ISSN 2434-5873



# 研究報告 2018

(KISTEC Annual Research Report, 2018)



Kanagawa Institute of Industrial Science and Technology

# 研究報告 2018 目 次

### 【機械·材料技術部】

◆高活性な光触媒凝集体の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	1
◆窒化処理した炭素鋼の疲労強度特性に及ぼす表面化合物層の影響・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	3
◆エアロゾルデポジション(AD)法により作製した TiN 膜の基礎的特性・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	5
◆低温ガス窒化により形成されるステンレス鋼の拡張オーステナイト相・・・・・・・・・・・・・	7
◆エステル系潤滑剤中の炭素鎖長と分岐の有無が DLC 膜の摩擦特性に及ぼす影響・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	10
◆鉄鋼材料の硬さ変化を利用した配線不要な温度測定具の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	12

### 【電子技術部】

◆生活支援ロボットの安全性評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	15
◆1GHz 超の EMI 測定における測定アンテナのチルト角と EUT テーブルの影響について論文・・・	17

◆SU8 微細パターンの剥離に対する添加剤を加えた N-メチル-2-ピロリドンの有効性・・・・・ 23

### 【情報・生産技術部】

◆3D プリンターによる造形支援及び造形上の問題点について・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	27
◆IoT におけるデータ取得手段と通信方式の選択について <mark>論文</mark> ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	31
◆レーザ粉体肉盛材 SUS420J1 のエンドミル切削・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	34

### 【化学技術部】

◆Si 上に金(Au)層を導入した鉄シリサイド半導体の気相成長法・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	37
◆LC-MS/MS を用いた食品素材の非蛍光性糖化最終産物 CML 生成抑制作用評価・・・・・・・・・・	39
◆樹脂等の光劣化の評価方法に関する検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	41
◆化学反応速度論に基づくダイラタンシー性ポリイオンコンプレックス水溶液の過渡的ゲル化理論論文・・・・・	43
◆LC-MS/MS を用いた食品中に含まれる水溶性ビタミン類の迅速一斉分析法の検討・・・・・・・・・	47
◆ポリカーボネートの劣化に関する総合的解析(1)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	49

### 【川崎技術支援部】

### 「有機系太陽電池評価」プロジェクト

♦総	括••••••••••••••••••••••••••••••	51
♦有	機系太陽電池の性能評価と光関連受託分析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	54
<b>◆</b> 業	績·····	59

【抄録】		61
------	--	----

【研究開発部】

### 有望シーズ展開事業

	「力を感じる医療・福祉介護次世代ロボット」プロジェクト	
•	▶総括·····	65
•	▶通信遅延下における高精度力触覚伝達・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	68
•	▶マスタ・スレーブー体型鑷子の開発と評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	71
•	▶移乗支援装置の運動制御 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	75
•	▶業績・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	79

### 「革新的高信頼性セラミックス創製」プロジェクト

◆総括······	••••	83
◆蛍光体粒子分散型透明サイアロンセラミックスの作製・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	••••	86
◆磁場配向性におよぼす多層グラフェン被覆形態の影響と Si <sub>3</sub> N <sub>4</sub> 粒子配向性の定量評価法の検討	討・・・・	90
◆メソスケール破壊特性評価法の確立・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	• • • • •	93
◆光コヒーレンストモグラフィーによる Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> セラミックス中の不均質構造観察・・・・・・・・	••••	97
◆業績·····	••••	100

### 「腸内細菌叢」プロジェクト

解析ツール開発グループ	
◆総括·····	103
◆業績·····	107
腸内環境制御グループ	
◆総括·····	109
◆腸内環境制御基盤技術の開発に向けた難培養性腸内細菌の培養法確立および生体に与える影響の評価	ī
	112
◆業績·····	115

### 実用化実証事業

「光触媒」グループ(材料グループ)	
◆総括·····	117
◆材料に吸着した臭気成分等の分析試験法およびその光触媒による分解性能試験法の確立・・・・・	122
◆TiO <sub>2</sub> 担持多孔質シリカガラス管の環境浄化への応用可能性・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	125
◆植物モニタリングに向けたフレキシブルホウ素ドープダイヤモンド(BDD) 電極の研究・・・・・	129
◆業績·····	133

### 「光触媒」グループ(抗菌・抗ウイルス研究グループ)

◆総括·····	137
◆aPKC の発現による前立腺がん発生機構の解明・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	140
◆光触媒加工品を中心とした抗菌・抗ウイルス性能評価試験・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	143

•	新規	ISO	抄	是案	討	菌	性	能	評	価	試	験	に	よ	る	温	l沍	腹	đ	)疗	ίġ	菌性	主自	Ľ⁄	<b>\</b> 0	り影	影	響	評	価	••	••	••	••	••	••	•	•••	•••	••	]	146
•	業績・	••••	••	•••	••	••	••			•••	• •	•••	•	• •	••	••	••	••	••	••	••	•••	•••	• •	•••		••	••	••	••	••	••	••	•••	• •	•••	•		•••	••	1	47

### 「人工細胞膜システム」グループ

◆総括······	151
◆携帯型センサを目指した液滴利用人工細胞膜形成デバイスの開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	153
◆嗅覚受容体を用いた匂いセンサのための水相-気相界面が露出した系による脂質二重膜の形成	
	156
◆無細胞翻訳系を用いた人工脂質膜上の膜タンパク質解析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	159
◆多種類のリン脂質組成非対称膜リポソーム作製デバイスの開発・・・・・・・・・・・・・・・・	162
◆業績······	165

### 「食品機能性評価」グループ

◆総括····································	169
◆ヒトを用いた自然薯ムカゴの生理的機能性評価 - パイロットスタディ・・・・・・・・・・・・・	174
◆食品機能性評価と未病マーカーの探索メープルシロップを例にして・・・・・・・・・・・・・・	177
◆動物を対象とする脳機能評価系の確立に向けた検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	180
◆食品機能性評価のための新規マーカー検出手法の開発と検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	183
◆食品機能性成分によるエピゲノム制御を基盤とした世代間健康評価系の開発・・・・・・・・・	186
◆生体ガス分析を利用した食品機能性の短期間評価系の確立・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	188
◆生体内代謝を考慮した細胞形質転換試験法の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	190
◆機器共用化・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	192
◆業績·····	194

### 「高効率燃料電池開発」グループ

◆総括·····	197
◆原子配列規則度制御による Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の酸素還元特性向上・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	201
◆酸高密度構造型電解質材料の開発と燃料電池への鷹揚・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	206
◆業績·····	210

### 戦略的研究シーズ育成事業

研究テーマ:「貼るだけ人工膵臓」の開発	
◆総括・業績・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	213
研究テーマ:有機超弾性材料の導出	
◆総括・業績・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	219
研究テーマ:革新的環境調和機能性材料の創出	

◆総括・	・業績・·····	223

### 政策課題受託研究

「グローバルヘルスリサーチコーディネーティングセンター(GHRCC)」プロジェクト	
	231

# 高活性な光触媒凝集体の開発

小野 洋介(機械・材料技術部 材料評価グループ)

#### 1. はじめに

酸化チタン光触媒は、紫外光照射下で多くの有機物を分 解できることから、脱臭や抗菌を目的とした製品に用いら れている。酸化チタンに紫外光が照射されると電子が励起 され、その結果生成したラジカル種が酸化チタン表面で有 機物を分解すると言われている。その反応機構は複雑であ り、高い光触媒活性を示すために酸化チタン材料に求めら れる条件は明確になっていない。これまでになされた多く の報告では、比表面積(単位重量あたりの表面積)が高く、 結晶性が高い(欠陥が少ない)、アナターゼ相(準安定相)の 酸化チタンが高い活性を示す傾向がみられ、経験則として 広く受け入れられている。

比表面積が高いことが必要条件の一つであるため、光触 媒用途では粒子径が数~数十ナノメートルの超微細な酸 化チタン粒子が用いられている。しかし、ナノ粒子は空気 中に舞いやすいなどハンドリング性が悪く、舞った粒子を 吸入した場合は肺などへの有害性が懸念されている。スプ レードライなどの技術により意図的に凝集体を形成すれ ば、これらの問題を改善できるが、多くの場合、凝集体を 形成すると光触媒活性は低下してしまう。光や有機物が凝 集体内部まで侵入しにくく、内部の反応の場を有効に利用 できなくなることが主な原因と思われる。

これまで我々は、アパタイト(Caio (PO4)6(OH)2)粒子を酸 化チタンと複合化することにより、酸化チタンの粒成長と 相転移を抑制しながら高温焼成することを可能とし、高比 表面積、低欠陥量、高アナターゼ相含有比を満たす高活性 光触媒ナノ粒子が得られることを報告した[1]-[3]。さらに、 これらの研究を発展させ、凝集体でありながら高い活性を 示す光触媒が得られることが分かった[4]。凝集体に関する 発明については特許出願しており[5]、企業への技術移転を 目的として、本報告にて紹介する。

#### 2. 実験方法

市販のリン酸二水素アンモニウム 1.2 gと硝酸カルシウ ム四水和物 4.1 gを蒸留水に溶解させ、29 mass%アンモニ ア水を用いて水溶液の pH を 10 に調整した。室温で 3 時 間攪拌した後、ろ過により分離した固相を 110°C で乾燥し てアパタイト粒子を得た。アパタイト粒子 0.25 gをチタン テトライソプロポキシド(TTIP、和光純薬工業(株)製)5 g 中に超音波洗浄機で分散させた後、大気中室温で 2 時間加 水分解して酸化チタンを析出させ、遠心分離機で回収し前 駆体となる酸化チタンとアパタイト粒子の複合体試料を 得た。複合体試料 0.2 gをそれぞれ 500、600、700、800°C で大気中1時間焼成し、1.0 mol/L の塩酸 10 ml で 10 分間 酸処理して光触媒試料を得た。

これら試料の微構造を走査型電子顕微鏡(FEI Sirion)に より観察した。また、表面積計(ユアサアイオニクス(株) CHEMBET-3000)により比表面積を測定し、粉末 X 線回折 装置(Philips X'pert Pro)により構成相を調査した。得られた X 線回折パターンを基に、次に示す Spurr の式[6]によりア ナターゼ相の含有比を算出した。

 $F_{A} = 1 / (1 + 1.26 \times (I_{R}/I_{A}))$ 

ここで、FA は試料に含まれるアナターゼ相の重量含有比 であり、IRと IA はそれぞれ X 線回折パターンにおけるル チル(110)とアナターゼ(101)のピークの積分強度である。

光触媒活性は、メチレンブルー色素を分解対象として評価した。試料 10 mg を 20 μmol/L のメチレンブルー水溶液 50 ml に入れ、超音波で分散させた後、暗所で 24 時間攪拌した。その後、365 nm の波長の紫外光を 0.5 mW/cm<sup>2</sup> の強度で照射し、照射 15 分ごとに水溶液の波長 664 nm の吸光度を分光光度計(島津製作所(株)製 UV-3100PC)で測定した。照射時間に対する吸光度変化を 1 次反応式で近似して反応速度定数を算出し、これを光触媒活性とした。

#### 3. 結果及び考察

焼成条件を 700°C として得られた光触媒試料の走査型 電子顕微鏡(SEM)像を図1に示す。大きさ数+μmの凝集 体を形成しており、凝集体は数+nmオーダーのナノ粒子 から構成されていることが分かった。チタンアルコキシド である TTIP の加水分解・脱水縮合反応は速いことから、 大気中に含まれる少量の水分で急速かつ局所的に酸化チ タン粒子が析出したと考えられる。すなわち、急速な析出 反応では、粒子の核が同時に生成するため1次粒子径は小 さく、局所的に析出して粒子がまとまった結果、このよう な凝集体が形成されたと考えられる。また、図1の SEM



図1 光触媒試料(700℃)の SEM 像



図2 焼成温度に対する(a)比表面積,(b)アナターゼ相含有比

像から、凝集体の内部に向かって直径数μmのマクロ孔が 形成されていることが分かった。マクロ孔はアパタイト粒 子が酸処理により除去された際に形成されたと考察して いるが、アパタイト粒子の大きさ(直径 20-30nm、長さ 200-300nm [7])と比較してマクロ孔は格段に大きいことか ら詳細は不明である。アパタイト粒子が凝集していたか、 あるいは、アパタイト粒子周囲の酸化チタンごと酸処理で 除去されたことが原因と考えている。百個以上の凝集体を 同様に観察して本試料の体積平均の凝集粒子径を見積も ったところ、82μmであった。なお、観察する凝集体によ っては、マクロ孔の形成が確認できないものもあった。

図2に、各焼成温度条件で得られた試料の比表面積と、 Spurrの式から算出したアナターゼ相含有比をプロットした。アパタイト粒子との複合化の効果を検証するため、ア パタイト粒子との複合化を省いた合成プロセスにより得られた試料の実験データを、図2に併せてプロットした。 どちらの試料も焼成温度が高くなるにつれ粒成長が促進 されるため、比表面積は低下した。しかし、その低下の度 合いは、アパタイト粒子との複合化を経て得られた試料の 方が顕著に小さかった。また、複合化を経ていない場合は 600℃で相転移が確認されたのに対し、本試料については 700℃で焼成しても相転移しないことが分かった。既報で 考察したとおり、アパタイト粒子が酸化チタン粒子同士の 接触を妨げた結果、粒成長ひいては相転移が抑制されたと 考えられる[1]-[4]。

図3に、本研究で得られた光触媒試料と光触媒用酸化チ タンの市販品(石原産業(株)ST-01)の光触媒活性を、凝集粒 子径に対してプロットした。本試料の凝集粒子径は市販品 と比較して10~20倍大きく、光触媒活性は2~3倍高いこ とが分かった。すなわち、凝集体でありながら高い活性を 示す光触媒が得られたと言える。本試料の光触媒活性の高 さは、アパタイト粒子との複合化により粒成長と相転移を 抑制されながら高温焼成されたことで高比表面積、低欠陥 量、高アナターゼ相含有比の条件を満たしたことに加え、 マクロ孔の形成により凝集体内部までメチレンブルーが すばやく拡散し、また、マクロ孔がより多くのメチレンブ ルーを吸着したことに由来すると考えられる。



図3光触媒試料と市販品の光触媒活性、凝集粒子径の比較

#### 4. 今後の展開

本報告では、高い活性を示す光触媒凝集体に関する研究 成果を紹介した。凝集体であっても、それ自体がナノ粒子 から構成される場合はナノマテリアル規制の対象から外 れることはできないが、実用上、凝集体とすることでハン ドリング性は明らかに改善され肺に吸入されにくくなる。 そのため、ナノマテリアルの有害性がクローズアップされ るほど、凝集体のニーズは高まると予想している。また、 凝集体は粉のまま水処理に用いたときに回収しやすい特 長があり、嵩密度が高いために運搬費の削減効果も期待で きる。

一方、現時点ではラボレベルで少量の試料を作製した実 績のみであり、スケールアップや再現性の確認、場合によ っては合成プロセスの見直しを要する。光触媒活性の評価 についても、ガスを分解対象とした試験や実環境下での評 価が必要である。

今後は大学との共同研究として進めていくが、企業への 技術移転にあたっては研究レベルから一緒に取組む必要 があると考えている。ご興味をお持ちの方は、KISTEC 機 械・材料技術部までご連絡いただきたい。

#### 【参考文献】

1. Y.Ono, T.Rachi, T. Okuda, M. Yokouchi, Y. Kamimoto, H. Ono, A. Nakajima, K. Okada, *Ceram. Int.*, **37**, 1563-1568 (2011).

2. Y.Ono, T.Rachi, T. Okuda, M. Yokouchi, Y. Kamimoto, A. Nakajima, K. Okada, *J. Phys. Chem. Solids.*, **73**, 343-349 (2012).

3. Y.Ono, T.Rachi, M. Yokouchi, Y. Kamimoto, A. Nakajima, K. Okada, *Mater. Res. Bull.*, **48**, 2272-2278 (2013).

4. Y. Ono, Mater. Res. Bull., 83, 340-344 (2016).

5. 特開 2017-71515 号公報

6. R.A.Spurr, H.Myers, Anal. Chem., 29, 760-762 (1957).

7 Y.Ono, Ceram. Int., 41, 3298-3300 (2015).

【外部発表】口頭発表 1件, 論文等発表 1件

# 窒化処理した炭素鋼の疲労強度特性に及ぼす

# 表面化合物層の影響

髙木	眞一	(機械・材料技術部	材料物性グループ)
殿塚	易行	(機械・材料技術部	材料評価グループ)

#### 1. はじめに

窒化処理は、浸炭焼入れなどのマルテンサイト変態を伴う硬化処理と比較して変形が格段に小さいことに加え、最近実用化された窒化ポテンシャル制御技術により表面に 生成する鉄窒素化合物層の結晶構造を制御することによって疲労強度の向上が可能であること<sup>1-3)</sup>が報告されるようになり改めて注目されている。

著者らはこれまでに、合金鋼である SCM435 鋼の窒化 材について、疲労強度に及ぼす表面化合物層の影響を調査 してきた<sup>4</sup>。その結果、SCM435 鋼のように表面から拡散 した窒素と合金元素のクロムが結合して微細窒化物を形 成し窒素拡散層(母相)の著しい硬化が起きる場合には、 相対的に破壊強度の低い表面化合物層が先に破断するこ とによって疲労き裂が生成し進展を開始するために、疲労 強度は化合物層の破壊強度に支配されることが判明した。 そして、疲労強度は化合物層を除去した場合に最も高く、 表面化合物層が  $\gamma'$ 相、 $\epsilon$ 相の順に低い値となること、特 に  $\epsilon$ 相は脆く低い応力で破壊するために著しく低い疲労 強度になることなどの結果を得た。

本稿では窒素拡散層が合金鋼のように著しく硬化しな い炭素鋼の疲労強度特性に及ぼす表面化合物層の影響に ついてこれまでの知見を報告する。これらの炭素鋼では母 相と比較して表面化合物層の強度が相対的に高くなり、疲 労強度に及ぼす影響も合金鋼とは異なると推測される。

#### 2. 実験方法

#### 2.1 供試材と試験片

供試材は炭素鋼である S45C 鋼(調質材、焼戻し温度 620℃) および S10C 鋼(焼準材) である。これらの素材 から丸棒状の切欠疲労試験片と平板状の曲げ疲労試験片 の両方を加工した。切欠疲労試験片は直径 12mmの平行部 に、切欠底の半径が 0.74mm、切欠底間の直径が 8mm の 60℃型ノッチを加工した.応力集中係数は 2.54 である。 曲げ疲労試験片は幅 18mm、厚さ 80mm、厚さ 5mm の平 板状試験片とした。

#### 2.2 窒化処理

窒化処理は水素センサーによる窒化ポテンシャル( $K_N$ ) 制御機能を備えたピット型ガス(軟)窒化炉を用いて実施 し、窒化化合物層の表面側で $\gamma$ '相(Fe4N)あるいは $\varepsilon$ 相 (Fe23N)が主相になるようにそれぞれ調整した。窒化処 理温度と時間はそれぞれ570 ℃および5hrである。また、 比較材として窒化処理後に表面化合物層を電解研磨およ び手研磨により除去した試験片も準備した。

#### 2.3 疲労試験

切欠疲労試験は以前に実施した SCM435 鋼のデータと 比較するために実施した。四点曲げ疲労試験は引張側の平 滑部の比較的広い領域にわたってき裂生成や組織変化が 観察できる可能性があることから疲労損傷過程の観察を 目的として実施した。 疲労試験はいずれの試験片に対しても油圧サーボ型の 疲労試験機を用いて室温にて実施した。切欠疲労試験片に は軸方向に繰返し応力を負荷し応力比は R = -1 (両振り) である。四点曲げ疲労試験は応力比を R = 0 (片振り) と し、引張側のスパン 60mm、圧縮側のスパンを 20mm とし て実施した。

#### 実験結果および考察

図1に代表例として窒化処理した S45C 鋼の表面近傍の 断面の光学顕微鏡組織写真を示す。 $\gamma$ ,相主体と  $\epsilon$  相主体 の試験片を比較すると、表面化合物層の厚さは  $\gamma$ ,相が主 体の場合に約  $7\mu m$ 、 $\epsilon$ 相の場合に約  $15\mu m$  と  $\epsilon$ 相主体の方 が厚い。S10C 鋼についても  $\epsilon$ 相の方が厚い傾向を示した。

図2に窒化処理した各供試材の母相の硬さ分布をマイ クロビッカース硬さ計で測定した結果を示す。図中には比 較のために著者らが測定したSCM 435 鋼窒化材の結果<sup>4)</sup> も示してある。S45C 鋼やS10C 鋼にはフェライト母相中 に比較的粗大な針状の鉄窒化物 (Fe4N)を析出するが、こ れらは硬さの増加にほとんど寄与しないために、固溶窒素 によるわずかな硬度上昇が起こるのみである。なお、同一 鋼種での硬さ分布は、窒化処理時の $K_N$  値によらずほぼ同 様であった。S45C 鋼の表面化合物層直下における最大硬 さは約 340HV であり、S10C 鋼では210HV 程度であった。 いずれも SCM435 鋼の場合と比較すると格段に低い値と なった。

図3に炭素鋼であるS45C鋼およびS10C鋼の切欠疲労 試験によるS-N線図を示す。図の縦軸は応力集中係数を乗 じていない公称応力で示した応力振幅である。著者らが以 前に報告したSCM435鋼の窒化材の結果 $^{4}$ と異なり、化合 物層を除去した場合よりも化合物層を有する方がむしろ 高い疲労強度を示し、S10C鋼では表面化合物層が $\gamma'$ 相よ りも $\varepsilon$ 相の方が高い疲労強度を示している。

これらの結果から、炭素鋼においては表面化合物層の強 度が母相の疲労強度よりも相対的に高く、疲労き裂の生成 を抑制する効果を発揮しているものと推測している。しか し、このような場合に疲労き裂は、どこから生成し進展す るのか明らかでない。そこで、四点曲げ疲労試験により、 疲労損傷による表面近傍でのき裂生成や組織変化の様子 を捉えることを試みた。図4に四点曲げ試験の結果から得 た S45C 鋼の S-N 線図を示す。縦軸は曲げ疲労試験片の引 張側に生じる応力最大値を示している。表面化合物層が y' 相かε相かに関わらず、最大応力が 900MPa を超えるよう な高応力を負荷しても高サイクル領域まで破断すること はなかった。そのため、さらに負荷応力を増加すると試験 片が試験開始直後の低サイクル域で明白に塑性変形を起 こした。これは、今回の四点曲げ疲労試験では応力比が R =0であるため疲労限度が母相の降伏強度を超えてしまい、 塑性変形を起こしたと推測される。これらの試験片の表面 には、塑性変形によって表面化合物層に多数のき裂が生じ

ており、疲労損傷過程の評価ができないことから試験を中 断した。一方、巨視的な塑性変形を起こさずに高サイクル 域まで未破断であった試験片の引張側の表面近傍の組織 を図5に示す。表面化合物層の破断による疲労き裂生成や 母相と表面化合物層との間の剥離などの現象は認められ ず、疲労試験開始前の金属組織と大きな差異はなかった。

このように、今回の試験では疲労破壊に至る前に母相が 塑性変形を起こしてしまい、表面近傍での疲労損傷過程を 的確に捉えることができなかったと考えられる。

#### 3. まとめ

S45C 鋼および S10C 鋼のいずれの窒化材も合金鋼であ る SCM435 鋼の場合とは異なり、表面化合物層がある方 が疲労強度は高い値を示し、また、表面化合物層が $\epsilon$ 相の 方が $\gamma$ <sup>4</sup>相の場合よりも高い疲労強度を示した。このことは、 表面化合物層が母相よりも相対的に高強度であり、疲労き 裂の生成を抑制する効果を発揮しているものと推測して いる。このような場合の疲労破壊に至る損傷機構について は未だに明らかでない。今後は、応力比を  $\mathbf{R} = -1$ (両振り) の曲げ疲労試験を実施して疲労損傷過程について調査す る予定である。

#### 謝辞

窒化ポテンシャル制御によるガス窒化処理の実施に協力 を頂いた(株)オーネックス技術研究所の伊藤経教氏に 感謝します。

#### 文献

- Kobayashi, S. Maeda, H. Imataka, Y. Gyotoku, M. Yusa, Y. Shimizu, M. Kanayama: *Trans. Soc. of Automotive Engineers of Jpn.*, 45(2014), 1153.
- 2) Y. Hiraoka, A. Ishida, O. Umezawa : J. Jpn. Soc. Heat Treat., 57(2017), 64.
- 3) 高木眞一,殿塚易行,星川 潔,伊藤経教:「機械構造 用鋼表面硬化部材の疲労損傷」シンポジウムテキスト, 日本鉄鋼協会編, (2016),3.
- 高木眞一,殿塚易行,中村紀夫,伊藤経教:鉄と鋼,早 期公開論文,https://www.jstage.jst.go.jp/article / tetsutohagane/advpub/0/advpub\_TETSU-2018-011/\_article /-char/ja



図1 S45C 窒化材の表面近傍の金属組織.a) y<sup>'</sup>相主体材. b) *c*相主体材.



# エアロゾルデポジション (AD) 法により作製した TiN 膜の

### 基礎的特性

高木 眞一(機械・材料技術部 材料物性グループ) 長谷川 誠(横浜国立大学)

#### 1. はじめに

エアロゾルデポジション(以下、AD)法は、サブミク ロンレベルのセラミック微粒子をガスと混合してエアロ ゾル状態にし、ノズルを通して高速噴射し基材に衝突させ ることで、基材の表面に緻密かつナノサイズの結晶粒径を 有する多結晶セラミックス膜を形成する技術である<sup>1)</sup>。

金型や工具等の耐摩耗性が必要な部材ではセラミック スコーティングが多用されており、工業的にはアークイオ ンプレーティング法 (AIP 法)による成膜が主流となって いる<sup>2)</sup>。この方法は基材との密着性に優れ、多元系の膜や 組成の異なる積層膜の成膜が可能であるなどの特長を有 するが、膜を構成する結晶が柱状に成長するためき裂進展 抵抗に劣ること、ドロップレットと呼ばれる突起状欠陥が 生成すること、基材の熱影響が避けられないなどの欠点も ある。AD 法の場合、常温にて突起状欠陥のない緻密な等 軸ナノ結晶で構成される薄膜ができることから、工具や金 型への適用も期待できる。そこで、本研究では AD 法を金 型や工具への硬質薄膜として応用すること念頭に基礎的 評価を行った結果を報告する。

#### 2. 実験方法

成膜に用いる原料粉末として金型や工具への硬質薄膜 材料として一般的な TiN の微粒子(日本新金属製 TiN-01、 平均粒径 1.6 μm)を用いた。 基材には高速度工具鋼であ る SKH51(硬さ:62HRC)の円盤(直径 22 mm、厚さ4.5 mm)を用いた。この基材を機械研磨および粒径 3μmのダ イヤモンド砥粒によるバフ研磨により鏡面に仕上げたの ち成膜に供した。

図1に AD 装置の構成を模式的に示す. 原料の微粒子は エアロゾルチャンバー内で不活性ガスと攪拌・混合されて、 エアロゾル状態となり、50~1 kPa 前後に減圧された成膜 チャンバー内に、両チャンバーの圧力差により生じるガス の流れによって搬送、スリット状のノズルを通して加速さ れ、基材上に噴射される。 ガス搬送された微粒子は、微 小開口のノズルを通すことで数百 m/sec まで加速され、こ の運動エネルギーによって粒子-基材間、あるいは粒子同 士の結合が起こると言われている。

本研究では、あらかじめ 250℃で乾燥させた TiN 粒子を エアロゾルチャンバーに充填し、搬送ガスとして 10L/min の流量で He ガスを供給しながら、エアロゾル化しノズル から噴射した。ノズルと基材との距離は 7mm、ノズルロ 形状は 5 mm×0.5 mm であり、基材を装着した XY ステー ジを往復移動させながら複数回成膜して所望の厚さを得た。

基材上に成膜した TiN について、走査型電子顕微鏡(日本電子製、JSM 7800F Prime)による表面形状の観察、エネルギー分散型 X 線分析(EDS)(Oxford Instruments 製Aztec Energy)による元素分析を実施し膜の性状を評価した。また、膜の硬さと密着性は、それぞれナノインデンテーション装置(Hysitron 社製, TriboIndenter)、およびロックウェル硬さ試験機(フューチャーテック社製, FR-3e)による圧痕試験によって評価した。

#### 3. 実験結果および考察

図2に膜厚さが約2µmに成膜したTiN表面の走査電子 顕微鏡像を示す。AIP法等の物理蒸着法と比較して表面の 凹凸が顕著であり、サブミクロンサイズのTiN粒子が観察 される。

EDSにより表面から膜の化学組成を面分析したところ、 表1のようにチタンおよび窒素以外に多量の酸素が検出 されることが判明した。また、同じく EDS により各元素 の観察視野における分布状態を観測した結果(図 3)、酸 素は視野全体にまんべんなく分布していることがわかる。 これらの酸素は TiN 粒子の乾燥工程あるいは成膜工程に おいて混入し膜中では TiN 粒子境界に濃化していると推 測されるが詳細は不明である。なお、図中で局所的に酸素 が極端に濃化している箇所はアルミニウムが検出されて おり、AD 装置にわずかに残留していたアルミナ粒子によ る汚染であることが判った。

図 4 にロックウェル圧痕試験による密着性評価の結果 を示す。圧痕の周辺が大規模に剥離しており密着性はよく ないことがわかった。また、ナノインデンテーション装置 により測定した TiN 膜の硬さは 4.3GPa と AIP 法による TiN 膜の一般的な硬さである 20GPa と比較して著しく低 い値であり、基材である高速度鋼と比較しても低い値であ る。

これまでに、AD 法により成膜したアルミナやイットリ アといった酸化物系の膜について、表面が平滑で等軸のナ ノ粒子からなる膜構造を有しており、密着性は良好で硬さ も緻密なバルク材と遜色ないという報告がある<sup>3) 4)</sup>。しか し、窒化物や炭化物の膜に関する報告例はない。本研究に 用いた AD 装置によりアルミナの薄膜を作製し硬さを測 定した結果、バルク材のアルミナと遜色ない 14GPa が得 られているので、装置に起因する問題とは考えにくい。

5

本研究において良好な膜質の TiN が得られない原因と して、多量の酸素のコンタミネーションが粒子の結合を阻 害していること、TiN 原料の粒子径分布が良好な膜質を得 るのに適していないこと、そもそも窒化物系の微粒子では 粒子間の結合が困難であることなどが考えられるが、今の ところ詳細は明らかでない。

### 3. まとめ

エアロゾルデポジション法を用いて高速度工具鋼基材 上に TiN 膜の作製を試みた。膜厚が約 2µm の TiN 膜が得 られたが、膜の硬さや密着性において、実用されているア



図1 AD 装置の構成



図2 TiN 膜表面の二次電子像

表1 EDSによる TiN 膜表面の面分析結果

元素	at%
Ν	26.23
Ti	42.13
0	30.29
Al	0.94
Si	0.07
Fe	0.34

ークイオンプレーティング法による膜と比較して劣って いることが判明した。今後は酸素混入の影響や TiN 原料粒 子の粒径の影響などを調査し緻密で密着性の高い膜の作 製に取り組む計画である。

#### 【参考文献】

- 1.明渡純, 表面技術, 68, 692 (2017).
- 2.高原一樹,藤井博文,神戸製鋼技報,vol. 50,(2),53 (2000).
- 3. J. Akedo, Amer. Ceram. Trans., 146, 245(2003).
- 4. J. Iwasaki, R. Nishimizu, M. Tokita, M. Kiyohara, K. Uematsu, J. *Ceram. Soc. Japan*, 114, 272(2006).



図3 EDSによる TiN 膜表面の元素分布測定結果



図4 ロックウェル圧痕試験による密着性評価結果

# 低温ガス窒化により形成される

# ステンレス鋼の拡張オーステナイト相

中村 紀夫、高木 眞一(機械・材料技術部 材料物性グループ)

#### 1. はじめに

医療や食品関連の金属製品等に多用されているオース テナイト系ステンレス鋼は耐食性に優れる反面、硬さが低 く、耐摩耗性に劣る欠点がある。そこで耐摩耗性を付与す るための表面硬化熱処理として、窒化処理を施す場合があ る。しかし、ステンレス鋼の表面には窒素の侵入を阻害す る不動態皮膜が存在するので、ガス窒化での窒化は困難で ある。これまでエッチング効果により不動態皮膜を除去で きるプラズマ窒化が主に実施されてきた。また、ステンレ ス鋼に500℃以上の高温で行う通常の窒化処理を施すとク ロム窒化物が生成し、表面硬度は著しく上昇するが、耐食 性が大きく劣化する問題点がある。この問題点の解決に 450℃以下の温度で施す低温窒化処理が注目されている。

著者らはこれまでガス窒化を阻害する不動態皮膜の除 去方法を検討した結果、微粒子ピーニング処理あるいは酸 による電解処理が有効であること見出した。

本稿ではこれらの前処理後に高温と低温でガス窒化処 理した表面の組織や結晶構造の違いについて調査した結 果を報告する。

### 2. 実験方法

試験片は SUS316 の φ 30 丸棒から切り出した厚さ 5mm の円盤である。ガス窒化の前処理には鉄系メディアを用い た微粒子ピーニング処理(以下、FSP 処理)と酸を用いた 電解処理(以下、EE 処理)を施した。ガス窒化条件は 570℃ -5 時間(以下、高温ガス窒化)と 420℃-20 時間(以下、 低温ガス窒化)である。ガス窒化後の結晶構造は X 線回 折装置(Philips 製 X'Part)および電子線後方散乱回折装置

(Oxford instruments 製 Aztec HKL)を用いて評価を行った。また、ガス窒化後の金属組織およびエネルギー分散型
 X線分析 (Oxford instruments 製 Aztec energy)を用いた窒素分布についても評価を行った。

#### 3. 結果および考察

図1および図2にFSP 処理およびEE 処理後にガス窒化 処理をした表面のX線回折結果を示す。

ガス窒化前の FSP 処理材はオーステナイトの回折ピー ク(γ)以外にフェライトあるいはマルテンサイトと推測さ れる回折ピーク(α)も検出される。この回折ピークは投射 材である鉄系メディアが表層にわずかに移着したか、ある いは加工誘起マルテンサイト化により検出されたものと 考えられる。ガス窒化前の EE 処理材はγの回折ピークのみ が検出され、他の回折ピークは検出されない。

FSP 処理後の高温ガス窒化材では Fe4N および CrN の回 折ピークが強く検出されており、わずかに $\alpha$ の回折ピーク も検出されている。一方、EE 処理後の高温ガス窒化材で はと $\alpha$  と CrN のピークが検出されており Fe4N の回折ピー クは検出されない。

FSP および EE 処理後の低温ガス窒化材では、いずれも オーステナイトの(111)と(200)の回折ピークが著しく低 角度側にシフトしており、格子定数が大きくなっているこ とを示している。このように格子定数が大きくなった相は 拡張オーステナイト相<sup>1)</sup>や S相<sup>2)</sup>と呼ばれ、低温域での窒 化あるいは浸炭処理において報告されている。ただし、 FSP 処理後の低温ガス窒化材において20が44°付近に観 測されるブロードな回折ピークについては高次の回折ピ ークが不明瞭であり特定できない。

図3および図4に高温および低温ガス窒化処理した表層 部を断面方向から撮影した金属組織写真を示す。

高温ガス窒化材はFSP処理およびEE処理後のいずれも 組織現出の際のエッチングにより、強く腐食されており、 耐食性が劣化していることが明らかである。ただしFSP 処理後の高温ガス窒化材は表面側に強く腐食を受けない 層があり、EE処理後の高温ガス窒化材とは異なる組織を 呈している。図1のX線回折の結果から、この層はFSP 処理後の高温ガス窒化材にのみ、強い回折ピークとして検 出されたFe4Nと推察される。これ以外の強く腐食される 領域はEE処理後の高温ガス窒化材で形成される組織と同 様と考えられ、斑点状の模様が観察されることから非常に 微細な組織と推察される。また、FSP処理後の高温ガス窒 化材の方がガス窒化により形成される層が厚い。

次に、低温ガス窒化材は FSP 処理および EE 処理後のい ずれも高温ガス窒化材のように強く腐食されておらず、生 成した拡張オーステナイト相の耐食性が良好であること を示している。ただし、FSP 処理後の低温ガス窒化材は最 表層付近に腐食される部分が微細に観察され、EE 処理後 の低温ガス窒化材より、やや耐食性が劣る。この耐食性の 劣化は FSP 処理に起因し、X線回折において観測された 2θが44°付近の回折ピークに対応する相によるものと推 測されるが詳細は不明である。

図5および図6に高温および低温ガス窒化処理した表層 部を断面方向から測定した窒素分布と電子線後方散乱回

7

折(EBSD)による結晶相マップを示す。

高温ガス窒化材はFSP処理およびEE処理後いずれも窒 素が分布している領域において EBSD による電子線回折 図形が明瞭に得られず、未解析点が多数存在する。図3の FSP処理後の高温ガス窒化材に観察された FeaN と推察さ れる層の領域はわずかに面心立方構造(FCC)と解析されて いるが母相や拡張オーステナイト相と同じ結晶構造であ るため EBSD だけでの判別は困難である。FSP処理および EE処理後いずれにも観察された斑点状の組織は、わずか に体心立方構造(BCC)あるいは CrN と解析されている。こ の領域の電子線回折図形が不鮮明で未解析点が多い理由 として、組織が非常に微細であること、あるいは転位密度 が極めて高いことが考えられる。この組織は元の FCC か ら BCC へと相変態するとともに CrN の析出により形成さ れると推測されるが、未だ不明な点が多い。この領域の解 明には TEM を用いた高分解能の観察と分析が必要である。

低温ガス窒化材のうち EE 処理した場合には、窒素が分 布している領域全体が FCC と解析されており、X 線回折 結果と合わせて拡張オーステナイト相が形成していると 考えられる。一方で FSP 処理した場合には、ほとんどが 未解析点である。図4の組織観察結果によれば、最表層に 微細な腐食領域が観察される以外は EE 処理した場合と同 様に拡張オーステナイト相が生成していることから、高温 ガス窒化材のような相変態や析出物生成の影響ではない。 そのため、FSP 処理による加工ひずみによる影響と推察さ れる。 以上のように、不動態皮膜を除去するための前処理方法 やその後のガス窒化の処理温度によって、形成される組織 や耐食性に違いがあることが明らかとなった。また、すべ てのガス窒化材の表面硬さはビッカース硬さで 900HV を 超えており、非常に硬い。表面硬さが高く、耐食性が最も 良好なのは EE 処理後の低温ガス窒化である。そのため不 動態皮膜除去のための前処理はメディア材による汚染や ひずみの導入が起こる機械的処理よりも化学的処理の方 が優れていると考えられる。

#### 4. おわりに

オーステナイト系ステンレス鋼に前処理として FSP 処 理および EE 処理を施した後、高温および低温ガス窒化を 施した。ガス窒化により形成された表層の組織および結晶 構造について評価を行った結果、以下の知見を得た。

- (1) FSP 処理および EE 処理後に低温ガス窒化を施すこと により拡張オーステナイト相が形成する。
- (2) 両拡張オーステナイト相とも耐食性は良好であるが、 EE処理後の低温ガス窒化材の方が耐食性に優れる。
- (3) FSP 処理後にガス窒化を施すと、組織の微細化とひず みの影響により EBSD での解析が困難である。

#### 【参考文献】

1. S. Thaiwatthana, X. Y. Li, H. Dong and T. Bell, *Surf. Eng.*, **18**, 433-437 (2002)

2.K. Ichii, K. Fujimura and T. Takase, *Technol. Rep. Kansai Univ* 27, 135-144 (1986).





### 図1 FSP 処理材のガス窒化材前後の X 線回折プロファイル





### 図3 高温ガス窒化材の金属組織写真



図 5 高温ガス窒化材の窒素分布と EBSD による 結晶相マップ



図4 低温ガス窒化材の金属組織写真



図 6 低温ガス窒化材の窒素分布と EBSD による 結晶相マップ

KISTEC研究報告(2018) 2018.10

# エステル系潤滑剤中の炭素鎖長と分岐の有無がDLC膜の摩擦

### 特性に及ぼす影響

吉田 健太郎 (機械・材料技術部 材料物性グループ)

### 1. はじめに

摩擦摩耗特性に優れた DLC 膜は, 膜の種類や使用する 潤滑剤によってその特性が異なることが知られている<sup>1-3)</sup>. 影響を及ぼす因子は様々あるが,これらの効果について体 系化された報告はあまり存在しない.そこで著者は DLC 膜用潤滑剤の設計指針を得ることを目的として,低環境負 荷で摩擦摩耗の抑制に効果のあるエステル系潤滑剤を用 いて,これらの炭素鎖長と分岐の有無が,摩擦特性に及ぼ す影響を調べたので報告する.

#### 2. 実験方法

### 2.1 試験片

基材には, SUJ2 軸受鋼(焼入れ, HRC60)のディスク(Φ 33 mm × t3 mm) およびピン(Φ9 mm × L9 mm)を使 用した.全てのディスクとピンにラッピング研磨を施し, 二乗平均平方根粗さ(Rq)をそれぞれ約 3 nm,約 12 nm の鏡 面状に仕上げた.その後,その表面に,プラズマ化学蒸着 (Plasma Chemical Vapor Deposition : PCVD) 法による水素

含有 DLC (a-C:H, 水素含有量約 20 at%, 膜厚 1.0 µm) お よび T 字型フィルタードアーク (T-shaped Filtered Arc Deposition: T-FAD) 法による水素フリーDLC (ta-C, 膜厚 0.3 µm) を成膜した.

#### 2.2 摩擦試験

SUJ2 同士(基材まま), a-C:H 同士, ta-C 同士の3種類 のディスクおよびピンの組合せで,往復式ピンオンディス ク摩擦試験を行った.摩擦試験方法の模式図を図 1に, 試験条件を表1に示す.DLCを成膜したディスクおよび ピンは,すべり摩擦試験の前に2-プロパノールに浸漬させ, 5分間超音波洗浄を行った後,送風乾燥させた.

潤滑剤として、実用的な合成油であるアジピン酸ジエス テルを基油に用いて、図2に示すようなエステル末端のア ルキル部の炭素鎖長や分岐の有無が異なる3種類 (C6-C10直鎖, C9分岐, C10分岐と呼称する)を用意し た.これらの基油それぞれに対して添加剤として、オレイ ン酸またはオレイルアルコールを1wt%添加したもの、添 加剤無配合のもの、計3種類を用意し、合計9種類の潤滑 剤を作製した.試験開始前には、摩擦面にこれらの潤滑剤 を10μ1滴下した.材料3種類、潤滑剤9種類で総計27 水準の摩擦試験を実施した.









#### 表 1 摩擦試験条件

潤滑剤供給方法	試験前滴下
潤滑剤量,μL	10
最大速度,mm/s	50
荷重, N	5
面圧, MPa	67
時間,s	600
温度, <sup>°</sup> C	23
<b>湿度</b> ,%RH	51 - 54



3. 実験結果及び考察

各試験組合せにおける平均摩擦係数を図3に示す。各材料の平均摩擦係数について,SUJ2同士においては,C6-C10 直鎖で0.11程度,C9分岐で0.08-0.12,C10分岐で0.07程 度となった。a-C:H同士においては,C6-C10直鎖で 0.09-0.10,C9分岐で0.06-0.07,C10分岐で0.07-0.08とな った。ta-C同士においては,C6-C10直鎖で0.04-0.05,C9 分岐で0.02-0.03,C10分岐で0.02程度となった。これら の結果から,エステル中のアルキル鎖の種類や添加剤の有 無によって摩擦特性が異なることがわかった。9種類の潤 滑剤のいずれを用いた場合においても,ta-C膜の摩擦係数 が大幅に低くなる結果となった。ta-C 膜表面は化学反応活 性が高いことから,摩擦とせん断によりトライボ化学反応 膜が生成しやすい状況が生まれ,摩擦係数が低減したこと が示唆される<sup>3</sup>。

潤滑剤に着目すると,SUJ2 および ta-C については, C6-C10 直鎖,C9 分岐,C10 分岐の順に摩擦係数が低くな る傾向があるのに対し,a-C:H については,C6-C10 直鎖, C10 分岐,C9 分岐の順に低くなる。a-C:H 膜は ta-C 膜に 比べて,潤滑剤の化学構造や極性が異なるものに対して, 摩擦係数の低減効果を発揮しにくいといった先行研究も あり<sup>4)</sup>,この摩擦係数の序列の違いも表面の化学反応活性 に起因するトライボ化学反応膜形成能力から生まれるも のと想定される。

ta-Cが C6-C10 直鎖, C9 分岐, C10 分岐の順に摩擦係数 が低くなる原因については,炭素鎖長と分岐の多少による ものと考えられる。エステル系潤滑剤が摩擦係数を低減で きるのは,摩擦表面への化学的な吸着が起きるためと推測 されるが,詳細なメカニズムは不明である。本研究の潤滑 剤の組合せにおいて, 平均分子量が大きくかつ炭素鎖に分 岐をもつ方が低い摩擦係数を発現することを考えると, 化 学的に不安定である分岐部での吸着が, 直鎖よりも多くの 点で起きることと, 吸着した物質の分子量が大きいことに よるトライボ化学反応膜の厚膜化によって低摩擦化が可 能になったものと考えられる。

摩擦係数をさらに低減する効果を見据えて配合したオ レイン酸またはオレイルアルコールについては,摩擦係数 が低減した組合せも存在したが,その効果は著しく小さか った。

#### 4. まとめ及び今後の展開

水素含有 DLC(a-C:H)膜および水素フリーDLC(ta-C)膜に ついて、エステル系潤滑剤を用いた摩擦試験を行った。そ の結果、ta-C 膜の摩擦係数が総じて低い傾向となり、エス テル中のアルキル基炭素鎖が長くかつ分岐している方が、 その低減効果が増大した。

本研究は、環境負荷を低減する技術として、自動車分野 をはじめ、食品、医療、福祉分野等、今後の成長が見込ま れる分野への応用が期待される。また、切削、研削、塑性 加工等をはじめとする機械加工への応用も可能である。

#### 【参考文献】

- 1) C. Matta et al.; Phys. Rev., 78, 8, 085436(2008).
- 2) M. Kalin & R. Simic ; Appl. Surf. Sci., 271, 317(2013).
- 3) 吉田ほか; トライボロジスト, 58, 10, 773(2013).
- 4) K.Yoshida, et.al., Tribology, 9, 1, 54(2015).

【外部発表】口頭発表1件予定, 論文等発表1件予定

# 鉄鋼材料の硬さ変化を利用した

# 配線不要な温度測定具の開発

良知 健(機械・材料技術部 ナノ材料グループ)

#### 1. はじめに

各種材料に目的とする特性を付与するため、様々な分野 で熱処理が行われる。例えば半導体の分野ではウエハへの 酸化膜形成、セラミックスの分野では焼結、ガラスの分野 では成形等のために熱処理が施されるが、これら熱処理工 程においては、加熱温度を始めとした熱処理条件が材料の 特性に大きな影響を与えるため、温度管理が非常に重要と なる。温度管理には一般的に熱電対が用いられるが、例え ば搬送炉など熱処理の際に製品が移動を伴う場合には、配 線の必要な熱電対の使用は困難である。また、複数箇所の 温度分布を評価する際にも、全ての箇所に熱電対を配置す るのは現実的ではない。これに対応した温度測定具として、 温度を不可逆的に記録できる示温ラベルが既に製品化さ れているが、有機物であるワックスを使用しているため使 用可能な上限温度が低いという問題がある。

そこで本研究では加熱によって不可逆的な物性変化が 起こる鉄鋼材料に注目し、より高温に対応した配線不要で 安価な温度測定具の製品化を目指した。具体的には、温度 を評価したい箇所に鉄鋼材料の焼入れ材を設置し、熱処理 後に硬さを測定することで、加熱温度(焼戻し温度に相当) を評価するというものである。ここでは、温度測定具に利 用する鉄鋼材料として、比較的広い温度範囲で焼戻しによ り硬さが変化するクロムモリブデン鋼 SCM435 を選定し、 温度測定具としての使用上限温度や温度測定精度、適用可



図1 硬さの加熱温度依存性

能な雰囲気を明らかにするとともに、加熱時間が硬さに与 える影響についても評価した。

小田代健(アセイ工業株式会社)

#### 2. 実験方法

SCM435 は φ 13 の調質材丸棒を用いて、大気中 850 ℃ で焼入れを行った。なお、焼入れにおける冷却条件は水冷 とした。各焼入れ材を厚さ 5 mm の円盤状に切断し、試験 片を作製した。

加熱温度に保持した電気炉に試験片を挿入して加熱し、 空冷した後に表面を機械研磨(#600)してロックウェル硬 さ試験機(フューチャーテック社製、FR-3e)により硬さ を測定した。ロックウェル硬さ測定は荷重が大きく表面の 粗さの影響を受けにくいため、試験片の表面を鏡面レベル に仕上げる必要があるビッカース硬さ測定と比べて熱処 理現場での表面研磨の負担を軽減できるという利点があ る。硬さ測定は各試験片に対して5点ずつ行い、最大値な らびに最小値を除いた3値の平均をその試験片の硬さと した。

#### 3. 結果及び考察

まず、硬さの加熱温度依存性から、温度測定具として使用可能な上限温度を調べた。図1に焼入れ材を大気中において400~900 ℃で60分加熱した時の硬さを示す。400 ℃から700 ℃までは硬さが単調に低下するが、



図2 各加熱温度における試験片内硬さの標準偏差



図3 各加熱温度における6試験片の硬さ

が、700 ℃以上では上昇し、その後 800 ℃から再び低下 した。ここで、図 2 に各加熱温度での同一試験片内におけ る 5 点の硬さ測定値の標準偏差を示す。これによると、 750 ℃以上では試験片内の硬さのばらつきが大きくなる ことがわかる。これは加熱温度が 750 ℃以上になると空 冷時に試験片には再び焼きが入っていくが、硬さは冷却速 度に敏感であり、今回のように冷却が空冷である場合には 同一試験片内でも冷却速度が異なるためと考えられる。し たがって、冷却条件の影響を受けやすい 750 ℃以上では 温度測定誤差が極端に大きくなるため、実用上の上限温度 は 700 ℃と判断した。

次に同一の条件で複数の試験片を加熱し、試験片間の硬 さのばらつきを見ることで、温度測定精度を調べた。図3 は大気中において400~700 ℃で各温度6試験片を60分 加熱した際の硬さである。同図に測定値を2次曲線で近似 した結果を実線で示す。ここで近似曲線から温度換算で± 10 ℃に当たる硬さの範囲を破線で表すと、測定値の殆ど がこの破線の範囲内にあることがわかる。そのため SCM435 を温度測定具として利用した場合の温度測定精 度は±10 ℃程度と考えられる。

さらに温度測定具として使用可能な加熱雰囲気につい て調べるため、真空中ならびにアルゴン雰囲気中での加熱 も行った。図4は大気中、真空中、アルゴン中で試験片を 60分加熱した際の硬さの加熱温度依存性である。真空中 やアルゴン中の加熱でも、大気中と同様に温度の上昇とと もに硬さが単調に低下し、真空中やアルゴン中など各種雰 囲気中でも使用できることが示された。

加熱時間が硬さへ与える影響を調べるため、加熱時間を 変化させて硬さを測定した。図5は加熱時間10、30、60、 120分における加熱後の硬さである。加熱時間が長くなる ほど硬さが低下することがわかる。また、この硬さの低下 は温度が高くなるほど顕著である。このように同じ加熱温



図4 各種加熱雰囲気における硬さの加熱温度依存性



図5 各加熱時間における硬さの加熱温度依存性

度でも加熱時間によって硬さが変化する。また実際にはこ れに加えて加熱速度や冷却速度も硬さに影響を与えると 考えられるため、実際の熱処理条件に合わせた検量線を予 め求めておき、それに基づいて加熱温度を評価する必要が ある。

#### 4. まとめ

クロムモリブデン鋼 SCM435 について、温度測定具とし ての利用可能性を調べた。その結果、使用上限温度は 700 ℃であることがわかった。また、試験片間のばらつき の大きさから、±10 ℃程度の温度精度を有することが示 された。さらに、大気中だけでなく、真空やアルゴン中で の熱処理の際にも適用可能であることから、幅広い熱処理 工程での使用が期待される。しかし、加熱後の硬さは加熱 時間の影響を受けるため、実際の熱処理条件に合わせた検 量線が必要である。また、同じ鋼種の材料であっても材料 ごとの組成の差が硬さに影響を与えると考えられるため、 製品化にあたり使用する材料の組成管理も重要となる。

# 生活支援ロボットの安全性評価

### 井上 崇、三岩 幸夫、志賀 裕介 (電子技術部 電子システムグループ)

#### 1. はじめに

我が国における高齢化率は年々上昇し、2045年には、 総人口における 65歳以上の割合が 35%を超える予測がな されている。一方、若年層は年々減少し、同じく 2045年 には、15歳未満の割合が 15%以下となると予測<sup>1)</sup>されて いる。このような状況の中、介護需要に対する供給が追い 付かなくなる事態が予想され、この打開策として、ロボッ ト技術を活用した生活支援ロボットによる介護サポート に期待が集まっている。

介護等に利用される生活支援ロボットは、人を対象とし ているため、工場等で利用される産業用ロボットに比べ、 高い安全性が必要とされている。

最近では、サービスロボットの国際安全規格(ISO13482) や生活支援ロボットの安全要求事項(JIS B 8445、8446等) も整備されつつあるが、開発の初期段階から、リスクアセ スメントを実施することにより、安全性の確保を行う必要 がある。

#### 2. リスクアセスメント

リスクアセスメントを実施する際の大まかな流れとし て、まず必要となるのが、危害を引き起こす事象(危険源) を見極めることである。

危険源は、火傷の原因となる温度であったり、怪我の原 因となる鋭利な部分であったり、感電の危険性のある部分 であったりと機器に合わせて、千差万別である。

これらの危険源を機器の使用が想定される場面に応じ てリスト化し、それぞれの項目に対して、被害の程度や対 策を検討していく必要がある。

基本的には、危険源は少ない方が良く、取り除ける内 容であれば、取り除いた方が良い。しかし、取り除けない 項目については、何かしらの保護策を検討し、被害を低減 する必要がある。

JIS B 9700「機械類の安全性-設計のための一般原則-リスクアセスメント及びリスク低減」では、3 ステップメ ソッドとして、以下のようなリスク低減手順が推奨されて いる。

・ステップ1:本質的安全設計方策

・ステップ2:安全防護および付加保護方策

ステップ3:使用上の情報

ここで、本質安全設計方策という言葉が出てくるが、JIS B 9700の定義では、「ガード又は保護装置を適用しないで、 機械の設計又は運転特性を変更することによって、危険源 を除去する又は危険源に関連するリスクを低減する保護 方策」とされている。可能な限り、この本質安全設計によ るリスク回避が望ましいが、本質安全設計が確保できない 場合、ステップ2の安全防護(ガード等)および付加保護 (非常停止装置等)方策でリスクを低減することになる。

ステップ3の使用上の情報は、ステップ1および2の方 策を実施した後に残るリスクを警告ラベルや取扱説明書 などで注意喚起を図る方策である。この方策は、比較的安 全度の高いリスク(許容リスク)にのみ適用可能であるこ とに注意が必要である。

また、リスクは、「危害の発生確率と危害のひどさとの 組み合わせ」と JIS で定義され、その評価手法には加算式 や積算法等の方法がある。一例として、生活支援ロボット 安全情報センター (RT-SIC) から公開されている「リスク アセスメント雛形シート」<sup>2)</sup>では、リスク(R)を

- ・危害のひどさ (S)
- ・暴露の頻度および時間(F)
- ・災害回避または制限の可能性(A)
- ・危険事象の発生確率 (Ps)

の関数として、各項目を点数化し、以下の計算式

リスク (R) =S  $\times$  (F+A+Ps)

から、リスクを見積るとしている。

なお、各項目の点数化については、図1のように定義さ れている。

晒される頻度又は時間 F	危険	1 R.O.	) 発生	確事	rPs	危	훔침	回避	又は	
連続的/常時 4	高い			4	1.1.1	m)	限で	2 a T	T能情	r I
頻繁/長時間 3	起こ	り得る	S_	3			困難	锥	3	
時々/短時間 2	起こ	り難し	1	2			可	Ē	1	-
まれ/瞬間的 1	低い	(まれ	.)	1		1	-			
危害の酷さい		3	4	5	6	7	8	9	10	1
危害の酷さい		3	4	5	6	7	8	9	10	1
重大傷害(長期間治療)	4	12	16	20	24	28	32	36	40	4
医療措置(短期間治療)	3	9	12	15	18	21	24	27	30	3
応急手当で回復	2	6	8	10	12	14	16	18	20	2
無作 /_ 味的皮ン	1	2	4	5	6	7	0	o	10	1

図 1.RA 雛形シートのリスク見積基準 3)

さらに、上記方法により見積もったリスク(R)は、以下のような評価を行っている。

R≧15	リスクが高く、受け入れられない
$7 \leq R \leq 14$	リスクの低減が必要
	条件付きで許容可能(他に方策が無い等)
$R \leq 6$	リスクは十分低い

以上のような方法により、初期分析・評価、低減方策適 用後の再評価を重ねていくのが流れとなる。

#### 3. 実際の評価例

ここでは、生活支援ロボットの安全性評価例として、現 在、主に横浜国立大学にて開発中の「歩行支援杖型ロボッ ト」(図 2)を対象とした事例を紹介する。



図 2. 開発中の「歩行支援杖型ロボット」

このロボットは、使用者の動きに合わせて移動し、どの ような向きの力を加えても適切な姿勢で支持を行って使 用者の体重を支える役割を果たすことを目的として開発 されている。

今回は、現状での仕様を基に、実証試験用のリスク評価 を実施した。その中から、主な項目を幾つか紹介すると、

①リスク点数15以上の危険なリスクを持つ項目 危険源:外部からのEMIに誘発された危険な動作 危険状態:EMIによる想定外の挙動/急発進 想定危害:打撲・骨折、リスク点数:R=15 との初期評価に対し、

保護方策:EMI対策の実施

により、リスク点数 R=0 に低減。ここで、R=0 となる理由としては、実際に静電気試験や放射電磁界イミュニティ試験等について、規格に沿った試験を実施し、 誤動作の無いことを確認したためである。

②リスク点数15未満の低減が必要な項目 危険源:意図しない運転停止 危険状態:意図せずハンドルグリップを 離したことによる動作停止 想定危害:打撲・骨折、リスク点数:R=14 との初期評価に対し、

保護方策:グリップ部への接触を検知する機能搭載 により、リスク点数 R=8 に低減。結果として、R=8 では、まだ十分に低いとは言えないが、実証試験時に は、周囲に多くの担当が配置されることなどを勘案し、 条件付き許容と考えた。

③リスク点数6以下のリスクが十分低い項目 危険源:意図しない運転停止 危険状態:バッテリーの充電不足 想定危害:無、リスク点数:R=6 との初期評価に対し、点数が低いため、特段の保護方 策は必要が無い。しかし、本項目については、残留リ スク方策として、ラベルや説明書等での注意喚起をし ておくこととした。

以上の様に、初期のリスク評価でリスク低減が必要となった項目に対し、対策や確認を行うことにより、ほぼ許容できるレベルに低減出来る結果となった。

ただ、本評価は、あくまでも実証試験用であり、室内で 被験者を監視可能な人間が常に配置できるという、比較的 恵まれた環境下での評価となっている。そのため、商品化 時のリスク評価と異なり、相対的に低い(安全性は高い) 結果となっている。

また、現在は搭載されていない障害物検出機能を付加した場合の評価も検討したが、初期評価のリスク点数 R=21 が R=12 まで下げられることやニーズ調査の結果にも挙げられていることから、今後搭載を検討すべきと考える。

#### 4. まとめ

今回、リスクアセスメント方法についての概略を記載す ると共に、開発中の生活支援ロボットに対し、実証試験用 のリスク評価を実施した事例を紹介した。今後、本ロボッ トの実証試験を進め、実用化を検討する際には、より複雑 なリスク評価が必要となってくることが想定されるため、 今後も評価についての検討を進めていく予定である。

#### 5. 謝辞

今回、当所の事業化促進研究にて開発中のロボットを御 提供いただいた国立大学法人 横浜国立大学 工学研究院 の藤本教授、株式会社タクマ精工の白石様に感謝申し上げ ます。

#### 【参考文献】

- 国立社会保障・人口問題研究所
   「日本の将来推計人口」(平成 29 年推計).
- 生活支援ロボット安全情報センター (RT-SIC) 資料 リスクアセスメント資料 .
- 介護ロボットポータルサイト 参考資料 リスクアセスメントシート解説

# 1GHz 超の EMI 測定における測定アンテナの チルト角と EUT テーブルの影響について

鶴田 誠、臼井 亮(電子技術部 電磁環境グループ)

#### 1. はじめに

2020年のサービス開始を目指している第5世代移動通 信システムや次世代の車載用ミリ波レーダーシステムを 始めとする無線システム・各種コンピュータシステムの 高速化・高機能化による電子機器の相互接続などに起因し た電磁妨害波干渉が発生し易い状況が増加している.

このような背景から電磁両立性 EMC(Electro-Magnetic Compatibility)の重要性が日増しに高まっており、これに伴い測定規格が随時改定されている.

電磁妨害波干渉に関連する FCC(ANSI C63.4-2014)が新 しく規定されたが、この規定に対する測定データが十分で ない. 加えて、1GHz 超の EUT 用テーブルの影響に関する 測定データも十分とは言えない.

本報告では、米国の規格である FCC(連邦通信委員会)と 日本国内の自主規制である VCCI(一般財団法人 VCCI 協 会)における、1GHz 超の EMI(Electro Magnetic Interference) 測定における測定アンテナのチルト角と EUT(Equipment Under Test)用テーブルの影響の違いについて測定した結 果及び理論計算により検証した結果に関して報告する.

#### 2. VCCI による 1GHz 超の測定方法

VCCI による 1GHz 超の測定方法は,次の(1)から(3)のと おりである.図 1(a)(b)に EUT と受信アンテナの配置の関 係を示す.



図1 VCCI の測定方法における EUT の高さと受信アンテナの高 さ

- (1) テストボリュームと受信アンテナ間の距離は3[m]
- (2) 受信アンテナ高は 1[m]に固定する. EUT の高さが 3[dB]ビーム幅を超える場合は、受信アンテナの高さ を掃引

EUT の設置しているターンテーブルを回転させて尖頭値 と平均値の最大値を記録

### 3. 新しい FCC の測定方法の紹介

#### 3.1. 測定方法の概要(ANSI C63.4-2014)

今回の報告で対象とする新しい FCC (以下,「新しい FCC」を「FCC」と省略する)の測定方法は,図 2に示すと おり受信アンテナ高を変化させたときに受信アンテナの メインローブが EUT の指定位置を常に向くように自動的 にチルト(仰角)を自動的に制御することが必要となる. このメインローブが EUT 側を常に向いているために,EMI 測定において厳しい条件設定になる場合がある.



図2 新しい FCC の測定方法

#### 3.2. アンテナ仰角・偏波切替器

FCC の測定方法に対応するために導入したアンテナ仰 角・偏波切替器(EL/VH ポジショナ)を図 3に示す. EL/VH ポジショナは,(株)デバイス製の DW3404AV1/O EL/VH ポ ジショナ・DW3138AV1/O ポジションコントローラ(仰角・ 偏波切替)であり, 表1にポジショナの仕様を示す.測定 可能周波数の下限は,製造メーカの仕様から700[MHz]と なっている.



図3 EL/VH ポジショナ(赤枠がポジショナ本体)

表1   EL/VH ホジショナの仕
--------------------

	偏波切替部	仰角部	
全体の寸法	145(W)×127(H)×360(D)[mm]		
回転移動範囲	0から 90°	10°から-90°	
スピード	0.37 から 3.7rpm	3.2 から 8°/秒	
分解能	0.1°		
偏波切替精度	±0.1°		
位置決め精度	0.2°	0.2°(-45°まで)	
質量	約 3.9kg		

### 4. 実験方法

#### 4.1. 実験条件

FCC/VCCI 技術基準の方法等に準じて、1[GHz]から 18[GHz]のテーブルの影響について測定した(図 4及び図 5 を参照).テーブルは、①発泡スチロール製のテーブル② FRP 製のテーブル③木製のテーブルの3種類を用いた.送 信側は小型バイコニカル、受信側はホーンアンテナを使用 した.送受信間のアンテナ間の距離は3[m]とした.送信 アンテナ高は床面から0.9[m]である.送受信アンテナ間の S21 特性(伝送特性)をネットワーク・アナライザで測定し た.キャリブレーション後のS21特性であるCS21特性は、

#### (CS21 特性)

= (テーブル設置時の S21) - (テーブル非設置時の S21)

と計算した.測定では、次の2種類の受信アンテナのパラ メータを調整している.

(1)受信アンテナ高1[m]から4[m]まで変化

(2)受信アンテナのチルト角を固定(水平方向に固定)・調整 (送信アンテナ側を向くように自動調整)

尚,送受信アンテナ間の床面には電波吸収体を設置している.ただし、テーブル周辺の床面には、電波吸収体を設置してない.





チルト角を固定 チルト角を調整 4m 1m

図5 受信アンテナの高さとチルト角を調整

#### 4.2. 使用測定器

本測定に使用した主要な測定器を表 2に示す.

表2 測定器リスト

周波数帯	測定器名称	型名	製造会社
1-8GHz	ネットワーク・アナ ライザ	ZNB8	Rohde&Schwar z
	送信アンテナ (小型バイコニカル)	SBA9119	Schwarzbeck
	受信アンテナ (ホーン)	BBHA9120B	Schwarzbeck
	電力増幅器	MLA-0108-B 02-42	TSJ
	送信側 ATT	10dB	
6-18GHz	ネットワーク・アナ ライザ	E8363B	Keysight
	送信アンテナ (小型バイコニカル)	SBA9112	Schwarzbeck
	受信アンテナ	MDH0218	マイクロウェ
	(ホーン)		ーブ ファクト
			リー
	電力増幅器	ECS-1505S	ELENA
1	送信側 ATT	10dB	

### 5. データ解析及び電波伝搬に関する理論

本報告での理論的な解析対象は, EMI 測定において VCCIの測定方法に比較してFCCの測定方法が厳しい条件 となる部分に注目する.図6の反射波2は,電波吸収体を 介して反射される電磁波であるために,反射波の電力が少 なくとも30[dB]以上の減衰が期待される.他方,ターンテ ーブル直下の金属面から反射する反射波1は,金属面から 直接反射して受信アンテナに向かうために強い電磁波と して受信アンテナで受信される.そのために、本報告では EMI 測定の観点で厳しい条件となりうる直接波及び反射 波1を取扱う.

また、紙面の関係で厳密な理論的な議論よりも EMI 測 定に対する現象の理解・把握など観点で纏めている.





### 5.1. 直接波と反射波の経路情報(遅延プロファイ ル)

送信アンテナから受信アンテナまでの複数の経路の情報であるチャネルインパルス応答 h(t, t)と伝達関数 H(f, t) は、次の通りに与えられる<sup>[1][2]</sup>.

$$h(t,\tau) = \sum_{l=0}^{\infty} h_l(t) \delta(t-\tau_l)$$
(1)  

$$H(f,t) = \int_{-\infty}^{+\infty} h(h,t) \exp(-j2\pi f t) dt$$
$$= \sum_{l=0}^{\infty} h(h,t) \exp(-j2\pi f l \Delta t)$$
(2)

ここでは、チャネルインパルス応答が、遅延プロファイ ルに対応する.一方、伝達関数が CS21 特性に対応する. 本報告で検討するのは、主にターンテーブル付近の電波吸 収体を設置できない床面による反射波と直接波で発生す る2パスのマルチパスを想定している.しかしながら、現 実にはアンテナマストなどの構造物からも弱い反射が発 生している点にも注意を払う必要がある.2パスのマルチ パスの遅延プロファイル及び CS21 特性は、

$$h(t,\tau) = h_0(t) + h_1(t)\delta(t-\tau_1)$$
(3)  

$$H(f,t) = h_0(t) + h_1(t)\exp(-j2\pi f \Delta \tau_1)$$
  

$$= h_0(t) \left(1 + \frac{h_1(t)}{h_0(t)}\exp(-j2\pi f \Delta \tau_1)\right)$$
(4)

と表される.2パスのマルチパスのCS21特性の絶対値は、 次式の通りに表される.

$$|H(f,t)|^{2} = |h_{0}(t)|^{2} + |h_{1}(t)|^{2} + 2|h_{0}(t)||h_{1}(t)|\cos(2\pi f \Delta \tau_{1})$$
<sup>(5)</sup>

つまり、反射波によるレベル変動幅は、 $4|h_0(t)||h_1(t)|$ の影響を受ける.そのために、反射波の受信レベルに強く依存 することが理解できる.VCCIの EMI 測定では、 $h_1$ が電波 吸収体で吸収される.そのために、 $h_1$ が小さくなり2パス のマルチパスの影響が小さくなる.

この関係式から FCC の場合には,2パスのマルチパスの 第3項の影響により,図7に示す通りの周波数領域でのレ ベル変動を生じることになる.

$$H(f,\tau) = \frac{|h_0(t)|^2 + |h_1(t)|^2 + 2|h_0(t)||h_1(t)|}{|h_0(t)|^2 + |h_1(t)|^2 - 2|h_0(t)||h_1(t)|}$$
  
Bigs

#### 図7 2パスのマルチパスの周波数方向の変動

ここで,2 パスのマルチパスの影響を確認するために, 金属面の反射の損失等がなくて自由空間の損失のみを考 慮した場合の2パスのマルチパスのCS21特性を考える. この場合のCS21特性は,次式で与えられる.

$$|H(f,t)|^{2} = \left(\frac{4\pi d_{0}f}{c}\right)^{4} \left(1 + \left(\frac{d_{1}}{d_{0}}\right)^{2} + 2\left(\frac{d_{1}}{d_{0}}\right)^{2} \cos(2\pi f \Delta \tau_{1})\right)$$
(6)

ただし、 $d_0$ は直接波の経路・ $d_1$ は反射波の経路・cは光速 である.また、 $\Delta \tau_1$ は、

$$\Delta \tau_1 = \frac{(d_1 - d_0)}{c} \tag{7}$$

で与えられる. この CS21 特性は, d₀は直接波の経路・d₁ は反射波の経路が同一の場合には, CS21 特性が定数にな ることが理解できる. つまり, 電磁波の発信源が床面に近 い場合には,式(6)から CS21 特性の変動幅が小さくなる方 向に向かうこと理解できる.

この関係から受信アンテナ高に対する理論上の周波数 に対するレベル変動を計算すると図8に示す結果となる. 図8の任意の周波数を固定して切出したグラフは,ハイト パターンと呼ばれる(図9を参照).このように式(6)であっ ても、2パスのマルチパスの影響により周波数とアンテナ 高に対して複雑な応答を示すことが解る.VCCIの測定方 法は、多くの測定対象が受信アンテナ高を固定して測定す るケースが多い.また、送信及び受信アンテナ高の関係か ら、電波吸収体の効果が期待できるために2パスのマルチ パスの影響は小さくなる.一方、FCCの測定方法では、受 信アンテナにチルト角を調整する機構が存在するために 図8のような複雑な2パスのマルチパスの影響を受けるこ とになる.



図8 受信アンテナ高・周波数に対する CS21 特性



#### 5.2. 水平偏波と垂直偏波のレベル差

水平偏波(H)と垂直偏波(V)の相違により,一般に反射波 のレベルが異なる.垂直偏波に比較して水平偏波の反射波 のレベルが高くなる.この水平偏波のレベルが高くなる要 因について説明する.水平偏波及び垂直偏波の本質的なレ ベル差が生じるメカニズムについて,理想的なダイポール アンテナを用いて説明する.水平偏波の受信電界強度は,

$$E_{H} = 7.0 \frac{\sqrt{d_{1}^{2} + |\rho_{h}|^{2} d_{0}^{2} + 2d_{0}d_{1}|\rho_{h}|\cos(\phi_{h} - \beta(d_{1} - d_{0}))}}{d_{0}d_{1}}$$
(8)

と表される<sup>[3]</sup>. ただし, β は波数を表す. また, φh は ρh の 位相で与えられる. 金属面の反射係数 ρh は, 次式で与え られる.

$$\rho_{h} = \frac{\sin\gamma - \sqrt{K - j60\lambda\sigma - \cos^{2}\gamma}}{\sin\gamma + \sqrt{K - j60\lambda\sigma - \cos^{2}\gamma}}$$
(9)

ただし、 $\gamma$ は大地面への入射角・Kは大地面の比誘電率・ $\sigma$ は大地面の導電率・ $\lambda$ は波長とする.

一方, 垂直偏波の受信電界強度は,

$$E_{\nu} = 7.0 \frac{R^2 \sqrt{d_1^6 + \left|\rho_h\right|^2 d_0^6 + 2d_0^3 d_1^3 \left|\rho_{\nu}\right| \cos(\phi_{\nu} - \beta(d_1 - d_0))}}{d_0^3 d_1^3}$$
(10)

と表される<sup>[3]</sup>. また,  $\varphi_v$ は  $\rho_v$ の位相で与えられる.ただし, 垂直偏波の場合には, E 面内では顕著な指向性を持つため に, その指向性を次式で近似して取扱う.

$$F(\theta) \cong \sin \theta = \frac{R}{d} \tag{11}$$

ただし、R はアンテナ間の水平面の距離である.本報告で は、R は 3[m]である.また、金属面の反射係数  $\rho_v$ は、次 式で与えられる.

$$\rho_{v} = \frac{(K - j60\lambda\sigma)\sin\gamma - \sqrt{K - j60\lambda\sigma - \cos^{2}\gamma}}{(K - j60\lambda\sigma)\sin\gamma + \sqrt{K - j60\lambda\sigma - \cos^{2}\gamma}}$$
(12)

式(8)と式(10)の関係から理論上の受信アンテナ高と水 平偏波と垂直偏波の電界強度差の関係を計算すると図 10 に示す結果となる(受信アンテナ利得を含まない). この結 果から受信アンテナ高が高くなるに従って電界強度のレ ベル差が大きくなることが解る.また,水平偏波成分が強 く影響が表れることも理論的に確認できる.これらの電界 強度の差は,主にアンテナパターン及び反射係数で決定さ れる. VCCIの EMI 測定では,受信アンテナ高を 1[m]に固 定して測定するケースが多いために,水平偏波と垂直偏波 が同程度の影響と考えることができる.

なお,テーブル材質による相違に関しては,誘電体を含む詳細な理論展開が必要であり,紙面の関係で割愛する.



図10 反射波の水平偏波と垂直偏波の電界強度の差

#### 実験結果

#### 6.1. 水平偏波・垂直偏波によるレベル差

水平偏波と垂直偏波によるレベル差について,実測デー タの遅延プロファイルを図 11に示す.この遅延プロファ イルは,EMI測定で使用される発泡スチロールのテーブル を使用した場合である.

図 11の遅延プロファイルの結果の相対レベルが - 30 [dB]以下の領域の成分は、測定治具等の影響で生じたマル チパス成分になる.このマルチパスが生じた部位は、例え ばアンテナを固定するアンテナマストなどが挙げられる. また、相対レベルが一定かつ大きいところ(図 11の実線で 囲んだエリア)は直接波を表し、相対レベルが変化してい る部分(図 11の破線で囲んだエリア)は、テーブル付近の金 属床面による反射波を表している.ただし、図 11は直接 波の値で受信アンテナごとに正規化している.

次に、実測の水平偏波と垂直偏波の遅延プロファイルの 反射波の電界強度のレベル差を整理した結果を図12に示 す.図11の遅延波の測定結果等から、3.0[m]以下は電波吸 収体による反射波の抑圧があることが解る.一方で、 3.5[m]以上は、電波吸収体による反射波の抑圧されずに大 きく受信アンテナで受信される.そのために、EMI 試験に おける影響の度合いが大きくなる受信アンテナ高が 3.5[m]及び4.0[m]を比較している.受信アンテナの指向性 特性は、アンテナに付属している指向性特性を利用してい る.この結果によれば、ターンテーブルの下の金属面によ り発生する反射波は、FRPのテーブル及び発泡スチロール のテーブルに関しては理論計算値と良い一致を示してい る.ただし、発泡スチロール並びにFRPの誘電体による 遅延時間は計算に含めていない.ところで、木材のテーブ ルは、理論計算値とギャップが生じていることが解る.こ れは、木材自身及び木材に含まれる水分などの誘電物質が 影響を与えていると考えられる.

EMI 測定の観点では,送信アンテナ(EUT)の給電点等の 電力について,水平偏波と垂直偏波が同レベルである場合 には,水平偏波の影響が大きくなる傾向に作用することに 注意を払う必要がある.水平偏波の作用を抑圧するために 水平面内の等価的なグランドの強化による問題解消など の施策が重要になる.







#### 6.2. FCC の測定方法と VCCI の測定方法の比較

図 13に FCC の測定方法と VCCI の測定方法を比較した 測定結果を示す(受信アンテナ高 1[m]から 4[m]の中の最大 値). この測定結果が示すとおりに, FCC 測定方法は, VCCI の測定方法に比較して 2 パスのマルチパスの影響を大き く受けることが解る. そのために, EMI 測定の観点では, 直接波と反射波が共に評価されるために、VCCIの測定方法に対して FCC の測定方法が厳しい評価条件になる場合がある.

また、測定結果である図 13は、金属面による反射波以外 のアンテナマストや受信アンテナ高などの高さによる電 波伝搬の影響などを全て含んでいる.そのために、2パス のマルチパス以外の成分も確認することができる.



図13 測定方法の違いと CS21 特性

#### 6.3. テーブル材質と CS21 特性

図 14並びに図 15にテーブル材質による CS21 特性の差 異を示している. 全周波数帯に渡って発砲スチロールの影 響が小さいことが図 14及び図 15から確認できる. ただし, FCC の測定方法は, VCCI の測定方法に比較して CS21 特 性の変動幅が大きくなっている. また,電波伝搬に関する 理論の章で計算したように水平偏波の影響が垂直偏波に 比較して大きい事が確認できる. ただし,理論解析の章で は,水平偏波として設置しているアンテナが十分に金属面 から離れていると想定している. そのために,ターンテー ブル上に設置して測定する装置などは, EUT の設置する 高さ及び EUT の電磁波の発生源の位置関係に依存して, 水平偏波成分が垂直偏波成分に比較して小さくなる場合 も言及しておく.

#### 考察及び今後の展開

電波伝搬等の理論的な考察から床面が金属面(それ以外 の面は電波吸収体を設置)の環境では、垂直偏波に比較し て水平偏波の方が反射波の影響が大きいことを理論的な 観点で確認した.実測の結果も反射波の水平偏波成分が強 いことが確認された.

FCC の測定方法と VCCI の測定方法を比較してきた. その結果として, FCC の測定方法 (チルト角と EUT 用テーブルの反射の影響)では,床面の反射と直接波の 2 パスモ

デル により測定値が変動するマルチパスが発生する. その結果として,発泡スチロールのテーブルがある場合には,水平偏波の1から6[GHz]では,最大4[dB]程度の影響が発生する.また,6から18[GHz]では,最大5[dB]程度の影響が発生する.

今後は、マイクロ波の評価実績を活用して、ミリ波帯の 測定技術及び測定サービスの提供に関して検討していき たい.



ナ社,(2003)

3. AlbertA.Smith, Jretal., "Calculation of Site Attenuation from Antenna Factors," IEEE Trans., Electromagnetic Compatibility, vol.EMC-24, no.3, 1982.

【外部発表】口頭発表 1件(2018/9IEICEソ大予定)

# SU8 微細パターンの剥離に対する添加剤を加えた

# N-メチル-2-ピロリドンの有効性

安井 学,黒内 正仁,金子 智(電子技術部 電子材料グループ) 中野 一史,川野 伸一(野村マイクロ・サイエンス)

### 1. はじめに

エポキシ樹脂をもとに開発されたネガ型レジストであ る SU8 は機械的性質,耐熱性,耐薬品性,低誘電率など に優れた性能を示すとともに,容易にアスペクト比の高い マイクロ構造体を作製できる.そのため,SU8 は電鋳金型 <sup>1</sup>や筆者らが研究しているガラスインプリントを対象とし たNi-W製熱インプリント金型<sup>2,3</sup>の原盤に利用されている. しかしながら、耐熱性、耐薬品性に優れる SU8 で形成し たパターン (SU8 パターン)は小さくなるほど剥離が困難 になる<sup>4</sup>.

SU8 の剥離が困難な理由は,高分子の主鎖間で架橋反応 が起こり,分子構造が3次元の網目構造に変わるためであ る.SU8 の剥離方法として,酸素プラズマエッチング<sup>5.6</sup> や湿潤オゾンによる除去<sup>7</sup>が研究されている.しかしなが ら,酸素プラズマアッシングではSU8 に含有されるアン チモンが基板表面に残るという問題がある.また,湿潤オ ゾンでは,オゾン水により配線などを構成する金属薄膜が 腐食される点が問題である.

ー方,アルカリ金属と微量の水分を添加した有機溶剤は, 常圧下でプリント配線板材料である臭化エポキシ樹脂を 溶解することが報告されている<sup>8</sup>. これを参考に,筆者ら が開発した方法<sup>4</sup>では,ラインアンドスペースと凹型のホ ールパターンにおいて,5µm以上の微細な SU8 パターン を剥離できることを確認している.

本報告では、5µm 未満の凸パターン形成を目指して、 SU8 の剥離に焦点を絞り、5µm 以上の SU8 ドットパター ンの剥離に対して良好だった塩化リチウム(LiCl)と水 (H<sub>2</sub>O)を加えた N-メチル-2-ピロリドン (NMP) の有効性を 検討した<sup>9</sup>.

#### 2. 実験方法

ガラスインプリントを対象とした Ni-W 製熱インプリン ト金型では、ガラスに対する離型性から金型の基板に W が適している.そこで、基板には精密研磨により表面粗さ を 2nm に仕上げた W 基板を用いた.スピンコートにより W 基板上に SU8-2 (マイクロケム製)を 3000rpm, 30 秒間で 塗布した.そして、65℃で1分間と 95℃で3分間の2段 階でプリベイクを行い、自然に冷却させた.これにより、 厚さ約 2µm の SU8 膜を形成した.波長が 365nm の紫外 線を SU8 膜に照射して、フォトリソグラフィを行った. 露光量は 100mJ/cm<sup>2</sup> である.その後、SU8 膜の内部に酸 を発生させ、3 次元架橋反応を起こさせるために、露光 後ベイクを行った.露光後ベイクは 65℃で1分間と 95℃ で1分間の2段階である.

露光後ベイクを行ったサンプルをプロピレングリコー ル 1-モノメチルエーテル 2-アセタートに 2 分間浸漬し, 現像した.更に,イソプロピルアルコールに 2 分間浸漬し てリンスし,窒素ブローによりサンプル上のイソプロピル アルコールを蒸発させた. 観察対象となる 2µm 角から 50µm 角の SU8 凸パターンが W 基板上に形成できた. そ の後,剥離後の SU8 のパターン位置を明確にすることと 実際の金型作製において SU8 パターンを剥離できること を示すために、W 基板上の開口部に Ni-W 合金めっきを行 った. Ni-W 合金めっき液の組成は,スルファミン酸ニッ ケル: 0.5mol/L,タングステン酸ナトリウム:0.5mol/L, クエン酸アンモニウム:1mol/L, ギ酸ナトリウム:0.5mol/L である.めっき液の温度は 60℃,電流密度は 1500A/m<sup>2</sup>, めっき時間は 2.5 分に設定した.

剥離実験は以下の2種類を行った.1)スターラーにより 撹拌しながらサンプルを NMP に浸漬した.加熱温度は 90°C,浸漬時間は1時間とした.2)LiCl(2g)とH<sub>2</sub>O (1ml) を加えた NMP(50ml)(以下,添加剤入り NMP)を作製し た.そして,スターラーにより撹拌しながらサンプルを添 加剤入り NMP に浸漬した.加熱温度は 90°Cとした.浸漬 時間については,はじめに1時間浸漬して取り出した後, 更に2時間浸漬した.

剥離液に浸漬する前の SU8 凸パターンと各剥離液に浸 漬した SU8 凸パターンを観察し, 微細パターンの剥離に 対する添加剤を加えた NMP の有効性を検討した.

#### 3. 実験結果

剥離液に浸漬する前の SU8 凸パターンを図 1 に, NMP に浸漬した SU8 凸パターンを図 2 に示す.図 1 と図 2 を 比較した結果,全て剥離できた SU8 凸パターンの大きさ は 50µm であった.そして,図 2 の全体には,めっきによ り形成された Ni-W 合金めっき面と SU8 凸パターンの剥離 によって露出した W 基板との段差が生じた.この段差に より SU8 凸パターンの剥離跡が鮮明に観察された.また, 図 2 の右下では剥離した SU8 凸パターンが W 基板上に再 付着していた.剥離した SU8 凸パターンが存在したこと により, SU8 は溶剤に溶けて消失する可溶型レジストでは なく,膨潤して基板から剥離する膨潤剥離型レジストであ ること<sup>10</sup>を確認した.

SU8 凸パターンが剥離するプロセスとして, NMP により膨潤した SU8 凸パターンのひずみが大きくなり, ひず

みの増加に伴って SU8 の内部応力も増加したため, W 基 板から剥離したことが考えられる. そして, SU8 凸パター ンが大きいほどひずみも大きくなり,本実験における NMP を用いた SU8 の膨潤では,パターンの幅が最大とな る 50μm 角の SU8 凸パターンのみが剥離したと考えられ る.

次に,添加剤入り NMP に 1 時間浸漬した SU8 凸パター ンを図 3 に,その拡大写真(白線内)を図 4 に示す.20µm 角以上の全ての SU8 凸パターンを剥離できた.SU8 の剥 離に対して,NMP よりも添加剤入り NMP は優れていた. 図 5 に示すように更に 2 時間浸漬することで,最小寸法が 2µm ドットの SU8 凸パターンを含む全ての SU8 凸パター ンを剥離できた.また,10µm 以下の微細な SU8 凸パター ンにおいても,露出した W 基板と Ni-W 合金めっき膜と の段差により,SU8 凸パターンの剥離跡を鮮明に観察でき た.10µm 以下の微細な SU8 凸パターンを剥離する場合に おいても,SU8 凸パターンの膨潤を促進させ,SU8 凸パタ ーンのひずみを大きくする添加剤入り NMP が有効である と考えられる.



図1 剥離液に浸漬する前の SU8 凸パターン (MNC2016, 11P-11-4, Copyright 2016 The Japan Society of Applied Physics).



図 2 NMP に浸漬した SU8 凸パターン(1 時間浸漬, MNC2016, 11P-11-4, Copyright 2016 The Japan Society of Applied Physics).



図 3 添加剤入り NMP に浸漬した SU8 凸パターン(1 時間浸漬, MNC2016, 11P-11-4, Copyright 2016 The Japan Society of Applied Physics)



図4図3の拡大写真(1時間浸漬, 白線内 (MNC2016, 11P-11-4, Copyright 2016 The Japan Society of Applied).



図 5 添加剤入り NMP に更に 2 時間浸漬した SU8 凸パターン (MNC2016, 11P-11-4, Copyright 2016 The Japan Society of Applied Physics).

#### 4. まとめ

剥離が難しい SU8 に対して, LiCl と H<sub>2</sub>O を添加した NMP を用いた剥離方法を提案した.そして, 10µm 以下の 微細な SU8 凸パターンを剥離する場合, 適切な割合で LiCl と H<sub>2</sub>O を添加した NMP は, SU8 凸パターンの膨潤を促進 させ、SU8 凸パターンのひずみを大きくすることにより SU8 凸パターンの内部応力が大きくなり剥離が進行した と考えられる.加えて、密着性が高い微小な SU8 凸パタ ーンの剥離時では、添加剤入り NMP に長時間浸漬するこ とが有効であると考えられる.

#### 【参考文献】

1. L. Yi, W. Xiaodong, L. Chong, L. Zhifeng, C. Denan, Y. Dehui, Swelling of SU-8 structure in Ni mold fabrication by UV-LIGA technique, Microsystem Technologies, 11 1272 (2005).

2. M. Yasui, E. Kazawa, S. Kaneko, R. Takahashi, M. Kurouchi, T. Ozawa, and M. Arai, Effects of post exposure bake temperature and exposure time on SU-8 nanopattern obtained by electron beam lithography, J. Appl. Phys., 53 01AA22 (2016).

3. M. Yasui, S.Kaneko, M. Takahashi, H. Ito, M. Arai, Y. Hirabayashi, T.Ozawa, and R.Maeda, Property variation of Ni–W electroformed mold for micro-press molding, J. Appl. Phys., 52 11NJ05 (2013).

4. 中野一史,川野伸一,安井学,黒内正仁,小沢武,レジスト剥離液及びレジスト剥離方法,特開 2016-95388(2016).

5. F. Walther, P. Davydovskaya, S. Zürcher, M. Kaiser, H. Herberg, A. M. Gigler, and R. W. Stark, Stability of the

hydrophilic behavior of oxygen plasma activated SU-8, J. Micromech. Microeng., 17 524 (2007).

6. K. H. Rasmussen, S. S. Keller, F. Jensen, A. M. Jorgensen, and O. Hansen, SU-8 etching in inductively coupled oxygen plasma, Microelectron Eng, 112 35 (2013).

 初田秀彰,吉田慎哉,江刺正喜,田中秀治,MEMS 用 難除去高分子材料のオゾンエッチング,電気学会論文誌E, 131 122 (2011).

8. 柴田勝司,常圧溶解法によるプリント配線板リサイク ル技術,エレクトロニクス実装学会誌,11 408 (2008).

9. 安井学,中野一史,黒内正仁,川野伸一,金子智,添 加剤を加えた N-メチル-2-ピロリドンによる SU8 微細パタ ーンの剥離,日本機械学会論文集,84 18-00091 (2018).

10. F. Cui, W.-Y. Chen, X.-L. Zhao, X.-M. Jing, and X.-S. Wu, Metal foundation construction to consolidate electroplated structures for successful removal of SU-8 mould, Electronics Letters, 42 690 (2006).

11. 中井博,北田俊行,吉川紀,コンクリートを充てんした鋼製角形柱の鋼板要素の一設計法,土木学会論文集, 356 405 (1985).

12. 野上邦栄,平山博,清水茂,古田富保,鉛直局部荷重 を受ける鋼桁腹板の安定照査法に関する一提案,構造工 学論文集 A,5956 (2013).

