

☒1

Mice : ♀MRL/lpr (Fas gene mutation, an model for autoimmune diseases such as SLE, RA,SS) (8 weeks of age)

Group (n=7~10): 0 μ g/mouse, 1 μ g/mouse, 10 μ g/mouse

MWCNT: Taquann-treated MWCNT (MWCNT-7, length:5.7 \pm 3.7 μ m, diameter; 74 \pm 28 nm) was provided from Dr. Taquahashi and Dr. Kanno.

Vehicle: 0.1%Tween80 /saline

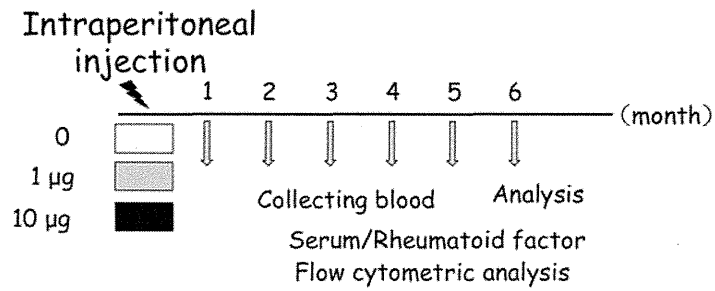
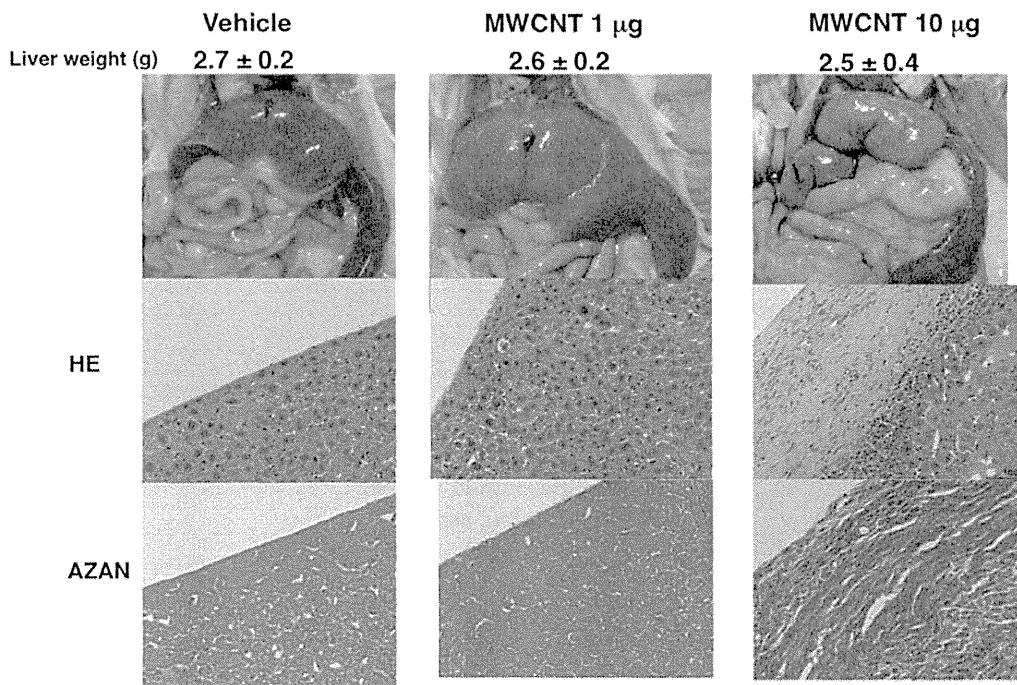


