

生体影響予測を基盤としたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の提案
分担研究課題名：ナノマテリアルの特性評価

分担研究者：林 幸彦 九州大学大学院歯学研究院 准教授

研究要旨：鉄（III）アセチルアセトネートを前駆体として用いた加水分解・縮合により、結晶子サイズ及び磁氣的性質が精密に制御された酸化鉄ナノ粒子（マグネタイト或いはマグヘマイト）を得ることに成功した。得られた酸化鉄ナノ粒子の結晶子サイズは加水分解・縮合に用いるヒドラジン一水和物と水の添加量で制御することができた。結晶子サイズは5～10 nmの範囲で、ナノメートルレベルで制御でき、これに伴い磁気特性も変化した。室温において、最小結晶子サイズの酸化鉄ナノ粒子の飽和磁化は約 50 emu/g であり、最大結晶子サイズの酸化鉄ナノ粒子の飽和磁化は 80 emu/g であった。つまり、結晶サイズが約 5 nm 増加すると、飽和磁化が約 1.6 倍増加することが明らかになった。また、最大結晶子サイズの酸化鉄ナノ粒子の飽和磁化は、バルクのマグネタイトの 85%以上の飽和磁化を示し、比表面積の大きいナノ粒子には高い飽和磁化を示した。一方、結晶子サイズによらず全ての酸化鉄ナノ粒子において、保磁力及び残留磁化がゼロであり、超常磁性的挙動を示した。以上より、本手法を用いることで、結晶子サイズと磁気特性を制御でき、その磁気特性は超常磁性であり、高い飽和磁化を示すことが明らかになった。

A. 研究目的

細胞・タンパクの分離、磁気共鳴画像法(MRI)、磁気ハイパーサーミア等のバイオメディカル分野において、酸化鉄ナノ粒子が用いられている。これらの用途では、超常磁性を示す酸化鉄ナノ粒子を用いることが多い。酸化鉄ナノ粒子の場合、超常磁性は一般に10 nm以下で発現される。一方、10 nm以下の酸化鉄ナノ粒子では目的とする性能が得られないことがある。例えば、酸化鉄ナノ粒子を磁気ハイパーサーミアに応用する場合、発熱能が不足しており、適正濃度において、治療効果を示す温度まで加熱することができないことがある。このため、10 nm以下の超常磁性を維持しつつ、磁気特性、特に飽和磁化を高めることが求められる。そこで本研究では、10 nm以下の範囲において、酸化鉄ナノ粒子の結晶子サイズを精密に制御する方法を確立し、超常磁性を示しつつ、飽和磁化を可能な限り高めることを試みた。

B. 研究方法

鉄（III）アセチルアセトネート（Fe(acac)₃、日本化学産業、東京）をエタノールに溶解した。この溶液に、hydrazine monohydrateを（キシダ化学、大阪）と蒸留水を添加した。異なるFe(acac)₃溶液

濃度、hydrazine monohydrate添加量、蒸留水添加量で合成した酸化鉄ナノ粒子のサンプル名をMNPs-1～MNPs-9とし、表1にこれらの合成条件を示す。Fe(acac)₃溶液にhydrazine monohydrateと蒸留水を添加した後、78°Cで24時間攪拌した。最後に、遠心分離（10,000 rpm、10分）により生成した酸化鉄ナノ粒子を回収し、エタノールと蒸留水で少

表1. 酸化鉄ナノ粒子作製条件

Sample	Fe(acac) ₃ concentration (mM)	Additive amount of hydrazine monohydrate (equiv.)	Additive amount of distilled water (equiv.)
MNPs-1	0.5	6	72
MNPs-2	0.7	6	72
MNPs-3	0.9	4	72
MNPs-4	0.9	6	36
MNPs-5	0.9	6	72
MNPs-6	0.9	6	108
MNPs-7	0.9	8	72
MNPs-8	0.9	8	144
MNPs-9	1.1	6	72

