7. 宮本剛志, 鈴木秀士, 朝倉清高, 新美大伸, 嘉藤誠, “光電子放出顕微鏡による脱硫触媒 Ni₂P(0001) 表面のその場観察”, 顕微鏡学会支部会, 札幌, 2007
 8. 宮本剛志, 新美大伸, 鈴木秀士 and 朝倉清高, Ni₂P 触媒の PEEM 観察 分子科学研究所研究会 放射光と表面電子顕微鏡 □ 顕微ナノ材料科学の新しい進展一, 岡崎, 2007

G 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
 - ・・・なし・・・
2. 実用新案取得
 - ・・・なし

2 学会発表

1. “XANAM — A New Chemically Sensitive NC-AFM Technique —”, S. Suzuki, M. Nakamura, K. Kinoshita, Y. Koike, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *the 3rd International Workshop on Frontier Science and Technology of Nanoporous Systems(FSTNS3)*, abstract p. K-3, 27 Jan, 2007, Chiba.
2. “A Challenge to Develop Chemically sensitive NC-AFM”, S. Suzuki, M. Nakamura, K. Kinoshita, Y. Koike, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *Abst. 5th International Symposium on Nanotechnology (JAPAN NANO 2007)*, p. 180, 2007.
3. “A point spectroscopy and 2D spectroscopic imaging by means of XANAM”, S. Suzuki, Y. Koike, M. Nakamura, K. Kinoshita, K. Fujikawa, W.-J. Chun, M. Nomura, and K. Asakura, *Abst. 6th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '07*, p. 180, 2007.
4. “表面ナノスケール元素分析を目指した X 線支援非接触原子間力顕微鏡の開発”, 鈴木秀士・小池祐一郎・木下久美子・中村元弘・藤川敬介・田旺帝・野村昌治・朝倉清高, 東京大学物性研究所短期研究会「高輝度軟 X 線放射光が拓く物質科学の新たな地平」, 予稿集 p. 7, 2007 年 7 月 5 日, 千葉
5. “ナノレベル表面元素マッピング装置 (元素分析 AFM) の開発”, 鈴木秀士・田旺帝・野村昌治・朝倉清高, JST-CREST ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ 新技術説明会 ～環境・エネルギー・バイオ/実用化が期待されるナノテクノロジー(依頼講演), 予稿集 p. 35, 2007 年 9 月 27 日, 東京