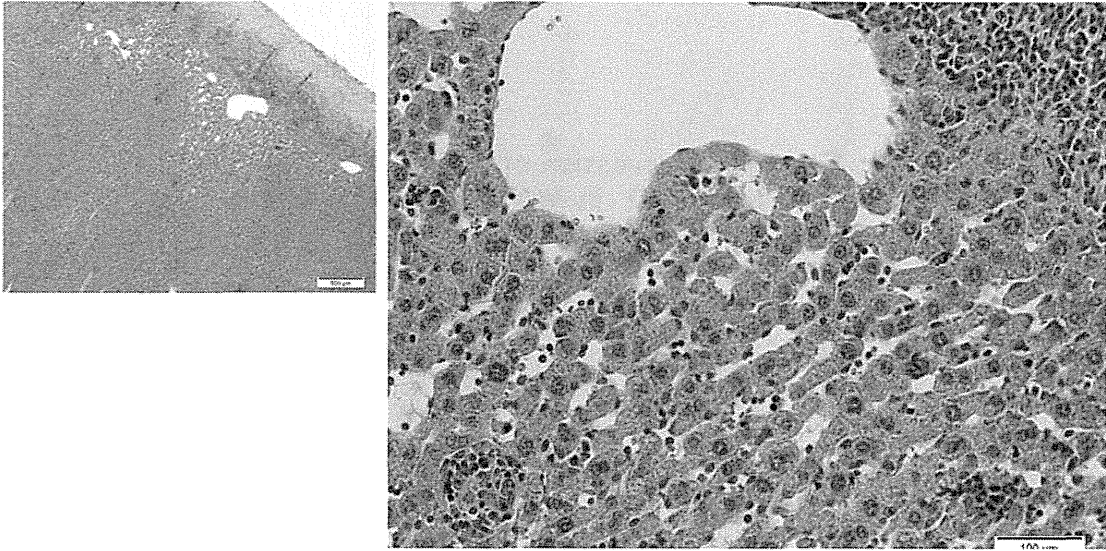
図2

Liver Lesions in MWCNT-Injected MRL/lpr Mice

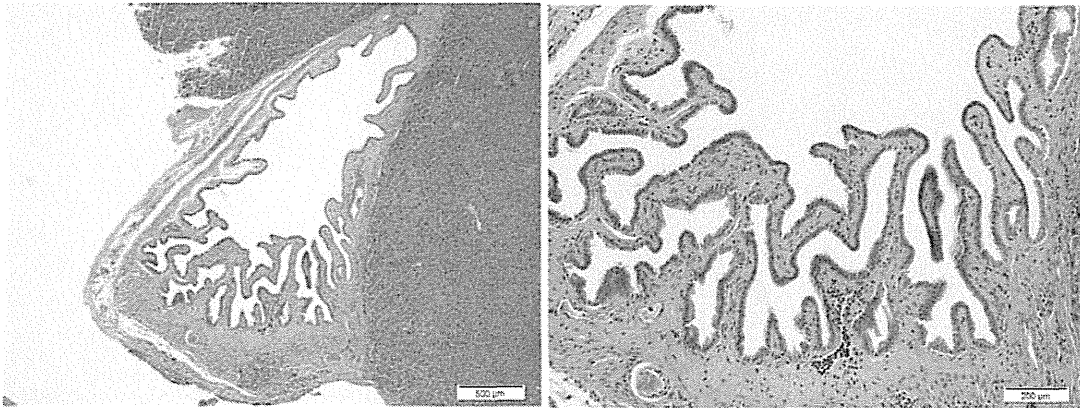


☒3

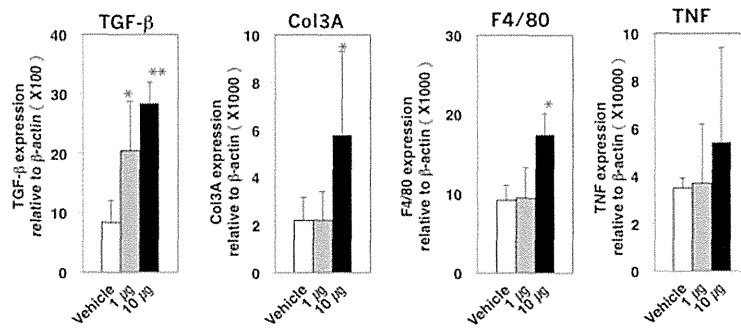
Degenerated or atrophic hepatocytes



Bile duct hyperplasia



Enhanced Expression of TGF- β , Col3A, TNF- α and F4/80 in MWCNT-Injected Liver

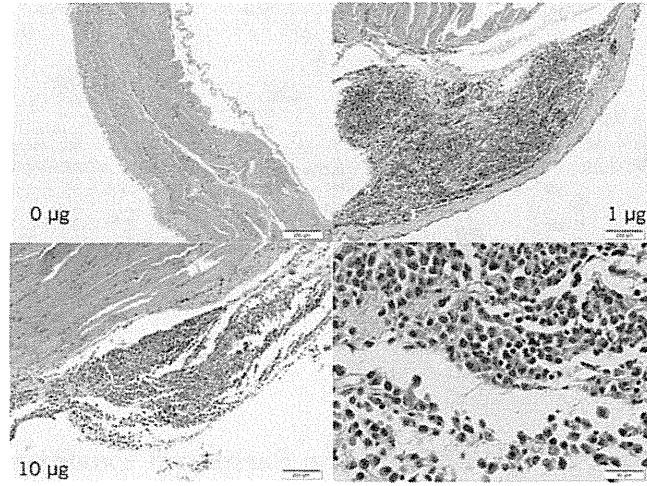


*p<0.05
**p<0.001

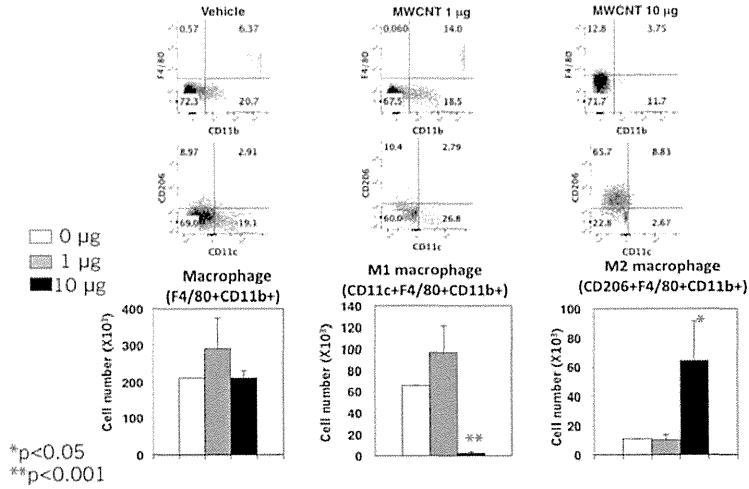
Col3A; Collagen alpha-1 (III) chain

图5

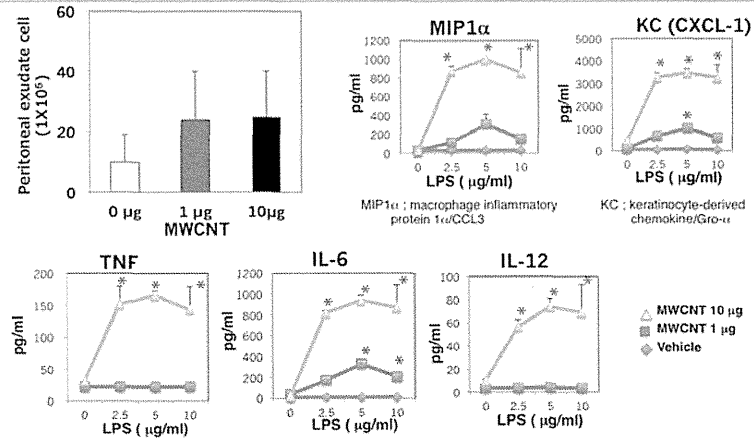
MWCNT-Induced Peritonitis (Diaphragm)