【外部発表】口頭発表2件, 論文等発表1件

# 3D プリンターによる造形支援及び造形上の問題点について

佐々 知栄子, 斉藤 光弘, 阿部 顕一(情報・生産技術部 デザイン・設計グループ)

#### 1. はじめに

当所では、平成 29 年度より、インクジェット型 3D プ リンターによる造形支援を正式に開始し、試作支援や製品 開発、技術開発などを実施している。本稿では、3D プリ ンターの特性や造形上の各種問題点について実例を用い て紹介する。

当所保有の 3D プリンター(3D Systems 社 ProJet 5500X, KEYENCE 社 AGILISTA-3100) は、インクジェット方式 で、液体の材料を薄板状に紫外線で凝固させ、積層する装 置である。主な仕様や特徴については、文献 1) と 2) で 報告した。さらに、文献 2) では、3D プリンターの出力 方向による造形精度および強度を調査し報告した。

#### 2. 造形支援の利用と実績

造形支援は、依頼試験や受託研究で実施しており、短納 期、データ作成、素材や後加工の相談まで幅広い要求に対 応している。企業による主な利用方法として、プレゼンテ ーション用や最終製品の形状確認、機械部品の組み立ての 検討などの製品開発や試作など、様々な形で活用されてい る。その他、化粧品、電子部品の企業からの依頼では、最 終製品に近い素材での造形も行っている。また、当所の試 験装置で使用するための治具の造形にも活用した。

平成 29 年度の支援実績は、13 件、本年度(平成 30 年 度)前半の支援実績は、15 件となっている。

#### 3. 造形時間

3D プリンターを使用する際に、使用料は利用者にとっ て関心事である。使用料は造形時間に左右されるが、造形 時間は造形ステージへの配置方向や、造形ステージの利用 範囲によって異なる。

- 〇造形時間は、造形物の高さだけにほぼ比例する。 同じ形状でも、縦方向に造形するよりも、水平方向に 造形すれば、造形時間は短くなる(図 1)。ただし、 真円度など形状を高精度に造形したい箇所は水平に 配置することが望ましいため、特に円筒物は精度と造 形時間を勘案する必要がある。
- ○造形物の複雑さは、造形時間に影響しない。
  同じ外寸であれば、複雑な形状も、単純な形も造形時間に影響しない。
- ○造形面積の大きさは、造形時間にほぼ影響しない。 造形の高さが同じであれば、造形スキャン範囲内で、 少量でも多量でも造形時間にほぼ影響しないで造形 できる。造形物1つでも、高さに比例した造形時間

がかかる (図2)。

○造形スキャンの2列分で造形時間は、ほぼ2倍となる(図3)。造形スキャン2列目の範囲にはみ出すと 造形時間は、約2倍となる。



図1. 造形方向



図 2. 造形面積



図 3. 造形スキャン

#### 4. 料金の算出

依頼試験の料金は、「①前処理+②材料費+③3Dプリンタ 一造形時間+④後処理」の総計となる。造形物の数や素材、 大きさにより料金が異なる<sup>1)</sup>。

図4は、3D Systems 社 ProJet 5500Xの3Dプリンターで、 造形出力費用の例で、高50×幅50×厚み5mmの枡型の造 形物を配置した図になる。1個出力すると約48,000円とな るが、10個配置をした場合は、約74,000円となり、1個 あたりの単価は、48,000円から7,400円と安くなる。(※ 費用は、造形材料の価格により変動する場合がある。)



図4. 造形費用の例

#### 5. 造形上の問題点について

インクジェット型 3D プリンターの造形において、素材 やサポート材により、以下の固有の問題点がある。

### 5.1 精度について

#### (1) 反りや歪み

積層造形のため、造形物は積層方向で強度が低下する。 また、造形素材の強度が低いため、薄い板形状、さらに薄 くて角がある形状は、破損することが多い。

インクジェット方式による造形では、高温にした造形材 料と造形形状を維持するためのサポート材料が、同時に噴 射され、積層造形がなされている。サポート材を同時に積 層することで、歪みや反りを最小限に抑えているが、積層 造形する過程で、造形物内の温度差が原因となり、歪みや 反りの要因の一つとなっている。

図5は、横100mm×奥25mm、厚み5種(1, 2, 3, 4, 5mm)の造形物を横から撮影した図である。5mmの厚みでも歪みや反りが出ることがわかる。



図 5. 歪みや反り

#### (2) 収縮率について

造形方向や造形素材によって寸法誤差が生じる。組立て が必要な部品を出力する際は、水平、垂直方向の収縮率が 異なるため、組み立て時と同じ姿勢に揃えて配置して、造 形することが望ましい。

3D Systems 社 ProJet 5500X の 3D プリンターでは、硬度 が異なる 2 種類の材料を混合して造形できる。その 2 種類 の収縮率が異なるため、寸法精度が要求される場合、混合 での造形は、想定通りにならない可能性がある。

#### 5.2 薄肉円筒形形状の追認調査

造形の中で、薄肉円筒型の形状の造形後の処理で、破損

することが多く、今後の支援の指針とするために、追認調 査を実施した。

#### (1) 追認調査方法

ProJet 5500X で、素材 3 種 (ABS ライク 1 種、エラスト マーライク混合 150、300 の 2 種)、厚み 4 種、フィレット の R を変えた計 24 個の造形物(図 6)を造形し比較検討 した。ABS ライクとエラストマーライクの混合は、14 段 階あり、エラストマーライク 150 は、3 番目の混合番号と なり、エラストマーライク 300 は、6 番目の混合番号とな る。番号が高いほどエラストマーが混合率に占める割合が 高い。



図 6. 造形方向

#### (2) 追認調査結果

今回の調査では、0.25mm 厚の造形物は、全て破損した (図 7)。エラストマーライクを混合した造形物 150,300 は、図 7 のように、土台と筒型を繋ぐ部分が全て破断した。 ABS ライクの造形物は、一部、土台と筒型を繋ぐ部分や 筒型の部分に亀裂が入った。0.5mmの造形物は、エラスト マーライク 300 の造形物のみ破損し、エラストマーライク 150 と ABS ライクは、造形できた。しかし、0.5mm の破 損がなかった造形でも歪みがあり、造形における破損のリ スクは高い。したがって、強度が低くなるエラストマーラ イクの混合と厚み 0.5mm 以下の造形は、破損の大きな要 因となる。



図 7. エラストマーライク 300 0.25mm 厚フィレットなし

その原因は、造形素材の強度が低いこともあるが、極端 に薄い 0.25mm や 0.5mm 厚の造形の場合は、造形できたと してもサポート材除去の過程で、破損することが多い。恒 温層による除去では、サポート材が溶けていく際に破損す るケースや、超音波洗浄機による除去では水圧により破損 するケースもあった。壊れ方の特徴として、フィレットが ついている造形物は、フィレットが終わるところで裂ける 傾向がある(図8)。また、ABS ライクの0.25mm 厚での造 形物では、上部から亀裂が入っている箇所が多く見られた (図9)。一般的には、角にフィレットを付けることで強 度が上がることがわかっているが、本調査結果でも確認で きた。





図 8. エラストマーライク 150 0.25mm 厚フィレットあり

図 9. ABS ライク 0.25mm 厚 フィレットあり

#### 6. まとめ

平成 29 年度より造形支援を実施し、造形経験としての 知見は積み上げてきたものの、利用者の課題に対して、判 断が曖昧であった。本報告では、造形物の造形の時間や造 形物の精度や強度で問題となっている部分の例を示すこ とができた。今後も、実績を積み上げ、造形の問題点を少 しでも明確に表せるようにし、支援の向上に取り組んでい く。

#### 【参考文献】

- 佐々 知栄子,阿部 顕一;"産技総研の3Dプリンター 設備および支援紹介",平成29年度 神奈川県ものづく り技術交流会 予稿, 3AM-E04, (2017).
- 2) 阿部 顕一; "インクジェット 3D プリンター造形物の 造形精度と強度の報告",(地独)神奈川県立産業技術 総合研究所研究報告,23,pp.13-14,(2017).

# IoT におけるデータ取得手段と通信方式の選択について

水矢 亨,長尾 達明,奥田 誠(情報・生産技術部 システム技術グループ) 中島 岳彦(情報・生産技術部 試作加工グループ)

佐々 知栄子(情報・生産技術部 デザイン・設計グループ)

#### 1. はじめに

IoT (モノのインターネット) やインダストリー 4.0 (第 四次産業革命)では、サービスやものづくり等のライフサ イクル全体において、ICT (情報通信技術)活用による最 適化や高度化が期待されている<sup>(1)</sup>。当初はモノをネットワ ークに接続する部分や、データ収集の部分に興味が集中す る傾向があったが、最近は IoT 本来の目的であるデータ活 用に関心が移りつつある。AI (人工知能)に対する社会的 関心が大きくなる中、様々なデータを収集し、そのデータ に対して AI による分析や判断・制御を行うことへの期待 が高まっている<sup>(2)</sup>。

その一方で、IoTを導入するにはIP(インターネットプ ロトコル)通信ネットワークやサーバなどICT分野の知識 が必要であり、身近な環境でIoTを試してみることも必ず しも容易ではない。さらに、IoTに対応させたい機器やデ バイスのネットワーク対応状況に応じてIoTの実現手段 を選択する必要があることもIoTを始める際の課題とな っている。実際、通信用インターフェースの有無、利用可 能な通信手段等の条件は、機器やデバイスごとに異なって いることが多い。

そこで、IoT 導入において課題となりうる点を予め抽出 しておき、それらに対する検討手順を設けておくことが、 IoT 導入のハードルを下げることにつながると考えられる。 本研究では、機器やデバイスからのデータ取得手段や、IP 通信プロトコルの選択等における考え方と具体的な候補 について示し、実際のシステム構築での適用事例と合わせ て報告する。

#### 2. 機器やデバイスの IoT 対応

IoT では、データを"集め"、IP ネットワーク上での通 信によりデータを"運び"、必要に応じてデータを"使う" という3つの段階が基本的である。それらを実現する上で は、データの供給源となる"モノ"(機器やデバイス)、"モ ノ"をネットワークに接続するための通信インターフェー ス/ゲートウェイ(中継機器)、データ処理を行うための サーバが基本的な構成要素である。

IoT を導入/試す際、最初に必要となるのは、機器やデ バイスからのデータ取得手段について確認して、IP 通信ネ ットワークへの接続の方法を決めることである。機器やデ バイスからのデータ取得手段については、IP 通信的手段、 非 IP 通信的手段、非通信的手段の3 通りに分類すること ができる。なお、"取得手段なし"という場合は、基本的 に IoT への対応は不可であるため、ここでの検討対象とは しないこととする。先の3つのデータ取得手段に関して、 IoT 対応に必要な条件は、次のようになる。

[1] <u>IP 通信的手段</u>: IP 通信用のインターフェースがあ り、データ取得用の IP 通信方式 (プロトコル)が開示さ れていれば、その機器やデバイスは、IP 通信による IoT 対 応が可能である。

[2] <u>非 IP 通信的手段</u>:シリアル通信や USB などが、こ こでの非 IP 通信に該当する。非 IP 通信用のインターフェ ースがあり、データ取得用の通信プロトコルが開示されて いれば、その機器やデバイスからのデータ取得は可能であ る。ただし、 IoT 対応するためには、 IP 通信ネットワー クへのデータ送信するためのゲートウェイを別に確保す る必要がある。

[3] <u>非通信的手段</u>: データ通信以外の手段で電圧や光な どの信号を物理的に取得する。機器に設置された三色灯か ら光(或いは色)の信号を取得できる場合<sup>(3)</sup>が、その一例 である。このような場合に IoT へ対応をするには、取得可 能な物理信号に応じたセンサや、そのセンサデータを IP 通信ネットワークに送信するためのゲートウェイが必要 となる。

以上のように、機器やデバイスの IoT 対応にあたっては、

- 通信によるデータ取得
- 物理的信号の取得

○ ゲートウェイによる IP ネットワークへの中継 の3点について確認・検討することが重要であり、IoT 対 応に必要な条件をまとめると表1のようになる。

表 1. 機器やデバイスのデータ取得手段と IoT 対応の条件

データ取得手段	IoT 対応に必要な条件
IP 通信	・IP 通信インターフェース
	・通信プロトコルの開示
非 IP 通信	・非 IP 通信インターフェース
	・通信プロトコルの開示
	・(IP 通信との)ゲートウェイ
その他(非通信)	・信号を扱うセンサ
	・(IP 通信との)ゲートウェイ
# 3. ゲートウェイの選定

既存の機器やデバイスにおいて、IP 通信でのデータ取 得に対応しているものは必ずしも多くはない。そのため、 データを IP 通信ネットワークへ中継するゲートウェイが 必要となることも多く(表1の「非 IP 通信」と「非通信」 の場合が該当)、ゲートウェイの選定や用意が IoT 対応の 成否において重要となる場合も多い。

ゲートウェイについては、機器やデバイスからのデータ 受信、センサ等の信号からデータへの変換、および IP 通 信ネットワークへのデータ(中継)送信等の機能が必要と なる。そのたゲートウェイは、必要な通信機能をもつハー ドウェアとそれらを制御するためのソフトウェアから構 成されるのが一般的であり、既製品の選定だけでは不十分 で個別の案件に応じた開発が必要な場合もある。

ゲートウェイの選定においては、次のような事項を検討 する必要がある。

- IP 通信の機能・性能
- 対象の機器やデバイスとの接続性

○ 必要な(IP および非 IP)通信方式のサポート

これらのうち、機器やデバイスとの接続性については、 (デジタル IO やアナログ IO を含む) GPIO、シリアル通 信、I<sup>2</sup>C 通信、USB 等での接続のサポートが望まれる。ま た、できるだけ多くの通信方式をサポートすることも望ま れるため、内部の制御ソフトウェアを必要に応じて柔軟に 追加・書換え可能なものは有力な選択肢である。以上をふ まえると、イーサネットポートを持つボードコンピュータ は、ゲートウェイ用に利用可能である。IoT の分野で広く 使われている Linux ボードコンピュータ Raspberry Pi<sup>(4)</sup>も その1つである。また、産業系のシステムではイーサネッ ト対応の PLC も選択肢となる。

図1は、ゲートウェイとして Raspberry Pi を利用した例 である<sup>(5)</sup>。図1中のスカラロボット(水平多関節ロボット) は、USB 接続のみが可能であり、USB HID デバイスとし て USB 経由で制御できるが、イーサネットポートは備え ておらず、表1の非 IP 通信の場合に該当する。そのため、 ゲートウェイが必要であり、Raspberry Pi を用いている。 なお、本例のゲートウェイでは、IP 通信としてはソフトウ ェアを変更することで OPC UA<sup>(6)</sup>、MQTT<sup>(7)</sup>および HTTP などへの対応が可能である。また、必要に応じてプログラ ムを作成することで USB の他、GPIO や I<sup>2</sup>C 等への対応も 可能である。



図 1. スカラロボットと (ゲートウェイとしての)Raspberry Pi

# 4. IP ネットワーク上の通信方式の選択

先に述べたように、IoT では、IP ネットワーク上での通信によりデータを"運ぶ"ことが必要である。この部分では、利用する IP 通信のプロトコルを検討・選択する必要がある。

まず、利用する IP ネットワーク環境において通信プロ トコルに対する制約や要求事項があるかどうか確認する 必要がある。特に、ファイアウォールを介して、インター ネット等の外部ネットワークに接続している環境では注 意が必要である。ファイアウォールが介在していても、 Web で用いられる HTTP 通信は許可されていることが多 い。その場合は、HTTP 通信が有力な候補となる。また、 既存の制御機器等との通信が必要であれば、Modbus TCP/IP<sup>(8)</sup>の利用が有力である。

データの授受が 1:1 (1 対 1)、1:n (1 対多) 或いは n:m (多対多)のいずれか、という観点も重要である。1 対 1 のデータ授受については、サーバ/クライアント方式のプ ロトコルを用いればよいが、多対多の場合は MQTT のよ うな Pub/Sub 型のメッセージング通信が適している。

さらに、通信品質やセキュリティに対する要求がある場 合は、それに応じたプロトコルを検討する必要がある。例 えば、QoS (Quality of Service) に対する要求がある場合、 先にあげた MQTT では、QoS を確保するための仕組みと して、Subscriber への配信が最大1回のQoSO(届かない可 能性あり)、最低1回は配信されるQoS1(複数回届く可能 性あり)、正確に1回だけ配信されるQoS2の3段階のQoS を指定することができる<sup>(9)</sup>。一方、セキュリティに関して は、Industrie 4.0<sup>(10)</sup>で推奨規格とされているOPC UA<sup>(4)</sup>が有 力な選択肢となる。

一方、データの構造に応じた通信プロトコルを検討する ことも可能である。特に、階層構造をもつ構造化データを ネットワーク上で送受信する場合は、それに適した通信プ ロトコルを用いることが望ましい。OPC UA は、その一例 である。

表 2. IoT の IP 通信で用いるプロトコルの候補

IP 通信 プロトコル	利用が検討される主なケース
HTTP	・ファイアウォールあり
	・Web ブラウザでの閲覧
	・XML や JSON の送受信
	(Restful API の利用)
Modbus TCP/IP	・制御機器等との通信
MQTT	・軽量なメッセージ配信
	・多対多のデータ配信
	・QoS の確保 (Subscriber への配信回数)
OPC UA	・構造化データの送受信
	・Industrie 4.0 への対応
	(推奨規格の使用)
	・セキュリティ確保
	・コンパニオン仕様で決められた
	データ構造を使用する場合

OPC UA では、通信対象のデータ構造(アドレス空間)を 情報モデルにより定義することができるが、OPC Foundation が他の業界団体等と連携して定めたコンパニ オン仕様において定義された情報モデルを用いることも 可能である。

なお、ここで取り上げたプロトコルについて、その利用 が検討・想定されるケースをまとめると表2のようになる。

# 5. IoT システムの構築事例

ここでは、実際の IoT システムの構築事例について紹介 する。1 例目は、所内にある既存の試験設備を対象とした ものである。図2の家具耐久試験機は昭和49年製であり、 通信用インターフェースは備えていない。本試験機は、椅 子の試験機であり、図2右側にあるフレーム内部に据え付 けた椅子を4000回または5000回負荷をかけて揺らすとい う耐久試験を行うものである。

本試験機については、耐久試験の進行状況(負荷回数) を確認するには、図3左側にある制御盤のカウンタ値を見 る他なく、試験担当者には、離れた場所からでも進行状況 を確認(遠隔監視)できるようにしたいとの要望があった。 これが、本試験機を IoT 対応する動機であった。

既に述べたとおり、本試験機には通信用インターフェー スは備わっていない。一方で、制御盤(図3左側)内部に はアクセス可能で、各種電気信号を取得することは可能で ある。本事例では、カウンタへの入力となっている電気信 号を用いることとした。よって、本試験機は表1の「非通 信」に該当する。IP 通信ネットワークへの接続には、ゲー トウェイが必要となるが、先に紹介した Raspberry Pi を用 いることとした。IP 通信で用いるプロトコルについては、 遠隔監視の UI に Web ブラウザを用いるため、Raspberry Pi で対応可能な HTTP を用いることとした(表2参照)。

以上の検討を経て、Raspberry Pi に GPIO の入力機能や Restful API を使用した Web サーバ(HTTP サーバ)の実装を 行い、図 3 のように制御盤背面にゲートウェイ (Raspberry Pi) を付加した。なお、制御盤から取得した電気信号を Raspberry Pi の GPIO に入力可能な 3.3V の信号に変換する ためにリレーを用いている。図 4 は、本事例で作成した Web 画面であり、デザイン担当職員が作成した。なお画面



図 2. 家具耐久試験機



図 3. 制御盤背面へ付加したゲートウェイ (Raspberry Pi) (右図は追加部の拡大図)



図 4. 監視用画面

デザインの過程で、当初の要望(カウンタ値の確認)に加 え、試験機の状況も遠隔で確認したいとの要望があったた め、Raspberry Pi に USB カメラを接続し、撮影した映像を Web ブラウザで閲覧することも可能となっている。このよ うな追加の要望に応じることができたのは、Linux ボード コンピュータである Raspberry Pi をゲートウェイに用いて おり、ソフトウェアの追加や変更が可能だからである。

次の例は、産業用コントローラである PLC を含む IoT システム構築の事例である<sup>(11)</sup>。本事例のシステムは搬送シ ステムを模擬したものであり、図5に示すように、スカラ ロボット2機、ベルトコンベア2台、インデックステーブ ル1台からなっている。2機のスカラロボットは、図1で 紹介したものと同型であり表1の「非IP 通信」に該当す る。それ以外のコンベアとインデックステーブルは、IO 経由で制御するものとなっており、表1の「非通信」に該



図5. 搬送システム

当する。本事例は、産業用システムを模擬していることか ら、ゲートウェイには Raspberry Pi だけでなく PLC も用い ることとした。Raspberry Pi はスカラロボット 2 機と USB 接続されるゲートウェイとして、PLC はコンベア 2 台とイ ンデックステーブルにデジタル IO 接続されるゲートウェ イとなっている。本事例では、PLC との通信が必要だが、 その IP 通信には Modbus TCP/IP ではなく、OPC UA を用 いている。

これは、OPC UA を推奨規格としている Industrie 4.0<sup>(10)</sup> を意識し、OPC UA 通信用のライブラリが提供されている PLC を採用したことによるものである(表 2 参照)。この 場合は、利用する IP 通信ネットワーク環境において、通 信プロトコルに対する制約や要求事項があり、それに応じ て IP 通信プロトコルを選択している場合に相当する。

以上の2例では、機器やデバイスへのアクセスの形態と IP 通信プロトコルの選択について、表1と表2を用いて検 討した。これにより、機器やデバイスへのアクセスの類型 化や、IP 通信プロトコルの選択の手順が実際のシステム構 築に対して適用可能である。また、このような検討を行う ことで、IoT システムの構成を明確化しやすくなっている。

### 6. まとめ

本研究では、機器やデバイスからのデータ取得手段や、 IP 通信プロトコルの選択等における考え方と具体的な候 補を明らかにし、実際のシステム構築に対して適用可能で あることを示した。

今後は、本研究では対象としなかった IP 通信で送受信 するデータの構造等についても検討を行うことが必要で ある。その場合には、カメラで撮影した画像データや、 CPS(Cyber Physical Systems)や物理シミュレーションシス テムで用いられる 3D データなどサイズが大きくなりがち なデータの扱いが課題になると考えられる。

### 【参考文献】

- 1. 経済産業省,製造業の新たな展開と将来像,2015 年版 ものづくり白書,156-216(2015).
- 2. 第5期科学技術基本計画, (2016).
- 3. 経済産業省,価値創造に向けた Connected Industries の
- 推進, 2018 年版ものづくり白書, 129-183(2018).
- Raspberry Pi Foundation Website, https://www.raspberrypi.org/
- T. Mizuya, M. Okuda, T. Nagao, A Case Study of Data Acquisition from Field Devices using OPC UA and MQTT, Proc SICE Ann. Conf. 2017, 611-614, (2017).
- 6. OPC Foundation Website, https://opcfoundation.org/
- 7. MQTT.org Website, http://mqtt.org/
- 8. Modbus Organization, Modbus Application Protocol Specification V1.1b3, (2012),
- 9. OASIS, MQTT Version 3.1.1,

http://docs.oasis-open.org/mqtt/mqtt/v3.1.1/os/mqtt-v3.1 .1-os. html, (2014).

10. ZVEI, The Reference Architectural Model Industrie 4.0(RAMI 4.0) version 1.0, (2015).

11. 奥田, 水矢, 吉田, PLCopen OPC-UA Client FB を利用した機器制御に関する研究, 第 5 回計測自動制御学会制御部門マルチシンポジウム, Fr31-3, (2018).

# レーザ粉体肉盛材 SUS420J1 のエンドミル切削

知宏、薩田 寿隆(情報・生産技術部 試作加工グループ) 横田 正洋(機械・材料技術部 材料評価グループ) 横内

#### はじめに 1.

最近、積層造形 (AM) 技術が大きな注目を浴びており、 金属積層造形装置(金属 3D プリンタ)による部品の製造 や補修が実用化されてきている<sup>1)</sup>。金属 3D プリンタで用 いられる技術のうち、Laser Metal Deposition (LMD・レー ザ粉体肉盛)による積層造形では、大まかな形状を肉盛し た後、切削や研削などの機械加工により形状を仕上げる必 要がある。しかしながら、LMD により造形した素材は溶 製材とは製造法の異なる新しい材料であるため、切削しや すさ(被削性)が明らかではない。そこで本研究では、ボ ールエンドミルを用いた切削実験により、LMD で造形し た素材の被削性を明らかにすることを目的とした。

# 2. 実験方法

# 2.2 被削材

LMD で造形する素材(以下、肉盛材)の原料粉末とし て、SUS420J1 を用いた<sup>2)</sup>。粉末粒径は 45~125 μm である。 また、比較として SUS420J1 の溶製材(焼鈍材および焼入 れ材)を用意した。各材料の金属組織および平均硬さを図 1に示す。肉盛材では硬さの計測値の標準偏差が 20 HV で あった。溶製材の計測値の標準偏差(3 HV)に比べて大 きく、硬さ分布にややばらつきがあることが分かる。

#### 2.2 実験手順

実験の手順を以下に述べる。図 2(a)に示す通り、LMD 装置により、100 mm×50 mm×10 mm の鋼板(SS400)の 上に SUS420J1 粉末を用いて幅約 20mm、長さ約 70 mm、 高さ約5mmの肉盛造形を行った。その肉盛材を、図2(b) の通り15 mm×60 mm×4 mm のブロック状にエンドミル で加工した。溶製材についても同様の形状に加工した。

マシニングセンタのテーブルに 45°の傾斜面を持つ治具 を固定し、治具の傾斜面に被削材をボルトで固定した。被 削材を治具に固定した状態を図3に示す。45°傾けて固定 した被削材の表面をコーテッド超硬ボールエンドミル(直 径6mm、刃数2枚)で等高線加工した。切削方法および 切削条件を図4に示す。

切削後のエンドミルの刃先を走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察した。また、加工面および切りくずをマイクロ スコープにより観察した。

#### 結果および考察 3.

### 3.1 肉盛材と溶製材の比較

切削速度100 m/min で肉盛材および溶製材(焼鈍材、焼 入れ材)を240パス切削した後のエンドミル逃げ面のSEM



(b)溶製材(焼鈍材) (c)溶製材(焼入れ材) 図1 被削材の金属組織および硬さ









図3 被削材の固定方法

図4 切削方法および切削条件

像を図5に示す。肉盛材切削後のエンドミル逃げ面の摩耗 幅は、焼鈍材に比べて大きく、焼入れ材と同程度であった。 また肉盛材ではコーティングが一部剥離しており、刃先の 欠けがみられた。以上のことから、肉盛材の切削では溶製 材に比べてエンドミルが大きな衝撃を受けていたことが 分かる。このことは、肉盛材の硬さが高いことと硬さ分布 にばらつきがあることが影響したと考えられる。



(C) / ないので、(C) / ないの



(a)肉盛材





500µm

(b)溶製材(焼鈍材)(c)溶製材(焼入れ材)図6 切りくず形状



# 図7 240パス切削後の加工面の状態

切りくずを図6に、240パス切削後の加工面を図7に示 す。肉盛材と焼入れ材では切りくずは厚みが薄くカールし た形状であるのに対し、焼鈍材では厚みがあり、直線的な 形状であった。また加工面については、肉盛材と焼入れ材 で規則的な加工痕がみられるが、焼鈍材では所々に傷が生



(a)200m/min (b)400m/min 50μm 図 9 480 パス切削後の加工面の状態

じていた。これらのことから、肉盛材や焼入れ材よりも焼 鈍材のほうが切りくずの流出性が悪かったことが分かる。 これは材料の硬さに起因する結果であり、肉盛材は比較的 良好な加工面を得られることが分かった。

3.2 高周速加工の可能性

前節の実験の切削速度 100 m/min よりも高周速(高能率) での切削が可能かを調査するため、切削速度 200 および 400 m/min で肉盛材の切削実験を行った。本実験では前節 の実験で用いたエンドミルよりもより高硬度な材料の加 工に適したものを用いた。各切削速度で肉盛材を 480 パス 切削した後のエンドミル逃げ面の SEM 像を図 8 に、加工 面の観察像を図 9 に示す。切削速度 200 m/min では僅かに 刃先に欠けが生じたが、前節のエンドミル (図 5(a)) にみ られたコーティングの剥離はなかった。図 9(a)に示す加工 面も良好なことから、切削速度 200 m/min でも切削が可能 であることが分かった。一方、切削速度 400 m/min では刃 先が大きく欠けており、切削速度 200 m/min に比べて摩耗 幅も大きかった。また、加工面には周期的に傷がみられた。 これは損傷した工具による加工面への影響であり、切削速 度 400 m/min では良好な切削が難しいことが分かった。

# 4. おわりに

本研究では、LMDにより造形した素材の被削性を明ら かにすることを目的とした。ボールエンドミルによるドラ イ切削実験により SUS420J1 粉末を原料として造形した肉 盛材と溶製材を比較した。その結果、以下の結論を得た。 (1) 肉盛材は溶製材切削時よりも工具の損傷が大きかった。 一方、焼鈍材よりも良好な加工面を得られた。

(2) 高硬度材用のエンドミルを用いて切削速度 200 m/min でも良好な加工面を得られた。切削速度 400 m/min で は刃先の損傷が大きく加工面も不良であった。

# 【参考文献】

- 1. 京極秀樹, 精密工学会誌, 82, 7, 619-623 (2016).
- 2. 薩田寿隆ほか, 型技術, 33, 8, 84-85 (2018).

# Si上に金(Au)層を導入した鉄シリサイド半導体の気相成長法

秋山 賢輔,野島 咲子(化学技術部 新エネルギーグループ)

# 1. はじめに

現行の半導体材料技術は、デバイス機能を優先して展開 してきたためにエネルギー・資源を大量消費し、かつ環境 負荷型の技術体系となっている。例えば牧田ら<sup>1)</sup>が指摘す るように光・電子デバイスやエネルギー変換素子等におい て多用されている化合物半導体(InP, GaAs, InGaAs, CdTe, CuInSe<sub>2</sub>, Bi<sub>2</sub>Te<sub>3</sub>, InSnO等)を構成する元素は、地殻埋蔵量が 少なく資源寿命が極めて短いことが指摘されている. さら に半導体産業においても現在多用されている生体への毒性 が高いいわゆる生体為害性金属元素 (As, Pb, Hg, Ni, Se, Cd) の使用が厳しく規制されていくことが予測される<sup>2)</sup>.

このような中,ヒ素(As)など有毒元素を含まず安全で環境 負荷が少なく,地殻に豊富な元素(Si, Fe, Al, Ca, Mg など) から製造することができる,いわゆる「環境にやさしい半導 体=エコ機能性材料」の価値が再認識し始められている<sup>3)</sup>. 例えば,熱電素子材料として長い研究の歴史のあるシリサ イド半導体が,新たな機能材料として注目されている. この中でβ-FeSi<sub>2</sub>は,良質な薄膜成長技術が飛躍的に進展 した材料であり,光半導体としての基礎物性の理解と発光 ダイオード(LED)や受光素子,太陽電池への応用など広範 囲な研究がわが国を中心に進められている<sup>4)</sup>.一方,半導 体デバイスへの応用には欠陥密度が低減された高い結晶品 質を有するβ-FeSi<sub>2</sub>結晶の合成が求められている.

本報告では Si 基板上に Au 層を導入することにより Au-Si 共晶反応で基板 Si の一部が液相化してβ-FeSi2 結晶 の成長機構が変化し,そのフォトルミネッセンス発光(PL) 特性から欠陥密度が低減された結晶の合成が確認された ことを報告する.

# 2. 実験方法

Si(111)基板上に 0~60 nm の Au 層を 5x10<sup>-6</sup> Torr 以下の 真空中で蒸着法にて堆積させた後,有機金属気相成長法 (MOCVD 法)にてβ-FeSi2 成長の検討を行った.

MOCVD 法ではモノシラン(SiH4)と鉄カルボニル [Fe(CO)5]を原料に用いて成長温度,及び成長速度を650°C, 1.6nm/min において約 100nm の作製を行った.作製試料の 構成相及び結晶構造の評価には X 線回折評価(XRD)を行 い,さらに 10K での発行特性評価ではフォトルミネッセ ンス分光分析を行った.

# 3. 結果

図 1 に Si 基板上への Au コート層厚を変化させて MOCVD 法で作製た試料を XRD で構造評価した結果を示 す. Au 層を導入しない Si(111)基板上では,  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub>相から の回折ピークのみが観察されたものの(図 1(a)), Au 層を 導入した場合には,これらの回折ピークとは別に金属相の  $\alpha$ -FeSi<sub>2</sub>の 001, 003, 004 面に起因した回折ピークが観察さ れ(図 1(a)-1(d)),  $\alpha$ -FeSi<sub>2</sub>相と半導体相の $\beta$ -FeSi<sub>2</sub>相との混 合相形成が示唆された.この $\alpha$ -FeSi<sub>2</sub>相の回折ピークは, Au 層の厚さの増大化に伴って,減少する傾向が見られた. 状態図より 370℃以上にて Au コートした Si 基板上では, Au-Si 共晶反応により基板 Si の一部が液相化することが考 えられる.このことが,  $\alpha$ -FeSi<sub>2</sub>相形成に影響を及ぼして いると考えられる.

図1(e)にβ-FeSi<sub>2</sub>相 220 面の回折ピーク値から見積もった 220 面の間隔を堆積 Au 層厚でプロットした結果を示す. Au 層の厚さの増大化に伴い 220 面間隔は増加し, Au が β-FeSi<sub>2</sub>相中に混入することが示唆された.

電子顕微鏡(SEM)による表面観察から,Si(111)上に直接 成長した場合には、連続膜が形成されるのに対して、Au 層を導入した Si(111)基板上では数µmからなる板状ある



Fig. 1 XRD θ–2θ scan profiles for iron silicides deposited at 650°C on Si(111) substrates with (a) 0-nm, (b) 3-nm, (c) 30-nm and (d) 60-nm-thick Au layers.

(e) Lattice spacing of  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> 220 as a function of Au-layer thickness on Si(111).



Fig.2 PL spectra at 10K for the  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> grown at 650°C on Si (111) substrates (a) without and with (b) 3-nm-thick, (c) 12-nm-thick (d) 30-nm-thick Au layers. (e) Peak position as a function of excitation power for the films on Si (111) substrates without and with (b) 12-nm-thick-Au layers.

いはロッド上の島状結晶粒の形成が観察された.透過型電 子顕微鏡(TEM)による回折スポット像から個々の島状結 晶は単結晶であることが確認された.

図 2 に 650℃の成長温度で作製した試料の PL スペクト ルを示す. Si(111)基板上に直接成長した試料において,減 圧下の Ar 雰囲気にて 900℃で 30 分のポストアニール処理 を行った. このポストアニール処理後においてもβ-FeSi2 相が維持されることは X 線回折評価から確認された. 一 方, Au 層を導入した Si(111)基板上の作製試料にはポスト アニール処理を行わずに PL 評価を行った. 基板 Si 側から の励光照射にて,いずれの作製試料からも明瞭な PL スペ クトルが観測された. 励起光の Ar イオンレーザーのスポ ット径,及び強度は,それぞれ 0.5mm, 50mW であった. Au 層を導入した Si(111)基板上の試料からの PL 発光強度 は、Si(111)基板上に直接成長した試料よりも増大化し、 3nmのAu層を堆積させたSi(111)基板上の試料では約10 倍ものPL発行強度の増大化が観察された(図2(b)).

Au 層を導入することによって,Si 基板表面は Au-Si 共 晶反応により液相化し MOCVD 法での鉄シリサイド成長 機構に影響を及ぼすことが,X線回折による結晶構造評価, 及び電子顕微鏡観察から示唆されている.この成長機構の 変化が,β-FeSi2相の結晶性の向上に影響を及ぼしPL 発光 強度の増大化に繋がっていると推測する.これらPL スペ クトルの見かけのピーク値の励起レーザー強度依存性を 図 2(e)に示す.これらPL スペクトルがβ-FeSi2の価電子帯 一導電帯・バンド間遷移に起因する場合にはPL ピーク値 は励起レーザー強度によらず一定となることが報告され ており<sup>3</sup>,これらの結果から観察された PL 発光はβ-FeSi2 のバンド間遷移からの発光であることが示唆された.さら に,Au 層の導入によって発光ピークのシフトが確認され, β-FeSi2に混入した Auがバンド変調に影響を及ぼすことが 明らかとなった.

# 4. まとめ

Au 層を導入することにより,Si(111)基板上に MOCVD 成長させたβ-FeSi2相の成長が気相一液相一固相機構 (Vapor-Liquid-Solid 成長機構)へと変化することが,示唆 された.この成長機構の変化によって,結晶性が向上した β-FeSi2相の成長が PL 発光分析から明らかとなった.これ らの技術は,β-FeSi2の光電変換材料,及び光触媒材料へ の応用に繋がる.

#### 【参考文献】

- 1 牧田雄之助,田上尚男,材料科学, 37,1 (2000).
- 2 山本玲子, まてりあ, 43,639 (2004).
- 3 前田佳均, 寺井慶和, まてりあ, 44, 471 (2005).

【外部発表】口頭発表3件, 論文等発表 2件

# LC-MS/MS を用いた食品素材の非蛍光性糖化最終産物

# CML 生成抑制作用評価

瀬戸山 央、橋本 知子、廣川 隆彦 (化学技術部 バイオ技術グループ)

# 1. はじめに

近年、生体を構成するタンパク質や脂質の糖化が皮膚 老化、動脈硬化など様々な疾患の一因となることが明ら かにされつつある<sup>1)</sup>。この糖化を抑制するための1つの方 法として機能性食品の摂取がある。広く行われている機 能性食品の抗糖化性評価法には in vitro で蛍光性の糖化最 終産物(AGEs: Advanced Glycation End Products)の生成 抑制作用を評価する方法がある。一方、AGEs は様々な化 合物の総称であり非蛍光性の化合物も存在する<sup>2)</sup>。

本研究は、非蛍光性糖化最終産物の1つである CML(カ ルボキシメチルリジン) に着目した。CML はグルコース とリジンの反応産物の1 つとして構造決定された化合物 であり、糖とタンパク質が反応して生成するアマドリ化 合物がさらに酸化分解を受けて生成することが知られて いる<sup>3</sup>。生体中に形成される AGEs の中で比較的多く存在 し、皮膚に蓄積し皮膚老化に関与することが明らかにさ れている<sup>4</sup>。

一般に機能性食品の CML 生成抑制作用評価は ELISA 法を用いて行われている<sup>5</sup>。ELISA 法は抗原抗体反応を利 用した方法であり、高感度にタンパク質中の CML を分析 することが出来る。一方、分析には作業工程が多く時間 がかかることや、用いる抗体が高価であるなどのデメリ ットがある。本研究では ELISA 法に代わる方法として、 微量成分を高感度に分析することが可能である LC-MS/MS を用いた CML 分析方法について検討を行い、 分析方法の確立および食品素材の CML 生成抑制作用評価 方法の構築を目的として行った。

# 2. 実験及び結果

# (1)糖化タンパク質の調製

牛血清アルブミンおよびグルコースをそれぞれ終濃度 8 mg / ml および 0.2 M となるように PBS (pH7.0) に溶 解し、60℃、40 時間反応させることでウシ血清アルブミ ンを糖化させ、糖化タンパク質溶液(糖化牛血清アルブ ミン溶液)を調製した。

# (2)糖化タンパク質の酵素分解

CML は糖化タンパク質のリジン残基が糖化修飾される ことで生成するが、糖化タンパク質を直接 LC-MS/MS で 分析することはできない。そのため、プロテアーゼによ り遊離アミノ酸に分解する必要がある。調製した糖化タ ンパク質溶液に PronaseE (プロテアーゼ)を反応液中終 濃度 0.1 ~1.0 mg/ml となるように加え 37℃、24 時間酵 素分解処理し、分解の様子を SDS-PAGE により確認し最 適な PronaseE の濃度について検討を行った。SDS-PAGE には 12.5%均一ゲルを用い、泳動後のゲルはクマシーブリ リアントブルー (CBB) 染色にてタンパク質を検出した。 タンパク質分子量マーカーは EzStandard (AE-1440、ATTO 社製)を用いた。

SDS-PAGE の結果、PronaseE の濃度依存的に糖化牛血 清アルブミン (分子量 66.4kDa) が分解され、低分子領域 のバンドが濃くなる様子が観察された (図 1)。この結果 から、終濃度 1 mg / ml の PronaseE で 37℃、24 時間処理 することで糖化牛血清アルブミンを十分に分解できるこ とが分かった。



SDS-PAGE(12.5% Gel),CBB染色 図1 SDS-PAGE 後のゲル画像

### (3) LC-MS/MS による CML の解析

糖化タンパク質の酵素分解により遊離したCMLを測定 するため、LC-MS/MSを用いたCML分析条件の検討を行 った。表1に示す条件で標準CML溶液を分析した。その 結果、標準CMLの濃度が0.007~0.7ppmの濃度範囲で良 好な直線性を有する検量線を得ることができ(図2)、 LC-MS/MSを用いたCML分析条件を確立することができ た。

LC条件	
カラム	BEH Amide 100mm(Waters社製)
移動相	A:0.1%ギ酸水、B:アセトニトリル
流速	0.5ml/min
グラジエント条件	B.Conc:70%(0min)→50%(0.2min)→25%(3.0min) →25%(4.0min)→70%(5.0min)→70%(7.0min)
カラム温度	40°C
MS条件	
イオンモード	ESI Positive
MRMモード	205.2 > 84.32
コーン電圧	15V
コリジョン電圧	20V



図2 LC-MS/MS 分析による CML 標準溶液の検量線

確立した分析条件を用いて、実際に調製した糖化タン パク質溶液を酵素分解したものについて CML が検出、定 量できるかを試みた。

牛血清アルブミンおよびグルコースをそれぞれ終濃度 8 mg/ml および 0.2 M となるように PBS (pH7.0) に溶解 し、 $60^{\circ}$ 、40 時間反応させることでウシ血清アルブミン を糖化させ、糖化タンパク質溶液(糖化牛血清アルブミン を糖化させ、糖化タンパク質溶液(糖化牛血清アルブミ ン溶液)を調製した後、PronaseEを反応液中終濃度 0.02 ~ 1.0 mg/ml となるように加え 37°C、24 時間酵素分解処理 し、限外濾過により得た分子量 10K 未満の画分について 表 1 に示す条件で CML の分析を行った。その結果、 PronaseE の濃度依存的に CML 濃度が高まる傾向が確認で き、PronaseE 終濃度 1.0 mg/ml で十分酵素分解できるこ とがわかった(図 3)。



# (4) LC-MS/MS を用いた食品素材の CML 生成抑 制作用測定

牛血清アルブミンを用いた糖化タンパク質調製、酵素 分解、LC-MS/MS による CML 分析までの一連の方法を用 いて食品素材の CML 生成抑制作用評価を行った。

食品素材として市販されている野菜、果物およびハー ブを細断し、10 倍容の 70%メタノールで抽出後、遠心分 離を行い上清を回収、0.45μm フィルターでろ過したもの を試料溶液とした。

試料溶液、ウシ血清アルブミン(終濃度 8 mg / ml) お よびグルコース(終濃度 0.2 M)を PBS (pH7.0)に溶解 し、60℃、40時間糖化反応を行った。その後、PronaseE を反応溶液中 1.0 mg / ml となるように加えて 37℃、24 時 間酵素分解し、限外濾過により得た分子量 10K 未満の画 分について表1に示す条件でLC-MS/MSによるCMLの 分析を行った。試料溶液のかわりに70%メタノール溶液 を加え同様の操作を行ったものをコントロールとし、コ ントロールのCML生成量(A)および試料を添加した際 のCML生成量(B)より以下の式でCML生成抑制率(%) を算出した。

CML 生成抑制率(%) = {(A-B) / A} ×100

結果を図4に示す。いくつかの食品素材について 50% 近い CML 生成抑制率を示し、これらの食品素材に CML 生成抑制作用があることが明らかとなった。



# 3. 考察及び今後の展開

LC-MS/MSを用いたCML分析方法について検討を行い、 ウシ血清アルブミンおよびグルコースを用いて調製した 糖化タンパク質について、酵素分解することでCMLを遊 離させ、遊離したCMLのLC-MS/MS分析方法を確立す ることができた。また確立した方法を用いて、数種類の 食品素材を対象としたCML生成抑制作用評価を行った結 果、いくつかの食品素材にCML生成抑制作用があること が明らかとなった。

一方、今回の分析では各食品素材について 1 回の測定 しか行っていないため、今後測定回数や試料数を増やし 本研究で確立した評価方法の精度についての検討が必要 である。また、従来法である ELISA 法との相関について も今後の検討課題である。

# 【参考文献】

1. Palimeri, S. Palioura, E. Diamanti-Kandarakis, E., *Diabetes Metab Syndr Obes*, **8**, 415-426 (2015).

2. Thorpe, SR. Baynes, JW., Amino Acids, 25, 275-281 (2003).

3. Ahmed, MU. Thorpe, SR. Baynes, JW., *J Biol Chem*, **261** (11), 4889-94 (1986).

4. Masamitsu, I. Masayuki, Y. Keitaro, N. Yoshikazu, Y., *ANTI-AGING MEDICINE*, **8** (3), 23-29 (2011).

5. Wakako, K. Tomohiro, A. Seikoh, H. Ryoji, N., *J. Biochem*, **136**, 831-837 (2004).

【外部発表】口頭発表 1件

# 樹脂等の光劣化の評価方法に関する検討

竹内 茉莉子(化学技術部 環境安全グループ) 内田 剛史(化学技術部 新エネルギーグループ) 清水 芳忠(企画部 経営戦略課 経営戦略グループ) 齋藤 英純(川崎技術支援部 太陽電池評価グループ) 鈴木 操(川崎技術支援部 材料解析グループ)

# 1. はじめに

樹脂材料は、熱や光などの因子によって自動酸化反応が 引き起こされ、徐々に劣化が進行する。樹脂材料の劣化に よる寿命予測には、耐候性試験などの促進劣化試験が利用 されているが、高耐久性材料の評価期間は長期化する傾向 がある。このため、高精度かつ短時間に劣化評価できる方 法が望まれている。

化学発光測定法は、有機物の初期劣化段階に生成する過酸化物からの微弱発光を高感度に検出でき、短時間で樹脂の劣化を評価する手法として注目されている。これまでに、熱劣化させたポリプロピレン (PP) について、化学発光測定法による簡易劣化予測が可能であることを報告した<sup>1)</sup>。しかし光劣化については、光源や照射波長等の違いによる劣化速度など未解明な部分が多い。

本研究では、熱劣化試料の劣化予測に有効であった化学 発光測定法を用いて、光照射した試料の劣化について検討 した。

#### 2. 実験

## 2.1. 試料

三井化学㈱から提供された添加剤を含まない PP 粉末を 窒素雰囲気中で170 ℃に加熱して溶融させ、シート状に加工 したものを試料とした。試料の厚みは約0.2 mm厚であった。

光劣化試料の光源には、恒温槽一体型ソーラーシミュレ ータ(山下電装(株)製 YSS-150A、光源:Xe ランプ1灯式、 照射強度:AM1.5G)ならびに紫外線照射装置(アトー(株) 製ドナフィクス、光源:紫外線照射用ランプ 365 nm)を 使用した。照射温度は、ソーラーシミュレータでは、30、 60、80 ℃、紫外線照射装置では室温とした。

### 2.2. 評価方法

#### 2.2.1. 化学発光測定を用いた劣化度の評価

光照射による化学発光挙動を比較するため、東北電子産 業(株)製 CLA-FS4 を使用し、窒素流通下(150 mL/min)、 30 ℃から2 ℃/min で昇温測定を実施した。また、東北電子 産業(株)製 CLD-100FC を使用し、窒素流通下(150 mL/min) の30 ℃から150 ℃まで毎分約10 ℃で昇温し、その後50 分 間保持した。このときの発光強度曲線におけるピーク面 積を試料重量で換算した値から、見かけの過酸化物蓄積量 を定義した。なお、本研究で評価を行う化学発光の由来と なる過酸化物は、主にヒドロペルオキシドに代表される自 動酸化反応の中間生成物である。自動酸化反応の極めて初 期の段階では過酸化物の生成が主体のため蓄積量が増加 するが、反応の進行に伴い、分解が主体になり、蓄積量は 減少する。前報<sup>1)</sup>に従い、見かけの過酸化物蓄積量が増加傾 向にある範囲(最大蓄積量まで)を、劣化評価の対象とした。

# 2.2.2. DSC を用いた融解開始温度の測定

示差走査熱量計(DSC)はメトラー・トレド㈱製 DSC823e を使用した。試料から約2 mgを切り出し、窒素雰囲気で 密閉容器に封入した。窒素流通下(50 mL/min)で昇降温 (昇温速度10 ℃/minで30 ℃から250 ℃まで加熱後、装 置最高降温速度にて冷却)を繰り返し測定した。ここで、 2nd Run で2 つ現れる融解ピークのうち高温側のピークの 融解開始温度を未劣化品(熱処理あるいは光照射処理を 行っていない試料)と比較した。

#### 3. 結果および考察

# 3.1. 照射光源に関する検討

2種類の光源を用いて光劣化させた PP と 80 ℃で熱劣化 させた PP を昇温測定し、発光挙動を比較した。結果を図 1 に示す。ソーラーシミュレータで光劣化させた PP と熱劣 化させた PP の化学発光挙動は類似しており、発光開始温 度は約 80 ℃であった。化学発光挙動は、自動酸化反応に より生じた過酸化物の種類に影響を受ける。これより、ソ ーラーシミュレータで光劣化させた PP において生成する 過酸化物は、熱劣化により生成する過酸化物と類似すると 推察される。一方、紫外線照射装置で劣化させた試料では、 発光開始温度が約 50 ℃とソーラーシミュレータによる光 劣化試料や熱劣化試料より低く、プロファイルにショルダ ーが観測された。紫外線照射装置で劣化させた試料では発 光開始温度が異なる過酸化物が生成していることがわかっ た。光源によって PP の劣化反応機構が異なると考えられる。

各処理条件での見かけの過酸化物蓄積量と低分子化の 指標となる DSC による融解開始温度との相関について検 討した。結果を図2に示す。熱劣化ならびにソーラーシミ ュレータにより光劣化させた試料では処理時間とともに、 見かけの過酸化物蓄積量が増大し、融解開始温度が低下した。一方、紫外線照射装置により光劣化させた試料では処理時間とともに見かけの過酸化物蓄積量が増大したものの、融解開始温度は未劣化品とほぼ変わらない結果となった。 化学発光測定法によって、DSCの融解開始温度では検出できない試料の劣化を評価できることがわかった。

酸化反応は、樹脂内部への酸素の拡散が律速となる。紫 外線照射装置で光劣化させた場合は、紫外線の強いエネル ギーにより酸素を介在とした自動酸化反応が樹脂表面に おいて短時間で容易に進行する。このため、短い処理時間 で過酸化物蓄熱量が増大するものの、反応は表面に限られ るため、全体として低分子化は進行せず、融解開始温度に 低下がみられなかったものと推察される。一方、ソーラー シミュレータでは、試料に照射される紫外線の強度は紫外 線照射装置よりも低い。このため自動酸化反応の進行に時 間を要するものの、酸素は樹脂内部まで拡散するため、劣 化は内部まで進行する。このため過酸化物蓄熱量の増大に 伴う融解開始温度の低下が観測されたと推察される。

### 3.2. 光が熱劣化に及ぼす影響に関する検討

図 3 に 30、 60、 80 ℃のソーラーシミュレータを用い て劣化させた PP と 80 ℃熱劣化単独の PP との見かけの 過酸化物蓄積量を示す。

まず、80 ℃のソーラーシミュレータで劣化させた PP と 80 ℃熱劣化単独の PP について見かけの過酸化物蓄積 量の処理時間依存性を比較し、光照射が熱劣化に及ぼす影 響を検討した。80 ℃のソーラーシミュレータで劣化させ た試料は、80 ℃熱劣化処理のみの試料と比較して、短い 期間で見かけの過酸化物蓄積量のピークが最大となった。 光照射を併用することで熱劣化が促進されることがわかった。

次に、ソーラーシミュレータを用いて、温度 30、 60、 80 ℃で劣化させた試料の見かけの過酸化物蓄積量の時間 変化を確認した。処理温度の上昇につれて、見かけの過酸 化物蓄積量が最大に達する時間が短くなる傾向がみられ た。現在、これらの結果を用い、光照射下での PP の熱劣 化について、われわれが提案した熱劣化試料の劣化予測と 同様の方法により、劣化予測ができるかを検討している。

# 4. まとめ

ソーラーシミュレータ(キセノンランプ)ならびに 365nm の紫外ランプを用いて光照射した PP の劣化を化学 発光測定法により評価した。照射光源により化学発光挙動 に違いがみられた。また光照射により熱劣化が促進される ことがわかった。

化学発光測定法は、熱劣化だけでなく、光劣化の評価手 段として有用であることが確認できた。今後、劣化予測に ついても検討を進め、企業支援へ活用を図りたい。

## 【参考文献】

 清水芳忠,石見沙織,内田剛史,新井充,マテリアル ライフ学会誌,29[1], 6-11(2017).









図3 各試料の見かけの過酸化物蓄積量の時間変化 (矢印は最大値になる処理時間を示す.)

【外部発表】口頭発表1件

KISTEC研究報告(2018) 2018.10

# 化学反応速度論に基づくダイラタンシー性ポリイオンコン

# プレックス水溶液の過渡的ゲル化理論

津留崎 恭一,武田 理香(化学技術部 材料化学グループ)

# 1. はじめに

我々は、静置状態では低粘度の水溶液状態だが、振ると 過渡的に高粘度状態(ここでは簡便にゲル状態と称する) となるダイラタンシー性ポリイオンコンプレックス希薄 水溶液(DiPIC)について研究を続けてきた(図1)<sup>1.5</sup>。DiPIC の興味深いレオロジー特性を説明するために、図2に剪断 速度 g を高くしてから(往路)、低くする(復路)ループ 試験における粘度 $\eta$ のヒステリシス曲線を示す。

図2往路の最初では、一般的な高分子水溶液と同様にg の上昇に対してηが減少するシェアシニングを示す。この 状態をここでは単に溶液状態と呼ぶことにする。しかし、 あるg値に達すると急にηが高くなってゲル状態に転移す るダイラタンシー現象を示す。

溶液からゲル状態へ転移する最低のg値(図2を参照) を臨界剪断速度gcと定義する。但し、実験的にgcを求め ることは難しい。図3にg(>gc)一定下での、 $\eta$ の剪断流 動開始からの経過時間t変化を示す。ゲル化するまでに一 定の待ち時間 hの後に $\eta$ が上昇を始める。ここで、実験で 定める hは、 $\eta$ が 0.01 [Pas]となる時間とする。hは、g(>gc) が gc に近づくにつれて大きくなり(図4)、g=gc で発散す る。従って、g-gc では、非常に長い時間、粘度を測定し なければならない。

図2の復路においては、静置状態(g=0)になってもゲ ル状態を保持している。外観観察からゲル状態は静置して 一定時間経つと溶液状態に戻る様子が分かる。しかし、ゲ ル状態から溶液状態に戻る時間 α を粘度測定で求めるこ とは、原理的な困難がある。なぜなら、粘度は剪断流を与 えた時の応力を測定する必要がある為、これでは静置の条 件を満たせないからである。我々は粘度と光学観察を同時 に行うレオオプティクスシステムを構築し、画像解析によ って光散乱量が半減する時間(図5参照)からαを求めた が<sup>5</sup>、解析に非常に多くの手間と時間がかかってしまうこ とが問題であった。









DiPIC の実用化を目指す上で、gc と☆ は製品性能に直結 する重要な物理量である。そこで、溶液からゲル状態及び ゲル状態から溶液状態に戻る過程を記述する理論構築が 求められる。基礎となる理論があれば、ポリイオンの分子 構造から DiPIC のダイラタンシー性能が予測できる可能 性がある。

本論文では、化学反応速度論に基づく過渡的ゲル化理論を提案し、実験結果と理論を比較する。



図 6. ポリイオンの模式図. DiPIC は, 0.2wt%の PC 及び PA 水溶液を 1:4 の重量比で混合して作成する.

# 2. 試料調整

DiPIC には、カチオンモノマーである(3-アクリルアミド プロピル)トリメチルアンモニウムクロリド (APMA:分子 量 207)を重合したホモポリカチオン (PC)とアニオンモ ノマーであるアクリル酸 (分子量 72)とノニオンモノマ ーであるアクリルアミド (分子量 71)を混合して重合し たランダムポリアニオン (PA)を用いる (図 6)。PA 鎖の アニオン基率は、1.5%である。本研究では、ハイモ株式 会社で合成した PC と PA を提供していただいた。

DiPIC は、PC と PA をそれぞれ純水に 0.2 wt%溶かし、 両者の水溶液を 1:4 の割合で混合して作成する。作成した DiPIC は、30 日静置してから実験に用いた。

これまでの我々の研究により、PC と PA の分子量を変え るとgcおよび☆が様々に変化することが分かっているが、 ここででは PC と PA の分子量がそれぞれ 49 万と 260 万を 用いた DiPIC の結果について報告する。

# 3. 過渡的ゲル化理論

我々は、DiPIC が過渡的にゲル化するメカニズムについて、以下の通りに考えている。

静置した水溶液中では、PCとPAは数分子が会合した状態にある(図7の①)。但し、PAのアニオン基率は、1.5% と低いことから会合エネルギーは非常に小さく、剪断速度流を加えると容易に乖離する(図7の②)。

乖離した PC と PA は、流動配向によって徐々に小さな 初期構造を形成し始める。この時間が ft に対応する。この 小さな構造は、特定の数(閾値)を超えると成長して最終 的には巨視的なネットワーク構造(ゲル化)に至る(図 7 の③)。

一方、流動を停止すると PC と PA の結合点は熱揺らぎ によってたちまち分離し、ネットワーク構造から乖離状態 へと戻る。この戻り時間が cs となる。乖離状態は、さらに 細分化されて、ゆっくりと元の会合状態に戻っていく。



いま、ポリイオンは①会合状態、②乖離状態、③ネット ワーク状態のいずれかにあるとする。①、②、③にあるポ リイオンの個数をそれぞれ  $N_1$ 、 $N_2$ 、 $N_3$ とし、特に  $N_3$ は粘 度に比例すると考える。

ここで、ポリイオンの保存則から①、②、③の状態数の 合計は一定 ( $N_1+N_2+N_3=\text{const.}$ )とし、それぞれの状態間は 反応速度式に従って遷移すると仮定する。つまり、単位時 間に  $N_i$ が増える個数  $dN_i$ は、単位時間に j から i に移る遷 移確率  $P_{j,i}$ で決まるとする。さらに、中間の②を経ずに① から③、あるいは③から①に直接移らないとすれば、次の 連立微分方程式が成り立つ。

$$dN_{1} / dt = P_{21} - P_{12}$$
  

$$dN_{2} / dt = -P_{21} + P_{12} - P_{23} + P_{32}$$
  

$$dN_{3} / dt = P_{23} - P_{32}$$
  
(1)

ここで、**DiPIC**の実験から得られた知見を元にして、以下の(i)-(iii)によって遷移確率を設定する。

(i) ①から②に移る遷移確率 *P*<sub>12</sub>は*g*に比例する。

(ii) ②ら③へと移行するには  $N_2$  がある特定の値 $\hat{N}_2$ を越 えなければならない。つまり、 $N_2 < \hat{N}_2$ では  $P_{23}=0$ である。 一方、 $N_2 > \hat{N}_2$  では  $P_{23}$ は $N_2 - \hat{N}_2$  に比例する。ここで、  $\hat{N}_2$ はブルーゲル転移を記述するパーコレーション理論に おける閾値に対応する値だが、紙面の関係上、ここでは詳 しい説明はしない。hは、剪断流開始後に  $N_2$  が $\hat{N}_2$  に達す るまでの時間となる。

(iii) ③ネットワーク状態の一部は、熱揺らぎによって壊 されて乖離状態に戻る。

これらの仮定の下に P<sub>12</sub>, P<sub>23</sub>, P<sub>32</sub>, P<sub>21</sub>を以下の様に設定 する。

$$P_{12} = p_{12}N_1$$

$$P_{23} = p_{23} \left(N_2 - \hat{N}_2\right) H \left(N_2 - \hat{N}_2\right)$$

$$P_{32} = a p_{32}N_3$$

$$P_{21} = p_{21}N_2$$
(2)

ここで、*a* は、熱揺らぎの効果を示す。*H*(*x*)は Heaviside の階段関数とする。

$$H(x) = \begin{cases} 1 & (x>0) \\ 0 & (x \le 0) \end{cases}$$
(3)

*Ni*を体積分率¢(=*Ni*/(*N*<sub>1</sub>+ *N*<sub>2</sub>+ *N*<sub>3</sub>))に直して無次元化すると以下のようになる。

$$\frac{d\phi_1}{dt} = p_{21}\phi_2 - p_{12}\beta\phi_1$$

$$\frac{d\phi_2}{dt} = -p_{21}\phi_2 + p_{12}\beta\phi_1$$

$$-p_{23}H(\phi_2 - \hat{\phi}_2)(\phi_2 - \hat{\phi}_2) + ap_{32}\phi_3$$

$$\frac{d\phi_3}{dt} = p_{23}H(\phi_2 - \hat{\phi}_2)(\phi_2 - \hat{\phi}_2) - ap_{32}\phi_3$$
(4)

 $\beta$ は、 $g \in gc$ で規格化した値である ( $\beta = g/gc$ )。

(4)は、連立線形微分方程式なので初期条件が与えられ れば、解析的に解くことが出来る。ここでは、図4に対応 する「*I.ネットワーク形成初期段階*」と図5に対応する「*II. ネットワーク崩壊段階*」について、解析解を与える。

# I. ネットワーク形成初期段階

(初期条件: *ϕ*<sub>1</sub>=1, *ϕ*<sub>2</sub>=*ϕ*<sub>3</sub>=0)

静置状態から剪断流動を開始し、 $\phi$  が $\hat{\phi}$  に達する時間 h までを考える。t < h では $\phi$  は0であるので(4)は次のように 簡単にかける。

$$\frac{d\phi_{1}}{dt} = p_{21}\phi_{2} - p_{12}\beta\phi_{1}$$

$$\frac{d\phi_{2}}{dt} = -p_{21}\phi_{2} + p_{12}\beta\phi_{1}$$
(5)

(5)は行列対角化法によって簡単に解くことができ、 *φ* の 時間 *t* 依存性は

$$\phi_{1} = \frac{1}{(\chi + \beta)} \Big[ \chi + \beta \exp\left(-p_{12}(\chi + \beta)t\right) \Big]$$
(6)

で与えられる。ここで、 $\chi = p_{21} / p_{12}$ とした。

ηは、実験的には粘度上昇を始める時間だが、ここでは φ が φ となる時間と定義する。すると、ηは次の様に求め
られる。

$$t_{1} = -\frac{1}{p_{12}(\chi + \beta)} \ln \left[ 1 - \frac{\hat{\phi}_{2}(\chi + \beta)}{\beta} \right]$$
(7)

臨界剪断速度 gc は、hが発散する点である。臨界点直上 (g=gc) では、 $\beta = 1$  になるので次の関係が得られる。

$$\hat{\phi}_2 = (\chi + 1)^{-1} \tag{8}$$

(7)から $\hat{\phi}$ を消去すると、hは $\beta$ の関数として2つのパラメ ータ $p_{12}$ 、 $\chi$ で表すことができる。

$$t_{\rm I} = -\frac{1}{p_{12}(\chi + \beta)} \ln \left[ 1 - \frac{(\chi + \beta)}{\beta(\chi + 1)} \right] \tag{9}$$

▷n では③ネットワーク状態への遷移が始まることから、  $\eta$ が急激に上昇すると考えられる。 $\eta$ が $\phi$ に比例すると仮 定すれば、図4におけるnのg依存性の実験結果は(9)式 で表すことができる。

# II. ネットワーク崩壊段階

(初期条件: \$\phi = \phi = 0, \$\phi = 1)

剪断停止直後からネットワークが崩壊する過程を考える。剪断速度がないとβ=0であるため、(4)式は次の様になる。

$$\frac{d\phi_1}{dt} = p_{21}\phi_2$$

$$\frac{d\phi_2}{dt} = -p_{21}\phi_2 - p_{23}\phi_2 + ap_{32}\phi_3$$
(10)
$$\frac{d\phi_3}{dt} = p_{23}\phi_2 - ap_{32}\phi_3$$

(10)は、(5)と同様に行列対角化法で解くことが出来る。この計算過程はかなり煩雑であるため、ここではかについて結果のみを示す。

$$\phi_3(t) = C_2 \exp(-\lambda_2 t) + C_3 \exp(-\lambda_3 t) \tag{11}$$

*C*<sub>2</sub> と *C*<sub>3</sub>は初期条件によって決まる未定乗数で、*λ*<sub>2</sub> と*λ*<sub>3</sub>は 次式で与えられる。

$$\lambda_{2} = \kappa + \delta$$

$$\lambda_{3} = \kappa - \delta$$

$$\kappa = (p_{21} + p_{23} + ap_{32}) / 2$$

$$\delta = \sqrt{\kappa^{2} - ap_{21}p_{32}}$$
(12)

初期条件( $\phi = \phi_2 = 0$ ,  $\phi_2 = 1$ )の下で  $C_2 \ge C_3 を求めると、次$ 式が得られる。

$$C_{2} = \frac{(ap_{32} - \lambda_{3})}{(\lambda_{2} - \lambda_{3})}$$

$$C_{3} = (1 - C_{2}) = \frac{(\lambda_{2} - ap_{32})}{(\lambda_{2} - \lambda_{3})}$$
(13)

(11)より、 $\phi$ の時間変化は、2つの指数関数の和で表さ れることが分かる。 $\lambda_2 > \lambda_3$ であるので、 $\phi$ は緩和時間( $\lambda_3$ )<sup>-1</sup> で急激に減少し、その後、( $\lambda_2$ )<sup>-1</sup>でゆっくりと減少する。 この振る舞いは、光散乱の実験結果(図5)と一致する。

hと同様に  $\phi$  が ηに比例すると考えれば、光散乱の結果 (図 5)は(11)式で表すことが出来る。すると、 αは $λ_3$ の 逆数に対応することになる。

# 4. 考察

(9)-(13)式からわかる通り、4と☎の表式は、共通の変数 p21 が含まれることから、独立の変数ではない。従って、図4及び図5 が同時にフィッテングできるかどうかによって、ある程度の理論検証となる。

図4に(9)式、図5に(11)式を当てはめた理論式を実線 で示す。フィッテングに用いたパラメータ値は以下のとお りである。

$$\begin{split} g_c &= 99.99 \ [1/s], \ \chi = 32.6 \ [-], \\ p_{12} &= 3.72 \text{E-4} \ [1/s], \ p_{23} &= 0.639 \ [1/s], \\ ap_{32} &= 1.06 \ [1/s] \end{split} \tag{14}$$

図 4-5 より、過渡的ゲル化理論から導いた理論式は、実験結果を大まかに再現していることがわかる。但し、(14) のパラメータ値が最適値である保証はない。実際、異なる パラメータ値の組み合わせでも図 4-5 に近いフィッテン グ曲線を得ることができる。

フィッテングで得られた遷移確率のパラメータ群が実際のダイラタンシー特性を再現できるかを検証するには、 より詳細な解析をしなければならない。具体的には、数値 解析によって(4)式を t>t まで解き、 coの時間変化が図 3 の振る舞いを再現できるかなどを確かめる必要がある。

また、近年、田中らは、ゲル化の古典論を記述する Flory-Stockmayer 理論をランダムポリアニオンに使えるように拡張し、gcをポリイオン濃度や温度の関数として求めた<sup>6</sup>。ポリイオンの相互作用をミクロな立場から計算できれば、最適な遷移確率を求める際の大きな助けとなる。

### 5.今後の展開

過渡的ゲル化理論によって、ftおよび☆の実験結果を再 現することに成功した。このことから、本理論は、DiPIC が持つダイラタンシー特性を少なくても定性的には説明 すると考えられる。

今後の課題として、遷移確率を曖昧さなく定める手順を 確立することが挙げられる。これまでの我々の研究によっ て、geや☆がPCとPAの分子量によって大きく変化する ことが見出されている。過渡的ゲル化理論の遷移確率の分 子量依存性が明らかになれば、その結果として分子設計に よってダイラタンシー性能が制御できる可能性が広がる。

# 謝辞

本論文で用いた実験結果は、横浜国立大学大学院工学府 物理情報工学 白崎良演研究室の篠原大也氏と末松健氏 の卒業研究のデータを使いました。また、本研究は、科学 研究費 基盤研究 C(15K05258)の助成を受けて実施しま した。

# 【参考文献】

1. 武田理香ほか; 神奈川県産業技術センター研究報告, 17, 22, (2011).

2. 武田理香ほか; 神奈川県産業技術センター研究報告, 18, 14, (2012).

3. 武田理香ほか; *神奈川県産業技術センター研究報告*, 20, 11, (2014).

4. 津留崎恭一ほか; "せん断下粘度の変化パターンが可変 である水溶液組成物", 特願 2014-98233 (2014).

5. 津留崎恭一ほか; *神奈川県立産業技術総合研究所研究* 報告, **23**, 41 (2017).

6. F. Takana, R. Takeda, and K. Tsurusaki, *J. Phys. Soc. Jpn.*, **87**, 074801 (2018).

【外部発表】口頭発表 2 件, 論文等発表 2 件

# LC-MS/MS を用いた食品中に含まれる水溶性ビタミン類の

# 迅速一斉分析法の検討

橋本 知子、瀬戸山 央、廣川 隆彦(化学技術部 バイオ技術グループ)

# 1. はじめに

現在確立されている水溶性ビタミン類の分析は、微生物 定量法や HPLC 法などの方法がある<sup>1)</sup>。微生物定量法は感 度が高いが、培養時間が必要なため分析に長い時間を要し、 また試薬が高価である等の欠点がある。

HPLC 法は微生物定量法と比較して検出感度が劣って いたが、ポストカラム誘導体化法やイオンペア試薬を用い るなどの工夫で検出感度が高められ、ほとんどの水溶性ビ タミン類を HPLC 法で測定することが可能となった。しか し、これらの分析法は成分ごとに分析条件が異なるため、 複数成分を一斉に分析するには長い分析時間を要する<sup>2)</sup> など困難であった。

そこで、本研究では簡便さ、迅速性および正確さを兼ね 備えた分析方法を確立することを目的とし、LC-MS/MS を 用いた水溶性ビタミン類の一斉分析法の検討を行った。

### 実験及び結果

#### 2-1. 試料調製の検討

試料として、11 種類の水溶性ビタミンを用いた。リボ フラビン(B2)、ビオチン(B7)、葉酸(B9)については、それ ぞれ少量の1NNaOHに溶解させ、超純水で1mg/mLに 調製したものをストック溶液とした。アスコルビン酸(C) は、クエン酸緩衝液(pH3.2)を用いて1mg/mLに調製した ものをストック溶液とした。上記以外の7種類の水溶性ビ タミンについては、それぞれ超純水を用いて1mg/mLに 調製し、ストック溶液とした。

アスコルビン酸(C)、ニコチンアミド(B3)、ビオチン(B7) ストック溶液 2.5 mL、葉酸(B9)ストック溶液 1.25 mL、チ アミン(B1)、リボフラビン(B2)のストック溶液 各 0.25 mL、 シアノコバラミン(B12)、ニコチン酸(B3)、パントテン酸カ ルシウム(B5)、ピリドキサール(B6)、ピリドキシン(B6)の ストック溶液 各 0.025 mL を混合し、10 mM ギ酸アンモニ ウム 0.1% ギ酸水溶液で 25 mL に定容したところ、溶液は 懸濁した。試料溶液が酸性だと懸濁が起こることが判明し た。そのため、酸性条件で調製しているアスコルビン酸(C) を除いた 10 種類の水溶性ビタミンについて、ニコチンア ミド(B3)、パントテン酸カルシウム(B5)ストック溶液 2.5 mL、葉酸(B9)ストック溶液 1.25 mL、チアミン(B1)、リボ フラビン(B2)のストック溶液 各 0.25 mL、シアノコバラミ ン(B12)、ニコチン酸(B3)、ビオチン(B7)、ピリドキサール (B6)、ピリドキシン(B6)、のストック溶液 各 0.025 mL を 混合し、10 mM ギ酸アンモニウム水溶液で25 mL に定容

したところ、懸濁しなかった。しかし、シアノコバラミン (B12)はアルカリ下で不安定であることから、試料溶液を 中性に調製する必要がある。

この結果から、最終的な標準溶液調製方法として、パン トテン酸カルシウム(B5) ストック溶液 2.5 mL、葉酸(B9) ストック溶液 1.25 mL、ニコチンアミド(B3)、チアミン(B1)、 リボフラビン(B2)のストック溶液 各 0.25 mL、シアノコバ ラミン(B12)、ニコチン酸(B3)、ビオチン(B7)、ピリドキサ ール(B6)、ピリドキシン(B6)のストック溶液 各 0.025 mL を混合し、少量の 10 mM ギ酸アンモニウム水溶液を加え た後 0.1%ギ酸水溶液を 1 mL 加え、最後に 10 mM ギ酸ア ンモニウム水溶液を用いて 25 mL に定容、0.22µm フィル ターでろ過したものを混合標準溶液とした。これを 10 mM ギ酸アンモニウム水溶液で希釈して 4 種類の濃度の混合 標準溶液を調製し、これを検量線作成試料とした。

## 2-2. 装置及び測定条件の検討

LC-MS/MS は Waters 社製の ACQUITY UPLC H-Class Xevo TQD を使用した。

LC 部については、分析カラムは Waters 社製の AQUITY UPLC HSS T3、2.1×100 mm、粒子径 1.8 µm を用いた。移 動相については、A 液として 10 mM ギ酸アンモニウム 0.1%ギ酸水溶液を、B 液として 10 mM ギ酸アンモニウム 0.1%ギ酸メタノール溶液を用い、グラジエント条件は 0min(A 液: 99%)、3.01 min(A 液: 95%)、5.10 min(A 液: 80%)、 7.10 min(A 液: 2%)、9.10 min(A 液: 99%)とし、分析時間は

表 1 MRM 条件

	11. A. H. B.	<b>R# 1</b> 4	プレカーサー	プロダクト	コーン	コリジョン
	化合物名	略称	イオン	イオン	電圧	エネルキー
			(m/z)	(m/z)	(V)	(eV)
1	チアミン	B1	265.1	122.1	24	17
2	ニコチン酸	B3	123.9	80.0	40	20
3	ピリドキサール	B6	168.1	150.1	27	15
4	ピリドキシン	B6	170.1	152.1	28	14
5	ニコチンアミド	B3	123.0	80.0	40	20
6	パンテトン酸カルシウム	B5	220.1	90.1	30	15
7	シアノコバラミン	B12	678.3	147.1	45	40
8	葉酸	B9	442.2	295.1	23	17
9	ビオチン	B7	245.1	227.1	35	13
10	リボフラビン	B2	377.1	243.1	50	25

17.5 min とした。また、カラム温度は 40℃、流速は 0.45 mL/min、サンプル注入量は 5 µL とした。

MS 部については、エレクトロスプレーイオン化(ESI) 法によるポジティブイオンモードの多重反応モニタリン グ(MRM)にて測定を行った。キャピラリー電圧は、1.0 kV、 ソース温度は 120℃、脱溶媒ガス温度および流量は 500℃、 1000 L/hr、コーンガス流量は 50 L/hr に設定した。

化合物ごとの MRM の条件を検討し、その結果は表1に示した。

### 2 - 3 . LC-MS/MS を用いた一斉分析

図1に水溶性ビタミンの標準溶液のMRM 重ね書きクロ マトグラムを示した。

すべてのビタミンのピーク形状が良好であり、8 分以内 に溶出することが判明した。この条件で分析する場合、 1.0~1.5 分付近のチアミン(B1)とニコチン酸(B3)、2.5~3.0 分付近のピリドキシン(B6)とニコチンアミド(B3)、7.25 分 付近のシアノコバラミン(B12)と葉酸(B9)、7.5 分付近のビ オチン(B7)とリボフラビン(B2)のピークが近接して溶出さ れたが、MS 検出器を選択することで、近接して溶出して いる化合物についても検出可能であることが判明した。



図1. 水溶性ビタミンの重ね書きクロマトグラム

図 2 に同時溶出した 10 種類の水溶性ビタミン類の検量 線を示した。直線性の範囲はチアミン(B1)、ニコチンアミ ド(B3)が 0.05~0.5 mg/mL、ニコチン酸(B3)、ビオチン(B7)、 ピリドキサール(B6)、ピリドキシン(B6)が 0.005~0.1 mg/mL、パンテトン酸カルシウム(B5)は 0.5~5 mg/mL、シ アノコバラミン(B12)は 0.01~0.1 mg/mL、葉酸(B9)が、 0.25~2.5 mg/mL、リボフラビン(B2)が、0.05~1 mg/mL だっ た。決定係数はいずれの化合物についても 0.9997 以上と なった。

### 3. 考察及び今後の展開

11 種類の水溶性ビタミンの一斉分析について試みた。 試料溶液は、酸性側に傾くと懸濁することが判明した。ア スコルビン酸(C)は酸性下の溶液で安定することから、ア スコルビン酸(C)と、それ以外の水溶性ビタミン類は別々 に測定することが望ましいと考えられた。

今回確立した LC-MS/MS の条件により、10 種類の水溶 性ビタミンの一斉分析が可能であることが判明した。

今後、本手法を用いて、市販のサプリメントや飲料など を使って定量可能かどうか検討するとともに、効率よくす べてのビタミンが抽出できる抽出条件についても検討す



図 2. 水溶性ビタミンの検量線

る予定である。

# 【参考文献】

 1. 文部科学省科学技術・学術政策局政策課資源室, 日本食品標準成分表 2015 年版(七訂)分析マニュアル・解説, 108-142 (2016).

2. 森居京美, 大橋正多孝, 田中健, 北田善三, *日本食品化 学学会誌*, **11**, 19-25 (2004).

# ポリカーボネートの劣化に関する総合的解析(1)

村上小枝子(化学技術部 バイオ技術グループ)

田中聡美(化学技術部 環境安全グループ)

津留崎恭一、熊谷賢一、武田理香、羽田孔明、松尾涼子(化学技術部 材料化学グループ) 長沼康弘(機械・材料技術部 解析評価グループ)

1. はじめに

プラスチックは、軽量性、易加工性、低コストをはじめ とする優位性から、ますますその適用範囲が拡大している。 一方で光・熱・水などの環境因子によるプラスチックの劣 化はさけられない。

プラスチックの劣化に関する相談は当所においても数 多く寄せられている。劣化原因の究明においては、適切な 評価・診断手法を総合的に提案・実施し、原因究明につな がる情報を迅速に提供することが求められている。

本研究では、プラスチックの劣化について、種々の評価 法を組み合わせ、総合的に解析することを目的とした。対 象とするプラスチック材料としては、透明性、耐衝撃性、 耐熱性に優れ、エンジニアリングプラスチックとして広範 囲な分野で使用されるポリカーボネート(PC)を選択し た。促進耐候性試験により劣化させた PC について、力学 特性、光学特性、ならびに、化学構造を分析評価し、それ らの相関について検討した。

# 2. 実験

# 2.1 試料

PC は、三菱ガス化学(株)から提供された、ユービロン・フィルム FS-2000(厚さ100 µm)をそのまま用いた。 引張試験には JIS K 6251 引張 2 号形ダンベル試験片、それ以外の測定には幅 70 mm、長さ150 mm の短冊試験片を 作成し、使用した。

# 2.2 促進耐候性試験

試験には、低温サイクルキセノン・サンシャインロング ライフウェザーメーターWEL-75XS-LHP-BEC(スガ試験 機(株)製)を使用した。試験条件は、JIS K 7350-2-1995 に準拠し、放射照度 60±3 W/m<sup>2</sup>(波長 300~400nm)、ブ ラックパネル温度 63℃、1 サイクル 60 分間の照射時間中 に 12 分間の水噴射を行った。暴露時間は、100、200、400、 800 時間とした。

### 2.3 促進耐候性試験を行った試料の評価

力学特性については、ダンベル試験片を用いて、5565 型材料試験機(インストロンリミテッド製)により引張試 験を行った。また、短冊試験片は分割し、以下の測定に供 した。光学特性については、紫外可視分光光度計 UV-3100PC((株)島津製作所製)により200~800 nmの 吸収スペクトルを測定した。化学構造については、フーリ エ変換赤外分光光度計 FTIR-4100(日本分光(株)製)に より表面数 $\mu$ mの情報が得られる ATR 法を用いてスペク トルを測定することで評価した。また、走査型 X 光電子 分光分析装置(XPS) PHI5000 VersaProbe II(アルバック・ ファイ(株)製)により炭素の 1s 軌道の結合エネルギー を測定し、表面数 nm の化学構造についても評価した。

#### 3. 結果と考察

図1に引張試験による暴露時間に伴う破断伸びの変化 を示す。破断伸びは100~200hに大きく減少し、400hで ほぼ0となった。主鎖の切断などで分子量が減少し、100 ~200hに急激に脆化が進んだと推察される。

図2に紫外可視吸収スペクトルの変化を示す。暴露時間 に伴う300~400 nm の吸光度上昇から、試料の黄変が認め られた。PCは、紫外線照射により図3に示す光フリース 転位と呼ばれる転位反応を起こし、このとき生成するフェ ニルサリチレートは320 nm に、ジヒドロキシベンゾフェ ノンは355 nm にそれぞれ吸収ピークを有することが報告 されている<sup>1)</sup>。図2で観測された300~400 nm の吸光度上 昇はこれら転位生成物の増加に由来すると推察される。





図 3. 予測されるポリカーボネートの光・熱・酸化劣化反応<sup>1)</sup>



図4に、暴露時間に伴う赤外吸収スペクトルの変化を示 す。赤外吸収スペクトルは、200hまでほとんど変化がな かった。その後、400hで3500 cm<sup>-1</sup>付近にバンドの生成と 1765 cm<sup>-1</sup>のバンド幅の低波数側への広がりが僅かに観測 され、800hでそれらが顕著になった。ここで、3500 cm<sup>-1</sup> は水酸基の吸収に帰属される。一方 1765 cm<sup>-1</sup>は PC の短 酸エステル基(O-CO-O)の吸収に帰属され、その低波数 側へのバンド幅の広がりは、図3に示すフェニルサリチレ ートの生成に伴うエステル基(COOR;吸収ピーク 1730 cm<sup>-1</sup>近傍)、やジヒロドキシベンゾフェノンの生成に伴う ケトン基(C=O;吸収ピーク 1620 cm<sup>-1</sup>近傍)の増加に由 来すると推察される。

図 5 に XPS C1s スペクトルの変化を示す。XPS C1s スペクトルについては暴露時間 400 h までほとんど変化が なく、800 h で炭酸エステル基(291 eV)のバンド強度の 減少と、C=O(288 eV)、COO(289.3 eV)のバンドの生成 が観測された。

赤外吸収と XPS スペクトルから、紫外線暴露後の PC に は、水酸基やエステル、ケトンの生成が認められ、図 3 に 示す、炭酸エステル結合の切断や、光フリース転位反応に よる、化学構造の変化が進んでいることが推察された。



#### 各評価法で観測された劣化現象と 劣化を確認できた暴露時間

今回検討した 4 つの評価法により観測された劣化現象 と劣化を観測できた暴露時間をまとめたものを表1に示 す。評価法によって、劣化進行を検出可能な暴露時間が異 なっており、劣化進行の各ステージにおいて適した評価手 法の選択が重要であることが示唆された。

# 4. まとめと今後の展開

プラスチックの劣化の総合的な解析を目的として、PC を対象として、各種分析、評価を行った。水噴霧下で促進 耐候性試験を行った PC では、黄変と力学強度の低下が確 認され、赤外吸収および XPS スペクトルから、主鎖の切 断や転位反応による化学構造変化の進行が推察された。

今後は、水噴霧を行わない促進耐候性試験を行い、光劣 化に対する水(加水分解)の影響について、今回の結果と 比較、検討する予定である。

本研究結果については、データベース化などにより、技 術支援への活用を図っていきたいと考えている。

# 【参考文献】

1. A. Rivaton, Polym. Degrad. Stab., 49, 163 (1995).

# 「有機系太陽電池評価」プロジェクト

プロジェクトリーダー 馬飼野 信一

### 【基本構想】

有機系太陽電池は、各種太陽電池の中で最も普及している結晶シリコン太陽電池と比較して、材料コス トならびに製造コストが低く抑えられる可能性があり、また、軽量で薄く、さらには室内光のような低照 度環境下では結晶シリコン太陽電池よりもエネルギー変換効率が高いという特徴がある。中でも、神奈川 発の有機系太陽電池として世界中から注目されているペロブスカイト太陽電池は、真夏の炎天下のような 高照度環境下においても結晶シリコン太陽電池に匹敵するエネルギー変換効率が期待され、実用化に向け た研究開発が精力的に進められている。

このような研究開発を円滑に進め、できるだけ早く実用化するためには、開発した太陽電池の性能を正 しく評価する必要があるが、有機系太陽電池の中には色素増感太陽電池やペロブスカイト太陽電池のよう に、光強度や電圧の変化に対する電流応答がシリコン太陽電池と比較して著しく遅く、さらには光照射中 に電流一電圧特性が変化してしまうものもあり、これまでシリコン太陽電池に適用されていた性能評価法 がそのまま適用できないという問題がある。

本プロジェクトでは、優れた特徴を有する有機系太陽電池の研究開発および実用化を促進するために、 信頼性の高い新しい性能評価法を確立することを目的とし、平成21年度から継続的に様々な国家プロジェ クトならびに県補助金事業等に取り組んできた。

# 1. 平成 29 年度の研究目的

プロジェクト9年目となる平成29年度は、以下の各項 目を重点項目として検討した。

(1) ペロブスカイト型太陽電池の性能評価技術の開発

H27 年度に開始した NEDO 委託研究「高性能・高信頼 性太陽光発電の発電コスト低減技術開発/革新的新構造太 陽電池の研究開発/ペロブスカイト系革新的低製造コスト 太陽電池の研究開発(基盤材料技術と性能評価技術の開 発)」のうち早稲田大学から再委託された「信頼性の高い 性能評価手法の確立」を引き続き実施した。

H29 年度は、大学および企業から提供された2種類のメ ソポーラス型未封止のペロブスカイト太陽電池(PSC)、 および別の企業から提供されたメソポーラス型封止済み の PSC について光電変換効率(PCE)の経時変化ならびに 測定結果の再現性について検討した。

(2) 低照度屋内光源下における太陽電池の性能評価技術の開発

NEDO 太陽光発電多用途化実証プロジェクト「E-SEG (緊急時自発光誘導デバイス)の開発」(H26-28 年度)に おいて開発した太陽電池評価用低照度 LED 光源を用い、 低照度屋内光源下における信頼性の高い性能評価技術の 開発を行った。

(3) 川崎技術支援部における有機系太陽電池評価グルー プとしての依頼試験など通常業務

これまでに国家プロジェクト等で導入または開発した 設備・機器、ならびに新しく開発した計測技術やノウハウ を積極的に活用し、各種太陽電池の性能評価、太陽電池周 辺部材や製品の耐光性評価等を依頼試験として実施した。 (4) 有機系太陽電池評価法の国際標準化 H28 年度に引き続き、IEC/TC82/WG2(国際電気標準会 議/太陽光発電技術委員会/非集電モジュールワーキング グループ)において、有機系太陽電池技術研究組合(RATO) の組合員として DSC, OPV, PSC の評価法にかかわる TR (技術報告)を発行するための協議を行った。

これとは別に、平成29年11月10日、経済産業省「平 成30年度国際標準開発・JIS事業(国際電気標準分野)」 において公募された標準化テーマ調査にRATOより「ペロ ブスカイト太陽電池の発電性能評価法に関する国際標準 化」を提案した。

### 平成 29 年度の研究成果

以下に平成29年度の具体的な研究成果を挙げる。

(1) ペロブスカイト型太陽電池の性能評価技術の開発

H28 年度に開発した真空置換型試料搬送容器を用いて メソポーラス型未封止 PSC をセル製作機関から KISTEC に移送し、環境制御試験槽中において乾燥窒素雰囲気で PCE を測定した。ソーラーシミュレータにより1 kW/m<sup>2</sup> の疑似太陽光を照射しながらI-V曲線を連続5回測定する という操作を H29 年 3 月 3 日から 6 月 22 日まで繰り返し たときの PCE の経時変化を図1に示す。なお、図1には 大学から提供されたセルの測定結果を示したが、企業から 提供されたセルも同様の挙動を示した。

初期の PCE は 17.8%で、セル製作機関における測定結 果に近い値を示し、また、試料を約4時間の移動後に環境 制御試験槽へ導入した際に酸素濃度および水分濃度の上 昇が見られなかったため、真空置換型試料搬送容器が有効 であることを確認することができた。

51



図 2 メソポーラス型未封止 PSC について求めた I-V 曲線のヒス テリシス(最大出力で表示)と電圧掃引速度の関係

この試料の PCE は1回目の測定結果が高く、その後下 降していき、翌日は1回目からほぼ同じような挙動を見せ る傾向が確認できた。このような結果は、PCE は連続測定 中には低下するものの、暗所保存により回復するという可 逆的な変化が起きていることを示している。

しかし、この可逆的変化は2箇月ほどで終了し、PCE は 低い値から高い値へ変化するという挙動を示すようにな る。現時点では、この挙動の変化が劣化に対応しているも のと推定している。劣化の原因としては特定成分の揮発や UV 光照射による化学構造の変化等が考えられ、この挙動 変化前後における PSC の変化を機器分析、とくに FE-SEM による画像観察などを応用して解析していきたいと考え ている。

太陽電池の PCE は I-V 曲線から求めるのが一般的であ るが、PSCの多くに、短絡電圧(0V)から開放電圧に向 かって電圧を順次変化させて電流を測定した場合(順掃 引)と、その逆向きに電圧を変化させて電流を測定した場 合(逆掃引)とで、得られる I-V 曲線が異なるという問題 点がある。これをヒステリシスと呼ぶが、上記の PSC で は、図2に示すように、電圧掃引速度を低下させることに よってヒステリシスを低減させるができた。

一方、今回提供されたメソポーラス封止済み PSC のヒ ステリシスは電圧掃引速度を低下させても低減させるこ とができなかった。

Ipm at I-V curve (Isc - Voc): 順掃引で求めた最大出力動作電流 Ipm at I-V curve (Voc - Isc): 逆掃引で求めた最大出力動作電流



そこで、定電圧法ならびに MPPT (最大電力点追随制御) 法により最大出力動作電圧近傍における電流を求めてみ た。最大出力動作電圧付近に電圧を保持して測定した電流 値を図3に示したが、得られた結果は逆掃引で求めた最大 出力動作電流に近い値となり、その値は I-V 測定結果と同 様に時間とともに低下していく傾向を示した。また、この 結果を基に定常状態と判断できるまでの時間を求めたと ころ、30 min 程度の光照射をすれば1分間の変化率が0.5% 以下になることが明らかとなった。

図4にMPPT法で求めた最大出力動作電圧における電流 値を I-V 曲線から求めた電流値と合わせて示したが、 MPPT 法で求めた電流値も電圧掃引方向の影響を受けて おり、MPPT 法のアルゴリズムについても検討する必要が あることを示唆する結果となった。

(2) 低照度屋内光源下における太陽電池の性能評価技術の開発

以前に作製した低照度 LED 光源に改良を加え、1800 mm の範囲で光源高さを無段階調整できる機構(図5)および 試料台を前後にスライドする機構を追加した。上下無段階 機構は任意の照度を得るための機構で、試料台のスライド 機構は照度計と試料の位置再現性を確保するための機構 である。これらの改良により、低照度光照射の自由度と再 現性が大幅に向上した。なお、この機器は実用新案出願済 みである。

また、低照度環境下で基準となる照度計の機種による照 度測定値の差について検討した結果、図6に示すように、 10%程度の差が存在することを確認した。このような結果 を受け、所有している全ての照度計に校正を実施した。今 後は照度計メーカーと連携し、照度計における測定誤差発 生原因について詳細に検討する予定である。

(3) 川崎技術支援部における有機系太陽電池評価グルー プとしての依頼試験など通常業務

H26年度から開始した受託分析実績の推移を図7に示す。 実績を年度別に比較すると、3年目のH28年度から増え始 め、H29年度はH28年度実績の600万円から80%増えて 1080万円となり、受託分析実績の大幅な増大が達成され た。

この受託分析実績の大幅な増大には特定の企業からの 大型受託分析が影響しており、H30年度以降も同様な実績 が挙げられるかどうかは不明であるが、NEDOプロジェク ト等における研究開発の遂行過程で蓄積してきた技術・ノ ウハウの活用が受託分析の増大につながっているものと 考えられる。

例えば、FIRST-PG で色素増感太陽電池の長所を生かす ために作製した角度可変試料台と E-SEG PJ で作製した 低照度 LED 光源を組み合わせた評価の利用が増大してい る。これらは本 PJ でアイディアを生み出し、メーカーに 特注して製作した一品物であるため、他試験機関では対 応できない。

このように KISTEC の特徴と言える部分を強調した広 報戦略を展開し、国際評価技術センターとしての体制を整 えていきたいと考えている。

#### (4) 有機系太陽電池評価法の国際標準化

IEC/TC82/WG2 において、DSC, OPV, PSC の評価法 にかかわる TR を発行するために、Web ミーティングを中 心に、H28 年 6 月 21 日から H30 年 1 月 25 日までに、全 体会議を 6 回、タスクグループ会議を 4 回開催し、現在、 最終的な調整に入っており、H30 年度中に WG2 メンバー への最終回覧、投票、TR の発行へと進む予定である。

これとは別に、経済産業省「平成30年度国際標準開発・ JIS事業(国際電気標準分野)」において公募された標準化 テーマ調査にRATOより提案した「ペロブスカイト太陽電 池の発電性能評価法に関する国際標準化」がH30年1月 30日付で採択された。その後、3月19日に実施事業者の 公募が開始され、RATO は提案書を提出した。この提案書 が採択されれば事業が開始され、KISTEC は RATO からの 外注として測定法の検証を実施する予定である。



図 5 低照度 LED 光源に追加した光源高さを無段階に調整できる 機構



53

# 有機系太陽電池の性能評価と光関連受託分析

# 1. ペロブスカイト太陽電池の性能評価

KISTEC(平成28年度まではKAST)は東大先端研・瀬 川教授を中心とする「ペロブスカイト系革新的低製造コス ト太陽電池の研究開発 PJ」に参画し、性能評価を担当し ている。H29年度はPJに参画している企業から封止済み セルの提供を受けることができた。

このセルは光電変換効率性能こそ若干低めだが耐久性 重視のため安定性が非常に高いもので、これまで課題とな っていた温度特性や I-V 測定以外の手法についての検討 を行うことが可能となった。

