

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H02432

研究課題名(和文)先鋭化ガラス先端の増強電場を利用した非真空イオン注入および細胞代謝活性評価

研究課題名(英文) Cell metabolic activity via non-vacuum ion implantation utilizing an enhanced electric field at a sharpened glass tip

研究代表者

大幸 裕介 (Daiko, Yusuke)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70514404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,200,000円

研究成果の概要(和文)：大気圧条件では、電解質からの電界イオン放出に加えて大気の放電なども生じる。水晶振動子微量天秤と電気化学測定を組み合わせることで、放出されたイオン電流と質量の両者を同時計測した。銀電極と熱膨張係数の近い銀イオン伝導性ガラスを用いることで、大気圧下での銀イオン放出寿命は数分程度から4時間程度まで延び、銀イオン以外の放出は無いこと、銀電極から銀イオンがガラスに供給されることを確認した。生細胞に直接イオン照射を実施して、細胞挙動が照射イオン種の量、エネルギーおよびイオンの種類によって変化することが認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生細胞(NIH3T3)にプロトンもしくはAg⁺イオンを直接照射すると、未照射条件と比較して1~2ピコモル程度のごく少量イオンを照射したのち培養すると細胞がより増殖するのに対して、照射量を増やすと逆に増殖能が低下して細胞死を招くことを高い再現性で確認している。増殖能の向上は外傷の早期治癒、また細胞死の誘導は不良細胞やかゆみなどの原因菌の死滅などにつながる知見であり、この細胞増減を決定するイオン照射量のしきい値を明らかにすることで、イオン照射の応用が広がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Under atmospheric pressure conditions, in addition to field ion emission from electrolytes, atmospheric discharges and other discharge events occur. By combining a quartz crystal microbalance and electrochemical measurements, both the released ion current and mass were measured simultaneously. By using silver ion-conductive glass with a thermal expansion coefficient close to that of the silver electrode, the lifetime of silver ion release under atmospheric pressure was extended from about several minutes to about 4 hours, and it was confirmed that there was no release other than silver ions and that silver ions were supplied from the silver electrode to the glass. Direct ion irradiation of living cells was performed, and it was observed that the cell behavior changed depending on the amount, energy, and type of irradiated ion species.

研究分野：無機材料

キーワード：ガラス イオン伝導 イオン放出 大気圧プラズマ 細胞応答 マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

材料中に加速したイオンを注入するとイオン種に応じて材料物性が変化し、例えば半導体産業などでイオン加速器を利用したイオン注入処理が不可欠となっているほか、近年では医療用途でもイオン注入技術が注目されている。しかし既存のイオン加速器の多くはイオン源としてのプラズマの使用や目的イオンを取り出すための質量分離器が不可欠であるなど、大型かつ真空下でのみ利用され汎用性に乏しいといえる。一方、固体電解質に高電圧を印加して伝導イオン種を放出させることも 1930 年頃より報告があり、700℃～1000 程度の比較的高温かつ真空条件でイオン放出が確認されている。筆者らは、室温付近で 10^{-2} S cm^{-1} 程度の Ag^+ イオン伝導性を示す AgI 系ガラスを先鋭化し、図 1 のように室温大気圧条件で約 2 kV の電圧印加によりイオン電流を観測している。ただし大気圧下のため大気放電なども生じることが懸念され、放出イオン種を同定するには、放出されたイオンの質量を評価する必要がある。また他方、大気圧プラズマ技術の医療応用が 2000 年代に入って精力的に報告されている。大気圧での局所イオン照射という特徴を活かすため、イオン照射寿命やガラスの構造変化、生細胞に H^+ や Ag^+ イオンを直接照射したときの細胞数変化などを検討した。

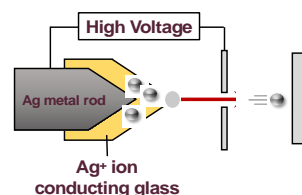


図 1 イオン放出実験の概略図

2. 研究の目的

本研究は H^+ や Ag^+ 、 Cu^+ イオンを大気圧下で長時間安定放出可能な手のひらサイズのイオン銃を開発し、将来の新たな医療技術の開発や創薬、細胞工学分野への応用に資することを目的とした。図 1 において、例えばガラスからの銀イオン放出に伴い銀ロッド電極からガラスへの Ag^+ イオン供給が生じることで、連続的な銀イオン放出が達成され、銀電極とガラスの接合が重要になる。水晶振動子微量天秤と電気化学測定を組み合わせることで、放出されたイオン電流と質量の両者を同時計測し(EQCM 法)、放出イオン種の同程や放出寿命について詳細に調べた。またイオン放出機構を検討するとともに、細胞に直接イオンを注入して細胞代謝活性に対する各イオンの注入効果を定量的に明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