数分で測定可能

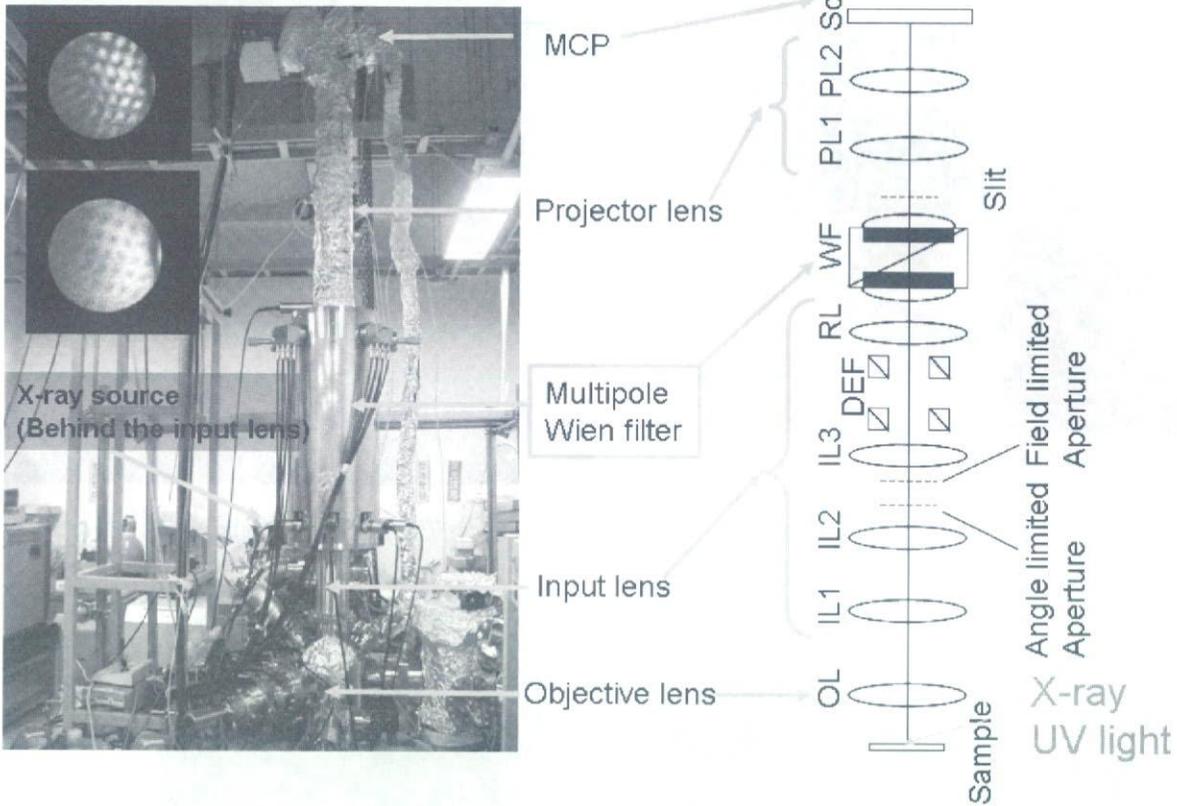


図 1 EXPEEM 装置とその概念図

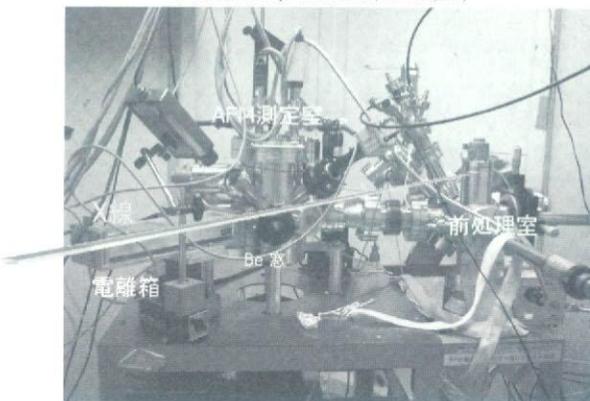


図 2 PF-BL7C に設置した XANAM 装置

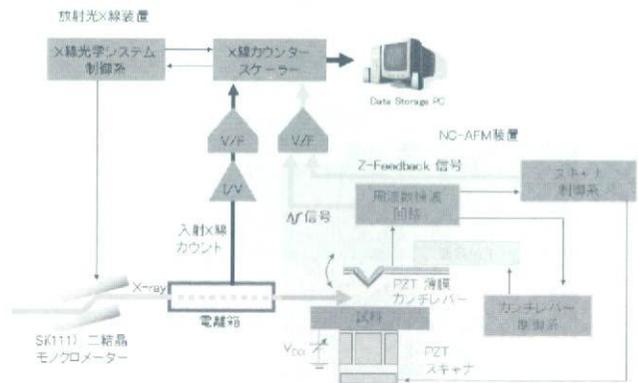


図 3 信号処理系ダイアグラム

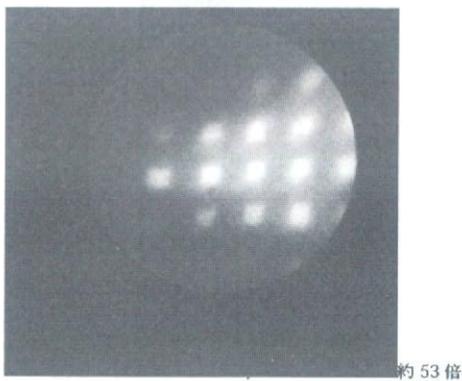


図 4 Au/Ta の 2 次電子像

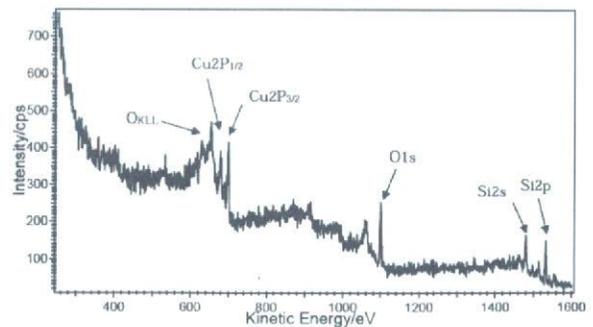


図 5 XPS スペクトル

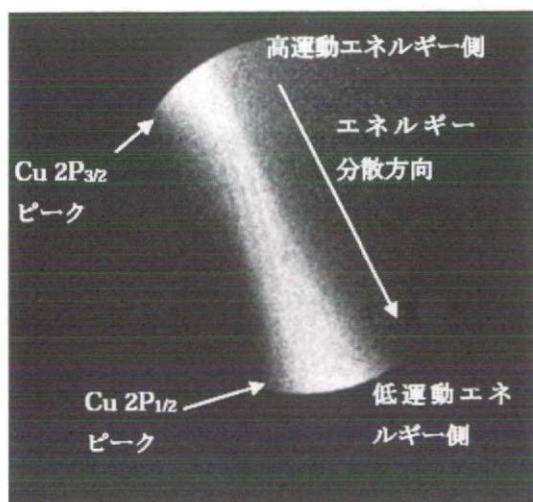


図6 分散像 (Cu2p3/2 付近)