図1は基本となる連続 I-V 測定の結果である。測定開始 当初は一日あたり5回測定、13日目からは50回連続の測 定(約3時間)を行った。50回の測定には約3時間を要 し、その後約21時間暗所保管して翌日同様の測定という 繰り返しで45日間測定した結果である。

測定開始当初の結果に乱れが認められるが、これは温度 特性評価の実験などを合わせ、一日あたりの測定数が多か ったためと考えられる。温度特性評価が終わった頃からは 安定し、非常に再現性の高いデータとなっている。

これまで測定してきた未封止セルと同様に 1 回目の数 値が高く、その後徐々に低下している様子が確認できるた め、この傾向は PSC の特徴であると推察される。

次に温度特性の結果を図2に示す。光照射履歴の影響を 確認するため、実験は全て温度上昇・下降(下降・上昇の 場合もあり)を1サイクルとして実施した。数日間にわた り同様の実験を繰り返したことにより温度に対する傾向 は掴めたが、特に短絡電流 Isc のばらつきが大きいことも 明らかとなった。このばらつきは光照射履歴に起因してい ものと推察される。もし、一日1回だけの測定であれば、 電流値の変動はもっと小さくなるものと予想される。今年 度は提供されたセルが2個と少なかったが、今後もっと多 くのセルを提供してもらえることになっている。数多くの セルを使用して光照射履歴に関して検討を進めていく予 定である。

短絡電流 Isc、開放電圧 Voc はともに温度が上昇するに つれて値が低下しているが、特に Voc は直線的な低下を示 している。

ここで興味深い結果を示しているのは変換効率PCEで、 順掃引側は上昇、逆掃引は低下、つまり温度上昇とともに ヒステリシスが解消していく傾向が確認できた。この結果 に関しても今後検討を続けていく予定である。

安定した PSC が入手できたので、以前から課題となっている『I-V 測定以外の手法』についても検討を行った。

# 斎藤 英純, 青木 大輔

色素増感太陽電池などヒステリシスが大きい PV については I-V 測定だけでなく、電圧を固定した際の電流変動に関する検討が行われている。

まず初めに図3に示した装置を用いてクロノアンペロ メトリー(電圧固定法とも呼ばれる)法により、最大出力 発生点付近に電圧を固定し、電流値が順掃引・逆掃引どち らの結果に近づくかを確認した。

結果は図4に示すとおり、電流値は逆掃引の結果に近い ものとなった。なお、760mVというのは I-V 測定の往復 掃引によって得られた最大出力点の平均値である。

この測定は日を改めて再度行ったが、結果は同じく逆掃 引に近いものであった。しかし、完全に一致したわけでは なく、ここでも光照射履歴が影響を与えている可能性を確 認した。

続いて MPPT (Maximum Power Point Tracking) 法による 測定結果を図 5 に示す。MPPT 法とは、出力が常に最大に なるよう、電圧を小刻みに変動させていく方法である。既 に実用化されている手法で、電力用モジュールには組み込 まれていているものである。

MPPT 法においてもクロノアンペロメトリー法同様に 逆掃引の値に近い結果を得ることができた。

しかし、逆掃引 I-V と重なったとはいえ MPPT 法同士 で完全に一致したわけではない。

この方法の場合、I-V 測定と同様に電圧を変化させるス タート地点を Isc 側か Voc 側かを選択することができる。 例えばノイズにより小さなピークがあった場合に、そのピ ークを最大出力点と判断している可能性も捨てきれない。

今後、測定のアルゴリズムを検討し、条件の最適化を進 める予定である。

しかしながら、今回クロノアンペロメトリー法、MPPT 法ともに逆掃引 I-V の結果とほぼ同じ値を得ることがで きた。

今後 KISTEC の測定でこのような結果になった場合に は、逆掃引の結果を真値と判断して依頼者に提出すること とする。

その他、長期連続測定を行っている途中で発電挙動が不 安定になることがたびたび発生した。これは電極材料が薄 すぎるため、測定用クリップにより傷付けられ、場合によ っては電極の膜が破れるもしくは剥離しているものと考 えられる。

安定した測定を継続するためにも、電極を保護する方法 を検討する必要がある。







2. 低照度屋内光源下における太陽電池の性能評価 以前に作製した低照度 LED 光源に改良を加え、1800mm の範囲で光源高さを無段階調整できる機構および試料台 を前後にスライドする機構を追加した(図 6)。

上下無段階機構は任意の照度を得るためで、試料台のス ライド機構は照度計と試料の位置再現性を確保するため である。これらの改良により、低照度光照射の自由度と再 現性が大幅に向上した。なお、この機器は実用新案出願済 みである。

また、低照度環境下で基準となる照度計の機種による測 定値の差に関して実験を行い、10%程度の差が存在するこ とを確認した(図7参照)。

今年度、所有している全ての照度計に校正を施した。今 後はその校正基準などを比較し、照度計における測定誤差 について検討する予定である。

既に相馬光学とは受光方式の改良について検討を開始している。



図6 低照度光源の高さ調整と試料台のスライド機構



図7 同一光源下における照度計の測定値不確かさ

# 3. 光関連受託分析

平成26年度に開始した試験計測業務で、H29年度の実 績目標は800万円と設定したが、リピーターを獲得できた こともあり最終的には1083万円の実績を挙げることがで きた。しかし、この1083万円という金額は幸運が幾つか 重なった出来過ぎの結果であるともいえる。

特に、全体のうち大口顧客一社の占める割合が 63%とバ ランスが悪過ぎるため、今後は利用企業数を増やし、平均 的に実績が上がるような広報を展開していきたいと考え ている。

その一方で、FIRST-PG時代から蓄積してきた技術・ノウハウが広く活用され始めている傾向が確認できているのも事実である。

例えば、FIRST-PGで色素増感太陽電池の長所を生かす ために作製した角度可変試料台と E-SEG PJ で作製した低 照度 LED 光源を組み合わせた評価の利用が集中している。 これらは本 PJ でアイディアを生み出し、測定器メーカ ーに特注して製作した一品物であるため、他試験機関では 対応できない。このように KISTEC の特徴と言える部分を 強調した広報戦略を展開し、国際評価技術センターとして の体制を整えていきたいと考えている。

さらに、今年度の利用内訳を見ると、太陽電池以外の製 品に対して精度の良い疑似太陽光を照射したいという希 望が多いためソーラーシミュレータを利用する企業が増 えているのに対し、太陽電池評価(特に有機太陽電池)の 場合は低照度環境の希望が多いためソーラーシミュレー タ以外の人工光源を使用するケースが多いという傾向が ある。

しかし、恒温槽による温度制御は全ての測定に関わって くるため、恒温槽付きソーラーシミュレータのマシンタイ ムを確保できずに機会損失を起こし始めている。今後はこ の問題を解決するため、人工光源に対応できる恒温槽の導 入を検討したいと考えている。

なお、H30 年度は今年度目標 800 万円の 5%増である 840 万円を目標とする。



図 9 H26 年度から 29 年度の実績比較

4月 5月 6月 7月 8月 9月 10月 11月 12月 1月 2月 3月

5	9	HZO	千度//	o 29	千度0	ノ夫頼ロ	し事

	and the second		201 -1000	correction and			
H26	年度	H27	年度	H28	年度	H29	年度
総	合	総	合	総	合	総	合
9社	25 件	18 社	51 件	25 社	69 件	23 社	98 件
3,268	3,080 円	3,884	4,544 円	5,976	5,288 円	10,799	9,892 円
太陽電	池評価	太陽電	池評価	太陽電	池評価	太陽電	池評価
4 社	15 件	9 社	26 件	6社	28 件	5 社	40件
2,627	7,208 円	2,90	1,960円	4,15	5,408 円	8,320	0,428 円
太陽電	池以外	太陽電	池以外	太陽電	池以外	太陽電	池以外
5 社	10 件	9 社	25 件	19 社	41 件	18 社	58 件
640	),872 円	982	2,584 円	1,820	0,880 円	2,479	9,464 円

表1 これまでの実績内訳

# 業績

# 【口頭発表】

- Shinichi Magaino, International standardization for electrical characterization of organic photovoltaics, IEC TC82 WG2 Meeting, May 14, 2017
- Daisuke Aoki, Keita Andou, Hidenori Saito, Shinichi Magaino, Katsuhiko Takagi, Study on Evaluation Methods of Perovskite Solar Cells, Asia-Pacific Hybrid and Organic Photovoltaics Conference, January 29, 2018
- 3. Hidenori Saito, Daisuke Aoki, Shinichi Magaino, Katsuhiko Takagi, Shuzi Hayase, Photoelectric conversion performance, stability and durability evaluation of Perovskite solar cell performance under the controlled atmosphere conditions, Asia-Pacific Hybrid and Organic Photovoltaics Conference, January 29, 2018
- 4. Masahide Kawaraya, Tatsuo Toyoda, Shoichi Doi, Daisuke Kitazawa, Hidenori Saito, Hiroshi Segawa, Katsuhiko Takagi, Development of Emergency Self Emitting Guide Device using the Organic Solar Cells, Asia-Pacific Hybrid and Organic Photovoltaics Conference, January 29, 2018
- 5. 斎藤英純,青木大輔,馬飼野信一,高木克彦,早瀬修二 ペロブスカイト太陽電池の性能評価法に関する検討 (複数の手法による比較) 電気化学会第85回大会,2018年3月11日,北九州市

■広帯域シールド特性を持つ金属と磁性材料を用いた積 層型シールド材

青山学院大学理工学部	坂本	大
電子技術部 電磁環境グループ	土屋明	杁
青山学院大学理工学部	須賀良	l介
電子技術部 電磁環境グループ	菅間秀	晃
青山学院大学理工学部	橋本	修

掲載誌: IEICE Communications Express, Vo7,No.3,95-100 (2018)

本論文では 10 MHz 以下において広帯域なシールド特 性を得るために金属と磁性材料で構成された積層型シー ルド材料を提案し、その設計条件について明らかにした。 具体的な設計条件は、(1)積層型シールド材料における銅 の厚みの割合を 0.5-0.7 とすること、(2)反射損失を増加さ せるため磁性材料の誘電正接が 1 以上とすること、であ る。更に、積層型シールド材の有効性を確認するため実際 に積層型シールド材を作製し、シールド効果測定より検証 を行った。その結果、設計した積層型シールド材料が 0.1 から10 MHzにおいて同じ厚みの銅単体に比べ高いシール ド効果を持つことを確認した。

Development of IoT Testbed Using OPC UA and Database on Cloud

情報・生産技術部	システム技術グループ	奥田	誠
		水矢	亨
		長尾道	室明

掲載誌: Proceedings of the SICE Annual Conference 2017, pp.607-610 (2017)

近年、IoT は多くの分野で注目されている。産業分野に おいても、IoT 技術を活用することで、生産性の向上、コ ストの削減、サービスの高度化が期待されている。そこで、 私たちは、IoT 技術の利用を支援するために、IoT テスト ベッドを開発した。IoT テストベッドは、評価用搬送シス テムとデータサーバおよびそれらの間の通信ネットワー クから構成されている。通信ネットワークにおける1つの 通信規格として OPC UA を用意した。OPC UA は Industrie 4.0 で推奨されており、近年産業界で注目されている通信 規格である。次に、OPC UA とクラウド上のデータベース を含んだ IoT テストベッドを用いて制御実験を行った。本 稿では、開発した IoT テストベッドと制御実験および IoT テストベッドの利用方法を紹介する。 A Case Study of Data Acquisition from Field Devices using OPC UA and MQTT

情報・生産技術部	システム技術グループ	水矢	亨
		奥田	誠
		長尾道	童明

掲載誌: Proceedings of the SICE Annual Conference 2017, pp.611-614 (2017)

計測制御システム、特に IoT との関連では、データ取得 が担う役割は重要であり、複雑な構造化データを扱い、頻 繁にデータを転送することが求められている。本稿は、 OPC UA 及び MQTT をデータ転送に用いてフィールド機 器からデータを取得する事例の研究についての報告であ る。全てのフィールド機器がイーサネット等の通信ネット ワークに接続するためのインターフェースを備えている 訳ではないため、ゲートウェイの助けが必要となる場合も 多い。本研究では、学習用のスカラ型ロボットをフィール ド機器として、シングルボードコンピュータをゲートウェ イとして用いた。ゲートウェイ経由でネットワークに接続 されたスカラ型ロボット(フィールド機器)について、OPC UAで転送された構造化データを用いて制御を行うと同時 に、MQTTを使って監視を行うことが可能であることを示 した。

Effect of microstructures on electrical conduction properties of β-FeSi<sub>2</sub> epitaxial films

化学技術部	新エネルギーグループ	秋山賢	餔
電子技術部	電子材料グループ	門脇貞	〔子
		平林康	男
東京工業大学	: 物質理工学院材料系	舟窪	浩

掲載誌: Journal of Crystal Growth, Vol.468, pp.744-748 (2017)

We investigated the carrier concentration and Hall mobility of epitaxial  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> films grown on semi-insulating 4H-SiC(001) single crystals to clarify the contribution of the microstructures to their electrical conduction properties. These electrical conduction properties of epitaxial  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> films were changed by their grain size. The Hall mobility of the films consisting of the grains of 250–350 nm in size was limited by the grain boundaries, while it was not limited by grain boundaries for the films consisting of the coarse grains of 20–40 µm in size but limited by defects inside the grains. ■ Preparation of (111) preferred-oriented Mg<sub>2</sub>Si thin films on (001)Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and (100)CaF<sub>2</sub> substrates and their thermoelectric properties

東京工業大学	物質理工学院材料系	黒川満央
		上原睦雄
		ーノ瀬大地
		清水荘雄
		松島正明
		木村好里
		舟窪 浩
化学技術部 亲	所エネルギーグループ	秋山賢輔
上智大学 工学	全部	内田 寛

掲載誌: Japanese Journal of Applied Physics, Vol.56, pp.05DC02 1-4 (2017)

Mg<sub>2</sub>Si thin films were deposited at 320°C on (001)Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and (100)CaF<sub>2</sub> substrates by radiofrequency magnetron sputtering method. Both films showed preferentially (111) out-of-plane orientation with in-plane random one irrespective of the postheat treatment.Mg<sub>2</sub>Si films on (001)Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> substrates were under in-plane tensile strain, while those on (100)CaF<sub>2</sub> substrates were under in-plane compressive one for both of before and after the heat treatment. Heat-treated films showed p-type conduction up to 500°C. Their electrical conductivity and Seebeck coefficient were almost independent of the kinds of substrates within the limit of the present study, from 0.426 % compressive strain to 0.221 % tensile strain at room temperature.

■ Enhancement of photoluminescence from iron disilicide on Si(111) substrates with Au layers by controlling microstructures

化学技術部 新エネルギーグループ	秋山賢	餔
企画情報連携部 経営戦略課	松本佳	次
東京工業大学 物質理工学院材料系	舟窪	浩

掲載誌: Japanese Journal of Applied Physics, Vol.56, pp.06HE03 1-5 (2017)

The photoluminescence (PL) spectrum of iron disilicide ( $\beta$ -FeSi<sub>2</sub>) was enhanced by increasing the density of epitaxial grains grown at 650°C on Si(111) substrates with a Au layer. The Au-Si liquid phase obtained from the Au-Si eutectic reaction contributed to the formation of epitaxial  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> grains on the Si(111) surface. The density of the epitaxial  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> grains on the Si(111) surface decreased with increasing thickness of the Au layer, while the grain size increased from 0.5–2 to 20–50 µm. It is suggested that the excitation volume of the  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> is a key point that determines the PL intensity.

Synthesis and Photocatalytic Properties of Iron Disilicide/SiC Composite Powder

化学技術部 新エネルギーグループ	秋山賢	賢輔
機械材料技術部 ナノ材料グループ	奥田徿	散也
解析評価グループ	本泉	祐
企画情報連携部 経営戦略課	松本信	圭久
山梨大学クリーンエネルギー研究センター	入江	寛
東京工業大学 物質理工学院材料系	舟窪	浩

掲載誌: MRS Advances, Vol.2, pp.471-476 (2017)

Semiconducting iron disilicide ( $\beta$ -FeSi<sub>2</sub>) island grains of 50-100 nanometers in size were formed on the surface of Au-coated 3C-SiC powder by metal-organic chemical vapor deposition. On the surface of 3C-SiC powder, the Au-Si liquidus phase was obtained via a Au-Si eutectic reaction, which contributed to the formation of the  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub> island grains. This  $\beta$ -FeSi<sub>2</sub>/SiC composite powder could evolve hydrogen (H<sub>2</sub>) from methylalcohol aqueous solution under irradiation of visible light with wavelengths of 420-650 nm.

■ In-plane orientation and composition dependences of crystal structure and electrical properties of {100}-oriented Pb(Zr, Ti)O<sub>3</sub> films grown on (100) Si substrates by metal organic chemical vapor deposition

東京工業大学	乡 物質理工学院材料系	系 岡本庄司
	P. S	. Sankara Rama Krishnan
		岡本 聡
		横山慎太郎
		舟窪 浩
化学技術部	新エネルギーグループ	プレンジャング 秋山賢輔

掲載誌: Japanese Journal of Applied Physics, Vol.56, pp.10PF12 1-5 (2017)

In-plane orientation-controlled Pb(Zrx,Ti1-x)O<sub>3</sub>(PZT) films of approximately 2  $\mu$ m in thickness and Zr/(Zr+Ti) ratios of 0.39 - 0.65 were grown on (100) Si substrates by pulsed metal-organic chemical vapor deposition (MOCVD) method. Epitaxial PZT films and in-plane random fiber-textured PZT films having {100} out-of-plane orientation were grown on (100)cSrRuO<sub>3</sub>//(100)cLaNiO<sub>3</sub>//(100)CeO<sub>2</sub>//(100)YSZ//(100)Si substrates and

substrates, respectively. The effects of Zr/(Zr+Ti) ratio and inplane orientation on the crystal structure , dielectric, ferroelectric and piezoelectric properties of the films were systematically investigated. The X-ray diffraction measurement showed that the epitaxial PZT films had higher volume fraction of (100) orientation than fiber-textured PZT in tetragonal Zr/(Zr+Ti) ratio region. Obvious difference was not detected between the epitaxial films and the fiber-textured films in Zr/(Zr+Ti) ratio dependency of the dielectric constant, remanent polarization and coercive field. The maximum field-induced strain values measured at 0 - 100 kV/cm by scanning atomic force microscopy were obtained at approximately Zr/(Zr+Ti)=0.50 and were about 0.5 % and 0.3 % for the epitaxial and fiber-textured films, respectively.

# ■『多様な材料開発を支える試験・計測・解析評価技術 ー神奈川県立産業技術総合研究所 KISTEC』 連載第11回 光触媒性能評価

川崎技術支援部	部長	阿久津康久	
川崎技術支援部	材料解析グループ	落合	剮
研究開発部 光触	虫媒グループ	石黒	斉
東京理科大学学院	宅工学研究科	眞田太	こ郎
東京理科大学大学	学院工学研究科	山本詩	寺乃
東京理科大学工学	<b>全</b> 音 [3	永田徫	新男

掲載誌:「工業材料」誌 2018 年11月号(予定)

光触媒式空気清浄器の普及で、空気中の臭気成分等が光 触媒で分解できることはよく知られている。しかし、壁紙 や衣服に吸着した臭気成分等が光触媒で分解できるかは、 評価法が定められておらず、あまり報告もない。そこで、 新たな試験法の確立をめざし、可視光応答光触媒を担持し た不織布を作製し、たばこ煙の吸着・分解性能評価を実施 した。そこで、新たな試験法の確立をめざし、可視光応答 光触媒を担持した不織布を作製し、たばこ煙の吸着・分解 性能評価を実施した。固相抽出-GCMS 分析の結果、可視光 照射後のクロマトグラムでは、高分子量成分のピークが減 少しており、ピーク総面積から算出した TVOC 濃度も、4時 間照射で半減した。よって、光触媒担持不織布表面に吸着 した臭気成分は、この方法で定量的に分析でき、光触媒反 応による分解も可能と示唆された。本法は、多様な光触媒 材料や吸着成分の評価に適用でき、新しい評価法として有 効といえる。

# 「力を感じる医療・福祉介護次世代ロボット」

プロジェクト

プロジェクトリーダー 下野 誠通

# 【基本構想】

超高齢社会を迎える21世紀の我が国において、産業の持続的発展と安全安心で質の高い生活の実現に 寄与する新しい科学技術の開発に対して大きな期待が寄せられている。特に、ロボット技術は従来の生産 分野への応用のみならず、人間支援分野にも広く展開されることが強く望まれている。しかしながら、産 業ロボット技術が高速精密で頑強な動作を可能としてきたのに対して、人間支援に応用するためには優し く柔らかな接触動作を可能とするロボット技術を新たに開発する必要がある。これはつまり、ロボットが 精密に接触力を制御する機能を獲得する必要があることを意味する。このような機能は力触覚技術(ハプ ティクス技術)を援用することで初めてロボットに付与することができる。

本プロジェクトでは、医療分野、リハビリテーション分野および介護分野などにおける人間動作の直接 的支援を目指した、次世代ロボットを開発することを目的としている。具体的には、ハプティクス技術を 基盤とすることで、(A) 力触覚の伝送や記録機能を有する最先端医療デバイス、(B) 力触覚に基づいた 身体機能の定量化機能を有するリハビリテーション支援ロボット、(C) 生活空間での動作補助や介護支援 を提供する生活支援ロボット、(D) 高度で安全安心な手術を可能とする手術支援ロボットの四つのテーマ 課題を推進している。様々な医療・リハビリ・介護ロボットの試作開発を、産学公連携を通じて遂行する ことで、ハプティクス技術の社会実装を達成する。

### 1. 平成29年度の研究目的

本プロジェクトでは、平成27年度研究シーズ育成事業 で得られた人間支援ロボットへの応用を指向したアクチ ュエータ技術と、ハプティクス技術を核として、医療・福 祉・介護のための新しいロボット開発を行うことを主テー マとしている(図1)。平成29年度の開発研究において は、以下の課題に重点的に取り組むこととした。

(1) 新アクチュエーション技術の開発

これまでのアクチュエータ研究を通じて得られた知見 をもとに、力触覚機能を備えた医療福祉ロボットに実装可 能なアクチュエーション技術の開発を継続して行う。特に、 生活支援ロボットに搭載するための高出力な積層形回転 モータの試作や、脳神経外科手術支援ロボットに用いる大 型の円弧形リニアモータの改良試作を行う。また、二出力 を同時に検出可能なレゾルバに関する研究については、平 成29年度中の試作完了と原理検証まで達成する。

(2) 平成28年度に試作したロボットの検証実験

前年度に試作したマスタ・スレーブー体型鉗子デバイス、 下肢機能支援ロボット、下肢リハビリテーション支援ロボ ット、移乗支援ロボット等に運動制御アルゴリズムを実装 し、基礎性能を評価すると共に、ハプティクス技術の有用 性を確認する。

(3) 医療支援デバイス、生活支援ロボットの新規試作

JSTリサーチコンプレックス推進プログラムによる 支援を活用することで、ハプティクス技術を実装した医療 デバイス開発に関して得られた成果を脳神経外科分野や



図1 プロジェクト概要

植毛治療分野などへ新たに展開し、応用範囲を拡充する。 また、生活支援ロボットの開発研究については、新たに障 がい者が椅子に座った時の姿勢保持を支援する座位保持 支援装置などの開発を実施する。

# 2. 平成29年度の研究成果

平成29年度においては、主に以下の研究成果を得た。 (1) 力触覚基盤技術の開発

研究プロジェクトが有するハプティクス技術は鋭敏な カ触覚伝達を可能とするが、通信による伝送においては遅 延時間の影響により力触覚情報が劣化する問題があった。 そこで、力信号において遅延時間の影響を補償し、正確に 力伝送を実現するアルゴリズムを開発した。ネットワーク エミュレータを用いた制御実験や、海外共同研究者との実 ネットワーク環境下での力触覚伝送実験により、開発技術 の有用性を確認した。

65



図2 積層形モータ試験装置



図3 レゾルバ試験装置



図4 大型円弧モータ

(2) 新アクチュエーション技術の開発

生活支援ロボット等に搭載する高出力な積層形回転モ ータを設計し、四層構造の回転モータを試作した。本モー タの試験装置を製作し、原理実証を完了した(図2)。企 業との共同研究として実施した二出力の同時検出が可能 なレゾルバ開発に関しては、試験装置の試作が完了し、実 験による原理実証を達成した(図3)。手術支援ロボット のプラットフォームに組み込む大型の円弧形リニアモー タについては、その特性を表す数理モデルを確立すると共 に、第一試作機の性能評価試験まで完了した(図4)。

(3) 平成28年度に試作したロボットの検証実験

昨年度に試作したマスタ・スレーブー体型鉗子、下肢機 能支援ロボット、移乗支援ロボット(図5)、下肢リハビ リテーション支援ロボット(図6)に運動制御アルゴリズ ムを実装し、基礎実験を行うことで有用性を確認した。

下肢機能支援ロボットについては、実際に人が装着した 際の有用性を検討するための装置を開発すると共に、駆動 原理を表す数理モデルを確立した。理論値と実験値との比 較検討を行うことで、十分な体重支持機能を発揮できる見 通しを得た。

移乗支援ロボットについては、共同研究者である看護学



図5 移乗支援ロボット



図6 下肢リハビリテーション支援ロボット



図7 座位保持支援装置

の専門家らと共同で立ち上がり支援動作を画像取得し、移 乗介助に必要となるロボット軌道の設計を行った。また、 昨年度に開発したコンプライアンス制御手法を実装し、体 重支持と柔らかな立ち上がり補助を達成できることを確 認した。

下肢リハビリテーションロボットにおいては、可操作度 とよばれる指標を用いた評価によるロボットの有用性を 検討した。また、ロボットの改良を行い基礎的な運動制御 まで完了することで、下肢のリーチング補助動作実験の準 備を整えることができた。

# (4) 医療支援デバイス、生活支援ロボットの新規試作

先端医療分野や生活支援分野におけるハプティクス技術の応用研究として、脳神経外科手術支援に向けた医療デバイス、手術支援ロボット、および座位保持支援装置など
を新規開発した。

脳神経外科手術支援ロボットの開発では、JSTリサー チコンプレックス推進プログラムの支援を活用し、マス タ・スレーブー体型の脳神経手術用鑷子デバイス、遠隔操 作型の多自由度手術支援装置、大型円弧形リニアモータで 駆動するハプティック手術支援ロボットプラットフォー ムの試作を行った。生活支援ロボットの開発では、新たに 障がい者が椅子に座った時の姿勢保持を支援するための ロボットとして、三軸座位保持支援装置(図7)を試作し た。

1.0

# 3. 今後の展望

平成30年度以降については、これまでに試作開発した ロボットにハプティクス技術を中心とした運動制御アル ゴリズムを実装し、有用性評価に関する実験的研究を実施 する。

特に力触覚機能を実装した医療デバイス研究をプロジェクト内の重点研究テーマとして設定する。そして、消化 器外科、脳神経外科、口腔外科、整形外科など各分野での 様々な医療支援デバイスを試作開発し、医学者らと共同で 非臨床 POC まで達成することで、実用化を目指す。

また、リハビリテーションロボット、介護ロボット等の 生活支援ロボット研究については、本プロジェクトを中心 としたコンソーシアムをさがみロボット産業特区と連携 して立ち上げる。地域の医療・看護分野の専門家や企業と の交流を組織的に展開することで、得られた研究成果の発 信と地域産業への還元を段階的に実行する。

# 通信遅延下における高精度力触覚伝達

溝口 貴弘

# 1. はじめに

近年、通信技術の高性能化によってネットワークを利用 したサービスが急激に発達している。視聴覚情報は既に ネットワーク上で共有され、利用者はアプリケーションを 通じてサービスを体験することはもちろん、新たなコンテ ンツを作成し、配信することが容易に可能となった。人間 の五感のうちでも原始的な感覚とされる力触覚に関して も研究が進められており、加速度に基づく手法[1]等が提 案され、多くの技術成果を発信している。視覚聴覚と異な り、双方向に感覚伝達の行われる力触覚は動き(位置情報) と力加減(力情報)を双方向に、遅延なく伝達する必要が あり、課題は未だ数多く存在している。特にネットワーク を通じた遠隔操作では物理的な距離に起因する通信遅延 が避けられない問題として存在しており、通信遅延下にお ける鮮明な力触覚伝達は技術発展へ向けた課題とされて いる。

ネットワークを介した制御系では情報伝達の際に通信 遅延が生じてしまい、これにより制御性能が悪化し、制御 系として不安定になってしまうことが知られている。その ため、通信遅延下の制御系に対して、制御性能の劣化を補 償する手法としてスミス法 [2] や H∞制御 [3]、PID 制御 [4]、通信外乱オブザーバ [5] などが提案されている。 しかしながら、これらの手法は主に位置制御には効果的で はあるが、通信遅延下の力制御には適していない。

一方、力触覚の伝達には位置制御、力制御の双方が関係 してくる。特に通信遅延下では制御系が不安定となり、正 確な力触覚の伝達が行われなくなってしまう等といった 問題が生じる。通信外乱オブザーバはバイラテラル制御に 対しても効果的であり、滑らかな遠隔操作を実現すること ができる[5]。通信外乱オブザーバを用いることで通信遅 延下での力触覚伝達制御制御が達成されたが、受動性に基 づく制御は制御系の安定性に着目した手法であり、通信外 乱オブザーバは力触覚伝達の位置制御のみに着目した手 法であり、これらの手法では高精度な力の釣合が実現され ていない。そのため、本手法では力制御に対する通信遅延 補償法を力触覚伝達へと拡張し、通信遅延下でも高精度な 力触覚伝達が実現できるような新しい制御系を提案する。 制御器設計の観点にも着目し、高精度な力触覚の伝達を 実現する。

#### 2. 力触覚伝達制御

本章では力触覚伝達制御について説明する。力触覚伝達 制御は位置制御と力制御を組み合わせることで実現され ている。また、それらの二つの制御系が二つのアクチュエ ータ、マスタシステムとスレーブシステムに同時に実装されることで、位置追従と力の釣り合いが同時に二つのアク チュエータ間で実現される。ここで、アクチュエータの位 置をx、力をfとし、下添え字m,sがそれぞれマスタ システム、スレーブシステムの応答値を示す時、下式で示 す位置追従と力の釣り合いを制御目標とする。

$$\begin{aligned} x_m - x_s &= 0 \tag{1} \\ f_m + f_s &= 0 \tag{2} \end{aligned}$$

これらの式が同時に達成されることで力触覚の伝達が実 現される。図1に力触覚伝達制御系の模式図を示す。マス タシステム、スレーブシステムで計測された位置情報、力 情報を相互に伝達し合い、位置と力の情報を加速度の変化 として座標変換を用いて統合的に扱う。マスタシステム・ スレーブシステムへの指令値は逆座標変換することで導 出され、それぞれのシステムへ入力される。本手法を加速 度規範バイラテラル制御(ABC)方式 と呼ぶ。通信経路にネ ットワーク伴わない ABC 制御系においては、顕著な通信遅 延は発生せず、制御周期に依存した遅延が存在するのみで ある。近年の計算機技術の発達により 10kHz という高い制 御周期を実現することが容易となってきた。これは0.0001 秒を意味し、この遅延時間を人間が感触として感じ取るこ とはできない。

# 3. 通信遅延下での力触覚伝達

カ触覚の伝達に通信が含まれる場合、図1は間に通信遅 延を含む形として図2のように表すことができる。通信遅 延を伴う力触覚伝達では制御情報がネットワークを経由 して交換される。そのため、通信の際に*T*秒の通信遅延







図2 通信遅延下での力触覚伝達システム

が生じることとなる。この通信遅延が制御系の性能を劣化 させ、不安定化の要因となる。制御工学では T 秒の通信 遅延をラプラス領域における位相のずれとして指数関数 を用いて $e^{-Ts}$ と表記する。sはラプラス演算子である。 図3に通信遅延を伴う力触覚伝達の実現例を示す。操作者 はディスプレイに表示される視覚、聴覚情報や手元に感じ る力触覚情報をもとに遠隔地にある操作対象に対して作 業を行う。通信遅延を伴う力触覚伝達ではマスタシステム に操作者が行った操作に対して、通信遅延分遅れてスレー ブシステムが動作し、物体に作用する。さらに、その結果 が通信遅延分遅れて操作者に伝達されるため、反作用力の 伝達に往復通信遅延に相当する遅れが発生する。これによ り力触覚伝達の性能劣化が生じ、遠隔操作を通じた作業が 達成することが困難化する。参考文献[6]や[7]では通信遅 延による力触覚伝達性能の劣化が具体的な実験結果をも とに議論されている。通信遅延による性能劣化を抑制する 手法としてスミス法や通信外乱オブザーバを用いた手法 が紹介されているが、どちらも位置制御に着目した性能改 善法であるため、安定した接触動作が困難とされている。

#### 4. 提案手法

本提案手法では力触覚伝達における力制御性能の向上 を目的とし、力次元での通信遅延による誤差(通信外乱  $D_{net}$ )を推定補償する方法を提案する。通信外乱の補償 方法に関しては通信外乱オブザーバを用いる。通信外乱オ ブザーバは制御工学におけるロバスト制御の考え方を通 信路の制御に適用した手法で、通信遅れを外乱と見なし、 それを補償する制御系を構成する。通信外乱の概念を図4 に示す。G(s)は制御対象を意味する。 $D_{net}$ は可観測な 加速度次元での外乱であるとみなすことができるのでオ ブザーバを用いて推定し、フィードバックによりその影響 を抑圧することができる。このオブザーバを通信外乱オブ ザーバと呼ぶ。

本手法では推定した通信外乱をマスタシステム側で推定したスレーブシステムに加わっている力から差し引くことで、通信外乱を考慮した力推定器を構成する。推定するスレーブシステムに加わっている力は $\hat{f_s}$ とし、次式で表す。



図3 通信遅延を伴う力触覚伝達システム

$$f_s = f_s e^{-T_s} - D_{net} \tag{3}$$

また、通信遅延下においては位置制御における位置誤差に 起因する操作力増大が確認されており、本手法ではスレー ブシステムにおける位置制御を廃止し、速度フィードバッ クのみ実装した。これによりスレーブシステムの加速度の 増大を抑制し、操作性を向上する。提案するシステムの概 略図を図5に示す。図6、図7に提案手法を用いた場合の 実験結果を示す。本実験では通信経路の実環境としてイタ リア、パドヴァ大学と神奈川県立産業技術総合研究所をイ ンターネットを通じて接続し実験を実施した。実環境であ るため通信遅延時間は一定値を取らないが、おおよそ 200ms~300msの遅延時間であった。提案手法では位置制 御器に対する通信遅延補償を行っていないため、図6に示 すように通信遅延により位置追従特性は劣化してしまう。 また、速度制御がブレーキの役割として機能はしているが スレーブシステムに位置制御が実装されていないため、ス レーブシステムはマスタシステムよりも素早く動いてし まう。そのため位置応答を見ると、スレーブシステムがマ スタシステムよりも少し前に行ってしまうことが確認で きる。一方、図7より、マスタシステム・スレーブシステ ム間で高精度な力の釣合が実現されていることが確認で きる。つまり、マスタシステム操作者が加えた力通りにス レーブシステムが環境に接触するという非常に柔らかく 安全な動作が実現されたこととなる。以上より、提案手法 を用いることで固定遅延下での高精度な力触覚伝達が達 成されたことが確認でき、通信遅延下での柔らかい遠隔操 作が提案手法により実現された。

### 5. 今後の展望

本報告では力制御の観点から力触覚伝達制御の性能を 向上させる方法を提案した。提案手法では通信外乱を用い てマスタシステム側でスレーブシステムの力を推定する ことで、操作性と力追従性能を向上した。通常力触覚伝達 制御を実装する場面では画像情報が同時に取得できるこ とが想定される。そのため位置の誤差に関しては視覚情報 から少ない違和感で操作することが可能である。一方力情 報は力触覚以外で取得することができないため、遠隔操作 においては精度の高い力伝達が重要である。本手法を援用



図4 通信外乱の概念



図5 提案手法の概略図



図6 提案手法を用いた位置応答



図7 提案手法を用いた力応答

することで通信遅延下においても優しい力でものと触れ 合うことができ、多くのアプリケーションで利用可能であ る。

#### 【参考文献】

1. K. Ohnishi, M. Shibata, and T. Murakami, 'Motion Control for Advanced Mechatronics," IEEE/ASME Transactions on Mechatronics, Vol. 1, No. 1, pp. 56-67,1996.

2. C. L. Lai, and P. L. Hsu, "Design the Remote Control System With the Time Delay Estimator and the Adaptive Smith Predictor," IEEE Transactions on Industrial Informatics, Vol. 6, No. 1, pp. 73-80, 2010.

3. L. Qiu, Y. Shi, J. Pan, and G. Xu "Networked H1 Controller Design for a Direct{Drive Linear Motion Control System," IEEE Transactions on Industrial Electronics, Vol. 63, No. 10, pp. 6281-6291, 2016.

4. J. Y. Lee, M. Jin, and P. H. Chang, "Variable PID Gain Tuning Method Using Backstepping Control With Time-Delay Estimation and Nonlinear Damping," IEEE Transactions on Industrial Electronics, Vol. 61, No. 12, pp. 6975-6985, 2014.

5. K. Natori, R. Oboe, and K. Ohnishi, "Stability Analysis and Practical Design Procedure of Time Delayed Control Systems With Communication Disturbance Observer," IEEE Transactions on Industrial Informatics, Vol. 4, No. 3, pp. 185-197, 2008.

6. T. Tashiro, S. Shimono, T. Mizoguchi, and K. Ohnishi, "Time Delay Compensation for Force Controller in Bilateral Teleoperation system under Time Delay", Proceedings of the 15th IEEE International Workshop on Advanced Motion Control, AMC2018, Mar. 2018.

7. 大西公平、山口正泰、溝口貴弘、「力触覚通信-超成熟社 会発展を後押しする新しい通信」、電子情報通信学会誌、 vol. 98, No. 5, pp. 361-368, 2015.

# マスタ・スレーブ一体型鑷子の開発と評価

松永 卓也

# 1. はじめに

医療分野では治療における患者の負担の軽減が可能な 低侵襲性治療が注目されており、ロボット技術を駆使した 治療の低侵襲化や,熟練の技術が要求される低侵襲性手術 における治療行為支援が試みられている[1].腹腔鏡手術分 野では、既に市販化されて治療や研究に利用されている da Vinci<sup>®</sup> (Intuitive Surgical, Inc.) など、手術支援ロボット の研究開発が盛んにおこなわれている[2][3].一方,脳神 経外科手術分野における治療行為も難易度が高く, ロボッ トによる支援をおこなうことで患者や医師の負担軽減が 期待できるが、狭い術野で神経や血管を傷付けずに精密な 動作を可能とするロボットが必要となる[4][5]. さらに、 組織に接触した際の力触覚情報を術者に伝達する機能を 付加することで、より安全で正確な治療行為が期待できる. しかしながら、現状では脳神経外科手術において鮮明な力 触覚を伝達する機能を備えた精密な動作を可能とするロ ボットは開発されていない.

# 1.1 マスタ・スレーブー体型鑷子

本研究では、脳神経外科手術で組織の把持などに用いる 器具である鑷子に治療行為支援機能を搭載することを目 的として、図1に示すマスタ・スレーブー体型鑷子を開発 した.マスタ・スレーブシステムはロボットの遠隔操作の ー手法であり、マスタロボット(マスタ)とスレーブロボ ット(スレーブ)で構成される、操作者の動作がマスタを 介してスレーブに伝達され、実際の作業はスレーブがおこ なう.

本研究で開発した一体型鑷子は、図2に示すようにエン ドエフェクタを備えたマスタとスレーブを一つの手術器 具に統合した装置である.機構的に独立なマスタとスレー ブのエンドエフェクタを遠隔操作における力触覚技術で あるバイラテラル制御で電気的に接続することで、従来の 鑷子には無い力触覚のデータ化や可視化、増幅伝達などの 機能が利用できる.力触覚データは組織に手術後の評価や 教示への活用も期待できる.また、小型であることから手 術室内の限られた空間においても装置の導入が容易であ る.本プロジェクトでは、これまでに腹腔鏡手術支援用マ スタ・スレーブー体型鉗子を開発したが[6]、本研究の一体 型鑷子は、より繊細な動作に適した構造を有する.

## 1.1.1 装置の構造

マスタ・スレーブー体型鑷子を構成するマスタおよびス レーブはエンドエフェクタと駆動部で構成される.マスタ のエンドエフェクタは人間が力を加える操作部であり,ス



図1. マスタ・スレーブー体型鑷子



図2. 装置の構成

レーブのエンドエフェクタは組織を把持するためのグリ ッパである.各駆動部は応答性やバックドライバビリティ が良く、小型・高出力なボイスコイルモータと、高分解能 なリニアエンコーダで構成される.ボイスコイルモータの 直線運動は機構を介して各エンドエフェクタの回転運動 に変換される.マスタのエンドエフェクタは従来の鑷子と 同様に押す方向のみに力を加えることが可能な構造であ り、内部のばねによって開放時は自動で開く機構である. また、マスタ、スレーブともに両開き構造のエンドエフェ クタを有する.

### 1.1.2 バイラテラル制御による力触覚伝達

マスタ・スレーブー体型鑷子を操作する際には、力触覚 伝達手法の一つであるバイラテラル制御を用いる[7].バイ ラテラル制御では、式(1)、式(2)の制御目標を同時に達成 することで、スレーブが接触した物体(環境)のかたさを 操作者に伝達する.

$X_{\rm m}-X_{\rm s}=0$	(1)
$F_{\rm m} + F_{\rm s} = 0$	(2)

式(1)でマスタの位置*X*mとスレーブの位置*X*sを一致させ, かつ,式(2)でマスタに加わる外力*F*mとスレーブに加わる 外力*F*sに作用反作用の法則を成り立たせることで,環境 のかたさを操作者に伝達することが可能となる. さらに, マスタ,スレーブ間で送信される力触覚データを加工する ことで,力触覚の増幅伝達が可能となる. 位置の増幅率を  $\alpha$ ,力の増幅率を $\beta$ と定義すると,式(1),式(2)の制御目標 は式(3),式(4)となる.

$X_{\rm m} - \alpha X_{\rm s} = 0$	(3)
$F_{\rm m} + \beta F_{\rm s} = 0$	(4)

これらの制御目標を達成することで、α倍されたスレーブ の位置とβ倍されたスレーブに加わる外力がマスタに伝 達される.脳神経外科手術のように繊細な環境を扱う作業 では、スレーブ側で得た力触覚データを増幅することで繊 細な作業が可能となる.

バイラテラル制御では位置および力を高精度に制御す ることが求められるため、外乱オブザーバ[8]を用いて加速 度制御をおこなう.装置のコストや機構の複雑化などの難 点を考慮し、装置には力センサを組み込まず、反力オブザ ーバを用いて力情報を推定する[9].

#### 1.2 実験の概要

マスタ・スレーブー体型鑷子を用いて3種類の実験をお こなう.まず、モータ空間で構築されたバイラテラル制御 を実装した装置を用いて環境に接触し、力触覚の伝達性能 を確認する.モータ空間のバイラテラル制御は、マスタ、 スレーブのエンドエフェクタの形状に関わらず、各モータ の位置および力について式(1)、式(2)の制御目標を達成す る.次に、剛性が既知のばねを環境として接触し、力触覚 データ取得における性能を評価する.そして、健常な脳細 胞と癌化した脳細胞のかたさを模擬した環境に接触し、剛 性の判別をおこなう.

### 2. 実験と結果

本研究で開発したマスタ・スレーブー体型鑷子にモータ 空間で構築したバイラテラル制御を実装し,環境への接触 による力触覚伝達と剛性が既知の環境を用いた力触覚取 得の性能評価,および生体を模擬した環境のかたさ判別を おこなった.

## 2.1 力触覚の伝達

マスタ・スレーブー体型鑷子を用いて環境への接触動作 をおこない、マスタおよびスレーブの位置情報と力情報を 記録した.環境には脳組織のかたさを模擬した擬似生体 として豆腐を用いた.

環境に対する接触動作で得られた位置応答および力応 答を図3に示す.図3(a)の位置応答より、スレーブの位置 がマスタの位置に追従したことが確認できる.図3(b)の力 応答より、マスタ、スレーブに加わった外力の間に作用反 作用の法則が成立したことが確認できる.したがって、マ スタ・スレーブ間において、環境に接触した際の力触覚が 伝達された.

## 2.2 装置の性能評価

環境の剛性keは位置の変化に対する反力の変化であり、







図 4. 引張ばねを用いた性能評価における実験装置

# 式(5)で表される.

 $k_{\rm e} = \Delta F / \Delta X$ 

したがって、位置情報の測定値と接触動作において推定し た力情報を用いて環境の剛性 k e を推定することが可能で ある.本研究では、グリッパで引張ばねの自由端に接触し た状態を初期状態、グリッパが閉じる直前を終端状態とし て、初期状態と終端状態の2点の位置・力情報から環境剛 性を推定した.

(5)

引張ばねを用いた実験装置の概要を図4に示す.一端を 土台にねじ留めして固定端とした既知の剛性を持つ引張 ばねに対して,バイラテラル制御を実装した一体型鑷子を 用いて以下の手順で接触動作をおこなった.

(1) 一体型鑷子のグリッパを開き、グリッパ先端を引張ば



環境(擬似生体)

図 5. 環境のかたさ判別における実験の概要

表 1. 擬似	生体を用いた環境カ	いたさ判別の条件と順位
---------	-----------	-------------

条件	製造社	種類	剛性の大きさ		
			$\beta = 1$	$\beta = 2$	
1	A	絹	4th	4th	
2	A	木綿	2nd	2nd	
3	В	絹	3rd	3rd	
4	В	木綿	1 st	1 st	

ねの自由端に掛けた.

- (2) 一体型鑷子の本体が動かないように押さえ、操作部を 押してグリッパを閉じ、引張ばねを伸ばして力触覚デ ータを取得した。
- (3) グリッパが完全に閉じたことを確認し、引張ばねに対 する接触動作を終了した.

エンドエフェクタが完全に閉じた状態は、かたい物体への 接触となり把持力が急激に増大するため、剛性推定で用い るデータからは除外した.また、引張ばねにより発生する 力はスレーブに組み込まれたスライダクランク機構を介 してモータに伝達される.引張ばねの剛性を推定する際に は、スライダクランク機構の運動学を用いて先端出力を算 出した.

実験の結果,引張ばねの剛性を表すばね定数の公称値 0.14×10<sup>3</sup> N/m に対して,位置測定値,力推定値から算出 された剛性が 0.134×10<sup>3</sup> N/m であった.したがって,本研 究で開発した装置が高精度に力触覚データを取得し伝達 可能であることが確認できた.

# 2.3 環境のかたさ判別

擬似生体を用いた環境のかたさ判別の実験について,実 験の概要を図5に示す.健常な脳組織のかたさを模擬した 環境として絹豆腐,癌化した脳組織のかたさを模擬した環 境として木綿豆腐を用いた.2種類の製造社の絹豆腐およ び木綿豆腐,合計4種類の豆腐について実験をおこなった. バイラテラル制御を実装したマスタ・スレーブー体型鑷子 のグリッパを開いて先端のみを各豆腐に挿入した状態を 初期状態,グリッパが完全に閉じた状態を終端状態として, マスタを操作してグリッパを閉じる際の力触覚データを 記録した.カスケーリング $\beta = 1$ (増幅無し)の条件下で 各擬似生体に対して作業をおこなった後,条件を $\beta = 2$ (増 幅有り)に変更して同様の実験をおこなった.

各擬似生体の条件と、カスケーリングβ=1の条件下に

おける位置測定値と力推定値の変化に基づいた剛性の大 きさの順位を表1に示す.実験結果より,条件4,条件2, 条件3,条件1の環境の順に大きな剛性が伝達された.し たがって,実験で用いた4種類の環境では,絹豆腐(条件 1,条件3)より木綿豆腐(条件2,条件4)がかたく,擬 似生体の剛性が判別可能であることを確認できた.また, 剛性の大きさの順位はカスケーリング $\beta = 2$ の条件下でも 同じ結果が得られた.

#### 3. 考察及び今後の展望

# 3.1 考察

以上の実験結果より,本研究で開発した装置が環境から 高精度に力触覚データを取得し,一つの器具に統合された マスタ・スレーブ間で伝達可能であることが確認できた. 脳組織を模擬した環境への接触では,絹豆腐と木綿豆腐の かたさを判別可能であることが確認できた.カスケーリン グの値を変更した場合にも環境のかたさ判別が可能であ ったことから,脳神経外科手術において人間の手では感知 することが困難な力触覚情報の増幅伝達による繊細な動 作の実現が期待できる.

#### 3.2 今後の展望

マスタ・スレーブー体型鑷子の実用化において,装置の 小型化と軽量化が課題となる.長時間の作業となる手術に おいて質量が大きい装置は術者の負担となる.各部形状に 改良を加え,手術器具としての操作性の向上に取り組む. さらに,マスタとスレーブを統合した構造の難点として, 手振れを抑制する機能が無いことが挙げられる.マスタと スレーブが離れている場合,マスタ側で生じた手振れをス レーブ側に伝達せずに制御することが可能であるが,マス タ・スレーブー体型鑷子の場合には,操作者の手振れが直 接エンドエフェクタの動作に影響する.したがって,手振 れを抑制する機能が新たに必要となる.また,機構改良と 並行して,駆動部を構成するボイスコイルモータの発熱緩 和や滅菌方法の検討をおこなう.さらに,平成 30 年度内 に試作機を用いて動物実験をおこない,データを収集する 予定である.

## 【参考文献】

1. R. H. Taylor and D. Stoianovici, *IEEE Transactions on Robotics and Automation*, **19**, 5, 765-781 (2003).

2. G. S. Guthart and J. K. Salisbury Jr., *Proceedings of IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 618-621 (2000).

3. B. Hannaford, J. Rosen, D. W. Friedman, H. King, P. Roan, L. Cheng, D. Glozman, J. Ma, S. N. Kosari, and L. White, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 60, 4, 954-959 (2013).

4. 本郷一博,後藤哲哉,柿澤幸成,小山淳一, 脳神経外科 ジャーナル, 20, 4, pp. 270-274 (2011).

5. M. Mitsuishi, A. Morita, N. Sugita, S. Sora, R. Mochizuki, K. Tanimoto, Y. M. Baek, H. Takahashi, K. Harada, *The* 

73

International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery, 9, 2, 180-189 (2013).

6. M. Yokoyama, T. Mizoguchi, T. Matsunaga, and T. Shimono, *Proceedings of the 2017 IEEE International Conference on Intelligent Mechatronics*, 743-748 (2017).

7. W. Iida and K. Ohnishi, Proceedings of the 8th IEEE

International Workshop on Advanced Motion Control, 217-222 (2004).

8. K. Ohnishi, M. Shibata, and T. Murakami, *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, **1**, 1, 56-67 (1996).

9. T. Murakami, F. Yu, and K. Ohnishi, *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, **40**, 2, 259-265 (1993).

# 移乗支援装置の運動制御

富樫 信之

# 1. はじめに

近年日本では高齢化社会に伴う介護者の需要が増加し ている。厚生労働省の報告によると介護従事者は延べ170 万人と推定されているが、一方要介護者は620万人に達す るとされており介護従事者の不足が問題となっている [1][2]。この問題を解決するため、介護ロボットの研究開 発が盛んになっている。

介護動作の一つに移乗支援がある。移乗支援は非介助者 が椅子からの立ち上がり、および目的とする場所までの移 動を支援する。移乗介護は被介助者を介助者が抱きかかえ るようにして介助を行うため、介護者の肩や腰に大きな負 担がかかる[3]。この問題を解決するため、移乗支援装置の 研究開発が行われている。例として富士機械製造株式会社 から移乗サポートロボット Hug T1、マッスル株式会社か ら ROBOHELPER SASUKE、パナソニック エイジフリ ー株式会社から離床アシストロボット リショーネ Plus が 挙げられる。このように数多くの移乗支援装置の研究開発 が行われているが、その多くは剛性の高い位置制御が主流 である[4]-[7]。剛性の高い位置制御では固い運動制御とな ってしまい、人にとって危険な動作となりうる可能性があ る。安全に人を支援するためには、柔軟な運動制御を可能 とする力の制御を行う必要がある。

そこで、本プロジェクトでは力触覚技術を実装した移乗 支援装置の研究開発を行っている。力触覚技術とは人が有 する力触覚を制御する技術であり、柔軟な動作を可能とす る。力触覚技術を実装することで人が動作を所望する方向 には柔軟な運動を行い、十分に支持したい方向には剛性を 増加し支援することが可能となる。本稿では、開発した移 乗支援装置、介護動作解析、位置制御、実験及び今後の展 望について述べる。

#### 2. 移乗支援装置の位置制御

本章では、移乗支援装置、介護動作の解析、位置制御、 および実験について説明する。

#### 2.1 移乗支援装置

図1に移乗支援装置のモデル図を示す。本装置は2リン クマニピュレータの手先が二つ存在する特殊な構造とな っており、1つが人体の腰部分をもう1方が肩を支える。 また、このマニピュレータ自体は回転モータによりy軸周 りに回転し、プーリーおよびベルトによりx軸方向に平行 移動する。実際に開発した移乗支援装置を図2に示す。

# 2.2 介護動作の解析



図1. 移乗支援装置のモデル



図2. 開発した移乗支援装置

移乗支援を行うためには、装置がどのような軌道に沿っ て動作するかを決定しておく必要がある。そこで実際に介 助者に立ち上がりの介助を行ってもらい、そのときの被介 助者および介助者の動作のデータを文献[8][9]にならい解 析し、どのような動作が装置に必要なのかを検討する。

図3に2人の介助者が立ち上がりの介助を行った時の被 介助者の重心軌道を示し、図4、図5にそれぞれの介助者 が支援した時の介助者の関節軌道を示す。図3においては 重心位置の推移を把握しやすいよう、初期位置(着座時) を0%、最終姿勢時(直立姿勢時)を100%として規格化し







ている。図3より0から40%までは体幹前傾動作と呼ばれ る動作時のデータであり、上半身を前方向に預け重心を移 動している。このとき2人の介助者は異なる介助方法で被 介助者を支援しているため、重心軌道は異なる。このこと から体幹前傾動作時は非介助者の重心位置を前方向に移 動させることができればよいため、移乗支援装置の軌道を 一意に決定する必要はないと考えられる。

一方、40から100%の間は前傾姿勢から直立姿勢までの 立ち上がり動作であり、2人の介助者共に同じ重心軌道を 示している。また図4より、介助者(TP1)は腰関節が上 方向にもっていくような動作で移乗支援を行っているこ とが分かる。一方図5より、介助者(TP2)は腰関節が下が る動作になっていることが分かる。しかし、図3より被介 助者の重心移動において介助者による違いがあまり見ら れないことから移乗支援の軌道は非介助者の体格に依存 することが考えられる。そのためこの立ち上がりの動作区



図 6. 移乗支援装置の座標および変数

間においては移乗支援装置の軌道を一意に決まる可能性 があると考えられる。

### 2.3 位置制御

本装置の手先位置を制御するため、順運動学、動力学に 基づき、位置制御を構築する。本稿では、xy 平面での動 作の検証のため y 軸の回転はないものとする。また、座標 及び変数を図 6 に示す。移乗支援装置の手先のベクトル及 び装置の各関節ベクトルは(1)式、(2)式で表される。

(1)式及び(2)式を微分することで速度を求めることができる。このとき、手先ベクトルの速度と各関節の角速度ベクトルの関係はヤコビ行列 Jaco を用いて(3)式で表される。

$${}^{W}\dot{x}_{e} = J_{aco}\dot{\theta}_{r}$$
 (3)

(3)式をさらに微分することにより加速度についての式を 得ることができ、さらにヤコビ行列を用いることで(4)式を 得ることができる。

$$\ddot{\boldsymbol{\theta}}_r = \boldsymbol{J}_{aco}^{-1} \begin{pmatrix} \boldsymbol{W} \ddot{\boldsymbol{x}}_e - \dot{\boldsymbol{J}}_{aco} \dot{\boldsymbol{\theta}}_r \end{pmatrix} \quad (4)$$

通常、(4)式の第二項目については第一項目に比べ無視できるため、(5)式となる。

$$\ddot{\boldsymbol{\theta}}_r = \boldsymbol{J}_{aco}^{-1W} \ddot{\boldsymbol{x}}_e \quad (5)$$

また、ラグランジュ法より運動方程式を導出することで (6)式を得ることが出来る。

$$T = M\ddot{\theta}_r + H + G \quad (6)$$

T は駆動トルクベクトル、M は慣性行列、H はコリオリカ、 G は重力によるトルクベクトルを示す。また、H および G は外乱として作用するベクトルとなる。

(1)から(6)式に基づき位置制御を構成したブロック線図



図 7. 移乗支援装置における位置制御のブロック線図





を図7に示す。図7中の Gr および Kt は減速比およびト ルク定数を示し、Kp および Kv は位置ゲインおよび速度 ゲインを示す。また、ロバストな運動制御を実現するため 外乱オブザーバ(DOB)を実装している[10]。

#### 2.4 実験

図3の重心軌道より軌道を設計し、図7に示す位置制御 系を構成して位置制御の実験を行った。初めの5秒間は初 期位置を保持し、5秒より設計した軌道に対して追従する よう位置制御を行い、37秒以降は終点で位置を保持する 指令値を入力した。5~37秒における位置制御の指令値は 図3の重心位置および被験者の体格を考慮し、(7)式から (10)式として与えた。

 ${}^{W}x_{eh}^{cmd} = -0.0933t^{3} + 0.2253t^{2} + 0.0432t + 0.4 \quad (7)$  ${}^{W}y_{eh}^{cmd} = -0.234t^{3} + 0.5066t^{2} - 0.0708t - 1.38 \quad (8)$  ${}^{W}x_{es}^{cmd} = {}^{W}x_{eh}^{cmd} + 0.15 \quad (9)$  ${}^{W}y_{es}^{cmd} = {}^{W}y_{eh}^{cmd} + 0.51 \quad (10)$ 

実験結果を図8および図9に示す。図8は水平移動の応 答結果を示し、図9は垂直方向の応答結果を示す。また、 点線が指令値として与えた軌道であり、実線が実際の応答 結果を示している。これらの図より、指定した軌道に対し 大きな誤差なく位置追従を行えていることが確認された。

3. 考察と今後の展望



図 9. 垂直方向の位置応答結果[10]

#### 3.1 考察

今回の実験で設計した軌道に対し、開発した移乗支援装置は正確な位置追従が行えていた。このことから、開発している移乗支援装置において立ち上がりの軌道を再現可能であるため、移乗支援を十分に行える能力を有していることが確認された。

今回設計した軌道は2人の介助者と1人の被介助者のデ ータより設計した。2.2節で述べたように、介助者にはよ らず被介助者の体格に依存することが考えられる。しかし、 そのことを示すためには十分なサンプルが必要となるた め、今後も介助時の動作のデータ収集を行う必要があると 考えられる。

#### 3.2 今後の展望

本稿では、開発した移乗支援装置において移乗支援のた めの軌道設計を行い、位置制御による確認を行った。今後 の課題として、先ほど述べた介助時の動作のデータ収集や 柔軟な運動制御手法を用いた移乗支援動作の確認が挙げ られる。柔軟な運動制御については平成28年度に開発し た、方向によって固さが異なるコンプライアンス制御を実 装し、設計した軌道に対しても有効であるかどうかを検討 する予定である。また、人体ダミーを用いた検証実験を行 うことも予定している。人体ダミーとは人体を模した人形 であり、人と同じ可動範囲である関節を有している。また、 人体ダミーにはセンサーが取り付けられており、どのよう な動作をしているかをデータ化することが出来る。そのた め安全に検証実験を行うことが可能となり、データの収集 が容易になると期待できる。また具体的な検討や装置の改 良をするため、前年度にも行っていた移乗支援装置につい てのミーティングも継続して行うことを予定している。ま た、評価検討だけでなく導入についても課題の一つとして 挙げられる。開発した本装置は吊り天井型であり、階段な どの段差が障害にならない点に利点がある。しかし、吊り 天井型であるため導入コストがかかってしまう。そのため、 導入について協業可能な企業を探すことが必要になると 考えられる。

# 【参考文献】

1. Ministry of Health, Labour and Welfare, "Status report of the nursing care insurance business,"

http://www.mhlw.go.jp/topics/0103/tp0329-1.html, 2016.

2. Ministry of Health, Labour and Welfare,

http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000088998.html, 2016

3. Ozge Cinar-Medenia, Bulent Elbasanb and Irem Duzgunc, "Low back pain prevalence in healthcare professionals and identification of factors affecting low back pain," Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation, pp.1-9, 2016.

4. Hiroshi Kobayashi, Hirokazu Nozaki, and Toshiaki Tsuji, "Development of power assist system for caregiver by muscle suit," Mechatronics and Automation, 2007. ICMA 2007. International Conference on. IEEE, pp.180-185, 2007.

5. Christian Mandel, Thorsten Luth, Tim Laue, Thomas Rofer, Axel Graser, and Bernd Krieg-Bruckner, "Navigating a Smart Wheelchair with a Brain-Computer Interface Interpreting Steady-State Visual Evoked Potentials," Proc. IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems(IROS), pp.1118-1125, 2009.

6. Toshiharu Mukai, Shinya Hirano, Hiromichi Nakashima, Yo Kato, Yuki Sakaida, Shijie Guo and Shigeyuki Hosoe, "Development of a Nursing-Care Assistant Robot RIBA That Can Lift a Human in Its Arms," The 2010 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems(IROS), pp.5996-6001, 2010.

7. Akihiro Ohta, Tomohiro Simoda, Shohei Tsukada, Yohei Kume, Hideo Kawakami, "Development of Transfer Assist Robot "Roboticbed," JSME Conference on Robotics and Mechatronics, No. 13-2, 1A1-H06(1)-(2), 2013

8. Satoru Kojima and Hidekatsu Takeda, "Sit-to-Stand Movement in Elderly Adults the Society of Physical Therapy Science," No.13, pp.85-88, 1998 (in Japanese).

9. Winter, David A "Biomechanics and motor control of human movement" John Wiley & Sons, INC. 2009.

 K. Yokoyama, S. Shimono, T. Mizoguchi, A. Zignoli, N. Togashi, K. Ohnishi, Y. Mashida, M. Hirao, J. Masuya, K. Ota, S. Kato, and K. Dezaki, "Trajectory Planning and Motion Control for Transfer Support Robot," The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018, 2018.

11. K. Ohnishi, M. Shibata, and T. Murakami, "Motion Control for Advanced Mechatronics," IEEE/ASME Transactions on Mechatronics, Vol. 1, No. 1, pp. 56-67, 1996.

績 業

# 【原著論文】

 斉藤 佑貴, 中井 一真, 関口 弘武, 福島 聡, 野崎 貴 裕, 大西 公平 接点切替によるインピーダンス変動を用いたブラシ付き DC モータのセンサレス角度推定法 電気学会論文誌産業応用部門誌, 137-D, 11, 827-836 (2017).

- T. T. Phuong, K. Ohishi, C. Mitsantisuk, Y. Yokokura,
   K. Ohnishi, R. Oboe, and A. Sabanovic
   Disturbance Observer and Kalman Filter Based Motion Control Realization
   IEEJ Journal of Industry Applications, 7, 1, 1-14 (2018).
- S. Akutsu, H. Sekiguchi, T. Nozaki, and T. Murakami Position and Torque Sensorless Motion Transmission Using Voltage Compensation
   IEEL January of Inductor Applications 7, 2, 150, 157

IEEJ Journal of Industry Applications, 7, 2, 150-157 (2018).

- C. S. Cyusa and T. Fujimoto Enactment Based Direct-Drive Test of a Novel Radial-Gap Helical RotLin Machine IEEE Transactions on Industry Applications, 54, 2, 1273-1282 (2018).
- 5. S. Fukushima, H. Sekiguchi, Y. Saito, W. Iida, T. Nozaki, K. Ohnishi

Artificial Replacement of Human Sensation Using Haptic Transplant Technology

IEEE Transactions on Industrial Electronics, 65, 5, 3985-3994(2018).

 M. Tajiri, P. Lopez, and Y. Fujimoto Design of Two-channel Bilateral Control Systems by a Transfer-Function-Based Approach IEEE Transactions on Industrial Electronics, 65, 7,

5655-5664 (2018).

 S. Lemerle, T. Nozaki, and K. Ohnishi Design and Evaluation of a Remote Actuated Finger Exoskeleton using Motion-Copying System for Tendon Rehabilitation IEEE Transactions on Industrial Informatics,

(2018). (Accepted for Publication)

 T. Nozaki, S. Shimizu, T. Murakami, and R. Oboe Impedance Field Expression of Bilateral Control for Reducing Data Traffic in Haptic Transmission IEEE Transactions on Industrial Electronics, (2018). (Accepted for Publication)

- S. Osada, T. Shimono, T. Mizoguchi, and K. Ohnishi Active Motion Evaluation by Mechanical Power Factor Analysis Based on the Specific Frequency Component IEEJ Journal of Industry Applications, 7, 3, 244-249 (2018).
- T. Noguchi, S.Nagai, and A.Kawamura Electromagnetic Linear Actuator providing High Force Density per Unit Area without Position Sensor as a Tactile Cell

IEEJ Journal of Industry Applications, 7, 3, 259-265 (2018).

# 【総説】

 大西公平,野崎貴裕,下野誠通,溝口貴弘 QOLを支えるエレクトロニクス-人間を幸福にするハ プティクス技術-電子情報通信学会誌,2017年9月号,937-942.

 K. Ohnishi, T. Mizoguchi Real Haptics and Its Applications IEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering, 12, 6, 803-808 (2017).

# 【招待講演】

1. K Kouhei Ohnishi Soft Robotics by Real Haptics IEEE International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics, AIM2017, 2017 年 7 月,ドイツ

# 2. 下野誠通

日本発の『力触覚技術』による医療・福祉・介護
 の新展開 ~力を感じるロボットがもたらす人
 に優しい近未来社会~
 第7回 Tonomachi Café, 2017年10月,川崎

3. 下野誠通

カを感じる医療・福祉介護ロボット 公益財団法人静岡県産業振興財団ファルマバレ ーセンター技術セミナー, 2017 年 10 月, 静岡

 Tomoyuki Shimono Haptic Robots for Physical Human Support The 26th International Conference on Information, Communication and Automation Technologies, ICAT2017, 2017 年 10 月, ボスニア・ヘルツェゴ ビナ

# 【口頭発表】

- K. Sakuma, S. Takano, T. Shimono, T. Mizoguchi Design and Analysis of Coreless Multi-Layered Permanent Magnet Synchronous Motor IEEE International Symposium on Industrial Electronics, 2017 年 6 月、スコットランド
- 2. K. Sakuma, S. Takano, T. Shimono, T. Mizoguchi Variable Compliance Control for Transfer Support Robot IEEE International Symposium on Industrial Electronics, 2017 年 6 月, スコットランド
- M. Yokoyama, T. Mizoguchi, T. Matsunaga, T. Shimono, K. Ohnishi

Development of Master-Slave Integrated Haptic Forceps Based on Bilateral Control

2017 IEEE International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics, 2017 年 7 月, ドイツ

4. M. Ubukata and T. Shimono

Discussion on Comparison of Magnetic Geared Linear Motors with Different Magnetization Direction The 20th International Conference on Electrical Machines and Systems, ICEMS2017, 2017 年 8 月, オーストラリア

 T. Fujishiro, T. Shimono, T. Mizoguchi Development of Lower Limb Rehabilitation Robot Based on Polar Coordinate The 26th International Conference on Information,

Communication and Automation Technologies, ICAT2017, 2017 年 10 月, ボスニア・ヘルツェゴビナ

6. M. K. C. D. Chinthaka, T. Shimono

Inertia Estimation of Robot End Effector for Dextrous Object Grasping The 43rd Annual Conference of the IEEE Industrial

Electronics Society, IECON2017, 2017 年 10 月, 中国

- 7. H. Asai, T. Shimono, T. Mizoguchi Maximization Design of Thrust Force for Cross-Coupled 2 DOF Planar Direct Drive Motor The 12th IEEE International Conference on Power Electronics and Drive Systems, PEDS2017, 2017 年 12 月, アメリカ
- K. Sakuma, S. Takano, S. Shimono, T. Mizoguchi Development of Multi-layered Coreless Permanent Magnet Synchronous Motor

The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018, 2018 年 3 月, 東京

- Y. Hatta, S. Shimono, M. Watanabe, K. Ishikawa Analysis of The cross-Coupled Two-Degree-of-Freedom Motor with Coil Back Yoke The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018, 2018 年 3 月,東京
- T. Fujishiro, S. Shimono Consideration of Polar Coordinates Rehabilitation Robot from the Viewpoint of Manipulability The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018. 2018 年 3 月,東京
- K. Yokoyama, S. Shimono, T. Mizoguchi, A. Zignoli, N. Togashi, K. Ohnishi, Y. Mashida, M. Hirao, J. Masuya, K. Ota, S. Kato, K. Dezaki Trajectory Planning and Motion Control for Transfer Support Robot The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018, 2018 年 3 月,東京
- N. Inamura, S. Shimono, T. Mizoguchi, T. Nozaki, S. Ishii, K. Ohnishi

Evaluation of Relation between Joints Torques and Output Force of Supporting Robot for Lower Limb The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018, 2018 年 3 月, 東京

13. A. Nakamura and S. Shimono

High-Accuracy Force Control of Flexible Manipulator based on Nominal Stiffness Design of Load Side Observer Motors with Different Magnetization Direction The IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, Motion Control, and Optimization 2018, SAMCON2018, 2018 年 3 月,東京

- 14. T. Tashiro, S. Shimono, T. Mizoguchi, K. Ohnishi Time Delay Compensation for Force Controller in Bilateral Teleoperation system under Time Delay the 15th IEEE International Workshop on Advanced Motion Control, AMC2018, 2018 年 3 月, 東京
- 15. 下野誠通, 辻本大起, 溝口貴弘, 石川勝己, 渡辺真志 人間支援ロボットへの応用を目指した二自由度モー

タと二出力検出が可能なレゾルバの開発 平成 29 年電気学会産業応用部門大会, 2017 年 8 月, 函館

- 16. N. Inamura, T. Shimono, T. Mizoguchi, A. Zignoli, T. Nozaki, K. Ohnishi, S. Ishii Development of Belt-Driven Supporting Robot for Lower Limb Function 平成29年電気学会産業応用部門大会, 2017年8月, 函館
- 17. 中村尭子、下野誠通 負荷側オブザーバのノミナル剛性設計に基づく柔軟 マニピュレータの位置制御 平成 29 年電気学会産業応用部門大会, 2017 年 8 月, 函館
- 18. 島津晃大,下野誠通,河村篤男 リニアモータ用磁気浮上形軸受の基礎研究 平成29年電気学会産業応用部門大会,2017年8月, 函館
- 19. 生方瑞城,下野誠通
   磁気ギアードリニアモータにおける低速側可動子に
   関する一考察
   電気学会メカトロニクス制御研究会,2017年9月, 東京
- 20. 桑原央明,溝口貴弘,山岡清志,深川真輝,下野誠通, 大西公平 インフラ点検ロボット応用に向けたカセンサレス打 振検査システムの開発と評価 精密工学会平成 29 年度秋季大会, 2017 年 9 月,大阪
- 21. 八田禎之,下野誠通,渡辺真志,石川勝己 ハルバッハ配列を用いた表面磁石クロスカップル型 二自由度モータの解析 平成 30 年電気学会リニアドライブ研究会,2018 年 2 月,大阪
- 22. 辻本大起,下野誠通,渡辺正志,石川勝己
   二出力同時検出が可能なレゾルバの開発
   平成 30 年度電気学会全国大会,2018 年 3 月,福岡

【展示会】

- 1. 神奈川県ものづくり技術交流会, KISTEC 海老名本部, 2017 年 11 月 10 日
- 2. かながわ科学技術フェア,新都市プラザ, 2017年11月11
- 5. 青少年のためのロボフェスタ 2017, 神奈川県立神奈川 総合産業高等学校, 2017 年 11 月 18 日・19 日

- 6. 2017 国際ロボット展,東京ビッグサイト, 2017 年 11 月 29 日~12 月 2 日
  - 8. テクニカルショウヨコハマ2018, パシフィコ横浜, 2018 年2月7日~9日
  - 7. 未来医療ロボット技術シンポジウム, KSP 西棟 3 階ホール, 2018 年 3 月 2 日

【特許】 国内特許出願 6件

# 革新的高信頼性セラミックス創製プロジェクト

プロジェクトリーダー 多々見純一

#### 【基本構想】

本プロジェクトは、平成25年4月より実施した戦略的研究シーズ育成事業の成果をさらに展開し、革新的 な機能と信頼性を有するセラミックス材料を創製し、これを低炭素社会の実現に大きく貢献する分野を中 心に応用展開することを目的としたものである。具体的には、

○高効率高出力 LED 照明の社会実装を推進するための透明蛍光サイアロンセラミックスバルク体の開発
○自動車やスマートグリッドなどで利用される大電流電力変換用パワーモジュールを実現するための高熱
伝導性配向材料の開発

および、これらを含めた各種セラミックスの機械的信頼性の向上するための

○材料のメソスケール破壊特性評価法

○光コヒーレンストモグラフィーによるセラミックス内部構造形成過程のリアルタイム3次元観察法の確 立と広範な実部材への適用に関する研究

を進める。本研究で得られる成果は、エネルギー供給に伴う温室効果ガスの発生の抑制とともに、分散型 エネルギーシステムの推進に大きく貢献すると期待される。

# 1. 平成 29 年度の研究目的

電池、フィルター、断熱材、風力発電、医療など非常に 広範な分野を支えるセラミックス材料が開発されている が、これらを実用化するためには、機能と機械的信頼性の 両立が重要である。本プロジェクトは、革新的で高い機械 的信頼性を有するセラミックスを創製することを目的と して、プロジェクト1年目となる平成 29 年度は、以下の 各項目を重点項目として研究開発を進めた。

# (1) 透明蛍光サイアロンセラミックスバルク体の開発

照明の LED 化は、神奈川県地球温暖化対策計画(2016 年10月改訂)にあるように低炭素社会実現のために有効 な手段であることは言うまでもない。また、2016年5月 に閣議決定された地球温暖化対策計画においても、LED 等の高効率照明を 2030 年までにストックで 100% 普及す ることを目指すこととなっている。現在、白熱電球や蛍光 灯の代替として LED 照明が普及しつつあるが、高出力 LED 照明は普及が十分に進んでいるとはいえない。現在 の最も典型的な LED 照明では、UV、紫色あるいは青色 LED を励起光源として、これに樹脂に分散させたサイア ロン蛍光体からの赤や緑、黄色の発光を併せて白色を実現 している。LED 照明においては、励起光源から発生した 熱や光に起因した樹脂の劣化により光束減少が生じて寿 命となる。特に、高天井用照明や屋外インフラ用照明、ス タジアムなどの投光器、大型プロジェクターなどの高出力 LED 照明の発熱量は大きく樹脂の劣化は顕著であり、蛍 光体関連部材の耐久性の欠如が高出力 LED 照明の社会実 装のボトルネックとなっていた。これを解決するためには、 耐熱性の高いセラミックスを利用することが極めて有効 である。

平成 29 年度は、透明蛍光サイアロンセラミックスバル ク体開発のための冷間静水圧加圧装置を導入した成形条 件の最適化、粉体プロセスの高度化について検討を進め、 緑色および黄色に発光するセラミックスバルク体を作製 した。さらに、組成と焼成条件についても検討を進め、従 来の樹脂複合体よりも高い熱伝導率を有する蛍光体粒子 分散型サイアロンセラミックスの開発も進めた。

		全蛍光体型	粒子分散型	積層型
		各色 単一相サイアロン	蛍光体粒子 1種	全蛍光体積層型
		IN SCARDING ( FUT	368944 ( 2001)	1
		∰i: Ca α-SiAlON ⊨ Eu <sup>2+</sup>	2009 51 7 12 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	粒子分散積層型
		(F): p.SMD(): PAP		••••••••••••••••••••••••••••••••••••••
		>単一相で作製可能	> 蛍光体濃度調整による励	>構成する各層を薄くできる
特		➤ 程数が少なく簡便 ➤ SiAION B SiAION	起光(青色・UV光)の透過 率・反射率た制御可能	▶高熱伝導窒化物(例えば AIN+コランクマ)層の道入
		CaAlSiN <sub>3</sub> で実績あり >蛍光体濃度が高い	→ 2014でも同時の能 → 多種類のサイアロン蛍光体 粒子の分散も可能	も可能
課題	プロセ	>励起光(青色・UV光)透 過型では、励起光透過 のため薄/する必要もい	>サイアロン蛍光体粒子の均 一分散	>ドクターブレード成形などの湿式成形が必要
	え	0712077419-02-2057	結挙動の制御	縮挙動の制御
	性能上	<ul> <li>&gt;α-SiAION、β-SiAION、 CaAISiN<sub>3</sub>以外での検討</li> <li>&gt;さらなる透光性の向上</li> </ul>	▶ 蛍光体粒子の分散形態設計による励起光透過率と発光特性の制御	> 左記全蛍光体型と粒子分散型と同じ>光源を含めた色度調整のための各層の厚み制御

図 本研究で研究を進める透明蛍光サイアロンセラミックスバ ルク体の概念図

## (2) 低磁場中成形法による高熱伝導配向材料の開発

パワー半導体は、低炭素社会を実現するためのキーとなる電力変換素子として、家電などから HV・EV やパワートレインなどの車両、さらには再生可能エネルギーを利用したスマートグリッドのためのインフラまで多岐にわたり応用が期待されている。特に、自動車関連のパワーデバイスは CO2 削減効果とともに市場も大きい分野である。このような SiC や GaN パワー半導体デバイスを実現する

ためには、それを構成する材料の高度化が克服すべき課題 である。このうち、パワーチップについては多数の企業、 大学、研究機関などにおいて研究開発が活発になされてい る。一方、周辺技術、特に樹脂や絶縁セラミックスなどの 耐熱サーマルマネジメントに必要な高熱伝導材料の開発 は進展していないのが現状である。

平成 29 年度は、これまでに研究してきたグラフェン被 覆粒子を用いた低磁場について移行プロセスの高度化を 目指した研究を行った。中でも、グラフェン被覆粒子はこ のプロセスの根幹を担うところであることから、その微構 造解析を進めた。また、配向材料の FIB-SEM による微構 造観察を行い、配向などの調査等を行う。



図 グラフェン被覆粒子を用いた低磁場配向プロセス

# (3) メソスケール破壊特性評価法の確立と高信頼性 材料設計の研究

環境エネルギー分野や安心・安全な社会を支える重要な 各種構造用セラミックスや機能性セラミックスの研究開 発が進められている。これらの材料は社会実装が近づくに つれて、機械的信頼性の向上や耐久性の確保への要求が高 まっているが、現時点で、高信頼性化のための材料設計や その基礎となる破壊現象の理解は十分なされていなかっ た。セラミックスの破壊の素過程はこれを構成する要素の 破壊である。従って、セラミックスの機械的信頼性や耐久 性は、結晶粒子や粒界といった構成要素と同程度のサブ μm から数+ μm スケールの領域、すなわち、メソスケー ルでの破壊特性に支配される。しかし、その実測データは なく高信頼性材料の設計と創製の足かせとなっていた。そ こで、これまでに研究を進めてきたマイクロカンチレバー 法によるメソスケール破壊特性評価法の確立を目指した 研究を行う。 平成 29 年度は、まず、これまでの研究で用いてきた単 結晶 Si を用いて、寸法、および、形状を変化させてマイ クロカンチレバー試験片を加工し、この破壊試験を行い、 マイクロカンチレバー試験片の形状と破壊試験条件が測 定される強度や破壊靱性に及ぼす影響を明らかにするこ とを目的とした。また、多孔質 SiC 等にマイクロカンチレ バー法を適用し、従来測定法がなく実測されてこなかった 領域の破壊特性をピンポイントで測定することも行った。

# (4)光コヒーレンストモグラフィーによるセラミックスの構造形成過程のリアルタイム3次元観察

セラミックスの各種機能はその構造に強く依存するこ とから、優れた特性と高い信頼性を有するセラミックスを 開発するためには、内部構造の理解と制御に関する知見を 得なければならない。セラミックスの内部構造は、原料粉 体からスラリー、成形体、焼結体に至るまでのプロセス中 に大きく変化することが知られており、その内部構造の形 成過程を観察することが重要である。これまでに、光学顕 微鏡、X線CTなどの手法でこれらの内部構造観察が行わ れてきたが、製造プロセス中に3次元的に刻々と変化する 構造を観察できる手法がなく、内部構造の形成過程に関す る知見は十分ではなかった。光コヒーレンストモグラフィ ー (OCT)は、光の干渉を利用して内部構造の観察が可能 な手法であり、他の内部構造観察手法と比較して、3次元、 非破壊、高速、安価、高分解能と高い優位性を有している。

平成 29 年度は、OCT によるセラミックススラリー、成 形体、焼結体の内部構造の観察手法確立を目指して、まず、 焼結体内部に人工的に導入した欠陥の観察などを行う。

#### 表 光コヒーレンスと他の観察手法の比較

手法	3D	非破壞	深さ	速度	分解能	価格
光学顕微鏡	×	×	×	ビデオレートロ	数μm O	0
共焦点顕微鏡	0	0	×	数min△	数μm O	0
X線CT	0	0	0	数十min~10h×	数μm O	×
超音波CT	0	0	0	ビデオレート〇	約100µm ×	0
FIB-SEM	0	×	×	破壊観察×	<1µm O	×
OCT	0	0	0	ビデオレート〇	数μm O	0



図 メソスケール破壊特性評価法の確立と高信頼性材料設計の研究の概念図



図 光コヒーレンストモグラフィーの概略図

# 2. 平成 29 年度の研究成果

以下に挙げるのは、平成 29 年度の具体的な研究成果で ある。

# (1) 透明蛍光サイアロンセラミックスバルク体の開発

これまでに、組成、焼成条件を変化させてサイアロンセ ラミックスの透過率向上のための検討を行った。その結果、 Y-α SiAION において、ガス圧焼結にて高密度かつ高透過 率の焼成条件を見いだした。これに緑色蛍光体である Eu2+賦活 β-SiAlON 粒子を分散させたところ、添加した β-SiAlON の蛍光・励起スペクトルと同様のスペクトルを 有するバルク体を得ることに成功した。また、赤色蛍光体 である Eu2+CaAlSiN3 粒子を分散させたセラミックスを実 現するために、Si-Al-O-N 系化合物の探索を進めたところ、 AINが CaAlSiN3 に対して安定な化合物であることがわか った。AIN セラミックスの透光化を行うために焼結助剤の 種類と量、焼成条件を変化させた実験を行った。その結果、 焼結助剤に由来して析出するアルミネート相の屈折率が AIN に近づけることにより、透光性が向上することが明ら かとなり、透光性発現のための条件をおおむね見いだすこ とができた。AIN は高熱伝導率材料でもあることから、樹 脂やガラスマトリックスと比較したより大きな優位性が 得られるものと期待される。

# (2) 低磁場中成形法による高熱伝導配向材料の開発

JST A-STEP ステージIIの支援を受けつつ、共同研究先 と連携して、種粒子の合成条件およびグラフェン被覆条件 を変化させてグラフェン被覆 Si3N4 粒子の調整を行い、各 種条件が複合粒子の性状に及ぼす影響を明らかにした。ま た、FIB-SEM を用いて、配向焼結体の微構造解析を行い、 粗大粒子が配向している様子を明らかにした。

# (3) メソスケール破壊特性評価法の確立と高信頼性 材料設計の研究

単結晶 Si をモデル材料として寸法、および、形状を変 化させてマイクロカンチレバー試験片を加工した。その結 果、機械的特性を適切に測定するために必要な、マイクロ カンチレバー試験片の断面の歪度(非対称性)の範囲を明 らかにした。また、多孔質 SiC の粒界強度を測定するため のマイクロカンチレバー試験片を加工した。これは、従来 の寸法と比較して幅、高さ、長さが 1/2~1/3 の極微サイズ である。この試験片を破壊して得られた粒界強度は、セラ ミックスでは実験的に示されてこなかった理論強度と同 等であることを世界ではじめて示した。

# (4) 光コヒーレンストモグラフィーによるセラミックスの構造形成過程のリアルタイム3次元観察

粒径 180µm の黒鉛粒子を添加して人工欠陥を導入した アルミナセラミックスを作製し、3次元 OCT 観察を行っ た。また、同じ領域に対して、X線 CT、超音波顕微鏡、 赤外線顕微鏡による観察も行った。その結果、OCT で観 察された人工欠陥の像と、他の手法で観察した結果は一致 し、OCT でセラミックス内部に存在する欠陥を観察でき ることが分かった。また、粒径 50µm の粒子を添加して同 様に検討した結果、深さ 700µm に存在する 50µm 以下の 大きさの欠陥も同定可能であることが明らかとなった。

#### う後の予定

以上の平成 29 年度の成果を踏まえ、引き続き革新的高 信頼性セラミックスの研究開発を進めていく。具体的な予 定は以下の通りである。

# (1) 透明蛍光サイアロンセラミックスバルク体の開発

これまでに得られた知見を活かして、黄色蛍光体である Eu2+賦活 α-SiAlON 粒子、および、赤色発光サイアロンセ ラミックスバルク体開発の実験を KISTEC 関連部署と連 携して進めていく。また、海老名本部4階実験室に導入し た冷間静水圧加圧装置を活用して、透明化のキーとなる成 形体の高密度・均質化の研究を進める。

#### (2)低磁場中成形法による高熱伝導配向材料の開発

スラリー調整法の高度化、焼成条件の最適化を通じて、 現行基板と同じ寸法の焼結体での機械的・電気特性の評価 および 140W/mK 以上の熱伝導率を実現する。さらには、 メタライズを行って実施した熱疲労試験を進めて、基板と しての課題の抽出と解決を図る。

# (3)メソスケール破壊特性評価法の確立と高信頼性 材料設計の研究

今後は、ユーザーからのリクエストの高い表面窒化処理、 コーティングを対象とした実験を進めていく。さらには、 SiCのメソスケールの破壊特性に関する研究の本質を見極 めるため、および、パワーモジュールとして利用されてお り信頼性に関する情報が必要な単結晶 SiC、および、SiC コーティングを用いて実験を行う。

# (4)光コヒーレンストモグラフィーによるセラミッ クスの構造形成過程のリアルタイム3次元観察

光コヒーレンストモグラフィーは、スラリーや成形過程、 焼結過程など、動的に内部構造が変化する様子も観察でき る。この時に OCT で観察される像の意味を、焼結体と同 様に他の手法を駆使しながら明らかにすることで、OCT 観察によるセラミックスの構造形成過程のリアルタイム 3次元観察手法を確立していく。

# 蛍光体粒子分散型透明サイアロンセラミックスの作製

# 1. はじめに

新しい照明用光源である白色 LED は、小型照明用途で 我々の生活の中で非常に身近な存在となった。小型 LED 照明の製品寿命は長いため, 今後, 市場規模は縮小方向に いくと予測されているが、 車のヘッドライトや、 スタジア ムやプロジェクションマッピングといった大規模光源に 利用されるような、高出力 LED の需要は近年急増してい る<sup>1)</sup>。図1(a)(b)は、従来型の白色 LED の構造である <sup>2)</sup>。白色 LED は、白色光を構成するための蛍光粉体とそれ を固定するための樹脂,および蛍光体を光らせるための励 起光源からなる。白色光を構成する蛍光色の組み合わせは, 三原色(青+赤+緑)と青+黄の2パターンがある。ハイ パワー白色 LED の場合, 蛍光粉体を固定する樹脂の熱伝 導性,耐熱性が低いため,高出力化に伴う発熱で樹脂が劣 化し,デバイスが故障することが問題である。したがって, 樹脂を使わない構造ができれば、ハイパワーLED の長寿 命化が期待できる。樹脂フリー化のためには、図2に示す ように、蛍光体そのものを透明なバルクセラミックスして、 組み合わせれば良い。既報の透明蛍光バルクセラミックス としては、黄色蛍光体として知られる Ce<sup>3+</sup>賦活 YAG セラ ミックスがある<sup>3)</sup>。Ce<sup>3+</sup>賦活 YAG セラミックスは,室温 では優れた蛍光特性をもつものの,温度依存性が強く,高 温になると発光強度が劇的に低下する問題がある<sup>4)</sup>。そこ で我々は,機械的強度に優れ,励起光である紫外光や青色 光を照射しても変性しない高耐久性をもつ SiAlON 系蛍光 体に着目した。

SiAION 系蛍光体は、物質材料研究機構(NIMS)で精力 的に研究開発されている窒化物系蛍光体 5-11)であり、温度 上昇による発光強度の低下が少なく,母体となる結晶と賦 活イオンの組み合わせで様々な発光色を実現できる特長 を有する。本研究では、サイアロン (SiAlON) 系蛍光体 を主軸とし,青,青緑,緑,黄,赤の計5種類の蛍光性を 示す透明な SiAION バルクセラミックスの開発に成功した。 一例として, 図 3 に作製した Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAlON バルク セラミックスをスタックさせたハイパワー青色 LED の発 光の様子を示す。スタックした Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAlON バル クセラミックスの厚さは 100μm である。本試料は, 乾式 成形と CIP (Cold Isostatic Pressing: 冷間静水圧プレス)成 形によって高密度な成形体を作製し、脱脂後、GPS(Gas pressure sintering: ガス圧焼成) と HIP (Hot Isostatic Pressing:熱間等方圧プレス)焼成を施して作製した。背 面から励起光である青色光を照射すると、Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAION バルクセラミックスからの黄色蛍光と透過した青 色光から白色が得られた。ただし,本成果は全蛍光体型の

高橋拓実, 多々見純一, 横内正洋







透明セラミックスであり、白色 LED 用材料の観点では、 蛍光体濃度の調整に課題があった。そこで本研究では、 SiAION 系蛍光体粒子を透明バルクセラミックス中に分散 させた、新しい形態の透明蛍光バルクセラミックスの開発 を目的とした。

目的とする蛍光体粒子分散型透明バルクセラミックス を実現するためには、①マトリックスの高透明化と②マト リックスと蛍光体粒子の反応性を考慮した材料設計が重 要である。例えば、樹脂よりも熱伝導性と耐熱性に優れる ガラスをマトリックスとし、SiAION 系蛍光体粒子を分散 させる試みもあるが、ガラスは SiAION 系蛍光体と反応し て失活させてしまう問題がある。したがって、SiAION 系 蛍光体粒子を分散させるマトリックスとしては、賦活元素 をドープしていない SiAION セラミックスが最適である。 また、熱伝導性や耐熱性、熱膨張率の観点でも SiAION セ ラミックスの方が優位である。そこで本研究ではまず、マ トリックスの一つである Y-α SiAION バルクセラミックス の高透明化を目指して、GPS 条件と組成の最適化を検討した。さらに、得られた知見を基盤技術として、緑色蛍光体である  $Eu^{2+}$ 賦活  $\beta$ -SiAION 粒子を分散させた Y- $\alpha$  SiAION バルクセラミックス、黄色蛍光体である  $Eu^{2+}$ 賦活 Ca- $\alpha$  SiAION 粒子を分散させた透明な Ca- $\alpha$  SiAION バルクセラ ミックスを作製した。

# 2. 実験と結果

2. 1 Y-α SiAlON バルクセラミックスの透明化

図4は、各 GPS 条件で作製した Y- $\alpha$  SiAlON バルクセラ ミックスの外観写真である。平均粒子径はそれぞれ図中に 示した。また、各試料の全透過率を示した。図4において、 いずれも試料の厚さは 400 $\mu$ m、直径は 11mm である。図4 から、平均粒子径が 470nm と最も大きく、1600°C4h で焼 成した試料の透過率が最も高いことがわかった。本結果を もとに、Y<sub>0。33</sub>: Si<sub>11-n</sub>Al<sub>1+n</sub>O<sub>n</sub>N<sub>16-n</sub>において、 n 値を 0.5-2 の間で変化させて試料を作製した。図5は、各試料の外観 写真と全透過率である。図5からわかるように、n 値が小 さいほど透光性は向上することがわかった。

**2。2 蛍光体分散型** α-SiAlON バルクセラミック スの作製

図 6 は、Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAlON 粒子分散型 Y-α SiAlON バル クセラミックスの(a)可視光下の外観写真,(b)紫外光 (365nm)照射下の外観写真と光学顕微鏡写真である。試 料厚さは 100µm,直径は 11mm である。図 4,5 と同様, 可視光下で試料後方の文字が明瞭に視認でき,優れた透明

