

平成23年5月24日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21760527

研究課題名（和文） 中分子量尿毒素蛋白質を特異的に除去するメソポーラスシリカの開発

研究課題名（英文） Development of mesoporous silica for removal of middle molecule uremic toxins

研究代表者

干川 康人 (HOSHIKAWA YASUTO)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：90527839

研究成果の概要（和文）：

人工透析では完全に除去しにくい血液中の中分子量尿毒素蛋白質を選択的に吸着する多孔性材料を検討した。中分子量蛋白質が吸着しやすい細孔径（6 nm 以上）を持ったメソポーラスシリカナノ粒子の合成に成功した。また血液適合性や耐久性を向上させるためにメソポーラスシリカナノ粒子の表面に 1 nm 以下の厚さの炭素薄膜を被覆する手法を開発した。炭素被覆メソポーラスシリカナノ粒子は、中分子量の生体分子を選択的に吸着する材料として、様々な用途への応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：

Selective removal of middle molecule uremic toxins is difficult in a current hemodialysis membrane. Mesoporous silica nanoparticles (MSNs) are promising as superior adsorbent for specific middle molecule with highly selectivity. Expansion of mesopore (over 6 nm, the size is well suited to absorbing middle molecule) in MSNs was achieved by adding 1,3,5-trimethylbenzene and incorporating aminopropyl group in silica structure, and the silica surface of MSNs was coated by carbon thin layer (under 1 nm) to improve blood compatibility and durability.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学・無機材料・物性

キーワード：ナノ材料、生体材料、メソポーラスシリカ、炭素被覆

1. 研究開始当初の背景

近年、重度の腎臓病患者に用いられる人工透析では除去できない中分子量（10,000～

30,000）の蛋白質尿毒素によって引き起こされる病気（透析アミロイドーシス）が明らかにされ、これらの尿毒素を効果的に分離除去

する技術が重要となっている。中分子量尿毒素蛋白質は、血中に含まれる有用な蛋白質（例えば分子量 66,000 のアルブミン）と区別しにくいいため、高い分画特性を持つ吸着除去材料が求められる。

メソポーラスシリカは高い細孔規則性を持ち、上記のような蛋白質に対して優れた選択的分離材料としての応用が期待できる。更に、均一な粒子形態として調製したメソポーラスシリカナノ粒子 (MSNs) を用いることで、血液との接触面積を増加が見込まれ、より高効率な吸着材料として期待できる。

透析アミロイド症の原因物質として想定されている β_2 -ミクログロブリン (分子量 11,800) を吸着するには、細孔径 6 nm 以上のメソ孔サイズが求められる。また、メソポーラスシリカは中性～アルカリ性の水溶液に弱いため、pH7.40 の血液中には耐久性の向上が求められる。

上記の背景に基づき、本研究テーマでは血中に存在する特定の蛋白質分子を選択的に吸着除去する機能性材料について、以下の4点について詳しく検討した。

- (1) MSNs の細孔径制御 (2.5 ~ 7.0 nm)
- (2) メソポーラスシリカの炭素被覆
- (3) 有機修飾シリカ表面の血液適合性
- (4) ナノ多孔性カーボンへの生体分子導入

本報告書では、本テーマの課題をクリアする重要な成果として、(1)と(2)について詳しく述べる。(3)、(4)の関連成果は項目5. 参照)

2. 研究の目的

(1) MSNs の細孔径制御

メソポーラスシリカは界面活性剤の鑄型ミセルを膨張させるトリメチルベンゼン (TMB) などの有機分子を添加することでその規則細孔が拡大することが知られている。しかしながら、粒径 100 nm 以下の MSNs は、メソ孔の鑄型サイズが大きくなるため不安定化し、規則構造が維持しにくくなる。そこで本検討では、シリカ骨格に有機シランを導入し、メソ孔内に有機基を修飾することで鑄型ミセルの安定性を向上させ、細孔径の拡大した MSNs の合成を試みた。

(2) メソポーラスシリカの炭素被覆

炭素材料は血液適合性や蛋白質の吸着特性、またアルカリ耐久性に優れている。従って厚さ 1 nm 以下の 1~2 層のナノグラフェンをメソポーラスシリカ表面に被覆することで、規則性を維持したまま、上記のような機能性を付与することができる。しかしながら、シリカ表面は熱分解炭素が堆積しにくく、化学気相蒸着 (CVD) 法による均質なナノ炭素被覆は困難である。本検討では、メソポーラ