Effect of MWCNT Administration on Macrophage Differentiation in PECs



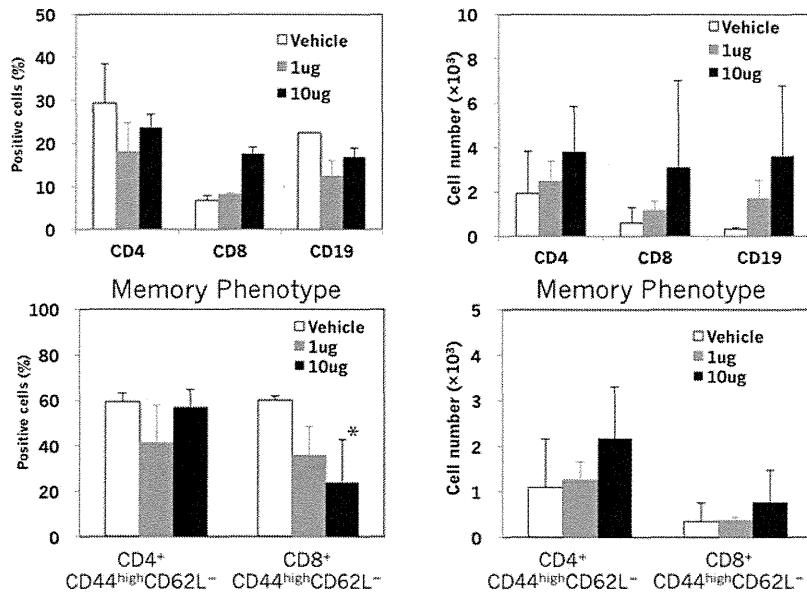
Effect of MWCNT on the Peritoneal Exudated Cells (PECs) in MWCNT-Injected MRL/lpr Mice



The culture supernatant of PECs (5X10⁴) stimulated with LPS for 24h were analyzed with ELISA *p<0.05

Figure 7

T and B Cell Population of PECs in MWCNT-Administered MRL/lpr Mice



*p<0.05

図8

Effect of MWCNT Administration on Autoimmune Lesions in MRL/lpr Mice

Liver

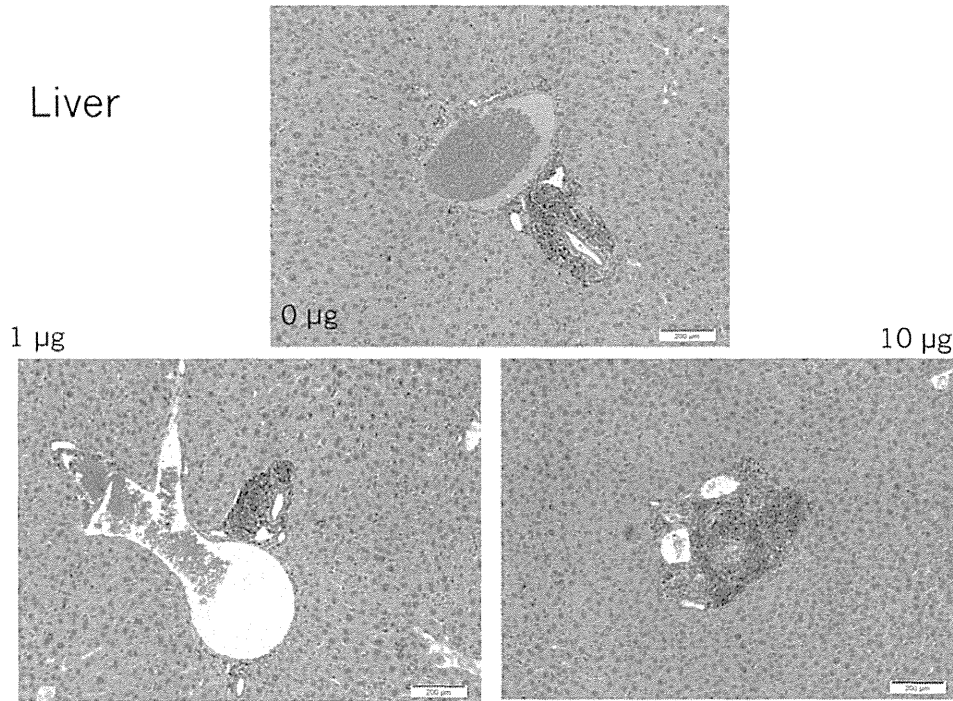


図9

Effect of MWCNT Administration on Autoimmune Lesions in MRL/lpr Mice

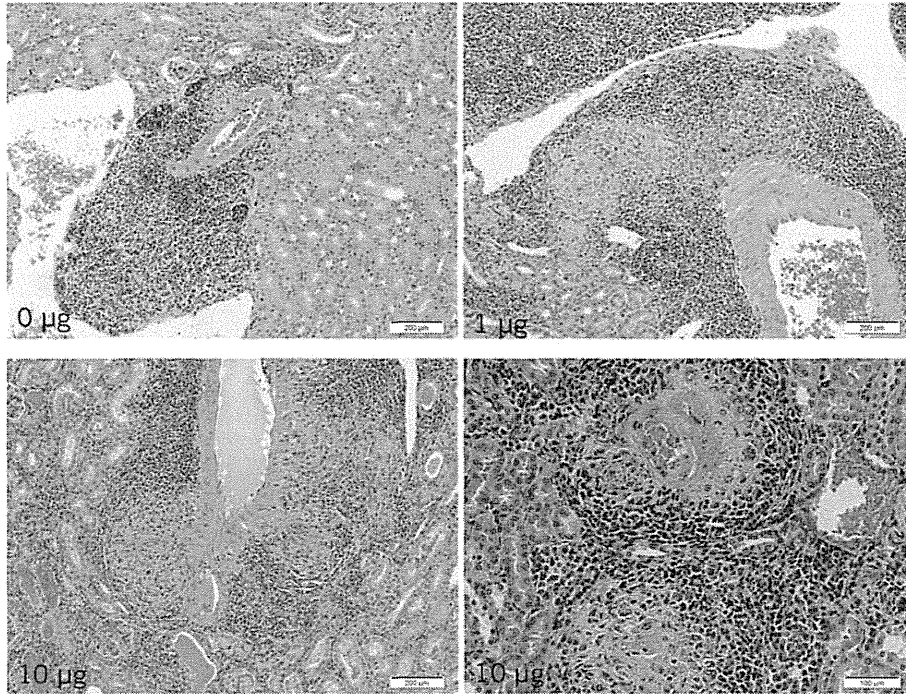
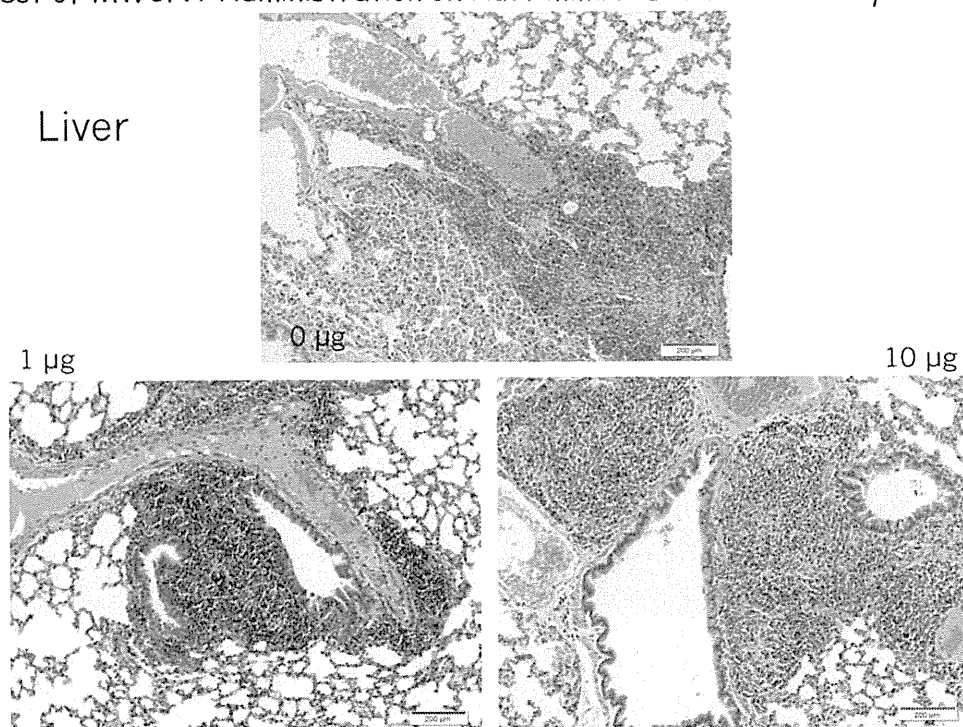