銀イオン放出には AgI- Ag_2MoO_4 系ガラスを用いた。大気雰囲気中で溶融後にプレス急冷することで導電率や各種物性を評価するガラス薄片を得た。得られた試料の結晶性を XRD 測定によって確認した。また 25~100℃の範囲でガラスの熱膨張をレーザー変位計により測定し線膨張率を算出した。ガラスのイオン導電率を調査するため、交流インピーダンス法によって 25~90℃の範囲で各温度の導電率を算出した。また銀板上に 4~7 mg のガラス小片をのせて 300 程度まで加熱融解させることで、ガラスの銀板に対する高温接触角を評価した。以上の評価より銀ロッド電極と高い密着性を有する Ag^+ イオン伝導性ガラス組成を決定した。ガラスエミッタは先鋭化銀ロッドをガラス融液に浸漬後、回転しながら引き上げる方法で先鋭化ガラスエミッタを作製した。EQCM 法を用いてイオン放出を行い、電流値と放出イオンの質量を同時計測して、放出イオン種及び放出寿命について考察した。

4. 研究成果

XRD 測定より非晶質に特有のブロードなピークが観測され、作製試料のガラス化を確認した。ガラス組成によっては銀ロッド電極とガラスの界面で剥離が見られ、両者の熱膨張差に着目した。 $x\text{AgI} \cdot (100-x)\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ($x = 60, 65, 70, 75 \text{ mol}\%$) ガラス及び銀ロッドの熱膨張係数を図 2 に示す。 $x = 60$ ($60\text{AgI} \cdot 40\text{Ag}_2\text{MoO}_4$) ガラスは最も銀との熱膨張差が小さく、銀ロッドとの接合に適していることが示唆された。交流インピーダンス法によって求めた導電率のアレニウスプロットを図 3 に示す。測定したすべての組成のガラスがイオン放出に十分な Ag^+ イオン伝導性を示した。これらの結果より、導電率が比較的高く銀と熱膨張係数差の小さい $60\text{AgI} \cdot 40\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ($\text{mol}\%$) ガラスをエミッタとして利用した。ガラスエミッタの作製では、先鋭化銀ロッドの形状に即した薄く均一なガラスを調製するため、銀ロッドをガラス融液に浸漬させ、回転させながら引き上げることを試みた(図 4)。SEM 観察結果よりガラス厚みは約 $30 \mu\text{m}$ であり、銀ロッド上に薄く成膜することが可能であった。またラマン分光測定より、バルクとエミッタ先端部は同様のスペクトルであり、特に結晶化なども生じていないことを確認した。また高温接触角測定からも、 $\text{AgI}-\text{B}_2\text{O}_3$ 系ガラスなどと比べて $\text{AgI}-\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ 系ガラスの方がガラスと銀板との濡れ性が良いことを確認した。

Tubandt 法を用いて銀板から $60\text{AgI} \cdot 40\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ($\text{mol}\%$) ガラスへの銀イオン供給について調べたところ、 $60 \sim 100$ 程度に加温することで直流分極が生じずに数時間にわたって銀イオン供給が生じている傾向が観測された。室温大気圧下でガラスエミッタに 2.5 kV の電圧を印加し、EQCM 電極をターゲットとしてイオン放出実験を行った。測定された質量と時間の関係を図 5 に示す。ここで、黒点線は Ag^+ イオンのみが放出されていると仮定した際の分子量(107.8 g/mol)、観測された電流値及び測定時間の積をファラデー定数(96500 C/mol)で除することで(電流値から)算出した質量の時間変化、また赤線は振動数変化から計算した値をそれぞれ示している。室温では質量の値が 2 時間以上、また 60°C では 4 時間以上計算値と合致しており、 Ag^+ イオンのみが長時間ガラスから放出されていることを示唆している。 60°C では室温に比べ、銀ロッドからガラスへ Ag^+ イオンが供給されやすいことが示唆された。

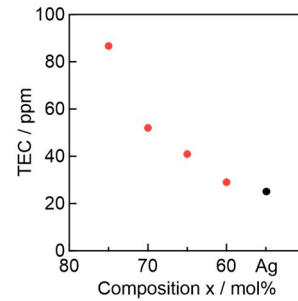


図 2 $x\text{AgI} \cdot (100-x)\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ($\text{mol}\%$) ガラスおよび銀ロッドの熱膨張係数

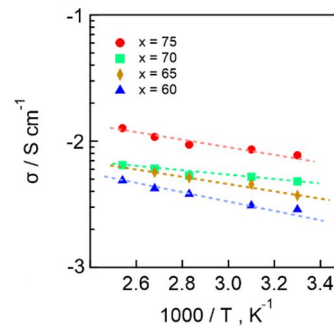


図 3 $x\text{AgI} \cdot (100-x)\text{Ag}_2\text{MoO}_4$ ($\text{mol}\%$) ガラスの導電率の温度変化