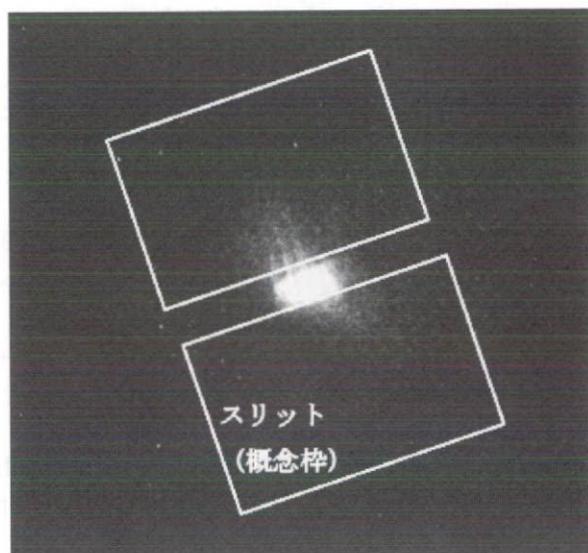


図7 スリットでCu2p3/2を選別する。

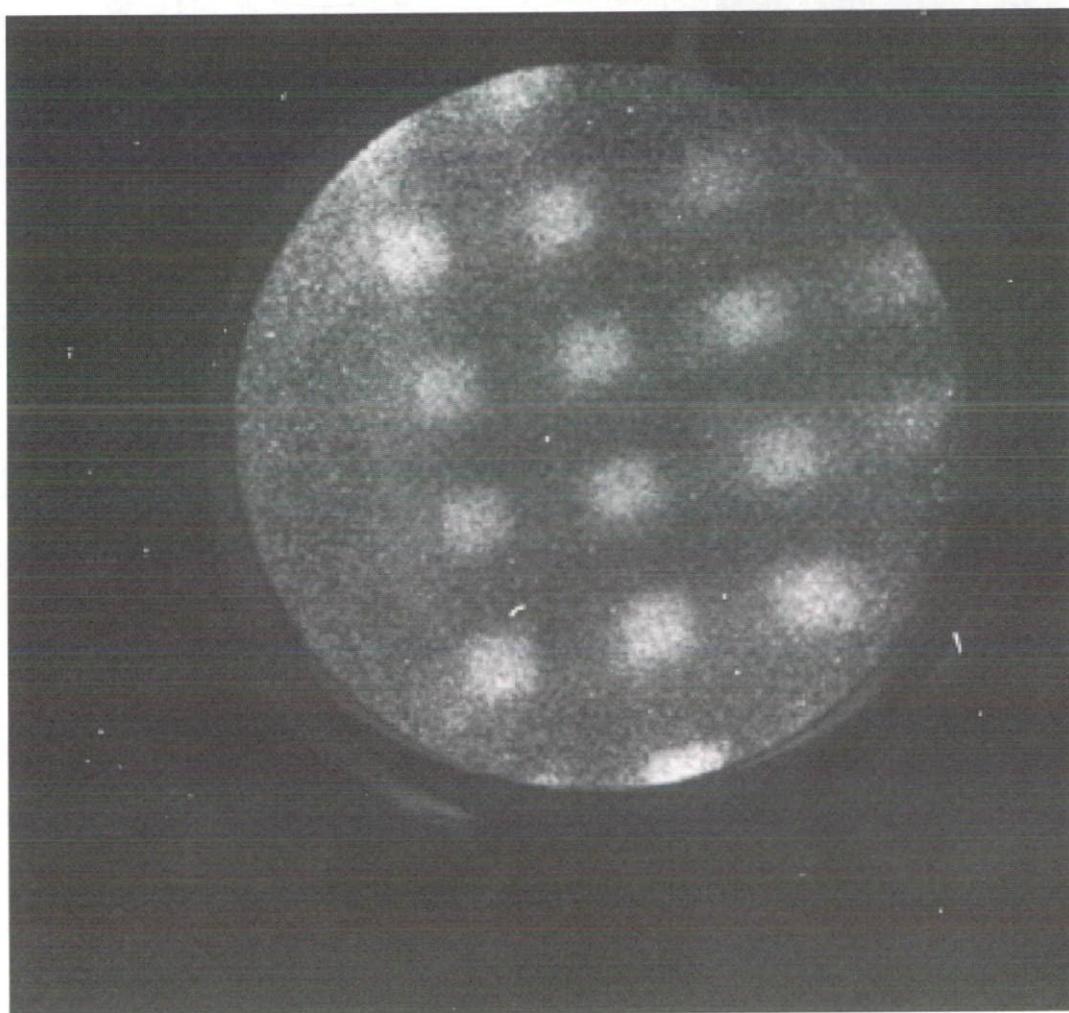


図8 Cu のエネルギー選別像

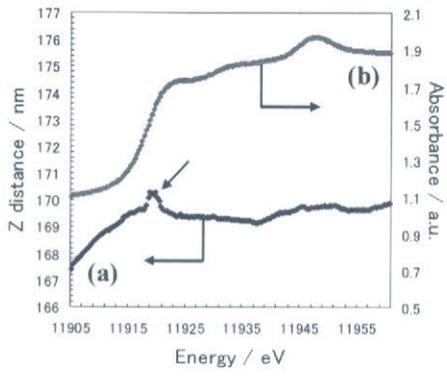


図 9 Au の XANAM スペクトル(a)および Au の L3 edge スペクトル (b)

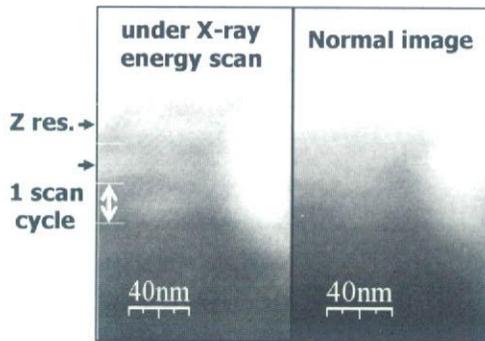


図 11 XANAM 像 (左) と通常の NC-AFM(右)