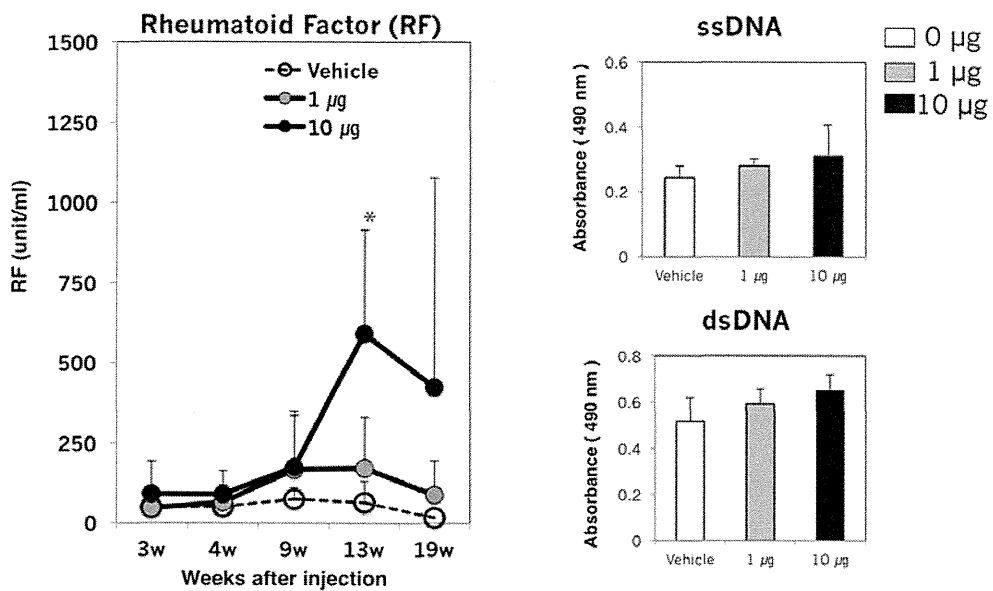
図10

Effect of MWCNT Administration on Autoimmune Lesions in MRL/lpr Mice

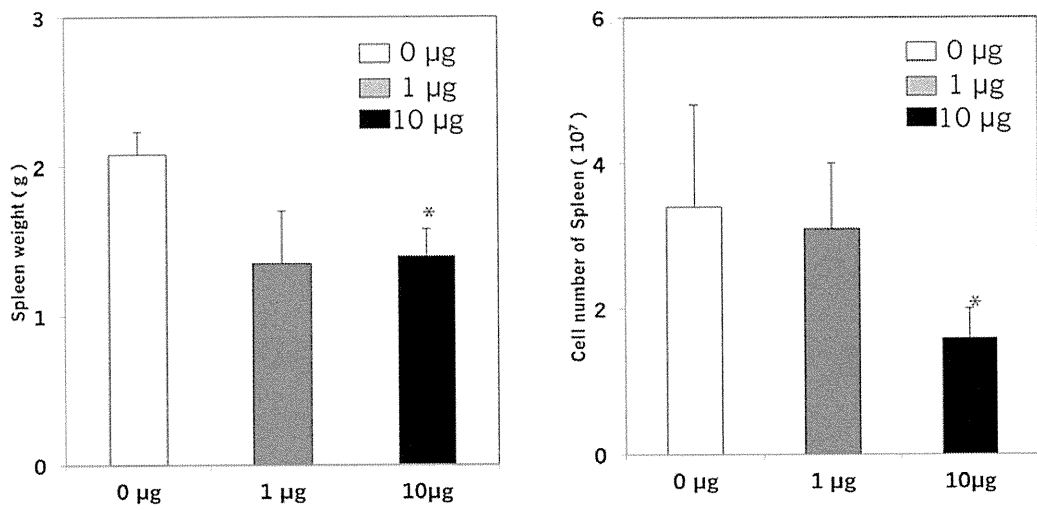
Liver



Effect of MWCNT Administration on Serum Autoantibody Levels in MRL/lpr Mice

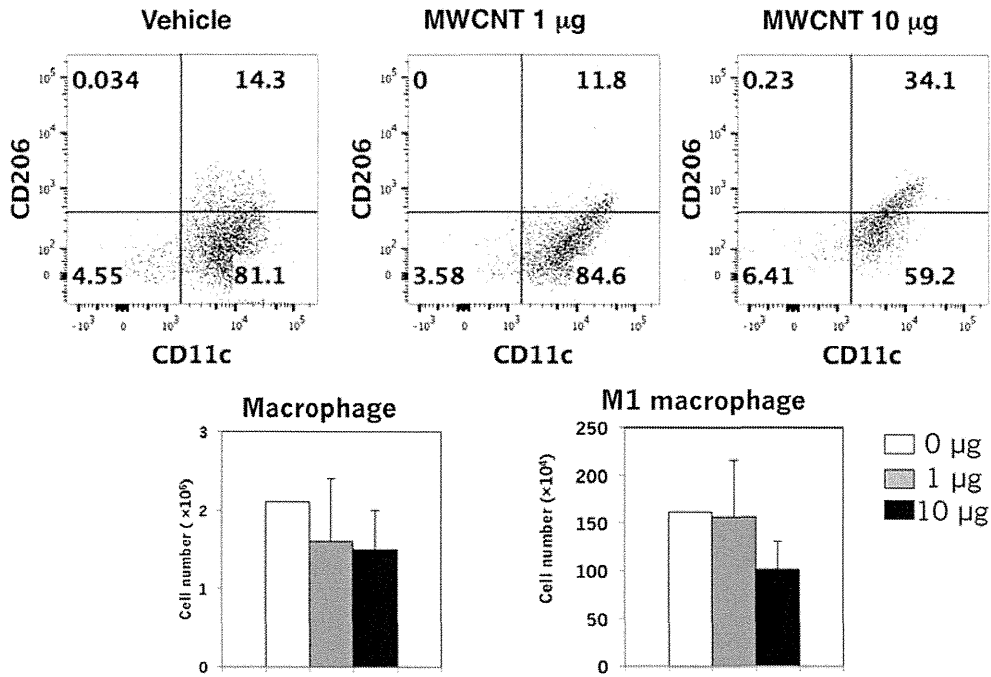


Effect of MWCNT Administration on Spleen Weight and Cell Number



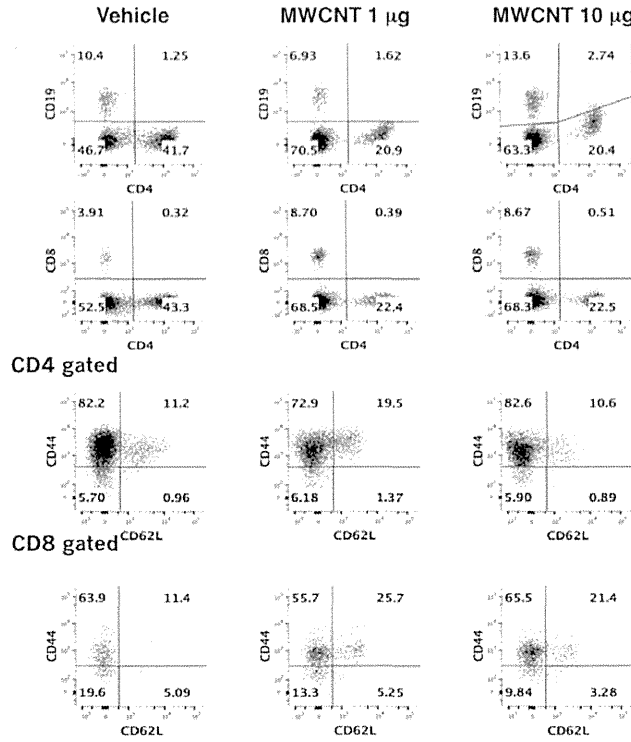
*p<0.05

Effect of MWCNT Administration on Macrophage Differentiation in Spleen

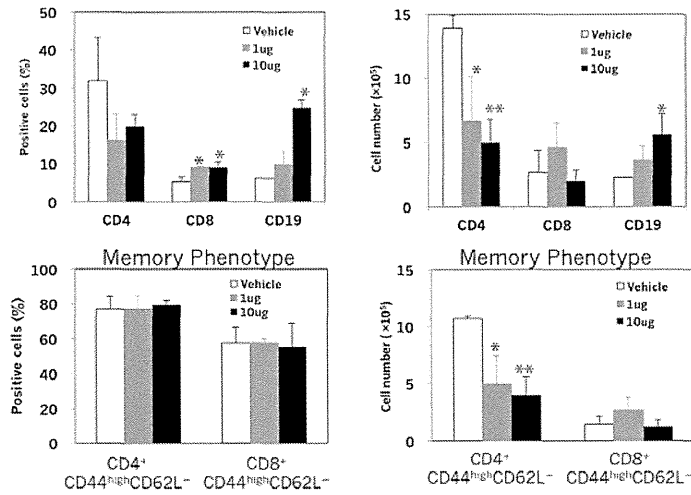


14

Effect of MWCNT Administration on T and B cells in Spleen from MRL/lpr Mice



Effect of MWCNT Administration on T and B cells in Spleen from MRL/lpr Mice