スシリカ表面の炭素堆積活性化方法を開発し、炭素被覆 MSNs の作製を試みた。

3. 研究の方法

(1) MSNs 合成

テトラエトキシシランをシリカ源、鑄型界面活性剤として臭化セチルトリメチルアンモニウム (CTAB)、添加剤としてエチレングリコールを加え、塩基性水溶液中でシリカ-界面活性剤複合体ナノ粒子 (SSNs) を合成した。SSNs をヘキサメチルジシロキサン、2-プロパノール、塩酸中で反応させることで鑄型除去とともにトリメチルシリル (TMS) 化した MSNs (TMS-MSNs)、焼成によって SSNs の鑄型除去を行うことで MSNs (O) をそれぞれ作製した。

(2) MSNs の細孔径制御

上記の SSNs 合成時の反応溶液に、有機シラン剤 (ヘキシルトリエトキシシラン、メチルトリエトキシシラン、3-アミノプロピルトリエトキシシラン) を添加することで、有機基を導入し、かつ TMB を CTAB 比で 4 倍量添加することで細孔径拡大 MSNs の合成を試みた。

(3) メソポーラスシリカの炭素被覆

TMS 基は 600°C 付近で熱分解し、活性の高いシリコン (Si) ラジカルが生成が予想される。そこで TMS-MSNs の TMS 基を窒素流通下 600°C で熱分解させ、アセチレン CVD を行うことで炭素堆積を試みた。

4. 研究成果

(1) MSNs の細孔径制御

図 1 に TMB を添加した (a) 有機基導入なし、(b)ヘキシル基、(c)メチル基、(d)アミノプロピル基を導入した各試料の XRD 測定結果を示す。有機基を導入していない試料は、TMB の添加により、2D ヘキサゴナル規則構造に由来する (100) のピークが消失した。一方、メチル基、アミノプロピル基を導入した試料は、

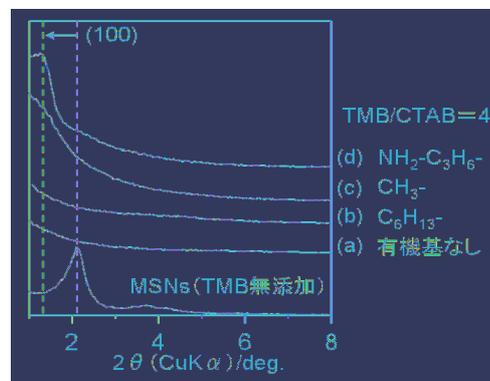


図 1 TMB 添加した有機シラン導入試料の XRD 測定結果

規則性が低下しているものの(100)ピークが低角側へシフトしていた。特にアミノプロピル基導入試料は比較的高い規則構造を維持したまま、細孔間が拡大していることが示された。一方、ヘキシル基を導入した試料は(100)ピークは消失しており、膨張した鑄型構造の維持には寄与しなかったと考えられる。

図2にTMBをCTAB比でそれぞれ2、3、4倍量加えたアミノプロピル基導入MSNsの細孔径分布(窒素吸着測定, BJH法)及びTEM像を示す。TMB添加に比して、細孔径が連続的に拡大し、また2Dヘキサゴナル規則構造も維持されていた。TMB添加4倍量のMSNsのメソ孔の最大ピークは6~7nmであり、分子量10,000前後の蛋白質を導入するのに適した細孔サイズを得ることに成功した。

以上より、アミノプロピル基を導入したことで、MSNsは細孔径を最大7nmまで拡大することに成功した。TMB添加量によって細孔径分布は制御することができるため、目的に合ったサイズの蛋白質の吸着が可能となる。

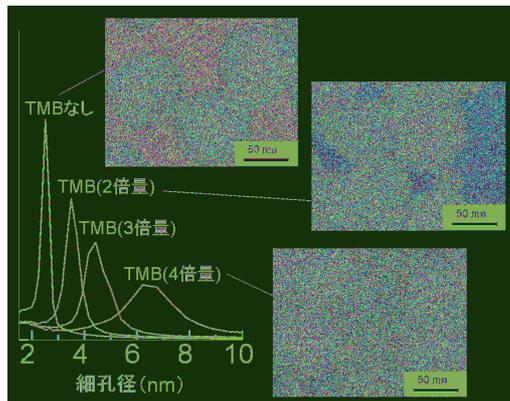


図2 TMB添加したアミノプロピル基導入MSNsの細孔径分布及びTEM像

(2) MSNsの炭素被覆化

① 有機シリル基の熱分解による活性化

昇温脱離法による質量分析から、TMS-MSNs表面のメチル基は600°C付近で熱分解することが確認された。従ってSiは不活性雰囲気では600°Cにおいてラジカル状態であると考えられる。アセチレン濃度20vol% CVD時間30分後のTMS-MSNs及びMSNs(o)の炭素被覆量はそれぞれ46.1wt%及び4.2wt%であった。従ってTMS基導入により、炭素堆積活性が10倍以上も高くなったことが示された。