なくとも3回洗浄した。

（倫理面の配慮）

倫理面で配慮が必要な実験は行っていない。

C. 研究結果

図1に合成した酸化鉄ナノ粒子（サンプル名 MNPs-1～MNPs-9）のX線回折（XRD）図形を示す。全てのサンプルにおいて、X線回折パターン

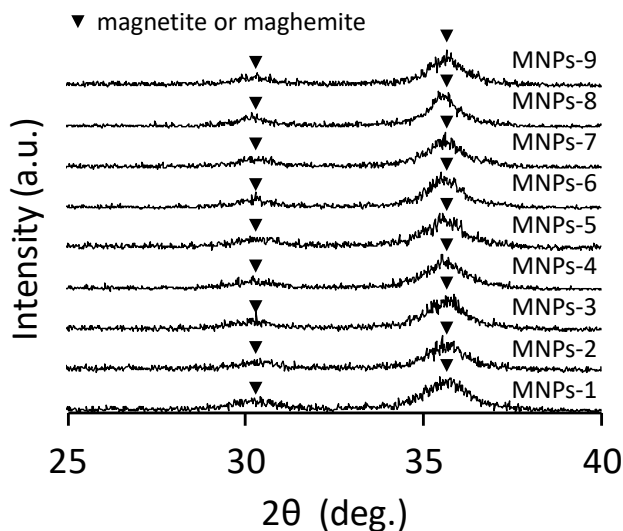


図1. 酸化鉄ナノ粒子のXRDパターン

はマグネタイト・マグヘタイトのパターンと一致した。これにより、本手法により、マグネタイト・マグヘタイトを合成できることが明らかになった。

Scherrer式から、MNPs-1～MNPs-9の結晶子サイズを求め、結晶子サイズに及ぼす $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 濃度の影響、ヒドラジン添加量の影響、水添加量の影響を評価した（図2）。 $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 濃度、ヒドラジン添加量、水添加量の増加とともに、結晶子サイズも増大した。これらの条件を調整することにより、酸化鉄ナノ粒子の結晶子サイズは5～10 nmの範囲で、ナノメートルレベルで制御できることが明らかになった。

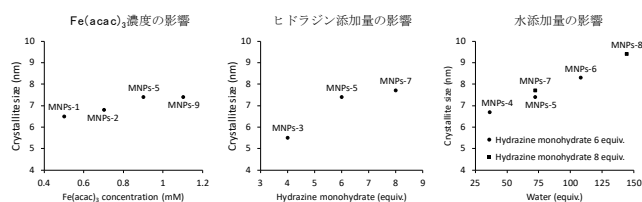


図2. 酸化鉄ナノ粒子の作製条件と結晶子サイズの関係

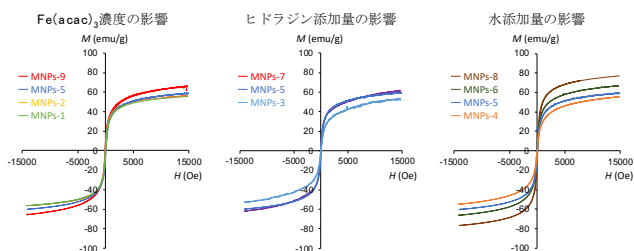


図3. 酸化鉄ナノ粒子の室温での磁化曲線

MNPs-1～MNPs-9の室温での磁気特性を振動試料型磁力計により測定し、酸化鉄ナノ粒子合成

時の $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 濃度、ヒドラジン添加量、水添加量（つまり酸化鉄ナノ粒子の結晶子サイズ）が磁気特性に与える影響を評価した（図3）。 $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 濃度、ヒドラジン添加量、水添加量の増加（つまり結晶子サイズの増大）とともに、飽和磁化が向上した。また、いずれのサンプルも保磁力・三流磁化はゼロであり、超常磁性的挙動を示した。

D. 考察

鉄錯体を前駆体とする加水分解・縮合により酸化鉄ナノ粒子を合成する本方法は、 $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 濃度、ヒドラジン添加量、水添加量の調整により、1ナノメートルオーダーで結晶子サイズを制御でき、従前の酸化鉄作製法に比べより精密な結晶子サイズ制御が可能である。これにより、10 nm以下の結晶子サイズと磁気特性の関係性を詳細に評価することができた。5～10 nmの範囲では、いずれのサンプルも超常磁性的挙動を示すが、その飽和磁化は結晶子サイズに大きく依存することが明らかになった。10 nmの酸化鉄ナノ粒子は5 nmの酸化鉄ナノ粒子の約1.6倍の飽和磁化を有し、僅か5 nmの差で劇的に飽和磁化が変化することが明らかになった。また、10 nmの酸化鉄ナノ粒子の飽和磁化は約80 emu/gであったことから、バルク酸化鉄の飽和磁化の約85%に迫り、比表面積の大きいナノ粒子でありながら、比較的高い飽和磁化を示すことが明らかになった。これは本手法で得られる酸化鉄ナノ粒子の粒子径に占める磁氣的粒径が大きいことを示している。バイオメディカル用途において用いられる酸化鉄ナノ粒子は超常磁性を示すものが多いが、用途によっては飽和磁化が不足しており、満足のいく結果が得られないことがある。本研究は、超常磁性を示す範囲で、最大限飽和磁化を高める手法を提案するものであり、バイオメディカル応用に資する酸化鉄ナノ粒子の合成に役立つと思われる。