分担研究課題名:炭素系ナノマテリアルの生体影響試験における物性測定に関する研究

分担研究者:宮澤 薫一 独立行政法人物質・材料研究機構 先端材料プロセスユニット
フラーレン工学グループ グループリーダー

研究協力者:若原 孝次 独立行政法人物質・材料研究機構 先端材料プロセスユニット
フラーレン工学グループ 主幹研究員

平田 千佳 独立行政法人物質・材料研究機構 先端材料プロセスユニット
フラーレン工学グループ 研究業務員

今野 俊生 独立行政法人物質・材料研究機構 先端材料プロセスユニット
フラーレン工学グループ 研究業務員

研究要旨

C₆₀ ナノウィスカー(C₆₀NW)に、C₆₀ よりもわずかに大きな C₇₀ 分子を固溶させることによって C₆₀NW の機械的強度を増大させることや、より長波長側の光吸収特性を向上させることが可能である。しかし、C₆₀NW 母相中への C₇₀ の固溶限は不明である。そこで、手振り混合を用いた強制混合液-液界面析出法により C₆₀-C₇₀2 成分 NW を合成し、C₆₀ 母相中への C₇₀ の固溶限を明かにした。また、C₆₀NW と細胞との相互作用を研究するのに適した長さの C₆₀NW の合成を強制混合液-液界面析出法によって行い、C₆₀NW の長さや直径が溶液体積の関数となることを発見した。さらに、C₆₀NW の生成核数が溶液体積の平方根に逆比例して変化することを見出した。これは、フラーレン結晶核の発生が、C₆₀ 良溶媒飽和溶液と C₆₀ 貧溶媒間に形成される液-液界面での不均一核発生によって支配されていることを示す。