図 4 ガラスエミッタ写真

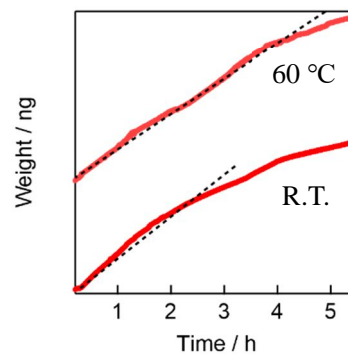


図 5 EQCM 測定結果 (点線は電流値から計算した質量、赤線は水晶振動子の振動数変化から求めた質量変化を表す)

プロトン伝導体を同様に先鋭化してエミッターを
 作製し, NIH3T3 細胞に対して気圧で H⁺イオンを照
 射したときの 4 および 24 時間後の細胞生存数の変
 化を図 6 に示す(control は比較試料の意味で通常の
 培地(インキュベータ内)で培養した場合, no injection
 はイオン照射無しだが照射有り試料と同条件でイオ
 ン照射チャンバーに保持したもの)。なお, 電解質の
 プロトン輸率が 1 であることは確認しているが, 放
 出されるイオンは H₃O⁺イオンもしくは水分子を 2 つ
 以上伴った形で放出されていると考えられ, 確認を
 進めている。外気に晒した汚染等の影響でイオンを

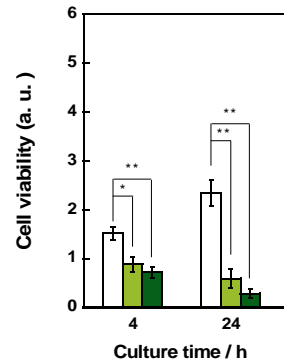


図 6 空气中でプロトン照射して 4 時間
 および 24 時間培養後の NIH3T3 細胞数(左
 側から control, 照射無し, H⁺照射)

照射していない場合も control と比較して細胞数が減少しているが, H⁺照射することで顕著
 に生細胞数が減少している。特にイオン照射直後だけでなく, 4 時間から 24 時間にかけて
 継続的に数が減少した。また ALP 活性値の評価より, 比較的少量の注入条件では Control と
 比較して有意に高い ALP 活性値を示した一方で, 多量の注入では低い値を示した。図 7 に
 様々な電圧および照射時間を変化させて銀イオンをマクロファージ(RAW264)に対して照射
 したときの細胞染色結果を示す。青色が生細胞, また赤色は死細胞を示す。少量(数 pmol)の

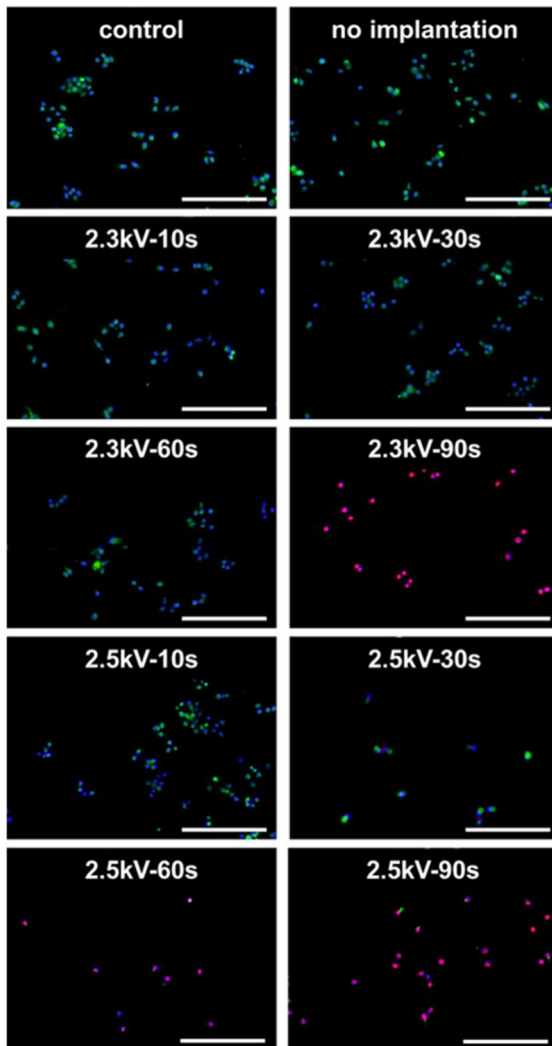


図 7 様々な条件で Ag⁺イオンを RAW26 に照射し
 たときの染色観察結果

銀イオン照射では, 照射無しの条件と比較
 して有意に値が増加した(図 8)。ごく少量
 (数ピコモル)程度のイオン照射では, H⁺お
 よび Ag⁺イオンいずれにおいても照射後の
 細胞数が再現性よく増加することが明らか
 となった。また Ag⁺イオン注入により,
 RAW264 の増殖能は向上したが, 他の細胞
 では抑制されたため細胞間で Ag⁺イオン注
 入に対する応答性が異なることが明らか
 となった。活性と失活を左右する照射量の
 しきい値やイオン照射効果について今後
 明らかにしていく。