性を有していることが確認された。また、後方からの紫外 光が緑色に変換されている様子から、蛍光性を示すことも 分かった。さらに、光学顕微鏡で内部構造を観察すると、 内部に分散した粒子が緑色蛍光していることがわかった。 図7(a)に原料として用いた Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粉体、(b) に Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粒子分散型 Y-α SiAION バルクセラ ミックスの蛍光・励起スペクトルを示す。図7から、Eu<sup>2+</sup> 賦活 β-SiAION 粉体と Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粒子分散型 Y-α SiAION バルクセラミックスは、いずれも青色光(440 nm) で励起され、533 nm で緑色蛍光を示しており、同じ蛍光 性を示すことが確認された。

図 8 は、蛍光体濃度を 1、5vol%で作製した Eu<sup>2+</sup>賦活  $\beta$ -SiAlON 粒子分散型 Y- $\alpha$  SiAlON バルクセラミックスの蛍 光・励起スペクトルである。蛍光体濃度 1vol%の場合と比 較して、5vol%では発光強度が増加することがわかった。 さらに、図 9 にマトリックスのみの Y- $\alpha$  SiAlON と、蛍光 体濃度を 1、5vol%で作製した Eu<sup>2+</sup>賦活  $\beta$ -SiAlON 粒子分散 型 Y- $\alpha$  SiAlON バルクセラミックスの(a) 直線透過率と(b) 全透過率を示す。測定試料の厚さは 100µm である。図 9 から、蛍光体濃度増加に伴い、直線透過率は低下する傾向 がみられるものの、全透過率は高水準を維持していること がわかった。図 10 は Eu<sup>2+</sup>賦活  $\beta$ -SiAlON 粒子分散型 Y- $\alpha$ SiAlON バルクセラミックスのプラズマエッチング面の SEM 写真である。図 10 より、マトリックスである Y- $\alpha$ SiAlON の粒径は約 400 nm であり、蛍光体粒子を添加した 場合でも、微細で均質な微構造を形成していることがわか



図 4 Y-α SiAION バルクセラミックスの外観写真(厚さ 400μm, 直径 11mm)と全透過率



図 5 Y<sub>0.33</sub>: Si<sub>11-n</sub>Al<sub>1+n</sub>O<sub>n</sub>N<sub>16-n</sub>の外観写真(厚さ400µm,直 径 11mm)と全透過率



図 6 Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粒子分散型 Y-α SiAION バルクセ ラミックスの (a) 可視光下の外観写真, (b) 紫外光 (365nm) 照射下の外観写真と光学顕微鏡写真





った。また、図 10 中に、一際大きな粒子が観察された。 これは添加した  $Eu^{2+}$ 賦活  $\beta$ -SiAION 粒子であり、原料の状態と同一の粒子径が焼結後も維持されていることがわかった。

図 11 は, 黄色蛍光を示す Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAlON 粒子分 散型透明 Ca-α SiAION バルクセラミックスの(a) 可視光 下の外観写真,(b)紫外光(365nm)照射下の外観写真と 光学顕微鏡写真である。試料厚さは100µm, 直径は11mm である。図 11 から,可視光下で試料後方の文字が明瞭に 視認でき、優れた透明性を有していることが確認された。 また,後方からの紫外光が黄色に変換されている様子から, 蛍光性を示すことも分かった。さらに,光学顕微鏡で内部 構造を観察すると、内部に分散した粒子が黄色く蛍光して いることがわかった。図 12(a) に原料として用いた Eu<sup>2+</sup> 賦活 Ca-α SiAlON 粉体, (b) に Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAlON 粒子 分散型透明 Ca-α SiAlON バルクセラミックスの蛍光・励起 スペクトルを示す。図 12 から, Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAlON 粉 体と Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAlON 粒子分散型透明 Ca-α SiAlON バ ルクセラミックスは、いずれも青色光(440 nm)で励起さ れ,580nm で黄色蛍光を示しており,同じ蛍光性を示すこ とが確認された。

#### 考察と今後の展望

一般に、セラミックスを透明化するためには、光の散乱 源となる気孔や粒界、または光を吸収するような領域を極 力低減する必要がある。また、ミー散乱では粒子の大きさ 程度以上の波長の光を散乱することから、マトリックスを 構成している粒子の大きさも重要である。

図4から、平均粒子径が400-500nmと微細ながらも、よ り高温で粒成長させたほうがより高い透過率が得られる ことがわかった。これは、より低温で粒成長が抑制された 場合、粒界ガラス相量が多くなり、ガラス相での吸収の影 響が大きくなるためと考えられる。他方、図5から、n値 が大きくなると透過率は低下することがわかった。n値は、 焼結助剤が多いほど大きくなる。焼結助剤は、焼成中に液 相を形成し、冷却後、粒界ガラス相を形成する。したがっ て、n値が多くなるほど粒界ガラス相による吸収が大きく なり、透過率が低下したと考えられる。

図9において、蛍光体濃度の増加に伴い、直線透過率が 低下したのは、添加した Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粒子の励起光 吸収が起こるためと考えられる。一方、全透過率は直線透 過率ほど低下していないが、これはマトリックスと蛍光体 粒子の屈折率差が小さく、光散乱が抑制されたことに起因 すると考えられる。

以上のように、本研究では優れた透明性を示しながら、 添加した蛍光体と同様の蛍光性を発現するバルクセラミ ックスの開発に成功した。白色 LED 用の材料という観点 でいえば、試料後方から入射した光は必ずしも直線的に透 過する必要はなく、前方に透過すれば、光源としては十分 である。そういう意味で、本成果物は十分なポテンシャル があるといえる。一方で、透明蛍光 SiAION バルクセラミ ックスは、高出力レーザーやシンチレーターへの応用も期



Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAlON 粒子分散型 Y-α SiAlON バルクセラミック スの蛍光・励起スペクトル



P 0 400 600 800 1000 Wavelength / nm

図 9 マトリックス単体と蛍光体濃度を 1, 5vol%で作製した Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粒子分散型 Y-α SiAION バルクセラミック スの(a) 直線透過率と(b) 全透過率



図 10 Eu<sup>2+</sup>賦活 β-SiAION 粒子分散型 Y-α SiAION バルクセ ラミックスのプラズマエッチング面の SEM 写真

待される。しかしながら、こうした用途では、より優れた 光透過性が求められる。今後は、より精密な微構造制御を 駆使し、さらなる高品質化を目指す。また、白色 LED 用 の光源材料として重要な赤色については、未達である。現 在、赤色蛍光体として主流の Eu<sup>2+</sup>賦活 CaAlSiN<sub>3</sub>(カズン) を添加した系でも、蛍光体粒子分散型の透明バルクセラミ ックスを開発中である。本研究の成果がいずれ、多様な形 で実用化されることがあれば、幸甚である。

# 【参考文献】

1. LED 照明推進協議会, JLEDS Technical Report, 2 (2008)

2. 別所 誠, 清水 恵一, 東芝レビュー, 65 [7], (2010)

3. G. Blasse, A. Bril, App. Phys. Lett., 11 [2], (1967) 53

4. 多田 尚史, 本越 伸二, 本田 能之, 實野 孝久, 藤岡 加奈, 吉田 実, レーザー研究, 38 [5], (2010) 382-385

5. R.J. Xie, M. Mitomo, K. Uheda, F.F. Xu, Y. Akimune, J. Am. Ceram. Soc., 85 (2002) 1229-1234

6. R.J. Xie., N. Hirosaki, M. Mitomo, Y. Yamamoto, T. Suehiro,K. Sakuma, J. Phys. Chem., B108 (2004) 12027-1203

7. K. Sakuma, K. Omichi, N. Kimura, M. Ohashi, D. Tanaka, N. Hirosaki, Y. Yamamoto, R.J. Xie, T. Suehiro, Opt. Lett. 29 (2004) 2001-2003

8. R.J. Xie., N. Hirosaki, M. Mitomo, K. Sakuma, N. Kimura, App. Phys. Lett. 89 (2006) 241103

9. K. Uheda, N. Hirosaki, Y. Yamamoto, A. Naito, T. Nakajima, H. Yamamoto, Electrochem. Solid-State

Lett., 9, (2006) H22-25

10. K. Uheda, N. Hirosaki, H. Yamamoto, phys. Stat. sol. (a) 203 [11], (2006) 2712-2717

11. N. Hirosaki, R.J. Xie, K. Kimoto, T. Sekiguchi, Y. Yamamoto, T. Suehiro, M. Mitomo, App. Phys. Lett. 86 (2005) 211905



図 11 Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAION 粒子分散型透明 Ca-α SiAION バルクセラミックスの(a) 可視光下の外観写真,(b) 紫外 光(365nm) 照射下の外観写真と光学顕微鏡写真



図 12 (a) 原料として用いた Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAION 粉体と (b) Eu<sup>2+</sup>賦活 Ca-α SiAION 粒子分散型透明 Ca-α SiAION バル クセラミックスの蛍光・励起スペクトル

# 磁場配向性におよぼす多層グラフェン被覆形態の影響と

# Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子配向性の定量評価法の検討

高橋拓実、多々見純一、矢矧束穂、高橋絵美

#### 1。 はじめに

SiCパワーデバイスの実用化は、低炭素化を達成するための省エネルギー化対策に必要不可欠といわれている<sup>1)</sup>。 しかし、実装、放熱、耐熱技術といった周辺技術の高度化 は十分進んでいるとはいえず、特に、サーマルマネジメン トのため放熱基板の革新的性能向上(厚さ方向への高熱伝 導率化)が求められている。Siパワーデバイスにおいて主 流の放熱基板である窒化アルミニウム(AIN)セラミック スは、170~200W/(m・K)の高熱伝導率を有している<sup>2)</sup>。し かしながら、AIN セラミックスは、曲げ強度が 300~ 400MPa、破壊靱性が約 3MPa・m<sup>1/2</sup>程度であり、機械的信 頼性が低い。SiCパワーデバイスは Siよりも動作温度が高 く、より大きな熱応力が作用することから、優れた機械的 特性をもつ窒化ケイ素(Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>)セラミックスが絶縁放熱 基板材料として注目されている。

本研究ではこれまで、β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>の熱伝導率が c 軸方向で より高いことに着目し、高磁場かつ回転磁場を用いた結晶 配向技術により、β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>の c 軸を厚さ方向の高度に一軸 配向制御した c 軸配向 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>セラミックスの作製に成功し た。さらに、より社会実装性の高いプロセスとして、粒子 複合化技術と磁場配向技術を融合した革新的低磁場配向 技術を開発した。本プロセスでは、巨大磁気異方性をもつ 多層グラフェンを柱状の β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 粒子の側部に被覆し、多 層グラフェンに作用する磁化エネルギーの異方性を利用 して β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子の c 軸をネオジム磁石級の低磁場かつ静 磁場で一軸配向制御する。本プロセスでも、同様のc軸配 向 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>セラミックスの作製に成功した。しかしながら、 より高度な配向制御を実現するためには、多層グラフェン 被覆した複合粒子の形態制御が重要である。そこで本研究 では、種粒子合成と多層グラフェン被覆条件を変化させ、 多層グラフェンの被覆形態を分析し、配向性のよい被覆条 件の検討を行った。

他方、高熱伝導率化のために、粒子配向性と熱伝導性の 関係を明確にする必要がある。焼結体の配向性を評価する 指標として、XRD パターンから目的とする結晶面のピー ク強度比を求める Lotgering 法が知られているが、Lotgering 法では材料を構成する個々の粒子の方位はわからない。そ こで本研究では、走査型電子顕微鏡を用いた電子後方散乱 回折法(SEM-EBSD)を用い、作製した c 軸配向 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> セ



図1 原料粉体の粒子形態 (A) 合成 β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子と(B) 多層グラフェン



図 2 機械的粒子複合化処理後の β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子 (FE-SEM で観察された反射電子像)

ラミックスを構成する個々の粒子の配向性を定量的に評 価することを試みた。

## 2。 実験と結果

ー例として、図 1 に (1) 1700°C2h で合成した柱状の β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子と (2) 原料に用いた市販の多層グラフェン の SEM 観察像(二次電子像)を示す。本条件で合成した β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子の平均アスペクト比は 2.4 であり、長軸方向 ならびに短軸方向の粒子径はそれぞれ 1-2 $\mu$ m と 0。5 $\mu$ m だ った。合成 β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子と多層グラフェンをそれぞれ 80vol%と 20vol%となるように秤量し、機械的粒子複合化



図3 異なる条件で調製された多層グラフェン被覆 β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子の反射電子像



図 4 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>セラミックスの EBSD 像(結晶方位マップ)と極点図
 (A) 0.5T 磁場を印加して作製した焼結体(B)磁場印加なしで作製した焼結体

装置へ投入した。複合化処理後の $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子の反射電 子像を図2に示す。図2では、図1(A)と異なり、粒子 の表面に暗い領域と明るい領域があり、全体的にその中間 のコントラストが見える。これまでの研究成果から、多層 グラフェン被覆した粒子の表面における暗い領域では C が検出されることが明らかとなっており、図2の場合も同 様の結果が得られた。また、中間のコントラストで観察さ れた粒子表面にも C が検出された。以上の結果から、こ れらの領域には多層グラフェンが被覆されていることが わかった。一方、明るい領域は、 $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子の表面が露 出しているものと考えられる。

同様の分析を、異なる種粒子合成と複合化の条件で処理 した多層グラフェン被覆 β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子の反射電子像を図 3 に示す。図 3 (A)の多層グラフェン被覆 β-Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子 では、図 2 と同様に、表面に暗い領域が観察される。一方、 図3(b)でも同様に観察されるものの、図3(A)と比較 すると、暗い領域は少なく、またその大きさも小さく見え た。図3(A)(B)の多層グラフェン被覆  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子の 配向性を確認するために、これらを種粒子とした成形体を 作製し、1900°C6hで焼成して焼結体とした。得られた焼 結体の配向性を XRDで測定した結果、図3(A)を添加し て作製した焼結体では c 軸配向性が認められたが、図3(B) を添加して作製した焼結体では c 軸配向性が認められな かった。この結果から、機械的粒子複合化処理後の  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 粒子の磁場配向性は、被覆された多層グラフェンの量や大 きさといった形態の影響を直接的に受け、被覆量や大きさ が小さい場合、配向性が明確に低下することがわかった。 他方、図3より、機械的粒子複合化処理後の  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子 は粒子径分布が幅広いことがわかった。

図4(A)は0.5T磁場を印加して作製した焼結体、(B)

は磁場印加なしで作製した焼結体の EBSD 像である。図中 に極点図も示した。図4より、磁場を印加して作製した焼 結体では、磁場印加方向に対して垂直な断面において、  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子の c 面 (図中、赤色)が明らかに多く露出し ていることがわかった。また、極点図を見ても、Z 方向(磁 場印加方向と平行方向)に高度に c 軸配向していることが わかった。他方、磁場印加なしで作製した焼結体では配向 性は認められず、構成している  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子が様々な方向 を向いていることがわかった。

図4で得られた結果をもとに、さらに定量評価を試みた。 図5は、磁場印加方向に対して垂直な断面において、  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子の[0001]方向に対する傾斜角度の分布を測定 した結果である。図5より、 $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>粒子は幅広い角度で 傾斜していることがわかった。

# 3。 考察及び今後の展望

Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> セラミックスにおける配向構造形成メカニズムは 次の通りである。まず、配向した種粒子の成長と同時に、  $\alpha \rightarrow \beta$  相転移で微細な  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>核が生じる。ここで、成長し た種粒子は  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>核の成長方向を制限するテンプレート の役割を果たすため、テンプレートに沿った方向を向いた  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>核が優先的に粒成長し、精緻な c 軸方向を形成し ていく。すなわち、c 軸配向 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> セラミックスを作製す るにあたり、磁場で  $\beta$ -Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>種粒子を配向させることは必 要不可欠であるが、同時に、焼成過程で十分な緻密化と粒 成長が起こらなければ、最終的に配向構造は形成されない。 図 4 では、低磁場でも良好な配向性を得られることを示し たが、極点図や図 5 をみると、まだ高配向化する余地が残 っている。さらに高配向化させるためには、種粒子をはじ め、プロセス条件の最適化を綿密に行うほかない、

今後は、配向性向上のために、被覆粒子上のグラフェンの結晶性向上を検討する。さらに、これを利用した大型成形体および焼結体の作製を進めたい。なお、現在(5月時点)、本件に関連した内容で、A-stepステージⅡの研究助成の支援を受け、企業と共同研究を行っている。

### 【参考文献】

1. 鶴田和弘, デンソーテクニカルレビュー, 16、 (2011).
 2. J.H. Harries, JOM, 50 (1998).



# メソスケール破壊特性評価法の確立

高橋拓実、矢矧束穂、飯島志行、多々見純一

## 1. はじめに

環境エネルギー分野や安心・安全な社会を支える重要な 各種構造用セラミックスや機能性セラミックスの研究開 発が進められている。これらの材料は社会実装が近づくに つれて、機械的信頼性の向上や耐久性の確保への要求が高 まっている。しかし、現時点で、高信頼性化のための材料 設計やその基礎となる破壊現象の理解は十分なされてい なかった。

セラミックスの破壊の素過程はこれを構成する要素の 破壊である。従って、セラミックスの機械的信頼性や耐久 性は、結晶粒子や粒界といった構成要素と同程度のサブµm から数十µm スケールの領域、すなわち、メソスケールで の破壊特性に支配される。これまでに、有限要素法による き裂進展シミュレーションや理論解析などが行われ、材料 の強度や破壊靱性を予測する試みがなされている。この計 算を妥当に行うためには、メソスケールの強度や破壊靱性 を用いなければならないが、使用可能な信頼できるデータ は限られていた。また、量子力学計算等による結晶粒子や 粒界の破壊現象の理解の試みも行われているが、計算結果 の妥当性を検証するためには実験値と比較しなければな らない。単結晶やバイクリスタルを擬似的な結晶粒子や粒 界と見なして実験的に破壊特性を評価することが検討さ れている。しかし、バルクな単結晶やバイクリスタルで実 験できる物質系はわずかであり、セラミックスの計算科学 を支援するには多様な材料系での破壊特性に関する情報 が必要であった。

これらの課題はメソスケールの破壊特性の実測で解決 できると考えられる。しかし、これまでそのような研究は なく、セラミックスの破壊現象の理解と高信頼性材料設計 は不十分なままであった。

これを受けて我々のグループでは、集束イオンビーム加 工装置を利用して断面が縦横数µm、長さが約10µmのマイ クロカンチレバー試験片を加工し、これをナノインデンタ ーで破壊試験することで、微小領域の強度や破壊靱性を測 定できる革新的手法を提案した。これまでに、バルクな単 結晶やバイクリスタルを作製することができないSi<sub>3</sub>N<sub>4</sub>セ ラミックス中の単一粒子(=単結晶)および粒界の破壊靱 性の実測に世界で初めて成功し、定性的な議論に留まって いたSi<sub>3</sub>N<sub>4</sub>セラミックス中の粒界破壊靱性の希土類添加物 依存性も実験的に解明するなど研究を進めている。この新 規な方法は現時点で一部の材料での検討であるが、従来得 ることのできなかった領域の強度と破壊靱性を実際の部 材を用いて実測できる点で極めて有用である。この手法を 拡張し、多様な構造の部材に対して、他の破壊特性も含め てメソスケールで評価可能になれば、破壊現象の理解に基 づく高信頼性設計による各種セラミックスの社会実装に 大きく貢献することができる。

そこで本プロジェクトでは、セラミックスの破壊を支配 するメソスケール破壊特性の評価法確立と微構造因子と の相関解明、および、これを活用した高信頼性材料の設計 と創製を行うことを目的として研究を進めている。平成 29 年度は、まず、これまでの研究で用いてきた単結晶 Si を用いて、寸法、および、形状を変化させてマイクロカン チレバー試験片を加工し、この破壊試験を行い、マイクロ カンチレバー試験片の形状と破壊試験条件が測定される 強度や破壊靱性に及ぼす影響を明らかにすることを目的 とした。また、多孔質 SiC 等にマイクロカンチレバー法を 適用し、従来測定法がなく実測されてこなかった領域の破 壊特性をピンポイントで測定することも行った。

#### 2. 実験と結果

#### 2.1 単結晶シリコンの機械的特性評価

近年、機器の微小化に伴って微小部材の需要が高まって いる。例えば、半導体の微細加工技術の発展により微小電 子機械システム(MEMS)が様々な分野で普及しており、MEMS デバイスの構成材料として単結晶シリコンをはじめとした 各種材料が用いられている。非常に微小な構造体である MEMS デバイスの機械的信頼性を確保するためには、これと 同程度のスケールでの機械的特性の評価を行うことが有用 である。また、単結晶シリコンはバルク体で各種機械的特 性が評価されており、マイクロカンチレバー法の確立のた めのモデル材料としては最も適切である。そこで本研究で は、マイクロカンチレバー法によるメソスケール破壊特性 評価法確立を目指して、単結晶シリコンの機械的特性を測 定することを目的とした。

#### 2. 1. 1 実験方法

本研究では単結晶シリコンの表面に集中イオンビーム加 工装置を用いて、断面が約2.5×1.5µmの五角形で長さが約 12µmのマイクロカンチレバー試験片を作製した(図1)。試 料の上面は(001)であり、試験片断面は(110)である。この 時、断面形状の非対称性の指標である歪度の異なる試験片 を作製した。作製した試験片に対し、トライボインデンタ ーを用いて支持部からの距離が10µmの位置を荷重点とする 破壊試験を行い、機械的特性を評価した。また、同じ方位 の単結晶シリコンで 0.5×0.7×6mmの試験片を作製し三点 曲げ試験を行い、機械的特性の比較を行った。



#### 2.1.2 実験結果と考察

図2にマイクロカンチレバー試験片の応力ひずみ曲線(図 中実線)を示す。応力印加直後は応力とひずみは比例関係 にあり弾性変形をしていることが確認された。この領域の 応力ひずみ曲線の傾きから算出したヤング率と試験片の歪 度の関係を図2に示す。これにより、歪度が0.06以下の試 験片では、測定されるヤング率は約176 GPa であり、今回 使用した方位での第一原理計算から求めたヤング率とよく 一致した。これは、この範囲の試験片であれば、他の機械 的特性も精度よく測定できることを意味している。

応力をさらに印加すると、ある応力からは応力とひずみ の関係が比例関係から外れた。試験片を破壊せずに荷重を 除荷した試験片(図中点線)ではヒステリシスを示して永 久ひずみが生じたことから塑性変形を起こしていることが 確認された。降伏応力の平均値は約4.1 GPa となり、この 降伏応力から塑性変形に必要なパイエルス力を計算すると 約1.7 GPa となった。圧縮試験で報告されているパイエル ス応力(約1.4 GPa)とよく一致した。また、マイクロカン チレバー法での曲げ強度は約7.4 GPa、三点曲げ試験の強度 は約174 MPa となり、両者に大きな差がみられた。単結晶 シリコンの破壊靱性から計算される破壊源の大きさは、マ イクロカンチレバー法では約15 nm、三点曲げ試験では26 µm となった。これは、マイクロカンチレバー法で使用する試 験片は微小であるため、粗大な欠陥が排除されたことによ り高い曲げ強度を示したものと考えられる。以上より、ヤ ング率の測定結果から今回のマイクロカンチレバー法での 機械的特性評価は妥当であり、単結晶シリコンの強度や塑 性変形などのミクロスケールに特有の機械的特性をマイク ロカンチレバー法により評価できることが明らかとなった。

#### 2. 2 多孔質 SiC の粒界強度の実測

多孔質 SiC は、耐熱性と熱伝導率の高さから、ディーゼル パティキュレートフィルタ (DPF) に用いられ、高強度化 が求められている。多孔体は粒子が粒界で部分的に接合し ている構造であることから、多孔体の破壊は粒子間接合部 である粒界の破壊と等価である。従って、粒界強度は多孔 体のバルク体強度を支配する重要な因子であると考えら れる。しかし、これまでに粒界強度を測定した研究例はな く、粒界強度とバルク体強度の関係は未解明であった。そ こで、本研究では、多孔質 SiC の粒界強度とバルク体強度 の関係の解明を目的とした。

# 2.2.1 実験方法

原料粉体として粒径 22µm と粒径 1µm の SiC 粒子を用い、 これらを 1:1 (重量比)の割合で湿式混合した。混合粉 体を成形したものを脱脂した後、Ar 雰囲気下、2200℃、3 時間保持条件で焼成を行い、粒径 10µm の粒子が粒界で接 合した多孔質 SiC を作製した(図 4)。粒界強度を測定す るために、断面が幅約 0.5µm、高さ約 0.9µm の五角形で片 持ち支持梁形状のマイクロカンチレバー試験片をその試 験片端が粒界になるように作製した(図 5)。マイクロカ ンチレバー試験片端部から 3µm の位置にナノインデンタ ーで荷重を印加して破壊試験を行った。強度は、最大荷重 と試験片寸法を用いて梁理論を仮定して算出した。一方、 バルク体強度は、断面が 3×4mm の試験片を用いて 3 点曲 げ試験により測定するとともに、この 1/2、1/5、1/10 の



図4 作製した多孔質 SiC の微構造

寸法の試験片とスパン間距離の 3 点曲げ試験でも測定した。

## 2.2.2 実験結果と考察

マイクロカンチレバー試験片の曲げ試験を行った際の 荷重は、荷重点変位に対して線形的に増加していた。また、 破壊に至った際の荷重点変位は試験片の高さよりも小さ な値であった。これらより、梁理論による最大応力の算出 は妥当であると判断される。また、SEM 写真より、マイク ロカンチレバー試験片の破壊は粒界で生じていた。従って、 マイクロカンチレバー試験片を用い、梁理論を仮定して得 られる破壊応力は粒界強度であると判断される。このよう にして試験片形状と最大荷重から算出された多孔質 SiC 中の粒界強度を表1に示す。多孔質 SiC の粒界強度はばら ついていたが、試験片12本の平均値は39.2GPaであった。 第一原理計算で予測されている  $\beta$ -SiC の粒界強度は、 $\Sigma$ 9<122>対応粒界で約 50GPa であり、本研究で得られた多 孔質 SiC の粒界強度の実測値の中で、高い方の値とおおむ ね等しい値であった。これは、本研究で得られた粒界強度 が、SiC の粒界の原子間結合を切断するために必要な理論 強度であることを意味している。また、一般に粒界構造は 結晶方位に依存しており、ランダムな粒界は前述の対応粒 界よりも粒界エネルギーが大きいことから、粒界強度も対 応粒界よりも小さな値になると予想される。さらに詳細な 検討は必要であるが、今回得られた粒界強度のばらつきは 粒界の結晶方位の差異に起因している可能性が示唆され る。今後 EBSD などで結晶方位を同定することで、その多 孔質 SiC の粒界強度の結晶方位依存性を明らかにできる と考えられる。

また、荷重印加開始直後は、荷重は変位に対して線形に 変化していたが、途中から前述の単結晶シリコンと同様に 非線形が現れた。この線形から外れた点を降伏点としたと きの降伏応力を求めたところ、その値の平均は21GPaとな った。これまでに引っ張りあるいは曲げ応力下でのSiCの 降伏現象は全く報告されていないが、SiCのような脆性的 な固体であっても、き裂先端のような引っ張り応力状態で 塑性変形が生じる可能性が示唆された。一方、圧縮応力下 でのSiC単結晶の降伏応力が近年マイクロピラーを用い て測定されており、<0001>方向に圧縮したときの降伏応力 として12~17GPaという値が報告されている。これは本研 究で測定した値とよく一致しており、本研究で測定された 降伏応力が妥当であると考えられる。

図3に3点曲げ試験で測定した多孔質SiCのバルク体強 度を示す。バルク体強度は、試験片寸法の減少とともに向 上した。この現象は寸法効果といい、小さな試験片ほど大 きな欠陥が存在する確率が減少するために生じると考え られており、ワイブル統計解析を適用して、試験片寸法と 平均強度の関係式が導出されている。この関係式に図6の 実験結果を代入して見積もられたネック部1個を持つ10 µmの試験片のバルク体強度は約210MPaとなった。

これらの 2 つの強度の関係について次のように考察した。図4に示すように、多孔体中の粒子が接合したネック



図 5 多孔質 SiC のネック部に作製した マイクロカンチレバー試験片

表

1	多孔質 S	iC の粒界強度
---	-------	----------

試験片	強度[GPa]
1	24.9
2	38.5
3	61.7
4	55.4
5	27.8
6	47.1
7	54.1
8	18.9
9	49.5
10	40.0
11	29.7
12	22.4
平均	39.2
標準偏差	14.4



図 6 多孔質 SiC の強度と試験片体積の関係

95

部の表面は曲率半径が負である。これに応力が作用した場 合、ネック部表面には応力集中により外部応力よりも大き な応力が作用する。SEM 写真からネック部表面の曲率半径 および気孔の長さを測定した結果、それぞれ 20nm および 53µm であった。これらの値と前述のように粒界強度から 見積もったネック部1個のバルク体強度は 382MPa となっ た。この値は寸法効果から見積もった値とおおむね一致し ていた。ただし、粒界強度の中でも低い強度を有するもの が多孔質 SiC 全体の強度を支配するという最弱リンク説 に則って、測定された粒界強度の中で強度が低い4本の平 均値 (23GPa)を用いてネック部1子を持つ試験片のバル ク体強度は 224MPa となり、両者はよく一致した。従って、 多孔質 SiC の破壊は粒界強度の分布を考えた最弱リンク 説に支配されることが示唆された。

## 3. 今後の展望

以上、単結晶シリコンを用いた実験結果より、メソスケ ール破壊特性を妥当に測定可能な試験片の形状に関する 知見を得ることができた。また、多孔質 SiC を用いた実験 により、従来得られなかった SiC の粒界強度の実測値を得 ることができ、その値を用いてバルク体の強度をよく説明 できることが明らかとなった。この点は、メソスケール破 壊特性評価に基づく高信頼性材料の設計という観点で、よ い成果が得られたと考えられる。今後は、ユーザーからの リクエストの高い表面窒化処理、コーティングを対象とし た実験を進めていく。さらには、SiC のメソスケールの破 壊特性に関する研究の本質を見極めるため、および、パワ ーモジュールとして利用されており信頼性に関する情報 が必要な単結晶 SiC、および、SiC コーティングを用いて 実験を行う。

# 光コヒーレンストモグラフィーによる

# Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>セラミックス中の不均質構造観察

高橋拓実,多々見純一,伊東秀高,田口勇

#### 1. はじめに

セラミックス製造プロセスは、粉体から始まり、スラリ ーや顆粒、成形体、焼結体と、各プロセス間で様々な構造 変化を伴う多段階プロセスである。我々は、例えば、焼結 体の構造には成形体の構造が、成形体の構造にはスラリー や顆粒の構造が直接影響を与えるように、プロセス全体が 連環していると捉え、この様を"セラミックスプロセスチ ェーン"と称している。プロセスチェーンを目的に応じて 最適化できれば、所望のセラミックスはできる。従来のア プローチでは、構造形成後の状態における特性を点評価し、 これらの間接的情報をもとにプロセス間の構造変化過程 を推測する方法であり、プロセスチェーンの最適化のため に非常に長い時間と労力を要していた。また、構造変化過 程がブラックボックスであることは、セラミックスプロセ スが職人技術と評される最大の原因であった。実際に、「製 品の強度信頼性を低下させる原因の特定が難しい」「粘度 や密度で工程管理しているにも関わらず、例外が多発す る」といった現場の声は多く、プロセスに潜むブラックボ ックスの解明は喫緊の課題といえる。このブラックボック スを解明する一助になる方法として、本研究では、光コヒ ーレンストモグラフィー (Optical Coherence Tomography: OCT) に注目した。

光コヒーレンストモグラフィー (OCT) は光の干渉を利 用した内部構造観察法であり、入射光と同じ波長と位相を もつ信号光 (反射直進光)のみを検出するため散乱光の影 響を受けず、高速スキャンによるその場観察が可能という 特長を有するが、これをセラミックスプロセスに適用した 報告はない。適用例の一つとして、セラミックスの高信頼 性化のための破壊源となる欠陥の非破壊・高速検出がある。 本稿では、人工的に欠陥を導入した Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> セラミックスの 内部構造を OCT で観察し、既存の内部構造観察法との比 較を行い、OCT 観察における基礎的知見を得ることを目 的とした。

## 2. 実験と結果

観察試料として、市販の Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 顆粒からなる乾式成形体 中に造孔材として真球状カーボン粒子をいれ、これを焼成 することで、100-200µmの球状欠陥群を含む焼結体(相対 密度 98%)を作製した。



図1 各手法で得られた Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>焼結体中の
 同一の球状欠陥群の観察像
 (a)赤外線顕微鏡(b)超音波顕微鏡
 (c) X線 CT (d) OCT (最大強度抽出)

図1は、観察試料の同一箇所に対して、赤外線顕微鏡、 超音波顕微鏡、X線CT、OCTによる内部構造観察を適用 した結果、得られた観察像である。赤外線顕微鏡では、内 部構造を反映した透過光を検出するため、深さ方向の情報 を含む2次元像が得られ、図1(a)に示すように、Al2O3 焼結体中の100-200umの球状欠陥群が明瞭に観察された。 次に、超音波顕微鏡では、試料中の音響インピーダンス差 により発生した超音波反射波を検出するため、図 1 (b) に示すように、球状欠陥の超音波照射側に近い界面が明る く観察された。また、X線 CT では、試料内部の相対的な X線吸収率差を可視化するが、気孔のように、吸収する物 質がない領域は暗く観える<sup>1,2)</sup>。図1(c)に示すように、 X線CTでも同様の配置の球状欠陥群が黒点として明瞭に 観察された。また、X線CTによる観察から、球状欠陥が 互いに異なる深さに存在していることもわかった。これら に対し、OCT では、深さ方向から観察した場合、観察対

象である球状欠陥が同一の高さに存在してないため、特定 の断面像(C-scan)のみでは全ての球状欠陥群が観察でき ない。そこで本研究は、ImageJ<sup>3-5)</sup>を用いて、取得した全て の断面像をスタックし、輝度が最大の領域を閾値フィルタ ーにより自動抽出し、一枚絵に表示する簡単な画像処理を 施した。その結果を図1(d)に示す。OCTも屈折率差に 起因した反射直進光を検出することから、球状欠陥の界面 での反射に起因する輝点が観察されるが、他の手法で観察 された球状欠陥群と同じ位置に強い信号が検出されてい ることがわかった。しかし、図1(d)のみでは、これが 球状欠陥なのかどうかの判断はできない。

図2は、図1(d) でスタックされた球状欠陥群の深さ 方向の断面像の一例である。特に、破線の円で囲んだ箇所 の球状欠陥について、見え方の変化が明確な断面像を選定 した。観察位置は、図2(a)  $\rightarrow$  (b)  $\rightarrow$  (c)  $\rightarrow$  (d) の順 により深くなる。まず、図 2(a) では、塊状の輝点の集 合構造(約 100µm)が鮮明に認識できた。さらに(b)→ (c) と観察位置が深くなると、集合構造の形態はリング 状に変化した。さらに図 2(d) では、再び塊状の集合構 造として観察されたが、その大きさは図 2 (a) と比較す ると、明確に小さかった。輝点の集合構造の観察形態が変 化する理由は、次の通りである。球状欠陥の上部の界面で は、反射による強い信号が検出されるため、塊状の輝点の 集合構造として観察される。欠陥内部では散乱因子がない ため光は透過するが、同じ高さにある球状欠陥の端部では 反射が起こる。このため、球状欠陥を横断する断面におい ては、リング状の輝点の集合構造が観察される。球状欠陥 の下部の界面に到達した光は、上部同様、反射されるが、 減衰による信号光強度の低下が起こるため、塊状の輝点の 集合構造の大きさは、より小さく観察される。図3は、図 1(d)や図2の観察面に対して垂直な断面(B-scan)から 観察した球状欠陥である。C-scan は観察範囲と解像度によ ってイメージング速度は異なるが、B-scanのイメージング 速度は光源のレーザー周波数に依存し、ほぼリアルタイム である。図3に示したように、B-scan でも球状欠陥が明瞭 に観察されることから、OCT 観察は焼結体中の欠陥の非 破壊高速検出も可能であることがわかった。この結果をも とに、我々は OCT 観察による強度試験片の強度予測にも 成功している。

さらに、より深部に存在するより微細な球状欠陥の観察 を試みた。試料は、50μm以下の球状欠陥を導入した Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 焼結体(厚さ 1.5mm)とした。まず、内部構造を OCT で 観察し、検出された欠陥の空間位置特定を行い、その後、 特定箇所を X線 CT(直交 CT)で観察した。

図4は、画像処理(Image Jを用いて、バックグラウン ドコントラストの均質化→明るさとコントラストの調整) 済みの OCT 像である。図中に示したように、引っ張り面 を基準として、深さ約750 $\mu$ mの位置に欠陥寸法44 $\mu$ m(OCT 像は Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の屈折率(1.7)補正後の寸法であるが、欠陥内 部は空気層なので、OCT 像のスケールに Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>の屈折率を 掛けて補正した値とした)の球状欠陥が観察された。 図 5 は、図4 と同一箇所を X 線 CT (直交 CT) で観察して得



図 2 OCT で観察された Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>焼結体中の球状欠陥 (最大強度抽出)



図 3 OCT で観察された Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>焼結体中の球状欠陥 (B-scan)



図4 OCT 像を用いた欠陥の空間位置特定



図 5 OCT 像と X線 CT 像の比較による欠陥同定

られた像である。比較として、図4に示した OCT 像の対象像も併せて示した。図5より、OCT 像で観察された位置と同一箇所に、欠陥寸法46µmの球状欠陥がX線CT像で観察され、図4で観察された欠陥と良い一致を示した。以上から、Al<sub>2</sub>O3焼結体中の深さ約750µmに存在する50µm以下の微小な球状欠陥をOCTにおいて観察できることが明らかとなった。

## 3. 考察及び今後の展望

OCTにより、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>焼結体中の球状欠陥を観察した。OCT では、同様の欠陥形態でも観察面によって見え方が変わる ことが分かった。たとえば、図2はC-scan像であるが、 球状欠陥は観察位置を下げていくにしたがって、輝点の集 合構造の形態が塊状→リング状→塊状と変化する。これに 対し、図 3-5 は同様の球状欠陥の B-scan 像であるが、球状 欠陥は対になった明るい領域として観察される。こうした 観察像の差異は、観察面によって入射光の反射の見え方が 異なることに起因する。実際には、OCT 観察は3次元観 察も高速で行うことができるため、多方向から同時に観察 すれば、欠陥形態の同定はそれほど難しくはない。ただし、 OCT 像の見え方は、観察対象の物性・材質・密度(気孔 率)によって異なるため、同じ物質であっても、内部構造 (粒子径や密度)が異なれば、欠陥抽出のための画像処理 法も当然異なる。したがって、OCT 観察法を確立するた めには、多様な系での OCT 観察の知見を蓄積し、これを データベース化することが重要と考えられる。

今後はこれらの知見をもとに、例えば、乾式成形におけ る顆粒の変形過程や、鋳込み成形過程、脱脂過程や焼結過 程における構造変化のその場観察を進める。特に、OCT は輻射の影響を受けないため、高温環境下の構造変化過程 の動的観察に適している。また、画像処理についても並行 して検討を進めており、目的に応じた機械学習による画像 処理の自動化を試みている。さらに、今回用いた OCT は、 あくまで医療用に最適化された市販の SS-OCT であり、産 業用途の OCT は未だ開発段階であることから、今後のさ らなる発展が期待される。

# 【参考文献】

1. T. Hondo, Z. Kato, S. Tanaka, J. Ceram. Soc. Japan, 122 (2014).

2. T. Hondo, Z. Kato, K. Yasuda, F. Wakai, S. Tanaka, Adv. Pow. Tech., 27 (2016).

3. Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, imagej.nih.gov/ij/, 1997-2018.

4. Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 9 (2012).

5. Abramoff, M.D., Magelhaes, P.J., Ram, S.J., Biophotonics International, 11 (2004).

# 業績

# 【原著論文】

 Degradation evaluation of Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> ceramic surface layer in contact with molten Al using microcantilever beam specimens, S. Fujita, J. Tatami, T. Yahagi, T. Takahashi, M. Iijima, J. Eur. Ceram. Soc., 37, 4351-4356, (2017)

# 【口頭発表】 【国外】

多々見純一(藤田紗帆、矢矧束穂、高橋拓実、飯島志行),Bending strength and fracture toughness of Si3N4 ceramic surface in contact with molten aluminum measured using microcantilever beam specimens、PacRIM12、2017年5月、アメリカ

2. 高橋拓実(佐渡万里子、杉本菜奈子、多々見純一、飯 島志行) C-axis oriented Si3N4 ceramics fabricated by preparing multilayered-graphene coated  $\beta$ -Si3N4 seeds and its orientation in a very low magnetic field、PacRIM12、2017 年 5 月、アメリカ

3. 多々見純一(高橋拓実、飯島志行) Transparent and Luminescent SiAlON bulk ceramics for high power LED, PacRIM12、2017年5月、アメリカ

4. 高橋拓実(多々見純一、飯島志行)Fabrication of translucent and fluorescent Eu doped CaAlSiN3 bulk ceramics by spark plasma sintering、,PacRIM12、2017年5月、アメリカ

5. 多々見純一 (鄭光珍、飯島志行、高橋拓実) Pulverization of Y2O3 nanoparticles by using nanocomposite particles prepared by mechanical treatment、PacRIM12、2017 年 5 月、 アメリカ

6. 高橋拓実(多々見純一),Orientation behavior of multilayered-graphene coated glass fiber in a magnetic field、PacRIM12、2017年5月、アメリカ

7. 多々見純一、Local mechanical properties of advanced structural ceramics measured using microcantilever beam specimens、ECerS2017、2017年7月、ハンガリー

8. 高橋拓実、Fabrication of translucent and fluorescent Eu doped CASN bulk ceramics using a spark plasma sintering technique、ECerS2017、2017年7月、ハンガリー

9. 井本有美(多々見純一、坂本文香、飯島志行、高橋拓 実、矢矧束穂、堀内崇弘、横内正洋)、Relationship Between strengths of a neck and a bulk body pf porous SiC、ECerS2017、 2017 年 7 月、ハンガリー

10. 坂本文香(高橋拓実、多々見純一、飯島志行)、

Fabrication of oriented h-BN/epoxy resin composites by applying a low magnetic field using multi-layered-graphene-coated platelets、ECerS2017、2017 年 7月、ハンガリー

11. 高橋拓実(多々見純一、飯島志行)、Fabrication of

Translucent CaAlSiN3:Eu 2+ Bulk Ceramics using a Spark Plasma Sintering Technique、ISNT2017 & ISSNOX5、2017 年8月、北海道

12. 井本有美(多々見純一、坂本文香、飯島志行、高橋拓 実、矢矧束穂、堀内崇弘、横内正洋)、Relationship between strengths of a neck and a bulk body of porous SiC、ISNT2017 & ISSNOX5、2017 年 8 月、北海道

13. 坂本文香(高橋拓実、多々見純一、飯島志行)

Fabrication of oriented h-BN/epoxy resin composites by applying a low magnetic field using multi-layered-graphene-coated platelets、 ISNT2017 & ISSNOX5、2017 年 8 月、北海道

14. 多々見純一、Fabrication of Transparent and Fluorescent Ca-α SiAlON:Eu Bulk Ceramics、ISNT2017 & ISSNOX5、2017 年 8 月、北海道

15. 佐渡万里子(高橋拓実、多々見純一、飯島志行)、

Improvement in thermal conductivity of Si3N4 ceramics through a low magnetic field orientation technique、ISNT2017 & ISSNOX5、2017 年 8 月、北海道

 高橋拓実(多々見純一、飯島志行)、先進セラミック スにおける傾斜微細構造のための粒子および粉体設計、
 JSPM 60th anniversary、2017 年 11 月、京都

17. 多々見純一 (高橋拓実)、Observation of internal structure of ceramic slurry, green body and sintered body by optical coherence tomography、ICACC2018、2018 年 1 月、アメリカ

18. 多々見純一(井本有美、飯島志行、矢矧束穂、高橋拓 実)、Measurement of grain boundary strength of the neck in porous SiC Ceramics using microcantilever beam specimens、 ICACC2018、2018 年 1 月、アメリカ

19. 多々見純一(坂本文香、高橋拓実、飯島志行)、 Non-destructive analysis and strength prediction of ceramics using optical coherence tomography、 ICACC2018、2018 年 1 月、アメリカ

## 【国内】

20. 井本有美(多々見純一、坂本文香、飯島志行、高橋拓 実、矢矧束穂、堀内崇弘、横内正洋)、多孔質 SiC の粒子 間接合部の強度とバルク体強度の関係、粉体工学会春季研 究発表会、2017 年 5 月、東京

21. 高橋拓実(多々見純一、坂本文香、飯島志行)、グラフェンの巨大反磁性が駆動する微粒子の低磁場配向、粉体工学会春季研究発表会、2017年5月、東京

22. 多々見純一(高橋拓実)、光コヒーレンストモグラフィーによるセラミック粉体、スラリー、成形体、焼結体内部構造観察、粉体工学会春季研究発表会、2017 年 5 月、 東京

23. 高橋拓実、高熱伝導率化のための c 軸配向窒化ケイ素

セラミックスの開発、サイエンス&テクノロジーセミナー、 2017年6月、愛知

24. 井本有美(多々見純一、飯島志行、矢矧束穂、高橋拓 実、堀内崇弘、横内正洋、近藤敏之)、多孔質 SiC の粒界 強度とバルク体強度の関係、日本セラミックス協会関東支 部研究発表会、2017 年9月、神奈川

25. 高橋拓実、微構造制御に立脚した高性能セラミックスの開発、バルクセラミックスの信頼性に関するワークショ ップ、2017年9月、静岡

26. 多々見純一(高橋拓実、飯島志行)、赤外線を利用したセラミックスの内部構造観察、第30回日本セラミックス協会秋季シンポジウム、2017年9月、兵庫

27. 高橋拓実(坂本文香、多々見純一、飯島志行、矢矧束 穂)、光コヒーレンストモグラフィーによる Al2O3 セラミ ックスの内部構造観察~他の内部構造観察法との比較~、 第30回日本セラミックス協会秋季シンポジウム、2017年 9月、兵庫

28. 坂本文香(高橋拓実、多々見純一、飯島志行、矢矧束 穂)、光コヒーレンストモグラフィーによる Al2O3 セラミ ックスの内部構造観察~人工欠陥の3次元観察と強度予 測~、第30回日本セラミックス協会秋季シンポジウム、 2017年9月、兵庫

29. 井本有美(多々見純一、飯島志行、矢矧束穂、高橋拓 実、堀内崇弘、横内正洋、近藤敏之)、マイクロカンチレ バー法で測定した多孔質 SiC の粒界強度、第 30 回日本セ ラミックス協会秋季シンポジウム、2017 年9月、兵庫

30. 高橋拓実、多層グラフェン被覆粒子を用いた低磁場配 向プロセスによる高機能性材料開発日本磁気科学会無 機・金属分科会研究会、2017年11月、京都

31. 坂本文香(高橋拓実、多々見純一、飯島志行)、3次元 光コヒーレンストモグラフィー観察によるセラミックス 焼結体の強度予測、第56回セラミックス基礎科学討論会、 2018年1月、茨城

32. 多々見純一(高橋拓実、飯島志行、矢矧束穂)、マイ クロカンチレバー試験片を用いたセラミックスの強度お よび破壊靭性のメソスケール測定、第56回セラミックス 基礎科学討論会、2018年1月、茨城

33. 秋元勇人(多々見純一、飯島志行、高橋拓実)、AIN セラミックスの透光性に及ぼす焼結助剤の影響、日本セラ ミックス協会 2018 年年会、2018 年 3 月、宮城

34. 山口拓志(多々見純一、飯島志行、矢矧束穂)、マイ クロカンチレバー法で測定した単結晶シリコンの機械的 特性、日本セラミックス協会 2018 年年会、2018 年 3 月、 宮城

35. 高橋拓実(多々見純一)、光コヒーレンストモグラフィーによる Al2O3 スラリーの内部構造観察、日本セラミックス協会 2018 年年会、2018 年 3 月、宮城

# 【特許】

(1) 国内特許出願 3件(2) 国外特許出願 2件
# 腸内細菌叢プロジェクト

解析ツール開発グループ

プロジェクトリーダー兼グループリーダー 大野 博司

### 【基本構想】

我が国において糖尿病患者は増加の一途をたどり、高齢者における主要な疾患である。糖尿病に肥満・高脂血症・高 血圧が合併するメタボリックシンドロームはその心血管合併症により日本人の健康寿命を短縮する最大の原因として、大 きな社会的・経済的問題である。最近腸内細菌と肥満、2型糖尿病といった生活習慣病との関連が動物やヒトで報告され、 これが肥満や2型糖尿病の誘因の1つとなっているのではないかと考えられている。従って摂取する栄養素やエネルギー 状態によって変化する腸内細菌叢を捉えることができれば、肥満や2型糖尿病などの生活習慣病の発症予測や治療に役立 つと考えられる。本研究では、摂取する栄養素やエネルギー状態の把握とメタゲノム解析による腸内細菌の菌種や機能と いった包括的な解析に加え、遺伝的背景を加味し、そのデータを横断的に解析することにより、食習慣、腸内細菌叢、生 活習慣病発症の相互関係を明らかにすることを目的とする。具体的には、東京大学付属病院の検診受診者で20歳から75 歳までの男女から肥満者100名、耐糖能異常者100名、肥満も耐糖能異常もない者計100名の合計300名のボランティ アを募集した。解析項目は、(1)簡易型自記式食事歴法質問票(BDHQ)を用いた食事調査と活動量計を用いた身体活動量 の測定、(2)腹部エコーを含む臨床データ(3)血中アディポカインの測定、(4)腸内細菌叢の16S・メタゲノム解析、(5)血 中・糞便中のメタボローム解析、(6)単核球を用いたトランスクリプトーム解析、(7)全ゲノムシークエンスによる遺伝子 多型解析、であり、これらのデータをもとに、統合データベースの作成と解析ツールの開発を行う。これにより、どのよ うな腸内細菌叢が生活習慣病発症に重要な役割をしているかが明らかになることが期待され、それを元にさらに新規バイ オマーカーなどの開発や予防薬、個別化医療といった新しい予防法やリスク診断の実現を目指す。

### 1. 研究背景

我が国において糖尿病患者は増加の一途をたどり、罹患 者数は約950万人を数えるに到っている。糖尿病は高齢者 における主要な疾患であり、糖尿病に肥満・高脂血症・高 血圧が合併するメタボリックシンドロームは動脈硬化を 促進し、心筋梗塞・脳卒中のリスク増大を介して日本人の 健康寿命を短縮する最大の原因となっており(図1)、大き な社会的・経済的問題である。



最近腸内細菌と肥満、2型糖尿病といった生活習慣病と の関連が動物やヒトで報告され、高脂肪食などエネルギー 過剰な状態では、通常より効率的にエネルギー源を獲得で きる腸内細菌が増加し、増加した腸内細菌により慢性的な 炎症などが惹起され、このことが肥満や2型糖尿病の誘因 の1つとなっているのではないかと考えられている。従っ て摂取する栄養素やエネルギー状態によって変化する腸 内細菌叢を捉えることができれば、肥満や2型糖尿病とい った生活習慣病の発症予測や治療に役立つと考えられる。

2型糖尿病と腸内細菌に関しては、2012年に中国から2 型糖尿病に関わる約 60,000 種類の最近遺伝子マーカーが 発見され、特に 2 型糖尿病患者で Clostridium 属や Bacteroides 属の細菌が優位であること、また2型糖尿病 患者では、腸上皮バリア機能の保持に重要な役割を果たす 酪酸の生合成に関わる細菌叢が減少しており, 逆に酸化ス トレスに対し保護的に働くカタラーゼなどの還元酵素と 逆相関することが明らかとなっている<sup>1</sup>。2013年にはのコ ホートにおいて 70 歳時の正常耐糖能者、耐糖能異常者、 2型糖尿病の比較解析から Clostridium 属、Ruminoccocus 属、Faecalibacterium 属が正常耐糖能者で優位に、 Lactobacillus gasseri が2型糖尿病患者で優位であるこ とが見出され, さらに酪酸を産生する腸内細菌の数が健康 な女性に比べ減少していることが報告された<sup>2</sup>。また境界 型糖尿病が正常耐糖能に近いグループと 2 型糖尿病に近 いグループに分類できることが明らかとなった。さらにヨ ーロッパ人と中国人のコホートで糖尿病の同定につなが るメタゲノムマーカーが異なることが示唆された。このよ うに腸内細菌叢には民族差が認められ、同じアジア人でも 健常者において中国と日本で異なる腸内細菌叢を有して いることが報告されている<sup>3</sup>。腸内細菌は食事によっても 大きな影響を受けることから、食事を加味した腸内細菌と

2 型糖尿病の関連を明らかにしていくと同時に、その代謝 産物や血中の RNAseq データなどを加味した日本人の 2 型 糖尿病における腸内細菌叢のプロファイルを明らかにし ていくが重要である。我々はこれまでに腸内細菌叢、2 型 糖尿病発症メカニズム、メタボローム解析を用いた脂質代 謝調節といったメカニズム解析を行ってきており十分な 成果を見出してきており<sup>4-6</sup>、本研究を行うに辺り十分な素 地が備わっている。

そこで本研究では、摂取する栄養素やエネルギー状態の 把握とメタゲノム解析による腸内細菌の菌種や機能とい った包括的な解析に加え、遺伝的背景、代謝産物データを 加味し、そのデータを横断的に解析することにより、食習 慣、腸内細菌叢、生活習慣病発症の相互関係を明らかにす る。

### 2. 研究の目的

本研究では、摂取する栄養素やエネルギー状態の把握とメ タゲノム解析による腸内細菌の菌種や機能といった包括 的な解析に加え、遺伝的背景を加味し、そのデータを横断 的に解析することにより、食習慣、腸内細菌叢、生活習慣 病発症の相互関係を明らかにすることを目的とする。研究 対象者は、東京大学付属病院の検診受診者で20歳から75 歳までの男女の中から、肥満者 100 名、耐糖能異常者 100 名、肥満も耐糖能異常もない者 計 100 名の合計 300 名の ボランティアである。また2週間以内に何らかの抗生物質 を投与あるいは内服した者、何らかの消化器系の薬を内服 している者、糖尿病治療薬を内服している者、3ヶ月以内 に体重が3kg 以上増減した者は、腸内細菌叢に影響を与 える可能性が大きいためリクルートから除外した。解析す る項目は、(1) 簡易型自記式食事歴法質問票 (BDHQ) を用い た食事調査と活動量計を用いた身体活動量の測定、(2)腹 部エコーを含む臨床データ、(3)血中アディポカインの測 定、(4)腸内細菌叢の16S・メタゲノム解析、(5)血中・糞 便中のメタボローム解析、(6)単核球を用いたトランスク リプトーム解析、(7)全ゲノムシークエンスによる遺伝子 多型解析である。本研究では、これらのデータを元に統合 データベースの作成と解析ツールの開発を行う。これによ り、どのような腸内細菌叢が生活習慣病発症に重要な役割 をしているかが明らかになると期待され、さらにそこから 新規バイオマーカーなどの開発や予防薬、個別化医療とい った新しい予防法やリスク診断の実現を目指す。

### 3. 研究の成果

(1) 簡易型自記式食事歴法質問票 (BDHQ) を用いた食事調 査と活動量計を用いた身体活動量の測定

本年7月よりリクルートを開始した。現地点で131名をリ クルートし、現在110名の同意を得ることができており、 同意取得率83.9%と順調に経緯していると考えている(図 2)。また BDHQ と活動量計については、今後の食習慣や身 体活動量の参考にしていただくために、その一部のデータ を被験者に返却した。

(2) 腹部エコーを含む臨床データ

## 図2 食習慣と活動量のリクルート状況

Month	同意なし	同意あり	肥満も耐糖 能異常なし	肥满者	耐糖能 異常者	同意 取得率(%)	Total/M
Jul/17	1	17	3	4	10	94.4	18
Aug/17	3	15	3	7	5	83.3	18
Sep/17	3	11	3	4	4	78.6	14
Oct/17	5	16	7	5	4	72.2	21
Nov/17	2	18	8	7	3	89.5	20
Dec/17	3	10	0	8	4	76.9	13
Jan/18	1	10	5	2	2	90.9	10
Feb/18	1	7	4	1	2	87.5	8
Mar/18	3	6	3	1	2	66.7	9
Total	22	110	36	39	36	83.9	131

同意撤回者/糞便未提出者/解析困難者が9名存在し、肥満 も耐糖能異常もない者106名、肥満者97名、耐糖能異常 者(肥満+非肥満者)100名のサンプル採取が終了するとと もに、腹部エコーを含む臨床データを取得することが出来 た。

(3) 血中アディポカインの測定

303 名分に対し Adiponectin, MCP-1, CRP といった血中の アディポカインの測定を終了した。

(4) 腸内細菌叢の 16S・メタゲノム解析

肥満も耐糖能異常もない者 106 名、肥満者 97 名、耐糖能 異常者(肥満+非肥満者)100 名の糞便検体を用いて、リゾ チーム・アクロモペプチダーゼ・プロテイナーゼKの酵素 処理による溶菌、フェノール・クロロホルムによるDNA 抽 出後、16S rRNA 遺伝子の V1-2 領域を PCR で増幅しシーク エンシングを行った。その結果、α多様性には変化が認め られなかったが、門レベルで肥満群での Bacteroidetes の 増加、ならびに耐糖能異常群での Bacteroidetes の減少を 認めた。更に肥満群では Actinobacteria が増加傾向であ った。Indicator species analysis にて菌種の比較を行 ったところ、耐糖能異常群で Lactobacillus mucosae、 Prevotella sp. などが増加していた。

(5) 血中・糞便中のメタボローム解析

健常者(107人)、肥満者(99人)、耐糖能異常者(100人) の糞便から水溶性代謝物と短鎖脂肪酸を抽出しメタボロ ーム解析を行った結果、全サンプルから237物質を同定し た。代謝物の全体的な傾向を調べるため、主成分分析 (PCA) による比較を行ったが、PCA のスコアプロットは各被験者 のグループごとに分離されず水溶性代謝物の全体像は3 群間で大きな違いはなかった。次に ANOVA による統計検定 を行い、3 群間で有意差のある代謝物を調べたところ 22 物質が3群間で違いが見られた。さらに、臨床データと水 溶性代謝物との相関解析を行った結果、耐糖能異常者では 空腹時血糖とヘモグロビン Alc が高い事が診断基準とな るが、これらの数値と相関が高い代謝物は Arginine、 Glutamine、Hydroxylamine、Hydroquinone 等であった。 また、肥満者では体重、BMI、腹囲等が診断基準となるが、 これらの数値と相関が高い代謝物には糖類やポリアミン が含まれていた。

短鎖脂肪酸以外の脂溶性代謝産物については、健常者(50人)、肥満者(50人)、耐糖能異常者(50人)の糞便から 抽出しノンターゲット法によるメタボローム解析を行っ た。Peak alignment により測定に耐えうるサンプルのみ を MS/MS 解析したところ、693 物質を同定した。さらに各 群で 2 倍以上変化があり、P 値が 0.05 を下回ったものは 55 物質であった。

(6) 単核球を用いたトランスクリプトーム解析

正常者、肥満患者、糖尿病予備群(IGT)を含む合計 200 名 の末梢血単核細胞から、RNA を抽出し CAGE 遺伝子発現解 析を行い、疾患バイオマーカーの同定を行った。正常者に 比べ肥満患者・糖尿病予備群で発現量が上昇した遺伝子に は、免疫細胞のシグナル伝達に重要な PTPN6(SHP1)、2 型 糖尿病のリスク遺伝子である TCF7L2 など疾患との関連性 が報告されているものが複数含まれていた。

(7) 全ゲノムシークエンスによる遺伝子多型解析

肥満も耐糖能異常もない者 20 名に対してイルミナ社 TruSeq DNA PCR-Free Sample Prep Kit を用いてライブラ リーを作製後、イルミナ社の HiSeqX を使用して全ゲノム シークエンスを行った。ライブラリーの両側から配列を 151 bp、1 サンプル当たり 45 Gbp 以上を解読した。

(8) 統合データベースの作成と解析ツールの開発

臨床データとその解析から得られたデータをハードウェ アレベルから分離し保存することができるようにし、緊急 時に備えデータのセキュリティ問題に機敏に対応できる ようにした。また、外部からのセキュリティの危険および システムトラブルにスムーズに対応できるように0S(オペ レーティング・システム)レベルでのサーバ仮想化を導入 して各システムを分離して運営することができるように 構成した。メインのウェブプラットフォームの構築前にデ ータ収集のため使用可能なウェブ基盤のファイルブラウ ザを構築してデータ収集に利用することができるように 準備した。さらにデータに対しては約200人のアディポサ イトカインデータおよび約100名分の臨床プロファイリ ングデータ収集を完了した(図3)。



## 4. 今後の研究計画

(1) 簡易型自記式食事歴法質問票(BDHQ)を用いた食事調 査と活動量計を用いた身体活動量の測定 東京大学検診部や病態栄養治療部の現場スタッフと密に 連携し、クレームへの対応を検討するとともにリクルート 率の向上を図っていく。

(2) 腸内細菌叢の 16S・メタゲノム解析

糞便からのDNA抽出効率を上げるとともに各群100名の検 体を収集し腸内細菌叢を解析後、各種臨床パラメーターや メタボローム解析結果との相関解析やクラスター解析を 行う。

(3) 血中・糞便中のメタボローム解析

血清中のアミノ酸や短鎖脂肪酸濃度についても測定して いく。解析したデータについて、個々人の糞便中のアミノ 酸や短鎖脂肪酸濃度との相関解析を行うとともに、腸内細 菌叢との関連解析を行い、これらの代謝物の変化と関連す る細菌を探索する。さらに脂溶性代謝産物に関しては、解 析サンプル数を増加させるとともにノンターゲット法で 候補になった物質に関して、ターゲット法を用いて精度を 上げて測定していく。

(4) 単核球を用いたトランスクリプトーム解析

複数の遺伝子発現量の組み合わせ、さらにマイクロバイオ ーム、メタボロームデータを組み込むことで、より高い確 率で正常者と肥満・糖尿病予備群を識別できるアルゴリズ ムの開発に取り組む。これらの遺伝子は、疾患メカニズム に関わっている可能性もあることから、今後ノックアウト マウスなどを用い疾患との因果関係を検証していく。 (5)全ゲノムシークエンスによる遺伝子多型解析

統合データベースおよび解釈プラットフォームをそれぞ れのサブパートに分けてモジュール化し、臨床データおよ び解析データを安全に保存し便利な使用環境と融通性あ る活用が可能となる統合データベースおよび解析プラッ トフォームの構築を行う。

#### 5. 参考文献

1. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. Nature. 49:55-60, 2012.

2. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, Nielsen J, Bäckhed F. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. Nature. 498;99-103, 2013.

3. Nishijima S, Suda W, Oshima K, Kim SW, Hirose Y, Morita H, Hattori M. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. DNA Res. 2:125-133, 2016.

4. Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y,

.

Yoshimura K. Tobe T. Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K. Kikuchi J. Morita H. Hattori M. Ohno H. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. Nature 469;543-547, 2011.

5. Endo J, Sano M, Isobe Y, Fukuda K, Kang JX, Arai H, Arita M. 18-HEPE, an n-3 fatty acid metabolite released by macrophages, prevents pressure overload-induced maladaptive cardiac remodeling. J Exp Med 211, 1673-1687, 2014.

6. Kubota T1, Kubota N, Kumagai H, Yamaguchi S, Kozono H, Takahashi T, Inoue M, Itoh S, Takamoto I, Sasako T, Kumagai K, Kawai T, Hashimoto S, Kobayashi T, Sato M, Tokuyama K, Nishimura S, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Yamazaki T, Ezaki O, Kawamura K, Masuda H, Moroi M, Sugi K, Oike Y, Shimokawa H, Yanagihara N, Tsutsui M, Terauchi Y, Tobe K, Nagai R, Kamata K, Inoue K, Kodama T, Ueki K, Kadowaki T. Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle. Cell Metab;13:294-307, 2011.

業績

## 【原著論文】

なし

## 【総説】

 21. 窪田哲也 肥満に伴う高インスリン血症がマクロファ ージの適応障害を誘導しインスリン抵抗性を惹起する。 適応医学 20(2) 2-7

## 【書籍】

なし

## 【口頭発表】

 1. 大野博司 腸内細菌叢と免疫について 日本動物用医薬 品協会 第49回学術講習会 2017年9月22日 東京

 2. 大野博司腸内細菌叢と疾患・生体防御 第45回日本臨床 免疫学会総会(合同シンポジウム1) 2017年9月28日 東京

3. 大野博司 腸内細菌叢と疾患・生体防御 第 39 回日本臨 床栄養学会総会・第 38 回日本臨床栄養協会総会 第 15 回 大連合大会ワークショップ 2017 年 10 月 14 日 千葉

4. 大野博司 腸マイクロバイオームと疾患・生体防御・免疫第49回日本小児感染症学会学術集会 特別講演 2017
 年10月21日金沢

5. 大野博司 腸内細菌が健康と病気に及ぼす影響「長野 ブランド郷土色」平成 29 年度第 2 回公開シンポジウム 2018 年 1 月 15 日 長野

6. 窪田哲也 肥満におけるマクロファージ Irs2 の役割の解
 明 第 32 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会 2017
 年 2 月 23 日 名古屋

## 【特許】

- (1) 国内特許出願 0件
- (2) 国外特許出願 0件

## 腸内細菌叢プロジェクト

腸内環境制御グループグループリーダー 福田真嗣

【基本構想】

本プロジェクトは、近年増加傾向にある様々な疾患と関連が示唆されている腸内細菌叢を含む腸内環境 を適切に制御することにより、腸内環境のバランスの悪化が起因となる疾患の予防や治療につながる腸内 環境制御システムの基盤構築を目的とする。

ヒトの腸管内にはおよそ1,000 種類、100 兆個にも及ぶとされる腸内細菌が生息している。正常なバラ ンスを保っている腸内細菌叢は外部から侵入する外来細菌の定着を防いだり、宿主免疫系を活性化したり する。しかし、腸内細菌叢のバランスの乱れは大腸炎や大腸がんといった腸管関連疾患のみならず代謝疾 患、自己免疫性疾患などの発症にも関連することが報告されている。遺伝子解析技術の進歩により、腸管 内に生息する細菌叢の構成、種類などが明らかになってきたが、生息する個々の腸内細菌が果たす役割も しくはその培養方法に関しては研究途上となっている。また、腸内細菌叢由来の代謝物質が宿主の健康維 持や疾患に深く関与していることが示されてきたが、それらがどのような腸内細菌により産生されている かは不明な点が多い。

腸内細菌叢を含む、腸内環境を適切に制御するためには個々の腸内細菌の特性を理解し、腸内細菌叢由 来の代謝物質や菌体自身が宿主へ与える影響を知ることが重要となる。腸内細菌が主に生息する大腸は嫌 気性環境であり、腸内細菌叢を構成する細菌のほとんどは偏性嫌気性細菌に区分されている。これまで、 専用の培養容器と脱酸素・炭酸ガス発生剤を組み合わせた簡易的な嫌気環境下やグローブボックスなどの 嫌気培養装置を使用した腸内細菌の単離培養も進んでいる。また、腸内細菌の単離培養に使用することが できる培地もいくつか市販されている。しかしながら、標的腸内細菌の培養が困難なケースが報告される など、腸内細菌の培養技術については改善が必要とされる部分も数多く残されている。ゆえに難培養性腸 内細菌の培養技術の開発が最優先課題となる。そこで、本プロジェクトの鍵となる腸内環境制御システム の構築を行うために(1)難培養性腸内細菌の新規培養方法の確立する(2)難培養性腸内細菌単独定着マ ウスを作製し、それらが宿主に与える影響を解析する。これらの研究を遂行することで、腸内環境制御を 行うための創薬やサプリメント、機能性食品の開発につながり、健康維持、疾患予防および新規治療方法 開発に貢献できると考えている。

## 1. 研究目的

プロジェクト初年度となる平成 29 年度は以下の各項目 を重点項目として定めた。

(1) 腸内細菌基準株の安定的培養技術の確立

腸内細菌叢を構成している個々の腸内細菌を得るため には主に二つの方法がある。一つ目は、実際に腸内細菌叢 が含まれているヒトやマウスの便試料を培地プレート上 に播種し、コロニーを形成させ、単離する方法である。二 つ目は微生物バンクに登録されている腸内細菌基準株を 入手し、培養する方法がある。腸内細菌基準株はいくつか のバイオリソースセンターから入手することができるが、 日本国内において腸内細菌を含む微生物基準株は理化学 研究所バイオリソースセンター(以下理研 BRC とする)内 の微生物材料開発室に保管、登録されている(図 1, URL: http://jcm.brc.riken.jp/ja/)。

これらの登録されている微生物株は基準を満たす研究 設備を備えた上で、必要な手続きを行うことで購入するこ とが可能である。本プロジェクトを遂行するにあたり、先 行研究において蓄積してきたヒトおよびマウスの腸内細 菌叢の解析データと過去の論文報告などを照らし合わせ ることで重要度が高い腸内細菌を選定してきた。本リスト に含まれる入手可能な腸内細菌基準株は理研 BRC より購 入し、今後の研究に向け嫌気チャンバー内にて安定的かつ 容易に培養する方法を模索してきた。

	科局発度 (JCM)		<b>(</b> ()] 2 <b>(</b> )	NBRP	Train Course
ALL # X0K0+4 MICROBE DIVISION 發生物材料開発室		• VY-AKEYAT • Alfighter •		30	35
CONTRACTOR OF CO	Hereitan ann an Anna Anna Anna Anna Anna Anna	28.0000048883;* 1997:00.000 (0.00008883;* 1995:00.00009883;* 1995:00.0009883;* 1995:00.0009883;*		8388932	CHRISTOCHE

図1理研 BRC 微生物材料開発室のホームページ 微生物株の提供のみならず、寄託・譲渡も依頼することが できる(URL: <u>http://jcm.brc.riken.jp/ja/</u>)。

JCM Catalogue	
Lactobecilius acessoriarians Entant et al. 1986	
Deckers is NNR fandere Besters Desense for the Localization on the second s	
MEP = 6.1         Internal 101001           ACC CONT COLD LINE ACCULUTE AND ACCULUTES AND ACCULUTE	
Next Info Permit Party Sector	
References) and the same Laborate Advices Advices Advices	
Delivery company, Discostor, A. or C. Ownerson, A. or C.	
Mattay and party aways of the photon was performed as the line of performance as not of party aways. The submetry of the endow was continued by endowing an expression game expression (a.g., the 155 BNA spectra personages) as the format of the endowing on the endowing one endowing on the endowing one endowing on the endowing one endowing on the endowing on the endowing one end	Capito of LSU dNA gam the ITS report

図2 腸内細菌基準株の検索結果の一例、個々の基準株の 基本的情報を得ることができる

(2) 新規ヒト由来腸内細菌の単離、培養技術の確立

ヒトやマウスの腸内細菌叢において主要な割合を占め る腸内細菌に関しては基準株として単離されているもの が多い。その一方で、腸内細菌叢の中で割合が低く、数が 少ない腸内細菌の単離、培養は難しく培養の工夫や新規培 養法の開発が必要となってくる。腸内細菌の多くは偏性嫌 気性細菌に分類され、培養中に酸素が混入してしまうと死 滅することもある。このような腸内細菌を失わないために は単離、培養する際に、培養環境中の酸素を可能な限り除 去することが必要となる。また、我々の体内には食物に由 来する多くの栄養素や未消化物が存在しており腸内細菌 はそれらを栄養源として増殖している。そのため細菌の増 殖に必要な栄養等を添加した新たな培地を作製すること も重要となる。

腸内細菌の培養ノウハウを得るために腸内細菌叢解析 の研究拠点である慶應義塾大学先端生命科学研究所と協 力し、嫌気性培地作成方法の確立および嫌気性チャンバー のセットアップを実施した。はじめに、理研 BRCより入 手した腸内細菌基準株の中でも厳密な嫌気環境下でしか 生育できない腸内細菌を用いて、実際に嫌気環境が構築で きているか否かを検討する。嫌気環境下での培養条件が整 ったところで、実際に健常人の便試料からの腸内細菌の単 離を試みた。

(3) 腸内細菌単独定着マウスの構築に向けた共同研究契約 の締結および共同実験の開始

先の項目でも記したように慶應義塾大学先端生命科学 研究所では数多くの腸内細菌叢の解析やその代謝物の網 羅的解析を実施している研究機関である。また、慶應義塾 大学の湘南藤沢キャンパスでは実験動物を用いた機能性 食品の評価を行っている。これらの研究ノウハウは本プロ ジェクトを円滑に進めていくための強力なツールと考え、 共同研究契約を締結し、互いの研究ノウハウを融合させる ことで新規腸内細菌の分離培養技術の構築を試みること にした。

単離、培養方法が確立した腸内細菌が生体に与える影響 を評価するためには、腸内細菌単独定着マウスを構築し、 代謝物の網羅的解析や腸管上皮細胞、免疫細胞の組成や数 を検討する必要がある。本プロジェクトの拠点である川崎 生命科学・環境センター(LiSE)には実験動物の維持、繁 殖、実験を実施するための施設が備わっていない。そこで 隣接する公益財団法人実験動物中央研究所(以下 CIEA と する)と連携して本プロジェクトを遂行することにした。 CIEA は実験動物の維持、供給、個体復元を担い、実験動物 に関するあらゆるノウハウを有する国内屈指の研究機関 である。本プロジェクトの必要となる腸内細菌単独定着マ ウス作成に必要な無菌マウスの繁殖及び維持方法が確立 されているため、共同研究を実施することにした。

#### 研究成果

平成 29 年度は以下に挙げる具体的な研究成果を得る ことができた。実験方法、結果の詳細は研究員報告書に記 載するため要点を示す。

### (1) 腸内細菌基準株の安定的培養方法の確立

独自に作成した腸内細菌株のリストを元に、理研 BRC か ら入手可能な腸内細菌基準株 40 種類 (グラム陽性菌 25 種 類、グラム陰性菌 15 種類)を入手した。本年度はそのう ち 34 種類の腸内細菌基準株の培養を嫌気チャンバー内で 試みた。はじめに嫌気性菌の一般的な培養に広く用いられ ている GAM ブイヨンを用いて寒天培地、液体培地を作成し、 腸内細菌基準株の培養を実施した。検討を行った 34 種類 の腸内細菌基準株のうち、18種類のグラム陽性菌、9種類 のグラム陰性菌の安定的な培養に成功した。一方で、いく つかの腸内細菌基準株は GAM ブイヨン培地で増やすこと ができなかった。そこでより栄養素が豊富に含まれている YCFA 培地をベースにさらにいくつかの栄養素を加えた改 良型 YCFA 培地を作製し、これらの培養を試みた。その結 果、さらに3種の腸内細菌基準株の培養に成功し、平成29 年度は合計 30 種類の腸内細菌基準株の安定的培養方法を 確立できた(表1)。

一方で、4 種類の腸内細菌基準株に関しては GAM 培地、 改良型 YCFA 培地のどちらでも培養することができなかっ た。これらの腸内細菌基準株に関しては、引き続き組成の 異なる培地を用いて安定的な培養方法の確立を目指して いく。また、本年度内に培養検討ができなかった6種類の 腸内細菌基株に関しても、同様に培養の確立を試みる。

	基準株入手数	培養成功数	培養検討中
グラム陽性菌	25	20	5
グラム陰性菌	15	10	5

表1 H29 年度の腸内細菌基準株の培養状況

(2) 新規ヒト由来腸内細菌の単離、培養技術の確立

嫌気培養に向けた準備のため、嫌気チャンバーおよび嫌 気性培地の作成のための脱酸素ユニット装置のセットア ップを行った。次に、脱酸素ユニットを用いて炭酸ガスを 添加しながら嫌気性培地を作成し(図3)、嫌気チャンバー 内において厳密な嫌気環境下でしか生育できない腸内細 菌基準株の培養を行った。その結果、培養24時間以降に 腸内細菌基準株の増殖が目視でも確認され、嫌気環境が正 常に構築されていることを確認することができた。



図 3 脱酸素ユニットの外観図および作成した嫌気培地の 様子。指示薬が添加されており、酸素がない状態では培地 は黄色を呈しているが、酸素の混入があると赤色を呈する。

次にヒト便試料からの腸内細菌を単離、培養するための 方法の検討を実施した。便試料は腸内細菌叢のみならず食 物の未消化物なども含まれている。いくつかのフィルター を通すことにより、腸内細菌叢のみを残す手法を確立した。 夾雑物を取り除いた腸内細菌叢の懸濁液を嫌気培地プレ ート状に播種し、嫌気チャンバー内にてコロニーを形成さ せた。形成されたコロニー群から単コロニーを分取し、液 体培地内にて培養を継続した(図4)。増幅が確認されたも のは DNA を抽出し、その配列をシークエンス解析すること で、菌種の同定を行った。本年度は本手法により2種類の 腸内細菌をヒト便試料より単離できた。本年度は、ヒト由 来試料の使用のための申請準備を進めている途中であっ たため、本実験は共同研究先である慶應義塾大学先端生命 科学研究所にて実施した。 次年度の早い段階での認可が 得られる見通しであるため、双方の研究室で本実験を行う ことにより、一つでも多くのヒト由来腸内細菌の単離を目 指す。



図4 ヒト由来糞便試料からの腸内細菌叢の単離の流れ

(3) 腸内細菌単独定着マウスの構築に向けた共同研究契約 の締結および共同実験の開始

本グループの研究室整備および研究に必要な各種申請 書類の認可と並行して慶應義塾大学および CIEA との研究 に必要な書類の準備を開始した。プロジェクト開始当初よ り定期的な打ち合わせを重ねることで両研究施設との共 同研究契約を早急に締結することができた (図5)。共同研 究締結後、CIEA において動物実験に従事する本プロジェ クトスタッフは教育訓練を受講し、実際に単独腸内細菌を 維持するためのビニールアイソレーター内で動物飼育や 実験手技の訓練を重ねることにより、単独腸内細菌定着マ ウス構築のための実験ノウハウの取得が完了している。次 年度以降からは、単独腸内細菌マウスの構築をはじめとす る動物実験を実施していく。

共同研究先との綿密な連携はプロジェクトを推進して いく上で重要な項目となる。CIEA は隣接しているため、研 究ディスカッションも容易に行うことが可能である。一方 で、慶應義塾大学の両研究施設は距離も離れており、互い の研究施設での打ち合わせをする機会が少なくなってし まう。そのため常時オンラインで互いの研究室を繋ぐこと により円滑にコミュニケーションを取れる環境を整備し た。



図5本プロジェクトの研究協力体制

平成 29 年度は本プロジェクト初年度のため、各種手続き や研究設備が当初の予定よりも長くかかってしまったも のの、共同研究先との綿密に連携をとることにより本年度 に実施予定であった研究目標を概ね達成することが出来 た。一部、達成できなかった項目に関しては次年度の早い 時期に完了させ、来年度は研究目標以上の成果を達成でき るように尽力していく。 腸内環境制御基盤技術の開発に向けた難培養性腸内細菌の

培養法確立および生体に与える影響の評価

中藤 学

## 1. はじめに

我々は生後すぐに外部の環境に触れることにより微生 物との共生関係が始まる。体内にありながら外界とも繋が る消化管内も例外ではない。ヒトの腸管にはおよそ 1000 種類、100兆個のも腸内細菌が生息しており、地球上のあ らゆる環境の中で最も生物の生息密度が高い場所となっ ている。腸内細菌同士は互いに生存競争を続けながらも、 一定のバランスを保つことで腸内細菌叢を形成している。 食生活の変化が大きい乳幼児期では腸内細菌叢の変動も 大きくなるが、成人になると日々の食事や生活様式により 多少の変動はあるものの腸内細菌叢は安定した状態とな る(参考文献1)。

## 1.1 腸内細菌叢が宿主に与える影響

共存関係を構築している腸内細菌叢は宿主に利益をも たらしている。我々は生存に必須な食事、呼吸により常に 外来抗原が体内へと侵入するリスクを抱えている。腸内細 菌叢は消化管内に侵入してくるこれらの外来性抗原の定 着を防ぐ役割を果たしている。また、腸内細菌は食物由来 の未消化物を栄養源として発酵分解し、その際に代謝産物 として低分子を菌体外に放出する。腸内細菌由来代謝産物 は腸管上皮細胞のエネルギー源となるだけではなく物理 的バリアの構築に寄与し腸管上皮細胞の恒常性維持に重 要な役割を果たしている(参考文献 2)。更に、一部の腸 内細菌由来代謝産物は宿主の免疫機能を活性化する。例え ば、腸内細菌叢を構成するクロストリジウム目細菌群が食 物繊維を代謝発酵し産生される酪酸は、炎症やアレルギー の起因となる過剰な免疫応答を抑制する T細胞である制 御性 ] 細胞の増幅に重要な役割を果たしている(参考文献 3, 4).

その一方で、ストレスや生活習慣の乱れにより腸内細菌 叢のバランスが崩れることが疾患につながることもある。 実際に腸内細菌叢の乱れが大腸がんや大腸炎などの腸管 関連疾患のみならず、糖尿病、動脈硬化、自閉症、アレル ギー疾患など多岐にわたる疾患の発症にも関連すること が報告されている(参考文献 5)。また、バランスの乱れ た腸内細菌叢由来の代謝物質も、これらの疾患を引き起こ す要因となっている(参考文献 6)。ゆえに、腸内細菌叢 を含む腸内環境を正常に保つことは健康維持にとって重 要な要素になる。

1.2 個々の腸内細菌を対象とした研究の重要性

## と課題

次世代シークエンサーの急速な発展および解析方法の 進歩により、個人個人の腸内細菌叢の構成、種類および経 時的変化は明らかとなってきた。項目1.1 で述べてきたよ うに腸内細菌叢由来の代謝物質は宿主の健康維持に重要 な要素となってくるのみならず、疾患とも深く関わること が明らかとなってきた。しかしながら、それらの代謝物質 が腸内細菌叢を構成するどの腸内細菌由来するものであ るかの特定に関しては研究途上となっている。そのため 個々の腸内細菌の特性や代謝物質を理解することが重要 である。しかしながらこれらに関する研究報告数が少ない 一番の理由は、腸内細菌の培養方法が十分確立されていな いことが挙げられる。腸内細菌はその多くが偏性嫌気性細 菌に分類されており、少量の酸素の混入により生育が阻害 されてしまう。これまで嫌気ジャーと酸素吸収・炭酸ガス 発生剤であるアネロパック・ケンキによる簡易的嫌気環境 下やグローブボックスなどの嫌気培養装置を利用した腸 内細菌の培養も進んでいる。しかしながら、標的としてい る腸内細菌の培養ができないなどの例もあり、腸内細菌の 培養方法には改善すべき項目も多く残されている。

### 1.3 腸内環境制御基板技術の構築に向けて

腸内細菌叢を含む腸内環境を意のままに制御できる基 盤技術の構築は、我々の健康維持や疾患予防に有効な手段 となる。このような基盤技術を構築するためには、以下に 示す3つの課題に取り組む必要がある

- 1. 腸内細菌の安定的な大量培養方法の確立
- 2. 難培養性腸内細菌の新規培養技術の開発
- 難培養性腸内細菌定着マウスを作製し、腸内細菌 が生体に与える影響の評価

個々の腸内細菌に関する基礎データの蓄積は、腸内環境制 御基盤技術に必要となる創薬、栄養補助食品、機能性食品 の開発にも繋がる。

### 2. 実験と結果

### 2.1 腸内細菌基準株の安定的培養方法の確立

個々の腸内細菌の特性を理解するために微生物バンクの 一つである理化学研究所バイオリソースセンターより腸 内細菌基準株40種類(グラム陽性菌25種類、グラム陰性 菌15種類)を入手し、平成29年度はこれらの腸内細菌基 準株のうち34種類の培養方法の検討を実施した。これら の腸内細菌基準株の情報を参照したところ、入手したほと んどの細菌の培養には特殊な処理を施した動物血液を添 加した培地が使用されていた。しかし、動物由来の血液は 入手まで時間がかかるうえに、今後の研究を進めていく上 で腸内細菌基準株の大量培養が必要となるためコストも 嵩んでしまう。また動物愛護の観点からも代用方法があれ ばそちらを採用することが望まれる。

そこで、はじめに嫌気性菌の培養に一般的に用いられて いる GAM ブイヨン(日水製薬株式会社)を用いて、寒天培 地および液体培地を作製し、嫌気チャンバー内にて腸内細 菌基準株の培養を試みた。それぞれの培地に腸内細菌のス トック溶液を添加し、嫌気性チャンバー内において 24-48 時間 37℃に保ちながらプレート状でのコロニー形成およ び液体培地中の腸内細菌の増幅の検討を行った。その結果、 18 種類のグラム陽性菌、9 種類のグラム陰性菌のコロニー 形成および液体培地での増殖を確認することができた(図 1)。

液体培地による培養



図1寒天、液体 GAM 培地による腸内細菌基準株の検討

しかしながら、7種類の腸内細菌基準株に関しては GAM 培地による増殖が観察されなかったため、GAM 培地よりも ビタミンやミネラル成分が多く含まれる YCFA 培地に更に 数種類の栄養素添加した改良型 YCFA 培地による培養を試 みた。改良型 YCFA 培地の使用により、更に1種類のグラ ム陽性菌、2種類のグラム陰性菌の安定培養に成功した(表 1)。

	検討数	培養成功数
グラム陽性菌	21種	20 種
		(GAM18 種, 改良型 YCFA2 種)
グラム陰性菌	13種	10 種
		(GAM9 種, 改良型 YCFA1 種)

表1 本年度に実施した腸内細菌基準株の培養状況

### 2.2 安定培養後の腸内細菌基準株の検証

嫌気チャンバー内は安全キャビネットなどとは異なり、 UV 照射等による滅菌が不可能である。専用の消毒剤を用 いて実験の前後に清掃は行っているものの、他の菌体の混 入のリスクを完全に防ぐことは難しい。他の菌の混入が起 こってしまうと、正確な単独の腸内細菌の役割を解明する ことができなくなる。このようなリスクを排除するために、 安定的な培養方法を確立したすべての腸内細菌基準株は、 細菌類を染色する方法の一つであるグラム染色を実施す ることで単一の細菌のみしか存在しないことを確認した (図2)。単一菌であることが確認できた腸内細菌基準株 については、今後の実験の際に他の菌が混入した際にも対 処できるように予備の凍結ストックを作製した。



図2 グラム染色による単一細菌の確認の例

## 2.3 ヒト由来腸内細菌の単離および培養技術の 確立

ヒトやマウスの腸内細菌叢において、主要な割合を占め るものは基準株として単離されているものが多いが、割合 が低く、数が少ないマイナーポピュレーションの腸内細菌 に関しては新たに単離、培養方法を検討する必要がある。 偏性嫌気性菌である腸内細菌の分離のため、はじめに脱酸 素ユニットを用いて培地中の酸素を完全に除くための方 法を確立した。次に、嫌気チャンバーに使用するガスの組 成をいくつか検討し、最適なガスの割合を見出した。これ らの嫌気培養のための各種条件が整った後、厳密な嫌気環 境下でのみしか生育できない腸内細菌基準株を用いて、培 養の可否を検討した。その結果、24 時間後には細菌の増 殖が確認され、嫌気環境が適切に維持出来ていることを確 認できた。

ヒトやマウスの便試料には腸内細菌のみならず未消化 物などの夾雑物も含まれている。夾雑物を取り除きつつ、 腸内細菌のみを残す条件を、径の異なるフィルターを用い て検討を行い、最適なフィルターの組み合わせおよびフィ ルターを通す回数を決定した。確定した条件を適用し、健 常人便試料より夾雑物を取り除いた腸内細菌叢の懸濁液 を嫌気培地プレート状に播種し、嫌気チャンバー内にてコ ロニーの形成を検討した。24-72時間後に形成されたコロ ニー群から単コロニーを分取し、液体培地内にて培養を継 続した。増幅が確認されたものは DNA を抽出し、その配列 を 16S rRNA 遺伝子増幅用ユニバーサルプライマーを用い · て PCR を行い、シークエンス解析することで、菌種の同定 を行った。その結果、グラム陽性菌、グラム陰性菌を一つ ずつ単離することができた(図3)。これらの実験は共同 研究先である慶應義塾大学先端生命科学研究所にて実施 した。

## 2.4 単独腸内細菌定着マウス構築に向けた手技 の取得

通常の実験動物飼育環境下で飼育されているマウスと は異なり、単独腸内細菌定着マウスの作成にはビニールア イソレーター内における動物飼育や投与などの実験手技 が必要となる。そのため、本年度は各種研修を受講した後 に、実際に使用するビニールアイソレーターを用いて一連 の基本的な操作の訓練を実施した。これらの実験は共同研 究先である実験動物中央研究所にて実施した。



図3 健常人便試料より単離した腸内細菌のグラム染色

### 3. 考察及び今後の展望

本年度は 30 種類の腸内細菌基準株の安定的培養法の確 立に成功した。一方で、4 種類の腸内細菌基準株に関して は GAM 培地、改良型 YCFA 培地のどちらでも培養すること ができなかった。これらの腸内細菌基準株に関しては、引 き続き組成の異なる培地を用いた検討を行うが、必要に応 じて動物血液を添加した培地による培養も実施する。本年 度とりかかれなかった 6 種類の腸内細菌基準株に 関して は、GAM 培地や改良型 YCFA 培地を用いて培養の検討を実 施していく。ヒト便試料からの腸内細菌の単離は 2 菌株と 少なかった。次年度の早い段階から本研究室でも同様の実 験を実施する見通しが立っている。来年度は慶應義塾大学 先端生命科学研究所と共に、一つでも多くのヒト由来腸内 細菌の単離を目指す。

これまでに安定的な培養方法を確立した腸内細菌基準 株や単離したヒト腸内細菌を無菌マウスに定着させるこ とにより単独腸内細菌定着マウスの作製にも着手し、腸内 細菌が生体に与える影響を、代謝産物の網羅的解析や、腸 管上皮細胞や免疫細胞の変化を調べることにより検討す る。

### 4. 謝辞

本実験の遂行にあたり、腸内細菌の分離、培養技術の構 築では慶應義塾先端生命科学研究所の谷川直紀博士、楊佳 約博士のご協力をいただきました。動物実験に関しては公 益財団法人実験動物中央研究所の高橋利一氏、小倉智幸 氏、野津量子氏から単独腸内細菌定着マウス構築のための ご指導、ご協力を賜りました。厚く御礼申し上げます。

### 【参考文献】

1 Okadaki, T., Kato, K., Sugahara, H., Hashikura, N., Takahashi, S., Xiao, J.Z., Abe, F., Osawa, R., Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 25:16:90, 2016.

2 Okada, T., Fukuda, S., Hase, K., Nishiumi, S., Izumi, Y., Yoshida, M., Hagiwara, T., Kawashima, R., Yamazaki, M., Oshio, T., Otsubo, T., Inagaki, O. K., Kakimoto, K., Higuchi, K., Kawamura, Y. I., Ohno, H., Dohi, T. Microbiota-derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice. *Nat. Commun.* 4: 1654, 2013.

<sup>3</sup><sup>†</sup>Furusawa, Y., <sup>†</sup>Obata, Y., <sup>†</sup>\*Fukuda, S. (<sup>†</sup>co-first and \*corresponding author), Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D.,

Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., Takahashi, M., Fukuda, N.N., Murakami, S., Miyauchi, E., Hino, S., Atarashi, K., Onawa, S., Fujimura, Y., Lockett, T., Clarke, J.M., Topping, D.L., Tomita, M., Hori, S., Ohara, O., Morita, T., Koseki, H., Kikuchi, J., Honda, K., <sup>†</sup>\* Hase, K., \* Ohno, H. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 504: 446-450, 2013.

4 Atarashi, K., Tanoue, T., Suda, W., Oshima, K., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., Kim, S.W., Fritz, J.V., Wilmes, P., Ueha, S., Matsushima, K., Ohno, H., Olle, B., Sakaguchi, S., Taniguchi, T., Morita, H., Hattori, M., Honda, K. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* 500: 232-236, 2013.

5 Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C., Finlay, B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010 Jul;90(3):859-904.

6 Schulz, M.D., Atay, C., Heringer, J., Romrig, F.K., Schwitalla, S., Aydin, B., Ziegler, P.K., Varga, J., Reindl, W., Pommerenke, C., Salinas-Riester, G., Böck, A., Alpert, C., Blaut, M., Polson, S.C., Brandl, L., Kirchner, T., Greten, F.R., Polson, S.W., Arkan, M.C. High-fat-diet-mediated dysbiosis promotes intestinal carcinogenesis independently of obesity. *Nature.* 514(7523):508-12,2014

業績

### 【原著論文】

 †Mishima, E., †Fukuda, S. (†equally contributed), Kanemitsu, Y., Saigusa, D., Mukawa, C., Asaji, K., Matsumoto, Y., Tsukamoto, H., Tachikawa, T.,

Tsukimi, T., Fukuda, NN., Ho, HJ., Kikuchi, K.,

Suzuki, C., Nanto, F., Suzuki, T., Ito, S., Soga, T.,

Tomioka, Y., Abe, T.