A. 研究目的

C₇₀ は長径 0.85nm、短径 0.72nm のラグビーボール形分子であり、は直径 0.71nm の球形分子である C₆₀ に比べてわずかに大きい。C₆₀NW の母相中に C₇₀ 分子を分散固溶させることができれば、格子を歪ませることによって C₆₀NW の機械的強度を向上させることが可能となると考えられる。実際、C₇₀ を固溶させることにより C₆₀NW のヤング率が著しく上昇することが見出されている。しかし、C₆₀NW の母相中に C₇₀ がどの位まで固溶するかについては明かでなかった。そこで、本研究では、C₆₀-C₇₀2 成分 NW の固溶限の決定を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて

行うこととした。

一方、C₆₀NW と細胞との相互作用の研究においては、相互作用を解析するのに適した長さの C₆₀NW を合成する技術の確立が必要である。液-液界面析出法(LLIP 法)による C₆₀NW の合成において、C₆₀NW の直径が液-液界面の面積に依存して変化することが分かっていた[参考文献(1)]。そこで今回、溶液体積の関数として、C₆₀NW のサイズがどのように変化するかを調べることを目的とした。

B. 研究方法

1. C₆₀-C₇₀2 成分 NW の合成と組成分析

C₆₀ 飽和トルエン溶液と C₇₀ 飽和トルエン溶液を作製し、それらを混合することによって、C₆₀と C₇₀の2成分を含有するトルエン溶液を作製した。この混合溶液を用いて、貧溶媒をイソプロピルアルコール(IPA)とする強制混合液-液界面析出法(強制混合 LLIP 法)によって C₆₀-C₇₀2 成分 NW を合成した。合成は 15°C で行い、10mL のフラーレン飽和溶液を透明ガラスびんに入れ、イソプロピルアルコール(IPA)を 10mL 重層して、30 回手振り混合した後、低温恒温器にて 5 日間静置した。各ガラスびん中の上澄み液を採取して、HPLC(JASCO UV-2070)により組成分析した。

2. 強制混合 LLIP 法による C₆₀NW の合成

C₆₀ 飽和トルエン溶液を、様々な内径のガラスびんに入れ(図1)、等体積の IPA を重層後、30 回手振り混合して、低温恒温器にて 8 日間静置した。合成は 15°Cで行った。

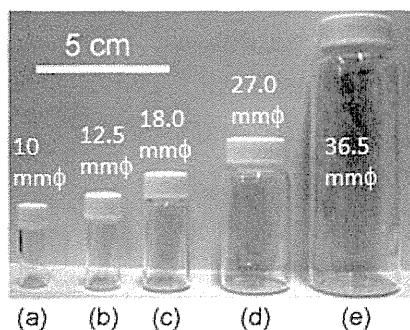


図1合成に用いたガラスびん(内径 10～36.5mmφ)

表1に各ガラスびんの内径、用いた溶液の量、及び、溶液量の代数和を示す。

C₆₀ NW の長さとは直径は走査電子顕微鏡(FIB-SEM, Hitachi NB5000)を用いて測定した。

表1 各ガラスびんの内径、C₆₀ 飽和トルエン溶液の量、イソプロピルアルコールの量、溶液体積の値

ガラスびん	内径 (mm)	C ₆₀ 飽和トルエン溶液(cm ³)	イソプロピルアルコール (IPA) (cm ³)	溶液体積 (cm ³)
(a)	10.0	0.75	0.75	1.5
(b)	12.5	1.5	1.5	3.0
(c)	18.0	4.0	4.0	8.0
(d)	27.0	10.0	10.0	20.0
(e)	36.5	40.0	40.0	80.0

図2に示すように、母液の仕込み組成に応じて多様なサイズの C₆₀-C₇₀NW が合成された。特に C₆₀-45 mass% C₇₀の母液を用いた場合は約 10μm の太さのフラーレン針状結晶が生成した。

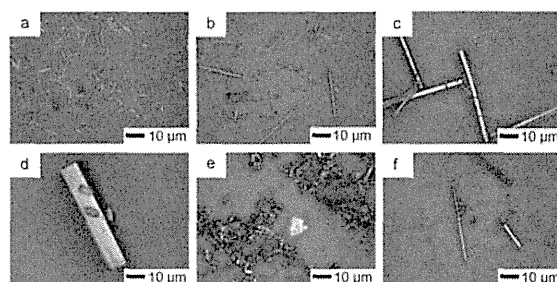


図2 各種の仕込み組成を持つトルエン溶液を用いて合成された C₆₀-C₇₀2 成分結晶の光学顕微鏡像。(a)C₆₀ - 9 mass% C₇₀、(b)C₆₀ - 24 mass% C₇₀、(c)C₆₀ - 37 mass% C₇₀、(d)C₆₀ - 45 mass% C₇₀、(e) C₆₀ - 78 mass% C₇₀、(f)100 mass% C₇₀ (論文発表(1))

フラーレンナノワイヤ中への C₇₀と C₆₀の固溶限を決定するために、合成後の上澄み液を HPLC によって分析した。その結果を図3に示す。

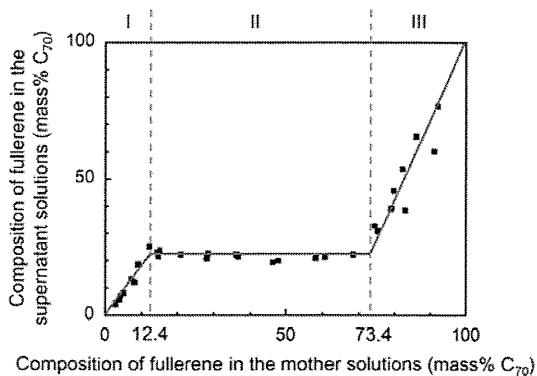


図3 HPLC により測定された母液の組成に対する上澄み液の組成[論文発表(1)]

上澄み液は3つの領域にわけることができ、領域Iと領域IIの境界から、 C_{60} 結晶母相中における C_{70} の固溶限は12.4mass% C_{70} 、 C_{70} 結晶母相中への C_{60} の固溶限は26.6 mass% C_{60} であることが分かる。

これにより、 C_{60} -12.4mass% C_{70} 組成のフラーレンナノウィスカーが、 C_{70} による固溶硬化現象を利用した強化メカニズムにより最も機械的強度が高くなると考えられる。

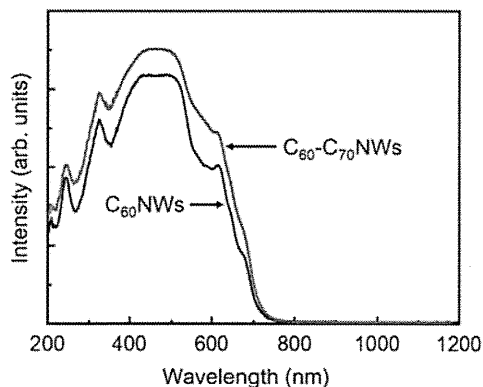


図4 仕込み組成 C_{60} -24mass% C_{70} の母液を用いて合成された C_{60} - C_{70} NW と C_{60} NW の光吸収スペクトルの比較[論文発表(1)]

図4に示すように、固溶限まで十分に C_{70} を含有する C_{60} - C_{70} NW の光吸収スペクトルは、 C_{60} NW に比べて長波長側の吸収が大きく、 C_{70} 含有の効果が現れていることが分かる。

(2) C_{60} NW の合成とサイズ計測

図5に強制混合 LLIP 法によって合成された

C_{60} NW の平均長さ、平均直径、及び、平均アスペクト比(長さ/直径)の測定結果を溶液体積の関数として示す。

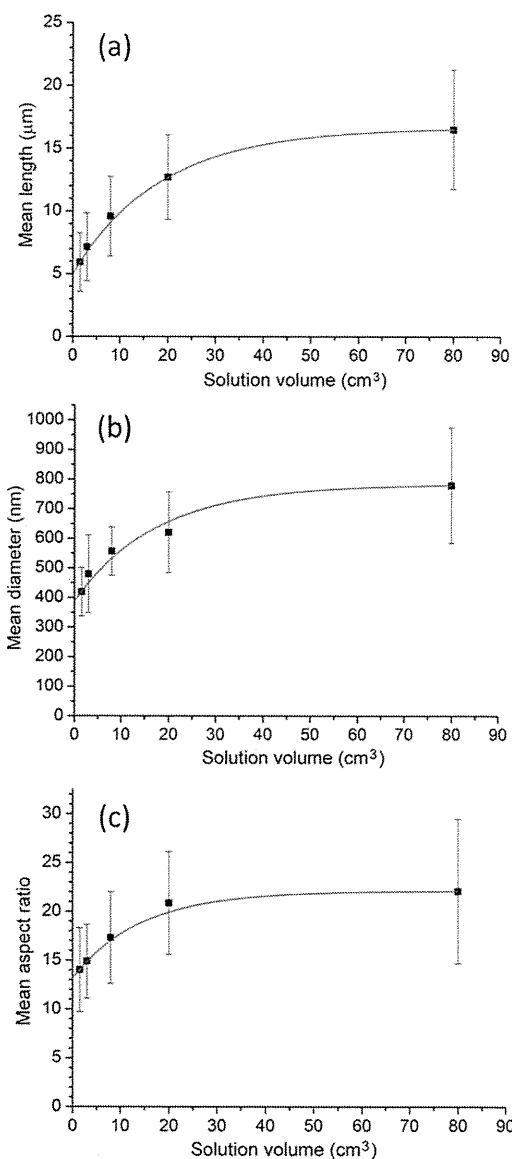


図5 強制混合 LLIP 法によって合成した C_{60} NW の(a)平均長さ、(b)平均直径、(c)平均アスペクト比と溶液体積との関係[論文発表(2)]

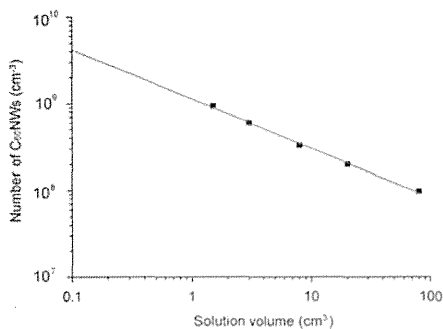


図6 溶液体積とC₆₀NWの数密度との間の関係[論文発表(2)]

C₆₀NWの平均長さと平均直径から、C₆₀NWの平均体積を求めることができる。平均体積とC₆₀の仕込み量からC₆₀NWの溶液中の本数を求めることができる。このようにして求めたC₆₀NWの単位体積当たりの本数(数密度 ρ , cm⁻³)を図6に示す。溶液体積Vと数密度 ρ との間の関係は、

$$\rho = 1.12 \times 10^9 / V^{0.5674} \quad (1),$$

と求められた。これは、数密度 ρ が溶液体積のほぼ平方根に反比例して変化することを示している。

D. 考察

(1) C₆₀-C₇₀2成分NWの力学的性質

透過電子顕微鏡(TEM)を用いたC₆₀-C₇₀2成分NWのヤング率の測定において、C₇₀の添加量の増加に応じてC₆₀-C₇₀2成分NWのヤング率が増加し、仕込み組成C₆₀-15mass% C₇₀のフラレンナノウイスキー(FNW)のヤング率が約90GPaに到達することが示された[学会発表(1)]。今回、C₇₀の固溶限が12.4mass%と求められたことにより、C₆₀NWのヤング率は、約20GPaから約90GPaの間まで、C₇₀の添加量を変えることによって連続的に変化させることが可能である。これは、FNWのヤング率が、C₇₀の添加によって分子間結合力に基づく領域から金属結合並に高い値まで変化することを意味しており、C₇₀の添加によりフラレン分子が部分的にポリマー化することを示唆する。

(2) C₆₀NWサイズの溶液体積依存性

C₆₀NWのサイズが溶液体積の平方根に反比例して変化することは、以下のようにして説明できる。図7

のように、液-液界面形成後(a)、手振り混合によって正弦波状に液-液界面の形状が変化すると仮定し(b)、さらに進んで(c)のように上下方向に振幅が増幅した液-液界面が形成されるものとし、界面の一部を高さh、半径r、面積S、体積Vの円筒形で近似する(図8(a))。

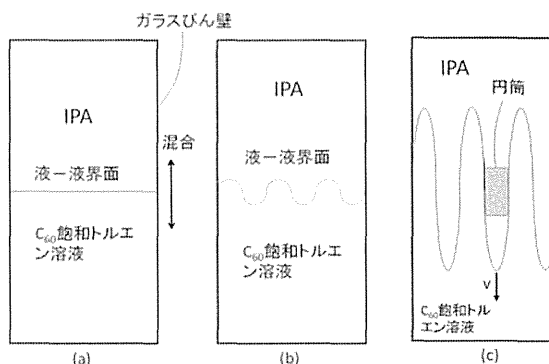


図7 手振り混合により液-液界(a)が、(b)、(c)のように乱されるモデルと、液-液界面の円筒形モデル(c)

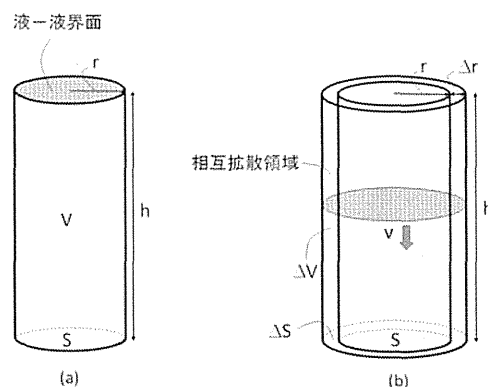


図8 図7(c)の円筒部分の拡大図(a)と相互拡散領域の形成図(b)

図8(b)に示すように、混合により、液-液界面が、円筒部分の高さhを速度vで進む間に体積 ΔV の相互拡散領域が形成されて過飽和状態が生じ、C₆₀NW核が生成するものとする。このとき、溶液中のC₆₀NWの数密度の式を導くことができ、実験式(1)の溶液体積と数密度の関係を説明することができる。詳細な誘導過程は論文発表(3)に記した。

E. 結論

- (1) 強制混合液-液界面析出法によって C₆₀-C₇₀2 成分 NW を合成した。さらに HPLC を用いて、2 成分 NW における C₆₀ 母相中の C₇₀ 固溶限と C₇₀ 母相中の C₆₀ 固溶限を決定した。
- (2) 種々のサイズのガラスびんを用いた強制混合液-液界面析出法によって C₆₀NW を合成し、溶液体積と C₆₀NW の平均サイズの関係を調べた結果、平均サイズが溶液体積の関数として変化することを発見した。
- (3) C₆₀NW の溶液中の数密度が、溶液体積の平方根に反比例して変化することを発見した。これは、C₆₀ 結晶核の発生が、液-液界面における C₆₀ の良溶媒飽和溶液と貧溶媒の相互拡散領域の形成による不均一核発生によって支配されていることを示す。

参考文献

- (1) T. Wakahara, K. Miyazawa, Y. Nemoto and O.Ito, Carbon **49**(2011)4644.

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) T. Konno, T. Wakahara and K. Miyazawa, “Synthesis and structural analysis of C₆₀-C₇₀ two-component fullerene nanowhiskers”, J. Cryst. Growth **416** (2015) 41-46.
- (2) K. Miyazawa, C. Hirata and T. Wakahara, “Influence of the solution volume on the growth of C₆₀ nanowhiskers”, J. Cryst. Growth **405**(2014)68-72.
- (3) K. Miyazawa, “ Synthesis of fullerene nanowhiskers using the liquid-liquid interfacial precipitation method and their mechanical,electrical and superconducting properties”, Sci. Technol. Adv. Mater.**16** (2015) 013502 .

- (4) 宮澤薫一, “液-液界面析出法(LLIP 法)によるフラーレンのナノウィスカー・ナノチューブ・ナノシートの合成”, Journal of the Society of Inorganic Materials, Japan **22**(2015) 92-98.

2. 学会発表

- (1) Matsuura, T. Konno, T. Wakahara, K. Miyazawa, T. Kizuka, “Young's modulus of C₆₀/C₇₀ alloy nanowhiskers”, 2014 Tsukuba Nanotechnology Symposium (TNS'14), July 25-26, 2014, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan.
- (2) 宮澤薫一, 平田千佳, 若原孝次, “C₆₀ ナノウィスカーの成長に及ぼす溶液体積の影響”, 日本物理学会講演概要集 69[2]第 4 分冊, 2014 年 9 月 7-10 日, 中部大学, pp.621-621.
- (3) K. Miyazawa, C. Hirata and T. Wakahara, “Controlled growth of C₆₀ fullerene nanowhiskers”, 3rd MOVE Symposium, University of the Philippines Baguio, October 22-24, 2014, Philippines.
- (4) K. Miyazawa, “Growth of fullerene nanowhiskers by LLIP method”, Program & Abstract, pp.73-73, Collaborative Conference on Crystal Growth 3CG 2014, November 4-7, 2014, Phuket, Thailand.
- (5) K. Miyazawa, C. Hirata, T. Wakahara, “Controlled growth of C₆₀ fullerene nanowhiskers”, Abstracts of Fifteenth International Symposium on Biomimetic Materials Processing (BMMP-15), Nagoya University, Nagoya, 2015 年 1 月 23 日~ 26 日, P.23.
- (6) 宮澤薫一, “強制混合 LLIP 法におけるフラーレンナノウィスカー結晶核の生成に関する考察”, 日本物理学会講演概要集第 70 巻第 1 号(第 70 回年次大会), 早稲田大学, 2015 年 3 月 21 日~24 日, P.1896
- (7) 今野俊生, 若原孝次, 宮澤薫一, “C₆₀-C₇₀2 成分ナノウィスカーの合成と構造解析(3)”, 日本物理学会講演概要集第 70 巻第 1 号(第 70 回

年次大会), 早稲田大学早稲田キャンパス,
2015年3月21日~24日, P.1895.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. なし
2. 実用新案登録
(該当なし)
3. その他
(該当なし)