有機シリル基の熱分解を利用した炭素堆積モデルを図3に示す。有機シリル化剤はシラノール基と反応し、シロキサン結合を介して修飾される。有機シリル基の修飾量は、シラノール基数に比例する。従って有機シリル基はメソポーラスシリカ内表面に均一かつ高密度に存在する。不活性ガス雰囲気中の熱分解によって生成するSiラジカルは活性サ

イトとなり、炭素堆積を促進する。また、Siラジカルはメソポーラスシリカ内表面に均一に生成するため、均質な炭素膜形成がしやすいと考えられる。

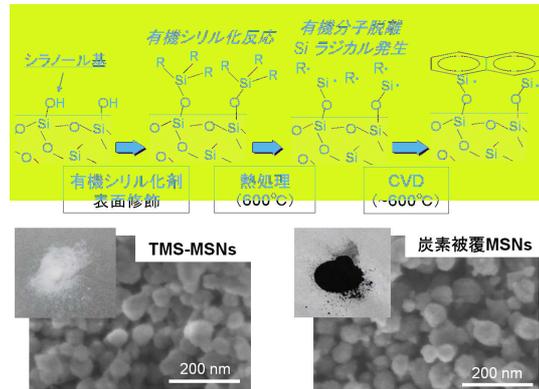


図3 有機シリル基熱分解による炭素堆積活性化モデル

② 炭素被覆量の制御

有機シリル基熱分解を利用した炭素堆積量は、アセチレン濃度とCVD時間によって精密に制御することが可能であった。例えば細孔径3.6nm(DFT法)のMSNsに、グラフェン一層分に相当する炭素(42wt%)堆積を行い、高い比表面積(650m²/g)と均一な細孔径分布(2.0nm)を確認した。従って、本手法により、メソ規則構造を残したまま、1nm以下のオーダーで精密に炭素被覆が可能となった。

③ 炭素被覆MSNsのアルカリ耐久性

pH9.18のアルカリ水溶液浸漬により、炭素被覆MSNsの耐久性を調べた。図4に炭素被覆MSNs及びTMS-MSNsのXRD測定結果を示す。TMS-MSNsは2Dヘキサゴナル規則構造に由来する(100)ピークが消失しているのに対して、炭素被覆MSNsは規則構造が維持されていた。アルカリ性水溶液中ではメソポーラスシリカの構造は壊れてしまう。それに対して、炭

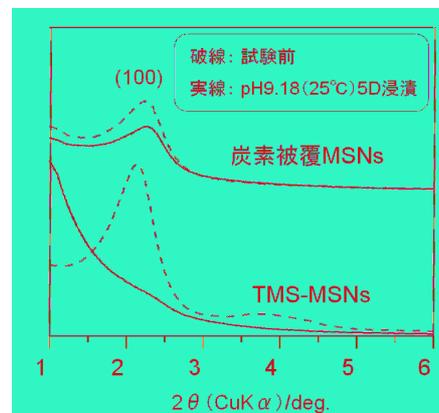


図4 アルカリ水溶液浸漬による炭素被覆前後のメソポーラスシリカの2Dヘキサゴナル規則性(100)の比較

素被覆 MSNs は、シリカ表面が薄い炭素で覆われたことでその耐久性を大幅に改善することに成功した。

(3) まとめ

中分子量蛋白質を選択的に吸着可能なメソポーラスシリカ材料の設計と機能化を検討した。細孔径の拡大が困難なメソポーラスシリカナノ粒子は、アミノプロピル基を導入することで規則構造を維持したまま最大7 nmまで拡大することに成功した。また、トリメチルシリル基を修飾することで、メソポーラスシリカ表面の熱分解炭素の堆積活性を大幅に高める手法を開発した。CVDにより、メソ孔内表面に1 nm以下の薄い炭素薄膜を一樣に被覆し、メソポーラスシリカのアルカリ耐久性を大幅に改良することに成功した。本手法によるメソポーラスシリカナノ粒子の細孔径制御と表面炭素被覆により、様々な生体分子の選択的な吸着が可能になり、毒性蛋白質除去のみならず、バイオリアクター、バイオセンサーなど様々な用途への応用展開が可能となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. Yasuto Hoshikawa, Hiroki Yabe, Atsuro Nomura, Takeyuki Yamaki, Atsushi Shimojima, Tatsuya Okubo, **Mesoporous Silica Nanoparticles with Remarkable Stability and Dispersibility for Antireflective Coatings**, *Chemistry of Materials* (査読有), **22**, 2010, 12-14
2. 干川 康人, 下嶋 敦, 大久保 達也, 矢部 裕城, 山木 健介, 高分散性メソポーラスシリカナノ粒子の合成と光学応用, *ゼオライト* (査読有), **27**, 2010, 103-110
3. Yasuto Hoshikawa, Eiichi Yasuda, Akihisa Inoue (他10名略), **Enhancement of Corrosion Resistance of Titanium-Copper Based Metallic Glass by Methylsiloxane Coating**, *Materials Transactions* (査読有), **50**, 2009, 52-58
4. Ayumu Fukuoka, Yasuto Hoshikawa, Atsushi Shimojima, Tatsuya Okubo, **Structural Control of Phenylene-bridged Periodic Mesoporous Organosilica with Organic Additives**, *Chemistry Letters* (査読有), **38**, 2009, 1026-1027