Canagliflozin reduces plasma uremic toxins and alters

the intestinal microbiota composition in a chronic

kidney disease mouse model.

Am. J. Physiol. Renal Physiol. In press.

## 【総説】

- 福田真嗣 腸内環境に基づく個別ヘルスケアの必要性 MEDCHEM NEWS 27(4) 219-223, 2017
- 中藤学 腸管上皮とマイクロ RNA 臨床免疫・アレルギー科 69(1);114-120,2018

### 【口頭発表】

- 福田真嗣 腸内微生物生態系の制御による新たな疾患予 防・治療戦略
   第 31 回日本バイオフィルム学会学術集会, 2017 年7月, 筑波
- 福田真嗣 腸内細菌叢由来代謝物質がもたらす生体恒常性 維持機構
   第42回日本医用マススペクトル学会年会、2017 年9月、東京
- 福田真嗣 もう一つの臓器 腸内細菌叢の機能に迫る 第 62 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2017 年 10 月、京都
- 福田真嗣 腸内環境を標的とした新たな疾患予防・治療戦略 第13回日本キレーション治療セミナー、2017年 11月,東京

- 福田真嗣 腸内環境に基づく個別化ヘルスケアの必要性
   第 22 回日本フードファクター学会学術集会, 2017年12月,神奈川
- 福田真嗣 腸内細菌由来代謝物質がもたらす宿主恒常性 2017 年度生命科学系学会合同年次大会、2017 年 12 月、神戸
- 福田真嗣
   もう一つの臓器、腸内細菌叢の機能に迫る
   第 20 回生命化学研究会、2018 年 1 月、神奈川
- 加齢がもたらす腸内環境変動は肥満型ディスバ イオーシスを誘導する
   腸内細菌叢由来代謝物質がもたらす生体恒常性 第95回日本生理学会,2018年3月,香川

## 【特許】

(1) 国内特許出願 0件

(2) 国外特許出願 0件

「光触媒」グループ

グループリーダー 藤嶋 昭

### 【基本構想】

本グループは、光触媒およびホウ素ドープダイヤモンド (BDD) 電極に関する基礎研究を行うとともに、企業との共同研究で実用化をめざした応用研究を実施している。また、光触媒ミュージアムの運営や出前教室などを通じて、光触媒をはじめとした科学技術の普及および地域社会への貢献なども行っている。さらに、藤嶋グループリーダーの本務地である東京理科大学の光触媒国際研究センターおよび LiSE Lab. とも連携し、産学公の各分野の特色を活かした材料および製品の研究開発を幅広く展開している。

平成 29 年度は、KAST から KISTEC への大幅な変革があったが、大きな混乱もなく、前年度に引き続き、 光触媒および BDD 電極を用いた環境浄化および医療器具等への応用研究を実施した。また、光触媒ミュー ジアムでは、見学や技術相談などに随時対応するとともに、夏休みの恒例行事となっている「光触媒実験 教室」や出前授業などに積極的に取り組み、光触媒技術の普及に努めてきた。さらに、前年度に引き続き 落合サブリーダーが川崎技術支援部と光触媒グループとを兼務し、光触媒グループ・川崎技術支援部・LiSE Lab. を中心とした光触媒横断ミーティングの中核的存在のひとりとなることで、材料から応用製品にいた る総合的な光触媒製品の評価および技術相談を推進することができた。

### 平成 29 年度の研究目的

開始から13年目となる平成29年度は、主として光触媒 およびBDD 電極に関する基礎・応用研究を、企業との共同 研究などによる研究課題として研究開発を進めてきた。重 点研究項目は下記の3つである。

(1) 光触媒およびその担持体の基礎・応用研究

酸化チタン光触媒は、外装材や浄化機器、色素増感太陽 電池など、多岐にわたる応用先があるが、当グループでは、 主に環境・医療分野への応用展開を出口として研究してい る。図1に光触媒製品の分野別の事業規模推移を示す。こ こ十年ほどで、急激に浄化機器分野の規模が増加している ことがわかる。この理由として、図中に示した通り、新型 インフルエンザの流行など環境リスクの多様化・深刻化が 考えられる。こうした近年の市場動向や社会ニーズの変化 をふまえ、環境・医療分野への応用展開を基本戦略として 設定している。平成29年度は、酸化チタン担持多孔質シ リカガラス管などの環境浄化等への応用を企業との共同 研究として実施したほか、東京理科大学や鶴見大学と共同 で、硫化水素分解や歯科材料への抗菌性能の付与などを検 討した。とくに、東京理科大学の永田研究室からは、多数 の学生が研究協力員として研究に従事し、国際学会での発 表や論文投稿など多数の実績につながった。

(2) BDD 電極等を用いた電気化学的手法の基礎・応用研究

本来絶縁体であるダイヤモンドにホウ素をドープした BDDは、電気化学センサや電解用電極等としての応用が期 待されている機能材料である。広い電位窓を有し、電解に よって、オゾン、過酸化水素、OH ラジカルなどの強力な 酸化剤が生成し、光触媒反応同様に有機物分解や殺菌など に有効であることが知られている。こうした背景をふまえ、



図1. 光触媒製品の事業規模推移(光触媒工業会資料より)

BDD の環境・医療応用に関する研究を進めている。平成29 年度はとくに、BDD 電極を用いた生体電位測定に関する基 礎研究と応用展開について研究した。また、BDD 電極より も安価で効率の良い電解オゾン生成用電極の作製法につ いても研究を実施した。

### (3) 光触媒ミュージアムをはじめとした普及活動

団体見学者などへのミュージアム館内の案内をはじめ、 恒例となっている「夏休み光触媒おもしろ実験教室」も、 かわさきサイエンスチャレンジの一環として実施した。ま た、出前授業などで光触媒技術の普及に積極的に取り組ん だ。来館者の見学対応や技術相談も、随時行っている。

### 平成 29 年度の研究成果

以下に、平成29年度の具体的な研究成果を挙げる。

(1) 光触媒およびその担持体を用いた基礎・応用研究

1-1. 光触媒担持多孔質シリカガラス管の創製とその応用

本研究は、住友電工㈱との共同研究である。一端を封じ たチューブ状の多孔質シリカガラス管に、酸化チタン微粒 子を担持させ、紫外線ランプと組み合わせることで、小型 環境浄化ユニットとしての応用をめざす。これまでの検証 で、光触媒担持多孔質シリカガラス管は、水・空気浄化に 関し有用であることが示唆された。しかしながら、水浄化 に関して実環境下での使用を考慮した場合、「水中のイオ ンが光触媒活性を低下させる」という報告があり、溶存イ オンの影響が無視出来ない。そこで硬水(Contrex)を使 って光触媒含浸多孔質シリカガラス管の水浄化性能を検 証し、さらにイオン交換樹脂を用いて Contrex から溶存イ オンを除去した溶媒で同様に検証した。

図1左に川崎技術支援部の協力で得られた反射電子像 と3D-SEM像を示す。これより、シリカガラス管の内部ま で酸化チタン粒子が担持され、さらに細孔が3次元的に連 続であることが確認された。さらに図1右に様々な溶媒を 用いて行ったメチレンブルー除去試験の結果を示す。この 図から、溶存イオンの存在が光触媒活性を低下させること が確認されたが、溶媒により様々な傾向が示されたことか ら、溶存イオンだけでなく溶液のpHなど複合的な要因が 起因していることが示唆された。詳細は後述の林研究員の 報告を参照されたい。



図1.シリカガラス管の反射電子像と3D-SEM像(左)と 吸着平衡に達した際の吸光度と分解反応速度定数(k) の比較(右)

1-2. 材料に吸着した臭気成分等の分析試験法および その光触媒による分解性能試験法の確立

光触媒を用いた空気清浄器によって、空気中の臭気成分 等が光触媒で分解できることはよく知られている。しかし、 壁紙や衣服などに吸着した臭気成分等が光触媒でどれだ け分解できるかについては、光触媒 JIS 試験でも評価法が 定められておらず、あまり報告もない。そこで、材料への 臭気成分等(とくに、たばこ煙中の臭気成分やタール分) の吸着挙動と、その材料に光触媒を担持した場合の臭気成 分等の分解性能の評価法を新たに確立した。酸化チタン光 触媒微粒子を担持した材料と担持していない材料に、それ ぞれたばこ煙を接触させ、臭気成分等の吸着挙動と、その 後の紫外線照射による分解挙動を、色差測定および GCMS 分析によって評価した(図2)。その結果、光触媒担持不織 布表面に吸着したタール成分も臭気成分も、光触媒反応に よって分解可能であることが示唆された。平成29年度は、 さらに可視光応答型光触媒を用いた検討を行った。詳細は、 後述の落合研究員の報告を参照されたい。



図 2. 材料に吸着した臭気成分等の分析試験法およびその 光触媒による分解性能試験の概念図

1-3. 光触媒による硫化水素(H<sub>2</sub>S)の分解

本研究は、東京理科大学永田研究室との共同研究のひと つである。日本に大量存在し有毒である HoS は、脱硫後は 10 ppm 以下の濃度で地熱発電所や工場から排出されてい る(八丈島の地熱発電所で排出されている H<sub>2</sub>S 濃度は 7 ppm ほど)。しかし、人体が HS を悪臭と感知しない濃度は 0.01 ppm 以下とされている。そこで本研究では、光触媒 反応を用いた H2S 分解をめざした。今年度は主に、貴金属 担持光触媒の調製と、その H2S 分解特性の評価を進めた。 図3上に示すように、光電析法で酸化チタン光触媒に銀ナ ノ粒子を担持させ、銀担持酸化チタンを得た。この光触媒 を用い、HoS 分解試験を実施したところ、吸着による初期 濃度の大幅な低下と光触媒反応による分解で、銀担持の有 無によるトータルの濃度減少の差が顕著にみられた(図3)。 これは、銀担持による吸着の促進と電荷分離状態の安定化 が原因と考えられた。平成29年度は、前年度までの成果 について学会・論文発表を行いつつ、Cu ドープ ZnS を用 い、同様にCuの存在による効率化を確認した(図3右下)。





### 1-4. 歯科材料への光触媒コーティング

本研究は、鶴見大学中村研究室との共同研究のひとつで ある。矯正器具や義歯床などの歯科材料は、細菌の繁殖に よる疾患の誘発が問題になっている。そこで本研究では、 光触媒による歯科材料への抗菌性能の付与を検討してい る。今年度は主に、義歯床などに用いられる歯科用レジン への光触媒コートと、その抗菌性能の評価を進めている。 試験片上に菌液を滴下し、2.0 mW/cm<sup>2</sup>) で UV 照射を行い、 90 分後に菌液を回収して培養法で抗菌性能を評価したと ころ、早期定着菌及びう蝕関連細菌に対してコート+UV 群は UV 単独群に比較して有意に抗菌活性を示した(図4)。



図 4. 触媒コートした歯科用レジンの 90 分 UV 照射後の各 菌種に対する抗菌活性

1-5. 複合光触媒による可視光下での水素生成

本研究は、東京理科大学永田研究室との共同研究のひと つである。近年、新エネルギー源として水素が注目されて いる。光触媒を用いることで太陽光のエネルギーから水素 を得ることができるが、実用化には至っていない。太陽光 スペクトルは可視光が大部分を占めるため、可視光応答の 光触媒が実用化には必須である。これまでに可視光応答性 光触媒として CdS が研究されてきたが、電荷の再結合や励 起によって生じたホールが原因となる自己分解など、いく つか問題点を持つことが分かっている。本研究では電子と ホールの効率的な移動による光触媒能の向上を目的とし、 SiC と TiO<sub>2</sub>を CdS に複合した。得られた CdS/SiC/TiO<sub>2</sub>複合 光触媒は CdS 単体に比べ水素生成能が向上しており、光触 媒の設計が適切であったことを示唆していた(図 5)。





(2) BDD 電極等を用いた電気化学的手法の基礎・応用研究 2-1. BDD 電極と光触媒を組み合わせた生物学的水浄化

本研究は、東京理科大学鈴木研究室との共同研究である。 一般の汚水処理では、生物学的処理だけでは分解しきれない有機物が多々存在する。現状は塩素処理を実施しているが、トリハロメタンなどの有毒・発がん物質が産生するおそれがある。そこで本研究では、生物学的処理に、BDD 電極と光触媒による化学的処理を組み合わせることで、より低コストで環境への負荷が少ない汚水浄化をめざす。今年度は、昨年度までに作製した BDD 電極と光触媒を組み合わせた処理ユニットの改良(図6上)と、その浄化性能の評価を進めている。汚水中の有機物は併用システムによって24時間で70%以上分解された(図6左下)。また、併用処理前後の網羅的な細菌叢解析を生細胞特異的 PCR-DGGE により行ったところ、併用処理後に細菌の生存は確認されなかった(図6右下)。



図 8. 生物学的処理と BDD-TMiP ハイブリッド処理ユニットを併用した汚水処理試験の概念図(上)、諸種の条件における有機物分解効果(左下)、生細胞特異的 PCR-DGGE 法の結果(右下)

2-2. BDD を用いた植物生体電位測定の研究

本研究は、BDD 電極を用いて生体電位変化を鋭敏に測定 するものである。これまでに、植物に諸種の電極を接続し た基礎実験において、BDD 電極が高感度で安定に植物生体 電位をモニタリングできることを見出し、特許を出願した。 28 年度は鉢植えアロエに BDD 電極を設置し、刺激応答の 再現性と測定系の信頼性を確認した(図 9)。29 年度は「フ レキシブル BDD センサ素子の開発と植物生体電位測定へ の応用」という研究課題で科研費(基盤 C)の対象となり、 BDD 粉と樹脂材料を用いて作製したフレキシブル BDD 電極 の研究を進め、前年度に引き続き鉢植えのアロエに設置さ れた BDD/Vylon 系と BDD/Nafion 系の電極の長期的評価を 行い(図 10)、3 カ月以上にわたり人の指が接触したとき に起こる植物の生体電位の変化を安定的に検出できるこ とを確認した。詳細は田子研究員の報告を参照されたい。



図 9. 電極が設置されたアロエの葉に触れる様子(左)と 測定系全体図(中央)ならびに接触刺激による電極間 電位差変動モデル図(右)



図 10. 平板 BDD、BDD/Nafion 針状ならびに Film 型電極、 BDD/Vylon 針状ならびに Film 型電極の刺激応答検出 ばらつきの経時変化評価

2-3. BDD 電極と同等あるいはそれ以上の特性をもつ電解 用電極の創出と、その歯科治療器具への応用

平成 27 年度まで、科研費若手 B 補助金で展開されていた BDD 電極の歯科治療器具への応用を検討中、偶然、チタン電極表面に白金を微量担持することで、BDD 電極と同等あるいはそれ以上のオゾン生成能をもつ電解用電極が作製できることを発見した。この電極作製法を電撃連打(multiple electrostrike, ME)法と命名した。図 11 に概要を示した。今年度は、ME 法で作製した平板状電極の表面観察および組成分析から、最適な Pt 担持量が 1 wt%前後であること、担持されている Pt 微粒子の大きさがサブミクロン〜数 nm オーダーであること、電解後に Pt 微粒子が崩壊している様子を確認した(図 12 左)。依然として詳細なメカニズムは不明だが、前述の歯科治療ユニットへの応用を検討するため、図 12 右に示す小型電解ユニットを試作し、歯科治療への応用可能性を試験予定である。



図 11. 電撃連打 (multiple electrostrike, ME) 法による 電解用電極作製



図 12. ME 法による電解用電極表面の電解前後の様子(左) と、小型電解ユニットの写真(右)

2-4. 色可変な金色光沢ポリマーの作製

本研究は、東京理科大学永田研究室との共同研究のひと つである。導電性高分子として有機太陽電池などに用いら れている PEDOT と PANI を積層し、電圧の印加で可逆的に 金色光沢を発生させる機能性薄膜を作製した(図13)。こ れは、電圧の印加による PANI のエレクトロクロミズムと、 吸収光と散乱光とが複雑に干渉しあって起きている現象 と考えられた。今後、スマートウインドウやディスプレイ などへの応用が期待できる。



図 13. 電圧の印加による金色光沢ポリマーの吸収波長の 変化(左)および外観の変化とそのメカニズム(右)

### (3) 光触媒ミュージアムをはじめとした普及活動

平成25年度から、展示企業との連絡調整などの運営は 事務局にて、技術相談や出前授業などの光触媒技術の普及 活動は材料グループおよび人材育成部にて、それぞれ協力 して随時取り組んでいる。今年度は、昨年同様、夏休みに 「第14回かわさきサイエンスチャレンジ」の一環として、 光触媒を中心とした実験教室を開催したほか(図14)、近 隣の学校や海外の来訪者の見学対応、人材育成部と共同で 実験教室の企画運営(図15)などに取り組んだ。



図 14.「かわさきサイエンスチャレンジ」での実験教室



図 15.「かながわ発 中高生のためのサイエンスフェア」 (新都市ホール)での実験教室の様子

平成 27 年度までは、旧 KAST 高度計測センター、光触媒 グループ材料グループ、そして抗菌抗ウイルスグループと、 それぞれが別々に依頼試験や共同研究に対応していた。平 成 28 年度より、これを一本化し、「光触媒グループ横断プ ロジェクト」を立ち上げ、材料の基礎評価から製品の性能 評価までを総合的にサポートできるよう調整を進めてい る。平成 29 年度は、この取り組みをさらに発展させ、ダ イジェスト版パンフレットの作成や、医療機器設備展 HOSPEX への出展などを行った(図 16)。今後、理科大光触 媒センターなどとも連携し、光触媒技術の発展にいっそう 貢献できる体制づくりを進めていく。



図 16.「光触媒グループ横断プロジェクト」の活動の様子

材料に吸着した臭気成分等の分析試験法および

その光触媒による分解性能試験法の確立

## 1. はじめに

光触媒を用いた空気清浄器の普及によって、空気中の臭 気成分等が光触媒で分解できることはよく知られている。 しかし、壁紙や衣服などに吸着した臭気成分等が光触媒で どれだけ分解できるかについては、光触媒 JIS 試験でも評 価法が定められておらず、あまり報告もない。そこで、材 料への臭気成分等(とくに、たばこ煙中の臭気成分やター ル分)の吸着挙動と、その材料に光触媒を担持した場合の 臭気成分等の分解性能の評価法を新たに確立した。光触媒 微粒子を担持した材料と担持していない材料に、それぞれ たばこ煙を接触させ、臭気成分等の吸着挙動と、その後の 紫外線照射による分解挙動を、色差測定および GCMS 分析 によって評価した。

## 2. 実験と結果

### 2.1 実験

衣服のモデルとして不織布を選定した。不織布に酸化チ タン光触媒または銅化合物担持酸化タングステン可視光 応答光触媒を担持させ、光触媒担持不織布を得た(図1)[1]。 それぞれの不織布および壁紙を所定のサイズに切り、図2 のように JEM1467 試験用1 m<sup>3</sup>ボックス[2] の内側に貼り 付け、たばこ5 本を燃焼させて、その煙に一晩(16h)接 触させた。それぞれの不織布および壁紙を取り出し、吸着 した臭気成分を固相抽出-GCMS分析[3] で、タール成分等 による着色の度合いを色差計で、それぞれ評価した。



図 1. 光触媒を担持していない不織布(左)および 光触媒担持不織布(右)の SEM 像



それぞれの不織布および壁紙を、図3のように5L テド ラーバッグに封入し、空気3L(相対湿度50%)を導入し たのち、紫外線(1.0 mWcm<sup>-2</sup>@310-380 nm)または可視光 線(10,000 lx)を照射した。所定時間ごとに取り出し、固 相抽出-GCMS分析および色差計で、吸着した臭気成分等 の分解挙動をそれぞれ評価した。



図 3. 材料に吸着した臭気成分等の光触媒反応による分解試験 (可視光応答光触媒を用いた場合)

落合 剛

### 2.2 結果

たばこ煙に一晩接触させた酸化チタン光触媒担持不 織布は、目視でも明らかに黄色く着色していたが、ブラン ク不織布は、ほとんど着色していなかった。色差測定結果 から算出した吸着直後のΔE<sup>\*</sup>ab 値も、それぞれ 5.4、0.7 と、大きな差があった(図4、紫外線照射時間0h時点の値)。 ブランク不織布は 24h の紫外線照射でもほとんどΔE<sup>\*</sup>ab 値が低下しなかったが、光触媒担持不織布は 2h の紫外 線照射でΔE<sup>\*</sup>ab 値が半減し、24h 経過後にはブランクと 同等の数値まで減少した。目視でも黄色から白色に脱色し た様子が確認できた(図4)。一方、可視光応答光触媒担持 不織布については、もともと黄色に着色しているためか、 色差測定での着色成分の分解性能評価は困難であった(図 5)。現在、反射スペクトル測定による評価を検討中である。



図 4. 臭気成分等を吸着させた各不織布の紫外線照射による 変化を色差測定と目視より評価した結果





GCMS 分析では、吸着直後のそれぞれの不織布から抽出 された臭気成分のクロマトグラムに若干の差は見られた ものの、ピークの総面積にはあまり差がなく(図 6)、吸着 臭の強さもほぼ同じであった。ブランク不織布は 24 h の 紫外線照射でもピークの総面積にはあまり差が見られな かったが、光触媒担持不織布は 24 h 経過後にはピークの 総面積が大幅に減少した。このクロマトグラムから、JIS A 1965 に基づき、ヘキサン~ヘキサンデカンの範囲の各成 分のピークの総面積を合計し、トルエン相当量に換算して TVOC 濃度を算出した値を図 6 中に記した。一方、可視光 応答光触媒担持不織布については、可視光照射によって比 較的高分子量の VOC 成分が分解されたと考えられる挙動 が観察された(図 7 中の赤い部分)。



図 6. 臭気成分等を吸着させた各材料の紫外線照射による 変化を GCMS 分析により評価した結果



図 7. 臭気成分等を吸着させた各材料の可視光照射による 変化を GCMS 分析により評価した結果

### 3. 考察及び今後の展望

図4および図5において、光触媒担持不織布の方が色差 が大きかったのは、酸化チタン微粒子を担持させたことに よって、比表面積が大幅に増大したことと、吸着特性が変 化したことが原因と考えられた。結果として光触媒担持材 料の方がタール成分等を吸着させやすくなっていたが、そ れらの成分は、酸化チタン担持不織布の場合は、光触媒反 応によって分解できたと考えられた。これは、以前当グル ープにて光触媒担持チタンメッシュフィルタを用いて得 られた知見と同様である[4]。一方、可視光応答光触媒担持 不織布については、もともと黄色に着色しているため、色 差測定での着色成分の分解性能評価は困難であったが、可 視光照射による何らかの変化は起きていることが示唆さ れた。現在、反射スペクトル測定による評価を検討中であ る。

図7の吸着臭気成分の分析結果は、光触媒担持不織布で もブランク不織布でも、ほとんど差がなかった。タール成 分と臭気成分とでは、吸着特性が異なることが示唆された。 この理由として、温湿度等の実験条件の吸着特性への影響 が考えられた[5]。光触媒担持不織布表面に吸着した臭気成 分については、紫外線応答型でも可視光応答型でも、光触 媒反応によって分解可能であることが示唆された。

以上のことから、色差測定と GCMS 分析を用い、光触 媒担持不織布へのたばこ煙成分の吸着とその分解挙動を 評価した。本法は、多種多様な光触媒材料や吸着成分の評 価に適用でき、新しい評価法として有効であるといえる。

非喫煙者は、喫煙時の副流煙のみならず、喫煙者の衣服 や建材などに吸着した臭気成分等も不快に思っている。そ うした状況に対して、光触媒が有効であることを示した。 今後は、こうして生まれたシーズをしっかりと形にし、社 会に普及させていくことが重要である。そのために、産学 公医の各分野が連携して、スムーズな実用化をめざしてい く。あわせて、今後も社会のニーズをふまえ、とくに環境 浄化・医療分野への応用研究を重点的に継続していく必要 があると考えている。

### 4. 謝辞

実験の遂行にあたり、東京理科大学工学部工業化学科の 眞田太郎氏のご協力をいただきました。また、研究全般を 通じ、KISTEC川崎技術支援部の阿久津康久部長ならびに 東京理科大学工学部工業化学科の永田衞男准教授のご指 導とご協力を賜りました。ここに厚く御礼申し上げます。

## 【参考文献】

- Ochiai, T.; Fukuda, T.; Nakata, K.; Murakami, T.; Tryk, D.; Koide, Y.; Fujishima, A., Photocatalytic inactivation and removal of algae with TiO<sub>2</sub>-coated materials. *Journal of Applied Electrochemistry* **2010**, *40*, 1737-1742.
- Ochiai, T.; Hayashi, Y.; Ito, M.; Nakata, K.; Murakami, T.; Morito, Y.; Fujishima, A., An effective method for a separation of smoking area by using novel

photocatalysis-plasma synergistic air-cleaner. *Chemical Engineering Journal* **2012**, *209*, 313-317.

- Ochiai, T.; Ichihashi, E.; Nishida, N.; Machida, T.; Uchida, Y.; Hayashi, Y.; Morito, Y.; Fujishima, A., Field Performance Test of an Air-Cleaner with Photocatalysis-Plasma Synergistic Reactors for Practical and Long-Term Use. *Molecules* 2014, 19, 17424-17434.
- Slimen, H.; Ochiai, T.; Nakata, K.; Murakami, T.; Houas, A.; Morito, Y.; Fujishima, A., Photocatalytic Decomposition of Cigarette Smoke Using a TiO<sub>2</sub>-Impregnated Titanium Mesh Filter. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2012, 51, 587-590.
- Geng, Q.; Guo, Q.; Yue, X., Adsorption and Photocatalytic Degradation Kinetics of Gaseous Cyclohexane in an Annular Fluidized Bed Photocatalytic Reactor. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2010, 49, 4644-4652.

## TiO2 担持多孔質シリカガラス管の環境浄化への応用可能性

## 林 美緒

## 1. はじめに

光触媒関連技術は我が国のオリジナルであり、酸化チタ ンに紫外光を照射すると水が酸素と水素に分解する本 多・藤嶋効果の発見以来、実に40年以上にわたって研究 開発が続けられている。建材や浄化機器、生活用品に至る まで幅広く応用されていながら、光誘起超親水化メカニズ ムの解明や高効率な可視光応答光触媒の創出など、学術的 な追究の余地も多く、現在最も魅力的な研究テーマのひと つといえる。

一方、光触媒による環境浄化はその低いコストと耐久性が あることから近年注目を浴びているが、一般的に用いられ る光触媒や光触媒フィルタは浄化効率が比較的低く、また 粉末の取り扱い難さから、その応用が限られている。その ため、光触媒による環境浄化の研究は広範囲に行われてい るが、実用的な環境浄化装置の開発は難しくまだ発展段階 にある。この問題を解決するために、我々は TiO2 光触媒 の効果を最大限に引き出す手法と設計について以前から 研究報告してきた[1,2]。その一つに、光触媒担持多孔質シ リカガラス管と小型紫外線ランプを組み合わせた小型環 境浄化ユニットが挙げられる。ここでは一端を封じた多孔 質シリカガラス管を作製しそこへ酸化チタンを担持させ TiO2 担持多孔質シリカガラス管を創製し[3]、その環境浄 化性能を検証した。

### 2. 実験方法

### 2.1 光触媒担持多孔質シリカガラス管の作製

円形の断面を持つロッドに、気相堆積法(outside vapor deposition, OVD 法)によってシリカ微粒子を生成・堆積さ せ、多孔質シリカガラスを作製した(Fig. 1)。多孔質シリ カガラス管の平均嵩密度と平均気孔率は、それぞれ 0.84 g/cm3 と 0.62 で、平均細孔径は 0.40 µm である[4]。さらに、 このガラス管に次の方法で光触媒を担持させた。酸化チタ ン前駆体含浸法(TTIP 含浸法):酸化チタン前駆体(チタ ンテトライソプロポキシド, TTIP)を多孔質シリカガラス 管に含浸させ、焼成することで TiO2 担持多孔質シリカガ



Figure 1. Schematic diagram of the fabrication method for porous silica glass tube by OVD method.

ラス管を作製した[4]。TTIP 含浸多孔質シリカガラス管の ラマンスペクトルより TTIP 含浸多孔質シリカガラス管の 酸化チタンはアナターゼ型結晶から構成されていること が示された[5]。アナターゼ型の結晶構造はその高い光触媒 活性のため非常に注目されている[6,7]。

TTIP 含浸多孔質シリカガラス管断面図の反射電子像と 3D-SEM 像を Fig. 2 に示した。TTIP 含浸多孔質シリカガラ ス管の酸化チタンの粒径は数十 nm であることが確認され ている[3]。Fig. 2 より TTIP 含浸多孔質シリカガラス管で は TiO<sub>2</sub> 粒子がシリカガラス管表面だけでなく内部まで担 持され、分解試験後も剥離しないことが確認された。加え て、3D-SEM 像よりシリカガラス管の細孔が三次元的に連 続であることが確認された。



Figure 2. Back-scattered electron images of a cross-section of a porous  $TiO_2$ -impregnated silica tube (a) before decomposition tests and (b) afterwards. (c) Focused lon Beam/Scanning Electron Microscopy (FIB/SEM) Serial Sectioning Nanotomography images calculated and reconstructed from SEM images of cross-sections of porous  $TiO_2$ -impregnated silica tubes. (d, e) are 3D-models of a small part of the structure shown in (c) that show (d) the porous structure of silica and (e) the pore structure.

## 2.2 環境浄化試験方法

TiO2 担持多孔質シリカガラス管を用いて行った環境浄

化試験の概要を Fig. 3 に示す。メチレンブルー溶液の分解 能試験は、20 μM メチレンブルー水溶液 50mL を流速 20 mL/min で TTIP 含浸多孔質シリカガラス管に UV-C 照射下 で通過させ行った (Fig. 3(b))。通過後の水溶液はビーカー で保存し、663 nm における吸光度を紫外可視分光光度計 で測定し、その吸光度の減少から残っているメチレンブル ーの比率を計算した。その後、保存したメチレンブルー水 溶液を再びガラス管に通過させた。反応速度係数(k1)は通 過数に対する残量比率から計算した。

TiO2 担持多孔質シリカガラス管を用いて行った抗菌抗ウ ィルス試験は、レジオネラ属菌(10<sup>8</sup> CFU/mL)50 mL を TiO2 担持多孔質シリカガラス管に20 mL/min で送液し、管 を通過した液を培養して、コロニー数をカウントした。、 ここでは酸化チタンの有無、UV-C 照射の有無について検 証した。、さらに、大腸菌(10<sup>6</sup> CFU/mL)、ファージ懸濁液 (10<sup>9</sup> PFU/mL)4 mL を1分間送液した液を培養して、コロ ニーまたはプラーク数をカウントした結果と比較し、光触 媒による抗菌抗ウィルス効果を評価した[3]。



Figure 3. Schematic (a) and image photograph (b) of environmental purification test for the  $\text{TiO}_2\text{--impregnated}$  silica tube.

### 3. 結果及び考察

### 3.1 抗菌抗ウィルス試験の結果

TiO2 担持多孔質シリカガラス管にレジオネラ属菌懸濁 液を送液した結果、レジオネラ属菌はこのガラス管を通過 できず、UV-C 照射なしでもシリカガラス管のフィルタ効 果により菌がすべて除去できていることが確認された。大 腸菌を用いた試験でも同様の効果が得られたことから、多 孔質シリカガラスの有用性が示唆させた。このようにフィ ルタ機能により大腸菌などを抗菌している例は他にもあ るが、このシリカガラス管は焼成することにより再利用が 可能であるというメリットがある。さらにファージ懸濁液 を送液させた結果を Fig. 4 に示す。酸化チタン担持なし UV-C 照射なしの条件(TiO<sub>2</sub>(-), UV(-))と比較して、UV-C を照射することにより著しくファージが減少した。一般的 な抗菌抗ウィルスの基準では、菌で 6Log、ウィルスで 4Log 以上の除去/不活化が必要とされる。Fig. 4 では酸化チタン 担持あり UV-C 照射ありの条件(TiO<sub>2</sub>(+), UV(+))で、およそ 6Log のファージが減少しており、その効果は十分と言え る。これより UV-C の照射が光触媒作用を誘発することに より、光触媒担持多孔質シリカガラス管のファージ除去/ 不活化能力が大幅に上がったことが確認された。[3]



Figure 4. The Q $\beta$  reduction test result with the porous silica glass tube without TiO<sub>2</sub> layer under no UV-C irradiation (TiO<sub>2</sub> (-), UV (-)), the porous TiO<sub>2</sub>-coated silica glass tube under no UV-C irradiation (TiO<sub>2</sub> (+). UV (-)), the porous silica glass tube without TiO<sub>2</sub> layer under UV-C irradiation (TiO<sub>2</sub> (-), UV (+)), and the porous TiO<sub>2</sub>-coated silica glass tube under UV-C irradiation (TiO<sub>2</sub> (+), UV (+)).

### 3.2 水浄化試験の結果

メチレンブルー水溶液をシリカガラス管に繰り返し通 過させた結果、TTIP 含浸多孔質シリカガラス管のメチレ ンブルー分解能は、酸化チタン担持なしの条件と比較して 大きいことが確認された[4]。しかしながら、このシリカガ ラス管を実環境に適用させるためには考慮すべきいくつ かの重要な点がある。例えば、地下水には様々な無機イオ ンが含まれており、それらが光触媒の効果に影響を及ぼし ているという報告がいくつかある[8-12]。そこで、硬水の 中でもたくさんのイオンを含む Contrex を用いて TTIP 含 浸多孔質シリカガラス管の水浄化性能を評価することで 溶存イオンの影響を検証した。

Table 1 に分解試験で用いたメチレンブルー各溶媒の 特徴を示す。硬水に分類される Contrex は多くのイオンを 含み、これをイオン交換樹脂に通すことで、イオンを除去 し、イオン除去 Contrex とした。Milli-Q と Contrex を溶媒 に用いた 20 µM メチレンブルー分解試験の結果、メチレ ンブルーの吸着量は Milli-Q 溶媒よりも Contrex 溶媒の方 が低く、さらに、分解効率も同じ pH7 下において Contrex が Milli-Q 溶媒と比べ大幅に低いことが確認された[13]。 したがって、Contrex 中の溶存イオンがメチレンブルー分 解除去効率に影響を及ぼすことが示唆された。中性及び塩 基性下では無機イオンの添加による TiO2 光分解効率の減 少は主に TiO2 表面に無機イオン層が形成されメチレンブ ルーの吸着を妨げるためであるという報告があり[8]、さら に、有機化合物の光分解に対する陰イオンの抑制効果は、 触媒表面での反応物と陰イオンの競争吸着に起因するこ とも報告されている[9]。従ってここでも似たようなメカニ ズムが起きていることが考えられる。

光触媒による分解除去能力はメチレンブルーの吸着除 去と光触媒分解除去を合わせたものと考えられる。そこで、 吸着平衡に達した際の吸光度と分解反応速度定数(k1)の比 較を Fig. 5 に示した。これより、Milli-Q 溶媒は他の溶媒と 比べ、吸着、分解共に高い値となることが確認された。加 えて、Contrex からイオンを除去することで分解能が上が り、イオン交換水溶媒の値に近づくことが確認された。さ らに、同じ蒸留水でも Milli-Q とイオン交換水で違いが確 認された。これは電気伝導率の差が影響していると考えら れ、このことはイオン交換水溶媒と Contrex 溶媒の傾向が 似ていることからも裏付けられる。

溶液の pH は有機化合物の吸着及び光触媒分解において 重要なファクターであることが報告されているが [11,14-16]、今回の結果から、各種溶媒におけるメチレン ブルーの光触媒分解は溶液の pH だけでなく、溶存する陰 イオンや陽イオン等、複合的な要因が起因していることが 示唆された。一方、Contrex からイオンを除去することで 光触媒分解能がわずかに上昇した。以上の結果から、光分 解の前に水中のイオンは取り除かれるべきであり、これに より光触媒反応に適用される多くのサイトを残すことが 示唆された[13]。

上記で述べた溶存イオンの影響を軽減するために、我々 は溶存イオンを除去しながら光触媒効果を発揮出来るシ リカガラス管ユニットを考案した(Fig. 6)。一端を封じた 筒状のメッシュフィルターの中にイオン交換樹脂を充填 し、それをシリカガラス管に内蔵した。イオン除去カート リッジ充填シリカガラス管を使用した水浄化試験の結果、 イオン交換樹脂を充填したカートリッジを用いることで メチレンブルー分解能が上がることが確認された。理由と

Table 1. Properties of the solvents used to prepare the methylene blue solutions. The numbers in parentheses in the Contrex column represent the values quoted by the manufacturer. "n.d." indicates "not detected".

	Milli-Q	Contrex	lon exchanged water	lon-free Contrex
Dissolved ion [mg/L]				
Ca <sup>2+</sup>	0.0960	486	0.232	0.0143
Mg <sup>2+</sup>	n.d.	82.2	0.005	0.0255
Na <sup>+</sup>	0.0328	8.0	0.037	0.021
K <sup>+</sup>	n.d.	2.95	0.021	0.010
SO42-	n.d.	1356	n.d.	0.115
NO42-	n.d.	2.76	n.d.	n.d.
CI-	n.d.	9.17	n.d.	n.d.
Electrical conductivity [µS/cm]	0.91	1987	3.54	3.41
рH	7	7	7	7

して溶存イオンがゆっくりと取り除かれることで、分解能 が徐々に上がったことが考えられる。しかしながらこのユ ニットは未だ試作段階であり、イオン除去の効果を最大限 に引き出すイオン交換樹脂の最適量や最適流量など検討 する余地がある。



Figure 5. Comparison between the absorbances at adsorption equilibria and reaction rate constants (A).



ion-exchange resins

Figure 6. Image of silica glass tube unit which reduces the influence of the dissolved ions.

### 4. まとめ及び今後の展望

TiO2 担持多孔質シリカガラス管は構造が三次元的に連 続しているという特徴を有し、そのフィルタ効果と光触媒 効果により、空気浄化、水浄化ともに有用であることが示 唆された。さらに、このシリカガラス管は550℃の加熱や 水洗浄が可能であり繰り返し使用できることから環境浄 化ユニットとしてその機能に期待が持てる。しかしながら、 ここで述べたように水浄化においては溶存イオンの影響 が無視できないなど、実環境に適用させるには解決すべき 課題が残っており、今後これらの課題を適切な前処理や他 技術との組み合わせによりクリアにすることで、インライ ン型排気ガス浄化装置やストロー型水浄化ユニットとし ての実用化を進めていく。

## 【参考文献】

 Liu, B.; Nakata, K.; Sakai, M.; Saito, H.; Ochiai, T.; Murakami, T.; Takagi, K.; Fujishima, A. Hierarchical TiO<sub>2</sub> spherical nanostructures with tunable pore size, pore volume, and specific surface area: Facile preparation and high-photocatalytic performance. *Catalysis Science &* Technology, 2, 1933-1939, 2012

- Reddy, K.R.; Nakata, K.; Ochiai, T.; Murakami, T.; Tryk, D.A.; Fujishima, A. Facile fabrication and photocatalytic application of ag nanoparticles- TiO<sub>2</sub> nanofiber composites. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *11*, 3692-3695, **2011**
- Ochiai, T.; Tago, S.; Tawarayama, H.; Hosoya, T.; Ishiguro, H.; Fujishima, A. Fabrication of a porous TiO<sub>2</sub>-coated silica glass tube and its application for a handy water purification unit. *International Journal of Photoenergy*, 6, 2014
- Ochiai, T.; Tago, S.; Hayashi, M.; Tawarayama, H.; Hosoya, T.; Fujishima, A. TiO<sub>2</sub>-impregnated porous silica tube and its application for compact air- and water-purification units. *Catalysts*, 5, 1498-1506, 2015
- Balachandran, U.; Eror, N.G. Raman spectra of titanium dioxide. *Journal of Solid State Chemistry*,42, 276-282, 1982
- Liu, M.; Piao, L.; Zhao, L.; Ju, S.; Yan, Z.; He, T.; Zhou, C.; Wang, W. Anatase TiO<sub>2</sub> single crystals with exposed {001} and {110} facets: Facile synthesis and enhanced photocatalysis. *Chemical Communications*, 46, 1664-1666, 2010
- Zhu, J.; Wang, S.; Bian, Z.; Xie, S.; Cai, C.; Wang, J.; Yang, H.; Li, H. Solvothermally controllable synthesis of anatase TiO<sub>2T</sub> nanocrystals with dominant {001} facets and enhanced photocatalytic activity. *CrystEngComm*, 12, 2219-2224, 2010
- Guillard, C.; Puzenat, E.; Lachheb, H.; Houas, A.; Herrmann, J.-M. Why inorganic salts decrease the TiO<sub>2</sub> photocatalytic e□ciency. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHOTOENERGY*, 7, 1-9, 2005
- Chen, H.Y.; Zahraa, O.; Bouchy, M. Inhibition of the adsorption and photocatalytic degradation of an organic contaminant in an aqueous suspension of TiO<sub>2</sub> by inorganic ions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 108, 37-44, 1997
- Jiang, Y.; Luo, Y.; Lu, Z.; Huo, P.; Xing, W.; He, M.; Li, J.; Yan, Y. Influence of inorganic ions and ph on the photodegradation of 1-methylimidazole-2-thiol with TiO<sub>2</sub> photocatalyst based on magnetic multi-walled carbon nanotubes. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 35, 76-82, 2014
- Wiszniowski, J.; Robert, D.; Surmacz-Gorska, J.; Miksch, K.; Weber, J.-V. Photocatalytic mineralization of humic acids with TiO<sub>2</sub>. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHOTOENERGY*, 5, 69-74, 2003
- Gjipalaj, J.; Alessandri, I. Easy recovery, mechanical stability, enhanced adsorption capacity and recyclability of alginate-based TiO<sub>2</sub> macrobead photocatalysts for water treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5, 1763-1770, 2017
- Hayashi, M.; Ochiai, T.; Tago, S.; Tawarayama, H.; Hosoya, T.; Yahagi, T.; Fujishima, A. Influence of dissolved ions on the water purification performance of TiO<sub>2</sub>-impregnated porous silica tubes. *Catalysts*, 7, 158, 2017
- Zhang, J.; Cai, D.; Zhang, G.; Cai, C.; Zhang, C.; Qiu, G.; Zheng, K.; Wu, Z. Adsorption of methylene blue from

aqueous solution onto multiporous palygorskite modified by ion beam bombardment: Effect of contact time, temperature, ph and ionic strength. *Applied Clay Science*, 83–84, 137-143, **2013** 

- Shaban, Y.A. Enhanced photocatalytic removal of methylene blue from seawater under natural sunlight using carbon-modified n- TiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Environment and Pollution*, 3, 2013
- Nolan C. Tolosa; Lu, M.-C.; Mendoza, H.D.; Rollon, A.P. Factors affecting the photocatalytic oxidation of 2,4dichlorophenol using modified titanium dioxide TiO<sub>2</sub>/KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> catalyst under visible light. Sustainable Environment Research, 21, 381-387, 2011

# 植物モニタリングに向けたフレキシブル

# ホウ素ドープダイヤモンド(BDD) 電極の研究

## 田子 祥子

### 1. はじめに

近年、植物は周辺温度や湿度、光の強さなどの環境要因 の変動にともない、その生体電位が変動することが知られ てきており、植物生体電位の変化を検出することで環境の 変化を間接的にモニタリングできることが明らかになっ てきている[1-5]。本研究室はこれまでに植物モニタリング のためにホウ素ドープダイヤモンド (Boron-doped Diamond、以下 BDD) を電極に用いた高感度測定の研究に ついて報告している<sup>[6,7]</sup>。多結晶 BDD 電極は植物生体電位 変動の検出を利用した植物モニタリングにおいても有望 でありながら[8-10]、価格が高いこともあり、低価格でかつ 安定な測定系の開発が期待されており、これに応えるため に本研究を進めている。植物の生体電位の変化を、感度よ く長期的、安定的に検出できれば、農作物の管理にかかる 労力を低減することができ、フレキシブル BDD の開発に より低価格でこれを提供できるようになれば高齢化や農 業人口減少による農業への影響を緩和できると期待され る。

### 1.1 これまでの研究-BDDマイクロ電極

これまで、Fierro等により体内での pH の変化のモニタ リング<sup>[11]</sup>やガン腫瘍の評価<sup>[12]</sup>を目的とした BDD マイクロ 電極の研究が報告されている。また、Yoshimi等によりサ ルの脳におけるドーパミンニューロンの報酬により引き 起こされる興奮の発現についても BDD マイクロ電極で検 出されることが報告されている<sup>[13]</sup>。このように BDD マイ クロ電極は安定的に微小電流の変化を検出することに優 れており、その特性をいかした化学種との反応による微小 電流検出による化学センサへの応用には将来性があるが、 測定対象物が硬い場合に設置時に破断しがちである点が 植物を測定対象としたときに問題となった。

### 1. 2 フレキシブル BDD

この問題を解決するために、低価格でフレキシブルな BDD 電極を開発することを試みた。これまでの研究で 我々は多結晶ホウ素ドープダイヤモンド(Boron-doped Diamond, BDD) 電極が植物生体電位センサとして比較的 高感度で安定的に作動し,有用であることを見出しており <sup>[67]</sup>、本研究では植物の長期測定に使用することを目標と し、フレキシブル BDD 電極を作製するために BDD 粉末 と樹脂材料を用いた。 これまでに本研究室では、BDD 粉末と Nafion®を用いて 作製したフレキシブル BDD 針状電極を歯の根管の殺菌を 試み、これを報告している<sup>[14]</sup>。この研究に使用した BDD/Nafion®インクは本研究においても有用であると考 えられたため、この BDD と Nafion®を用いてフレキシブ ル BDD 膜を作製することとした。

また、BDD 粉末と Vylon®の組み合わせによるフレキシ ブル BDD 電極を圧膜印刷により作製したものも Kondo 等 により報告されており<sup>[15]</sup>、同様に有望と目されたため、本 研究では BDD/Nafion®系と BDD/Vylon®系の BDD フィル ムを作製し、電極として評価した。

## 2. 実験と結果

### 2.1 電極の作製

BDD 粉末は 500 nm 以下の天然ダイヤモンド粉末の表面 に BDD を MPCVD (microwave plasma-assisted chemical vapor deposition) で堆積させて作製したものを用いた。作 製条件などの詳細は<sup>[15]</sup>に報告されている。



## BDD sensor element

## 図1 多結晶 BDD センサ素子外観。

BDD/Nafion®のインクを作製するにあたり、2-プロパノ ールをNafion®分散液(20 wt%分散液、Aldrich)に加え、 粘度とBDD分散状況を調整した。Nafion®はイオン交換樹 脂であり、BDD 表面とイオンとの電子の授受が発生する 状況ではイオンをBDD 表面に輸送するのに適していると 考え採用した。混合比は重量比でBDD:Nafion®:2-プロ パノール=1:1:5とした。

一方、BDD/Vylon®インクを調整する際には、トルエン を Vylon® (非晶質ポリエステルタイプ、東洋紡)と KE-1830® (シリコン樹脂、信越化学)に加えて溶かし、混 ぜ合わせてから BDD 粉末を添加した。混合比は BDD: Vylon®: KE-1830®: トルエン=5:4:1:100 とした。

BDD インクはそれぞれ1 cm<sup>2</sup>の Pt 箔上に塗布し、乾燥 後、60□で1時間の後、120□で10分間オーブン中におい て熱処理してフレキシブル BDD 膜をとし、これらをフレ キシブル BDD 電極として用いた。図1に作製したフレキ シブル BDD 電極の画像および構成図を示す。

また、フレキシブル BDD 電極との比較のため、市販の 多結晶 BDD 電極(1 cm x 1 cm、Element six)を使用して センサ素子を作製した。平板電極のセンサ素子構造図は図 1g に示す。1 cm<sup>2</sup>の BDD 電極は 3M<sup>TM</sup> Red Dot<sup>TM</sup> 心電図用 Ag/AgCl 電極に取り付け、センサ素子とした。

測定系全体図は図2に示した。本研究では心電図電極の Ag/AgCl 部分と測定対象が直接接触しないようにマスキ ングテープで被覆し、BDD 電極のみを測定対象と密着さ せた。



図2測定系全体装置構成図。

### 2.2 植物への刺激と生体電位の変動

人の指で直接的に鉢植えのアロエ (Aloe) と鉢植えの雑 種のウチワサボテン (Opuntia hybrid, Cactus) に直接触れ て急激な電位の変化を引き起こした(図 3). これは以前



図 3 素手でアロエ (Aloe) 或いはウチワサボテン (Opuntia) に接触した時の電極間電位差の変動とその再現性評価。

報告した結果<sup>[6,7]</sup>と一致しており、測定系の信頼性が確認 された。人間の体は細胞からなっており、細胞は細胞膜を 有しており、その細胞膜は細胞内外の様々なイオン種のそ れぞれの分布状況に依存した細胞膜電位を有している。こ のため直接的な指での接触は植物に対する電気的刺激と して振る舞っていると推察された。

そこで、導電性材料であるアルミホイルをアロエの葉に



図 4 実験用のラテックス手袋を装着した手とアロエが密着 したとき接点の断面構造模式図。

巻き付けて、そのアルミの一端に素手で触れると電極間電 位差は急激に変化した。一方で、Latex の実験手袋を装着 した手でアロエの葉の一端にわずかに触れると電位変化 を引き起こさないことがわかった。しかしながら、手袋を 装着したまま、手のひらが密着するようにアロエの葉を握 ると、電極間電位差は素手でアロエの葉に触れた時のよう に素早く明確に変化した。アルミホイルは抵抗が低くよく 電気を通し、Latex 手袋は抵抗が高く電気を通さない性質 がある。これは、手をアロエに密着させることにより、手 と手袋とアロエとの間で平行版コンデンサーと同様の構 造となり(図 4)、平行版コンデンサーは直流の電気は一 瞬のうちに導体板が電荷を蓄えてしまうので、すぐに電流 は流れなくなるものの、交流の電気は通ることから、生体 を流れる電気の波がアロエの生体組織に伝わり、これが電 気刺激として働いたと考えると人の指でアロエに触れた 時に電極間電位差が変動する現象を説明できる。

植物電気生理学に関するこれまでの研究によると<sup>[4,5]</sup>、 電気インパルスは自然に生じたり、刺激の結果として生じ たりするが、ひとたびそれが起これば、隣接する細胞に伝 播し、隣り合う定常状態である静止電位の膜に影響を与え、 活動電位と呼ばれる電位変化の波を引き起こすとされて いる。細胞の内外ではそれぞれのイオン種の濃度分布の差 に起因する電位の違いがあり、電荷を持ったものが場所を 移動することで生体電位の変化が引き起こされる<sup>[2,16,17]</sup> (図 5)。



細胞膜の内外に分布するイオン種の違いと偏在が細胞膜電位を形成

刺激と電極間電位差変化

刺激によりイオンチャンネルが開き、イオンが通過 細胞膜近傍に偏在していたイオンが動く ⇒膜電位が変動

図5 細胞膜の構造図と膜電位発生の概念図

このような生体電位変動メカニズムに関する理論と本 研究で起きる事象は一致している。このため、アロエの生 体の電気をオシロスコープで測定し、指の接触によりどの ような電気信号の変化が起こるか観察した(図6)ところ、 アロエに素手で触れると、アロエにオシロスコープのプロ ーブを接触して得られる電気の波の振幅が触れていない ときのアロエから得られる電気の振幅よりも大きくなる ことがわかった。また、その生体の電気が様々な周波数の 電気で構成されていることが確認された。



図6素手でアロエに接触したときの電気的変化。それぞれ、 オシロスコープのプローブを直接測定対象に接触させて得ら れた電気の波形を示す。Backgroundはプローブが何にも触れ ていない状態。

## 2.3 長期信頼性評価

接触刺激前後での電位差の変化量の平均値(絶対値) Mean で刺激応答中の電位差のばらつき(標準偏差 SD)を 除した値を変動係数 CoV (coefficient of variation) とした (図 7a)。図 7b にそれぞれの電極対により検出された指 の接触刺激に対する電極間電位変化の平均値を 130 日以 上にわたり測定した結果を示す。またそのばらつき(CoV) を図 7c に示す。

刺激応答の再現性を確認するため、それぞれの電極で測 定日ごとに少なくとも繰り返し三回同じ方法で刺激を与 え電極間電位差の変化を測定した。また、植物の状態は周 辺環境に影響を受けるため、測定の30分以上前に19~23□ の室温に維持された室内にアロエ鉢を移動させ、水を与え たのち静置し、環境の影響を極力抑える操作を行った。図 7b に示す通り、アロエへの電極設置後、測定開始からの 数日は電位差変化の平均値はばらついていたが、図 7cの CoV の値を見ると小さく、変動がしっかり検出できている ことがわかる。これは、電極間電位差の変化量平均値の大 小にかかわらず、ノイズレベル (SD) に比べて大きくは っきりとした電位差の変化が起きていることを示してい る。最初の数日を過ぎたあとは電位差の変化量平均は小さ くなっていった。測定開始から二週間が過ぎた後は変化量 のばらつきも小さくなり、30日目以降は(図7c)安定し てノイズがすくなく変動を検出できている様子がわかっ た。この傾向は電極種(多結晶 BDD、BDDP/Nafion、 BDD/Vylon) に関係なく表れた。



図7(a)刺激による生体電位変化の統計処理。 それぞれの電 極対間で測定された(b)アロエへの指の接触により引き起こ された電位変化の平均値(絶対値)の経時変化、ならびに(c) 電位変動ばらつき(SD/mean,変動係数CoV)の経時変化。

### 3. 考察及び今後の展望

これまでの研究から BDD 粉末と樹脂材料(Nafion また は Vylon) からなるフレキシブルな BDD 電極をアロエに 設置して電極間電位差の変化として植物の生体電位変化 をモニタリングするシステムは電極の形状や樹脂材料の 違いにかかわらず機能していることが分かった。また、本 研究で用いた BDD 粉末と樹脂材料からなる安価でフレキ シブルな BDD 電極は多結晶 BDD 電極と同程度の信頼性 を持ち、少なくとも繰り返し130日間以上にわたり植物の 電位の変化を検出することに成功し、その再現性を示した。 これらのことから、植物の生体電位をモニタリングするた めの安価でフレキシブルな BDD 電極は有望であると結論 できる。また、本研究を通じて、人が植物に直接触れる時 に人の生体組織と植物の生体組織との距離が十分に小さ ければ人の生体の電気が刺激として植物に影響を与える ことが示唆される結果が複数得られており、センサ応答の 大きさ (mean) には生体電気の周波数帯と電極の周波数特 性とのマッチングなどが複雑に絡み合っているものと考 えられる。今後はこの安価でフレキシブルな BDD 電極の

更なる改善や特性評価に加え、電気信号の検出メカニズム などの研究を進めていく予定である。

### 【参考文献】

- Backster, C. Evidence of a Primary Perception in Plant Life. *International Journal of Parapsychology* 10, 329-348 (1968).
- 2 Fromm, J. & Lautner, S. Electrical signals and their physiological significance in plants. *Plant, Cell & Environment* **30**, 249-257, (2007).
- 3 Toriyama, H. Individuality in the anomalous bioelectric potential of silk trees prior to earthquakes. Science reports of Tokyo Woman's Christian University **41**, 1067-1077 (1991).
- 4 in *Theory and Methods* Vol. first *Plant Electrophysiology* (ed Alexander G. Volkov) (Springer, 2006).
- 5 in *Plant Electrophysiology* Vol. second (ed Alexander G. Volkov) (Springer, 2012).
- Ochiai, T., Tago, S., Hayashi, M. & Fujishima, A.
  Highly Sensitive Measurement of Bio-Electric
  Potentials by Boron-Doped Diamond (BDD)
  Electrodes for Plant Monitoring. Sensors 15, 26921-26928 (2015).
- Ochiai, T., Tago, S., Hayashi, M. & Fujishima, A.
   Highly Sensitive Measurement of Bioelectric
   Potentials by Boron-Doped Diamond Electrodes for
   Plant Monitoring. ECS Transactions 75, 233-242, (2016).
- Pecková, K., Musilová, J. & Barek, J. Boron-Doped Diamond Film Electrodes—New Tool for Voltammetric Determination of Organic Substances. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 39, 148-172, (2009).
- 9 Yasuaki Einaga, S.-G. P., Claude Levy-Clement, Christos Comninellis, Yuri V. Pleskov, John C. Angus and Akira Fujishima. Electrochemical Applications of Conductive Diamond Electrodes. (2001).
- Wei, M., Terashima, C., Lv, M., Fujishima, A. & Gu,
   Z. Z. Boron-doped diamond nanograss array for electrochemical sensors. *Chemical Communications*, 3624-3626, (2009).
- 11 Fierro, S., Seishima, R., Nagano, O., Saya, H. & Einaga, Y. In vivo pH monitoring using boron doped diamond microelectrode and silver needles: application to stomach disorder diagnosis. *Sci Rep* 3, 3257, (2013).
- 12 Fierro, S. *et al. In vivo* assessment of cancerous tumors using boron doped diamond microelectrode. *Sci. Rep.* **2**, (2012).
- 13 Yoshimi, K. *et al.* Phasic reward responses in the monkey striatum as detected by voltammetry with

diamond microelectrodes. *Neurosci Res* 71, 49-62, (2011).

14

- Ochiai, T. *et al.* Boron-doped diamond powder (BDDP)-based polymer composites for dental treatment using flexible pinpoint electrolysis unit. *Electrochemistry Communications* **68**, 49-53, (2016).
- Kondo, T. *et al.* Screen-printed diamond electrode: A disposable sensitive electrochemical electrode. *Electrochemistry Communications* 13, 1546-1549 (2011).
- 16 Krol, E. Ways of Ion Channel Gating in Plant Cells. Annals of Botany 86, 449-469, (2000).
- Blau, A. in *Applied Biomedical Engineering* (eds Gaetano D. Gargiulo & Alistair McEwan) 83-122 (InTech, 2011).

## 業績

## 【原著論文】

- Tago, S.; Ochiai, T.; Suzuki, S.; Hayashi, M.; Kondo, T.; Fujishima, A., Flexible Boron-Doped Diamond (BDD) for Monitoring Plants. *Sensors* 2017, *17*, 1638.
- Hayashi, M.; Ochiai, T., Tago, S., Tawarayama, H.; Hosoya, T.; Yahagi, T.; Fujishima, A., Influence of dissolved ions on the water purification performance of TiO<sub>2</sub>-impregnated porous silica tubes. *Catalysts*, **2017**, *7*, 158.
- Ryosuke Tamura; Tsuyoshi Ochiai; Morio Nagata, Comparison of Photocatalytic Activities of Cu/TiO<sub>2</sub> and Ag/TiO<sub>2</sub> in Gaseous- and Liquid-Phases Degradation of H<sub>2</sub>S. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 2017, 9, 1696.
- 4. Yuya Takekuma, Tsuyoshi Ochiai, and Morio Nagata, Immobilization of Rhodamine B Isothiocyanate on TiO<sub>2</sub> as Light Harvesting for Zinc Phthalocyanine Dye-Sensitized Solar Cells. *Chemistry Letters*, 2018, 47, 225-227.
- 5. Haruki Nagakawa, Tsuyoshi Ochiai, and Morio Nagata, Fabrication of CdS/β-SiC/TiO<sub>2</sub> Tri-composites that Exploit Hole- and Electron-transfer Processes for Photocatalytic Hydrogen Production under Visible Light. *International Journal of Hydrogen Energy*, **2018**, *43*, 2207-2211.
- 6. Shanhu Liu, Rui Li, Shengnan Li, Yong Liu, Nakata Kazuya, Tsuyoshi Ochiai, Liqun Mao, Ruimin Xing, Akira Fujishima, Platinum-Copper Bimetallic Alloy Nanocrystal Clusters: Fabrication and Enhanced Electrocatalytic Activity for the Methanol Oxidation Reaction. *ChemComm, submitted.*
- Miyako Ishida, Tsuyoshi Ochiai, Tsukaho Yahagi, Hidenori Saito and Morio Nagata, Z-scheme-type Photocatalyst System for Water-splitting using TiO<sub>2</sub> and Sn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. *Catalysts, submitted*.
- Reo Eguchi, Morio Nagata, Tsuyoshi Ochiai, Improvement for Interfacial charge transfer (ICT) transitions based on Nb doped TiO<sub>2</sub> electrode with TCNQ. *The Journal of Physical Chemistry C, submitted.*
- Hayato Takada, Morio Nagata, Tsuyoshi Ochiai, Colour-changeable gold lustre polymers applied toward energy storage smart windows. *Electrochemistry Communications, submitted.*
- 10. Ruimin Xing, Xiaojing Liu, Yinxia Xu, Baoshun

Liu, Tsuyoshi Ochiai, Caixia Feng, Ruifeng Chong, Liqun Mao, Shanhu Liu, CdS/ZnS Heterostructured Porous Composite with Enhanced Visible Light Photocatalysis. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology, submitted.* 

### 【総説】

- 林 美緒; 落合 剛; 田子祥子; 藤嶋昭, TiO2 担持多 孔質シリカガラス管の創製と環境への応用可能性. 材料表面 2017, Vol.2 No.3, 81-88.
- 落合 剛、田子祥子、林 美緒、藤嶋 昭、光触媒と諸 種の技術を組み合わせた複合的水処理技術、セラミッ クス、2018, 53, 86-89.

## 【書籍】

 落合 剛,"光触媒性能評価と光触媒ミュージアム"(巻 末資料).藤嶋 昭著『第一人者が明かす光触媒の すべて』ダイヤモンド社,2017年11月

### 【口頭発表】

### (招待講演)

- "Effective Design for Environmental and Medical Application of TiO<sub>2</sub> Photocatalysts and Boron-doped Diamond Electrodes" Tsuyoshi Ochiai, International Workshop on Semiconductor Photocatalysis, 2017.7.30, Jinling Hotel, Changchun, P.R.China
- "Development of a TiO<sub>2</sub>-coated Plastic Optical Fiber and Its Photocatalytic Activity" Tsuyoshi Ochiai, Takuya Sato, Rei Furukawa and Morio Nagata, 17<sup>th</sup> International Symposium on Advanced Organic Photonics (ISAOP-17), 2017.10.11, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai, P.R.China
- "Fabrication of a TiO<sub>2</sub>-coated Plastic Optical Fiber for Environmental Purification" Takuya Sato, Tsuyoshi Ochiai, Rei Furukawa and Morio Nagata, 17<sup>th</sup> International Symposium on Advanced Organic Photonics (ISAOP-17), 2017.10.11, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai, P.R.China
- "Boron-doped Diamond Powder-based Polymer Composites for Flexible Electrolysis Unit" Tsuyoshi Ochiai, Shoko Tago, Mio Hayashi, Takeshi Kondo, Akira Fujishima, The 23<sup>rd</sup> International Conference on Advanced Oxidation Technologies for Treatment of

Water, Air and Soil(AOTs-23), 2017.11.13, Holiday Inn Hotel & Suite-Clearwater Beach, Florida, USA

- 5. "国際学会参加および論文発表のすすめ"落合剛、
   東京理科大・永田研究室ゼミ合宿特別講演、
   2017.09.04、ホテルセントビレッヂ、山梨
- "Photocatalysis: fundamentals and medical applications"落合剛、藤嶋昭, 2<sup>nd</sup> NRW-Fukushima Joint Symposium on Advances in Medicine, 2017.12.02, (一財)脳神経疾患研究所総合南東北病院、福島

### (一般講演)

- "Analysis of adsorption and decomposition of odor components and tar contents in tobacco smoke on non-woven fabric-supported TiO<sub>2</sub>" Tsuyoshi Ochiai, Shoko Tago, Mio Hayashi, Yasuhisa Akutsu, Morio Nagata, Akira Fujishima, The 2nd International Conference on New Photocatalytic Materials for Environment, Energy and Sustainability (NPM-2), 2017.7.3, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Slovenia
- "Comparison of Degradation Behavior in H2S Degradation using TiO<sub>2</sub>-based Photocatalyst and ZnS-based Photocatalyst" Ryosuke Tamura, Toru Kondo, Hidenori Saito, Daisuke Aoki, Tsuyoshi Ochiai, Morio Nagata, International Workshop on Semiconductor Photocatalysis, 2017.7.30, Jinling Hotel, Changchun, P.R.China
- "Z-scheme-type photocatalyst system for water splitting using TiO<sub>2</sub> and Sn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>" Miyako Ishida, Tsuyoshi Ochiai, Tsukaho Yahagi, Hidenori Saito, Morio Nagata, International Workshop on Semiconductor Photocatalysis, 2017.7.30, Jinling Hotel, Changchun, P.R.China
- "Surface modification of photovoltaic conversion devices due to interfacial charge-transfer (ICT) transition based on Nb doped TiO<sub>2</sub> electrode with TCNQ" Reo Eguchi, Morio Nagata and Tsuyoshi Ochiai, 7th International Symposium on Energy, 2017.8.16, Mercure Manchester Piccadilly Hotel, Portland St, Manchester, UK
- "Effective Design for Environmental Application of TiO<sub>2</sub> Photocatalysts" Tsuyoshi Ochiai, Mio Hayashi, Shoko Tago and Akira Fujishima, 7<sup>th</sup> International Symposium on Energy, 2017.8.16, Mercure Manchester Piccadilly Hotel, Portland St, Manchester, UK

- 12. "Platinum-modified Titanium Electrode for Electrochemical Ozone Generation Prepared by the Multiple Electrostrike Method" Tsuyoshi Ochiai, Mio Hayashi, Shoko Tago and Akira Fujishima, The 68th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 2017.8.29, The Rhode Island Convention Center (RICC), Providence, RI, USA
- "Influence of Dissolved Ions on The water purification performance of TiO<sub>2</sub>-impregnated porous silica tubes" Mio Hayashi, Tsuyoshi Ochiai, Shoko Tago, Hiromasa Tawarayama, Toshifumi Hosoya, Akira Fujishima, 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry (ISE), 2017. 8. 31, Providence, RI, USA
- "Color changeable gold luster polymer apply for energy storage smart window" Hayato Takada, Morio Nagata and Tsuyoshi Ochiai, 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry (ISE), 2017. 8. 31, Providence, RI, USA
- 15. "Immobilization of Artificial Light Harvesting System Imitated Plants on TiO<sub>2</sub> for Dye-Sensitized Solar Cells" Yuya Takekuma, Tsuyoshi Ochiai, Morio Nagata, The 23<sup>rd</sup> International Conference on Advanced Oxidation Technologies for Treatment of Water, Air and Soil(AOTs-23), 2017.11.13, Holiday Inn Hotel & Suite-Clearwater Beach, Florida, USA
- "光触媒の脱臭・抗菌性能評価法の紹介および医療 応用への展望"落合剛, HOSPEX Japan2017 ソリュ ーションプレゼンテーションセミナー, 2017.11.22, 東京国際展示場
- "ホウ素ドープダイヤモンド電極の特性と植物生体 電位センサへの応用"田子祥子、林 美緒、落合 剛、近藤剛史、藤嶋 昭、第85回電気化学会、2018.
   3.10,東京理科大学葛飾キャンパス
- 18. "TiO2 担持多孔質シリカガラス管の創製と環境浄化 への応用可能性"林美緒、落合剛、田子祥子、矢 矧束穂、俵山博匡、細谷俊史、藤嶋昭、日本化学会 第98春季年会、2018.3.21、日本大学理工学部船橋キ ャンパス
- "生物学的処理および光触媒・boron-doped diamond (BDD)電極併用汚水浄化システムの構築と評価" 井手口 真理、佐藤 俊貴、落合 剛、藤嶋 昭、鈴木 智順,日本農芸化学会 2018 年度大会, 2018.3.16-17, 名城大学天白キャンパス

## 【ポスター発表】

- "Flexible Boron-Doped Diamond (BDD) for Monitoring Plants" Shoko Tago, Tsuyoshi Ochiai, Seitaro Suzuki, Mio Hayashi, Akira Fujishima, 68<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 2017. 8. 28, Providence, RI, USA
- "Flexible Pinpoint Electrolysis Unit for Electrochemical Disinfection of Root-canal" T. Ochiai1, M. Hayashi, S. Tago, T. Yahagi, K. Hirota, K. Satomura, A. Fujishima, the Continental European and Scandinavian divisions of the International Association for Dental Research Oral Health Research Congress, 2017.09.21, Messe Wien Exhibition & Congress Center, Wien
- "Evaluation of the Water Purification Performance of TiO<sub>2</sub>-impregnated Porous Silica Tubes" Mio Hayashi, Tsuyoshi Ochiai, Shoko Tago, Hiromasa Tawarayama, Toshifumi Hosoya, Tsukaho Yahagi, Akira Fujishima, Photocatalysis 2 & SIEMME'23, 2017.12. 2, Tokyo University of Science, Katsushika, Japan
- "Evaluation of Flexible Boron-Doped Diamond (BDD) Electrodes for Plant Monitoring" Shoko Tago, Tsuyoshi Ochiai, Seitaro Suzukia, Mio Hayashi, Takeshi Kondo, Akira Fujishima, Photocatalysis 2 & SIEMME'23, 2017.12. 2, Tokyo University of Science, Katsushika, Japan
- "可視光下での水素発生に用いるホール、電子移動 の過程を利用した CdS/β-SiC/TiO2 三種複合光触媒 の作製"長川遥輝、落合剛、永田衞男、電気化学夏 の学校、2017.09.26、八王子セミナーハウス
- "銅担持酸化チタン及び銀担持酸化チタンによる 気相中と液相中における硫化水素の分解挙動の比 較"田村亮介、永田衞男、落合剛、電気化学夏の学 校、2017.09.26、八王子セミナーハウス
- "生物学的処理および光触媒・boron-doped diamond 電極併用汚水浄化システムの構築とその評価"井手 ロ 真理、佐藤 俊貴、落合剛、森戸祐幸、藤嶋昭、 鈴木智順、日本防菌防黴学会 第44回年次大会、 2017.9.27、千里ライフサイエンスセンター
- "光触媒酸化チタンの抗菌・親水性効果の検討"黒 岩晢良、野村義明、落合剛、中村芳樹、第76回日 本矯正歯科学会学術大会,2017.10.19,さっぽろ芸 文館
- 9. "可視光応答型光触媒酸化チタンコーティングの歯

科矯正用アンカースクリューへの応用"須藤 智省、 菅崎 弘幸、落合 剛、中村 芳樹,第76回 日本 矯正歯科学会学術大会,2017.10.19,さっぽろ芸文 館

- "Fabrication of CdS/β-SiC/TiO2 Tri-Composite Photocatalyst for Hydrogen Production under Visible Light Irradiation" 長川遥輝、落合剛、永田衞男, Photocatalysis 2 & SIEMME'23, 2017.12.02, 東京理 科大学葛飾キャンパス
- "Analyses of hybrid wastewater purification system using biological treatment, photocatalyst and boron-doped diamond electrode" 井手口 真理、佐藤 俊貴、落合 剛、藤嶋 昭、鈴木 智順, Photocatalysis 2 & SIEMME'23, 2017.12.02, 東京理科大学葛飾キ ャンパス
- "Flexible Pinpoint Electrolysis Unit for Electrochemical Disinfection of Root-canal" 落合剛, 千葉大有機相互 作用研究会, 2017.12.19, 千葉大西千葉キャンパス
- "光捕集系を用いた色素増感太陽電池"武隈 侑也、 落合 剛、永田 衞男, 千葉大有機相互作用研究会, 2017.12.19, 千葉大西千葉キャンパス
- 14. "ゼオライトと酸化チタンを複合した光触媒を用いた水中におけるアンモニアの酸化" 芳賀 祥子、永田 衛男、落合 剛,千葉大有機相互作用研究会,2017.12.19,千葉大西千葉キャンパス
- "光合成生物を模倣した光収穫系-色素増感太陽電 池"武隈侑也,永田衞男、第85回電気化学会、2018.
   3.9,東京理科大学葛飾キャンパス
- "Photocatalytic hydrogen production and decomposition of hydrogen sulfide under visible light with anti-photocorrosive tri-composite photocatalysts" Haruki Nagakawa, Morio Nagata, 日本化学会第 98 春 季年会, 2018.3.22, 日大理工学部船橋キャンパス
- 17. "Energy Transfer from Rhodamine B Derivative to Phthalocyanine dye for Light Harvesting in Dye-Sensitized Solar Cells" Yuya Takekuma, Morio Nagata, 日本化学会第 98 春季年会, 2018.3.22, 日大 理工学部船橋キャンパス

### 【特許】

(1) 国内特許出願 2件(2) 国内特許登録 2件

# 「光触媒」グループ(抗菌・抗ウイルス研究グループ)

窪田 吉信、石黒 斉

### 【基本構想】

光触媒グループ 抗菌・抗ウイルス研究グループでは、地域イノベーション戦略支援プログラムにおける テーマとして、「細菌・ウイルスの評価・予防・治療法の開発についての検討」、「KISTEC 機器の共用化」 の二つのテーマについて活動を行っている。「KISTEC 機器の共用化」では、光触媒を中心に様々な抗菌・ 抗ウイルス加工品について、抗菌・抗ウイルス性能評価試験を行い、様々な企業や研究機関による抗菌・ 抗ウイルス加工品の研究開発を推進することを目的とした取り組みを行っている。また、現行の抗菌・抗 ウイルス性能評価に関する JIS/ISO 規格では対応できない試験についても、応用的な試験方法の開発を進め、 提供する取り組みを行っている。更に、光触媒加工品による抗ウイルス性能評価である JIS/ISO 規格が細菌 に感染するウイルスであるバクテリオファージをモデルウイルスとして用いている一方、様々な抗ウイル ス加工品の研究開発では動物細胞に感染するウイルスを用いた性能評価試験のニーズが非常に高いことか ら、そのニーズに対応すべく、インフルエンザウイルスを用いた抗ウイルス性能評価を提供し、研究開発 の促進につながるよう活動を行っている。また、各種性能評価を行うにあたっては、ISO 17025の認定を取 得し、常に技量及び品質の向上に努め、ニーズに合わせた試験を提供しながら国際評価技術センター構築 に向けて取り組んでいる。地域イノベーション戦略支援プログラムのもう一つのテーマである「細菌・ウ イルスの評価・予防・治療法の開発についての検討」では県内大学機関や KISTEC 内の研究グループと連 携し、研究を進めており、新たな前立腺がんの発症メカニズムの解明に取り組んでいる。その他、新たな 抗菌・抗ウイルス性能評価法の開発への取組みを行っている。

### 1. 平成 29 年度の研究目的

プロジェクト 13 年目となる平成 29 年度は、以下の各項 目について、検討を行った。

(1) 抗菌・抗ウイルス性能評価試験(KISTEC 保有研究設備・機器の共用化、地域イノベーション戦略支援プログラム)

本研究テーマでは、KISTEC が所有する無菌作業で必要 な機器類の利用を通じて、県内外や国内外の多くの企業や 研究機関の研究開発を推進することを目的として活動し ている。特に、様々な加工品、原材料の抗菌・抗ウイルス 性能評価試験を提供することで、製品開発を促進すること を目標としている。また、その際には、試験対象が微生物 となることから、KISTEC 研究員が依頼試験という形で代 行し、結果の提供を行っている。平成 29 年度は動物細胞 感染ウイルスの1種であり、試験要望の多いインフルエン ザウイルスを用いた依頼試験を開始するための整備を行 った。

また、ISO17025 の維持について、試験機関としての品 質と技量の向上に努めていくことを目的して、年間活動計 画に基づいた活動を行った。具体的には、JIS Z 2801 を用 いた抗菌技能試験への参加を行い、また平成 29 年度は ISO17025 の更新について、全項目検査として審査への対 応などを行った。これらの活動を通じて、国際評価技術セ ンターとしての機能構築と充実に向けて取り組みを行った。

(2) 新規な抗菌・抗ウイルス評価試験法の開発

これまで、紫外光及び可視光応答形光触媒による抗菌・ 抗ウイルス性能評価試験方法の確立に向けて取り組みを 行い、それぞれの ISO 及び JIS 規格を確立してきた。一方 で、可視光応答形光触媒の抗菌性能を JIS 規格で評価した 高い抗菌性能を持つ可視光応答形光触媒加工品を用いて、 空港や病院の実際の使用環境下で抗菌効果の実証試験を 行ったところ、JIS 規格で得られた高い抗菌効果が得られ ていないことが明らかとなっている。この理由として、実 環境下においては様々な要因が影響していると考えられ た。そこで、本研究では、実環境を想定した新規抗菌性能 評価試験法の ISO 化に向けた基礎検討を行い、ISO 規格と して制定することを目的に検討を進めてきた。その結果、 平成28年度3月に、新規ISO案として、提案を行い、そ の後、海外専門家を交えた ISO 案の内容についての議論が 進められている。議論の中から特に重要なコメントとして、 温湿度の条件の違いが抗菌性能に違いをもたらすのでは ないかというコメントがあった。そこで、平成 29 年度は 温湿度の条件の違いによる抗菌・抗ウイルス効果の確認を 行い、また海外における新規 ISO 案の適応状況を確認する ために、中国試験機関の協力を得て、試験技術の提供と実

際の試験を行った。その結果をもとに、各国エキスパート との議論を進めていき、最終的な ISO 規格として、成立を 目指した活動を行っている。

(3) 細菌・ウイルス感染による前立腺がんの発生・進展に ついての研究(地域イノベーション戦略支援プログラム)

前立腺がんは高齢者に多く、また近年増加傾向にあるが んである。その大きな特徴として、男性ホルモンによって 増殖するがんであることが挙げられる。そのため、男性ホ ルモンの働きを抑制することで、前立腺がんの増殖を抑制 することが出来ることから、多くの抗男性ホルモン薬の開 発と臨床での利用が行われている。一方で、前立腺がんが 進行していく中で、男性ホルモンを抑制しているにもかか わらず、前立腺がんが再度増殖を始めることが知られてお り(去勢抵抗性がん)、これらに対する有効な治療方法の開 発が非常に重要である。さらに、前立腺がんの発生因子を 明らかにすることで、新しい予防法、診断法、治療法の開 発に結び付けることが可能と考えられる。本研究では、前 立腺がんの発生や進展の新たな機構として、細菌やウイル スの感染による前立腺がんの発生と進展機構を解明する ことを目標に検討を開始し、前立腺がん組織を用いてがん の発生や進展に関与する細菌やウイルスの検出を試みて きた。しかしながら、現在までに前立腺がんに関わる可能 性のある細菌やウイルスの同定には至っていない。そこで、 本研究では細菌やウイルスの同定に加えて、感染と関連す る細胞内分子に注目し、その細胞内分子の異常と前立腺が んの関係についての検討を開始している。その結果、 atypical protein kinase C(aPKC)という分子が前立腺がんの 発生に関与する可能性を示唆するデータを取得してきた。 平成 29 年度は aPKC の機能について、更に検討を進めて いき、前立腺がん発生との関係について明らかにすること を目的に研究を推進した。

### 2. 平成 29 年度の研究成果

以下に、平成29年度の具体的な研究成果を示す。 (1) 抗菌・抗ウイルス性能評価試験(KISTEC 保有研究設備・機器の共用化、地域イノベーション戦略支援プログラム)

平成 29 年度はインフルエンザウイルスを用いた依頼試 験を整備し、提供を開始した。抗菌・抗ウイルス全体の依 頼件数は 177 件であり、平成 28 年度の 124 件を大幅に超 えた件数となった(図 1)。対象とした加工品の内訳として、 光触媒加工製品については平成 28 年度とほぼ同じであっ たが、光触媒以外の加工品の依頼件数が大きく増加してい た。また、相談件数を含めても平成 28 年度の 160 件から 234 件と大きく件数が増加していた。このことから、県内 外において、多くの抗菌・抗ウイルス加工製品の開発がす すめられていると考えられる。

ISO 17025 の維持については、JIS Z 2801 に基づいた抗 菌技能試験に参加し、その結果「満足」という結果を得て いる。また、平成 29 年度は登録機関としての更新審査の 年であり、外部審査員 2 名による審査を受けた。審査結果 としては大きな問題はなく、更新作業は無事に終了した。 これらのことから、平成 29 年度以降も、試験技量の向上 と試験機関としての品質向上とその維持に努めていくこ とを目標として活動する予定である。



(2) 新規な抗菌・抗ウイルス評価試験法の開発

これまでの検討結果から、JIS/ISO 規格に基づいた抗菌 性能評価試験で非常に高い抗菌効果を得ている可視光応 答形光触媒加工品が、様々な要因によって実環境において は、抗菌効果が低くなる傾向が認められている。そこで、 実環境を想定した抗菌性能評価試験方法の標準化が必要 と考えられ、一般社団法人日本ファインセラミックス協会 と共に平成26、27年度アジア基準認証推進事業、平成28、 平成 29 年度戦略的国際標準化加速事業の中で、また光触 媒工業会との共同研究などにより、実環境を想定した新規 抗菌性能評価試験方法を開発し、平成28年度3月に新規 ISO 案として、提出した。ISO 制定のために新規標準試験 案として提出した後、各国との専門家と議論を進めていき、 より良い標準試験規格としていくことが重要であり、平成 29 年度はその議論を通じて得られたコメントについて対 応し、ISO としての制定を目標に活動を行った。具体的に は、アジア光触媒標準化会議や ISO 総会にて、試験方法の 周知や議論を重ねた。その結果、温湿度の条件の違いが抗 菌性能の違いに結び付くのではないかというコメントが 出た。そこで、温湿度を変えた様々な条件下における新規 抗菌性能評価試験方法による抗菌性能評価を行い、温湿度 と抗菌性能についてのデータを取得した。その結果、低温 下においては、極端な高湿度条件下でなければ、抗菌性能 評価試験が可能である結果を得た。また、試験温度を35℃ とした場合には、試験菌液が減少する結果となっており、 今後 ISO 案に温湿度の範囲を規定することも必要である と考えられた。
試験サンプル	照射条件	試験片重量 (mg)			試驗菌液重量 (mg)					二一数		生菌数	単位重量あたりの 生菌数 (cfu/mg)		低減率
		塗布前	塗布直後	光照射後	塗布直後	光照射後	照射後の 増減	Nol	No2	No3	平均	(ciu)	個々	平均	\$ 707
無加工品		11067.6	11069.9		2.3			146	116	69	110.33	1103	480	478.1	
	0時間	11118.7	11121		2.3			124	121	77	107.33	1073	467		
		11133	11135.2		2.2			132	90	100	107.33	1073	488		
	4時間 暗所	11121.6	11124.1	11124.4	2.5	2.8	-0.3	222	221	239	227.33	2273	909	742.3	-
		11157.7	11160.6	11160.5	2.9	2.8	0.1	143	136	148	142.33	1423	491		
		11126	11128.5	11128.6	2.5	2,6	-0.1	212	206	202	206.67	2067	827		
	4時間 1,000 lx	11100.8	11103.2	11103.5	2.4	2.7	-0.3	86	89	76	83.67	837	349	510.3	÷
		11145.6	11148.3	11148.1	2.7	2.5	0.2	173	177	145	165.00	1650	611		
		11133	11135.2	11135	2.2	2	0.2	120	133	124	125.67	1257	571		
	and on	11610.9	11613.8	11613.3	2.9	2.4	0.5	64	78	74	72.00	720	248	271.5	63.4
光触媒加工品	4時行[前]	11539.4	11542	11541.8	2.6	2.4	0.2	68	73	75	72.00	720	277		
	PH 771	11378.4	11380.9	11380.5	2.5	2.1	0.4	78	74	65	72.33	723	289		
	ARE DU	11578.5	11581.1	11580.9	2.6	2.4	0.2	36	46	31	37.67	377	145		71.8
	4#cf [0]	11483.6	11485.7	11485	2.1	1.4	0.7	55	25	28	36.00	360	171	143.8	
	1,000 IX	11576.3	11578.5	11578.4	2.2	2.1	0.1	32	23	21	25.33	253	115		

表1. 中国における試験結果(表皮ブドウ球菌)

\*試験菌液の濃度(cfu/mg): 4.2×10<sup>2</sup>

また、提案した ISO 案が海外において適応可能かについ て、中国の専門家及び試験機関の協力を得て、実際に中国 で試験を行った。基本的には ISO 案に準じて行ったが、用 いた 菌株 は中 国 側 で 用 意 した 表 皮 ブドウ球 菌 (CMCC(B)26069)とした。また、380 nm 以下をカットする フィルタが入手できなかったため、今回の検討では全光照 射によって行った。その結果、中国においても、日本で得 られた結果と同等の抗菌性能を確認することが出来た(表 1)。そのことから、海外においても、問題なく試験を行う ことが可能であることが明らかとなった。

今後は、平成 29 年度の結果をもとに、専門家と議論を 進めていき、ISO 規格としての成立を目指す予定としてい る。

(3) 細菌・ウイルス感染による前立腺がんの発生・進展に ついての研究(地域イノベーション戦略支援プログラム)

現在まで、前立腺がんの発生や進展に関わる細菌・ウイ ルスの同定を試みてきたが、これまでのところがんに関わ ると考えられる細菌やウイルスの発見には至っていない。 一方で、感染に関わる分子として、aPKCに注目して、検 討を続けてきた結果、aPKCの発現が増加することで、正 常前立腺細胞が悪性化している可能性が明らかとなった。 そこで、平成29年度はさらにその検討や悪性化に関わる 分子機構について、aPKCの発現を増加させた正常前立腺 細胞株を用いた検討を行った。その結果、aPKCの発現を 増加していない対照細胞株と比較した際に、aPKCの発現 増加によって、浸潤に関わる分子の発現及び活性の増加し ていることが明らかとなった。また、実験動物移植モデル を用いて aPKC の発現を増加させた前立腺細胞株が、生着 するか検討を行った。

その結果、対照細胞株は生着が認められなかったのに対して、aPKCの発現を増加させた細胞株は実験動物に生着し、またその移植片を染色、確認した結果細胞が悪性化していることが明らかとなった(図2)。このことから、aPKCの発現の増加が前立腺がんの発生に強く関係していると考えられた。今後、aPKCの阻害剤や発現量を確認するこ

とで、新しい治療法や診断法の開発へ進めることが出来る と考える。



図 2. 細胞移植片の HE 染色結果

### aPKC の発現による前立腺がん発生機構の解明

### 石黒 斉、永井 武

#### 1. はじめに

前立腺がんは高齢者に多く認められるがんであり、日本 国内においてもその発生率の増加が問題となっている。特 に、今後の高齢化社会を迎えるにあたり、前立腺がんの予 防方法、早期診断、新規治療方法の開発は大きな課題であ 3.