E. 結論

$\text{Fe}(\text{acac})_3$ を前駆体として、加水分解・縮合により、酸化鉄ナノ粒子を作製することができた。前駆体濃度及び加水分解・縮合条件によって、酸化鉄ナノ粒子の結晶子サイズをナノメートルスケールで制御することができ、これにより磁気特性も制御することができた。本方法により、超常磁性を維持したまま、飽和磁化を向上させることができるが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. [Hayashi K, Kato N, Kato M, Ishikawa K. Impacts of channel direction on bone tissue engineering in](#)

- 3D-printed carbonate apatite scaffolds. *Mater Des*, 2021 DOI: 10.1016/j.matdes. 2021.109686.
2. Sakemi Y, Hayashi K, Akira Tsuchiya A, Nakashima Y, Ishikawa K. Reconstruction of critical-size segmental defects in rat femurs using carbonate apatite honeycomb scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, 2021. DOI: 10.1002/jbm.a.37157.
 3. Hayashi K, Ishikawa K. Honeycomb scaffolds fabricated using extrusion molding and sphere packing theory for bone regeneration. *ACS Appl Bio Mater*, 4(1), 721-730, 2021.
 4. Kim H, Röth D, Isoe Y, Hayashi K, Mochizuki C, Markus K, Nakamura M. Protein corona components of polyethylene glycol-conjugated organosilica nanoparticles modulates macrophage uptake. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 199, 111527, 2021.
 5. Hayashi K, Ishikawa K. Effects of nanopores on the mechanical strength, osteoclastogenesis, and osteogenesis in honeycomb scaffolds. *J Mater Chem B*, 8(37), 8536-8545, 2020.
 6. Nakamura M, Hayashi K, Nakamura J, Mochizuki C, Murakami T, Miki H, Ozaki S, Abe M. Near-infrared fluorescent thiol-organosilica nanoparticles that are functionalized with IR-820 and their applications for long-term imaging of in situ labeled cells and depth-dependent tumor in vivo imaging. *Chem Mater* 32(17), 7201-7214, 2020.
 7. Putri TS, Hayashi K, Ishikawa K. Fabrication of three-dimensional interconnected porous blocks composed of robust carbonate apatite frameworks. *Ceram Int*, 46(12), 20045-20049, 2020.
 8. Hayashi K, Tokuda A, Nakamura J, Sugawara-Narutaki A, Ohtsuki C. Tearable and fillable composite sponges capable of heat generation and drug release in response to alternating magnetic field. *Mater*, 13(16), 3637, 2020.
 9. Swe TT, Shariff KA, Mohamad H, Ishikawa K, Hayashi K, Bakar MHA. Behavioural response of cells and bacteria on single and multiple doped Sr and Ag S53P4 sol-gel bioglass. *Ceram Int*, 46(11), 17881-17890 2020.
 10. Hayashi K, Munar ML, Ishikawa K. Effects of macropore size in carbonate apatite honeycomb scaffolds on bone regeneration. *Mater Sci Eng C-Mater Biol Appl*, 111, 110848, 2020.
2. 学会発表
 1. 林幸壱朗、石川邦夫。「炭酸アパタイトハニカムスキャホールドの骨誘導能評価」、日本歯科理工学会 第75回学術講演会
 2. Hayashi K. Impacts of pore architecture on bone regeneration in honeycomb scaffolds, KOB & OBT Research Center Joint International Symposium, Feb. 6, 2021, Fukuoka. 受賞講演
- G.知的所有権の取得状況**
1. 特許取得
 1. 発明の名称：医用ハニカム構造体およびその製造方法、医用組織再建袋、成型型。発明者：石川 邦夫、林 幸壱朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴。出願人：石川邦夫、株式会社ジーシー。国際出願番号：PCT/JP2021/008783 出願日：2021.3.5.
 2. 発明の名称：医用ハニカム構造体およびその製造方法、医用組織再建袋、成型型。発明者：石川 邦夫、林 幸壱朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴。出願人：石川邦夫。出願番号：特願2021-034784。出願日：2021.3.4.
 3. 発明の名称：炭酸アパタイト被覆材料およびその製造方法。発明者：石川 邦夫、林 幸壱朗、土谷 享、岸田 良、中島 康晴。出願人：石川邦夫。出願番号：特願2021-56520。出願日：2021.3.30.
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
 1. 2020年度 九州大学歯学優秀研究者賞, 九州大学, 2021年1月.
 2. 日本歯科理工学会 第75回学術講演会 株式会社ジーシー賞受賞, 2020年4月.