[学会発表] (計9件)

1. 干川 康人, 寒河江 拓也, 菅野 康之, 折笠 広典, **Somlak Ittisanronnachai**, 井本 修平, 和田 健彦, 永次 史, 京谷 隆, **カーボンナノ試験管内へのDNA濃縮**, 第37回炭素材料学会年会, 2010.12.2, 姫路市民会館 (姫路)
2. 干川 康人, 寒河江 拓也, 菅野 康之, 折笠 広典, **Somlak Ittisanronnach**, 井本 修平, 和田 健彦, 永次 史, 京谷 隆, **カーボンナノ試験管のナノ空間内でのDNA濃縮**, 2010 高分子・ハイブリッド材料研究センター若手フォーラム, 2010.12.6, 東北大学片平さくらホール (仙台)
3. 寒河江 拓也, 干川 康人, 菅野 康之, **Somlak Ittisanronnachai**, 井本 修平, 和田 健彦, 永次 史, 京谷 隆, **カーボンナノ試験管へのDNA濃縮に対する金属カチオンの影響**, 第10回東北大学多元物質科学研究所研究発表会, 2010.12.1, 東北大学片平さくらホール (仙台)
4. Yasuto Hoshikawa, Takamasa Onoki, Masaru Akao, Takashi Akatsu, Yasuhiro Tanabe and Eiichi Yasuda, **Blood Compatibility and Tissue Response of Methylsiloxane Coating**, 3rd International Congress on Ceramics (ICC3), 2010.11.18, Osaka, Japan
5. 干川 康人, 菅野 康之, 折笠 広典, **Somlak Ittisanronnach**, 井本 修平, 和田 健彦, 永次 史, 京谷 隆, **カーボンナノ試験管内へのDNA濃縮とその可逆的な放出**, 平成22年度化学系学協会東北大会, 2010.9.26, 岩手大学工学部 (盛岡)
6. Yasuto Hoshikawa, Yasuyuki Kanno, Hironori Orikasa, **Somlak Ittisanronnach**, Takehiko Wada, Fumi Nagatsugi and Takashi Kyotani, **DNA encapsulation and release from water-dispersible carbon nano-test-tubes**, *Carbon* 2010, 2010.6.13, Clemson, USA
7. 干川 康人, 下嶋 敦, 大久保 達也, 矢部 裕城, 山木 健之, **機修飾メソポーラスシリカナノ粒子の合成と反射防止膜フィルターへの応用**, 第19回日本MRS学術シンポジウム, 2009.12.09, 横浜市開港記念会館 (横浜)
8. 干川 康人, 野村 篤朗, 下嶋 敦, 大久保 達也, 矢部 裕城, 山木 健之, **メソポーラスシリカナノ粒子のトリメチルシリル化による分散安定性向上及び薄膜応用**, 日本セラミックス協会第22回秋季シンポジウム, 2009.9.17, 愛媛大学城北地区 (松山)

9. Yasuto Hoshikawa, Atsuro Nomura, Atsushi Shimojima, and Tatsuya Okubo, Preparation of Organically-Modified Mesoporous Silica Nanoparticles with Ethylene Glycol, The Organizing Committee cordially invites you to participate in the International Symposium on Zeolites and Microporous Crystals (ZMPC2009), Aug. 3-7, 2009, Waseda University, Tokyo, Japan

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：メソポーラスシリカ微粒子の製造方法、メソポーラスシリカ微粒子、メソポーラスシリカ微粒子分散液、メソポーラスシリカ微粒子含有組成物、及びメソポーラスシリカ微粒子含有成型物

発明者：矢部 裕城, 山木 健之, 干川 康人, 大久保 達也, 下嶋 敦

権利者：パナソニック電工

種類：特許権

番号：PCJ/JP2010/58367

出願年月日：2010年05月18日

国内外の別：国際出願

6. 研究組織

(1) 研究代表者

干川 康人 (Hoshikawa Yasuto)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：90527839

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし