

E314

哺乳類動物細胞による各種金属材料の生体毒性評価

(鈴鹿高専)○(正) 小川 亜希子*・奥田 直明・兼松 秀行・生貝 初・黒田 大介

【諸言】

現在、EUのRoHS指令やREACH指令など、環境保護を目的とした化学物質の使用規制が世界規模で強化されている。中でも亜鉛、クロムといった金属に対する規制は、水生生物や生活環境保護の観点から特に厳格であり、その規制物質と適応分野は今後ますます拡大していくことが予想される。こうした状況下では、環境規制に対応した金属材料および加工技術、すなわち環境負荷軽減化技術の開発が急務となっている。

一般に、材料の環境負荷を考える上では、リスク管理が重要であり、とりわけ、対象物が生体に及ぼす影響を明確化する意義は非常に大きい。これまで個々の金属(化合物)については、生体毒性評価が数多くなされてきた。しかしながら、合金やめっき材料といった複合金属材料、あるいは加工された金属材料については、生体毒性評価がほとんどなされていない。しかし実際には、実機使用での評価が問題となるため、その観点からの情報は、正しい環境リスク評価には不可欠である。そこで本研究では、複合化・加工金属材料を対象とし、哺乳類動物細胞を利用した生体毒性評価を行った。

【実験方法】

試料として、ステンレス鋼 SUS304 (組成: Fe-Ni-Cr)、炭素鋼 SS400 (組成: Fe-C) を使用した。SS400 には、亜鉛めっき加工(Zn-SS400)あるいはすずめっき加工(Sn-SS400)を施した。Zn-SS400 については、スパッタリング法ですずを積層後(Sn-Zn-SS400)に熱処理した。各金属材料表面は、レーザー顕微鏡(オリンパス)で形態を可視化した。Sn-Zn-SS400 については、X線回折(リガク)・走査型電子顕微鏡(日立)を用いて表面形状と金属組成を解析した。

生体毒性評価は以下の手順で行った。まず、各金属材料は、1 cm×1 cm に切断して断面をマーカーで被覆した。続いて高圧滅菌(121 °C、15 分間)またはアルコール滅菌後、リン酸緩衝液(PBS)に浸漬して 37 °C で 22-24 時間保温し抽出液を作製した。これらの抽出液は、5% 牛胎児血清含有 DMEM 培地を含むハムスター由来肺細胞株 V79 の培養系に添加して数日間培養した。培養後、細胞はメタノール固定後にギムザ染色し、目視下でコロニー数を計測した。また、抽出液中の金属濃度は、原子吸光分光光度計(島津製作所)で測定した。

【結果・考察】

ステンレス鋼と炭素鋼の生体毒性を評価した結果、形成されたコロニー数は抽出液の種類によらず PBS 添加時と同等であった(図 1 A)。また、抽出処理前後で金属材料表面の状態比較したところ、炭素鋼のみ抽出処理後に多数のピット(孔食)が確

認された。よって、ステンレス鋼は腐食されずに金属イオンが溶出しなかったために生体毒性が低く、一方の炭素鋼は鉄イオンが溶出していたものの生体毒性に影響を与えなかったと考えられる。

次に、Zn-SS400 と Sn-SS400 の生体毒性を評価した結果、Sn-SS400 抽出液添加時のコロニー数は、SS400 抽出液添加時と同等であった(図 1 B)。一方、Zn-SS400 抽出液添加時は 1 割程度であった。このことから、亜鉛めっきは生体毒性が強く、すずめっきは生体毒性がきわめて低いと考えられる。

続いて、熱処理条件の異なる Sn-Zn-SS400 の生体毒性を評価した(表 1)。結果、450 °C で熱処理した時のコロニー数が最も多く、熱処理無、250 °C と続いた。なお、350 °C で処理した時は Zn-SS400 のコロニー数よりも少なかった。これにより、熱処理温度の違いは Sn-Zn-SS400 の生体毒性に影響を与えたことが示唆される。このとき、Sn-Zn-SS400 表面の化学組成を分析した結果、熱処理温度が上がるに伴ってすずに対する亜鉛の割合が高くなっていった。このことから、材料表面の亜鉛の存在比率が高いほど生体毒性が高くなるといえる。ただし、450 °C ではすずは確認されず、ほとんどが酸化亜鉛であった。したがって、450 °C 熱処理 Sn-Zn-SS400 の生体毒性が最も低かった理由として、材料表面に不溶性の酸化亜鉛皮膜が形成され、亜鉛イオンの溶出が抑制されたためだと考えられる。

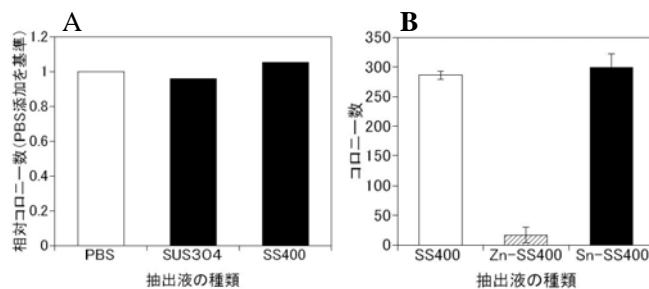


図 1 各種金属材料の生体毒性

表 1 金属材料の熱処理温度と生体毒性

金属材料	熱処理温度 (°C)	コロニー数
Zn-SS400	無	101
	無	134
Sn-Zn-SS400	250	124
	350	74
	450	164

以上の結果から、各種金属材料の表面状態の変化は、生体毒性に影響を与えることが示された。

* Tel : 059-368-1768

E-mail : ogawa@chem.suzuka-ct.ac.jp