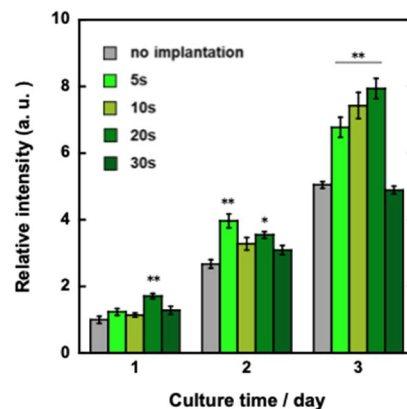


図 8 Ag⁺イオン照射時間を変化させた
 ときの RAW264 細胞数変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Daiko Yusuke, Yanagida Haruki, Honda Sawao, Iwamoto Yuji	4. 巻 353
2. 論文標題 Fluoride ion field emission from a ZBLAC glass emitter	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Solid State Ionics	6. 最初と最後の頁 115400 ~ 115400
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ssi.2020.115400	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 大幸 裕介
2. 発表標題 ガラスの先鋭化とイオン放出 -放出機構や化学反応誘起、細胞工学への展開-
3. 学会等名 日本セラミックス協会秋季シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬 大輔, 大幸 裕介, 本多 沢雄, 岩本 雄二
2. 発表標題 Maxwell応力場を利用した超イオン伝導性AgIガラスの粘度測定
3. 学会等名 日本セラミックス協会2020年年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yusuke Daiko, Haruki Yanagida, Hiroki Mori, Sawao Honda, Yuji Iwamoto
2. 発表標題 Non-vacuum monovalent ion emission from sharp-edged glasses for bio/medical applications
3. 学会等名 The 13th Pacific Rim Conference of Ceramics Societies (PACRIM13) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大幸裕介, 本多沢雄, 岩本雄二
2. 発表標題 先鋭化したメソポーラスシリカからの電界H ⁺ 放出
3. 学会等名 日本ソル-ゲル学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣瀬大輔, 大幸裕介, 本多沢雄, 岩本雄二
2. 発表標題 マクスウェル応力場を利用した超イオン伝導性AgI系ガラスの粘度測定
3. 学会等名 2019年度日本セラミックス協会東海支部学研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柳田晴輝, 大幸裕介, 本多沢雄, 岩本雄二
2. 発表標題 フッ化物イオン電界放出用ガラスエミッタに用いる高F ⁻ イオン伝導性ガラスの探索
3. 学会等名 第60回ガラスおよびフォトニクス材料討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森 裕暉, 大幸裕介, 本多沢雄, 岩本雄二
2. 発表標題 先鋭化したAgIガラスからの銀イオン電界放出特性およびAg ⁺ イオン放出前後のガラス構造変化
3. 学会等名 第60回ガラスおよびフォトニクス材料討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 柴田怜奈, 大幸裕介, 本多沢雄, 岩本雄二
2. 発表標題 先鋭化した超イオン伝導性ガラスからの室温・大気圧Ag+イオン放出および生細胞数評価
3. 学会等名 2020年日本セラミックス協会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬大輔, 大幸裕介, 本多沢雄, 岩本雄二
2. 発表標題 Maxwell 応力場を利用した超イオン伝導性AgIガラスの粘度評価
3. 学会等名 2020年日本セラミックス協会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yusuke Daiko
2. 発表標題 Ion emission from sharpened ion-conducting glasses and direct ion irradiation to living cells
3. 学会等名 8th Asian Biomaterials Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 廣瀬大輔, 柴田怜奈, 大川諒一郎, 小幡亜希子, 大幸裕介
2. 発表標題 AgI・Ag ₂ MoO ₄ 系ガラスからの大気圧 Ag+イオン放出及び EQCM 法による放出寿命評価
3. 学会等名 第62回ガラスおよびフォトニクス材料討論会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	豊田 紀章 (Toyoda Noriaki) (00382276)	兵庫県立大学・工学研究科・教授 (24506)	
研究分担者	篠崎 健二 (Shinozaki Kenji) (10723489)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員 (82626)	
研究分担者	小幡 亜希子 (Obata Akiko) (40402656)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授 (13903)	
研究分担者	本間 剛 (Honma Tuyoshi) (70447647)	長岡技術科学大学・工学研究科・准教授 (13102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------