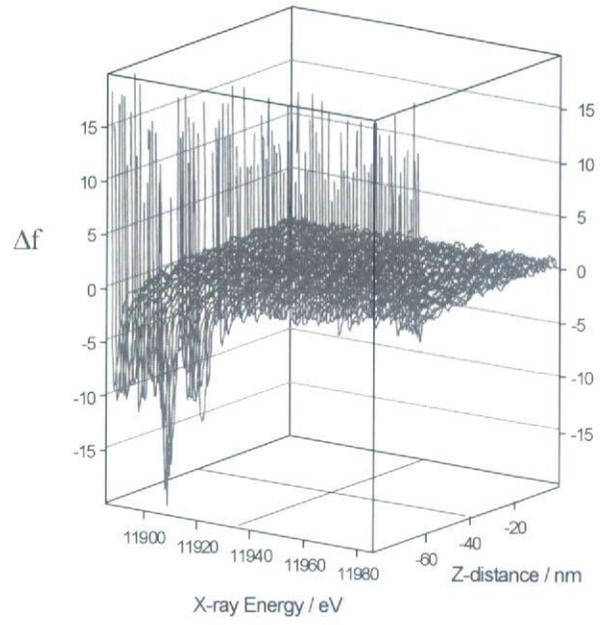


図 10 Au の XANAM-FORCE CURVE

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

生体観察を目指した TEM エンバイロメンタルセルの開発

分担研究者 大貫惣明
研究協力者 橋本直幸

北海道大学工学研究科教授
北海道大学工学研究科准教授

研究要旨 本研究では電子顕微鏡内に適合する環境セルの開発を行い、その利用例としてガス気密性の必要な水素化反応をその場観察し、その変化を検討した。製作した密閉型環境セルであり、隔膜は 20nm のトリアセチルセルロースと 50nm のカーボン補強膜が張られた 2 枚の Cu グリッドであった。テスト試料として Mg-Nb₂O₅ 粉末を用いた。試料の酸化を防ぐため、アルゴン雰囲気グローブボックス中で環境セル内に装填し、その後、加速電圧 200kV の汎用型 TEM を用いて室温の水素雰囲気中で連続的に明視野像と電子線回折パターンの撮影を行った。明視野像においては水素導入前後で粒子形状に変化が見られた。また、電子線回折パターンにおいては水素導入後に Mg 由来のスポットの強度が低下し、MgH₂ 由来のスポットが出現したことを確認できた。しかし、Mg のスポットが消滅していないことから水素化の途中の過程であることが推察できた。なお、この環境セルでは 2 気圧の大気でも使用できることが確かめられたため、室温から 200℃ の範囲であれば大気環境あるいは水蒸気環境での観察は可能と思われる。

A. 研究目的

透過電子顕微鏡によるその場観察のためのハードウェアとして環境セルの歴史は結構古く、500℃で 3kPa の酸素環境で超高压電顕中での Ni-Cr 合金の酸化についてのその場観察がある。モリブデン酸ピスマスについて 400-500℃で 100Torr の C₃H₆ ガス環境での触媒反応が報告されている。また 150K 以下での 6 フッ化硫黄ガスからの結晶化のその場観察も明らかにされている。開放型環境セルを使った水素ガス環境下での引っ張り試験のその場観察も行われている。

このように環境セルによる種々の研究はあるが、水素吸蔵材料についての研究は行われていない。したがって、本研究では、電子顕微鏡本体の改造を必要としないクローズ型の環境セルを製作し、生体系の材料についてのその場観察の可能性を検討することを目的とした。あわせて、大気圧あるいは水蒸気雰囲気での観察の可

能性についての検討も試みた。

B. 研究方法

作成した環境セルは汎用型の 200 kV 電子顕微鏡 (JEOL2010) 用であり、軸部はアルミニウム製、試料保持の先端部は真鍮製である。ガス導入部はステンレスパイプであり、ホルダーの軸部を貫通している。図 1 はホルダー先端部の外観を示す。この環境セルはクローズ型であり、0.2mm 厚さの O リング 3 枚と Cu グリッド上の隔膜によって気密が保たれている。隔膜はトリアセチルセルロースとカーボン補強膜から成り立っており、2 気圧 (0.2MPa) の空気あるいは水素に耐えることが出来た。電子線に対してはほぼ透明であり、電子線回折像でもわずかにハローリングが見られるのみである。本研究ではこの隔膜の製作がもっとも技術を要し、トリアセチルセルロースとカーボン補強膜の組み

合わせではもっとも安定したものを得ることが出来た。図2は水素供給部である。真空排気はターボポンプとダイヤフラム型ポンプを組み合わせ、油汚染を避けた。水素源はLaNi₅を含んだ水素吸蔵タンクであり、室温でも一定圧の高純度水素を得ることが出来た。図3はトリアセチルセルロース膜(20nm)、カーボン補強膜(50nm)とCuグリッド(200nm)の関係を示すものである。この組み合わせは試行錯誤で得られたが、電子線に対しては安定した挙動を示した。

試料はMgに触媒として1wt.%のNb₂O₅が添加されたMg-Nb₂O₅粉末を用いた。調整は水素ガス雰囲気のパールミル混合(MA)である。観察に用いた粉末はおおむね0.1ミクロン以下のものであり、酸化を防ぐため、Ar雰囲気グローブボックス中で環境セル内に装填した。

環境セルホルダーはまずアルコールで超音波洗浄し、55℃の真空中で1時間保持して、吸着ガスを除去した。粉末試料はCuグリッド中に付着させ、隔膜に直接触れないようにセッティングした。これは隔膜が破れるのを防止するのに大いに役立った。ちなみにこの隔膜は電子顕微鏡内の真空雰囲気に対して0.2MPaの水素にさらしても破れることは無かった。

その後、加速電圧200kVの汎用型TEMを用いて室温の水素雰囲気中で連続的に明視野像と電子線回折パターンの撮影を行った。

C. 研究結果

図4はMgの微粒子の真空および0.1MPaの水素ガス雰囲気での明視野像と対応する電子線回折パターンである。微粒子は水素の導入により若干膨張した。20分までの観察ではその外形は10%ほど増加し、これは40%程度の体積膨張に相当する。MgH₂の等方的な結晶構造を考慮すると30%程度の膨張が期待される。電子線回折の結果はMgH₂の形成を示唆している。

D. 考察

この環境セルでは0.2MPaの大気でも使用できることが確かめられたため、室温から200℃の範囲であれば大気環境あるいは水蒸気環境での観察は可能と思われる。なお、30分までの連続観察ではガス隔膜は安定して観察に支障は無かったが、さらに耐久性を増すためには、更なる隔膜の改良が次の課題である。

E. 結論

本研究では電子顕微鏡内に適合する環境セルの開発を行い、その利用例としてガス気密性の必要な水素化反応をその場観察し、その変化を検討した。製作した密閉型環境セルであり、隔膜は20nmのトリアセチルセルロースと50nmのカーボン補強膜が張られた2枚のCuグリッドであった。テスト試料としてMg-Nb₂O₅粉末を用いた。加速電圧200kVの汎用型TEMを用いて室温の水素雰囲気中で連続的に明視野像と電子線回折パターンの撮影を行った。明視野像においては水素導入前後で粒子形状に変化が見られた。なお、この環境セルでは2気圧の大気でも使用できることが確かめられたため、室温から200℃の範囲であれば大気環境あるいは水蒸気環境での観察は可能と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Yasuhiro Munekata, Kota Washio, Takanori Suda, Naoyuki Hashimoto, Somei Ohnuki, Hironobu Arashima and Hideaki Ito, Role of Annealing for Improving Hydrogen Storage Properties of T-Cr-V Alloy, Materials Research Society Symposium Proceedings, Vol971, 0971-Z07-21-26, (2007)
2. Koya Okudera, Koichi Hamada, Takanori Suda, Naoyuki Hashimoto, Somei Ohnuki, Yasuaki Kawai and Yoshitsugu Kojima, Development of Environmental Cell and its Application to Hydrogen Storage Materials, Materials Research Society Symposium Proceedings, Vol971, 0971-Z07-12-17, (2007)
3. Koya Okudera, Koichi Hamada, Takanori Suda, Naoyuki

Hashimoto and Somei Ohnuki, Development of Environmental Cell for Gas Reaction of Nano-size Particles, Advanced materials research, Vol 26-28, 877-880, (2007)

無し

4. Hiroshi Kawasaki, Somei Ohnuki, Takanori Suda, Naoyuki Hashimoto and Yoshitsugu Kojima, In-situ High-resolution Observation for Decomposition of NaAlH₄, Advanced materials research, in press

2. 学会発表

1. Y. Munekata, T. Suda, S. Ohnuki, H. Arashima, H. Itoh, K. Kudo, Role of annealing for improving properties of TiCrV type hydrogen storage alloy, KNS and AESJ Joint Summer School 2007 for Students and young Researchers, Seoul, 2007, 8/29

2. N. Shiomi, S. Ohnuki, N. Hashimoto, K. Hamada, T. Suda, Y. Kojima, Y. Kawai, High resolution in-situ observation of decomposition of Mg based hydrogen storage alloys and effects of dispersed Ni, KNS and AESJ Joint Summer School 2007 for Students and young Researchers, Seoul, 2007, 8/27

3. K. Okudera, Development of Environmental Cell for Gas Reaction of Nano-size Particles, PRICM6, Jeju, 2007, 11/9

4. 川崎 洋, 大貫惣明, 須田孝徳, 橋本直幸, その場観察による NaAlH₄ の分解ナノ構造変化, 日本金属学会北海道支部合同夏季講演大会, 室蘭, 2007, 7/20

5. 宇尾基弘, 亘理文夫, 橋本直幸, 奥寺公也, 浜田弘一, 大貫惣明, 歯科材料・口腔内組織の高分解能電子顕微鏡観察と雰囲気制御 TEM 観察, 厚生労働科学研究費補助金「ナノ微粒子体内動態可視化法の開発」(H18-化学一般-006) 第3回研究成果発表会, 登別, 2007, 11/13

6. S. Ohnuki, Environmental Cell technique in Electron Microscopy, JSPS-KOSEF Core University Program Joint Symposium on Advances in Electron Microscopy for Materials Characterization, Sapporo, 2008, 1/11,

7. S. Ohnuki, TEM Observation by the Environmental Cell, Norway-Japan Workshop, Hiroshima Univ., 2008, 1/22

G. 知的所有権の取得状況

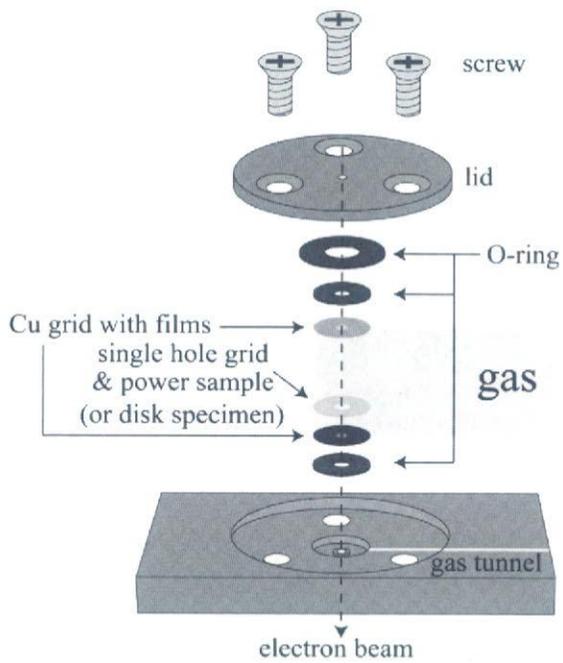


Figure 1. The schematic view of the nose of environmental cell holder

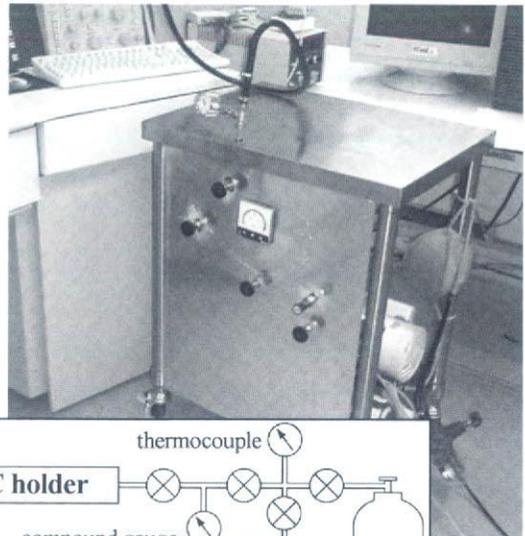


Figure 2. Photograph of the gas-control part and schematic view of a gas-control

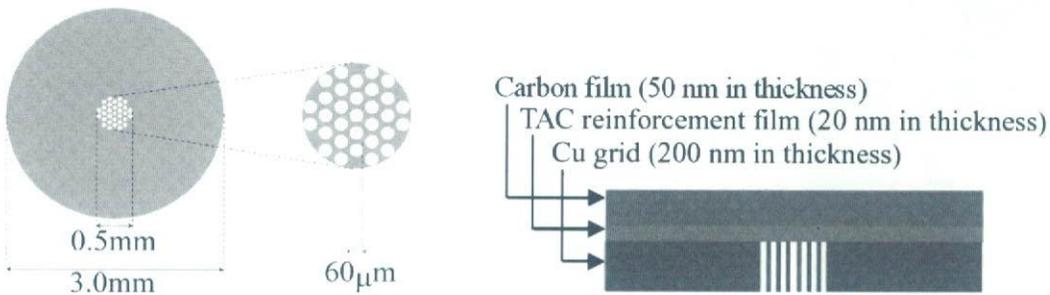


Figure 3. The schematic view of an electron-transparent grid

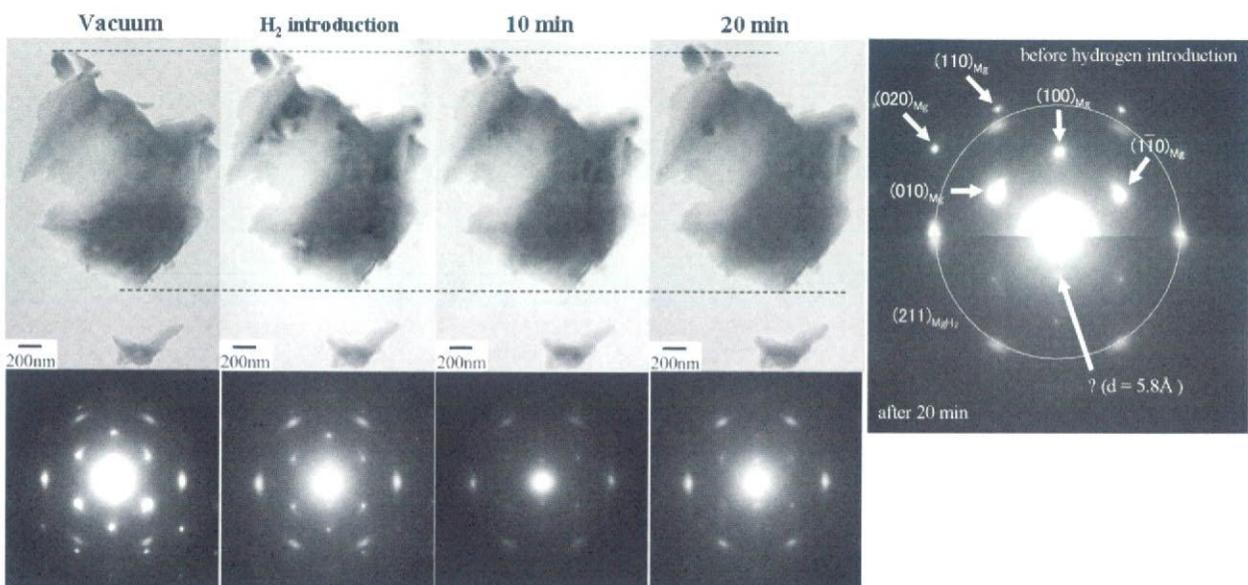


Figure 4. BF and SADP of Mg particles before and after introducing hydrogen.

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

(※:収録リプリント)

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
F.Watari, A.Yokoyama, M.Gelinsky, W.Pompe	Conversion of Functions by nanosizing from osteoconductivity to bone substitutional properties in apatite	M.Watanabe, O.Okuno	Interface Oral Health Science 2007	Springer	Japan	2007	139-147 ※
M.Gelinsky, A.Bernhardt, M.Eckert, T.Hanke, U.Konig, A.Lode, A.Reinstorf, C.Vater, A.Walther, A.Yokoyama, F.Watari	Biomaterials based on mineralised collagen an artificial extracellular bone matrix	M.Watanabe, O.Okuno	Interface Oral Health Science 2007	Springer	Japan	2007	323-328 ※
F. WATARI, K.Tamura, A. YOKOYAMA, K.Shibata, T.Akasaka, B.FUgetsu, K.Asaoka, M.Uo, Y.Totsuka, K.Tothji	Biochemical and Pathological Responses of Cells and Tissue to Micro- and Nanoparticles from Titanium and other Materials	M.Eppel and E.Bauerlein	Handbook of Biomaterialization -Medical and Clinical Aspects-	WELEY-VCH	Weinheim	2007	127-144 ※
亘理文夫	各ナノ粒子・微粒子の毒性評価・安全性試験の動向	技術情報協会	ナノ粒子の有害性評価とリスク対策	技術情報協会	日本	2007	436-449 ※
亘理文夫	CNTの生体影響(in-vitro)	エヌ・ティー・エス	ナノカーボンハンドブック	エヌ・ティー・エス	日本	2007	887-893 ※
佐藤義倫、田路和幸	カーボンナノチューブ		ナノ粒子の有害性評価とリスク対策	技術情報協会	東京	2007	392-415
橋本雅美	酸化チタン・有機高分子複合人工骨の開発		マテリアルインテグレーション			2007	7-11 ※
遠山晴一	ジャンパー膝	山口 徹, 北原光夫, 福井次矢	今日の治療指針 2007。私はこう治療している	医学書院	東京	2007	767-768
Tohyama H., Yasuda K	Growth Factors and Other New Methods for Graft Healing Enhancement	Chadwick Prodromos, Charles Brown, Freddie Fu	THE ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT: RECONSTRUCTION AND BASIC SCIENCE	WB Saunders Co		2007	625-633
浅岡憲三	チタン多孔体とリン酸カルシウムの修飾		多孔体の精密制御と機能・物性評価	サイエンス&テクノロジー	東京	2008 印刷中	
久保木芳徳 藤沢隆一	硬組織再建の原理	久保木芳徳 川上俊之	骨と歯の再生医療	学際企画	東京	2007	5-14

滝田裕子 川上俊之							
藤沢隆一 久保木芳徳 滝田裕子	硬組織形成に必要な5 大要素とその統合	久保木芳徳 川上俊之	骨と歯の再生医 療	学際企画	東京	2007	15-50
久保木芳徳 藤沢隆一 滝田裕子	人工ECMの幾何学	久保木芳徳 川上俊之	骨と歯の再生医 療	学際企画	東京	2007	51-66
久保木芳徳, 滝田裕子, 吉 本良太, 賀来 亨	人工細胞外マトリッ クの幾何学	田畑泰彦, 岡野光夫,	ティッシュエン ジニアリング 2006	日本医学 館	東京	2006	24-33.
久保木芳徳 藤沢隆一 滝田裕子	人工細胞外マトリッ ク	田畑泰彦, 岡野光夫	ティッシュエン ジニアリング 2007	日本医学 館	東京	2007	100-108

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
Fumio Watari, Shigeaki Abe, Chika Koyama, Atsuro Yokoyama, Tukasa Akasaka, Motohiro Uo, Makoto Matsuoka, Yasunori Totsuka, Mitsue Esaki, Manabu Morita, Tetsu Yonezawa	Behavior of In Vitro, In Vivo and Internal Motion of Micro/Nano Particles of Titanium, Titanium Oxides and Others	Journal of the Ceramic Society of Japan	116	1-5	2008 ※
Fumio Watari, Shigeaki Abe, Kazuchika Tamura, Motohiro Uo, Atsuro Yokoyama and Yasunori Totsuka	Internal Diffusion of Micro/Nanoparticles Inside Body	Key Engineering Materials	361- 363	95-98	2008 ※
Fumio Watari, Shigeaki Abe, Kazuchika Tamura, Atsuro Yokoyama, Tsukasa Akasaka and Motohiro Uo	Biological Reaction to Micro/Nano Particles of Titanium and Titanium Oxides	Proceedings of the 6th International Symposium on Titanium in Dentistry		68-69	2008 ※
F.Watari, S.Abe, C.Koyama, S.Inoue, T.Akasaka, M.Uo, M.Matsuoka, N.Takashi, Y.Totsuka, E.Hirata, A.Yokoyama, M.Esaki, M.Morita, T.Yonezawa	Effect of nanosizing of materials on living organism	Proc. International Symposium on Nano Science and Technology (ISNST) 2007		43-52	2007 ※
Susan Liao, Fumio Watari, Guofu Xu, Michelle Ngiam, Seeram Ramakrishna, Casey K. Chan	Morphological effects of variant carbonates in biomimetic hydroxyapatite	Materials Letters	61	3624-3628	2007 ※
Susan Liao, Michelle Ngiam, Fumio Watari, Seeram Ramakrishna and Casey K Chan	Systematic fabrication of nano-carbonated hydroxyapatite collagen composites for biomimetic bone grafts	Bioinspiration & Biomimetics	2	37-41	2007 ※
Susan Liao, Fumio Watari, Yuhe Zhu, Motohiro Uo, Tsukasa Akasaka, Wei Wang, Guofu Xu, Fuzhai Cui	The degradation of the three layered nano-carbonated hydroxyapatite/collagen / PLGA composite membrane in vitro	Dental Materials	23	1120-1128	2007 ※
Susan Liao, Guofu Xu, Wei Wang, Fumio Watari, Fuzhai Cui, Seeram Ramakrishna, Casey K.Chan	Self-assembly of nano-hydroxyapatite on multi-walled, carbon nanotubes	Acta Biomaterialia	3	669-675	2007 ※
Hiroto Tachikawa, and Shigeaki Abe	Reaction dynamics following electron capture of chlorofluorocarbon adsorbed	<i>J. Chem. Phys.</i>	126	194310- 194319	2007

	on water cluster: A direct density functional theory molecular dynamics study				
Y. Takenaka, A. Yanagi, H. Masuda, Y. Mitsui, H. Mizuno and N. Haga	Direct observation of histone H2B-YFP fusion proteins and transport of their mRNA between conjugating <i>Paramecia</i> .	Gene	395	108-115	2007 ※
N. Haga and K. Haneda	Paramecium as a bioassay system for elucidation of cytotoxicity and biocompatibility of nanoparticles: effect of carbon nanofibers on proliferation and survival	Jpn. J. Protozool.	40,2	139-146	2007 ※
Tsukasa Akasaka, Fumio Watari	Carbohydrate coating of carbon nanotubes for biological recognition	Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructure	16 (2)	114-125	2008 ※
T. Yonezawa, T. Ito, N. Shirahata, Y. Masuda, K. Koumoto	Positioning of cationic silver nanoparticle by using AFM lithography and electrostatic interaction	Applied Surface Science	254	621-6	2007 ※
T. Yonezawa, K. Kamoshita, M. Tanaka, T. Kinoshita	Easy preparation of stable iron oxide nanoparticles using gelatin as stabilizing molecules	J.J. Applied Physics	47	1389-92	2008 ※
H. Kawasaki, T. Yonezawa, T. Watanabe, R. Arakawa	Pt nanoflowers for surface assisted laser desorption/ionization mass spectrometry	J. Phys. Chem	111	16278-83	2007 ※
H. Kawasaki, T. Yonezawa, K. Nishimura, R. Arakawa	Fabrication of submillimeter sized gold plates from thermal decomposition of HAuCl ₄ in two component ionic liquids	Chem. Lett.	36	1038-9	2007 ※
Uo M., Asakura K., Yokoyama A., Ishikawa M., Tamura K., Totsuka Y., Akasaka T., Watari F.	X-ray Absorption Fine Structure (XAFS) Analysis of Titanium-Implanted Soft Tissue	<i>Dental Materials Journal</i>	26	268-273	2007 ※
Uo M., Kachi H., Akasaka T., Watari F., Sato Y., Motomiya K., Tohji K.	The purity and thermal stability in air of metal-encapsulating carbon nanocapsules (MECNCs)	<i>Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures</i>	15	303-309	2007 ※
Hashimoto, M, Takadama, H, Mizuno, M, Kokubo, T	Mechanical Properties and Apatite Forming Ability of TiO ₂ Nanoparticles / High Density Polyethylene Composite: Effect of Filler Content	<i>The Journal of Materials Science: Materials in Medicine</i>		661-668	2007 ※
Hashimoto, M, Mizuno, M, Kitaoka, S	Influence of Lubricant on Morphology of UHMWPE Debris in Hip Joint Simulator	Proceeding of the Asian BioCeramics		55-58	2007
Hashimoto, M, Mizuno, M, Kitaoka, S, Kokubo, T, Goto, K, Nakamura, T	Mechanical and Bioactive Behaviors of PMMA/TiO ₂ Bone Cement	Proceedings of the 24 th International Japan-Korea Seminar on Ceramics		133-136	2007
Y. Sakai, A. Haga, S. Sugita, S. Kita, S.-I. Tanaka, F. Okuyama, and N. Kobayashi	Electron gun using carbon-nanofiber field emitter	Review of Scientific Instruments	78	013305-1 ~ 013305-6	2007 ※
T. Nakazato, M. Nakanishi, S. Kita, F. Okuyama, Y.	Biological effects of Field emission-type	Journal of Radiation Research	48	153-161	2007 ※