前立腺がんの発生や進展については、男性ホルモンが非 常に重要な役割を担っている。そのため、手術による外科 的な治療方法、放射線を用いる治療方法に加えて、男性ホ ルモンの作用を阻害する薬剤による治療(ホルモン療法)が 一般的におこなわれる。しかしながら、ホルモン療法開始 後、数年後に男性ホルモン非依存性にがんが進展していく 状態になることが知られており(去勢抵抗性がん)(図1)、こ の去勢抵抗性がんに対しての有効な治療法はいまだに確 立していない。

ウイルス・細菌感染とがんの関係については、国内外で 多くの研究が進められており、幾つかのがんの発生や進展 にウイルス・細菌の関係が明らかとなっている。一方、前 立腺がんの発生や進展と細菌・ウイルスの感染については、 いまだに明らかとなっていない。

本研究テーマでは前立腺がんと細菌・ウイルスの感染の 関係について明らかし、前立腺がんの診断、予防、治療方 法の開発をすべく、研究を進めてきている。しかしながら、 前立腺がんに関係する細菌・ウイルスの同定にはいたって いない。

我々は以前より、atypical protein kinase C(aPKC)が前立 腺がんの進展に重要な分子であることを報告している。ま た、細胞にウイルスや細菌が感染することで活性化される NFκBなどの分子の活性化や炎症性サイトカインの分泌に aPKC は重要な役割を担っていることが明らかとなってい る。このことから、aPKC が前立腺がんの発がんにどのよ うな影響を及ぼしているかについて検討を開始し、前立腺 がんの発がんに非常に重要な機能を持っていることを明 らかとしつつある。本年度についても、引き続き aPKC に よる発がん機構の解明に向けて検討を行ってきており、そ の結果について報告を行う。

#### 1. 1. これまでの検討状況

始めに、正常前立腺細胞株である RWPE-1(ATCC CRL11609)に抗生剤耐性遺伝子を含む aPKC 発現プラスミ ドベクターを遺伝子導入し、抗生剤による選択を行い、恒 常的にaPKCが発現している細胞株(RWPE-1-aPKC)を樹立 した。また、対照細胞株として、aPKC 遺伝子を含まない プラスミドベクターを遺伝子導入し、aPKC 発現細胞株と

同様に抗生剤による選択を行い、同様に細胞株を作製した (RWPE-1-empty)。これらの細胞株を用いて、これまでに、 前立腺がんの発がんとの関係について検討を行った。2次 元培養による細胞増殖能の変化を確認したところ、 RWPE-1-empty と比較して、RWPE-1-aPKC は増殖能が高 くなっていることを確認した。更に、3次元培養法による 細胞形態の変化を、ソフトアガーを用いた培養を行い、足 場非依存性増殖能の変化についても確認し、通常の RWPE-1-empty では増殖しない一方で、RWPE-1-aPKC で は増殖することが明らかとなった(図1)。



図 1. 足場非依存性増殖能の検討結果 (A) RWPE-1-empty (B)

#### RWPE-1-aPKC

また、スフェロイドの形成についても検討した結果、正 常前立腺細胞株ではきれいなスフェロイドを形成するの に対して、RWPE-1-aPKC は異常な形態をとることを明ら かとした。更に、詳細な検討を続け、運動能の増加、浸潤 能の増加が起こることを明らかとしている(図 2)。



その他、ウエスタンブロットによる細胞内分子の発現の 変化、サイトカインメンブレンを用いた細胞分泌サイトカ インの検出を確認し、前立腺がんの発生や進展に関わる分 子の発現や分泌増加が起きているいることを明らかにし ている。

これらの検討を背景に、本年度は特に浸潤能を増加させ る分子の発現について検討を行った。また、RWPE-1-aPKC を移植し、*in vivo*において、aPKCの発現が前立腺がんの 発生に重要な機能を持つか検討を行った。

#### 2. 実験と結果

#### 2.1. 浸潤能を増加させる分子の発現の検討

これまでの検討結果から、前立腺がんの浸潤に重要な分 子であるマトリックスメタロプロテアーゼ 9(MMP-9)の分 泌が増加していることを明らかとしている。そこで、 MMP-9の発現について、qPCR を用いて MMP-9の発現変 化を検討した。また、MMP-9の活性はゼラチンを分解さ せる効果を持っている。そこで、電気泳動に用いるポリア クリルアミドゲルにゼラチン添加して、その活性を確認す る手法であるゼラチンザイモグラフィーを行い、MMP-9 の活性を確認する検討を行った。

培養した RWPE-1-empty 及び RWPE-1-aPKC から RNA を抽出した後、cDNA を合成し、MMP-9 の遺伝子発現を 検討した結果を図 3 に示す。



qPCR の結果、RWPE-1-aPKC における MMP-9 の発現は およそ 2.5 倍の増加を認めた。

続いて、ゼラチンザイモグラフィーを用いた MMP-9の 活性について検討した。RWPE-1-empty 及び RWPE-1-aPKC を培養した上清を回収し、濃縮を行った後、上清に含まれ るタンパクをゼラチンを含むポリアクリルアミドゲルを 用いて、電気泳動した。その後、酵素反応を進めるために、 泳動したゲルを反応液に入れて、酵素反応を行った。その 後、ゲルを染色し、MMP-9の酵素活性について、確認を 行った。その結果、図4に示すように、RWPE-1-empty 及 び RWPE-1-aPKC における MMP-9 の酵素活性を比較した 結果、RWPE-1-aPKC における MMP-9 の酵素活性が増加 していることを明らかとした。



#### 2. 2. In vivo における検討とその結果

続いて、RWPE-1-empty 及び RWPE-1-aPKC の腫瘍形成 のうについて、実験動物を用いた検討を行った。各細胞株 をマトリゲルと混合した後、ヌードマウスの背部に移植を 行い、その後経過を観察し、腫瘍の形成能を確認した。ま た、本検討は横浜市立大学との共同研究として行っており、 実験動物の使用については、大学内に設置されている動物 実験委員会に置いて、実験計画の審査を受け、承認を受け た後に行った。

実験動物(n=10)に移植した各細胞の増殖を確認したと ころ、RWPE-1-emptyでは、細胞の増殖が認められない一 方で、RWPE-1-aPKC は移植した 10 匹全てにおいて、その 増殖が確認された。また、増殖した移植片を摘出し、HE 染色及び Ki-67 の免疫染色を行い、悪性化について検討を 行った。図4 にその結果を示す。HE 染色の結果、核異型、 核内クロマチン増量、核分裂像が確認できており、組織学 的に悪性化したと考えられた。また、細胞増殖マーカーで ある Ki-67 抗体を用いて染色したところ、図に示されるよ うに増殖している細胞群が認められた。

#### 3. 考察及び今後の展望

以上、aPKC による前立腺がん発生機構の検討から、 aPKC が正常細胞で発現異常を起こすことが、前立腺がん の発生に重要となることを明らかとした。aPKC は多くの がん組織でその発現量が増加していることが知られてお り、今後の研究が進むことで、aPKC を対象とした診断マ ーカーや aPKC の機能を抑制する薬剤によるがん治療薬の 開発などにつながると考えられる。

一方で、aPKC は細胞が秩序を持って、組織を形成する ための細胞極性の維持に働く重要な機能を持っており、正 常細胞においても、aPKCの機能は非常に重要である。実際に、aPKCの機能を不活化した RWPE-1 を作製したところ、細胞増殖能の低下だけではなく、通常の正常細胞で起こるスフェロイドが形成されないことを明らかとしている。このことから、aPKCを標的とした治療薬剤の研究開発を目的とした場合、正常のaPKCの機能を維持したまま、標的となるがん細胞における aPKCの機能だけを標的とするような薬剤の開発が必要と考えられる。また、aPKCの発現に関わる遺伝子やaPKCの異常によって起きる下流分子を治療標的とすることも考えられ、今後は aPKCの発現制御機構の解明や aPKCの異常による様々な遺伝子発現やタンパクの機能と発がん機構の解析をさらに進める計画としている。



図 4. 移植片の染色結果 (A) HE 染色 (B) K1-67 抗体を用

いた免疫染色

### 光触媒加工品を中心とした抗菌・抗ウイルス性能評価試験

#### 1. はじめに

これまで、様々な光触媒加工製品の応用研究と開発が進 められており、空気浄化、セルフクリーニング、抗菌、抗 ウイルスなど多くの分野にわたって、製品開発が進められ ている。特に、可視光に応答する光触媒の研究が進められ、 高い抗菌・抗ウイルス性能を発揮する可視光応答形光触媒 が開発された。その結果、従来の紫外光応答形光触媒の応 用研究だけではなく、室内環境のような可視光照射条件下 における光触媒の応用の可能性が格段に飛躍してきた。特 に、可視光応答形光触媒は紫外光応答形光触媒を超える高 い抗菌・抗ウイルス性能を持つことから、感染リスクの低 減やクリーンな生活環境を創造するためのツールとして 有効と考えられ、様々な使用箇所を想定した多くの研究開 発が進められている。このことから、研究開発段階から製 品品質管理において、JIS/ISO に基づいた抗菌・抗ウイル ス性能評価とその結果が非常に重要となっている。また、 光触媒を用いていない抗菌・抗ウイルス加工品についても、 多くの研究開発が進められており、こちらについても、 JIS/ISO に基づいた性能評価が非常に重要である。

我々は、これまでにこれら JIS/ISO を中心とした抗菌・ 抗ウイルス性能評価を様々な企業や研究機関に提供する ことで、研究開発促進の一助となるべく活動を行ってきて いる。光触媒加工品の抗ウイルス性能評価 JIS/ISO 規格で 砂田 香矢乃、永井 武、石黒 斉

は、光触媒加工品に対する抗ウイルス性能評価では細菌に 感染するウイルスであるバクテリオファージが用いられ ている。JIS/ISO 制定時に、動物細胞感染ウイルスとバク テリオファージの不活化の相関性については、十分確認が なされているが、製品開発段階において実際に動物細胞感 染ウイルスを用いた試験のニーズが非常に高い。このこと から、我々はノロウイルスの代替モデルとして、ネコカリ シウイルス、平成 29 年度よりインフルエンザウイルスを 用いた抗ウイルス性能評価試験の提供を開始している。

本報告では、光触媒を中心とした抗菌・抗ウイルス性能 評価試験方法の概要と、平成 29 年度の依頼試験状況について、概説する。

#### 2. 実験と結果

#### 2. 1. 光触媒加工品を用いた抗菌・抗ウイルス性 能評価概要

これまでに、各種加工品の抗菌・抗ウイルス性能評価方 法が制定されている。表1に各種 JIS/ISO 規格を示してい るが、光触媒加工品に関しては、紫外光応答形及び可視光 応答形の2種類の光触媒について、それぞれ抗菌性能評価 試験方法及び抗ウイルス性能評価試験方法が制定されて いる。一般的な平板状、繊維状の抗菌性能評価方法につい

	表1. 抗菌・抗ウィ	イルスに関するJIS/ISO規格						
	JIS試験名	対応するISO試験						
	JIS R1702 光触媒抗菌加工製品の抗菌性試験方 法・抗菌効果	ISO 27447 Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials						
业确加持五丁	JIS R 1706 光触媒材料の抗ウイルス性試験方法 −バクテリオファージ Q ß を用いる方法	ISO 18061 Determination of antiviral activity of semiconducting photocatalytic materials Test method using bacteriophage Q-beta						
尤 <sub></sub> 照保加工 品	JIS R 1752 可視光応答形光触媒抗菌加工製品の 抗菌性試験方法・抗菌効果	ISO 17094 Test method for antibacterial activity of semiconducting photocatalytic materials under indoor lighting environment						
	JIS R 1756 可視光応答形光触媒材料の抗ウイル ス性試験方法−バクテリオファージ Q ß を用いる 方法	ISO 18071 Determination of antiviral activity of semiconducting photocatalytic materials under indoor lighting environment Test method using bacteriophage Q-beta						
坊茵	JIS L1902 繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌 効果	ISO 20743 Textiles Determination of antibacterial activity of textile products						
加工品	JIS Z 2801 抗菌加工製品—抗菌性試験方法・抗 菌効果	ISO 22196 Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces						
抗ウイルス 加工品	JIS L 1922 繊維製品の抗ウイルス性試験方法	ISO 18184 Textiles - Determination ofantiviral activity of textile products						

ても、JIS/ISO 規格が制定されている。また、抗ウイルス 性能評価方法としては繊維状の加工品に対して、JIS/ISO 規格が作成されている状況である。この中から、光触媒に 関する試験概要図を図1に示す。



図1. 光触媒加工品による抗菌・抗ウイルス性能評価試験概

#### 要

その方法は、はじめに平板状光触媒加工品を適切な無菌 化や前処理を行った後、水を含ませたろ紙を入れたシャー レ内に設置し、細菌及びバクテリオファージ(動物細胞感 染ウイルス)液を滴下し、材料表面と密着させた後、一定 時間紫外光や可視光を照射して光触媒反応を行う。その後、 細菌及びバクテリオファージ(動物細胞感染ウイルス)を回 収し、そのコロニー、プラークや細胞変性を確認すること で、抗菌・抗ウイルス活性を評価する。また、同時に無加 工品についても試験を行い、光触媒反応による効果を確認 する。光触媒反応を行った結果、抗菌効果が得られた場合 には、コロニーの形成が認められず、ファージを用いた場 合にはプラークの形成が認められない。これらの差により、 各種効果を数値化し、抗菌・抗ウイルス活性値とする。ま た、近年は暗所における抗菌・抗ウイルス効果を付加した ハイブリッド型の開発が盛んに進められていることから、 明所及び暗所、光触媒加工品及び無加工品それぞれについ て比較することが重要となっている。

また、用いる細菌、ウイルスに関して、JIS/ISO 規格で 使用される細菌・バクテリオファージの他、要望に応じた 細菌・バクテリオファージを整備できる体制を整えている。 なお、光触媒加工品を用いた抗ウイルス性能評価試験では 細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージを用 いることとなっているが、これは簡便性、安全性、試験費 用等の様々な点から、選択されている。光触媒反応による 抗ウイルス効果については、規格制定時にバクテリオファ ージと動物細胞感染ウイルスとの間の相関性を確認して おり、また光触媒反応機構から想定できる抗ウイルス効果 からバクテリオファージを用いることで問題がないこと も確認されている。

一方で、製品開発の段階において、動物細胞感染ウイル スを用いて抗ウイル性能評価試験を要望される企業や研 究機関も多いことは明らかである。そこで、我々は平成 28 年度よりノロウイルスの代替モデルとして、ネコカリ シウイルス、平成 29 年度よりインフルエンザウイルスを 用いた抗ウイルス性能評価試験の提供を開始している。

#### 2. 2. 抗菌・抗ウイルス性能評価試験

平成 29 年度に依頼された抗菌・抗ウイルス性能評価試 験件数と各年度の試験件数は図2に示すとおりである。

依頼件数の推移



図2. 依頼試験の年度毎の件数

各年度の依頼件数が増加しており、平成 29 年度は 177 件となり、平成 28 年度の 124 件を大幅に超えた件数とな った。この結果から、また、光触媒加工品に関しては平成 28 年度とほぼ同数の依頼件数であったが、その内訳とし て、可視光応答形光触媒を用いた依頼が増加していた。使 用した細菌、ウイルスに関しては、インフルエンザウイル スを用いた試験の開始に伴い、動物細胞感染ウイルスの依 頼が増加していた。また、その他、抗菌性能評価試験の増 加も認められた。

#### 3. 考察及び今後の展望

以上、依頼試験の概要と昨年度に行った試験状況につい て、報告した。平成29年度の依頼試験の増加は、抗菌・ 抗ウイルス加工製品の研究開発が活発に行われているこ とを反映した結果と考えられる。また、光触媒加工品に関 しては、これまでに開発された高い抗菌・抗ウイルス活性 を持つ可視光応答形光触媒を応用した加工品の研究開発 が進み、加工方法から実際の抗菌・抗ウイルス性能評価へ 進んでいるためと考えられる。その他の増加要因としては、 光触媒工業会による認証の開始が考えられる。これまで、 光触媒加工品による抗菌、抗ウイルス性能に関しては、光 触媒工業会が光触媒製品として適切な効果を持つことを 認証する製品認証基準が紫外光応答形光触媒を用いた抗 菌性能のみであったが、近年、可視光応答形光触媒による 抗菌性能、紫外光応答形及び可視光応答形光触媒による抗 ウイルス性能の各種認証基準が制定された。詳細は光触媒 工業会のホームページにてご確認いただきたいが、この背 景から、可視光応答形光触媒試験の件数の増加が認められ たと考えられる。

我々が行っている依頼試験では、依頼前に打ち合わせを 密に行い、必要とするデータの取得のための試験仕様を組 み立てるように努めている。また、加工品の形状によって は、通常の JIS/ISO 規格では対応が出来ないものについて も、柔軟に対応しながら、性能評価を行えるような試験仕 様を作成し、多くの企業や研究機関の研究開発が促進され るように努めている。また、内容によっては、光触媒や抗 菌・抗ウイルスに関連する技術相談や情報の提供等も行っ ている。更に、抗菌・抗ウイルス性能評価試験だけではな く、光触媒加工品を中心とした空気浄化性能評価やセルフ クリーニング性能評価などの性能評価試験から製品紹介 展示が可能な光触媒ミュージアムまで総合的なサポート が提供できるように川崎技術支援部をはじめ、KISTEC 内 部における連携体制を整えている。このサポート体制の下 で、光触媒工業会による認証マーク申請に必要な各種デー タの取得も可能となっており、大変好評をいただいている。 我々が行ってきた依頼試験状況から、光触媒を用いた製品 開発は今後ますます推進されていくと考えている。

また、現在、日本ファインセラミックス協会及び光触媒 工業会と共に、新しい抗菌性能評価方法として、可視光応 答形光触媒を用いた実環境を想定した抗菌性能評価方法 を ISO 提案している。また抗菌加工技術協議会から一般的 な平板状加工品を用いた抗ウイルス性能評価方法が ISO 提案されている。その他にも、光触媒を始め、様々な機能 を持つ加工品の性能評価試験方法として JIS/ISO の規格が 進められている。今後はより実用的な性能評価試験方法の 重要性が増していくと考えられる。そのため、是非我々の 知識や経験を活用していただきながら、光触媒を用いた製 品開発を推進していただきたいと考える。

また、これまでの依頼試験を通して、各企業や研究機関 から JIS/ISO では対応できない性能評価試験のニーズが非 常に高いことが明らかとなっている。そのことから、今後、 様々なニーズに的確にこたえられる製品評価方法の開発 やそれと共に、試験品質の維持向上に向けて、活動してい く予定である。

#### 【参考文献】

1. JIS R 1706 光触媒材料の抗ウイルス性試験方法-バクテ リオファージ Qβ を用いる方法

2. JIS R 1756 可視光応答形光触媒材料の抗ウイルス性試 験方法-バクテリオファージ Qβ を用いる方法

3. JIS R 1702 光触媒抗菌加工製品の抗菌性試験方法・抗菌 効果

4. JIS R 1752 可視光応答形光触媒抗菌加工製品の抗菌性 試験方法・抗菌効果

5. JIS Z 2801 抗菌加工製品--抗菌性試験方法・抗菌効果 6. JIS L1902 繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果 7. JIS L 1922 繊維製品の抗ウイルス性試験方法

### 新規 ISO 提案抗菌性能評価試験による温湿度の抗菌性能への

影響評価

### 永井 武、砂田 香矢乃、畑山 靖佳、石黒 斉

#### 1. はじめに

我々は以前より、光触媒加工品を用いた抗菌・抗ウイル ス性能評価方法の標準化のために、JIS/ISO 規格制定に向 けた検討を進めてきた。その結果、現在までに紫外光応答 形及び可視光応答形光触媒を用いた抗菌・抗ウイルス性能 評価試験方法である JIS/ISO 規格を作成してきており、現 在は様々な企業や研究機関がこれらの JIS/ISO を用いて抗 菌・抗ウイルス性能を持つ光触媒加工品や原材料の研究開 発を進めている。また、光触媒に関する研究が進み、非常 に高い抗菌・抗ウイルス性能を持つ可視光応答形光触媒が 開発されており、それらの応用研究も推進されている。

一方で、上記可視光応答形光触媒を用いて、実環境にお ける実証試験を行った結果、JIS/ISO 規格を用いた性能評 価で得られた抗菌活性と実環境における抗菌活性の間に 違いが認められることが明らかとなった。そのため、今後 の研究開発の推進のためには、実環境を想定した抗菌性能 評価試験方法の開発が必要と考えられ、平成 26-27 年度に アジア基準認証推進事業として、また平成28年度からは 戦略的国際標準化加速事業として一般社団法人日本ファ インセラミックス協会や光触媒工業会と共に、新規抗菌性 能評価試験方法の標準化に向けた検討を開始し、ISO 総会 等で紹介を行ってきた。その結果、平成 29 年度に新規 ISO 案として、提案を行い、現在各国の専門家との議論が続け られている。その議論の中で、抗菌性能に対して、温湿度 が与える影響があるのではないかという重要なコメント が得られている。そこで、本研究では、ISO 提案した新規 抗菌性能評価試験方法(以下、新規 ISO 案)を用いて、温度 及び湿度を変化させた状況下における検討を行い、温湿度 の影響を明らかとすることを目的に検討を行った。

また、国外における環境状況下で新規 ISO 案を行うこと が可能か検討するために、中国の試験機関の協力を得て、 実際に中国にて試験方法の説明と実技試験を行った。本報 告ではその結果を説明し、今後の見通しについて報告する。

#### 2. 実験と結果

#### 2.1 新規 ISO 案の概要

始めに、新規 ISO 案の概要を従来の光触媒加工品を用いた抗菌試験である JIS R 1752 と比較しながら説明する。

光触媒による抗菌効果は細菌と光触媒が接触し、そこで 光触媒反応が起きていることで発揮される。このことから、 新規 ISO 案は、様々な実環境の状況が想定される中から、 人が接触した状況を想定して作成された。そのため、JIS R 1752 で用いられるような粘性のない液体状態の菌液をピ ペットにより試験片である光触媒加工品へ接種する方法 ではなく、人が触れた状況を模擬する方法となるように改 良がなされている。そのために、適度な粘性と保湿性を持 ち、細菌の状態に影響を及ぼさない菌液組成の検討を行い、 その結果、新規 ISO 案では直接塗布が可能な菌液組成を作 成している。これを不織布にしみ込ませ、直接光触媒加工 品へ塗布することで、人が接触した場合と同等の菌液の塗 布が可能となっている(図 1)。





用いられる細菌はグラム陽性菌として皮膚常在菌であ る表皮ブドウ球菌(ATCC14490[NBRC100911])及びグラム 陰性菌として大腸菌(ATCC8739[NBRC3972])であり、接種 する菌数は JIS R 1752 では 1-4×105/試験片に対して、新規 ISO 案では、実環境に近づけるため少量の菌数(1-6×103/ 試験片)と変更している。菌液は塗布前後の重量によって、 ある一定の範囲(2-3mg)となるように塗布し、保存シャー レの中に入れて可視光照射を行う。可視光照射を行う際に は、JIS R 1752 のように、密着フィルムや保湿用ろ紙は用 いず、また密着ガラスと保存シャーレの間にスペーサーを 入れることで、室内と同じ温湿度条件下において光触媒反 応を行う(図 2)。また、JIS R 1752 では2 種類のフィルタ(400 nm 以下カット、380 nm 以下カット)のどちらかを用いるが、 新規 ISO 案では 380 nm 以下をカットするフィルタを間に 入れることを必須としている。試験片に対して、一定時間 の可視光照射を行った後、菌液を回収し、培養を行い、コ

ロニー数から抗菌性能を評価する。このような作業により、 新規 ISO 案では実環境を想定した抗菌性能評価が可能と なっている。



図 2. JIS R 1752 と新規 ISO 案における試験片設置の方法

の違い (a) JIS R 1752 (B) 新規 ISO 案

#### 2. 2. 温度及び湿度の影響と抗菌性能評価

新規 ISO 案を行う際の温度と湿度の影響を確認するた めに、温湿度を変更させた組み合わせ用いて、新規 ISO 案 による抗菌性能評価試験を行った。実際の試験温度として は、低温度として 15℃、高温度として 35℃を用いた。ま た、湿度については低湿度条件として 10%程度、中湿度 として 50%程度、高湿度として 70%以上とした。可視光 照射は 1000 lx、4 時間でフィルタ有にしており、用いる菌 種については、新規 ISO 案で用いている 2 菌種(表皮ブド ウ球菌及び大腸菌)とした。試験片はアジア基準認証推進 事業で用いられたものと同等のものを(一社)日本ファイン セラミックス協会より提供を受けたものである。

#### 2.2.1 表皮ブドウ球菌を用いた結果

低温中湿度条件下で試験を行った結果、低減率は暗所 条件で37.0%、光照射条件で67.5%が得られた。また低 温高湿度条件下で試験を行った場合であっても、暗所条件 で49.6%、光照射条件で74.4%という低減率が得られた。 一方で、表1に例を示すが、高温条件下において試験を行 った結果、低減率は暗所条件で87.6%、光照射条件で 100.0%という数値となっていたが、湿度に関わらず、無 加工品に塗布した試験菌が 4 時間後に低下していること が明らかとなった。

#### 2.2.2 大腸菌を用いた結果

大腸菌についても、表皮ブドウ球菌と同様に試験を行った結果、高温条件下において、4時間経過後に菌数の低下が認め、ほとんど生菌数が認められず、そのため、低減率の算出が困難な結果となった。また、低温高湿度条件下においても4時間経過後の無加工品における生菌数の低下が認められた。

#### 2.3.中国における抗菌性能評価試験

本試験法が海外においても行うことが可能か、中国の試 験機関の協力を得て、実技指導を行った。始めに、新規 ISO 案について、方法を説明し、質疑応答を行った。その後、 詳細を確認しながら、試験を行った。また、本試験では、 中国試験機関が準備していた表皮ブドウ球菌 (CMCC(B)26069)を用いて行い、可視光照射時に設置する フィルタが入手されていなかったため、フィルタを用いず に可視光照射を行った。また、試験時の温湿度は温度 20口、 湿度 24%であった。その結果を、表 2 に示す。表 2 に示 す通り、安定して試験菌液の塗布が出来ており、低減率に ついても暗所にて 63.4%、光照射により 71.8%と日本国内 で行った結果と同様の結果が得られた。

#### 3. 考察及び今後の展望

以上、本検討結果から、新規 ISO 案を行うための、温湿 度の影響を明らかとすることが出来た。特に、高温条件下 では、試験の成立が困難な可能性が明らかとなった。抗菌 加工製品を用いた抗菌性能評価試験では JIS Z 2801 では 35℃、JIS L 1902 では 37℃と反応温度と規定されており、 細菌数の増加も認められている。一方、本検討では、細菌 数が減少する結果となった。この原因として、試験菌液組 成の違いが挙げられる。JIS Z 2801 や JIS L 1902 では、栄 養成分を含む液中に試験菌を保持することが出来ており、 それによって試験菌が増殖することが可能である。一方で、

試験サンプル	試験条件	試験片重量 (mg)			試験菌液重量 (mg)					二一数		生菌数	単位重量あたりの 生菌数 (cfu/mg)		低減率
		塗布前	塗布直後	光照射後	塗布直後	光照射後	照射後の 増減	No1	No2	No3	平均	(ciu)	個々	平均	(70)
無加工品	1.00	6873.8	6875.9		2.1			418	408	470	432	4320	2057		
	0時間	6869.6	6872		2.4		344	328	331	334	3343	1393	1609.7		
		6858.9	6861		2.2			322	305	283	303	3033	1379		
	4時間 暗所	6934.1	6936.5	6936.6	2.4	2.5	0.1	98	90	108	99	987	411	436.4	4
		6924.3	6926.7	6926.7	2.4	2.4	0.0	133	139	139	137	1370	571		
		6911.7	6914.5	6914.7	2.8	3.0	0.2	110	77	88	92	917	327		
	4時間	6886.7	6888.8	6889.1	2.1	2.4	0.3	18	14	11	14	143	68		
	$1,000 \mathrm{k}$	6833.4	6835.6	6835.6	2.2	2.2	0.0	23	28	26	26	257	117	72.8	4
	Type B	6902.1	6904.1	6904.3	2.0	2.2	0.2	9	3	8	7	67	33		
	104 00	11200.3	11203	11203.2	2.7	2.9	0.2	5	12	4	7	70	26	54.3	87.6%
光触媒加工品	4時間	11204.2	11207	11207.1	2.8	2.9	0.1	10	9	12	10	103	37		
	PE PT	11119.5	11121.7	11122.1	2.2	2.6	0.4	19	22	25	22	220	100		
	4時間	11183.7	11185.7	11186.4	2.0	2.7	0.7	0	0	0	0	0	0		
	1,000 k	11186.4	11188.7	11189.2	2.3	2.8	0.5	0	0	0	0	0	0	0.0	100.0%
	Type B	11196.6	11199.5	11199.9	2.9	3.3	0.4	0	0	0	0	0	0		

表1. 高温高湿度条件下における試験結果

試験サンプル	照射条件	試験片重量 (mg)			試験菌液重量(mg)				а <b>р</b> :	二一数	1	生菌数	単位重量あたりの 生菌数 (cfu/mg)		低減率
		塗布前	塗布直後	光照射後	塗布直後	光照射後	照射後の 増減	No1	No2	No3	平均	- (ciu)	個々	平均	( 20)
	ow the	11067.6	11069.9		2,3			146	116	69	110.33	1103	480	-	
無加工品	0時間	11118.7	11121		2.3			124	121	77	107.33	1073	467	478.1	~
		11133	11135.2		2.2	-		132	90	100	107.33	1073	488		
	4時間 暗所	11121.6	11124.1	11124.4	2.5	2.8	-0.3	222	221	239	227.33	2273	909	742.3	4
		11157.7	11160.6	11160.5	2.9	2,8	0.1	143	136	148	142.33	1423	491		
		11126	11128.5	11128.6	2.5	2.6	-0,1	212	206	202	206.67	2067	827		
	4時間	11100.8	11103.2	11103.5	2.4	2.7	-0.3	86	89	76	83.67	837	349	510.3	-
		11145.6	11148.3	11148.1	2.7	2.5	0.2	173	177	145	165.00	1650	611		
	1,000 K	11133	11135.2	11135	2.2	2	0.2	120	133	124	125.67	1257	571		
	4時間	11610.9	11613.8	11613.3	2.9	2.4	0.5	64	78	74	72.00	720	248	271.5	63.4
光触媒加工品		11539.4	11542	11541.8	2.6	2.4	0.2	68	73	75	72.00	720	277		
	暗Pf	11378.4	11380.9	11380.5	2.5	2.1	0.4	78	74	65	72.33	723	289		
	102 89	11578.5	11581.1	11580.9	2.6	2.4	0.2	36	46	31	37.67	377	145	143.8	71.8
	4時[1]	11483.6	11485.7	11485	2.1	1.4	0.7	55	25	28	36.00	360	171		
	1,000 IX	11576.3	11578.5	11578.4	2.2	2.1	0.1	32	23	21	25.33	253	115		

本抗菌性能評価試験法では水分が非常に少ない条件での 試験方法である。そのため、35 に設定することで試験菌 液中の水分が蒸発するとともに生菌数が減少した可能性 が考えられる。

中国試験機関において行った試験結果から、国外におい ても本抗菌性能評価試験法を適切に行うことが可能であ ることが示された。特に、懸念されていた各国における温 湿度の条件の違いについても、問題ないことが明らかとな り、更に直接塗布法と重量の測定について、中国試験機関 の試験担当者も問題なく作業を進めることが出来ていた。 これらのことから、新規 ISO 案は、各国で十分に対応が可 能な試験方法であることが示された。

今後の展望として、新規 ISO 案についての議論を現在も 続けており、それらの結果をまとめることで、今年度中に CD 案として、登録を行うように進めていく計画である。

本研究については光触媒工業会との共同研究及び(一社) 日本ファインセラミックス協会による戦略的国際標準化 加速事業の一環としておこなわれた。

#### 【参考文献】

1. JIS R 1752 可視光応答形光触媒抗菌加工製品の抗菌性 試験方法·抗菌効果

2. JIS Z 2801 抗菌加工製品-抗菌性試験方法・抗菌効果 3. JIS L1902 繊維製品の抗菌性試験方法及び抗菌効果

業 績

#### 【原著論文】

 Y. Yokomizo, T. Kawahara, H. Ishiguro, I. Kato, M. Yao, H. Miyamoto, H. Uemura

Lack of an association between aPKCl/i expression in prostate cancer and the patient outcomes

Int. J. Surg. Case Rep., 37, 180-182 (2017)

 山本圭,石黒斉,上村博司,白石泰三,渡邉昌俊 前立腺癌における Zyxin の関与について 泌尿器外科,30,1225-1227 (2017)

#### 【総説】

- 1. 窪田吉信, 石黒斉
- 実環境を想定した光触媒抗菌性能評価試験方法 (NP22551)

JFIS 会報, 25, 51-52 (2018).

3. 石黒斉

光触媒素材の抗ウイルス試験法と性能評価 月刊ファインケミカル, 46, 39-45, (2017)

 石黒斉,永井武,畑山靖佳,砂田香矢乃 実環境を想定した可視光型光触媒の抗菌性試験法ISO提 案について 会報光触媒,53,24-27 (2017)

#### 【口頭発表】

1. H Ishiguro

Test method for antibacterial/antiviral activities by photocatalytic materials

Committee of Asian Standardization for Photocatalytic Material and Products (CASP2017), 2017年11月、ベトナム

2. H. Ishiguro

Test method for antibacterial activity under simulated actual ILE

Committee of Asian Standardization for Photocatalytic Material and Products (CASP2017), 2017年11月, ベトナム

3. H. Ishiguro, Y. Kubota

Addition of test procedure for textile samples to antibacterial/viral tests

ISO/TC206 24th plenary meeting and relating meetings, 2017 年7月, イタリア

4. H. Ishiguro, Y. Kubota

Bacterial reduction rate by semi-dry method

ISO/TC206 24th plenary meeting and relating meetings, 2017 年7月, イタリア

- 5. H. Ishiguro, Y. Kubota ISO 27447 Antibacterial activity (systematic review) ISO/TC206 24th plenary meeting and relating meetings, 2017 年7月, イタリア
- 6. 石黒斉

実環境を想定した光触媒抗菌性能評価試験方法 ISO/AWI22551 (TCNP1702)

ISO/TC206 での標準化の状況, 2018 年 2 月, 東京

- 7. 砂田香矢乃 金属イオンや金属酸化物の抗ウイルス活性について 第36回エレクトロセラミックスセミナー,2017年11月, 神奈川
- 砂田香矢乃,永井武,石黒斉 光触媒抗微生物試験法
- 日本防菌防徽学会第44回年次大会,2017年9月,大阪 9. 石黒斉
  - 実環境を想定した可視光型光触媒の抗菌性試験法 ISO 提 案について
  - 第65回講演会「光触媒に関する JIS/ISO 最新動向」. 2017 年9月, 東京.
- 砂田香矢乃,永井武,石黒斉 ハイブリッド光触媒と可視光応答型光触媒の抗菌・抗 ウイルス効果並びにその評価 光触媒工業会2017年度技術研究会,2017年7月,東京
- 塩澤優樹,親川昭彦,李定,黒田靖,石黒斉,永井武, 砂田香矢乃 エアロゾルウイルス噴霧空間における可視光応答型光 触媒を塗工した膜材料表面のウイルス低減効果
   第26回日本臨床環境医学会学術集会,2017年6月,東 京
- 12. 塩澤優樹,親川昭彦,李定,黒田靖,石黒斉,永井武,砂田香矢乃 エアロゾルウイルスが噴霧された閉鎖空間における可 視光応答型光触媒を塗工した膜材料の抗ウイルス効果 の実験的検証—その1材料表面のウイルス低減効果— 日本繊維機械学会第70回年次大会,2017年6月,大阪
- K. Sunada, Y. Hatayama, T. Nagai, H. Ishiguro, Y. Kubota Antiviral activity on a variety of metal compounds under visible light irradiation

Photocatalysis 2 and SIEMME'23, 2017年12月, 千葉

 T. Nagai, K. Sunada, H. Ishiguro, Y. Kubota The new antiviral test method for the photocatalytic textiles, "glass adhesion method" Photocatalysis 2 and SIEMME'23, 2017 年 12 月, 千葉

 H. Ishiguro, Y. Hatayama, T. Nagai, K. Sunada, Y. Kubota Inhibition of ammonia production by photocatalytic materials

Photocatalysis 2 and SIEMME'23, 2017 年 12 月, 千葉 16. 石黒斉, 永井武, 砂田香矢乃, 落合剛, 青木大輔

光触媒を中心とした製品開発サポートと新規試験方法 の開発 神奈川県ものづくり技術交流会, 2017 年 11 月 9, 神奈 川

149

### 【特許】

(1) 国内特許出願 1件

人工細胞膜システムグループ

グループリーダー 竹内 昌治

#### 【基本構想】

膜タンパク質は細胞膜中に存在し、細胞の内外への物質輸送・排出、シグナル伝達・変換などにおいて 重要な役割を果たしており、1兆ドル余り(2011年)の医薬品の世界市場において、薬剤の標的の半数以上 がこれら膜タンパク質や膜表在性物質だと言われている。リガンド同定済みのGタンパク質共役型受容体 (GPCR)に関するだけでも約600億ドル(2009年)に上り、リガンド未同定のGPCRをはじめ、イオンチャネルや トランスポータなどの膜タンパク質の機能や特性を一つ一つ解明することが、基礎研究のみならず創薬・ 医療分野における重要な課題である。しかし細胞膜中に存在する膜タンパク質は単離が困難なため、機能 解析は難しいとされてきた。

創造展開プロジェクト(2009-2012年度)では、細胞膜のモデルとなる脂質二重膜を人工的に再構成した後、 精製された膜タンパク質を導入することで、その膜タンパク質の特性を低ノイズで解析する戦略にもとづ いて研究を行い、膜タンパク質を再構成するための2つの人工脂質二重膜システムを確立した。(1)電気的 計測技術に適する平面膜システムでは、ヒト由来イオンチャネルの並列同時シグナル計測に適する自動 化・集積化チップ、小型化チップをそれぞれ研究・開発した。(2)光学的計測技術に適するリポソーム膜シ ステムでは、細胞サイズリポソームの形成手法を確立し、トランスポータの輸送現象やGPCRの基質結合を 蛍光により観測することに成功している。

2013年度にスタートした実用化実証事業および地域イノベーション戦略支援プログラムでは、創造展開 プロジェクトで得られた研究成果を展開し、標的膜タンパク質の生体外での創薬解析支援システムを確立 すべく研究開発を行っている。具体的には、 効率的膜システム要素技術の開発では、人工脂質二重膜の 集積化や薬剤スクリーニングに適したデバイスとするためのシステム全体の基盤研究開発を実施する。一 方、 膜タンパク質の調製・導入法の開発では、イオンチャネルやGPCR、トランスポータなどを人工脂質 二重膜に効率的・体系的に導入できる手法の研究開発を実施する。また、膜タンパク質機能計測システム については、量産化技術の開発を企業との共同で行う。最終的に、大学・研究機関や製薬企業、受託試験 機関などで使用できる評価法およびシステムの開発も目標としている。

#### 1. 平成 29 年度の研究目的

実用化実証事業5年目となる29年度は、下記研究課題 を設定し、特に、地域イノベーション戦略支援プログラム 成果物として、イオンチャネル計測システムのプロトタイ プ機の製作およびシステムを利用した評価事例のデータ ベース化を行うことを目標とした。

#### (1)【システム開発】

#### 効率的膜システム要素技術の開発

我々の目指す人工細胞膜プラットフォームは、細胞膜の モデルとなる脂質二重膜を簡便に再現良く形成すること でそこに再構成する膜タンパク質の活性を保持し、機能解 析を可能とするシステムである。

創造展開プロジェクトにおいては、こうしたプラットフ ォームに適する人工脂質二重膜の形成手法について研究 を行い、新たに平面状および球面上の脂質二重膜形成デバ イスを提案し、その基盤技術について確立した。

実用化実証事業においては、これらの人工脂質二重膜デ バイスを膜タンパク質の機能解析や創薬スクリーニング といった場面において実用的なプラットフォームとして 拡張していくための要素技術、あるいは量産化に必要とな

#### る技術の開発を目標としている。

平成29年度は、イオンチャネル計測システム(平面膜 デバイス)については、量産可能な膜タンパク質機能計測 システムを地域イノベーション戦略支援プログラム成果 物として製作することを、膜輸送体計測システム(球面膜 デバイス)については、これまでの成果を引き継いで細胞 膜の生理的機能を明らかにするためのデバイス開発を進 めることを目的とした。

#### (2)【膜タンパク質再構成】

膜タンパク質の調製・導入法の開発

従来、膜タンパク質の機能解析は、培養細胞を用いた電 気生理学的手法(パッチクランプ法)や蛍光イメージング 法によって行なわれるのが一般的である。しかしながらこ れらの手法では、培養中の汚染対策や個体差の均一化処理 が煩雑であるほか、標的以外の雑多なタンパク質からの影 響が避けられず、一つの標的タンパク質に限定して機能を 探ることは難しかった。我々が開発している人工脂質二重 膜プラットフォームでは、標的タンパク質のみ融合・再構 成することを目指しており、これらの課題は解決できる。 すでに、創造展開プロジェクトにおいて人工脂質二重膜に 対して標的膜タンパク質を再構成する手法について検討 を行ってきた。

実用化実証事業においては、効率的・体系的な膜タンパ ク質の再構成を目指し、これまでに得られた実験条件の再 検討を行いながら、最適化を進めている。平成29年度は、 これまでの評価事例をまとめ、データベースを作成するこ とを目的とした。

平成 29 年度の研究成果

#### (1)効率的膜システム要素技術の開発

イオンチャネル計測システム(平面膜デバイス)につい て、量産可能な膜タンパク質機能計測システムを地域イノ ベーション戦略支援プログラムの成果物として製作し、今 後の外部研究機関での活用に道筋をつけた。

開発しているイオンチャネル計測システムの脂質二重 膜を担持する部品(セパレータ部品)について、従来は手 作業による微細・薄膜材料部品の組み立て工程を要したこ とから、量産のための課題として挙げられていた。このセ パレータ部品について、東レエンジニアリングと共同で開 発を行った。新たに考案した材料・製作工程は、組み立て 工程を省略でき、実用化技術として期待される。作製した セパレータを実装した平面膜デバイスを用いて、モデル膜 タンパク質の計測を行い、得られたデータの解析を行った ところ、従来のセパレータとほぼ遜色のない性能を有する ことも確認できた。以上により、平面膜デバイスに関して、 量産性に対する課題は概ね解決できたものと考えられる。 今後、量産型デバイスの性能評価をより詳細に行う予定で ある。

一方で、我々の有する膜形成技術の普及・展開も目的として様々な膜機能評価に対応できるデバイスの研究開発も進めた。基礎研究における簡便な膜形成技術・デバイスの需要は高い。国内外の大学等の研究機関との共同研究を通して、液滴接触法のノウハウを活用したデバイス開発を進めている。また、これら開発を通して、特別の知識がなくとも簡便・安全に脂質二重膜を作製できるデバイスの開発も進め、大学講義でのデモを行った。この他、中高生向けの講義・講演や市民向けの科学展示会への展示物提供を行うなど、アウトリーチ活動も積極的に行った。

膜輸送体計測システム(球面膜デバイス)については、リ ン脂質非対称二重膜を有する細胞サイズの球面膜(リポソ ーム)の作製法に関して16年度に学術論文の発表を行っ た。液滴接触法により作製したリン脂質非対称性をもつ平 面脂質二重膜に対して、パルスジェット流を吹き付けるこ とで平面脂質二重膜をチューブ状に変形させる。このチュ ーブが断裂する際に目的とするリポソーム(球面膜)が形 成される。29年度はこの成果を発展させ、様々な非対称 膜リポソームを大量に作製できるデバイスについて開発 を行った。また、ナノサイズの非対称膜リポソーム作製な どへも発展させており、膜の生理的機能を明らかにするた めのデバイス開発を継続して行っている。

#### (2) 膜タンパク質の調製・導入法の開発

イオンチャネル計測システム(平面膜デバイス)につい て、プロトタイプシステムの性能評価を膜タンパク質の機 能解析を通して継続して行った。また企業等から依頼を受 けて、イオンチャネルの機能評価を実施している。本シス テムの特長は、膜タンパク質一分子レベルの精密機能解析 が可能である点、また培養細胞系では困難な膜タンパク質 の評価や自由度の高い評価系が設定できる点にある。こう した薬剤標的を含む膜タンパク質の機能解析例について、 地域イノベーション戦略支援プログラムの成果としてデ ータベース化を行った。

また、大学等研究機関から試料を入手し評価するだけで なく、それら機関へ計測チップを貸与し、膜タンパク質機 能計測への利用および開発チップの外部での評価を行っ ている。この他、海外の研究機関との連携、学生の受け入 れなども例年通り、積極的に行った。

#### (3)共同研究による成果

化学量センサ開発の一環として、東京大学、住友化学株 式会社と共同で、新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NED0)の次世代ロボット中核技術開発事業を受託し、ヒ トの匂いを検知するセンサの研究開発を行っている。昆虫 の嗅覚受容体を用いて、ヒトの汗の匂いに特異的に反応す るセンサの開発を目指している。イオンチャネル計測シス テムで培った人工細胞膜の形成および計測技術と、揮発性 分子の検出デバイスを組み合わせた匂いセンサ開発への 応用展開である。これまでの研究において、匂いセンサと して利用するためのデバイス構造などの改良を行い、ヒト の汗の匂いを特異的に検知することに成功している。

また、日本医療研究開発機構(AMED)の革新的先端研究 開発支援事業(CREST)に関しても、東京大学医学部・薬 学部の浦野泰照教授とともに臨床検体における代謝活性 を網羅的に調べるためのスタンプ型デバイスの開発を行 っている。29 年度は、臨床検体を対象としたスクリーニ ングを前年度に継続して実施した。

その他、人工細胞創製に関する内閣府革新的研究開発推 進プログラム(ImPACT)に関しても、東京大学生産技術研 究所と連携した技術開発を行っている。

上記のそれぞれの研究成果は、業績一覧に示す通り、国 際会議・国内学会での発表、学術論文、記者発表などとし て積極的に公開している。

## 携帯型センサを目指した

### 液滴利用人工細胞膜形成デバイスの開発

大崎寿久、伊沢友佑、神谷厚輝、藤井聡志、三澤宣雄、三木則尚、竹内昌治

#### 1. はじめに

細胞を覆う細胞膜は、脂質二重膜と膜タンパク質を主な 構成成分として形成されている。脂質二重膜は、両親媒性 の脂質分子が疎水性の炭化水素鎖を向かい合わせるよう にして膜構造を形成する。膜タンパク質は脂質二重膜に存 在し、細胞内外の情報伝達や物質輸送を担っている。膜タ ンパク質のひとつであるイオンチャネルには、リガンド (基質)1分子と結合し、毎秒1千万個のイオン電流へと 増幅する機能を持つものも存在する。これらは細胞中では 生理的な働きをするものであるが、基質1分子と選択性高 く結合(検知)し、その入力信号を1千万倍まで増幅でき る人工的なトランスデューサを作ることは難しい。そこで 近年、人工的に形成した脂質二重膜上にイオンチャネルの ひとつである生体ナノポアを再構成し、この増幅器として の機能を生体物質や化学物質のセンサとして応用しよう とする研究が盛んに行われるようになってきている[1,2]。

細胞外での脂質二重膜形成法として、脂質単分子膜に覆 われた液滴同士を接触させる液滴接触法や、ガラスキャピ ラリ先端に刷毛塗り法によって形成する方法、マイクロ流 路中で形成する方法等が報告されている[3,4]。一方で、 センサ応用を検討した研究例では、生体ナノポアを用いた 次世代 DNA シークエンシングや、ナノポアと DNA アプタマ ーを用いた違法薬物の迅速検知技術が注目を集めている [5,6]。しかしながら、このようなセンサデバイスの携帯 化を目的とした報告は少ない。持ち運びを可能にするには、 シグナル計測機器の小型化と共に、脂質二重膜の機械的安 定性が大きな課題となる。

そこで我々は、人工細胞膜をポータブルセンサとするた めの研究開発を進めている。本研究では、ガラスキャピラ リ先端に脂質二重膜を形成する従来のデバイスを核とし、 そのキャピラリ先端に微小液滴を把持するカップ状のリ ザーバを設ける構造を検討した(図1)。脂質二重膜は、 ガラスキャピラリ先端に100 μmの孔が設けられた高分 子フィルムを貼り付け、そこに形成する。リザーバは、表 面張力によって溶液を保持でき、一方で外部からのアクセ スも可能とすることから、デバイスの携帯性に寄与する。

#### 2. 実験と結果

#### 2.1 デバイス作製

図 2 に溶液把持機構を有する脂質二重膜デバイスを示



図1 携帯型センサのための液滴を利用した人工細胞膜形成デバ イス模式図。従来のガラスキャピラリ先端に脂質二重膜を形成す るデバイスに対して、キャピラリ先端を液滴で保護するカップ状 のリザーバを有することを特徴とする。

す。リザーバはアクリルを切削し作製した。リザーバは、 高さ4mm、直径4mmの円筒に深さ2mm、直径3mmのウ ェル形状であり、ウェル壁面に中心角80度の爪を3つ等 間隔に並べる加工を施した。この爪構造により表面張力に よる溶液把持を可能にすると同時に、スリットの存在によ リ外部からの溶液の交換が可能となる。底面にはガラスキ ャピラリを挿入する直径1mmの穴を設けた。100 µmの 孔が設けられたパリレンフィルムは一般的フォトリソグ ラフィプロセスによって作製した。フィルムをガラスキャ ピラリに貼り付け後、リザーバの穴に挿入しボンドで固定 した。さらに、電気計測のためにガラスキャピラリ内およ びリザーバ内にAg/AgCI 電極を取り付けた(図1)。

#### 2.2 脂質二重膜形成

本実験では、パリレンフィルム上に膜を形成する手法と して刷毛塗り法を用いた[4]。まず、パリレンフィルム上 に脂質を分散した有機溶媒(10 mg/mL, DPhPC in *n*-decane) を1 µL塗布し、乾燥させた。次に、キャピラリ内をバッ



図 2 作製したデバイス写真。円筒状ウェルに爪とスリットを 3 つずつ等間隔に設けている(左 2 枚の写真)。ウェル底面の孔に ガラスキャピラリを挿入し、キャピラリ先端には脂質二重膜を担 持するためのマイクロ孔をもつ高分子フィルムを貼付している (右 2 枚の写真)。



図3 脂質二重膜に対するナノポア再構成によるステップ状のイ オン電流増加の様子。

ファ(1 M KCI)で満たした。コネクタ(図1参照)にデバ イスを接続後、脂質二重膜にナノポアを形成する膜タンパ ク質である -Hemolysinを含むバッファ13 µLをリザー バ内に滴下した。最後にリザーバ側からマイクロピペット を用いて脂質溶液1 µLをキャピラリ先端付近に注入し た。以上の行程の後、自発的に脂質二重膜が形成され、 -Hemolysin が膜上に再構成されることでナノポアが形成 される。

#### 2.3 微小電流計測

イオンチャネルやナノポアをセンサ素子とする場合、標 的物質の有無により変化するイオン透過性を電流として 捉えることが一般的である。本デバイスでは、脂質二重膜 によって電気的に隔絶されたキャピラリとリザーバ間に 定電圧を印加し、そこに形成されたナノポアを透過する微 小なイオン電流を小型アンプによって計測した。1 M KCI 中、電圧 50 mV 印加下の電流値は、ナノポア1つにつき約



図4 一本鎖 DNA の通過により阻害されるナノポア透過電流。膜間に電圧を印加することで、負電荷を持つ一本鎖 DNA はアノード 側へ流れる。DNA がナノポアを通過する際に見かけのポア面積が 著しく小さくなるため、イオン電流の一時的な低下が起こる。





図 5 爪-スリット構造を持つリザーバにおける溶液交換効率の 検討。(上)溶液交換(横軸の時間、純水に浸す)操作により、 リザーバに満たしたローダミン B 溶液の蛍光輝度が低下する様 子。(下)純水で満たしたリザーバを青色インクに 30 秒間浸漬す る前後の様子。

50 pA となることが知られる。電流計測では 50 pA のステ ップを確認することでナノポアが膜上に再構成されたこ とがわかり、間接的に脂質二重膜が形成されたことを確認 できる。本実験では、計測時のサンプリング周波数を 5 kHz、 ローパスフィルタ 1 kHz と設定した。また、センサとして の機能を確かめるために -Hemolysin バッファに一本鎖 DNA を加えることで、一本鎖 DNA のナノポア通過時に生じ る阻害シグナルも観察した。

#### 考察および今後の展望

溶液把持機構を有する脂質二重膜デバイスを用いたナ ノポア電気計測の結果を図3に示す。約100 pA の電流上 昇が観測され、この階段状の上昇のタイミングで脂質二重 膜上にナノポアが1つ形成されたと考えられる。このこと から溶液把持機構を用いた生体ナノポア電気計測デバイ スにおいて、ガラスキャピラリ先端に脂質二重膜を形成で きていることがわかった。

次に、リザーバに把持されている溶液に一本鎖 DNA を加 えた場合の微小電流計測結果を図4に示す。 -hemolysin が形成する生体ナノポアの最狭部はおよそ1.5 nm であり、 一本鎖 DNA が丁度通過できるサイズである。一本鎖 DNA が ナノポアを通過するとイオン電流が阻害され、ナノポアシ グナルがおよそ8割低下することが知られている[]。図4 に見られるスパイク状の電流低下はナノポアを通過する DNA によるイオン電流の阻害によるものと考えられる。

溶液の交換は、リザーバ先端の開口部(溶液が露出して いる部分)を交換したい溶液を満たしたプールに浸漬する ことで行うことができる。図5に示すように、約10秒間 プールに1回浸漬することで溶液交換が行われ、リザーバ 内の濃度が半減した。また、交換操作を5回繰り返すこと で、90%以上交換されることが分かった。リザーバにはス リット構造を持たせているが、スリットがない場合は対流 が起こりにくく、交換が限定的となることも明らかにした。

本研究では、溶液把持機構(リザーバ)を有する脂質二重 膜デバイスを用いた生体ナノポア電気計測を行った。また、 微小液滴の把持およびキャピラリ先端に微小孔を設けた パリレンフィルムを用いることで、脂質二重膜を形成でき ることがわかった。また一本鎖 DNA を用いた実験では、ナ ノポアを通過する DNA シグナルを検出できた。今後、ポー タブルセンサとして、溶液交換の簡便性など、デバイスの 検討を継続していく。

#### 【謝辞】

本研究内容の一部は、文部科学省地域イノベーション戦略支援プログラム、日本学術振興会科研費基盤研究 B 17H02758の助成、および国立研究開発法人新エネルギー・ 産業技術総合開発機構次世代人工知能・ロボット中核技 術開発委託事業により行われました。ここに感謝申し上げ ます。

#### 【参考文献】

- T. Osaki and S. Takeuchi, "Artificial Cell Membrane Systems for Biosensing Applications," Anal. Chem., vol. 89, no. 1, pp. 216–231, 2017.
- [2] N. Misawa, T. Osaki, and S. Takeuchi, "Membrane Protein-based Biosensors," J. R. Soc. Interface, vol. 15, 20170952, 2018.
- [3] K. Funakoshi, H. Suzuki, and S. Takeuchi, "Lipid Bilayer Formation by Contacting Monolayers in a Microfluidic Device for Membrane Protein Analysis," Anal. Chem., vol. 78, no. 24, pp. 8169–8174, 2006.
- [4] L. K. Bright, C. A. Baker, M. T. Agasid, L. Ma, and C. A. Aspinwall, "Decreased aperture surface energy enhances electrical, mechanical, and temporal stability of suspended lipid membranes," ACS Appl. Mater. Interface, vol. 5, pp. 11918–11926, 2013.

- [5] R. Kawano, T. Osaki, H. Sasaki, M. Takinoue, S. Yoshizawa, and S. Takeuchi, "Rapid Detection of a Cocaine-Binding Aptamer Using Biological Nanopores on a Chip," J. Am. Chem. Soc., vol. 133, no. 22, pp. 8474– 8477, 2011.
- [6] S. Fujii, A. Nobukawa, T. Osaki, Y. Morimoto, K. Kamiya, N. Misawa, and S. Takeuchi, "Pesticide Vapor Sensing Using an Aptamer, Nanopore, and Agarose Gel on a Chip," Lab Chip, vol. 17, pp. 2421–2425, 2017.
- [7] M. Akeson, D. Branton, J. J. Kasianowicz, E. Brandin, D. W. Deamer, "Microsecond Time-Scale Discrimination Among Polycytidylic Acid, Polyadenylic Acid, and Polyuridylic Acid as Homopolymers or as Segments within Single RNA Molecules," Biophys. J. vol. 77, pp. 3227–3233.

### 嗅覚受容体を用いた匂いセンサのための

### 水相-気相界面が露出した系による脂質二重膜の形成

三澤宣雄、藤井聡志、神谷厚輝、大崎寿久、竹内昌治

#### 1. はじめに

化学物質を同定・定量検出する装置にはクロマトグラフ ィーや質量分析機器、各種分光装置が存在するが、据え置 き型の大型装置であるため、小型のセンサとしての活用は 難しいのが現状である。一方、可搬性・携帯性の高い化学 センサには、材料として有機感応膜や金属酸化物半導体、 水晶振動子を用いたもの、また、物理現象として表面プラ ズモン共鳴や表面弾性波、各種薄膜の応力変化に伴った電 気的特性変化を応用したものが挙げられる[1-5]。しかしな がら、感度や標的化学物質への特異性の点において、いま だに改善の余地がある。現在の撮像素子や触覚センサのよ うに小型かつ高感度化を達成するには化学センサは発展 途上にあり、多くの研究者が小型で高感度・高特異性・長 寿命の化学センサの研究開発に取り組んでいる。特に揮発 性化学物質の特異的検出は非侵襲な系での違法薬物検出、 爆薬検知、ヒト探索、疾病診断を含めたヘルスケア、食品 管理等への応用が期待され、大きな市場を生じることが予 想されている。

近年では、小型・高感度・高特異性の三要素を満たす可 能性のある化学センサとして、生物由来の化学受容体を用 いる系が盛んに研究されており、次世代の生物機能利用型 センサとして注目を浴びている。前述の揮発性化学物質の 検出には生物の嗅覚受容体を用いたいわゆる「匂いセン サ」がタンパク質レベルから細胞、組織、生物個体まで幅 広く応用が検討されてきた。生物個体として、大を用いた 匂い探知は古くから行われており、現在でも非常に有効な 手段であるが、訓練に費やす時間や費用の面が課題である。

我々は膜タンパク質である嗅覚受容体そのものに着目 し、電子デバイス中で人工的な細胞膜(脂質二重膜)に嗅 覚受容体を再構成して匂いセンサとする研究に取り組ん できた<sup>[6]</sup>。脂質二重膜を得るには簡便に膜形成が可能な液 滴接触法を採用している。通常、液滴接触法では脂質分子 が分散した有機溶媒中の二つの水滴を接触させて脂質二 重膜を得るため、水相は油相に囲まれた系となる。そのた め、空気中の一般的に疎水性の高い多くの匂い分子は有機 溶媒中に留まり、嗅覚受容体の水相に露出した匂い分子結 合部位には匂い分子が到達しにくいという難点があった (図1A)。そこで、片方の水滴の代りに空気に露出したか さ高いハイドロゲルを設定することで、空気中の匂い分子 を取り込みやすくする系が報告されている(図 1B)<sup>[7]</sup>。 この系ではゲルと水溶液という性質の異なるヘテロな界 面での膜形成のため、通常の液滴接触法に比べると膜形成 率が低いことが課題であった。そこで、本来の液滴接触法 と同様に水滴同士の界面にて脂質二重膜の形成が可能で あり、且つ有機溶媒中に埋没しない系を検討した(図1C)。 本概要では、はじめに脂質二重膜形成デバイスの作製方法 および、形成膜の観察結果と形成膜の絶縁性について述べ、 後半では匂い分子の取り込み効果について報告する。

#### 2. デバイス作製

本研究ではアクリル材料を高精度なエンドミル装置に て切削加工することで上面から観察した際に∞型の形状 をした微小なチャンバーや二つの液滴の間に挿入する有 孔隔壁を作製した。隔壁の厚さは75 µm、貫通孔の直径は 600 µm である。図2に示す通り、T字型の隔壁を水溶液 を溜めたチャンバー内に挿入する系である。アクリル製の 有孔隔壁には予め脂質を有機溶媒(デカン)に分散させた 溶液を塗布し、ピンセット等を用いて手動にて水溶液中へ 浸漬することで脂質二重膜を形成した。溶媒がデカンであ ることと、脂質分子が両親媒性であることから、比較的疎 水性の高いアクリル表面においても濡れ性が高く、脂質溶 液が拡がりやすい。そのため、貫通孔を被覆するように局







図2 貫通孔を有する隔壁に脂質溶液を配置し、水溶液に挿入して脂質二重膜を形成する操作手順

所的に脂質溶液を設定するために周囲にフッ素コートを 施した。また、チャンバーの底部は500 μmの幅でスリッ ト状に開口しており、隔壁の底辺がチャンバーの下部を突 き抜ける形状で設計した。T字型の形状のため、隔壁がチ ャンバーから抜け落ちることが無く、隔壁が一定の位置に 保持される構造とした。用いたデカンは1μ1であり、脂質 濃度は20 mg/mlである。また、隔壁挿入後にチャンバー デバイスの外側からの観察が可能なように側壁を研磨し た。さらに、嗅覚受容体を再構成した後に匂い分子結合に 伴うイオン電流計測を行うため、電極を併設した構造のデ バイスを作製した(図3)。有孔隔壁の作製は前述と同様 であるが、チャンバー形状を変更した。特に隔壁で仕切ら れる二つの溶液の絶縁性が確保されるようにチャンバー 下部にフルオロカーボン液が溜められる部分を設けた。フ ルオロカーボン液は水溶液とも有機溶媒とも混ざらず、且 つ電気的な絶縁性が高いため、適した流体として採用した。 電極には銀/塩化銀電極を用いて外付けの増幅器を図3に 示すように接続した。前述の∞型チャンバーとは異なり、 側壁に開口部を設けたチャンバーであるため、比重の関係 でデカンが水溶液の上側に留まることから横穴の水溶液 は気液界面が確保された系となっている。

#### 3. 膜形成と絶縁性の確認

有孔隔壁に脂質を塗布して水溶液に挿入した結果、図 4A に示すように液滴接触法で形成される脂質二重膜と同 様の形状が観察された。脂質二重膜にナノポアを形成する 膜タンパク質であるα-ヘモリシンを用いた電気計測にお いて、ステップ状の電流値変化が計測できたことから脂質 二重膜が形成されていることと、二つの溶液間の電気的な 絶縁性が保たれていることが確認できた。

従来の液滴接触法による脂質二重膜の形成には疎水的 な表面を有する器具で貫通孔近傍をなぞる操作が頻用さ れてきた。これは余剰の有機溶媒層を積極的に取り除くこ とにで、デカン層の薄層化を促進し、油-水界面に生じた 脂質単分子膜同士を接触させやすくするためである。一方、 本手法では脂質を塗布した有孔隔壁を挿入するのみで不 自発的に 100%の確率で脂質二重膜を形成するに至った。 また、チャンバー全体をフッ素コーティングすることが、 膜形成率の向上に寄与していることが示唆された。

#### 4. 匂い分子の取り込み

本研究で用いた嗅覚受容体はシマカ(Aedes aegypti)に 由来し、オクテノールと呼ばれる揮発性の有機分子に特異 的に応答する種類の嗅覚受容体である。オクテノールはヒ トの汗の成分に由来する匂いの一つとされているため、将 来的には匂いセンシングによる不明者探索等に役立てた いと考えている。オクテノール分子は分子内に水酸基を有 するため、水溶液に対して完全な不溶性ではないと考えら れる。しかしながら、相対的に有機溶媒に溶けやすいため、 デカン層に被覆されない構造である前述の側壁に開口部 がある系でオクテノールガスの水相への取り込みの確認 を行った。



図3 電極を設けたチャンバー作製と脂質二重膜形成手順。チャンバー下部にフルオロカーボン液溜めを設定し、二つに 隔てられた溶液間の絶縁性を確保した。側壁に開口部を設けることで、気液界面が露出する系になっている。 図 4B に示すようにオクテノールガスを十分に飽和させ た密閉容器内に気液界面が露出した系と緩衝溶液がデカ ンに被覆された系の二種類を設置した。室温にて 10 分間 放置後、各緩衝溶液のみをガスクロマトグラフィーにかけ、 オクテノールの含有を評価した結果、気液界面が露出した 系の方(図 4Bb) が緩衝溶液中により多くのオクテノール を含むことが明らかとなった。

細胞に発現させた前述の嗅覚受容体を精製し、当該脂質 二重膜に再構成してオクテノールの検出を検討したとこ ころ、オクテノール分子と嗅覚受容体の結合に起因したと 考えられるイオン電流の計測に成功した。この電流値変化 は嗅覚受容体とオクテノールの両者が存在する時のみに 観測されたため、オクテノールの検出ができていると判断 した。



図4 (A) 形成した脂質二重膜の観察模式図と観察写真。(B) オクテノールガス吸収試験模式図とガスクロマトグラフィー による分析結果。

#### 5. 展望

本概要では嗅覚受容体を人工細胞膜に再構成し、匂いセ ンサに役立てる上で匂い取り込みに有効と思われる系を 報告した。これまでの液滴接触法やハイドロゲルを用いた 脂質二重膜形成とは異なり、有機溶媒に被覆されない水相 が確保でき、且つより簡便な系である。水溶液が空気に露 出するため、水分の蒸発を防ぐ系の構築も必要になるが、 水分を供給する仕組み等により蒸散を防ぐ手法が考えら れる。また、電極の位置を工夫すれば、水溶液の層をさら に薄くすることが可能であるため、空気中の匂い分子がよ り迅速に溶け込む系も期待できる。本研究が嗅覚受容体を 用いた匂いセンサの応答速度の向上や高感度化に寄与す ることを期待している。

#### 【謝辞】

本研究概要は国立研究開発法人新エネルギー・産業技術 総合開発機構(NEDO)の委託事業である「次世代人工知 能・ロボット中核技術開発/革新的ロボット要素技術分野 /人検知ロボットのための嗅覚受容体を用いた匂いセン サの開発」の研究開発期間(H29年度~)の実験結果に基 づきました。ここに深謝申し上げます。

#### 【参考文献】

- Y. Mizuta, T. Onodera, P. Singh, K. Matsumoto, N. Miura, and K.Toko, *Biosens Bioelectron*, 2008, 24, 191-197.
- [2] JY. Lee, HJ. Ko, SH. Lee, and TH. Park, *Enzyme Microb Tech*, 2006, 39, 375-380.
- [3] D. Kohl, L. Heinert, J. Bock, T. Hofmann, and P. Schieberle, Sensor Actuat B-Chem, 2000, 70, 43-50.
- [4] K. Yano, UT. Bornscheuer, RD.Schmid, H. Yoshitake, HS. Ji, K. Ikebukuro, Y. Masuda, and I. Karube, *Biosens Bioelectron*, 1998, 37, 397–405.
- [5] H. Wohltjen, and R. Dessy, 1979, Anal Chem, 51, 1458–1464.
- [6] N. Misawa, S. Fujii, K. Kamiya, T. Osaki, Y. Miyama, T. Takaku, Y. Takahashi, K. Saito and S. Takeuchi, μTAS2016, 37-38.
- [7] S. Fujii, A. Nobukawa, T. Osaki, Y. Morimoto, K. Kamiya, N. Misawa, S. Takeuchi, 2017, *Lab Chip*, 17, 2421–2425.

### 無細胞翻訳系を用いた人工脂質膜上の膜タンパク質解析

藤井聡志、三澤宣雄、神谷厚輝、大崎寿久、早川正俊、竹内昌治

#### 1. はじめに

膜タンパク質の詳細な機能解析をする為には生物組織 や培養細胞の細胞膜から膜タンパク質を精製し、夾雑す る他の膜タンパク質を除去する必要がある。しかし、そ のためには高度な技術が要求されるため、水溶性のタン パク質に比べると基礎研究、応用研究の両面において大 きく遅れを取っている。

膜タンパク質はその疎水的性質ゆえに、親水性の溶媒 下では凝集してしまう。凝集した膜タンパク質は本来の 構造を保持しておらず、活性も失われている。そこで生 細胞からは界面活性剤を用いて溶出される。これにより、 膜タンパク質は界面活性剤の疎水基に守られるようにな り(ミセル構造に包まれる)、可溶性の膜タンパク質溶液 として種々の精製技術に供され、最終的に機能解析のた めの試料として調製される。このとき、多種類の界面活 性剤の中から目的の膜タンパク質を可溶化するのに最適 な界面活性剤を選択する必要がある。残念ながら、全て の膜タンパク質を可溶化できる万能な界面活性剤はなく、 界面活性剤の構造と最適な膜タンパク質配列との相関も 明確ではないため多くの試行錯誤を要する部分である<sup>[1]</sup>。 次に、無事に精製できた場合でも界面活性剤の存在下で は機能が微弱なために、脂質膜に膜タンパク質を組み込 む必要が生じることも多い。脂質膜に組み込むと生細胞 中の膜タンパク質の環境を模倣できるために膜タンパク 質の機能が検出されやすくなる。それだけでなく、電気 生理学の技術を用いたイオン電流計測、リポソームを用 いた内外物質の輸送アッセイなど、幅広い機能解析技術 を利用できるようになるため脂質膜に膜タンパク質を組 み込む利点は多い。ところが膜タンパク質を脂質膜に組 み込むのは容易ではなく、界面活性剤の除去と脂質膜の 形成を同時に進行させる透析法やバイオビーズ法など各 種プロトコルの条件検討が必要となる。このようにして、 膜タンパク質機能解析には多くの技術と試行錯誤が必要 なため、より簡便に膜タンパク質を脂質膜上の機能解析 に供する技術の開発が期待されている。

我々は、無細胞翻訳系を用いて膜タンパク質をアクリ ルデバイス上の人工脂質膜上に簡易的に組み込み、電気 生理学手法により機能解析する事に成功した。本技術で は、生細胞から界面活性剤を用いて膜タンパク質を精製 する必要がない。加えて当グループが有するチップ上の 人工脂質膜形成技術を活用することにより、従来よりも 簡便に1 分子レベルで膜タンパク質の機能解析が可能に なった。以下より使用する技術について順次、概説する。

#### 2. 無細胞翻訳系を用いた液滴接触法

無細胞翻訳系とは、試験管内で DNA/RNA からタンパ ク質を合成する技術のことである。DNA にコードされた 遺伝情報は転写酵素によって RNA に転写され、リボソー ムとその他翻訳にかかわる酵素群によりタンパク質が合 成される(翻訳)。従来は培養細胞に DNA を導入して細 胞内でタンパク質合成を行い、その後に細胞から精製し ていたのに対し、試験管内でタンパク質合成を行える本 システムは精製の作業が不要であり、DNA と無細胞翻訳 系を混合して加温するだけで試験管内に目的の膜タンパ ク質を得ることができる。無細胞翻訳系にはさまざまな 生物種由来のものが市販されているため、目的に応じて 選択可能である。我々は PURE system と呼ばれる大腸菌 由来の無細胞翻訳系を使用した<sup>[2,3]</sup>。本システムは、無細 胞翻訳系の中で唯一タンパク質合成に不要なタンパク質 が全て除去されているという特徴がある。そのため、夾 雑する膜タンパク質が含まれないため、膜タンパク質研 究には有用である。

無細胞翻訳系を用いてタンパク質合成を行う場合、界 面活性剤や脂質膜を混在させて合成する必要がある。こ れは前述のとおり膜タンパク質が疎水的性質を持つため である。生細胞での膜タンパク質の挙動を模倣できるた めに界面活性剤よりは脂質膜を用いて合成した方が好ま しい。我々はアクリルデバイス上に形成した脂質膜を用 いて無細胞翻訳系による膜タンパク質を合成することに した。デバイス上の脂質膜形成には当グループが開発し た液滴接触法を用いた<sup>[4]</sup>。液滴接触法は、脂質が混和した オイルの中に水滴を2個作成して接触させた界面に脂質 膜を形成する技術である。無細胞翻訳系により合成され た膜タンパク質は脂質膜上に自発的に組み込まれる(図 1)。これは膜タンパク質が親水性の溶媒より脂質膜の疎 水環境との親和性が高いために確率的に起こる現象であ る。この仕組みを用いると、界面活性剤を使用すること なく目的の膜タンパク質のみを脂質膜に組み込むことが 可能となる。必要に応じて、脂質膜に膜タンパク質が組 み込まれる頻度を向上させる因子を混在させることも可 能である<sup>[5]</sup>。我々は液滴接触法で形成した脂質膜上の膜タ ンパク質に由来する微弱なイオン電流を計測するシステ ムをデバイスに組み込んでいる。脂質膜はその疎水的性 質により、イオン透過性が低い。しかしナノポアやイオ ンチャネル、トランスポーターなどの膜タンパク質が脂 質膜上で機能を発現するとイオンが透過する。このイオ ン透過を電流値の変化として捕捉する。



図1 無細胞翻訳系による液滴接触法。インキュベーショ ンにより、液滴の中ではタンパク質が合成され、脂質膜に 挿入される。

3. デバイスとハロゲンランプヒーターの作成 液滴接触法に用いるデバイスは従来の当グループの技 術に基づき、アクリル切削により加工した<sup>[4]</sup>。2本の円柱 状の窪みを接するように配置し、それぞれの窪みの底部 に電極を設置した。この電極間を流れる電流を計測する ことにより、膜タンパク質によって発生・変化するイオ ン電流を測定する。ただし、脂質膜が破裂した場合は電 極間電流が極端に上がり、膜タンパク質の機能を解析す

るに至らない。そこでイオン電流を十分に遮蔽する安定 した脂質膜を形成する必要がある。我々は形成した脂質 膜の安定性を高めるため、デバイスの中央部に小さな隔 壁を設けることで形成される脂質膜面積を最大でも直径 0.6 mmの円形状に制限した<sup>[6]</sup>。これによりノイズレベル も低減し、一分子レベルの膜タンパク質機能解析が可能 になった。構築したデバイスには脂質が混和したオイル をはじめに滴下する。脂質組成は用いる膜タンパク質 の 種類に応じて選別する。次に、目的の膜タンパク質遺伝 子を混合した無細胞翻訳系をオイルの中に滴下し、液滴 を形成する。このようにして形成した油中液滴が隔壁内 で接触することで脂質膜が形成され、目的の膜タンパク 質が組み込まれる足場として機能する。

無細胞翻訳系は37度に加温することでタンパク質合成 が進行する。そのため、デバイスを直接加温するシステ ムを構築する必要がある。インキュベーターなどの市販 の装置で加温すると電気計測時にノイズが発生する、大 きな加温空間ではデバイス中の溶液の乾燥速度が高いな どの懸念があるため、我々はデバイスを小型のランプヒ ーターで加熱する仕組みを構築した(図2)。ハロゲンラ ンプをアクリル製のパイプに組み込み、外環境空気との 混和を抑制した。また、温度センサを設置してランプヒ ーターのスイッチング機構と連動することで常に1度以 上の温度変動内で目的温度に制御するヒーターシステム を構築した。



図 2 (a) デバイスの写真。(b) ランプヒーターでデバイスを 加温している様子。(c) ランプヒーター下部に収納されたデ バイスの拡大写真(ヒーター電源 OFF 時)。デバイスの左上 の棒状の構造は温度センサ。

#### 4. 電気計測による膜タンパク質機能解析

我々はアルファヘモリシンと呼ばれる膜タンパク質の 遺伝子を調製し、無細胞翻訳系とともにデバイスに滴下 し、ランプヒーターで加温した。アルファヘモリシンは 黄色ブドウ球菌由来の毒タンパク質であり、赤血球の脂 質膜を傷害して溶血反応を引き起こす作用を有する<sup>[7]</sup>。ア ルファヘモリシンは電気計測でよく用いられるモデルタ ンパク質であり、脂質膜上に7量体を形成し最狭部で1.5 nm 直径の小孔を形成するために大きなイオン電流を発 生させることが知られている。我々はアルファヘモリシ ンの遺伝子を無細胞翻訳系と混和して液滴接触法の液滴 組成として用い、デバイス上で脂質膜を形成した。ラン プヒーターを用いて加温したところ、計測電流に階段状 の変化が見られた(図3)。これはイオン電流が発生して いることを示しており、脂質膜上にアルファヘモリシン に由来する小孔が形成されたことを示している。アルフ ァヘモリシンが脂質膜状で小孔を形成するたびに階段状 の信号が1つ観察されるため、本研究では3個の小孔の 形成が確認されたと考察される。図3に示すとおり、順 に、38、13、26pAの電流値変化を伴う多様な信号が観察 された。これはアルファヘモリシンによる小孔構造のバ ラつきを示しており、一分子レベルの機能計測が出来て 初めて明らかになる特徴である。このようなバラつきは 市販のアルファヘモリシンタンパク質でも報告されてお り、本研究に特異的な現象ではないと考えられる<sup>[8]</sup>。特に 2段目の信号変化(13pA)以降は電流値の向上が観察さ れることから、不完全な小孔が経時的に完全な小孔構造 に変遷する様子を示すものと考察される。一方で遺伝子 を用いずに同様の実験を行ったところ、階段状の信号変 化は見られなかった。これにより、アルファヘモリシン が無細胞翻訳系により合成されたこと、そのアルファヘ モリシンが脂質膜に組み込まれたことが確認された。



図3 アルファヘモリシンの遺伝子を用いて無細胞翻訳系 によるデバイスでの電気計測で得られた電気信号例。

#### 5. 展望

本研究では、膜タンパク質を簡便に脂質膜上に組み込 み、電気生理学技術により機能計測する技術を紹介した。 無細胞翻訳系は、目的の遺伝子を設計すればすぐに膜タ ンパク質が合成できる簡便性が利点である。液滴接触法 による脂質膜形成も従来技術と比較すると簡便に脂質膜 を形成する技術として知られており、当グループが開発 して以来、世界で広く使われている技術である<sup>[9]</sup>。本研究 はこれらの簡便な技術同士が組み合わさることにより、 膜タンパク質を脂質膜に組み込む技術的障害を大幅に削 減したといえる。本技術が広く活用され、膜タンパク質 研究が加速することが期待される。

#### 【謝辞】

本研究内容の一部は、文部科学省の地域イノベーション 戦略支援プログラムの助成を受け行われました。ここに 感謝申し上げます。

#### 【参考文献】

- A. M. Seddon, P. Curnow, P. J. Booth, Biochim Biophys Acta 1666(1-2), 105-117, 2004
- [2] T. Matsuura, N. Tanimura, K. Hosoda, T. Yomo, Y. Shimizu, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **114**(8), E1336-E1344, 2017
- [3] Y. Shimizu, T. Kanamori, T. Ueda, Methods 36(3), 299-304, 2005
- [4] K. Funakoshi, H. Suzuki, S. Takeuchi, Anal. Chem. 78(24), 8169-8174, 2006
- [5] K. Nishiyama, M. Maeda, K. Yanagisawa, R. Nagase, H. Komura, T. Iwashita, T. Yamagaki, S. Kusumoto, H. Tokuda, K. Shimamoto, Nat Commun 3, 1260, 2012
- [6] R. Kawano, Y. Tsuji, K. Sato, T. Osaki, K. Kamiya, M. Hirano, T. Ide, N. Miki, S. Takeuchi, Sci. Rep. 3, 1995, 2013
- [7] L. Song, M. R. Hobaugh, C. Shustak, S. Cheley, H. Bayley, J. E. Gouaux, Science 274(5294), 1859-1866, 1996
- [8] Y. Tsuji, R. Kawano, T. Osaki, K. Kamiya, N. Miki, S. Takeuchi, Anal. Chem. 85(22), 10913-10919, 2013
- [9] T. Osaki, S. Takeuchi, Anal. Chem. 89(1), 216-231, 2017

# 多種類のリン脂質組成非対称膜リポソーム作製デバイスの

開発

神谷厚輝、五反田政秀、大崎寿久、藤井聡志、三澤宣雄、三木則尚、竹内昌治

#### 1. はじめに

細胞膜は両親媒性のリン脂質分子がリン脂質 2 分子膜 を構成し形成されている。特に、真核細胞の形質膜は内膜 と外膜を構成しているリン脂質種が非対称に分布してい る(リン脂質組成非対称膜)。哺乳細胞の形質膜の場合、外 膜には、フォスファチジルコリン(PC)やスフィンゴミエリ ン(SM)が多く存在し、内膜には、フォスファチジルセリン (PS)やフォスファチジルエタノールアミン(PE)が多く存在 している」。このリン脂質の非対称性は、細胞死(アポトー シス)やシグナル伝達等に重要な役割を果たしていると言 われている。また、細胞膜には様々な膜タンパク質が存在 し、非対称膜組成が膜タンパク質機能に大きな影響を与え ているとも言われている。近年、人工脂質膜であるリポソ ームは、膜タンパク質の機能観察<sup>2,3</sup>やリン脂質膜の生物物 理的特性4や人工細胞モデル研究にされている。リポソー ムは、大きさによって名称や作製法が異なる。例えば、ド ラッグデリバリーの担体に用いられる直径約 100-300 nm のリポソームは、ボルテックス法や逆相蒸発法といった方



図 1 有機溶媒が極めて少ないリン脂質非対称膜リポソームの 作製の模式図。ジェット水流を印加すると、マイクロ脂質チ ューブが形成される。そして、脂質チューブが変形するとき に、曲率の高い部分に残留有機溶媒が多く存在すると考える。 そして、マイクロチューブの分裂により、細胞サイズの有機 溶媒層が存在しないリポソームを得る。

法で作製される。一方、光学顕微鏡で容易に観察可能な細 胞サイズリポソームは、主に静置水和法5やエレクトロフ オーメーション法<sup>6,7</sup>で作製される。静置水和法は以下の方 法でリポソームが形成される。クロロホルム溶液に溶解さ れたリン脂質をガラス板上に垂らしアルゴンガス気流下 で乾燥させ、リン脂質フィルムを作製する。そして、この リン脂質フィルムに緩衝溶液等を加え、静置することによ り自己組織的に直径 5-100 µm 程度のリポソームが形成さ れる。この方法は、簡単かつ大量にリポソームが形成でき るが、作製法の原理上リン脂質非対称膜を持つリポソーム の形成は不可能である。また、作製されるポソームの大多 数は、多重膜リポソームであり、リポソーム内への物質封 入効率も良くない。

このような問題点を解決するために、マイクロ流体デバ イスを利用した細胞サイズリポソーム作製法が国内外で 開発されている。例えば、フローフォーカシング法などで、 リン脂質から構成される油中水滴が形成可能である。そし て、油相から水相へこの油中水滴を透過させる際、リン脂 質単分子膜が油中水滴に張り合わせられることからポソ ームが形成され 8-10。マイクロ流体デバイスを用いたリポ ソーム作製法は、単分散なリポソーム形成、リポソーム内 への物質の高封入やリン脂質非対称膜の形成といった利 点をもつ。マイクロ流体デバイスを利用するリポソーム作 製法の多くは、n-デカン等の有機溶媒にリン脂質を溶解し てリポソーム形成を行っている。形成時の n-デカンがリ ポソーム膜内に残留しリポソームの安定性に影響を及ぼ すと考えられている。そこで、我々は残留有機溶媒がほぼ ないリン脂質非対称膜リポソームが形成可能な作製法を 考案した。このリン脂質非対称膜リポソームの作製は下記 の通りである。本研究室で開発された平面リン脂質膜形成 法(接触法)を用いて、平面リン脂質非対称膜を形成した。 そして、この平面リン脂質非対称膜に対して、ジェット水 流を印加するとリン脂質のマイクロチューブが形成され る。このマイクロチューブが徐々に変形し大きなリポソー ム(直径約 100-200 µm)と細胞サイズのリポソーム(直径約 5-20 µm) が形成される (図 1)<sup>11</sup>。この細胞サイズのリポソ ームを回収し、ラマン分光法によりリポソームに含まれる 残留有機溶媒が非常に少ないことが分かった(有機溶媒層 が形成不可能な量)。さらに、このリン脂質非対称膜リポ ソームを用いて、リン脂質の分子運動(フリップ-フロッ プ)やペプチドとリン脂質非対称膜との相互作用観察に成

功している。さらに、あるリン脂質非対称膜組成であると 膜タンパク質の取込みが増大することがわかった。これは、 細胞膜がなぜ非対称膜であるかという問の1つになりう ると考える。タンパク質等の生体分子とリン脂質膜との相 互作用を同定するためには、多種類の組成をもったリン脂 質非対称膜が必要になってくる。そこで、本研究では、1 つのデバイスで複数種類のリン脂質非対称膜リポソーム 作製が可能なデバイスを作製する。

#### 2. 実験と結果

#### 2.1 複数組成のリン脂質非対称膜リポソーム作 製デバイスとリポソーム作製

以前に、我々の研究室で、リン脂質に覆われた液滴を ちぎり、接触されることにより平面リン脂質2重膜が形成 される。この機構を元にして、複数種類のリン脂質非対称 膜リポソーム作製デバイスを構築した。デバイスは、リポ ソーム膜の外膜に相当する6つのウェルを持つ回転デバ イスと、リポソーム膜の内膜に相当する固定ウェルから構 成されている(図2)。



# 図2 複数種類のリン脂質非対称膜リポソーム作製デバイス。スケールバー,5 mm。文献[12]を改変。

このデバイスの性能を評価するために、1回転でリポソ ームの外膜に対応する6つのウェルで、制御された組成で リポソームが形成されるかを検証した。各ウェルにベース のリン脂質として DOPC を加え、蛍光色素が標識された リン脂質として、Rhodamine-DOPE, BODIPY-DHPE を加え た液滴を用意した。そして、平面リン脂質非対称膜を形成 し、その平面膜にジェット水流を印加することにより、リ ポソームを作製した。そして、回転デバイスを回転させ、 新たに平面膜を形成させ、同様にリポソームを形成させた。 その結果、Rhodamine-DOPE が含まれている平面膜から形 成されたリポソームからは、Rhodamineの蛍光のみが観察 された。また、BODIPY-DHPE が含まれる平面膜から形成 されたリポソームからは、BODIPY の蛍光のみ観察された。 一方、蛍光脂質が入っていない平面膜からは、Rhodamine、 BODIPY の両蛍光は観察されなかった。したがって、回転 によるリン脂質の混和が起きず、本デバイスで目的のリン 脂質非対称膜リポソームが形成されることがわかった(図 3)。



図3 それそれのウェルで加えた脂質の組成。それぞれの回転ウェルから形成されたリポソームの蛍光輝度のグラフ。 文献[12]を改変。

#### 2.2.リン脂質組成が異なったリン脂質非対称膜 リポソームのペプチドとの相互作用

この実験では、抗菌活性をもつペプチドのシンナマイシ ンを用いた。このシンナマイシンは、フォスファチジルエ タノールアミン(PE)と特異的に結合し、細胞膜のリン脂質 分子を攪乱される働きをもつ。この回転デバイスを用いて、 リポソームに含まれる PE の濃度を変化させることにより、 リポソーム膜の撹乱の限界を観察した。リポソームの内膜 は、DOPC/DOPS (1:1 molar ratio)で固定し、リポソームの 外膜は、DOPC/DOPE (100:0, 90:10, 80;20, 75:25 molar ratio) の濃度を変化された。実験系は下記のようにおこなった。 非対称膜リポソームの外液に Alexa Fluor 546 で蛍光標識 されたシンナマイシンと Alexa Fluor 546 で蛍光標識 されたシンナマイシンと Alexa Fluor 488 で標識された AnnexinV を加えた。AnnexinV はリン脂質の PS と特異的 に結合するタンパク質である。したがって、はじめ非対称 膜リポソームの内膜に存在している PS が、シンナマイシ ンの影響で PS の外膜への露出するようすを観察した。

外膜に DOPE が存在しない場合は、シンナマイシン存在 下においても DOPS の露出が観察されなかった。しかし、 リポソームの外膜の DOPE 濃度が上昇するにつれて、PS の外膜への露出量も上昇した。この結果は、シンナマイシ ンは PE と結合し、リポソーム膜に存在している他のリン 脂質の分子運動を促進することがわかった。また、外膜に 25 mol%の DOPE が存在下で、14 mol%の DOPS が内膜か ら外膜へ移動したことがわかった(図 4)。



図4 a.シンナマイシンアッセイの概略図。b.シンナマイシ ン存在下での AnnexinV 結合実験の顕微鏡画像。スケールバ ー、5µm。c. DOPE 濃度を変化させたリポソームにおける AnnecinV 由来の蛍光輝度。文献[12]を改変。

#### 3. 考察及び今後の展望

本デバイスにより、複数組成をもったリン脂質非対称膜 リポソーム作製に成功した。様々な組成のリン脂質非対称 膜リポソームでアッセイを行うことにより、ペプチドやタ ンパク質の未知機能や活性条件の発見が期待される。

#### 【謝辞】

本研究内容の一部は、文部科学省の地域イノベーション 戦略支援プログラムの助成を受け行われた。また、科学研 究費補助金若手研究 A の助成によって行われた。

#### 【参考文献】

- van Meer, G., Voelker, D. R. & Feigenson, G. W. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 112–124 (2008).
- [2] Kamiya, K. *et al.* Preparation of connexin43-integrated giant Liposomes by a baculovirus expression-liposome fusion method. *Biotechnol. Bioeng.* **107**, 836–843 (2010).
- [3] Kamiya, K., Tsumoto, K., Yoshimura, T. & Akiyoshi, K. Cadherin-integrated liposomes with potential application in a drug delivery system. *Biomaterials* 32, 9899–9907 (2011).
- [4] Lopez, S. et al. Membrane composition and dynamics: A target of bioactive virgin olive oil constituents. BBA -Biomembr. 1838, 1638–1656 (2014).
- [5] Bangham, A. D. & Horne, R. W. Negative Staining of Phospholipids and their Structural Modification by Surface-active Agents as observed in the Electron Microscope. J. Mol. Biol. 8, 660–668, (1964).
- [6] Angelava, M. I. & Dimitrov, D. S. Swelling of Charged Lipids and Formation of Liposomes on Electrode Surfaces. *Mol. Cryst. Liq. Cryst. Inc. Nonlinear Opt.* 152, 89–104

(1987).

- [7] Weinberger, A. et al. Gel-Assisted Formation of Giant Unilamellar Vesicles. Biophys. J. 105, 154–164 (2013).
- [8] Matosevic, S. & Paegel, B. M. Stepwise synthesis of giant unilamellar vesicles on a microfluidic assembly line. J. Am. Chem. Soc. 133, 2798–2800 (2011).
- [9] Hu, P. C., Li, S. & Malmstadt, N. Microfluidic Fabrication of Asymmetric Giant Lipid Vesicles. ACS Appl. Mater. Interfaces 3, 1434–1440 (2011).
- [10] Kamiya, K., & Takeuchi S. Giant liposome formation toward the synthesis of well-defined artifical cells. J. Mater. Chem. 5, 5911-5923 (2017).
- [11] Kamiya, K., Kawano, R., Osaki, T., Akiyoshi, K. & Takeuchi, S. Cell-sized asymmetric lipid vesicles facilitate the investigation of asymmetric membranes. *Nat. Chem.* 8, 881-889 (2016).
- [12] Gotanda, M. et al., Sequential generation of asymmetric lipid vesicles using a pulsed-jetting method in rotational wells. *Sen. Actuators B Chem.* 261, 392-397 (2018).

業 綪

#### 【原著論文】

- Naoko Ueno, Taisuke Banno, Arisa Asami, Yuki Kazayama, Yuya Morimoto, Toshihisa Osaki, Shoji Takeuchi, Hiroyuki Kitahata, and Taro Toyota Self-Propelled Motion of Monodisperse Underwater Oil Droplets Formed by a Microfluidic Device Langmuir, Vol.33, pp.5393-5397 (2017)
- Hiroki Yasuga, Kosuke Inoue, Ryuji Kawano, Masahiro Takinoue, Toshihisa Osaki, Koki Kamiya, Norihisa Miki, Shoji Takeuchi Serial DNA relay in DNA logic gates by electrical fusion and mechanical splitting of droplets PLOS ONE, Vol.12, No.7, e0180876 (2017)
- Satoshi Fujii, Aiko Nobukawa, Toshihisa Osaki, Yuya Morimoto, Koki Kamiya, Nobuo Misawa and Shoji Takeuchi Pesticide vapor sensing using an aptamer, nanopore, and agarose gel on a chip Lab on a Chip, Vol.17, pp.2421-2425 (2017)
- Koki Kamiya, Yuta Abe, Kosuke Inoue, Toshihisa Osaki, Ryuji Kawano, Norihisa Miki, and Shoji Takeuchi Well-Controlled Cell-Trapping Systems for Investigating Heterogeneous Cell-Cell Interactions Advanced Healthcare Materials, Vol.7, 1701208 (2018)
- Yusuke Izawa, Toshihisa Osaki, Koki Kamiya, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Shoji Takeuchi, Norihisa Miki Suppression of sloshing by utilizing surface energy and geometry in microliter cylindrical well Sensors and Actuators B: Chemical, Vol.258, p.1036-1041 (2018)
- Masahide Gotanda, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Norihisa Miki, Shoji Takeuchi Sequential generation of asymmetric lipid vesicles using a pulsed-jetting method in rotational wells Sensors and Actuators B: Chemical, Vol.261, pp.392-397 (2018)

#### 【総説】

 Koki Kamiya and Shoji Takeuchi Giant liposome formation toward the synthesis of well-defined artificial cells Journal of Materials Chemistry B, Vol.5, pp.5911-5923 (2017)

- 三澤宣雄、竹内昌治 昆虫の嗅覚をロボットの匂いセンサへ AROMA RESEARCH,第18巻第2号, pp.110-115 (2017)
- 藤井聡志、神谷厚輝、大崎寿久、三澤宣雄、竹内昌治 夾雑物存在下でマイクロ RNA を検出する技術の開発 化学とマイクロ・ナノシステム,第16巻第2号,pp.46-49 (2017)

#### 【口頭発表】

- 五反田真秀、神谷厚輝、大崎寿久、藤井聡志、三澤宣 雄、三木則尚、竹内昌治 人工細胞膜内の生体分子運動を観察可能とする非対 称膜リポソームの連続的作製法の開発 ロボティクス・メカトロニクス講演会 2017 2017 年 5 月,郡山
- 五反田真秀、神谷厚輝、大崎寿久、藤井聡志、三澤宣 雄、三木則尚、竹内昌治 脂質膜組成交換デバイスによる非対称人工細胞膜間 の分子運動観察 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 35 回研究会 2017 年 5 月,東京
- ・神谷厚輝、大崎寿久、川野竜司、竹内昌治 細胞膜相互作用観察可能なジェット水流印加による リン脂質非対称膜リポソームの作製 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 35 回研究会 2017 年 5 月,東京
- 藤井 聡志、神谷厚輝、大崎寿久、三澤宣雄、竹内昌 治 マイクロ RNA を夾雑物存在下で検出する手法の開発 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 35 回研究会 2017 年 5 月,東京
- Koki Kamiya Artificial Cell Assembly Using Bottom-Up Approach 23rd iCeMS International Symposium"Emerging Science for Unlocking Cell's Secrets" 2017 年 5 月,京都
- 藤井聡志 人工細胞とその応用 理研 - 産総研「チャレンジ研究」セミナー 2017 年 5 月,和光

165

 Masahide Gotanda, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Norihisa Miki and Shoji Takeuchi SEQUENTIAL PRODUCTION OF VARIOUS TYPES OF ASYMMETRIC LIPID VESICLES USING PULSE JET FLOW TRANSDUCERS 2017

2017年6月,中国(台湾)

- 竹内昌治 異分野融合研究によるバイオハイブリッドシステム の創出 オープンイノベーションによる次世代ものづくりラ イフ・シンポジウム 2017 年 6 月,横浜
- 9. 伊沢 友佑、大崎 寿久、神谷 厚輝、藤井 聡志、三澤 宣雄、竹内 昌治、三木 則尚 微小円筒ウェルのスロッシングに対する表面性状及 び寸法の効果
   平成 29 年度電気学会センサ・マイクロマシン部門バ イオ・マイクロシステム研究会 2017 年 6 月, 姫路
- 10. 藤井聡志
   人工細胞膜を用いたバイオセンシング技術
   第 16 回バイオ・ライフサイエンス研究展 (BIOtech 2017)
   2017 年 6 月,東京
- 杉山博紀,風山祐輝,大崎寿久,竹内昌治,豊田太郎 マイクロ流体デバイスを用いた広域円形空間内への ベシクル捕捉と並列配置 平成29年度日本分析化学会関東支部若手交流会 2017年7月,那須塩原
- Nobuo Misawa
   Odor Detection using an Insect Olfactory Receptor Reconstructed in Bilayer Lipid Membrane
   2017 ISCE/APACE
   2017 年 8 月,京都
- 三澤宣雄
   人工細胞膜と膜タンパク質の応用研究
   2017 バイオセンサ夏季合同セミナー
   2017 年9月,京都
- 14. 竹内昌治
   生体機能を直接利用するバイオハイブリッドデバイス
   ス
   豊田中央研究所講演会
   2017年9月,長久手

- 15. Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Ryuji Kawano, Shoji Takeuchi
  Reconstitution amount of membrane proteins was controlled by components of asymmetric lipid vesicles
  第 55 回日本生物物理学会年会 2017 年 9 月, 熊本
- 16. Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Shoji Takeuchi
  Detection of target microRNA in a crude sample by electrical measurement
  第 55 回日本生物物理学会年会
  2017 年 9 月, 熊本
- 17. 竹内昌治
   いきものづくりへの挑戦
   東進ハイスクール講演会 第7回フロンティアサロン
   永瀬賞授賞式
   2017年9月,東京
- 18. 大崎寿久
   マイクロデバイスを利用して、細胞膜を創る・測る・
   使う
   東京工業大学物理工学院 学術講演会
   2017 年 9 月,東京
- 神谷厚輝、井上晃佑、大崎寿久、三木則尚、竹内昌治 細胞形状の模倣を目的とした非球体リポソーム作製 「細胞を創る」研究会 10.0 2017 年 10 月, 京都
- 20. 藤井聡志、信川亜衣子、大崎寿久、森本雄矢、神谷厚 輝、三澤宣雄、竹内昌治 揮発農薬を DNA アプタマーとナノポアで検知する 「細胞を創る」研究会 10.0 2017 年 10 月, 京都
- 21. Toshihisa Osaki, Satoshi Fujii, Koki Kamiya, Nobuo Misawa, and Shoji Takeuchi READY-TO-USE LIPID BILAYER DEVICE FOR SENSOR APPLICATIONS MicroTAS 2017 2017 年 10 月, アメリカ
- 22. Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, and Shoji Takeuchi FORMATION OF A GIANT LIPID VESICLE CONTAINING TWO TYPES OF LIQUID SOLUTIONS USING A THETA-GLASS CAPILLARY MicroTAS 2017 2017 年 10 月, アメリカ

- 23. Nobuo Misawa, Satoshi Fujii, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Atsufumi Ozoe, Yasuhiko Takahashi, and Shoji Takeuchi FORMATION OF DROPLET INTERFACE BILAYERS EQUIPPED WITH OPEN WATER SURFACE FOR ODORANT DETECTION USING OLFACTORY RECEPTORS MicroTAS 2017 2017 年 10 月, アメリカ
- 24. Michael McGlone, Alessandra Armetta, Toshihisa Osaki, Shoji Takeuchi, Sunghee Lee CHARACTERIZATION OF MONOOLEIN BILAYER THICKNESS USING SPECIFIC MEMBRANE CAPACITANCE MicroTAS 2017 2017 年 10 月, アメリカ
- 25. Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, and Shoji Takeuchi HYDROGEL-BASED LIPID BILAYER SYSTEM FOR CONTINUOUS VAPOR DETECTION MicroTAS 2017 2017 年 10 月, アメリカ
- 26. DongChel Shin, Yuya Morimoto, Koki Kamiya and Shoji Takeuchi THREE-DIMENSIONAL LIPOSOME ASSEMBLY TOWARD SYNTHETIC TISSUE MicroTAS 2017 2017 年 10 月, アメリカ
- 27. 竹内昌治
  生体機能を直接利用するバイオハイブリッドシステム
  平成 29 年度 NEDO『TSC Foresight』セミナー(第2回)
  2017 年 11 月,東京
- 三澤宣雄、藤井聡志、神谷厚輝、大崎寿久、竹内昌治 脂質が塗布された有孔隔壁の浸漬よる脂質二重膜の 形成
   第 34 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」
   シンポジウム
   2017 年 11 月,広島
- 29. 五反田真秀、神谷厚輝、大崎寿久、藤井聡志、三澤宣 な、三木則尚、竹内昌治 非対称人工細胞膜間における生体分子の拡散運動観 察のための手法開発 第8回マイクロ・ナノ工学シンポジウム 2017年11月,広島

- 30. 申東哲、森本雄矢、神谷厚輝、竹内昌治 遠心力を用いた3次元集積リポソームの形成 第8回マイクロ・ナノ工学シンポジウム 2017年11月,広島
- 31. 五反田真秀、神谷厚輝、井上晃佑、大崎寿久、藤井聡 志、三澤宣雄、三木則尚、竹内昌治 多光子リソグラフィによって作製されたマイクロサ イズ人工細胞骨格によるリポソーム変形 第8回マイクロ・ナノ工学シンポジウム 2017年11月、広島
- 72. 伊沢友佑、大崎寿久、神谷厚輝、藤井聡志、三澤宣雄、 三木則尚、竹内昌治
   溶液把持機構を有するポータブル生体ナノポア電気
   計測デバイスの開発
   第8回マイクロ・ナノ工学シンポジウム
   2017年11月,広島
- 33. 竹内昌治
   生体機能を直接利用したバイオハイブリッドデバイス
   ス第7回次世代フレキシブルエレクトロニクスシンポジウム
   2017年12月,東京
- 34. Shoji Takeuchi
  Lipid bilayer on a chip for biohybrid sensors
  6th Bioscience and Biotechnology International
  Symposium
  2018 年 1 月, 横浜
- 35. Yusuke Izawa, Toshihisa Osaki, Koki Kamiya, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Norihisa Miki, and Shoji Takeuchi HANDHELD NANOPORE-BASED BIOSENSING DEVICE MEMS 2018 2018 年 1 月, イギリス
- 36. Toshihisa Osaki, Miharu Kaneko, Katsufumi Araki, Hideo Uehara, Toshiyuki Ura, Hajime Hirata,Koki Kamiya, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, and Shoji Takeuchi MONOLITHICALLY FABRICATED PERFORATED POLYIMIDE SEPARATOR FOR A PLANAR LIPID BILAYER DEVICE MEMS 2018 2018 年 1 月, イギリス
- Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Satoshi Fujii, Nobuo Misawa,and Shoji Takeuchi

NANO-SIZED ASYMMETRIC LIPID VESICLES FOR DRUG CARRIER APPLICATIONS MEMS 2018 2018 年 1 月, イギリス

- 38. Satoshi Fujii, Nobuo Misawa, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, and Shoji Takeuchi BREATHABLE FABRIC MEETS A LIPID BILAYER SYSTEM FOR RAPID VAPOR DETECTION MEMS 2018 2018 年 1 月, イギリス
- 39. Nobuo Misawa, Satoshi Fujii, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, and Shoji Takeuchi SIDEWALL ELECTRODE-CHAMBER FOR LIPID BILAYER FORMATION SUITABLE FOR RAPID ACCESS OF ODORS TO LIPID MEMBRANEAN MEMS 2018 2018 年 1 月, イギリス
- 40. 竹内昌治
   細胞をつかうモノづくり
   山梨県立甲府南高等学校 サイエンスフォーラム
   2018年2月,甲府
- 41. 竹内昌治
   分子・細胞ハイブリッドロボティクス
   第1回分子ロボティクス年次大会(併催・分子ロボット倫理シンポジウム)
   2018年3月,仙台
- 42. 神谷厚輝、大崎寿久、藤井聡志、三澤宣雄、竹内昌治
   マイクロデバイスを用いたリポソーム作製
   第1回分子ロボティクス年次大会(併催・分子ロボット倫理シンポジウム)
   2018年3月,仙台
- 43. Nobuo Misawa, Satoshi Fujii, Koki Kamiya, Toshihisa Osaki, Atsufumi Ozoe, Yasuhiko Takahashi, and Shoji Takeuchi
  Odorant sensing based on an artificial cell membranes and membrane proteins
  応用物理学会有機分子・バイオエレクトロニクス分科会
  2018 年 3 月,東京
- 44. 三澤宣雄
  IEEE MEMS2018, BioMEMS 関連
  有機機能材料のリソグラフィ加工コンソーシアム第
  27 回定例会
  2018 年 3 月,京都

【記者発表、取材】

- 藤井聡志、竹内昌治
   「東大など、揮発した残留農薬を迅速・特異的に空気
   中から直接検地可能なセンサーを開発」
   日本経済新聞電子版, 2017 年 6 月 16 日
- 藤井聡志、竹内昌治
   「揮発した残留農薬を空気中から検地できる、非破壊
   検査可能なセンサを開発」
   マイナビニュース (Web), 2017 年 6 月 20 日
- 藤井聡志、竹内昌治
   「センサー、食品傷つけず 残留農薬、高精度で検出
   東大など」
   日経産業新聞, 2017 年 6 月 30 日
- 4. 神奈川科学技術アカデミー(KAST)
   「生命の神秘に迫る「人工細胞膜」研究」
   選択出版,2017年12月1日
- 5. 竹内昌治、「"超嗅覚"驚異の生物センサー」(再放送) NHK World(Web), 2018 年 1 月 31 日

#### 【特許】

- (1) 国内特許出願 4件
- (2) 国外特許出願 1件

# 食品機能性評価グループ

グループリーダー 阿部啓子

#### 【基本構想】

食は健康な生体を築き上げ、それを維持する上で限りなく重要であり、適正な食生活は "quality of life" (QOL)の向上に寄与し、生活習慣病を防ぎ、健康寿命を延ばす手段としても高い関心が寄せられている。わが国ではまもなく 65 歳以上の高齢者が人口の 30%に達すると予想されており、健康を保ち、エイジング(加齢)に伴う生活習慣病の発症を遅らせる機能性食品の開発は国際的にも注目されている。本テーマの出口としては、科学的エビデンスに基づく商品を開発するための公的機能性評価システム機関を世界に先駆けて構築し、この日本発の領域を、学術的・産業的・社会的に発展させ世界に発信していくことにある。

#### 1. 平成 29 年度の研究目的

グループ1年目となる平成29年度は、以下の各項目を 重点項目として実施した。

#### (1) 未病評価技術センター構想

#### (1)-1 ヒト介入試験:動物実験を基盤として

食品は私たちが日常的に摂取するものである。複数の成 分から成り、それらが相加・相乗・拮抗作用するために機 能性は多岐に亘るという特徴を持つ。食品に期待される機 能性は、未病の維持・改善に働く効果であるため、本グル ープでは、未病評価という観点から食品機能性の評価技術 センター構想を描き、実現に向けて取り組んでいる。

食品には、長い食経験という歴史を持つものが多いが、 昨今の研究開発により、特定の成分の高含有作物や、特定 の成分を抽出したサプリメント食品等が普及し始めてい る。そのため、現在の食品の機能性評価においては安全性 の確認が必須条件であり、さらにその理解のためには作用 メカニズムを明らかにすることが不可欠であることから、 動物を対象とする実験を中心に進めてきた。一方で、2015 年に始まった食品の機能性表示制度においては、ヒトにお ける評価研究が求められることから、ヒトにおける食品機 能性評価の需要も高まってきた。現状では、ヒトにおいて は血液の生化学データ等、健康診断に用いられる手法で判 断せざるを得ないが、これら指標は病気を検出するための ものであり、病気の治癒を目的としない食品の機能性評価 においては、指標としての有効性が低い。食品機能性評価 のためには、より感度が高く応答がはやく、ヒトにも応用 可能な評価試験手法や指標が必要である。現在、動物から ヒトヘ、研究展開を図るための取り組みを進めており(図 1)、その成果を報告する。

#### <実施項目>

- (1)-1-1 自然薯ムカゴの機能性解析:動物実験
- (1)-1-2 自然薯ムカゴの機能性解析:ヒト介入試験
- (1)-1-3 メープルシロップの機能性解析:動物実験
- (1)-1-4 メープルシロップの機能性解析:ヒト介入

#### (1)-2 ヒト介入試験:未病改善食品の評価技術の開発 (未病マーカー)

われわれは動物実験やヒト試験を行い、トランスクリプ トーム解析等により食品の有効性や機能性についての評 価を行っているが、評価技術センターとして、新しい評価 系で新しいマーカーを探索することは、受託研究を進める うえで非常に重要である。そこで新たなマーカー候補探索 を目的とし、単一細胞のトランスクリプトーム解析技術、 並びに好中球活性測定技術、DNA マイクロアレイの新た なプラットフォームの導入を試みた。

#### <実施項目>

(1)-2-1 単一細胞トランスクリプトーム解析技術の(1)-2-2 好中球活性測定技術の導入

(1)-2-3 DNA マイクロアレイのプラットフォーム間 の比較



図1 機能性食品の評価技術センター構想

#### (2) 地域イノベーション戦略支援プログラム

平成25年8月より地域イノベーション戦略支援プログ ラムがスタートした。食品の機能性ならびに安全性の科学 的エビデンスに基づいて評価解析することを目的とし、ト ランスクリプトーム、エビジェノミクスを基礎においた食 品評価法の確立、世代伝播を可能とする食品成分の探索と 検証、生体内代謝を考慮した細胞形質転換試験法の開発を 主なテーマに研究を実施した。また、脳機能解析技術導入 の検討を実施するとともに、研究機器の共用化を進め、研 究技術の地域波及・還元を目指した(図2)。

#### <実施項目>

(2)-1 トランスクリプトーム、エピジェノミクスを基礎においた食品評価法の確立

(2)-2 生体ガス分析を利用した食品機能性の短期間評価系の確立

(2)-3 世代伝播を可能とする食品成分の探索と検証
 (2)-4 生体内代謝を考慮した細胞形質転換試験法の開発

(2)-5 脳機能解析法の導入:認知・行動試験(2)-6 機器の共用化



図2 地域イノベーション研究支援プログラム概要

#### (3) 受託・共同研究

企業からの受託、企業との共同研究に加え、文部科学省 「地域イノベーション戦略支援プログラム事業」、内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代 農林水産業創造技術」(管理法人:生研支援センター)、農 林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」 発展融合ステージ『北方圏紅藻類の資源開発とその健康機 能・素材特性を活かした次世代型機能性食品の創出』等の 国家プロジェクトにて研究コンソーシアムを形成し、産学 官連携の共同研究も推進した。

#### 2. 平成 29 年度の研究成果

- (1) 未病評価技術センター構想
- (1)-1 ヒト介入試験:動物実験を基盤として
- (1)-1-1 自然薯ムカゴの機能性解析:動物実験

県産品の自然薯ムカゴ(以下、ムカゴ)の生理機能を有 すると推定される成分の抽出を東京大学とともに行ない、 そのうち有色画分について高脂肪負荷未病モデルマウス を使用し実験を実施し、肝臓を対象とする DNA マイクロ アレイによる遺伝子発現解析を行った。二群間比較により 高脂肪の影響が改善する遺伝子を抽出し、パスウェイ解析 を行った結果、高脂肪摂取によって亢進するコレステロー ル生合成をムカゴ抽出物摂取群では低下させるように変 動していることが明らかとなった。また、ムカゴ抽出物摂 取群ではケトン体生合成パスウェイが亢進する方向に遺 伝子発現が変動した。したがって、ムカゴ抽出物は脂質負 荷時の脂質代謝異常を軽減する可能性が示唆された。試験 食の摂取から4週目に呼吸代謝測定装置を用いて、酸素消 費量および二酸化炭素排出量を測定し、呼吸商、エネルギ ー消費量、脂質および炭水化物消費量を算出した。その結 果、高脂肪ムカゴ抽出物摂取群では高脂肪群よりも活動期 の呼吸商が低下する傾向にあり、活動期の脂質消費量が多 くなった。

(1)-1-2 自然薯ムカゴの機能性解析:ヒト介入試験

ヒト介入試験は特定非営利活動法人環瀬戸内自然免疫 ネットワーク (NPO-LSIN) に依頼した。研究の種類は 2 群のランダム化クロスオーバー試験とした。また、試験自 体はオープンだが、測定者がブラインド化されている状態 で実施した。目的は日本原産の自然薯ムカゴが肝機能改善 効果を有するかを検証することで、自然薯ムカゴ含有食品 を2週間連続摂取前後のデータを蓄積し、質問紙調査、身 体検査、血液検査の結果および全血遺伝子発現解析を実施 した。研究対象者は同意取得時の満年齢が20歳以上75歳 未満の男女とした。自然薯ムカゴの摂取がヒトの体内にお いて何かしらの変化をもたらしていることを示すと考え られた。今後は、血中成分と変動遺伝子との相関分析や、 mRNAとmiRNAの統合解析などを組み合わせて解析を進 める。現在得られている分析結果をさらに詳細に解析する ことで、各々の試験食摂取がどのような影響を及ぼしてい るかを明らかにできると思われる。ヒトにおいて自然薯ム カゴ摂取の効果が認められれば、機能性発現に寄与する成 分の特定、作用メカニズム解明を目指す。

また、本研究では血液検査の肝機能マーカーのひとつで ある ALT が病気ではない「未病」の範囲に属する研究対 象者に限定し、その他の項目については治療を要する値を 示す方を除外した。そのため、身体の状態がこれまでの試 験と比較してより未病と言われる状態でそろっていたと 推察される。今回血液遺伝子発現解析で食品摂取によって 未病を改善するような変動を示す遺伝子が発見された場 合には、未病の指標となるバイオマーカーの候補になると 考えられる。

#### (1)-1-3 メープルシロップの機能性解析:動物実験

メープルシロップはその成分の多くが糖と水であり、微量のポリフェノール、ミネラル、オリゴ糖、アミノ酸等が 含まれている。カナダ産のメープルシロップよりポリフェ ノール等の微量成分を濃縮したメープルシロップ抽出物 (MSXH)を調製し、混餌によりマウスに投与する実験を 行った。摂取させた飼料は、エネルギー比で脂肪を 10%含 む通常脂肪食、45%含む高脂肪食、MSXH を 0.02%添加し た高脂肪食(0.02MSXH 食)と MSX を 0.05%添加した高 脂肪食(0.05MSXH 食)である。この飼料を 4 週間摂取さ せたマウスの肝臓のトランスクリプトーム解析を実施し たところ、高脂肪食摂取時においては、メープルシロップ 摂取量は多いほどよいということではなく、適度な量を摂 取することが重要であるということを示唆する結果を得、 論文にて成果を公表した。

#### (1)-1-4 メープルシロップの機能性解析:ヒト介入 試験

カナダのケベック・メーブル製品生産者協会(FPAQ) からの助成により、ヒトを対象とするメーブルシロップの 機能性評価を実施した。被験者 20 名に対し、試験食群と 対照食群の2 群に分け、各群試験食、対象食ともに 14 日 間に亘り摂取し、各群2週間のウォッシュアウト期間を設 けクロスオーバーによる試験を実施した。本試験より得ら れた血液のトランスクリプトーム結果より、メープルシロ ップ摂取によって変動する遺伝子が多く抽出されること が明らかになった。本研究により、血液のトランスクリプ トームは、長期的摂取時に起こる変化の兆候を捉えている 可能性が示された。

#### (1)-2 ヒト介入試験:未病改善食品の評価技術の開発 (未病マーカー)

#### (1)-2-1 単一細胞トランスクリプトーム解析技術の 開発と導入

血液を用いてトランスクリプトーム解析を行い、全体を 見た変化から食品の機能性を評価することも大切であり、 これまでに動物、ヒト試験でその有効性を評価してきた。 一方で、血液は液体成分である血漿、固形成分である赤血 球、白血球、血小板で構成されており、生体防御にかかわ る免疫担当細胞である白血球は、細胞のなかに顆粒を有す る好中球、好酸球、好塩基球、顆粒を持たないリンパ球、 単球とさらに細かく分類される。血液細胞全体から見えて きた食品の機能性が免疫系に影響した結果であれば、血液 細胞とりわけ白血球の1つ1つの変化も重要な情報となる。 また、食品に対する個々人の応答のブレを解消し、個々の 細胞について食品への応答の小さな変化を捉えるために は、細胞の単一細胞分離(シングルセル化)がトランスク リプトーム解析の高精度化に向けて必要となる。未病にお けるヒト血液トランスクリプトームの高精度な評価系を 確立するために、われわれはまずマウスの血液から白血球 を分離するための条件検討を行い、さらに、得られた白血 球サンプルからシングルセルの分離を試みた。複数の手法 による検討を重ねた結果、単一細胞のトランスクリプトー ム解析に適した条件を見出し、予備的な実家結果を得た。 今後、得られたデータの解析を進める。

#### (1)-2-2 好中球活性測定技術の導入

白血球のうち、好酸球と好塩基球はアレルギー反応に関

与しており、好中球に次いで多く存在するリンパ球は免疫 反応の中心的な役割を担っている。さらに、好中球に次ぐ 活発な貪食作用を有する単球は、体内に侵入してきた細菌 や不用な細胞を貪食する。好中球の活性化指標であるスー パーオキシド(02-・)産生とミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性を化学発光と蛍光という 2 種類の光の情報 に変換して検出する技術が確立されつつある。好中球は体 内に侵入してきた細菌を捕食して食胞内に取り込み、食胞 内に O2-・を放出して細菌を攻撃する。好中球が酸素から 直接作る O2-・は、それほど強力な活性酸素ではないが、 同時に好中球の顆粒から放出される MPO によって、過酸 化水素に塩素を付加して、強力な活性酸素種である次亜塩 素酸を産生する。食品の抗酸化作用や免疫系への効果を評 価するためには、好中球の活性化は重要な指標となると考 えられたため、この測定技術を有する浜松ホトニクス株式 会社との連携により、食品機能性評価のための好中球活性 測定技術導入の検討を開始した。本手法は、動物、ヒト試 験の双方において食品素材の新しい機能性評価法として 期待される。

#### (1)-2-3 DNA マイクロアレイのプラットフォーム間 の比較

DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析は、 そのスクリーニング手法としての有効性から普及が進み、 その解析技術も成熟の域に達しつつある。一方、DNA マ イクロアレイには、様々なプラットフォームが市販されて おり、それぞれのプラットフォームによって使い勝手や測 定結果に特徴があることが予想される。従って、研究の目 的に応じて、プラットフォームを適切に選択することが重 要だと考えられる。そこで、様々な研究課題に対して適切 な条件での測定が実施出来るよう基礎的なデータを収集 することを目的とし、同一の RNA サンプルを異なるプラ ットフォームで測定した結果を比較し、プラットフォーム による測定結果の特徴抽出を試みた。

#### (2) 地域イノベーション戦略支援プログラム

# (2)-1 トランスクリプトーム、エピジェノミクスを基礎においた食品評価法の確立

これまでのニュートリゲノミクス評価法から発展させ、 より科学的に信頼性が高く、実用的な食品の機能性・安全 性の評価法を確立した。また、これらの評価法の科学的基 盤を深めることを目的とし、エビジェネティクスによる遺 伝子発現調節機構に関する研究を行い、その理解を深めた。

表現型(病変、肥満等)に影響を与える食品を摂取させ たマウスについて、従来のトランスクリプトーム手法を用 いた転写産物(mRNA)の解析に加え、新たな指標として ヒストンの修飾や DNAのメチル化といった、遺伝子の変 異を伴わない転写の変化を検出するための解析を実施し た。また、これらの技術は日々進歩しており、その新たな 技術の取得、開発を並行して行っていくと同時にエビジェ ネティクスの機構解析にも貢献していく。これら一連の解 析から得られる膨大な情報を、バイオインフォマティクス 手法を用いて比較・検討し、新規指標を加えた解析の有用 性を検証した。

以上の取り組みを通じて、転写調節、代謝産物に係る解 析系を統合し、食品の摂取による表現型の変化に至る因果 関係の明確化が可能な食品評価法を確立した。確立した評 価法は、KISTEC(旧 KAST)で構築する評価技術センターに 導入し、利用企業による新たな機能性食品の開発に寄与す る。

具体的には、エビジェノミック解析手法として DNA メ チレーション解析技術の一つである MDB-seq、転写因子 やクロマチン因子のゲノム上での DNA 結合部位を網羅的 に解析する手法である ChIP-seq を研究室に導入した。 DNA-DNA 間の相互作用(染色体立体配座)解析の手法の 開発を終了し、これらの手法は、食品評価技術として導 入・実施されている。また、今年度において、組織切片に 対する FISH を用いた染色体高次構造形成の手法を改良し、 新たにより簡便なプローブ作成方法を開発した。エビジェ ネティクス解析の技術は日進月歩であり、それらの技術も さらなる最適化を目指し、常に使用可能な技術をアップデ ートし、より良い抗体を見出していく努力を常に並行して 行っている。また、次世代核酸塩基配列解析を用いた遺伝 子発現解析、エビジェネティクス解析の有効性について継 続的に検証している。

# (2)-2 生体ガス分析を利用した食品機能性の短期間評価系の確立

食品の機能性の一般的な評価系として、食品を実験動物 に長期間継続摂取させ、身体的変化を検出する方法がある。 この身体的変化は、摂取した食品に起因する僅かな代謝変 化の積み重ねによって引き起こされるが、既存の手法では 僅かな変化の初期段階を捉えることが困難であった。本研 究では、より初期に引き起こされる僅かな代謝変化を生体 ガス分析により検出することで、食品機能性の短期間評価 系を確立することを目指した。生体ガス分析を利用した本 短期間評価系の確立により、代謝変化を引き起こす食品素 材を対象としたスクリーニングの効率化が期待される。

#### (2)-3 世代伝播を可能とする食品成分の探索と検証

親から子へ継承される塩基配列以外の情報エピゲノム を制御することにより代謝改善効果を現す機能性ポリフ エノールを探索し、世代間の健康維持を促進する食品の開 発を行った。本プログラム開始前より、ゴマやブドウに含 まれるポリフェノールに対する肝臓のトランスクリプト ーム応答を解析し、その生体調節作用に関する総体的な知 見を得ていたが、この作用は親から子へと DNA 配列以外 の遺伝情報(エピゲノム)として継承されることが明らかに なりつつあった。そこで、エピゲノムの制御という観点か ら機能性成分の効果を再検討し、世代を越えた健康維持に 役立つ機能性成分の探索と作用機構の解明を目指した。

「短期間の食品ポリフェノール摂取による代謝制御機構の解析」

アスタキサンチン、黒豆ポリフェノール(カテキン重合

体)、湘南ゴールド皮抽出物をマウスに投与し、代謝ケージを用いて短期的な代謝応答を測定した。一部については 呼吸商、すなわち、糖質、脂質、たんぱく質のエネルギー 利用率に変化が観察された。

「食品ポリフェノールによるエビジェネティックな代謝 制御の解析と次世代健康指標の探索」

アルコール脂肪肝を誘導した雄マウスと通常雌を交配 した仔は代謝指標に変化が見られ、この変化は雄親へのレ スベラトロールの同時投与で解消された。雄親精子ゲノム 仔肝臓のゲノム DNAメチル化状態を解析し、対照群、ア ルコール群、アルコール+レスベラトロール群で親子で共 通に変動しているゲノム領域を抽出した。これらのゲノム 領域と相互作用している遺伝子プロモーター領域をデー タベースにより照合した。さらにそのプロモーター支配下 にある遺伝子群と、仔肝臓で発現変動した遺伝子群とを比 較し、代謝ストレスと食品ポリフェノールが染色体高次構 造に影響を与えるようなゲノム領域の候補を得た。

#### (2)-4 生体内代謝を考慮した細胞形質転換試験法 の開発

Bhas42 細胞形質転換試験は、簡便かつ高感度に食品添 加物等の化学物質の発がんイニシエーション、プロモーシ ョン活性を評価できる優れた評価系である。しかし、 Bhas42 細胞の代謝系は肝細胞とは異なっており、またそ の活性も非常に低いことから、代謝を受けることにより発 がん性を獲得する化学物質のイニシエーション、プロモー ション活性を正確に評価できない点が課題となっていた。 本研究テーマでは、①iPS 細胞誘導肝細胞等のヒト肝代謝 系を Bhas42 細胞培養系に加えることにより、化学物質の 代謝産物のプロモーション活性を評価できる Bhas42 試験 法を構築する。また、②新たに構築した評価法を用いて、 従来の評価法では検出できなかった,発がん性化学物質を 同定するとともに、③その発がんメカニズムの詳細な解析 を、ゲノミクス研究手法により行い、新しい評価系の有用 性を検証した。これらについては、KISTEC(旧 KAST)内の 委託試験等において活用する。新たな評価系の構築により、 化学物質の代謝産物の発がんリスクに関する安全性試験 の高感度かつ簡便な実施が期待される。

#### (2)-5 脳機能解析法の導入:認知・行動試験

食品の機能性成分が脳機能に与える影響を評価する為、 実験動物を用いた行動試験を導入した。実験動物を用いた 行動試験では認知、不安様行動をはじめとした様々な項目 の脳機能評価が可能である。食品の機能性成分摂取が脳機 能に及ぼす影響を評価するために、動物へのストレス負荷 が低いと考えられる測定手法を取り入れ、検討、精査を重 ねた。その結果、不安様行動、短期記憶や好奇心などの評 価系が確立された。

#### (2)-6 機器の共用化

実験室、動物室、機器・インフラ等の整備を行い、徐々 に共用化への展開を図った。5年間の活動を通し、食品機 能性評価における動物試験から作用メカニズム解明まで の一連の研究システムについて共用化体制を整えるに至 った。また、企業ニーズについてヒアリングを行い、機能 性表示やトクホ等の認定を目指すまでの専門人材や資金 のない中小企業等の利用を促進することを目標とした他、 大企業からのエビデンス検証のニーズも強いことから、そ れらへの協力も併せて実績を作りつつある。なお、一連の 食の評価には、ノウハウ・経験を要するため、利用する企 業や公設試担当者への指導も随時行っている。

#### (3) 受託·共同研究

企業からの受託、企業との共同研究に加え、文部科学省 「地域イノベーション戦略支援プログラム事業」、内閣府 戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代 農林水産業創造技術」(管理法人:生研支援センター)、農 林水産省「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業」 発展融合ステージ『北方圏紅藻類の資源開発とその健康機 能・素材特性を活かした次世代型機能性食品の創出』等の 国家プロジェクトにて研究コンソーシアムを形成し、産学 官連携の共同研究も推進した。

#### (4) その他

平成28年10月1日からJSPS先導的研究開発委員会「食

による生体恒常性維持の指標となる未病マーカーの探索 戦略」(委員長:阿部啓子)が発足した。未病マーカーの 開発研究には、本グループの研究員も従事し、全国の大学、 企業との連携により、最新のマーカー探索に向けての情報 共有、情報収取、開発研究を進めている。

平成 29 年度より、動物からヒトへ、研究のシームレス 化を図る目的で、神奈川県にキャンパスを持つ東海大学と の連携研究の取り組みを開始した。平成 30 年度にはヒト を対象とする試験を開始予定である(図 3)。



図3 動物からヒトへ研究のシームレス化

## ヒトを用いた自然薯ムカゴの生理的機能性評価

- パイロットスタディ

篠崎 文夏

#### 1. はじめに

現在の日本は老齢人口が高い超高齢化社会となった。人 は高齢になるに従い高血圧、糖尿病や肥満などの生活習慣 病のリスクが高まり、現に生活習慣病の人口およびその予 備軍とされる人口が増加している。生活習慣病人口が多く なると医療費が増大するなど将来的に国家的な危機を招 くと考えられる。また、人口の大部分を占めることになる 高齢者が、高齢であっても健康で質の高い生活をおくるこ とが大切である。そのために如何に健康を作るかが重要視 され、毎日の食事と健康との関係に注目が集まり、今日的 問題となっている肥満や高血圧などの生活習慣病を食事 によって改善または予防することが試みられている。生活 習慣病のリスク軽減効果などを有する機能性食品は健康 維持に有効とされ、現在では機能性を持つ新規食品とその 成分の発見・開発が盛んとなっている。

東洋医学の食療法は医食同源の理念に基づいており、食 を以って病を予防する、食を以って病を治すという。基本 的には栄養バランスのよい食事を適量摂取し、その中に身 体によいとされる食材を取りいれて健康を保つといった ものである。そういった古くから摂取されている身体に良 い食材は機能性食品としての有力候補である。

日本に現存するヤマノイモ類の中で自然薯は唯一の日 本原産種である。通常食べる根の部分は皮がうすいため、 皮ごと食べられることが多い。また、古来より滋養強壮な どに効果があるとされている。自然薯は根の部分の他に葉 の根元にできるムカゴも食用である(図1)。我々は自然薯 ムカゴに着目し、その生理的機能性を調べた。



### 1.1 自然薯ムカゴの栄養成分

生理的機能性を調べる前にまず、自然薯ムカゴの栄養成

分を測定した。自然薯ムカゴは根の部分と同様に皮ごと加 熱して食べることが多い。そのため、皮ごと加熱後凍結乾 燥して粉末とし、栄養成分を分析した。その結果、約70% が炭水化物、約9%がタンパク質で、その他にカロテンや ミネラルが含まれていた。また、ポリフェノールが含まれ、 抗酸化能が一般的な野菜と比較して高めであった。抗酸化 能が高い食品は機能性を有する可能性が高いことから、自 然薯ムカゴに生理機能性があると推測された。

#### 2 実験動物を用いた検証

自然薯ムカゴ粉末摂取の影響について高脂肪負荷によ り生活習慣病を模倣した未病モデルマウスを用いて調べ た。マウスは一週間馴化したのち3群に分け、それぞれに 通常脂肪餌、高脂肪餌(エネルギー比45%)、高脂肪餌に 自然薯ムカゴを5%混合した餌(ムカゴ餌)を投与し、4 週間飼育した。飼育期間中の餌と水は自由摂取とした。4 週間飼育後、採血および採材した。

4週間の高脂肪餌の摂取は通常脂肪餌群よりも体重を有 意に増加させた。しかし、高脂肪餌とムカゴ餌との比較で は体重に差はなかった。なお、飼育期間中の総摂取エネル ギーは各群間に差はなかった。血漿生化学成分分析では、 高脂肪餌群では血中肝機能マーカーの一種であるアラニ ンアミノトランスフェラーゼ(ALT)が通常脂肪餌群に比 べて上昇したが、ムカゴ餌群は高脂肪餌群よりも低く通常 脂肪餌群に近づく傾向であった<sup>1)</sup>。

採材した肝臓からは Total RNA を抽出し DNA マイクロ アレイ(Genechip®mouse genome 430 2.0, Affymetrix)を用 いて遺伝子発現を調べた。階層的クラスター解析の結果、 各群は異なったクラスターを形成しており、肝臓の遺伝子 発現傾向は各群で異なっていることがわかった。また、高 脂肪餌群とムカゴ餌群で比較し、どのような遺伝子が変動 しているかを調べたところ、脂質代謝関連遺伝子が変動し ており、4週間のムカゴ摂取は高脂肪負荷マウスの脂質代 謝に関与し、高脂肪負荷による脂質代謝の乱れを改善する ように遺伝子発現が変動していることが明らかとなった<sup>2)</sup>。

以上の結果を踏まえて、本研究では自然薯ムカゴの生理 的機能性をヒトで検証した。

#### 2. 実験と結果
# 2.1 方法 2.1.1 試験食の作製



図2 自然薯ムカゴ粉末

図3 試験食

ヒトに投与する自然薯ムカゴは神奈川県伊勢原市の株 式会社ファームいせはらより購入した。自然薯ムカゴは株 式会社グラートにて洗浄後、皮ごとスチーム加熱し凍結乾 燥を経て微粉末化された(図 2)。作製した自然薯ムカゴ粉 を用いてクッキータイプの焼菓子を作製し、試験食(自然 薯ムカゴ含有食品)とした。対象食は小麦を使ったクッキ ーとした(図 3)。試験食の作製はおかし工房しいの実に 依頼した。完成した試験食は微生物試験を行い、品質を確 認した後に使用した。

### 2.1.2 ヒト介入試験方法

ヒト介入試験は特定非営利活動法人環瀬戸内自然免疫 ネットワーク(NPO-LSIN)に依頼した。

研究の種類は 2 群のランダム化クロスオーバー試験と した。また、試験自体はオープンだが、測定者がブライン ド化されている状態で実施した。目的は日本原産の自然薯 ムカゴが肝機能改善効果を有するかを検証することで、図 4に示す方法で自然薯ムカゴ含有食品を 2 週間連続摂取 前後のデータを蓄積し、質問紙調査、身体検査、血液検査 の結果および全血遺伝子発現解析を実施した。研究対象者 は同意取得時の満年齢が20歳以上75歳未満の男女とした。 試験は次のように進められた。まず、試験開始前に試験参 加検討者への説明会を行い、同意を得られた試験参加検討 者へ問診と血液検査による研究対象者決定のためのスク リーニングを行い、スクリーニングされた被験者による試 験品および対照品摂取期間を各2週間、ウォッシュアウト 期間を2週間として、前期摂取開始前(摂取開始前)、前期 摂取終了後(摂取開始2週後)、後期摂取開始前(摂取開始4 週後)、後期摂取終了後(摂取開始6週後)に、評価項目の検 査を実施した。

主要評価項目は、肝機能マーカー(ALT、アスパラギン 酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、ガンマグルタミー ルトランスペプチターゼ(γ-GT)、アルカリホスファター ゼ(ALP)、乳酸脱水素酵素(LD)、総ビリルビン(T-Bil)) とし、他に身体検査、血液検査、全血遺伝子発現、腸内菌 叢、VAS アンケートを実施した。

倫理委員会の承認ののち、UMIN 登録 (ID: UMIN000029619) を行い、研究対象者を募集した。応募者 の中から、選択基準(試験参加に際し、事前に当該試験の 説明を受け、その内容が理解でき、試験参加に同意できる 者。同意取得時の満年齢が20歳以上の男女で、スクリー ニング時の血液検査値が次の範囲内の者。ALT(U/L):30~ 50, AST(U/L): ~ 50,  $\gamma$  -GT(U/L): ~ 100, ALP(U/L): ~ 499,  $LD(U/L): \sim 280$ , T-Bil(mg/dL):  $\sim 2.9$ , RBC(10<sup>4</sup>/microL):male  $400 \sim 599$ , female  $360 \sim 549$ , Hb(g/dL):male  $13.1 \sim 17.9$ , female 12.1~15.9, Ht(%):male 38.5~50.9, female 35.5~47.9, Cre(mg/dL):male ~1.09, female ~0.79, T-cho(mg/dL):140~ 219. TG(mg/dL): 30-199, LDL-Cho(mg/dL): 60-133, HDL-Cho(mg/dL): 40-119, FPG(mg/dL): ~109, HbA1c(%): ~5.9)) に合致する ALT が通常よりも高め、かつ、治療を 要しない、未病の状態に近いと考えられる方を選抜した。 また、スクリーニング時の血液検査で日本人間ドック学会 判定区分表の空腹時血糖、HbA1c、T-Cho、TG、LDL-Cho、 HDL-Cho、CRE、赤血球数、Hb、Ht に、C; 要経過観察・ 生活改善、 D1;要治療および D2;要精検に相当する項 目がある方、脂質異常症、または、糖尿病により治療、投 薬を受けている方、薬物または食品(特にヤマノイモ類、 小麦) に対しアレルギー症状を示す恐れのある方、試験担 当医師が試験参加に影響が有ると判断する医薬品および サプリメントを使用中の方、他の臨床試験に参加している、 もしくは参加予定の方、同意取得日より3ヶ月前までに 400mL以上、もしくは1ヵ月前までに 200mL以上の献血 を行った方、その他、試験担当医師により試験参加が不適 であると判断された方は除外とした。

### 2.2.結果



本試験の研究対象者募集に対する応募人数は189名

最終的に9名(男性7名,女性2名)となった。

VAS アンケートでは排便の様子(におい、しやすさ等) を伺ったが、特に摂取物との関連は見いだされなかった。 また排便回数にも影響しなかったが、腸内菌叢解析ではそ れぞれの試験食の摂取前後でわずかにだが増減する菌が 数種類あった。また、体脂肪や体重など身体検査項目に影 響は認められなかった。血中生化学成分では、試験食摂取 の影響が数項目で認められた。全血遺伝子発現では、それ ぞれの試験食の摂取前後で変動する遺伝子があった。それ らの中には両試験食で共通して変動するものもあったが、 試験食毎に異なるものの方が多く、それぞれに特徴がある ことがわかった(図 5)。



図 5 試験食摂取前後での変動遺伝子数 A:自然薯ムカゴ含有食,B:小麦含有食

### 3. 考察及び今後の展望

以上の結果は自然薯ムカゴの摂取がヒトの体内におい

て何かしらの変化をもたらしていることを示すと考えら れる。今後は、血中成分と変動遺伝子との相関分析や、 mRNAとmiRNAの統合解析などを組み合わせて解析を進 める。現在得られている分析結果をさらに詳細に解析する ことで、各々の試験食摂取がどのような影響を及ぼしてい るかを明らかにできると思われる。ヒトにおいて自然薯ム カゴ摂取の効果が認められれば、機能性発現に寄与する成 分の特定、作用メカニズム解明を目指す。

また、本研究では血液検査の肝機能マーカーのひとつで ある ALT が病気ではない「未病」の範囲に属する研究対 象者に限定し、その他の項目については治療を要する値を 示す方を除外した。そのため、身体の状態がこれまでの試 験と比較してより未病と言われる状態でそろっていたと 推察される。今回血液遺伝子発現解析で食品摂取によって 未病を改善するような変動を示す遺伝子が発見された場 合には、未病の指標となるバイオマーカーの候補になると 考えられる。

本研究は、総合科学技術・イノベーション会議の SIP(戦略的イノベーション創造プログラム)「次世代農林水産業 創造技術」、JSPS 科研費 JP26350177、および神奈川県委 託事業先進異分野融合プロジェクト研究・立案推進事業資 金を活用して行われました。

### 【参考文献】

- 1. 日本農芸化学会 2014 年度大会
- 2. 日本農芸化学会 2015 年度大会

### 食品機能性評価と未病マーカーの探索

メープルシロップを例にして

亀井飛鳥

### 1. はじめに

神奈川県立産業技術総合研究所では、これまでに食品機 能性研究として、主に動物を対象とする評価を実施してきた。 これらの研究成果や評価技術を応用し、現在はヒト試験、特 に未病という観点から評価する研究へと展開しつつある。昨 年度の報告では、神奈川県産の桑葉について、ヒトを対象と する機能性評価のモデルスタディについて紹介した。本稿で は、さらにその評価手法をブラッシュアップし、試験対象食品 をカナダ産メープルシロップとした研究について紹介する。

### 1.1 未病とその評価

未病は、病気ではないが、健康でもない状態であり、日本未 病システム学会では「自覚症状はないが検査では異常があ る状態」と「自覚症状はあるが検査では異常がない状態」とを 合わせたものと定義している。健康状態から病気に至るまで、 身体の中は徐々に変化するが、このわずかな変化、すなわち 病気に至る兆しを捉え、対策を講じることが病気の予防の一 つであると考えられる。このわずかな変化は、既存の手法で は検出が難しいため、未病を評価するにあたり新たなマーカ 一分子の探索が必須である。

### 1.2 未病と食品

1.1にて述べたように、未病は病気に至る前の状態である。 そのため、医薬に頼る段階ではないが、未病から病気に至る ことのないように講じるべき対策として、食品の機能性への期 待が高い。食品にはそれぞれに様々な機能があるが、その ほとんどにおいて、摂取することによる身体の中の変化はわ ずかである。しかし食品は日常的に摂取するものであるため、 そのわずかな変化が重要な意味を持つと考えられる。例えば わずかな変化の積み重ねにより大きな変化となる、あるいは わずかな変化を繰り返すことにより、病気への進行を遅らせ るといったことなどが期待される。

### 1.3 メープルシロップの成分

メープルシロップはサトウカエデなどの樹液を濃縮した甘味 料で、世界シェアの約8割がカナダ産のものである。メープル シロップにはグレードが存在する。収穫時期が早く、光透過率 の高いものからゴールデン(デリケートテイスト)、アンバー(リ ッチテイスト)、ダーク(ロバストテイスト)、ベリーダーク(ストロ ングテイスト)の4段階(旧基準ではエキストラライト、ライト、ミ ディアム、アンバー、ダークの5段階)に格付けされている<sup>(1)</sup> (http://maplefromcanada.jp/about/4\_index\_detail.php)。それ ぞれ、色や香りが少しずつ異なるが、いずれのグレードであっ てもメープルシロップは日常的に使用される甘味料である。メ ープルシロップの組成はスクロース66%、グルコース0.5%、フ ルクトース0.3%、約30%が水である。そのほかにポリフェノー ル<sup>(2,3,4)</sup>、ミネラル、アミノ酸等が微量含まれている。本研究室 では、この微量成分の健康機能性に着目した。まず、メープ ルシロップそのものの健康機能性評価を行い、メープルシロ ップ摂取によるラットの肝機能マーカー値の低下という実験結 果を得た<sup>(5)</sup>。続いて、メープルシロップ抽出物を用いて実験を 行った。メープルシロップを陰イオン交換カラムに通し、主成 分である糖をできるだけ除き、ポリフェノール等の微量成分を 濃縮したメープルシロップ抽出物を2種類調製し、ポリフェノー ル低含有量のものをMSX、高含有量のものをMSXHとした。 MSX については、マウスを対象とした肝臓のトランスクリプト ーム解析を行い、高脂肪食摂取により誘導される肝臓の炎症 を緩和する可能性を示唆する実験結果を得た<sup>(6)</sup>。

本稿では、MSXH の機能性評価研究について、また、メー プルシロップそのもののヒトにおける健康機能評価研究につ いて紹介する。

- 2. 方法と結果
- 2.1 方法
- 2.1.1 動物飼育

エネルギー比で脂肪を 10%含む通常脂肪食、45%含む高 脂肪食、MSXHを0.02%添加した高脂肪食(0.02MSXH食)と MSXを0.05%添加した高脂肪食(0.05MSXH食)を作成した。

C57BL/6J 雄性マウス 3 週齡を、環境順化のため 7 日間の 飼育後、4 群(n = 10)に分け、それぞれに通常脂肪食、高脂 肪食、0.02MSXH 食、0.05MSXH 食を 29 日間与えた。16 時 間絶食後、30 日目に解剖を行った(図 1)。体重増加や総摂 取エネルギー量などの4 群間の統計的な差は Tukey によって 検定を行い、p < 0.05 を統計的に有意であると判断した。



図1. 動物飼育スケジュール

2. 1. 2 DNA マイクロアレイ実験

解剖時に採取した肝臓(n = 10)から、total RNA を抽出後、 Affymetrix 社の定法に従って調製した。DNA マイクロアレイ は、約 4 万の遺伝子情報が搭載されている Gene Chip® Mouse Genome 430 2.0 Arrayを使用した。得られた画像デー タ(CEL files)を、「R」(http://cran.r-project.org/)を用いて Distribution Free Weighted method (DFW) のアルゴリズムに て正規化し、Rank products にて通常脂肪食群と高脂肪食群 の2群間比較、高脂肪食群と0.02MSXH食群の2群間比較、 および高脂肪食群と 0.05MSXH食群の2 群間比較、 の.02MSXH食群と 0.05MSXH食群の2 群間比較をそれぞれ 行い、False discovery rate(FDR) < 0.01を満たす遺伝子を顕 著な変動遺伝子と定義した。

### 2.1.3 ヒトを対象とする試験

試験食として、メープルシロップと対照シロップ(プラセボ) を準備し、新潟バイオリサーチセンターにてボランティアを募 集し、2週間2期(ウォッシュアウト2週間)の無作為化プラセ ボ対照クロスオーバー試験を実施した。対象は下記の通りと した。

- 1. BMI が 23 以上 30 未満であること
- 2. ALT が男性で 26U/L 以上、女性で 18U/L 以上の方
- 本食品ヒト試験への参加を志願し、文章により同意する能力を有する者
- スクリーニング検査を実施し、試験責任医師、試験担当医師が被験者として適切だと判断した者

主要アウトカム評価項目として、肝機能(ALT、AST、γ-GT、 ALP、LD、T-Bil)、副次アウトカム評価項目として、血液 RNA 解析、糞便(腸内)細菌叢解析を設定した。

### 2. 2. 1 生化学データ解析

通常脂肪食群、高脂肪食群、0.02MSXH 食群、0.05MSXH 食群の 4 群間で体重増加、総摂取エネルギー量に差はなか った。このことからマウスは MSXH 入りの餌を忌避せず食べ ることがわかった。

### 2. 2. 2 DNA マイクロアレイ解析

変動遺伝子について、各群における発現パターン別に 3 つに分類した。すなわち、高脂肪食群において通常脂肪食群 に比べて顕著な変動を示す遺伝子のうち、0.02MSXH 食群、 0.05MSXH 食群の両群ともに通常脂肪食群と差のないレベ ルを示すもの(pattern A)、0.02MSXH 食群では高脂肪食と同 じレベルで、0.05MSXH 食群は通常脂肪食群と差のないレベ ルを示すもの(pattern B)、0.02MSXH 食群では通常脂肪群と 差のないレベルを示すものの 0.05MSXH 食群では高脂肪食 と同様のレベルを示すもの(pattern C)である。各群に含まれ るプローブセット数を図 2 に示す。



図 2 発現パターン別変動プローブセット数 Kamei et al. Mol Nutr Food Res. (2017)より

2.2 結果



Kamei et al. Mol Nutr Food Res. (2017)より一部改編

ここから、pattern C に該当する遺伝子が最も多く存在する ことが明らかになった。また、変動遺伝子の特徴を抽出したと ころ、複数の栄養素代謝系に関連するものが多く含まれるこ とが明らかになった。図 3 に代謝マップとして示す。Pattern A に該当する遺伝子名あるいは代謝プロセス名を二重線で、 pattern B を太線で、pattern Cを点線にて囲んだ。また、各遺 伝子名あるいはプロセス名の右隣に 3 つの矢印を記載した。

ここから、解糖、脂肪酸の酸化については pattern A、 tricarboxylic acid (TCA)サイクルについては pattern B、その 他糖新生、コレステロール代謝、アミノ酸代謝、葉酸代謝につ いては pattern C に大別されることが明らかになった。特に pattern C のアミノ酸代謝に着目したところ、0.02MSXH 食群に おいて、グルタミン酸の利用に関わる変動、例えばグルタチ オン合成の亢進を示唆する変動が見出された。グルタチオン は酸化還元に関与するペプチドである。以上の結果より、遺 伝子発現レベルにおいて、高脂肪食摂取による生体内変化 を通常脂肪食に近づけることを目的とする場合の MSXH の 摂取量は 0.02%で十分であることが示された(7)。

### 2.2.3 ヒトを対象とする試験

ボランティア募集に対し41人の応募があったが、スクリー ニングの結果、20名が本試験への適合者であった。試験実 施期間中に付けていただいた生活日誌を調査した結果、除 外基準を上回る飲酒量に該当する方がおり、その方々は本 試験の解析対象から除外した。血液遺伝子発現解析の結果、 メープルシロップ摂取前後比較で変動する遺伝子と、プラセ ボ摂取前後比較で変動する遺伝子の共通性が高くなく、メー プルシロップ摂取に対する生体応答はプラセボ摂取時とは異 なることが示唆された(図4)。



図4 変動プローブセットの共通性

### 3. 考察と今後の展望

動物実験から、MSXH の摂取量によって変動する代謝プロ セスが異なることが明らかになり、さらにその作用は、大量摂 取である必要はないことが示された。すなわち、遺伝子発現 レベルにおいて、高脂肪食摂取による生体内変化を通常脂 防食に近づけることを目的とする場合の MSXH の摂取量は 0.02%で十分であった。MSXH は、ポリフェノール高含有とな るようにメープルシロップから抽出した画分である。ポリフェノ ールは、適量の摂取であれば様々な健康機能性を呈するこ とが報告されているが、一方で摂取量が多すぎる場合にはそ の作用は減弱あるいは悪化に働くことが報告されている。本 試験でも同様であり、高脂肪食摂取時においては、メープル シロップ摂取量は多いほどよいということではなく、適度な量 を摂取することが重要であるということを示唆する結果であっ た。

ヒトを対象とする試験においては、動物同様にメープルシロ ップ摂取によって変動する遺伝子が多く抽出されることが明ら かになった。本研究では、シロップの摂取期間は2週間と短く、 血液のトランスクリプトーム結果は、長期的摂取時に起こる変 化の兆候を捉えている可能性がある。これらの結果より、メー プルシロップ摂取は実験動物、ヒトのいずれであっても生体に 変化をもたらすことが示された。

このプロジェクトの一部は、ケベック・メープル製品生産者協 会(FPAQ)も参加しているプログラム「セクター開発への分野 別開発戦略コンポーネント 1」を通じた、ケベック州農業・漁 業・食品省(MAPAQ)からの援助、ならびに JSPS 科研費 JP26242007, JP15K12334、JP15K15076、JP15H02905、 JP26350177、JP15H05346、JP16K12734 の助成を受けて実 施されました。

#### 【参考文献】

- Perkins TD, van den Berg AK. Adv Food Nutr. Res., 56, 101-143. (2009)
- Li L, Seeram NP. J Agric Food Chem. 58, 11673-11679. (2010)
- Li L, Seeram NP. J Agric Food Chem. 59, 7708-7716. (2011).
- 4. Li L, Seeram NP. J Funct Foods. 3, 125-128 (2011)
- Watanabe Y, Kamei A, Shinozaki F, Ishijima T, Iida K, Nakai Y, Arai S, Abe K. *Biosci Biotechnol Biochem.* 75, 2408-2410 (2011)
- Kamei A, Watanabe Y, Shinozaki F, Yasuoka A, Kondo T, Ishijima T, Toyoda T, Arai S, Abe K. *Biosci Biotechnol Biochem.* 79, 1893-1897 (2015)
- Kamei, A., Watanabe, Y., Shinozaki, F., Yasuoka, A., Shimada, K., Kondo, K., Ishijima, T., Toyoda, T., Arai, S., Kondo, T., Abe, K. *Mol Nutr Food Res.* 61. (2017)

### 動物を対象とする脳機能評価系の確立に向けた検討

嶋田 耕育·野原 正勝·飯尾 将太·安岡 顕人

1. はじめに

近年、食品及び食品素材が持つ機能性に注目が集まって いる。食品には主に3つの機能性があるがとりわけ栄養機能、 感覚機能以外の三次機能(生体調節機能)としての食品非栄 養成分の持つ新たな機能性の探索、及びその効果検証が鋭 意進められている。現在、食品非栄養成分の多岐に亘る効 果が知られている。例として、食品に含まれる食品ポリフェノ ールであるカテキンは、脂肪吸収の阻害作用や抗酸化作用 などを有することが報告されている<sup>1</sup>。食品の機能性成分の 作用の特徴は、薬物(特に人工的な化合物)のように少数の 作用点に強く働きかけるのではなく、複数の作用点に対して 穏やかに働きかけることである。食品ポリフェノールの多くが 有する抗酸化作用は多面的な作用の一例である。

このように多様な効果を有し、穏やかな効果が見込まれる 食品の機能性成分は、今後社会問題として憂慮されている 超高齢化や深刻なストレス社会の分野においても、その効果 を期待されている。未曾有の高齢化社会の到来に伴い、ア ルツハイマー病などに代表される認知症疾患の推定有病率 の増加が危惧されている(図1)。一方高齢化因子以外におい て、全年代を通してストレス起因性の疾患も近年増加傾向に ある(図2)。益々進む高齢化社会において認知機能低下を予 防する効果、また深刻なストレス社会においてストレス軽減・ 予防効果を有する食品機能性素材の探索は、生活の質 (OOL)の向上を目指す上で重要な課題である。脳機能への 影響やストレス抑制効果といった機能性は、食品ポリフェノー ルの多面的作用のように複数の因子に対して働き、その効 果を発揮することが示唆される。しかしこれらの効果を検討 する為には細胞培養実験のみで評価することは困難である。 マウスやラットなどの実験動物を用いた評価系は全身に張り 巡らされた神経系や内分泌系、腸内細菌叢による代謝物等 を介した脳機能への作用やストレス応答などの複雑な機構 に対する機能性効果を検証する上で重要なツールである。



図1:超高齢化社会の到来とそれに伴う認知症有病率の推移



図2:ストレス関連性神経症性障害(躁鬱含む)の年次患者数推移 現在、薬物(医薬品など)を用いた脳機能への影響、ストレス 抑制効果への検討に用いられる動物実験系がいくつか存在 する。これらの動物実験系の多くは実験動物に対して一定の ストレス源を負荷し、結果としてストレス源が継続することに よるストレス起因性疾患を誘起する動物実験系である。この モデル動物に対してストレス予防もしくは、軽減効果が期待 される素材投与によりストレス起因性疾患の発症の程度を検 討し、投与素材の機能性が検証されている。したがって、スト レス予防・軽減効果や認知機能などの脳機能への影響につ いて実験動物を用いて検証する場合、モデル動物の作出が 必要不可欠である。しかしながら作用点の明確な医薬品や 化合物などの効果を推定する場合、これらモデル動物による 評価は有用であるが、作用点が明確ではなく緩やかな効果 が期待される食品機能性成分の評価においては必ずしも有 用とは限らない。その理由として、モデル動物作出時に使用 されるストレス負荷が過大である場合、食品機能性成分では その負荷に対抗できずその効果がマスクされてしまうことが 懸念される。一般的にモデル動物作出に用いられるストレス 源はトラウマティックな侵襲度の高いものが多く使用されてい る(図3)。またこのようなストレス負荷を長期間、複数回もしく



はいくつかのストレス負荷を複合的に実施する必要があるこ とから実験者への負担も大きく、さらに長期間継続することに よる操作のばらつきなども危惧される。従って、食品機能性 成分を用いた評価においては、操作によるばらつきを低減す るために、比較的短期間かつ簡便に実施可能で、トラウマテ ィックな侵襲度の低い負荷源を用いたモデル動物実験系を 用意することが望ましいと考えられる。



照及·熱・拘束ヘトレヘ 検討ヘトレヘ //// パロクロ //////// 1150001/////// 23:モデル動物作出に用いられる一般的なストレス源

以上のことから脳機能への影響やストレス抑制効果が期待 される食品や食品素材の探索を実施するためには、『食品の 機能性評価に適した抗ストレス効果、もしくは脳機能に対す る効果を検証する動物実験系の構築』が求められる。そこで、 本グループでは脳機能解析の一端として、一つにはその表 現型の解析を目的として、新たに行動試験の導入や飼育環 境の整備を行ってきた。また、食品の機能性評価に適したモ デル動物の構築についても現在検討を開始している。今後、 我々がこれまで蓄積してきた従来の遺伝子発現解析技術の 手法と行動学的解析を合わせた総合的な脳機能解析を実現 し、食品または機能性成分による脳機能への影響について 網羅的・多角的な評価を遂行することを目指している。

### 2. 実験と結果

### 2.1 行動学試験の導入





1-1オープンフィールドテスト





2.Y 迷路試験

③新規物体認識試験図4: 行動試験の導入

脳機能の表現型の解析方法として、マウスを用いた行動学 的解析を挙げることができる。本グループにおいては、食品 の機能性成分が脳機能に与える影響を評価する目的として 数種類の行動解析技術を導入している。食品の機能性成分 による脳機能への効果についても、複数の作用点に対して 緩やかに働きかける多面的作用を示すものであると想定さ

れる。つまり脳機能の評価においても単独の行動試験項目 についての評価のみではなく、複数の行動試験による総合 的な行動指標の評価をすることが必要と考えている。複数の 行動指標を評価する為には行動試験の先行経験のないマウ スを用いて各行動試験を実施し、試験毎にマウスを用意する 必要がある。我々はマウスを用いた食品機能成分による脳 機能評価は、脳機能に対して影響しうる素材を探索するため の一次スクリーニングとしての運用も想定している。したがっ て、多くの素材に対して網羅的に検討し、さらに、効率的に評 価することが必要と考えている。以上のことから1つの素材 に対して行動試験毎にマウスを準備する大規模な評価より むしろ、同個体のマウスを用いて様々な項目の行動試験を 複数実施する評価系を確立することが望ましいと考えている。 複数の行動試験による脳機能を横断的に評価するために、 既存の様々な行動試験項目からトラウマティックな侵襲度の 低い試験を選択する必要がある。トラウマティックな侵襲度 の低い試験は別の行動試験に及ぼす影響も低いと考えられ る。これまで本グループで導入した主な行動試験は①マウス の情動行動や不安様行動の観察に用いられているオープン フィールドテスト、高架式十字迷路試験、②マウスの自発的 な行動量と空間作業記憶(自発的交替行動)の評価に用いら れるY迷路試験、③新規物質への好奇心を検討する新規物 体認識試験、④マウスの社会性行動の観察に用いられる社 会的相互作用テストなどを導入している(図 4)。これらの行動 試験は、マウスによる一般的な認知・記憶試験の機能評価 に使用される場所課題試験、モーリス水迷路、受動回避試 験のようにある種の報酬系、罰刺激を加えることなく、マウス 自身の自発行動の測定を行うものであることから非常にトラ ウマティックな侵襲性が低くかつ、多くの情報を得ることがで きる試験である。現在、行動試験の導入は完了し、予備検討 を重ねた結果、運用に使用できる水準に達している。したが って、同一個体に対して複数組み合わせて実施することが可 能であり、同一個体から多くの行動指標を得ることができる 環境が整った。



高い照度下で飼育したマウス 一般的な照度下で飼育したマウス 図5:飼育環境の違いによる行動様式(オープンフィールドテスト)の変化 2.2 試験環境の整備

行動試験を実施するにあたりマウスの飼育環境(温度・湿 度条件、照度、室内騒音度など)が大きく試験結果に影響を 及ぼすことが報告されている<sup>2,3</sup>。食品の機能性成分による行 動様式へのわずかな影響をも精査する必要があるため、安 定した飼育環境の維持は非常に重要であると考えられる。飼 育環境がどのように行動試験に影響するのかを検討するた め、異なる照度下で飼育したマウスを用い、オープンフィール ドテストを実施した結果、飼育環境の違いが行動様式に対し て影響を及ぼすことを確認した(図 5)。現在、マウスの飼育環 境について、全ての飼育ケージ内の照度を一定に保つため に適宜照度を確認し飼育環境の整備を進めている。その他、 マウス飼育施設の環境(温度、湿度、室内騒音度など)につ いても全ての飼育マウスにおいて一定となるように適宜飼育 室内の環境測定を実施し、環境整備を務めている。

### 2.3 負荷動物モデル構築の検討

食品による脳機能への影響やストレス抑制効果といった機 能性評価を実施するにあたり、動物実験を用いた評価系は 重要なツールである。一般的にマウスを用いて脳機能を評価 する方法として、一定のストレス負荷を与えたモデル動物を 用いた方法が挙げられる。モデル動物に与える様々なストレ ス負荷によってマウスなどの実験動物の行動様式が変化す ることが知られている4。本グループでは『食品による脳機能 性評価に適したモデル動物』の作出を目指しており、いくつ かの負荷源を用いてマウスの行動解析を実施して最適な方 法の検討を開始している。求められるモデル動物は、トラウ マティックな侵襲度が低い負荷源であるが、短期の負荷によ って行動様式の表現型が認められるモデル動物である。 我々はまず、トラウマティックな侵襲度の低い負荷源を短期 間マウスに負荷し、行動様式がどのように変化するかを検討 するために行動解析を実施した。負荷強度の異なる2つの負 荷源を用い、負荷した群(強、弱)と負荷しない群について行 動学的試験の一つである Y 字迷路試験を実施した。結果、 負荷の程度に従って Y 字迷路内での行動回数に各群間で 有意な差が認められた。現在、行動試験による評価をいくつ かの侵襲性の低い負荷源を用いて実施しており、食品の脳 機能評価に適した負荷源及び条件の検討を重ねている。

### 3. 考察及び今後の展望

食品機能性成分は、医薬品や化合物のように治療効果を 期待し服用するものではなく、食品または食材として日々の 食生活に取り入れることで結果的に抑制効果や緩和作用を 期待できるものである。このような効果を評価するためには モデル動物を用いた評価系の樹立が必要である。我々はま ずトラウマティックな侵襲度の低い行動試験の導入を試み、 同一個体での複数の行動試験による評価系を確立した。ま た、食品による脳機能への僅かな効果についても検証する 必要があることから行動試験に影響を与える飼育条件及び 飼育環境の整備に尽力した。安定した行動試験データを得 るための整備は概ね整いつつあり、現在は『食品による脳機 能性評価に適したモデル動物』の作成に取り組んでいる。 "医薬薬"とは異なる"食品の機能性成分"の脳機能効果を 評価するためには、トラウマティックな侵襲度の低い負荷が 好ましく、いわゆる"ストレス未病モデル"のような動物モデル が評価に向け有用ではないかと想定される。"ストレス未病 モデル"とは、ストレス起因性疾患と健常の間のグレーゾーン に位置し、一見正常かのように見られるモデルである。この ようなモデル動物を用いて食品の機能性成分による緩和や

抑制効果を検討することは脳機能に対して効果が期待され る素材のスクリーニングだけでなく、その機能メカニズムにつ いても検討することが可能になることが期待される。我々は 比較的トラウマティックな侵襲度の低い短期間の負荷条件を 用いて負荷の有無やその程度の違いによってマウスの行動 様式が変化することを見出しており、このモデル動物が食品 の脳機能性評価に応用できるのではないかと期待し、鋭意 研究を進めている。今後はモデル動物を用いて、脳機能へ の効果が期待される食品機能性素材を投与することで行動 フェノタイプもしくは遺伝子発現の変化を緩和、改善し得るか などの機能メカニズムについても順次検討を開始する予定で ある。

### 謝辞

本研究(の一部)は,総合科学技術・イノベーション会議のSI P(戦略的イノベーション創造プログラム)「次世代農林水産 業創造技術」及び、科学研究費助成事業・挑戦萌芽「孤独ス トレスによる脳トランスクリプトーム失調とその食品三次機能 成分による予防」によって実施されました。

### 【参考文献】

1. Bose M, Lambert JD, Ju J, Reuhl KR, Shapses SA, Yang CS., *The Journal of Nutrition.*, 133, 9 (2008).

 ED. Kemble and MJ. Goblirsch, *The Psychological Record.*, 47, 167-174 (1997)

3. F.J Martin-Arenas and C.O.Pintado, *Proceedings of Measuring Behavior.*, August 27-29, (2014)

4. Jessica L. Ihne, Paul J. Fitzgerald, Kathryn R. Hefner1, and Andrew Holmes, *Neuropharmacology.*, 62, 464-473 (2012)

### 食品機能性評価のための

### 新規マーカー検出手法の開発と検討

野原 正勝、安岡 顕人、嶋田 耕育、亀井 飛鳥、篠崎 文夏

### 1. はじめに

われわれは動物実験やヒト試験を行い、トランスクリプ トーム解析等により食品の有効性や機能性についての評 価を行っているが、評価センターとして、新しい評価系で 新しいマーカーを探索することは、受託研究を進めるうえ で非常に重要である。

### 1.1 トランスクリプトーム解析の現状

マウスやラットを用いた研究では、脳や肝臓といった組 織や臓器単位で材料採取を行い、これらの組織や臓器をサ ンプルにしてデータを得ることが一般的である。そして、 脳や肝臓といった組織や臓器は1 種類の細胞のみで構成 されているのではなく、役割の異なる複数の種類の細胞が 集まってできている(図1)。したがって、これらの組織 や臓器をサンプルとして行われるトランスクリプトーム 解析は、平均化されたデータを抽出して全体の変化を評価 していることになる。一方ヒト試験の場合、ヒトから組織 や臓器を採取することは非常に困難であるが、血液を採取 することは比較的容易であり(図2)、ヒト試験を行う際 には、血液をサンプルとしてトランスクリプトーム解析を 行い評価する。

### 1.2 血液の組成について

血液は液体成分である血漿、固形成分である赤血球、白 血球、血小板で構成されており、生体防御にかかわる免疫 担当細胞である白血球は、細胞のなかに顆粒を有する好中 球、好酸球、好塩基球、顆粒を持たないリンパ球、単球と さらに細かく分類される(表 1)。好中球は白血球のうち 最も多く存在し、体内に侵入した細菌を攻撃して貪食する 機能を有している。また、好酸球と好塩基球はアレルギー 反応に関与しており、好中球に次いで多く存在するリンパ 球は免疫反応の中心的な役割を担っている。さらに、好中 球に次ぐ活発な貪食作用を有する単球は、体内に侵入して きた細菌や不用な細胞を貪食する。このように、他の組織 や臓器と同様に、血液はそれぞれが別々の役割を担ってい る複数の種類の細胞で構成されており、複数種類の細胞の 集合である血液を用いてトランスクリプトーム解析を行 うと、組織・臓器で行う際と同様に、血液においても平均 化されたデータを抽出して全体の変化を評価することに なる。





図2 ヒトにおいて用いることが容易なサンプル

表1 血球の分類とヒトにおける正常値 [看護 ri	00!, 血液の仕
組みとはたらき-血液の流れから理解する(5)	「血球の種類」
(https://www.kango-roo.com/sn/k/view/1845)	) を基に作成]

分類 血小板			正常値	Contraction of the	
			15~40 万/mm <sup>3</sup>	1	
白血球		好中球	白血球のうち 30~70%	D	
	顆粒球	好酸球	1~6%		
		好塩基球	0~3%	$   0.5 \sim 1$	
	115 1197-4	Tリンパ球	20 400/	mm³ رحل	
		リンハ球	Bリンパ球	30~40%	
	単球マクロファージ		3~10%	IJ	
赤血球		370~570 万/mm <sup>3</sup>			

### 1.3 トランスクリプトーム解析の高精度化

血液を用いてトランスクリプトーム解析を行い、全体を 見た変化から食品の機能性を評価することも大切である。 一方で、血液細胞全体から見えてきた食品の機能性が免疫 系に影響した結果であれば、血液細胞とりわけ白血球の1 つ1つの変化も重要な情報となる。また、食品に対する 個々人の応答のブレを解消し、個々の細胞について食品へ の応答の小さな変化を捉えるためには、細胞の単一細胞分 離(シングルセル化)がトランスクリプトーム解析の高精 度化に向けて必要となる。

### 1. 4 好中球活性測定

トランスクリプトーム解析の高精度化に加えて、われわれは生体防御にかかわる免疫担当細胞である白血球に着目し、他社との連携で白血球のうち最も多く存在する好中球の活性化を測る手法の検討を行っている。

好中球の活性化指標であるスーパーオキシド(O<sub>2</sub>·)産 生とミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性を化学発光と 蛍光という2種類の光の情報に変換して検出する技術が 確立されている<sup>1</sup>。

好中球は体内に侵入してきた細菌を捕食して食胞内に 取り込み、食胞内に O<sub>2</sub>・を放出して細菌を攻撃する。好中 球が酸素から直接作る O<sub>2</sub>・は、それほど強力な活性酸素で はないが、同時に好中球の顆粒から放出される MPO によ って、過酸化水素に塩素を付加して、強力な活性酸素種で ある次亜塩素酸を産生する。

食品の抗酸化作用や免疫系への効果を評価するために は、好中球の活性化は重要な指標となると考えられる。

本研究では、生体防御にかかわる免疫担当細胞である白 血球に着目し、未病におけるヒト血液トランスクリプトー ムの高精度な評価系を確立するために、われわれはまずマ ウスの血液から白血球を分離するための条件検討を行い、 さらに、得られた白血球サンプルからシングルセルの分離 を試みた。そして、好中球活性については、新たな測定手 法の導入を試みた。

### 2. 実験と結果

本研究の一番の特徴は、ヒト試験を想定し、採取した血液を RNA、タンパク質や細胞を安定的に保存することができる細胞 保存試薬と混和してサンプル処理を行っていることである。

採血から塩基配列解析用のサンプル調製までの流れは次 に示すとおりである。

- ① 採血し、血液を細胞保存液と混和
- ② 血液からの白血球分離
- ③ 単一細胞分離装置による単一白血球の分離
- ④ 顕微鏡観察による細胞分離の確認
- ⑤ 塩基配列解析用サンプルの調製
- 2.1 血液からの白血球分離

まず、本研究の特徴である細胞保存試薬と混和した血液 から白血球を分離するための条件検討を行った。

表1に示したように、白血球数は血液1 mm<sup>3</sup>あたり5 千から1万個であるのに対して、その数の400倍から1000 倍近くの赤血球が血液中には存在している。白血球をター ゲットにしてシングルセル化を行う場合、この赤血球の多 さが問題となるため、血液から赤血球を取り除き白血球を 分離する必要がある。

マウスから採取した血液を RNA、タンパク質や細胞を 安定的に保存可能な細胞保存試薬と混和した。この血液を 材料として赤血球を凝集させて白血球と分離する試薬(赤 血球凝集試薬)と混和、または細胞の密度の違いによって 分離する試薬(密度勾配分離試薬)に重層して遠心分離を 行い、血液からの白血球分離を試みた。赤血球凝集試薬で 得られた細胞懸濁液には白血球のほかに多くの赤血球や 血小板が認められ、白血球のみを分離することができなか った。また密度勾配分離試薬では赤血球の層と白血球の層 が分離せず、白血球のみを分離することができなかった。 この2系統の試薬では白血球を分離することができなかった。 この2系統の試薬では白血球を分離することができなか ったため、次いで、細胞表面の構造の違いを利用して赤血 球を破裂させる溶血試薬を用いて白血球分離を検討した 結果、細胞保存試薬と混和した血液から白血球を分離する ことができた(図4)。



図 4 溶血試薬を用いた血液からの白血球分離の結果。採血した血液では多くの赤血球に囲まれた中にわずかな白血球が認められるが、溶血試薬を加えることで赤血球はなくなり、白血球のみとなった。

### 2.2 白血球の単一細胞分離

次いで、確立した白血球分離法で得られた細胞懸濁液を 材料として、流路分離型の単一細胞分離装置による白血球 のシングルセル化を行った。

単一細胞分離装置はシングルセル遺伝子解析のための 自動化システムであり、細胞のシングルセル化から塩基配 列解析用サンプルの調製を行うことができる。この装置は シングルセル研究には欠かせない重要なアイテムとなっ ている。単一細胞分離装置を用いた研究は、腫瘍学、神経 学、免疫学、遺伝性疾患などのとりわけヒトの疾病にかか わる分野において多く報告されている。しかしながら、食 品の機能性について、単一細胞解析を用いた研究は現在報 告されていない。

単一細胞 複数の細胞 生細胞の割合 死細胞 細胞なし 7 67.7 1回目 66 1 23 2回目 75 8 10 11 69.8 平均 70.5 4.5 16.5 9.0 68.8

表2 白血球の単一細胞補足率

今回使用した単一細胞分離装置では、細胞サンプルを流 すと個々の細胞が 96 個の小さな部屋(チャンバー)を通 り、それぞれのチャンバーに1個1個の細胞が留まる仕組 みとなっている。細胞分離後の顕微鏡観察によって捕捉率 を算出した結果、およそ 70%の単一細胞捕捉率であった (表 2)。

次に塩基配列解析用のサンブルを調製すると、細胞のあるチャンバーからは細胞由来の DNA のピークが認められたのに対して、細胞のないチャンバーからは、DNA のピークは認められなかった(図 5)。



図5細胞由来DNAの確認

### 3. 考察及び今後の展望

本研究の特徴である細胞保存試薬と混和した血液から 白血球を分離する方法を確立し、さらにこの細胞懸濁液を 用いて高い捕捉率での単一細胞分離を実現した。

今後は細胞1つ1つの情報を取得し、ヒト試験への実用 化に向けて、普遍的な未病マーカーの選定や細胞を安定に 保存できる期間の検討を行う予定である。また、好中球活 性の測定については新規手法の導入を試み、現在、データ を蓄積しつつある。今後、解析を進め、新たなマーカーと しての可能性を探る。

### 4. 謝辞

本研究の一部は、文部科学省「地域イノベーション戦略支援プログラム事業」、内閣府戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」(管理法人:生研支援センター)により実施されました。また、好中球活性測定については、内閣府 SIP「次世代機能性農林水産物・食品の開発」コンソーシアム間の物品等の提供に関して浜松ホトニクス株式会社からの装置の貸与をもって実施され、同中央研究所 數村公子氏のご指導、ご助言をいただきました。心より感謝申し上げます。

#### 【参考文献】

 Y. Kobayashi, H. Inagawa, C. Kohchi, K. Kazumura, H. Tsuchiya, T. Miwa, K. Okazaki, GI. Soma, *PLoS One*, 13, e0195008 (2018).

### 食品機能性成分によるエピゲノム制御を基盤とした

### 世代間健康評価系の開発

安岡 顕人、嶋田 耕育、近藤 隆

1. はじめに

DNA メチル化やヒストン修飾といった遺伝子のエピジェネテ ィック修飾は、遺伝子発現の基本メカニズムを担うとともに、 親が受けた環境要因を子に伝える機構でもある。疫学的には、 母親や父親の栄養状態が出生児の健康に影響することがよ く知られている。母親の場合はエピジェネティックな要因だけ でなく胎内環境も大きな要因となるが、父親の場合、精子の みが次世代に受け継がれるため、よりエピジェネティックな要 因の寄与が大きいと考えられる。我々は、父親世代での代謝 ストレスが食品ポリフェノールの同時摂取により緩和され、さ らにこの現象が仔世代にも受け継がれるということを見出した。 本研究では、この現象のエピジェネティックな要因を詳細に解 析することにより、世代を通じて健康を維持するために重要な エピジェネティック修飾を特定し、健康評価系として確立する ことを目的とする。

### 1.1 本研究の概要

糖質、脂質、アルコールの過剰摂取は代謝系にストレスを 与え、肥満や血管系疾患を起こすー要因となっている。最近、 このような代謝ストレスがエピゲノムを変化させ、次世代の健 康に影響を与えていることが示されつつある。これに対して、 レスベラトロールなど一部の食品ポリフェノールにはこのよう な代謝ストレスを軽減する作用があることが知られている。 我々はアルコール性脂肪肝を誘導した雄マウスと、通常の雌 マウスを交配した仔は、通常両親の仔に較べて体重が重く、 肝トランスクリプトームにも差異が見られることを見いだした。 さらにこの差異が、雄親へのレスベラトロールの同時投与で 解消されることを確かめた。雄親精子と仔肝臓のメチル化修 飾とヒストン修飾を解析したところ、対照群、アルコール群、ア ルコール+レスベラトロール群との間に差異が観察された。本 研究は食品ポリフェノールによる代謝ストレスの緩和過程に おけるエピゲノム修飾の全体像を理解する基盤となると考え られる。

- 1.2 材料と方法
- 1.2.1 動物飼育

全ての動物飼育は、温度(25°C)・照明の点灯時間 (8:00-20:00(day)、20:00-8:00(night))・湿度(35-40%)を調節 した飼育室にて行った。5 週齡の C3H/HeN 雄マウスは CE-2 の固形餌と純水を自由に摂食させながら1 週間環境に慣れさ せた。6 週齡の時点で群の平均体重が近似するように3 群に 分け、Lieber のエタノール非含有食(C 群、n=17)、Lieber のエ タノール含有食(E 群、n=12)、73 mg/L の RSV を含む Lieber のエタノール含有食(ER 群、n=13)をそれぞれ 5 週間ペアフィ ードした。5 週間の給餌後、各群内で平均体重が揃うように半 分に分け、一方からは遊走精子を採取し、もう一方は正常な 8 週齡の C3H/HeN 雌マウスと8 日間交配させた。妊娠した雌 マウスを個別ケージに移し、CE-2 の固形餌と純水を自由に摂 取出来る状態で飼育した。得られた仔マウスは 3 週齡の時点 で解剖して血清・肝臓を採取した。

1.2.3 染色体免疫沈降シークエンシング

雄親の精巣、精巣上体、遊走精子、仔の肝臓を採取し、プ ロテーゼ阻害剤を含む PBS 中(PBS-I)でホモゲナイズし、組織 を遠心分離し、1%ホルマリンを含む PBS で固定し、PBS-Iで3 回洗浄し、-80°Cで保存した。界面活性剤中で450bp に超音波 断片化し、抗 RXR 抗体あるいは抗修飾ヒストン抗体を使って 精製した。得られた DNA を再度 150bp に断片化したのち、 SMART ChIP-Seq キットによりライブラリーとし、次世代シーク エンサーで解析した。C, E, ER 群の親精子、仔肝臓それぞれ についてリード長 150 bp、4000 万リードのデータを得た。デー タを SraTailor

(http://www.devbio.med.kyushu-u.ac.jp/sra\_tailor/)[39]により、 マウスリファレンスゲノム mm9 ヘマップし、MACS によりピー クデータを得た。東京大学応用生命科学科 岡田准教授作製 のR-script により、MACS ピークデータの染色体座標を比較し、 重複しているものを選択した。

2. 結果と考察

2.1 精子染色体と肝臓染色体におけるシトシンメ
 チル化とヒストン修飾の分布

これまでの研究で得たシトシンメチル化の分布状態を、今回 得たヒストン修飾の分布状態と比較した。図1に仔肝臓で発 現変動した Igfbp2 の近辺のデータを示す。



図1 FF欄でC>E<ERという発現変動を示した lgfbp4違伝子付近のメチル化とヒストン修飾の分布 プロモーターとの相互作用が検出されている領域(赤枠)にお いて、父精子と仔肝臓でメチル化の変動がみられたが、ヒスト ンH3k27ac 修飾は検出されなかった。一方、プロモーター領 域にはヒストン H3k27ac 修飾が検出されている。今後は C、E、 ER 群間でのヒストン H3k27ac 修飾の違いを検討する必要が ある。

2.2 精巣染色体と精子染色体のヒストン修飾の比 較

精巣から精子が形成される過程でヒストン H3k27ac 修飾が どのように変化するかを予備的に検討した。



図2 精巣、輸精管内精子、精子染色体のヒストンH3k27ac修飾の比較 図 2 に示すように、輸精管精子と精子のピークが比較的良く 一致した(精子の 85%)。一方、精巣と輸精管精子あるいは、 精巣と精子を比較した場合はピークの一致が輸精管精子あ るいは精子に対して 50%以下であった。輸精管精子は、精子 に比べてより高い効率で染色体免疫沈降サンプルを採取す ることが可能なため、輸精管精子を用いた解析を進める。今 後は、父輸精管精子と仔肝臓の C、E、ER 群間でヒストン H3k27ac、H3k27me3、H3k4m3、H3k4m1 修飾を解析し、シト シンメチル化やトランスクリプトームとの関係を探ってゆく。 この研究は、科学研究費補助金 15H02905 平成 27-29 年度 基盤研究(B)「食品非栄養性成分によるエピジェネティクスを 介した子孫の健康維持」の助成により行われた。

### 【参考文献、発表】

chr11: 98913575

1) Dietary flavonoids activate the constitutive androstane receptor (CAR). Yao R, Yasuoka A, Kamei A, Kitagawa Y, Tateishi N, Tsuruoka N, Kiso Y, Sueyoshi T, Negishi M, Misaka T, Abe K. J Agric Food Chem. 2010 Feb 24;58(4):2168-73. 2) Polyphenols in alcoholic beverages activating constitutive androstane receptor CAR. Yao R, Yasuoka A, Kamei A, Kitagawa Y, Rogi T, Taieishi N, Tsuruoka N, Kiso Y, Misaka T, Abe K. Biosci Biotechnol Biochem. 2011;75(8):1635-7. 3) Nuclear receptor-mediated alleviation of alcoholic fatty liver by polyphenols contained in alcoholic beverages. Yao R, Yasuoka A, Kamei A, Ushiama S, Kitagawa Y, Rogi T, Shibata H, Abe K, Misaka T. PLoS One. 2014 Feb 3;9(2):e8714. 4) Transgenerational effect of ethanol induced metabolic stress and its alleviation by dietary polyphenol. A. Yasuoka, A. Kamei, F. Shinozaki, K. Shimada, K. Kondo, T. Kondo, K. Abe. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Impact for Biology and Society28-30 August 2017, ETH Zürich, Switzerland

### 生体ガス分析を利用した食品機能性の短期間評価系の確立

豊田集

### 1. はじめに

### 1.1 背景

食品の機能性の一般的な評価系として、食品を実験動物 に長期間継続摂取させ、身体的変化を検出する方法がある。 この身体的変化は、摂取した食品に起因する僅かな代謝変 化の積み重ねによって引き起こされるが、既存の手法では僅 かな変化の初期段階を捉えることが困難であった。本研究で は、より初期に引き起こされる僅かな代謝変化を生体ガス分 析により検出することで、食品機能性の短期間評価系を確立 することを目指した。

### 1.2 代謝変化を検出するための生体ガス分析の 利用

本稿で扱う生体ガスとは、呼気に排出される二酸化炭素 (CO<sub>2</sub>) と吸気から消費される酸素 (O<sub>2</sub>) を指す。これらは、 生体内で糖質、脂質、タンパク質などを基質として代謝する 際に、産生もしくは消費される。CO<sub>2</sub> 量と O<sub>2</sub> 量のそれぞれに 係数を乗じて足した値をエネルギー消費量、CO<sub>2</sub> 量を O<sub>2</sub> 量 で除した値を呼吸商と定義する。

呼吸商は、代謝した基質の種類によって異なる。基質として 糖質を代謝した場合は 1.0 に近くなり、脂質を代謝した場合 は0.7に近くなる。呼吸商を本評価系で活用する方法として、 脂質代謝促進作用を持つ食品を例に挙げる。食品 A をマウ スに 8 週間継続摂取させた時に、摂取開始から 7 週目で体 脂肪率が食品 A の摂取により有意に低下したと仮定する。 そのような場合、摂取開始直後などの体脂肪率に有意差が ない時期であっても、食品 A の摂取で脂質代謝が促進され るなどの代謝変化が引き起こされている。そこで、摂取開始 直後に呼吸商を測定すると、脂質を代謝したことを表す 0.7 に近い値が測定されることが推測される。このように、呼吸 商を変化させる食品素材を探索することで、いずれ身体的 変化を引き起こす候補を選び出すことが可能になる。

- 2 方法および結果
- 2.1 方法

#### 2.1.1 予備実験

6 週齢の雄の C57BL/6N マウスを通常のケージに入れ、飼育室への馴化のために5日間飼育した。その後、一般的な群分けの指標として用いられる平均体重が概ね等しい2 群に分けた。続いて、マウスを代謝チャンバーに移し、このチャンバーへの馴化を行った。対照群には超純水を、実験群には食品M を単回経口投与後、2 日間本飼育した。代謝チャンバー内で飼育した3日間の体重、摂餌量、および呼吸商を毎日測定した。全ての飼育期間中、標準固形飼料を自由摂食させた。

### 2.1.2 課題解決のための検討実験

5 週齢の雄の C57BL/6N マウスを通常のケージに入れ、飼育室への馴化のために2.1.1よりも長期間飼育した。その後、マウスを代謝チャンバーに移し、このチャンバーへの馴化を行った。馴化期間中の平均呼吸商が概ね等しい2群に分け、全てのマウスに超純水を単回経口投与後、3 日間本飼育した。 代謝チャンバー内での飼育期間中、体重、摂餌量、および呼吸商を毎日測定した。全ての飼育期間中、標準固形飼料を自 由摂食させた。

2.2 結果

### 2.2.1 予備実験

体重および摂餌量は、食品 M の有無に関わらず複数のマ ウスで経口投与後に低下した(図1)。経口投与とは、マウス を保定し、経口にて胃内ヘサンプルを投与する方法である。 この操作に対して、マウスが不慣れであるために著しい応答 を示したという仮説を立て、マウスを経口投与操作に馴化さ せるための検討を行うことにした。



図1 予備実験における体重および摂餌量

また、呼吸商は、食品 M の投与後 2 日目に有意に高値を 示した(図 2)。しかし、この 2 群間の大小関係は、投与前か ら投与後 2 日目まで同様に維持されていた。これは、食品 M の投与後 2 日目に呼吸商が高値を示したことが、食品 Mの摂 取だけに起因するのか疑わしいことを意味する。この結果か ら、体重ではなく、呼吸商を基にした群分けが必要であると考 えられた。



本研究の一部は、KISTEC 交付金、文部科学省「地域イノベ ーション戦略支援プログラム事業」、内閣府 戦略的イノベー ション創造プログラム(SIP)「次世代農林水産業創造技術」 (管理法人:生研支援センター)により実施されました。

図2 予備実験における呼吸商 平均値±標準誤差(8匹/群)

\*p <0.05 (Student の t-検定)

### 2.2.2 課題解決のための検討実験結果

マウスを経口投与に馴化させるために、飼育期間中から 馴化操作を繰り返し行った。その結果、超純水投与後の体重 および摂餌量の低下度合いは、予備実験時よりも小さかった (図 3)。この結果から、マウスに経口投与前から経口投与へ の馴化操作を行うことで、経口投与ストレスを軽減できる可能 性が示された。

また、経口投与前の2群の呼吸商を揃えるため、投与前 日の平均呼吸商が揃うように群分けした。その結果、超純水 投与前後の呼吸商は、2群で概ね等しかった(図4)。この結 果から、呼吸商を基に群分けを行うことで、呼吸商の群間差 を抑えることができ、食品摂取により生じる僅かな代謝変化を 検出できるようになる可能性が示された。



図3 検討実験における体重および摂餌量



図4 検討実験における呼吸商 平均値±標準誤差 (4 匹/群)

3. 考察及び今後の展望

生体ガス分析を利用した本短期間評価系の確立により、 代謝変化を引き起こす食品素材を対象としたスクリーニング の効率化が期待される。今後、本評価系を用いて、種々の食 品素材の代謝に与える影響を調べる。 生体内代謝を考慮した細胞形質転換試験法の開発

廣岡 孝志, 大森 清美

1. はじめに

### 1.1 細胞形質転換試験

生体内の正常細胞のがん細胞への転換,そして悪性腫 瘍の形成までのプロセスは多段階発癌(multistep carcinogenesis)と呼ばれる(1,2)。すなわち図1に示す ように、まず、正常細胞が遺伝毒性(変異原性)を有する 化学物質によりDNAの損傷(突然変異)を受ける。この プロセスは"開始(イニシエーション)"と呼ばれ不可逆 的に進行する。このイニシエーションを引き起こす遺伝毒 性化学物質は発がんイニシエーターと呼ばれる。次に"促 進(プロモーション)"と呼ばれる段階で化学物質の刺激 を受けることにより増殖制御システムの破綻が誘発され 異常な細胞増殖を起こし、腫瘍が形成される。このプロモ ーションを引き起こす化学物質は、発がんプロモーターと 呼ばれる。さらに、異常な細胞増殖にともなう変異細胞の 蓄積により腫瘍は悪性化する。この段階は"進行(プログ レション)"と呼ばれる。

化学物質の発がん性予測 in vitro 試験法である細菌を 用いた Ames 試験(復帰突然変異試験)や哺乳類培養細胞 を用いた染色体異常試験などは,化学物質のイニシエーシ ョン活性を検出することができる。一方,これらの in vitro 発がん性予測試験では検出できない発がん物質が存在す る。これらの物質は,図1に示したように,プロモーショ ン作用により腫瘍形成に関与する発がんプロモーターで ある可能性が高いと考えられる。しかしながら, in vitro で発がん物質のプロモーション活性を検出できる試験法 はこれまでなかった。

動物細胞を用いた化学物質の in vitro 発がん性予測試 験法の1つである細胞形質転換試験では、細胞形態転換も しくは腫瘍形成能の獲得に伴うフォーカス形成を指標と して被験物質の発がん性を予測する。フォーカス形成過程 は、多段階発癌プロセス(図1)のイニシエーションとプ ロモーションのステップを再現していることから発がん 物質のプロモーション活性の検出が可能である(3)。大森 らは、BALB/c3T3 A31-1-1 にがん遺伝子 v-Ha-ras を導入し て作成された Bhas42 細胞を用いて発がんプロモーション 活性を検出できる形質転換試験法を開発した(4)。さらに、 浅田らは、培養条件の変更により Bhas42 細胞形質転換試



図1. 多段階発癌プロセス

験で発がんイニシエーション活性も予測できることを示 した(5)。この Bhas42 細胞形質転換試験法は、2016年1 月に経済協力開発機構(OECD)において発がん物質の細 胞試験法のガイダンスドキュメントとして認定されてい る(6)。

### 1.2 ヒト肝代謝を考慮した Bhas42 細胞形質転換 試験法の開発

一部の化学物質は生体内で代謝活性化を受けること により発がん性を獲得することが知られている。例えば、 Benzopyrene, nitrosamine などの化学物質は、シトクロム P-450 (CYP) による代謝を受けることにより発がん性を 示すことが知られている (7,8)。このような発がん化学物 質の代謝活性化を、単一細胞培養による細胞形質転換試験 法により評価することは難しい。

哺乳類細胞を用いて生体内代謝による化学物質の発 がん性を予測する試験方法については BALB/c3T3 細胞お よび V79 細胞で報告例がある。いずれの方法においても 代謝反応系として S9mix (9, 10), 肝臓ミクロソームや肝 細胞を加えた培養系を用いている (9,11)。しかし, S9mix や肝臓ミクロソームは, 主としてラットなどの実験動物か ら作成されたものを使用するため, 化学物質に対するヒト と実験動物種との種差が問題となる。また、S9mix では、 その溶液成分の細胞毒性が問題になる。また、S9mix では、 その溶液成分の細胞毒性が問題になる。また, Bhas42 細 胞形質転換試験法の発がん性検出のエンドポイントであ るフォーカス形成は, 細胞一細胞接触阻害の抑制により誘 導されることが分かっている(12)。このため, 肝細胞との 混合培養は, 異種細胞との接触がフォーカス形成に影響を 与える可能性がある。

Bhas42 細胞を用いた細胞形質転換試験については, 生体内代謝による発がん物質の活性化を考慮した試験法 についてはまだ確立されていない。そこで,我々は,トラ ンスウエル培養法による Bhas42 細胞とヒト肝細胞株との 共培養系を構築することにより,ヒト肝代謝活性化により 獲得もしくは増強された化学物質の発がん性の予測に対 応した Bhas42 細胞形質転換試験方法の開発を行ってきた。 昨年度までの研究では,ヒト肝細胞株と Bhas42 細胞との 共培養系についての検討を行った。本年度は,ヒト肝細胞 株と Bhas42 細胞との共培養条件についてさらに詳細な検 討を行った。また, Bhas42 細胞自身が持つ化学物質代謝 機能についても,昨年までの研究で Bhas42 細胞において 発現が確認された CYP 酵素タンパクについて,発がん物 質である3-メチルコラントレンによる Bhas42 細胞フォー カス形成に対する寄与を詳細に調べた。

### 2. 実験と結果

### 2.1 ヒト肝細胞株と Bhas42 細胞との共培養系の 構築

Bhas42 試験培地中でのヒト肝細胞株の CYP3A4 活性 を詳細に検討した。その際,昨年まで使用してきた分析法 よりもさらに感度の高い分析方法を採用し CYP3A4 活性 の測定を実施した。その結果,ヒト肝細胞株の CYP3A4 活性も昨年までに使用していた HepG2 と同様に Bhas42 試 験培地中では急激に減少することが明らかとなった。そこ で,ヒト肝細胞株の CYP3A4 活性を維持できる培養条件 を検討した。その結果,ヒト肝細胞株の CYP3A4 活性を 長期間(10日間)維持可能な培地組成を見つけることが できた。さらに、被験物質非存在下,新たな培地組成で作 成した改変試験培地で単独培養した Bhas42 細胞では、培 地組成の変化に起因したフォーカス形成数の増加は確認 されなかった。

### 2. 2 Bhas42 細胞における薬物代謝酵素 CYP の 発現

ヒト肝代謝系を考慮した Bhas42 細胞試験の作成に向 けて、ヒト肝細胞株だけでなく Bhas42 細胞の薬物代謝機 能についても知っておく必要がある。昨年までの研究から Bhas42 細胞では、CYP1A1 および CYP1A2 タンパクが 3メチルコラントレンにより発現誘導されること,および CYP2B6 タンパクを定常的に発現していることを明らか にした。本年度は、3-メチルコラントレンをモデル被験物 質として、その Bhas42 細胞フォーカス形成誘導に対する CYP1A1,1A2 および CYP2B6 酵素の寄与を検討した。そ の結果、3-メチルコラントレンによる Bhas42 細胞のフォ ーカス形成には、主に CYP1A1 および CYP1A2 酵素が寄 与することを明らかにした。

### 3. 考察及び今後の展望

ヒト肝細胞株の薬物代謝機能(CYP3A4 活性)を単独 培養下、被験物質処理期間である 10 日間維持でき、かつ 被験物質非存在下で単独培養した Bhas42 細胞のフォーカ ス形成にも影響を与えない改変試験培地を見いだした。今 後この改変試験培地を用いたヒト肝細胞株と Bhas42 細胞 との共培養条件の詳細な検討により、ヒト肝代謝を考慮し た Bhas42 細胞形質転換試験法の構築が可能になることが 期待できる。

Bhas42 細胞では薬物代謝酵素 CYP1A1/1A2 が, 3-methylcholanthrene による Bhas42 細胞のフォーカス形成 に寄与することを明らかにした。この結果は, Bhas42 細胞 について,フォーカス形成に対する薬物代謝酵素 CYP の寄 与を初めてタンパク質および酵素活性レベルで証明した 研究例である。

【参考文献】

- 1. 山崎聖典, 岡山大学医学部保健学紀要, 14,1-14 (2003).
- 2. Harris CC, Weston A, Willey JC, Trivers GE, Mann DL, Environ. Health Perspect., 75, 109-119 (1987).
- Creton S, Aardema MJ, Carmichael PL, et. al., Mutagenesis, 27, 93-101(2012).
- 4. Ohmori K., Sasaki K., Asada S., et al., Mutat. Res., 557, 191-202 (2004)
- 5. Asada S, Sasaki K, Tanaka N, et. al., Mutat. Res., 588, 7-21(2005).
- 6. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), GUIDANCE DOCUMENT ON THE IN VITRO BHAS42 CELL TRANSFORMATION ASSAY (2006).
- 7. Shimada T, Fujii-Kuriyama Y., Cancer Sci., 95, 1-6(2004).
- Kuroki T, Drevon C, Montesano R., Cancer Res., 37, 1044-1050 (1977).
- 9. McCarvill JT, Lubet RA, Schechtman LM, Kouri RE, Putman DL, Environ. Mol. Mutagen., 16, 304-310 (1990).
- Sheu CJ, Lee JK, Rodriguez I, Randolph SC, Drug Chem. Toxicol., 14,113-126 (1991).
- 11. Langenbach R, Freed HJ, Huberman E., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 2864-2867 (1978).
- 12. Sasaki K., Mizusawa H., and Ishidate M., Jpn. J. Cancer Res., 79, 921–930 (1988).

### 機器共用化

### 飯尾将太、亀井飛鳥

### 1. はじめに

本稿では、地域イノベーション戦略支援プログラム・神 奈川国際ライフサイエンス実用化開発拠点におけるニュ ートリゲノミクス研究関連事業の機器共用化への取り組 みについて紹介する。

地域イノベーション戦略支援プログラムにおけるニュ ートリゲノミクス研究は、神奈川科学技術アカデミー 健 康・アンチエイジングプロジェクト (2013~2014 年度)、 未病改善食品評価法開発プロジェクト(2015~2016年度)、 神奈川県立産業技術総合研究所 食品機能性評価グルー プ(2017年度)の3プロジェクトに亘って継続実施され た。特任研究員を採用し、実験室、動物室、機器・インフ ラ等の整備を行い、徐々に共用化への展開を図った。5年 間の活動を通し、食品機能性評価における動物試験から作 用メカニズム解明までの一連の研究システムについて共 用化体制を整えるに至った。また、企業ニーズについてヒ アリングを行い、機能性表示やトクホ等の認定を目指すま での専門人材や資金のない中小企業等の利用を促進する ことを目標とした他、大企業からのエビデンス検証のニー ズも強いことから、それらへの協力も併せて実績を作りつ つある。

#### 2. 具体的な取り組みと実績

DNA マイクロアレイ装置は、当初より県内の企業に よる共同研究あるいは受託研究による利用が進んでいる。 また、DNA マイクロアレイ装置による食の評価にあたり、 必要な前処理や、解析の検証で必要となる装置類の他、組 織学的解析の受託等を可能にするための装置を徐々に共 用化へと展開したことで、共用化機器の利用実績が増加し た(図1)。さらに、平成28年度には、DNA マイクロアレ イ装置にかけるサンプルを得るための動物飼育を行う環

実験名		機器名		
動物実験		生体ガス分析装置		
細胞調製		多本架遠心機		
メカニズム解析	核酸抽出	ホモジナイザー		
		Maxwell®		
		Fast Prep		
	核酸の定量、QC	NanoDrop		
		電気泳動装置		
		BioAnalyzer		
	解析用データの取得	サーマルサイクラー		
		DNAマイクロアレイ装置一式		
		リアルタイムPCR		
	解析	PCでの解析(計算および担当者による詳細な解析)		
		IPA(解析用ソフトウェア)		
組織学解析		クライオスタット		
		倒立顕微鏡		

図1 共用化機器リスト

境を整備し、また、DNA マイクロアレイデータ等の解析 のための計算環境についても更なる展開を図り、共用機器 の利用拡大へと繋げた(図 2)。なお、一連の食の評価に は、ノウハウ・経験を要するため、利用する企業や公設試 担当者への指導も随時行っている。



図2 DNA マイクロアレイ実験の流れと代表的な使用機器

なお、共用化時間の実績は下記の通りである。

- ·平成25年度共用時間実績:29時間
- ·平成 26 年度共用時間実績:44 時間
- ·平成27年度共用時間実績:281時間
- · 平成 28 年度共用時間実績: 1.042 時間
- · 平成 29 年度共用時間実績: 2328 時間



### 3. 今後の展望

共同および受託研究契約の範囲で、評価法を指導し、装置の利用方法を覚えていただいた上で、使用していただく 事を希望しており、今後もこれまで同様、その活動は継続 して行く。なお、この5年間の活動を通し、共用時間実績 は経年増加しており(図3)、食品機能性評価研究への関 心の高さがうかがえる。また、RNA 抽出装置、マイクロ チップ型電気泳動装置の活用による安定的な DNA マイク ロアレイのデータ取得や、リアルタイム PCR 装置等を用 いた解析を行う補助を継続して行う他、要望に応じて新規 解析手法を用いた研究の相談や共同研究による取り組み を目指す。機器共用化のさらなる拡大を目指し、食品機能 性評価のための一連の研究システムを広く紹介する活動 も進めていく。

本取り組みは、文部科学省「地域イノベーション戦略支 援プログラム事業」により実施されました。

### 業績

### 【原著論文】

 Kozuka, C., Kaname, T., Shimizu-Okabe, C., Takayama, C., Tsutsui, M., Matsushita, M., Abe, K., and Masuzaki, H. Impact of brown rice-specific γ-oryzanol on epigenetic modulation of dopamine D2 receptors in brain striatum in high-fat-diet-induced obesity in mice *Diabetologia* 60(8):1502-1511 (2017)

2. Yoshida, K., Yamamoto, N., Fujiwara, S., Kamei, A., Abe, K., and Nakamura, A. Inhalation of a racemic mixture (R,S)-linalool by rats experiencing restraint stress alters neuropeptide and MHC class I gene expression in the hypothalamus. *Neurosci Lett.* 653:314-319 (2017)

3. Hirooka, T., Yoshida, E., Eto, K., and Kaji, T. Methylmercury induces hyaluronan synthesis in cultured human brain microvascular endothelial cells and pericytes via different mechanisms. *J Toxicol Sci.* 42(3):329-333 (2017)

4. Kobayashi, Y., Sugahara, H., Shimada, K., Mitsuyama, E., Kuhara, T., Yasuoka, A., Kondo, T., Abe, K., and Xiao, JZ. Therapeutic potential of Bifidobacterium breve strain A1 for preventing cognitive impairment in Alzheimer's disease. *Sci Rep.* 7(1):13510 (2017)

5. Ogawa, M., Yamanashi, Y., Takada, R., Abe, K., and Kobayashi, S. Effect of luteolin on the expression of intestinal cholesterol transporters *J Funct Foods.* 36, 274-279 (2017)

### 【総説等】

1. 阿部啓子、成熟社会におけるアグリ・フードの未来、 アグリバイオ 2017 年 8 月臨時増刊号 特集「アグリ・フ ードの未来像」(2017 年 8 月)

 2. 亀井飛鳥、新規食品の機能性評価 – 桑葉を例にして、 生物工学会誌 特集 95 巻 5・6 号 (2017 年 6 月)

3. 亀井飛鳥、食品とその機能性、アグリバイオ 2017 年 8 月臨時増刊号 特集「アグリ・フードの未来像」(2017 年 8月)

4. 亀井飛鳥、食品機能性の新規マーカーの探索、ILSI Japan 機関誌「イルシー」132 号(2017 年 10 月)

5. 亀井飛鳥、阿部啓子、次世代の機能性食品、細胞 11 月 号 特集「機能性表示食品の現状、そして未来」(2017 年

### 10月)

6. 阿部啓子、機能性食品科学から見た未病の評価と検証、 国際シンポジウム「ME-BYO サミット神奈川 2017 in 箱 根」セッション①「ME-BYO の可視化と科学的エビデン ス ハンドアウト (2017 年 10 月)

7. 亀井飛鳥、阿部啓子、メープルシロップの健康効果と 食品の機能性を評価する研究、Maple Products from Quebec, Canada Information Booklet for Trafers (2017年11月)

8. 阿部啓子、次世代機能性食品、不二たん白質研究振興 財団 財団時報 平成 29 年度(第 20 号)(2017年 11 月)

### 【口頭発表】

1. Kamei, A., (Abe, K.) Report on human clinical intervention trial to evaluate the effects of maple syrup. FPAQ meeting (2017年5月、カナダ、モントリオール)

阿部啓子、食と健康の研究—その未来像に想いを馳せて Food for life — considering the future of its research、第71回日本栄養・食糧学会 特別記念講演(2017年5月、沖縄)

3. 嶋田耕育、(安岡顕人、亀井飛鳥、篠﨑文夏、近藤 香、 阿部啓子、近藤 隆) 孤独飼育がマウスの脳と各臓器のト ランスクリプトームに与える影響、第五回 NGS 現場の会 (2017 年 5 月、仙台)

4. 食と健康—日本におけるその科学と行政 "Food for health—science and policy in Japan"、 第 19 回アジア地区家 政学会 (2017 年 8 月、東京)

5. Ohmori, K., (Kamei, A., Watanabe, Y., and Abe,K.) Non-genotoxic carcinogen-induced changes in gene expression over time on Bhas 42 cell transformation assay. World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences: WC10 (2017 年 8 月、米国、シアトル)

6. 亀井飛鳥、(薩秀夫)吸入・摂食によってストレスを緩 和する食品成分の探索と応用、内閣府 SIP「次世代機能性 農林水産物・食品の開発」1、2 班合同会議(2017 年 8 月、 東京)

7. 篠崎文夏、(山下治之)ポリフェノールや多糖含有食品 摂取時の末梢組織での脂質代謝における脳の関与の検証、 内閣府 SIP「次世代機能性農林水産物・食品の開発」1、2 班合同会議(2017年8月、東京) 8. 阿部啓子、QOL 向上と ME-BYO を維持する機能性食品 の開発、特に腸内細菌の重要性解析、ME-BYO サミット 神奈川 2017 県民フォーラム in 川崎「未病改善に大きく寄 与する機能性食品と腸内細菌叢に関する最新状況」 基調講 演(2017 年 9 月、神奈川)

9. 阿部啓子、未病改善に寄与する腸内細菌叢の最新の研 究・解析状況、ME-BYO サミット神奈川 2017 県民フォー ラム in 川崎「未病改善に大きく寄与する機能性食品と腸 内細菌叢に関する最新状況」パネルディスカッション (2017 年 9 月、神奈川)

10. 阿部啓子、機能性食品科学から見た未病の評価と検証、 国際シンポジウム「ME-BYO サミット神奈川 2017 in 箱 根」セッション①「ME-BYO の可視化と科学的エビデン ス」(2017 年 10 月、神奈川)

11. 篠崎文夏、未病モデルマウスを用いた日本原産自然薯 ムカゴの生理機能性の検証、第25回「食と健康」講演会 (2017年10月、東京)

12. 嶋田耕育、機能性食品による脳機能評価を目指して、 食品開発展 2017 (2017 年 10 月、東京)

13. 嶋田耕育、機能性食品による脳機能評価を目指して、
 食品開発展 2017 ポスターセッション (2017 年 10 月、東京)

14. 篠崎文夏、(山下治之) 自然薯ムカゴの生理的機能性 の検証、BioJapan 2017 シンポジウム (2017 年 10 月、神奈 川)

15. 亀井飛鳥、(薩秀夫)、桑葉の機能性評価、BioJapan 2017 ポスターセッション (2017 年 10 月、神奈川)

16. 篠崎文夏、(山下治之)、自然薯ムカゴの生理的機能性、 BioJapan 2017 ポスターセッション(2017 年 10 月、神奈川)

17. 阿部啓子、口腔・消化管シグナルとエネルギー代謝、
第39回 日本臨床栄養学会総会 第38回 日本臨床栄養学
会総会 第15回 大連合会(2017年10月、千葉)

18. 阿部啓子、次世代機能性食品開発へのグランドデザイン、第7回食品薬学シンポジウム(2017年10月、京都)

 廣岡孝志、(阿部啓子、大森清美) 3-methylcholanthrene による Bhas42 細胞の形質転換フォーカス形成における薬 物代謝酵素 CYP1A1,1A2 および 2B6 の寄与、日本動物実 験代替法学会(2017 年 11 月、東京)

20. 大森清美、(亀井飛鳥、渡部由貴、阿部啓子) Bhas42

細胞形質転換試験法における非遺伝毒性発がん物質によ る網羅的遺伝子発現変動解析、日本動物実験代替法学会 (2017年11月、東京)

21. 阿部啓子、内閣府・農水省プロジェクト研究 「次世 代機能性食品」の概要、第2回学術フォーラム・日本抗加 齢協会 アンチエイジングを極める。(2017年12月、大 阪)

22. 篠崎文夏、安全性・機能性メカニズムの解明、第5回 北方圏紅藻類コンソーシアム推進会議(2018年1月、札 幌)

23. 亀井飛鳥、(篠崎文夏、安岡顕人、嶋田耕育、荒井綜 一、阿部啓子)体内鉄量の変化に応答する血液遺伝子の発 現変化の解析、日本農芸化学会 2018 年度大会(2018 年 3 月、名古屋)

24. 野原正勝、(安岡顕人、嶋田耕育、亀井飛鳥、篠崎文 夏、豊田集、飯尾将太、阿部啓子)血球トランスクリプ トーム解析の高精度化にむけた血液処理方法の検討、日本 農芸化学会 2018 年度大会(2018 年 3 月、名古屋)

25. 篠﨑文夏、(亀井飛鳥、嶋田耕育、安岡顕人、荒井綜 ー、阿部啓子)高脂肪負荷マウスへの自然薯ムカゴ投与が 回腸遺伝子発現に及ぼす効果、日本農芸化学会 2018 年度 大会(2018 年 3 月、名古屋)

26. 安岡顕人、(亀井飛鳥、篠崎文夏、嶋田耕育、野原正勝、飯尾将太、近藤 香、岡田晋治、近藤 隆、阿部啓子) エタノール誘導代謝ストレスの次世代への影響と食品ポ リフェノールによるその緩和、日本農芸化学会 2018 年度 大会(2018 年 3 月、名古屋)

27. 嶋田耕育、(安岡顕人、亀井飛鳥、篠﨑文夏、野原正勝、豊田集、飯尾将太、阿部啓子)孤立飼育条件がマウスの脳及びその他臓器のトランスクリプトームに与える影響、日本農芸化学会 2018 年度大会(2018 年 3 月、名古屋)

28. 豊田 集、(石島智子、亀井飛鳥、阿部啓子、岡田晋治) メーブルシロップ抽出物が 2 型糖尿病モデルマウスのコ レステロール代謝に与える影響、日本農芸化学会 2018 年 度大会(2018 年 3 月、名古屋)

29. 本田瑞希、(亀井飛鳥、相田美緒、薩 秀夫) 抗炎症作 用を有するクワ葉成分の探索および解析、日本農芸化学会 2018 年度大会(2018 年 3 月、名古屋)

### 【特許】

国内特許準備中 1件

### 「高効率燃料電池開発」グループ

グループリーダー 山口 猛央

### 【基本構想】

本プロジェクトは、平成23年より開始した戦略的研究シーズ育成事業、有望シーズ展開事業の成果をさら に展開し、低白金、高耐久で、広温・広湿・広電流密度で運転できる固体高分子形燃料電池(PEFC)の実 用化へ向けた取り組みである。

現在の科学技術では、化学物質から仕事(電気)への変換効率は低い。火力発電所における変換効率は平 均 40%程度であり、自動車の移動仕事はガソリンエンジンで 20%程度、ハイブリッド車でも 35%程度で ある。熱力学的な最高効率は、水が水蒸気になる潜熱を仕事として活かせるとすると、効率は 25℃で 95% 以上にもなる。現実世界で目指すべきは、60-70%の変換効率であろう。PEFC は、低温、小型であり、必 用な場所で、必用なときに、必用な量の発電が効率的に行えるデバイスである。日本では世界に先駆け、 定置用のエネファームは既に 15 万台が設置され、燃料電池自動車の販売も開始された。しかしながら、普 及技術とするためには、さらなる技術革新が必要となっている。

燃料電池自動車の白金使用量を10分の1程度にまで低減できれば、燃料電池に用いる白金量は、ガソリン 自動車の排ガス触媒に使用する貴金属量と大差なくなる。水管理が重要と言われる PEFC において、幅広 い湿度および低温から100℃までの幅広い温度での効率的な運転が可能となれば、システムが簡便となり、 信頼性向上、低コスト化だけでなく、総合効率も向上する。また、現状の耐久性を大幅に向上できれば、 自家用車だけで無く、商用車にも展開できる。材料としては、白金担持カーボンの10倍の活性を有する触 媒材料、広い湿度および温度範囲で高いプロトン伝導性を発現する電解質材料の開発が重要となる。さら に、新しい材料を開発しても、燃料電池としての性能および高い耐久性に結びつかなければ意味は無く、 物質からデバイスまでを繋げた設計が重要となる。

これらを実現するためには、現状の燃料電池材料とは異なる発想が必要であり、低白金、高性能、高耐久 を有する次世代型の燃料電池デバイスをイメージし、そこから発想した触媒材料および電解質膜の設計・ 開発が必要である。本グループでは、これまでの研究成果を発展させ、新しい触媒・触媒層と電解質膜の 開発を行い、組み合わせることにより、高耐久で、広い湿度・温度領域で作動し、低白金量で高効率発電 が可能な次世代型の燃料電池の設計・開発を行っている。さらに、企業と連携し、これらの材料の実用化 に向けた取り組みを積極的に進めている。

#### 平成 29 年度の研究目的

実用化実証事業初年度である平成 29 年度は、以下の項 目を重点項目として、研究開発および実用化に向けた取り 組みを実施した。

# (1) 白金合金ナノ粒子連結触媒の高性能化(1-1) 原子配列規則性の制御

本グループが開発したカーボンフリーPt-Fe ナノ粒子連 結触媒は、図1に示すように、Pt-Fe 合金ナノ粒子が連結 したナノサイズのネットワークで構成されるため、高い表 面積を有し、且つ、金属ネットワークが導電性を持つため、 カーボン担体を必要としない。従来のカーボン担体上に白 金ナノ粒子を担持させた触媒 (Pt/C,図1A)と比べて、本 触媒は、約9倍高い酸素還元反応 (Oxygen reduction reaction: ORR)活性を示し、大幅な低白金化が可能である。 さらに、カーボンフリー触媒は、燃料電池の起動停止運転 の際に生じるカーボン腐食による劣化を回避できるため、 高耐久性を実現する。一方で、燃料電池触媒の耐久性は、 起動停止サイクルに加えて、負荷応答サイクルも考慮しな ければならない。燃料電池発電時の負荷応答によって触媒 金属の溶出が生じ、触媒活性の低下を引き起こすため、燃 料電池の長期安定性には触媒金属の溶出を抑制すること が必要不可欠である。



図 1. (A) 従来の白金ナノ粒子触媒、(B) 白金合金ナノ粒子が連結 した中空カプセル触媒の模式図 本研究グループはこれまでに、触媒合金内の原子が規則 的に配列した超格子(face-centered-tetragonal: fct, 図 2a) 構造を有する白金合金ナノ粒子触媒の開発を行い、不規則 配列(face-centered-cubic: fcc, 図 2b)構造の触媒よりも、 合金金属の溶出を抑制し、高い負荷応答耐久性を示すこと を実証した。そこで、本知見を活かし、H29年度は、Pt-Fe ナノ粒子連結触媒における高い原子配列規則度(fct の割 合が多い)を実現する新規合成手法を開発し、得られた高 fct 触媒の触媒特性を評価した。



図 2. (a) 規則配列(超格子)構造、(b)不規則配列構造を持つ白 金合金触媒の格子構造

### (1-2) 白金合金ナノ粒子連結触媒の量産プロセスの検討

カーボンフリー白金ナノ粒子連結触媒の実用化には、簡 便なプロセスでの合成が望まれる。本グループでは、企業 と連携し、白金合金ナノ粒子連結触媒の量産プロセスの検 討に着手している。ここでは、従来の高温・高圧下での超 臨界プロセスを必要としない、簡便な新規合成プロセスの 提案・実証を行った。

# (2) 実用化へ向けた新規 MEA の設計・開発(2-1) 含ヘテロ芳香族系アイオノマーの MEA 触媒層への応用

PEFC の高出力化には、反応により水を多く生成する高 電流密度領域での物質移動抵抗低減が必須である。有望シ ーズ展開事業で開発した含ヘテロ芳香族系アイオノマー (BT-SPES、図 3)は、強い分子間相互作用(ヘテロ原子 間相互作用、π-π相互作用)により、明瞭な相分離構造を 形成し、良好なプロトン伝導性と高い膨潤抑制能を有する。 BT-SPESは、水の多い高湿度環境下での膨潤を抑制するた め、触媒層内の酸素ガスの拡散パスを確保でき、PEFCの 高電流密度運転が期待される。

本研究では、BT-SPES を用いた触媒層で膜電極接合体 (Membrane-electrode-assembly: MEA)を作製し、様々な 湿度での燃料電池試験を行い、BT-SPESの膨潤抑制能が触 媒層内の物質移動抵抗に与える影響を調査した。



図 3. (a) 含ヘテロ芳香族系電解質ポリマー(BT-SPES) をカソ ード触媒層に用いた膜電極接合体と (b,c) ヘテロ原子間相互作 用の模式図

## (2-2) 低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA の高温低 湿度運転

本グループは、高いスルホン酸基容量を持つ低 EW (Equivalent weight) パーフルオロスルホン酸アイオノマ ーを超高分子量ポリエチレン(UHMWPE)基材に充填し た細孔フィリング薄膜(図 4)の開発に取り組んでいる。 この膜は約7 µm と従来の市販ナフィオン膜(NR-211, 25 µm)よりも非常に薄く、高温低湿度条件下で高いプロト ン伝導性を示す。本研究は、高温低湿度下での高速プロト ン伝導の要因を明らかにするために低 EW 細孔フィリン グ薄膜の構造解析、そして実用化を見据えた更なる高耐久 化を進めている。



図 4. 多孔質基材に低 EW アイオノマーを充填した細孔フィリング薄膜の模式図

本グループでは開発した低 EW 細孔フィリング薄膜の MEA での検証も進めており、従来の市販ナフィオン膜で は実現できなかった高温低湿度(80℃、20~60% RH、 80~100℃、30% RH)環境下で高い燃料電池性能を示すこ とを実証した。 本研究では、低 EW 細孔フィリング薄膜と市販ナフィオ ン膜の MEA (図 5) で電気化学測定を行い、両者の特性 を比較することで、高温低湿度運転での高い電池性能の要 因を調査した。



### 2. 平成 29 年度の研究成果

以下に挙げるのは、平成 29 年度の研究成果の概要であり、詳細は各研究員の報告書に記載する。

## (1) 白金合金ナノ粒子連結触媒の高性能化(1-1) 原子配列規則性の制御

本研究は、触媒表面をシリカで被覆した後、高温処理を 施し、原子配列規則度を向上させる新規手法(詳細は報告 書 2-1 を参照)を開発した。シリカ被覆により、Pt-Feネ ットワークを固めた状態にすることで、高温処理による凝 集を抑制し、高表面積のナノサイズネットワークを維持で きる。

本手法はコンセプト通り、700℃~900℃の高温処理でも ナノサイズのネットワーク構造を維持することに成功し た。さらに、高温処理によって、規則度増加が確認され、 800℃以上の高温処理では、熱処理なしの通常の触媒より も約2倍高い規則度 0.8 以上を達成した。

さらに、高い規則度を持つ Pt-Fe ナノ粒子連結触媒は負 荷応答サイクルに対して、優れた耐久性を有することを確 認した。金属の溶出を加速する負荷応答試験(60℃、0.1 M HCIO4 水溶液中で 0.6 V、3 秒間 ⇔ 1.0 V、3 秒間を繰り返 すサイクル試験)において、10,000 回負荷応答サイクルを 行っても、9 割程度の ORR 表面比活性を維持することが 分かった。EDX ラインマッピング測定から、高い規則度 は Fe の溶出を強く抑制することが示唆された。高い規則 度による金属溶出抑制が ORR 表面比活性の維持、つまり 高い負荷応答耐性につながることが示された。

加えて、シリカ除去の際に使用するアルカリ処理条件が ORR 活性に影響することを見出した。シビアなアルカリ 条件(10 M NaOH 水溶液、90℃)に比べ、マイルドなア ルカリ処理(3 M NaOH 水溶液、90℃)を施した触媒は高 い ORR 表面比活性を示すことが明らかとなった。マイル ドなアルカリ処理を施した高い規則度のPt-Feナノ粒子連 結触媒において、高い負荷応答耐久性と高い ORR 活性の 両立に成功した。

#### (1-2) 白金合金ナノ粒子連結触媒の量産プロセスの検討

白金合金ナノ粒子連結触媒の新規合成手法は、通常のプロセスで用いる高温・高圧下の超臨界処理に代わり、熱処 理のみでネットワーク化を行う。その際、表面をシリカで 被覆することで、熱処理時のナノ粒子の凝集や担体から剥 離を抑制する。さらに、高温で熱処理を施すことで、規則 配列(超格子)構造の形成も促進される。

新規手法(シリカ被覆と800℃の熱処理)により合成した Pt-Fe ナノ粒子連結触媒は、ナノサイズのネットワーク構造と高い規則度を持つことが確認された。さらに、得られた触媒は、超臨界処理で合成した触媒と同程度の高い ORR 表面比活性を示した。

新規手法は、高温・高圧下の超臨界処理を必要としない ため、プロセスの簡便化を実現できる。今後も企業と連携 し、合成プロセスの最適化を進めることで、実用化へ向け た触媒の量産体制を整備する。

# (2) 実用化へ向けた新規 MEA の設計・開発(2-1) 含ヘテロ芳香族系アイオノマーの MEA 触媒層への応用

含ヘテロ芳香族系アイオノマーの BT-SPES を触媒層ア イオノマーに用いた MEA は、通常の SPES (BT なし) に 比べ、高湿度環境となる高電流密度領域まで運転できるこ とが確認された。このことから、BT-SPES は、強い分子間 相互作用による高い膨潤抑制能を有するため、高湿度環境 下でも触媒層内の細孔が閉塞せず、酸素ガスの拡散パスが 確保され、物質移動抵抗の低減につながったと示唆された。 多様な環境で高効率な電池性能を実現するためには、アイ オノマーの設計も重要であることが示された。

# (2-2) 低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA の高温低 湿度運転

高温低湿度運転(80℃、20% RH または 100℃、30% RH) における MEA の電気化学測定から、低 EW 細孔フィリン グ薄膜は市販のナフィオン膜に比べ、IR 損が顕著に小さ いことが確認された。低 EW 細孔フィリング膜は酸高密度 構造を持つため、高温低湿度でもプロトン伝導性が高い。 さらに、膜厚 7 µm と非常に薄いため水透過度が高く、カ ソードでの生成水がアノードへより透過し、MEA 全体で 適した湿度管理を可能とする。これらの要因により、IR 損を大幅に低減し、高い電池性能を発現したと示唆された。 一方で、低 EW 細孔フィリング薄膜は市販膜よりも薄いに も関わらず、水素クロスオーバー量が同程度であり、ガス 透過阻止性に優れた膜である。

このことから、細孔フィリング薄膜はプロトンと水は効

果的に通し、一方で、ガスの透過は阻止する、燃料電池電 解質膜の必要性能を満たした非常に有望な膜であること が示された。

上記で得られた研究成果は、国内・国外での学会発表や 学術論文により、積極的に世の中へ広く発信した。(詳細 は業績の項を参照)

現在、本事業で開発した新規材料のPt-Feナノ粒子連結 触媒や低EW細孔フィリング薄膜の実用化に向けて、外部 企業での評価を進めている。外部企業での評価と並行して、 触媒や電解質膜の高性能化、そしてこれらを組み込んだ MEAの最適化も行っている。

本プロジェクトが目標とする高効率燃料電池が実現す れば、大型発電所を凌ぐ効率で低コストな家庭用発電・移 動用発電を普及することが可能で、現在の変換効率の低い エネルギー技術に替わる革新的技術となり得る。今後も、 本グループで得られた成果の実用化に向けた取り組みを 積極的に推進していく。

### 原子配列規則度制御による Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の 酸素還元特性向上

黑木秀記、藤田遼介、田巻孝敬、有田正司、山口猛央

### 1. はじめに

固体高分子形燃料電池 (Polymer Electrolyte Fuel Cell: PEFC)の普及拡大には、触媒活性の向上による低白金化 や耐久性の向上が必要不可欠である。

本グループは、図1に示す白金鉄(Pt-Fe)ナノ粒子が 連結したネットワークから成る、多孔性中空カプセル状 Pt-Feナノ粒子連結触媒の開発に取り組んでいる。<sup>1-3</sup>本触 媒は、従来の燃料電池触媒の白金ナノ粒子担持カーボンブ ラック(Pt/C,図1A)に比べて、酸素還元反応(Oxygen Reduction Reaction: ORR)に対する表面比活性が約9倍高 い値を示すため、燃料電池の低白金化が実現できる。加え て、Pt-Fe 金属ネットワークは導電性を有するため、導電 性カーボン担体を必要とせず、カーボンフリーである。燃 料電池の起動停止時にカーボン腐食が起こり、発電性能を 大幅に低下させる要因となる。カーボンフリー触媒は、カ ーボン腐食の問題を回避できるため、高耐久性を実現する。



図 1. (A) 白金ナノ粒子担持カーボンブラック (Pt/C)、(B) 多孔 性中空カプセル構造を持つカーボンフリーPt-Fe ナノ粒子連結触 媒の模式図と TEM 像

燃料電池触媒は、起動停止サイクルによるカーボン腐食 の劣化に加えて、負荷応答サイクルにおける触媒金属の溶 出も問題となる。触媒金属の溶出は表面構造の変化を引き 起こし、活性低下につながる。つまり、高い活性を持つ触 媒を長期的安定に使用するためには、触媒金属の溶出を抑 えることが必要である。 本グループは有望シーズ展開プロジェクトにおいて、図 2a に示す原子配列規則(超格子)構造を持つ白金合金ナ ノ粒子触媒の開発を行い、不規則配列構造(図 2b)の触 媒よりも高い ORR 活性と優れた負荷応答耐久性を示すこ とを見出した。<sup>48</sup>そこで本研究は、規則配列構造に着目 し、Pt-Feナノ粒子連結触媒における原子規則配列構造及 び表面構造の制御を行い、これらの構造が耐久性及び ORR 活性に与える影響を議論した。

さらに、本触媒の実用化に向けて、企業と連携し、規則 度の高いPt-Feナノ粒子連結触媒の量産プロセスの検討を 行った。



図 2. (a) 規則配列(超格子)構造、(b) 不規則配列構造を持つ白 金合金触媒の格子構造

### 2. 実験、結果及び結果

### 2.1 高い原子配列規則性を有する高耐久 Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の開発

### 2.1.1 原子配列規則性制御

本研究は、Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の原子配列規則度向 上を行った。規則配列構造である L10 型 face centered tetragonal (fct) 相は、不規則配列構造の face centered cubic (fcc) 相よりも熱力学的に安定であり、高温処理により fct 相に変態する。しかしながら、Pt-Feナノ粒子連結触媒 を800℃で焼成すると、ネットワーク構造が凝集し、高表 面積を維持できない。そこで、Pt-Fe 連結ネットワークを シリカで被覆し、ネットワークを固めた状態で熱処理を施 し、ネットワークの凝集を抑制する新規手法(図3)を提 案した。まず、ポリオール反応と超臨界処理を用いた従来 の手法でシリカ粒子担体上に Pt-Fe ナノ粒子連結構造 (Pt-Feネットワーク/SiO2)を形成させる。その後、触媒 表面をシリカで被覆し、高温処理を行い、熱力学的に安定 な規則配列(L10型 fct)構造に変移させる。最後に、10 M NaOH 水溶液で処理し、触媒表面と担体のシリカを完全に 除去することで、中空カプセル形状を得る。



図 3. Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の原子配列規則度向上のためのシ リカ被覆と熱処理を用いた新規合成スキーム

図4にPt-Fe ネットワーク/SiO2の表面にシリカ被覆を 行ったサンプルのTEM 像を示す。TEM 像から、触媒表面 をシリカで概ね均一に被覆されたことが確認され、シリカ 層の厚みは約50 nm であった。



図 4. シリカ被覆 Pt-Fe ネットワーク/SiO2の TEM 像

続いて、Pt-Fe ネットワーク/SiO<sub>2</sub> を H<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> 雰囲気下、 800℃で熱処理を行い、90℃、10 M NaOH 水溶液中で被覆 層と担体のシリカを除去した。得られたサンプルの TEM 観察(図 5)から、中空カプセル構造とナノサイズのネッ トワーク構造が確認された。このことから、ネットワーク をシリカで固めることにより、高温処理における触媒金属 の融着を抑制し、ナノサイズのネットワーク構造を維持す ることが示唆された。



図 5. 図 3 の手法で合成した Pt-Fe ナノ粒子連結触媒(熱処理温 度 = 800 °C)の TEM 像

熱処理が原子配列規則度に与える影響を調査するため

に、熱処理温度(700℃、800℃、900℃)の異なるサンブ ルを作製し、XRD 測定を行った。図6に示すXRDパター ンから、熱処理による規則配列 fet 構造に由来するピーク (図6の\*で示したピーク)の強度増加が確認された。fet と fec を含む 40°付近の(111)面の基本ピークに対する 33° の fet 由来の(110)面のピークの比から規則度(ordering parameter, S)を算出したところ、熱処理なしの通常の合成 法で作製した触媒における規則度 S は 0.44 であるのに 対して、新規手法を用いて 700℃、800℃、900℃の熱処理 を施した触媒の規則度は各々 S = 0.64, 0.83, 0.80 であり、 熱処理に伴う規則度の増加が確認された。特に、800℃、 900℃の熱処理においては、通常の 2 倍近い高い規則度が 得られた。



図 6. Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の XRD パターン: (a) 通常の合成 法 (熱処理なし) で作製した触媒. 図 3 の手法で合成した触媒. 熱 処理温度: (b) 700 °C, (c) 800 °C, (d) 900 °C. \*規則配列 fct 構造由 来のピーク

以上の結果から、本研究が提案した手法(図3)のコン セプト通りに、ナノサイズのネットワークで、且つ高い原 子配列規則性を持つPt-Feナノ粒子連結触媒を得ることに 成功した。

#### 2.1.2 負荷応答耐久性

上記で得られた規則度の高い触媒を用いて、規則構造が 負荷応答耐久性に与える影響を評価した。金属の溶出を加 速する負荷応答耐久性試験は、燃料電池触媒における標準 プロトコル(0.6 V で 3 秒間、1.0 V で 3 秒間の保持を 1 サ イクルとして、この電位サイクルを繰り返す試験)を用い た。負荷応答電位サイクルは、60°C、N<sub>2</sub> 雰囲気下 0.1 M HClO4電解液で行った。サンプルは、通常の合成法(熱処 理なし、3 M NaOH によるシリカ除去)で作製した低規則 度(Low fct, S = 0.44)の触媒と図 3 の手法(800°C熱処理、 10 M NaOH によるシリカ除去)により作製した高規則度 の触媒(High fct, S = 0.83)を用い、負荷応答サイクル後の ORR 表面比活性から耐久性を議論した。

図7に負荷応答サイクルに対する ORR 表面比活性の変 化を示す。比較として、市販 Pt/C の結果も示す。高い規 則度の Pt-Fe ナノ粒子連結触媒は、低い規則度の触媒に比べて、初期の表面比活性が低いものの、Pt/C より高活性な 触媒であることが確認された。一方で、高規則度の触媒は、 非常に耐久性に優れ、一万サイクル後も初期と同程度の活 性を維持した。一方で、低規則度の触媒は負荷応答サイク ルに対する活性の減少が顕著であった。一万サイクル後の 表面比活性で比較すると、高規則度の Pt-Fe ナノ粒子連結 触媒が最も高い活性を示した。



図 7. 負荷応答電位サイクル(60□、0.1 M HClO₄電解液中)に対 する ORR 表面比活性の変化:(●)高規則度(High fct, S = 0.83)、 (▲) 低規則度(Low fct, S = 0.44)の Pt-Fe ナノ粒子連結触媒 と(■)市販 Pt/C の結果

高規則度のPt-Feナノ粒子連結触媒における高耐久性の 要因を調査するために、負荷応答試験後の触媒に関して構 造解析を行った。TEM 観察から、低規則度、高規則度の 双方において、負荷応答一万サイクル後もナノサイズのネ ットワークで形成された中空カプセル構造が観察された。 一方で、ネットワーク内部のFeの残存量と分布に関して、 規則度に依る顕著な違いが確認された。図8にSTEM-EDX 線分析による負荷応答一万サイクル後のネットワーク内 部の元素分布を示す。規則度の低い触媒ではFeの残存量 が少なく、表面に厚い白金リッチ層が確認され、負荷応答 サイクルによるFeの顕著な溶出が示唆された。一方で、 高規則度の触媒に関しては、Fe がほぼ溶出しておらず、 初期の触媒構造を維持していることが分かった。

以上の結果から、高い原子配列規則性は合金金属の溶出 を抑え、負荷応答サイクルに対する耐久性向上に大きく寄 与することが示された。



図 8. 負荷応答一万サイクル後 Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の(左) HAADF-STEM 像と(右) EDX 線分析結果: (a) 低規則度 (Low fct, S = 0.44)、 (b) 高規則度 (High fct, S = 0.83)

### 2.1.3 アルカリ処理条件の影響

図7で得られた結果から、800℃熱処理と10 M NaOH 処 理を経て作製した高規則度Pt-Feナノ粒子連結触媒の初期 ORR 表面比活性は、従来の連結触媒(熱処理無し、3 M NaOH 処理)の6割程度であることが確認された。触媒活 性は、反応が生じる触媒の表面構造が重要となるため、高 濃度のアルカリ処理により表面構造が変化し、活性が低下 したと推測された。そこで、熱処理後のシリカ除去で使用 する NaOH 濃度を10 M から3 M に変更し、触媒活性を 評価した。

図9に示すように、800<sup>C</sup>熱処理後に3M NaOH 水溶液 でシリカ除去を行った触媒(High fct, 3 M NaOH, S = 0.89) は、従来の連結触媒(Low fct, 3 M NaOH, S = 0.44)と同程 度の高い触媒活性を発現することが分かった。このことか ら、アルカリ処理条件は触媒の表面構造、延いては ORR 活性に強く影響することが示唆された。

続いて、得られた高規則度で且つ高い初期活性を持つ Pt-Fe ナノ粒子連結触媒について、上記と同様の手法で負 荷応答耐久性試験を行った。規則度とアルカリ処理条件の 異なる Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の初期と負荷応答一万サイ クル後の ORR 表面比活性の比較を図 9 に示す。800℃熱処 理+3M NaOH 処理で合成した高規則度(High fet)の触媒 は、初期活性が高く、一万サイクル後もその高活性を約 8 割維持しており、市販 Pt/C、他の条件で合成した Pt-Fe ナ ノ粒子連結触媒と比べて、耐久性試験後に最も高い触媒活 性を示した。図 10 に示す EDX 線分析結果から、本触媒は 耐久性試験後もネットワーク内の Fe が 8 割程度保持され ており、高規則度による Fe の溶出抑制が高活性の維持に つながったと示唆された。 以上の結果から、適切なアルカリ処理を施した高規則度 の Pt-Fe ナノ粒子連結触媒は高い ORR 初期活性と優れた 負荷応答耐久性を両立することが示された。



図 9. 規則度とアルカリ処理条件の異なる Pt-Fe ナノ粒子連結触 媒と市販 Pt/C における初期と負荷応答一万サイクル後の ORR 表 面比活性の比較



図 10. 800□熱処理+3 M NaOH 処理で合成した高規則度 Pt-Fe ナノ粒子連結触媒(High fct, 3M NaOH)における負荷応答一万 サイクル後の(左) HAADF-STEM 像と(右) EDX 線分析結果

### 2.2 量産化へ向けた新規触媒合成手法の開発

本グループが開発した白金合金ナノ粒子連結触媒は、高 い触媒活性による低白金化、そして優れた起動停止・負荷 応答耐久性による長期安定性を実現し得る。本触媒の実用 化に向けて、企業と連携し、量産プロセスの検討を行なっ ている。量産化には、簡便な合成手法が望ましく、本項で は高温・高圧での超臨界処理を用いない新規合成手法を提 案・実証した。

新規合成手法は図 11 に示すように、2.1 のシリカ被覆 技術を応用した。まず、ポリオール反応により Pt-Fe ナノ 粒子をシリカ担体上に生成する。続いて、表面をシリカで 被覆する。その後、熱処理を行い、ナノ粒子が連結したネ ットワーク構造を形成させ、同時に原子配列規則度を向上 させる。最後に、アルカリ処理で表面と担体のシリカを除 去し、中空カプセル形状の高規則度 Pt-Fe ナノ粒子連結触 媒を得る。従来の手法では Pt-Fe ナノ粒子の連結ネットワ ーク形成に高温・高圧での超臨界処理を必要とする。その 後に、シリカ被覆と熱処理を行い、原子配列規則性を向上 させる。新規手法である図 11 のスキームでは、熱処理に よりネットワーク化を行う。その際、表面をシリカで被覆 することで、熱処理時のナノ粒子の凝集や担体から剥離を 抑制する。さらに、高温で熱処理を施すことで、規則配列 構造の形成も促進される。



図 11. 高規則度 Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の簡便な新規合成手法

図 11 の手法で合成した触媒の TEM 像を図 12 に示す。 ここでは、熱処理温度は 800℃、アルカリ処理は 3M NaOH 水溶液を用いた。図 12 より合成した触媒において、ナノ サイズのネットワークで形成された中空カプセル構造が 観察された。さらに、図 13 に示す XRD パターンから、規 則配列 (fet) 構造に由来する明瞭なピークが確認された。 規則度 S = 0.78 であり、高い原子配列規則性を持つことが 分かった。

さらに、新規手法で合成した Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の 酸溶液中での ORR 活性を評価したところ、通常の超臨界 処理で合成した触媒と同程度の高い ORR 表面比活性を有 することが確認された。

以上の結果から、より簡便である図 11 の新規触媒合成 法はコンセプト通りに、熱処理のみでナノサイズが連結し たネットワーク構造と高い原子配列規則性を形成するこ とが確認された。さらに、得られた触媒は高い触媒活性を 示しており、実用化に向けて有用な合成手法であることが 実証された。



図 12. 図 11 の新規手法で合成した Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の TEM 像



図 13. Pt-Feナノ粒子連結触媒の XRD パターン: (a) 通常の超臨 界処理を用いる合成法 (熱処理なし)で作製した触媒. (b) 超臨界 処理を用いない図 11の手法で合成した触媒(熱処理温度 800°C). \*規則配列 fct 構造由来のピーク

### 3. まとめ及び今後の展望

本研究では、Pt-Fe ナノ粒子連結触媒の原子配列規則度 の向上に成功し、さらに、アルカリ処理による表面構造制 御から、高い負荷応答耐久性と高い ORR 活性の両立を初 めて実現した。Pt-Fe ナノ粒子連結触媒はカーボンフリー であり、起動停止耐久性にも優れている。本触媒は、燃料 電池運転中における触媒劣化の問題を解決する材料であ り、高い触媒活性を有することから低白金化も可能である。

さらに、この有用な触媒の量産化にも企業と共同で取り 組んでいる。従来の手法よりも簡便なスキームでの合成に 成功しており、今後、合成条件の最適化など、量産体制の 整備を進めていく。また、本触媒は外部企業での評価も進 めており、実用化への課題の抽出、更なる高性能触媒の設計・開発にも取り組んでいる。今後も、本グループが開発 した白金合金ナノ粒子連結触媒の実用化に向けた取り組 みを精力的に進めていく。

### 【参考文献】

- T. Tamaki, H. Kuroki, S. Ogura, T. Fuchigami, Y. Kitamoto, and T. Yamaguchi, *Energy Environ. Sci.*, 8, 3545–3549, 2015.
- H. Kuroki, T. Tamaki, and T. Yamaguchi, J. Electrochem. Soc., 163 (8), F927–F932, 2016.
- H. Kuroki, T. Tamaki, M. Matsumoto, M. Arao, Y. Takahashi, H. Imai, Y. Yoshitaka, and T. Yamaguchi, ACS Appl. Energy Mater., 1 (2), 324–330, 2018.
- B. Arumugam, B. A. Kakade, T. Tamaki, M. Arao, H. Imai, and T. Yamaguchi, *RSC Adv.*, 4 (52), 27510–27517, 2014.
- T. Tamaki, A. Minagawa, B. Arumugam, B. Kakade and T. Yamaguchi, J. Power Sources, 271, 346–353, 2014.
- B. Arumugam, T. Tamaki, and T. Yamaguchi, ACS Applied Materials & Interfaces, 7, 16311–16321, 2015.
- H. Kuroki, T. Tamaki, M. Matsumoto, M. Arao, K. Kubobuchi, H. Imai, and T. Yamaguchi, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 55 (44), 11458–11466, 2016.
- T. Tamaki, A. Koshiishi, Y. Sugawara, H. Kuroki, Y. Oshiba, and T. Yamaguchi, *J. Appl. Electrochem.*, in press, 2018.

酸高密度構造型電解質材料の開発と燃料電池への応用

山口猛央、甘利俊太郎、戸松仁、大柴雄平、黒木秀記

### 1. はじめに

近年注目を集める燃料電池は、高効率・低環境負荷型の 次世代発電システムとして非常に期待されている分野で ある。とりわけ、固体高分子形燃料電池(Polymer electrolyte fuel cell: PEFC)は、他の燃料電池システムと比較しても、 出力密度が高いことや室温付近での発電が可能であるこ とから、定置用・移動用・携帯用などの電源として、活発 に研究開発が進められている。その中でも PEFC 用の電解 質材料(電解質膜、触媒層アイオノマー)は、発電性能や 発電環境を左右する重要な中枢部材であり、その高性能化 に向けた新規材料の創成が、この分野のブレイクスルーに 必要不可欠である。

本グループでは、高温・低湿度環境下で優れたプロトン 輸送特性を示す新規なプロトン伝導アイオノマー・電解質 膜の開発に成功してきた。そこで本研究では、開発した電 解質材料の実用化に向けて、膜電極接合体(Membrane -electrode-assembly: MEA)での燃料電池性能の評価・解析 を行った。

### 2. 実験、結果及び考察

### 2.1 含ヘテロ芳香族系アイオノマーを用いた触 媒層の設計・開発

高温低湿度環境において高いプロトン伝導性を発現さ せるためには、高次にイオン交換部位を集積させた酸高密 度構造を有する電解質の構築が重要である。<sup>14</sup>

本グループでは、分子の立体構造と分子間相互作用(疎 水性相互作用・ヘテロ原子間相互作用)を協奏的に利用し た設計戦略に基づき、親水性ユニット(プロトン伝導部位) および疎水性ユニット(膨潤抑制部位)の集積構造形態を ナノレベルで制御した新規含ヘテロ芳香族系電解質材料 を開発した。<sup>5,6</sup> 具体的には図 la に示すように、高い平面 構造を取り、強力なヘテロ原子間相互作用が発現する芳香 環(ベンゾチアジアゾール骨格: BT)をスルホン化フェニ ル・エーテル・スルホン(SPES)の疎水部に導入した新 規プロトン伝導性高分子材料(BT-SPES)である。

本グループのこれまでの成果において、極微量のBT環 を導入することで、その強い分子間相互作用に起因して、 明瞭な相分離構造、そして酸高密度構造形成を促進するこ とを確認している。さらに、電解質中の構造化に伴い、そ の物性は著しく変化する。<sup>5</sup>図 lb,c に示すように、0.1%, 1%の BT環を導入することで、BT-SPES は高い膨潤抑制能 と水が少ない環境での高いプロトン伝導性を発現する。



図 1. (a) 含ヘテロ芳香族系電解質ポリマー (BT-SPES) の化学構 造と相互作用の模式図. BT-SPES と SPES の 80℃における (b) 含水率と (c) プロトン伝導性の湿度依存性.

高い膨潤抑制能と高いプロトン伝導性を両立する電解 質材料は触媒層アイオノマーとして適している。PEFCの 性能低下を引き起こす要因の一つとして、カソード触媒層 内における酸素の拡散律速に伴う物質移動抵抗の増大が 挙げられる。とりわけ、高電流密度領域では反応よって生 成した大量の水により、プロトン輸送を担う電解質ポリマ ー(アイオノマー)が膨潤し、触媒層内の細孔が閉塞する ことで酸素の拡散が著しく阻害されることが分かってい る。7 そのため、PEFC の高性能化に向け、高い膨潤抑制 能を有する電解質ポリマーを用いた触媒層の開発が望ま れる。そこで、本研究ではアイオノマーの膨潤を抑制して 触媒層内の物質移動を改善するために、図2に示すように BT 環を基盤とする電解質ポリマー(BT-SPES)を用いた PEFC 触媒層の開発とその発電特性の評価を行った。

まず、BT-SPEP をアイオノマーとして利用した際、アイ オノマーの膨潤が触媒層内の細孔へ及ぼす影響を検討す るために、相対空孔率φという指標を導入した。φは「ア イオノマーを含む触媒層の空孔体積/アイオノマーを含 まない触媒層の空孔体積」とし、アイオノマーが膨潤した 際の触媒層中における細孔閉塞の程度を示す。



図 2. 高い膨潤抑制能の BT-SPES アイオノマーをカソード触媒 層に用いた MEA の模式図.

膨潤度から各電解質ポリマーの φ を求めた結果、図 3 に示すように、BT 環を導入することによって φ が増加し た。したがって、BT 環基盤の電解質ポリマーをアイオノ マーとして用いることで、細孔閉塞が抑制され、物質移動 抵抗が減少する可能性が示唆された。



図 3. BT-SPES または SPES アイオノマーを用いた触媒層におけ る相対空孔率の湿度依存性.

次に、白金ナノ粒子担持カーボンブラック(Pt/C)触媒 と BT-SPES アイオノマー(アイオノマー/カーボン重量比 = 1)を用いたカソード触媒層を作製し、MEA を組み立て て発電試験を行った。比較として、BT 環を持たない通常 の SPES アイオノマーについても同様の条件で触媒層を作 製し、試験を行った。ここでは、図 3 の計算結果を検証す るために、ガス入口側の湿度(40,60,80% RH)を変えて 試験を行い、BT-SPESの膨潤抑制能が触媒層内の物質移動 抵抗に与える影響を調査した。図4に異なる湿度での発電 性能(IR 損を除いた IV カーブ)を示す。その結果、SPES に比べ、BT-SPESを用いた MEA は、入口ガスの湿度に依 らず、物質移動抵抗に起因した電位の急激な降下が高電流 密度側ヘシフトすることが確認された。このことから、優 れた膨潤抑制能を示す BT-SPES をアイオノマーとして用 いることによって、触媒層中の細孔閉塞が抑制され、酸素 が拡散する空間が維持されるため、高電流密度領域におけ る PEFC の性能が向上することが実証された。多様な環境 で高効率な電池性能を実現するためには、アイオノマーの 設計も重要であることが示された。

# 2.2 低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA の高温低湿度運転

多孔質基材の微小な細孔空間内へ電解質ポリマーを充 填する手法は、酸高密度構造の構築や膨潤抑制の観点から 非常に有用なアプローチである。8-10本グループは、膜厚 5-7 µm と非常に薄く、且つ高い機械強度を有する超高分 子量ポリエチレン多孔質基材細孔内に、高いスルホン酸基 密度を持つパーフルオロ系電解質ポリマーを充填した低 い等価質量(Equivalent weight: EW)の細孔フィリング薄 膜(図 5a)の開発に取り組んでいる。11 従来のキャスト 電解質膜では、低 EW (高いスルホン酸基密度)とした場 合、水に対して極度に膨潤するため、単独で電池への使用 が困難であるが、細孔フィリング薄膜は、図 5b に示すよ うに、基材により電解質ポリマーの膨潤を抑えるため高い 膨潤抑制能を有する。さらに、高いスルホン酸基酸密を有 するため、高温低湿度において優れたプロトン伝導性(図 5c) を示す。このように、本グループの低 EW 細孔フィリ ング薄膜は、高い膨潤抑制能と高温低湿度での高いプロト ン伝導性を両立する膜であり、さらに薄膜化も達成してい る。電解質膜の薄膜化は、MEA での運転において非常に 重要な要素である。PEFC の高温・低湿度運転を行う際、 燃料電池全体の水管理が大切であり、電解質膜の薄膜化は、 拡散距離が短くなることからアノード・カソード間の水透 過を促進し、MEA 全体での湿度管理を容易にする。さら に薄膜化はイオン伝導抵抗の低減にもつながる。



図 4. BT-SPES または SPES アイオノマーを用いた MEA における燃料電池性能 (IR フリーIV カーブ). 運転条件: 60℃、アノード: H₂ガス、カソード: O₂ガス、ガス入口の相対湿度 (a) 40% RH, (b) 60% RH, (c) 80% RH.



図 5. (a) 低 EW 細孔フィリング薄膜および MEA の模式図. (b) 含水時の面積変化率. (c) 80 におけるプロトン伝導性の湿度依存性.

本研究では、開発した低 EW 細孔フィリング薄膜(膜厚 7 μm)を用いた MEA で高温低湿度運転を実証してきた。 図6にセル温度 80℃、アノード側に H2、カソード側に O2 を供給し、ガス入口湿度を変化させた発電試験結果(IV カーブ)を示す。比較として、市販ナフィオン膜(NR-211、 膜厚 25 μm)を用いた結果も示す。図6から、細孔フィリ ング薄膜を用いた場合、アノード、カソード共に相対湿度 20%, 30%の低湿度環境においても、高い発電性能を示して おり、相対湿度の依存性が小さい。一方で、市販膜におい ては、湿度が下がるに従い、顕著な性能低下が確認された。



図 6. 燃料電池性能の湿度依存性(運転温度 80℃). (a) 市販ナフィオン膜、(b) 低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA の結果.

続いて、更なる高温運転での発電試験結果を図7に示す。 ここでは、ガス入口湿度を30% RH で一定とし、セル温度 を80-100℃と変化させた。90℃、100℃の高温運転におい ても、低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA は、市販 膜よりも高い電池性能を示した。低 EW 細孔フィリング薄 膜を用いることで、100℃、30% RH の高温低湿度運転に おいて出力密度は1W cm<sup>-2</sup>に達した。



図 7. 燃料電池性能の運転温度依存性(湿度 30% RH). (a) 市販 ナフィオン膜、(b) 低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA の 結果.

図 6,7 で示した高温低湿度運転での高い発電性能の要因 を調査するために、発電時における IR 損を比較した。図 8 に示すように、低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA の IR 損は、市販ナフィオン膜よりも、特に高電流密度域 において非常に低く、膜抵抗の低減が電池性能の向上につ ながったと示唆された。



図 8. 高温低湿運転における MEA の IR 損. 運転条件: (a) 80℃, 20% RH, (b) 100℃, 30% RH.

さらに、膜を透過する水素クロスオーバー量(膜を通っ てアノードからカソードに透過する水素の量)を MEA で の電気化学測定から評価した。市販ナフィオン膜(膜厚 25 μm)または低 EW 細孔フィリング薄膜(膜厚 7 μm)を用 いた MEA の水素クロスオーバー電流値の相対湿度依存性 を図9に示す。一般的に、膜が薄くなれば、水素クロスオ ーバー量は増加するが、細孔フィリング薄膜は、膜厚が市 販膜の1/4 ほどであるにも関わらず、市販膜と同程度の水 素クロスオーバー量を示した。これは、細孔フィリング薄 膜では、超高分子量ポリエチレン基材が内部の電解質ポリ マーの膨潤を効果的に抑制したことにより、水素クロスオ ーバー量を低減したと考えられる。



図 9. (●) 低 EW 細孔フィリング薄膜、(●) 市販ナフィオン膜 の水素クロスオーバー量. MEA 運転条件: 80℃, 30–100% RH.

以上の MEA での性能評価・解析から、低 EW 細孔フィ リング薄膜は高温低湿度運転に対応できる電解質膜であ ることが実証された。低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA は、高温低湿度運転において、市販膜よりも IR 損を 大幅に低減することが確認された。この要因として、細孔 フィリング薄膜が高いスルホン酸基密度を持つため、低湿 度でのプロトン伝導性が向上している点、そして、膜厚が 市販膜の数分の一であり、カソードでの生成水がアノード 側へより透過し、MEA 全体で適した湿度管理が行われた 点が挙げられる。さらに、低 EW 細孔フィリング薄膜は市 販膜より薄いにも関わらず、同程度の水素クロスオーバー 量であり、ガス透過阻止性に優れた膜であることも確認さ れた。

### 3. まとめ及び今後の展望

本研究は、本グループが開発した含ヘテロ芳香族系電解 質ポリマーと低 EW 細孔フィリング薄膜の実用化に向け て、燃料電池運転下での評価・解析を行った。

強力なヘテロ原子間相互作用による高い膨潤抑制能を 持つ電解質ポリマー(BT-SPES)を触媒層アイオノマーと して利用することで、より高電流密度での燃料電池運転を 達成した。これは、高電流密度領域での高湿度環境で BT-SPESの膨潤度は低いため、触媒層内の細孔が閉塞せず、 酸素ガスの拡散パスが確保され、物質移動抵抗の低減につ ながったためである。本成果は、多様な環境での高効率発 電に向けたアイオノマーの設計・開発に対して重要な知見 を提供する。 さらに、低 EW 細孔フィリング薄膜においても、高温低 湿度での高い電池性能から、その有用性が実証された。特 に、低 EW 細孔フィリング薄膜を用いた MEA は、従来の 膜では実現できなかった 100℃、低湿度での高い電池性能 を実現した。100℃以上の高温運転は水の潜熱を回収でき るため、発電効率の向上につながる重要な結果である。さ らに、細孔フィリング薄膜は高い膨潤抑制能と高いプロト ン伝導性に加え、薄膜であるにも関わらず、ガス透過阻止 性も高いことが分かった。このことから、低 EW 細孔フィ リング薄膜は、燃料電池電解質膜の必要性能を満たした非 常に有望な膜であることが示された。

現在、開発した低 EW 細孔フィリング薄膜の外部企業で の評価を進めている。さらに、本グループでは、燃料電池 運転環境での耐久性評価や更なる高耐久化に向けた膜基 材の材質変更や作製条件の最適化も進めている。これらの 取り組みにより、細孔フィリング薄膜の実用化を積極的に 推進していく。

### 【参考文献】

- G. M. Anilkumar, S. Nakazawa, T. Okubo, and T. Yamaguchi, *Electrochem. Commun.*, 8, 133–136, 2006.
- T. Ogawa, T. Aonuma, T. Tamaki, H. Ohashi, H. Ushiyama, K. Yamashita, and T. Yamaguchi, *Chem. Sci.*, 5, 4878–4887, 2014.
- T. Ogawa, K. Kamiguchi, T. Tamaki, H. Imai and T. Yamaguchi, *Anal. Chem.*, 86 (19), 9362–9366, 2014.
- T. Ogawa, T. Tamaki, and T. Yamaguchi, *Chem. Lett.*, 46, 204–206, 2017.
- S. Amari, S. Ando, and T. Yamaguchi, *RSC Adv.*, 6, 99433–99436, 2016.
- S. Amari, S. Ando, and T. Yamaguchi, *Polymer J.*, 49, 745–749, 2017.
- T. Nakajima, T. Tamaki, H. Ohashi, and T. Yamaguchi, J. Phys. Chem. C, 116, 1422–1428, 2010.
- T. Yamaguchi, F. Miyata, and S. Nakao, *Adv. Mater.*, 15, 1198–1201, 2003.
- T. Yamaguchi, Z. Hua, T. Nakazawa, and N. Hara, *Adv. Mater.*, 19, 592–596, 2007.
- 10. N. Hara, H. Ohashi, T. Ito, and T. Yamaguchi, J. Phys. Chem. B, 113, 4656–4663, 2009.
- Y. Oshiba, J. Tomatsu, and T. Yamaguchi, J. Power Sources, 394, 67–73, 2018.

#### 業 績

### 【原著論文】

Shuntaro Amari, Shinji Ando, and Takeo Yamaguchi 1. "Novel aromatic proton exchange membranes based on thiazolothiazole units" Polymer Journal, 49, 745-749 (2017).

Hidenori Kuroki, Takanori Tamaki, Masashi Matsumoto, 2. Masazumi Arao, Yohei Takahashi, Hideto Imai, Yoshitaka Kitamoto, and Takeo Yamaguchi

"Refined Structural Analysis of Connected Platinum-Iron Nanoparticle Catalysts with Enhanced Oxygen Reduction Activity"

ACS Applied Energy Materials, 1(2), 324-330 (2018).

Takanori Tamaki, Hailin Wang, Nobuto Oka, Itaru Honma, 3. Seong-Ho Yoon, and Takeo Yamaguchi "Correlation between Carbon Structure and Its Tolerance to Carbon Corrosion as Catalyst Support for Polymer Electrolyte Fuel Cells"

International Journal of Hydrogen Energy, 43(12), 6406-6412 (2018).

### 【口頭発表】 【招待・依頼講演】 ·国際学会

- Takeo Yamaguchi, 1. "Research activities of the Membrane Society of Japan" ICOM2017, San Francisco, USA, August 2nd (2017).
- 2. Takeo Yamaguchi "Systematic material design of electro-catalysts and electrolyte membranes for fuel cells" CSIR-CECRI seminar, India, December 11th (2017).
- 3. Takeo Yamaguchi "Hydrogen Society and Systematic Material Design for Fuel cells" SRM University seminar, Chennai, India, December 12th (2017).
- 4. Takeo Yamaguchi "Systematic nano-Material Design for Fuel Cells" INNVENT-2017, Kochi, India, December 13th (2017).
- 5. Takeo Yamaguchi "Systematic design and development of electro-catalysts and electrolyte membranes for fuel cells"

CSIR-NCL seminar, Pune, India, December 14th (2017).

Takeo Yamaguchi 6 "Hydrogen Economy and Systematic Material Design for Fuel Cells" EH-TACAG'17, Pune, India, December 15th (2017).

### ·国内学会

- 黒木秀記、山口猛央 7 「白金合金ナノ粒子連結触媒を用いた次世代燃料電 池カーボンフリー触媒層の開発」 分離技術会年会 2017、神奈川、2017 年 5 月 26 日
- 甘利俊太朗 8. 「ヘテロ原子間相互作用を基盤とした新規芳香族系 高分子電解質膜」 材料化学システム工学討論会 2017、広島、2017 年8 月 30 日
- 9. 黒木秀記 「超臨界流体処理による燃料電池用白金合金ナノ粒 子連結触媒の開発」 化学工学会第 49 回秋季大会、愛知、2017 年 9 月 22 日

### 【一般講演】

### 国際学会

- Yuhei Oshiba, Jin Tomatsu, and Takeo Yamaguchi 10. "Design of thin pore-filling membrane with low equivalent weight PFSA polymer for PEFCs" ICOM2017, San Francisco, USA, July 31st (2017).
- 11. Takaya Ogawa, G.M. Anilkumar, Takanori Tamaki, Hidenori Ohashi, and Takeo Yamaguchi "The rational design for a proton conducting membrane with low dependency on humidity" ICOM2017, San Francisco, USA, August 1st (2017).
- 12. Suntaro Amari, Shinji Ando, and Takeo Yamaguchi "Novel proton exchange membranes based on a benzothiadiazole unit with multiply introduced sulphonic acids"

ICOM2017, San Francisco, USA, August 3rd (2017).

13. Hidenori Kuroki, Vishal Dhavale, Takanori Tamaki, and Takeo Yamaguchi "Structural Control of Carbon-Free Catalyst Layer Using
Connected Platinum-Iron Nanoparticle Catalyst for Improved Mass-Transport in Polymer Electrolyte Fuel Cells"

232nd ECS meeting, National Harbor, USA, October 4<sup>th</sup> (2017).

 14. Takeo Yamaguchi, Jin Tomatsu, and Yuhei Oshiba
 "Thin Pore-Filling Electrolyte Membranes with Low EW Perfluorosulfonic Acid Ionomer and Their PEFC Performances"

232nd ECS meeting, National Harbor, USA, October 4<sup>th</sup> (2017).

- Takeo Yamaguchi "Systematic material design for fuel cells and water splitting technologies" MIRAI seminar 2017, Lund, Sweden, October 18<sup>th</sup> (2017).
- 16. Yuhei Oshiba, Jin Tomatsu, and Takeo Yamaguchi"Thin Pore-filling Polymer Electrolyte Membranes with Low EW Perfluorosulfonic Acid Polymer for Polymer Electrolyte Fuel Cells"

The 11<sup>th</sup> International Conference on Separation Scienceand Technology (ICSST17), Busan, Korea, November 11<sup>th</sup> (2017).

## ·国内学会

- 17. 甘利俊太朗、安藤伸治、山口猛央
   「ベンゾチアジアゾール骨格を基盤とした PEFC 用
   新規酸高密度型芳香族系電解質膜の開発」
   日本膜学会第 39 回年会、東京、2017 年 5 月 26 日
- 藤田遼介、黒木秀記、田巻孝敬、山口猛央 「PEFC 用白金合金ナノ粒子連結触媒の酸素還元特 性の向上へ向けた規則度の制御」
   化学工学会第49回秋季大会、愛知、2017年9月20日
- 19. 甘利俊太朗、安藤伸治、山口猛央
   「スルホン酸基を高密度に有する含ヘテロ芳香族系 高分子電解質膜」
   高分子討論会、愛媛、2017年9月21日
- 20. 大柴雄平、戸松仁、山口猛央
   「PEFC用低EWパーフルオロスルホン酸ポリマー充 填細孔フィリング薄膜の開発」
   化学工学会第 83 年会、大阪、2018 年 3 月 14 日
- 21. 甘利俊太朗、黒木秀記、山口猛央
   「高い膨潤抑制能を有する含ヘテロ芳香族系高分子 電解質を用いた PEFC 触媒層の設計・開発」

化学工学会第83年会、大阪、2018年3月14日

- 22. 菅原勇貴、Lakanathan Moorthi、Kakade Bhalchandra、 黒木秀記、田巻孝敬、山口猛央 「超格子三元系 PtNiCo 触媒を用いた PEFC 用膜電極 接合体の高耐久化に関する研究」 化学工学会第 83 年会、大阪、2018 年 3 月 14 日
- 23. 黒木秀記、宮西将史、田巻孝敬、Anilkumar G. M.、山口猛央
   「直接ギ酸型固体アルカリ燃料電池における高耐久 膜電極接合体の開発」
   化学工学会第83年会、大阪、2018年3月14日
- 24. 藤田遼介、黒木秀記、田巻孝敬、山口猛央 「原子配列規則度制御による PtFe ナノ粒子連結触媒 の酸素還元特性向上」 化学工学会第83年会、大阪、2018年3月14日

【記者発表·取材】

- 日本経済新聞 第 11 面 「燃料電池の寿命長く 東工大など 新触媒を開 発」
   2017 年 8 月 21 日
- 2. 日経産業新聞 第8面 「東工大、液体型の燃料電池 5年後メド低コスト 化」
   2017年9月7日
- TBS「未来の起源」
   2018年1月5日

#### 【特許】

(1) 国内特許出願 3件(2) 国外特許出願 1件

# 「貼るだけ人工膵臓」の開発

研究代表者:東京医科歯科大学 松元 亮

## 【基本構想】

我々は、生体由来材料や機械(エレクトロニクス)を一切用いない水溶性高分子ゲルによる自律型のイ ンスリン供給機構を実証している。グルコースと可逆的に結合するボロン酸をある種の高分子ゲルネット ワーク中に適当な割合で共有結合的に導入すると、グルコース濃度に応答した解離平衡シフトに伴うイオ ン浸透圧変化によるゲルの含水率変化が誘起される。これと同期してゲル表面に生成する「スキン層」と 呼ばれる薄い脱水収縮層が、血糖値に応じたインスリン放出の制御機構として作用する。非天然分子であ るが故の免疫毒性の回避、安定性(環境耐性、長期保存、滅菌処理耐性など)に加え、スキン層による拡散 制御方式の特徴として、早い応答性(低血糖を避け正確な血糖値コントロールに有利)、表面局在性(ゲル の形状や大きさに依存しない投与量設定が可能)、静注針や埋め込みデバイスなどの既存技術との親和性が 挙げられる。本研究では、 マイクロニードル等の低侵襲皮下導入技術と融合し、丈夫で廉価、患者の使用 負担を格段に軽減する「次世代型の人工膵臓」いわば「貼るだけ人工膵臓」の開発を目指す。今日、糖尿病 は地球規模での健康に対する大きな脅威と認識されている。今後は先進国のみならず、中国、インド、ア フリカ地域における患者数の爆発的増加が確実視されている。1型糖尿病患者を対象とするインスリンポ ンプの世界市場規模は、2010年時点では7.2億ドルであり、2017年には12億ドルに達する見込みである。 2型糖尿病まで含めると2030年には4900億ドル(50兆円)まで拡大すると推定される(BCC・リサーチ、 2010年)グローバルな巨大市場である。「貼るだけ人工膵臓」では、「アジア型」と呼ばれ日本人高齢者に 多い2型糖尿病患者を当初のターゲットとしつつ、徐々に対象患者を拡大し、インスリン療法を必要とす る全ての糖尿病患者を対象に獲得市場を拡大(1兆円規模)していくことを想定している。

#### 1. 研究目的

Fig.1とFig.2に、「貼るだけ人工膵臓」デバイスの概 念図と動作原理の模式図を示す。プロジェクト1年目とな る平成29年度は、マイクロニードル融合型人工膵臓の設 計と基本性能評価を実施した。具体的には、グルコース応 答性ゲルと再生絹フィブローインとを融合した構造にフ ォーカスした。フィブローインは極めて優れた力学的特性、 生体適合性および化学的に可変な生分解性を有し、手術糸 や硬組織欠損部代替(埋め込み)材料として広く利用され ている生体材料である。当該(ゲルとの)融合材料におけ る化学構造の最適化、ミクロ相分離を制御した調製、内部 ミクロ構造の制御、分解安定性、力学的特性、皮膚刺入性、 血糖値変動に応答したインスリンリリース挙動、マウス皮 膚への装着方法等について評価した。これらの検討を通じ て、H30年度に本格的に着手する小・中動物での機能評価 の準備を完了した。

# Continuous glucose monitoring Electronic free Autonomous issulin delivery Painless & convenient Autonomous Painless & convenient

Fig. 1. Artificial on-skin pancreas this project aims to develop.



Fig.2. Schematic of glucose-responsive insulin release.

の断面 SEM 観察像を示す。ハイブリッド材料においては、 多孔性でかつ連通孔様の微小構造が観測された。これは、 選択した水-メタノール混合溶媒中において、ラジカル反

#### 2. 研究成果

(1) 再生絹フィブローイン融合型ハイブリッドゲルの調製条件の検討.

Fig. 3に示すように、ゲルを構成する各モノ マー、架橋剤、再生絹フィブローインの濃度、 それらの混合比、溶媒、反応温度等を系統的 に検討した。これらのパラメーターを最適化 することで、均一でかつ再現性良く、ハイブリッド材料化 するプロセスを開発した。Fig. 4に各材料(ゲル単独、ハ イブリッド材料、メタノール処理後のハイブリッド材料)



Fig. 3. Preparation of hybrid hydrogels.

応の進行に伴い誘起するミクロ相分離が寄与するものと考 えられる(特願 2018-053817)。この特徴的なモーフォロジー は(シルクのβシート結晶化を促進して強固な力学特性をも たらすために実施する)メタノール処理後にも高度に保存さ れた。当該連通孔様構造の獲得により、持続性の高いインス リン放出挙動(後述)が達成された。

Fig. 5 には、各材料形態の安定性 (PBS 中、生理的条件下での分解性)評価の結果を示した。なお、本研究で指向する「貼るだけ人工膵臓」の持続性としては1週間以上を目標としている。ゲル単独、ハイブリッド材料では、6 日間のインキュベーションによる質量損失がそれぞれ 12.4±6.4%、25.1±4.2%であったのに対し、メタノール処理後のハイブリッド材料ではこれが2%以下に抑制された。

## (2) マイクロニードルの作製.

以上の検討結果を踏まえ、市販または共同研究先企業から 提供されたシリコン製のモールドを用いたマイクロニードル 作製を検討した。成形性と安定性(mechanical integrity) の観点から様々なプロトコールを検討した。その一例を Fig. 6 に示す。この例では、針の先端部(機能部位)のみを上 記ハイブリッド材料により成形し、基底部分はシルクのみの 構造としている。Fig. 7 には、機能部位の厚みを変えて調整 したマイクロニードルの光学顕微鏡および共焦点顕微鏡画像 を示す。さらに、Fig. 8 に示すように、蛍光修飾したインス リンをロードして蛍光顕微鏡により観察したところ、マイク ロニードル構造全域にわたって均一にインスリンが分布す る様子が確認された。Fig. 9 には、PBS 中で7日間インキュベ ートする前後でのマイクロニードル機能部位(先端微細



**Fig. 6.** Schematic of hybrid MNs fabrication using strategy 6 and APS/TEMED catalyzed polymerization.



Fig. 4. SEM images of (A) hydrogel formed by NIPAAm/PBA, (B) hybrid hydrogel combining NIPAAm, PBA and SF, (C) hybrid hydrogel treated with MeOH. Scale bar:  $20 \mu m$ .







Fig. 7. Optical microscope and confocal microscope images of two layer MNs fabricated by strategy 6 and APS/TEMED catalyzed polymerization.



Fig. 8. Confocal microscope images of two layer MNs. Green: FITC-labelled bovine insulin, red: Rhodamine B chemically incorporated into gel.



Fig. 9. SEM images of (A) pure SF MNs and (B) two layer hybrid MNs after incubation in PBS for 7 days at 37 °C.



Fig. 10. Schematic of two mechanical strength test methods. (A) The plate moves horizontally until needle break. (B) Load cell moves vertically until reaching 10 kg force.

Table. 1. Mechanica	l strength of MNs	tested by Method 1.
---------------------	-------------------	---------------------

MNs	Mechanical strength (N/needle)
Pure SF MNs	$0.94 \pm 0.08$
Hybrid MNs (monomer conc. 0.6M, 15% crosslinking)	$0.72 \pm 0.05$

Table. 2. Mechanical strength of MNs tested by Method	2
---	---

MNs	Mechanical strength (N/needle)	
Pure SF MNs	$0.685 \pm 0.023$	
Hybrid MNs 0.6M monomer conc., 5% crosslinking	$0.277 \pm 0.037$	

構造) について、シルク単独でモールドしたものと比較し た SEM 観測画像を示す。いずれの場合も質量損失が1%以 下に抑制され、高い安定性が確認された。Fig. 10 には、作 製したマイクロニードルについて実施した力学的特性評 価の方法、Table 1、2 にはその結果をまとめた。フィブロ ーイン単独のものと比べて、ハイブリッドマイクロニード ルでは、ポリマー濃度や架橋剤密度により多少の低下がみ られるが、これらの値は典型的なマイクロニードル材料で あるヒアルロン酸やポリ乳酸系材料と比べて 10 倍程度高 いものである。Fig. 11 には、ブタ皮膚に対する刺入性試 験の結果をまとめた。上記マイクロニードルの力学的特性 と皮膚刺入性の間には相関性が知られており、我々が開発 したシルクハイブリッドマイクロニードルでは、その高い 力学的特性を反映した優れた刺入性が確認された。なお、 本実験は、マウスの皮膚試料や生体皮膚に対しても実施し ており、いずれにおいても良好な刺入性が確認された。 Fig. 12 には、作製したマイクロニードルの背面にインス リンリザーバーを搭載して実施したリリース実験結果の 一例を示す。なお、この実験は、我々が以前に報告した高 速液体クロマトグラフィー装置を用いる方法により実施 した。Fig. 12 に観測されるように、人工的に与えられた グルコースのパターンを高度に追随したインスリン放出 制御が達成された



Fig. 11. Electrical microscope of porcine skin treated with PBS, SF MNs or hybrid MNs and stained with trypan blue to indicate the formation of micropores. (B) Cross-sectional image of H&E-stained porcine skin treated with PBS or hybrid MNs. (C) SEM image of porcine skin treated with PBS, SF MNs or hybrid MNs. (D) SEM image of hybrid MNs after skin insertion.



Fig. 12. In vitro glucose responsive release of MNs attached with reservoir at (A) 37 °C and (B) 32 °C. (C) Optical microscope and SEM images of hybrid MNs after in vitro release experiment.

# 業績

# 【原著論文】

 Akira Matsumoto, Miyako Tanaka, Hiroko Matsumoto, Kozue Ochi, Yuki Moro-oka, Hirohito Kuwata, Hironori Yamada, Ibuki Shirakawa, Taiki Miyazawa, Hitoshi Ishii, Kazunori Kataoka, Yoshihiro Ogawa, Yuji Miyahara, Takayoshi Suganami

Synthetic "smart-gel" provides glucose-responsive insulin delivery in diabetic mice

Sci. Adv. eaaq0723, 2017.

 Akira Matsumoto, Yuji Miyahara Borono-lectin" based Engineering as a Versatile Platform for Biomedical Applications Sci. Technol. Adv. Mater. 19, 18-30, 2017

## 【総説】

1. 松元亮

困難な人工膵臓を実現した、研究者の好奇心とは NHK 出版「今日の健康」2月号.

## 【口頭発表】

1. 田中 都 他、スマートインスリンデバイスによる新しい糖尿病治療戦略の開発、第 90 回日本糖尿病学会年次学 術総会、2017.4.20-22.

2. 桒田博仁 他、エレクトロニクスフリーなスマートイン スリンデバイスによる新規糖尿病治療戦略の開発、第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会、2017.5.18-20.

3. 松元 亮、生体分子との相性が抜群な'ボロン酸工学'' の発展を目指して、第 10 回ナノバイオ若手ネットワーキ ングシンポジウム、2017.6.9-10.

4. 松元 亮 他、貼るだけ人工膵臓」の開発、KISTEC研 究報告会、2017.7.18.

5. 松元 亮, 菅波孝祥、糖応答性高分子ゲルによるインテ リジェント型インスリンポンプの開発、第6回「産業基盤 の創生」研究成果報告会、2017.8.08.

6. 松元 亮、スマートゲルと皮下挿入技術を融合した人 工膵臓デバイスの検討、第66回高分子討論会、2017.9.20-22.

7. 田中 都 他、グルコース応答性ゲルを用いた自律的インスリンデバイスの開発、38 回日本肥満学会、2017.10.7-8.

8. 松元 亮、「貼るだけ人工膵臓の実用化を目指して」、 Innovation Leaders Summit 2017、2017.10.25.

9. 松元 亮、「ボロノレクチン」を利用したバイオエンジニ アリング、第5回レクチン利用技術研究会・ワークショッ プ、2018.1.15.

10. 松元 亮、Synthetic "smart-gel" based approach toward "electronics-free" artificial pancreas、 The 11th international conference on advanced technologies and treatment for diabetes, 2018.2.13-17.

11. 桒田博仁 他、グルコース応答性ゲルを用いたエレクトロニクスフリーな新規インスリンデバイスの開発、第32回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会、2018.2.23-24.
 12. 松元 亮、'、ボロノレクチン'、を基盤とする生態計測とドラッグデリバリーシステム、第36回機器分析講座高分子による生体関連センサーの開発と IoT 社会への展開、2018.3.2.

13. 菅波孝祥 他、スマートインスリンデバイスによる革 新的な糖尿病治療機器の開発、生体医歯工学共同研究拠点 研究成果報告会、2018.3.9.

## 【特許】

(1) 国内特許出願 1件(2) 国外特許出願 0件

# 有機超弾性材料の導出

# 研究代表者 横浜市立大学 高見澤 聡

#### 【基本構想】

本プロジェクトは、研究代表者が見出した有機結晶における超弾性現象の実用化を目指す。超弾性は塑 性変態した固体が自発的に構造回復する特性である。この特性を活かし、超弾性合金・形状記憶合金はメ ガネのフレームや歯列矯正器具などに用いられてきた。しかし、超弾性は特殊な合金でのみ見られる特異 な物理特性と考えられており、その発展は極めて限定的であった。有機物での超弾性や形状記憶の機能実 現は、開発しうる新規素材の種類を格段に増やし、その応用範囲もまた大きく広がる。有機分子の高い設 計性を利用し、超弾性と有機分子の特異な機能との複合化を行うことで、単に合金代替でない新たな使用 方法に繋がる有機超弾性材料を創出する。

#### 1. 研究目的

本研究は、有機物の柔軟性・透明性・軽量性・機能性を 活かした超弾性現象の実用化を目的としている。合金に比 べ、有機物では多様な分子が超弾性を発現する。これは、 分子性結晶の超弾性が合金における超弾性の機構を逸脱 したしていることが一因と考えられる。そこで戦略的研究 シーズ育成事業では、超弾性を示す有機物材料を設計・合 成・評価し、物質一般で超弾性発現に必要な条件を明らか にする。これにより、新規素材創出や用途開発の基盤とな る基礎的な知見を蓄積する。究極的には、実用可能な有機 超弾性材料の創出を目指す。

#### 2. 研究成果

戦略的研究シーズ育成事業では、入手容易な有機化合物 における超弾性挙動の探索を行った。その過程で、自発的 形状回復能を持たない有機強弾性体を見出した。有機強弾 性は超弾性と変形機構において高い類似性を有しており、 現在不明瞭な有機超弾性発現機構の解明への寄与が期待 できるだけでなく、効率的なエネルギー散逸性によるエネ ルギー吸収材として利用できる可能性がある。有機化合物 は球形で近似できない明確な立体構造を有しており、本研 究で対象とする有機結晶の固体変形は結晶を構成する分 子構造や分子運動性とカップルして発現する可能性があ った。強弾性そのものは金属結晶・特殊な無機結晶で既知 の現象ではあるが、分子構造変化を媒介とする発現機構は これまでに報告されていない新規な機構であったため、 我々は観測した有機結晶の強弾性を"有機強弾性"と名 付けた。以下に詳細な研究実施内容および研究成果を示す。 平成29年度内においては、3件の原著論文、6件の招待講 演(内国際会議2件、国内学会・講演会4件)として結実し た。

(1) 有機強弾性評価法の確立と分子配向変化による有機 強弾性

自発的なひずみを示す現象である強弾性は、固くて丈夫 な原子性固体において研究されてきた。これに対して、も ろい有機結晶では機械特性の評価が困難であり、詳細な研 究がなされてこなかった。我々は、有機化合物における超 弾性挙動の探索の過程で、5-クロロ-2-ニトロアニリン結 晶が強弾性を示すことを見出した。これまでに培ってきた 有機超弾性体評価法をさらに発展させることで、マクロと ミクロ両方の視点から有機強弾性体の特性を解明するこ とに成功した。本研究成果に関しては、その新規性と重要 性から有力な化学系国際誌である Angewandte Chemie (IF: 11.9)の Very Imporant Paper に選ばれ、内表紙を飾った (Angew. Chem. Int. Ed. 2017, 56, 15772; 15882-15885)。

本研究では、有機強弾性体である 5-クロロ-2-ニトロア ニリン結晶の応力測定(図 1)および X 線結晶構造解析(図 2)を行った。結晶をせん断すると、双晶ドメインの生成に より結晶が変形する(図 1 右)。力を除荷しても結晶の形状 は戻らず、ひずみが残留する。この結晶に逆方向から力を 加えることで、双晶ドメインが縮小・消失し、結晶が元の 形状に戻る。この過程での応力-ひずみ曲線は典型的な強 弾性ループとなっていた。



図1 5-クロロ-2-ニトロアニリン結晶の応力-ひずみ曲線

続いて、結晶変形機構を明らかにするため、変形状態の 結晶について単結晶 X線結晶構造解析を行った(図 2)。そ の結果、元の結晶ドメイン( $\alpha_0$ )と新たに生じた双晶ドメ イン( $\alpha_1$ )の界面は(10-1) $_{\alpha0}$ /(-101) $_{\alpha1}$ と決定された。2種 のドメイン中の分子を比較したところ、界面で分子配向が 変化することで双晶変形が進行していることが分かった。 このような機構は原子性固体ではあり得ない機構であり、 有機分子の構造異方性に基づくものである。



図2 5-クロロ-2-ニトロアニリン結晶の強弾性変形と 分子配向変化の様子

(2) 芳香族分子のコンフォメーション変化に基づく有機 強弾性

安息香酸 2 分子がエーテル結合により連結された非平 面構造を持つ 4,4' -ジカルボキシジフェニルエーテル結 晶においても、双晶変形による強弾性的挙動を確認した。 (1)で確立した有機強弾性体の評価法を適用し、芳香族分 子のコンフォメーション変化による双晶変形の機構を明 らかにした。本研究成果は、Royal Society Open Science 誌(IF:未発表)に掲載された(R. Soc. open sci. 2018, 5, 171146)。

強弾性的挙動を示した 4,4' -ジカルボキシジフェニル エーテル結晶について応力測定を行った(図 3)。せん断に よる双晶ドメインの生成と消失が確認され、得られた応力 -ひずみ曲線は典型的な強弾性ループであった。

この結晶における双晶変形機構を解明するため、双晶変 形した結晶について単結晶 X 線構造解析を行った(図 4)。 その結果、元の結晶ドメイン( $\alpha_0$ )と新たに生じた双晶ド メイン( $\alpha_1$ )の界面は(-1-1-1) $_{\alpha0}//(111)_{\alpha1}$ と決定された。 この双晶界面では、 $\alpha_0 \ge \alpha_1$ ドメイン中の分子がカルボキ シル基間のねじれた水素結合で連結されていた。また、双 晶変形の際、ベンゼン環のフリップによる分子のコンフォ メーション変化が誘起されていることが示唆された。



図3 4,4'-ジカルボキシジフェニルエーテル結晶の 応力-ひずみ曲線



図4 4,4'-ジカルボキシジフェニルエーテル結晶の 強弾性変形とベンゼン環のフリップの様子

(3) 脂肪族分子のコンフォメーション変化に基づく有機 強弾性

芳香族分子に加えて、直鎖脂肪族分子:アジピン酸、に おいても双晶変形による強弾性的挙動を確認した。原子性 固体に比べて小さな力で駆動でき、かつ効率的なエネルギ 一消散が見られた。本研究成果は、Physical Chemistry Chemical Physics誌(IF:4.123)に掲載された(Phys. Chem. Chem. Phys. 2018, 20, 4631-4635)。 これまでの有機強弾性体と同様に、応力-ひずみ曲線は 典型的な強弾性ループを示した(図 5)。単結晶X線結晶構 造解析の結果、この双晶変形は界面でのアルキル鎖のコン フォメーション変化に帰属できた(図 6)。本成果により、 有機結晶の双晶変形では有機分子の異方性のみならず分 子構造柔軟性が強弾性発現に寄与するのが明らかとなっ た。



図5 アジピン酸結晶の応力-ひずみ曲線



図6 アジピン酸結晶の強弾性変形とコンフォメーション変 化の様子

# まとめと今後の展望

戦略的研究シーズ育成事業では、有機化合物における超 弾性挙動の探索と結晶構造解析を主とした超弾性発現条 件の絞り込みを行ってきた。平成 29 年度においては、有 機強弾性体の評価法を確立し、分子性結晶における結晶変 形機構を明らかにすることができた。ここに、自発的形状 回復を誘起する因子を導入することで、有機超弾性体の設 計が可能になる。

今後は本研究で得られた結晶変形に関する知見を基に 有機超弾性体を設計していく予定である。特に、光・磁気・ 電気といった物性と超弾性のカップリングにも着手しつ つ、機能化の観点もとりいれながら有機超弾性材料の実用 化に向けた開発基礎研究を加速させる予定である。

# 業績

# 【原著論文】

- S. H. Mir, Y. Takasaki, E. R. Engel, S. Takamizawa\*, Ferroelasticity in an organic crystal: a macroscopic and molecular level study, Angew. Chem. Int. Ed. 56(50), 15882-15885 (2017). (VIP, inside cover)
- E. R. Engel, Y. Takasaki, S. H. Mir, S. Takamizawa\*, Twinning ferroelasticity facilitated by the partial flipping of phenyl rings in single crystals of 4,4'-dicarboxydiphenyl ether, R. Soc. open sci. 5, 171146 (2018). [6 pages]
- 3. S. H. Mir, Y. Takasaki, S. Takamizawa\*,
  - An organoferroelasticity driven by molecular conformational change,

Phys. Chem. Chem. Phys., 20, 4631-4635 (2018). (First published on 04 Dec 2017) (Cover)

# 【口頭発表】

1. S. Takamizawa (Invited)

Organosuperelasticity: New physical element in chemistry ICCOSS XXIII (23rd International Conference on Chemistry of the Organic Solid State) (Stellenbosch, South Africa, Apr. 2-7, 2017)

2. S. Takamizawa (Invited)

Discovery of Superelasticity and Shape-memory Effect in Organic Crystals

ICOMAT 2017 (International Conference on Martensitic Transformations) (Chicago, US, Jul. 9-14, 2017)

- 3. 高見澤聡(招待講演)
  - 有機超弾性研究の紹介

ソフトロボット:メカニカル材料シンポジウム(2017 年5月27日、早大西早稲田キャンパス)

4. 高見澤聡(招待講演)

ソフトクリスタルにおける超弾性の潜在性と可能性 科研費ソフトクリスタル:高秩序で柔軟な応答系の学 理と光機能 第1回公開シンポジウム(青山学院大学 2017.9.25)

5. 高見澤聡(招待講演) 有機超弾性研究の発見 学術研究活性化委員会企画シンポジウム「単結晶金属 錯体の構造と電子状態の転移ダイナミクス」日本化学 会 第 98 春季年会 (日大船橋 2018.3.21)  高見澤聡(招待講演)
 有機超弾性の発見と意義そして研究の現状 エポキシ樹脂技術協会特別講演会(グランドヒル市ヶ谷 2018.3.27)

## 【特許】

(1) 国内特許出願(作業中) 1件

# 革新的環境調和機能性材料の創出

研究代表者 東京工業大学 東 正樹

#### 【基本構想】

全てのモノがインターネットにつながる IoT 社会の実現に向けて、電子デバイスの消費電力の 低減や、環境負荷の小さい材料の開発が求められている。例えば、電流ではなく電場による磁化 の制御が可能なマルチフェロイック物質は、低消費電力不揮発性メモリ材料として期待されてい る。また、センターやアクチュエーターとしてインクジェットプリンターや超音波診断機などで 使われている圧電体の主流材料である PZT は、毒性元素である鉛を多量に含むため、代替物質 の開発が望まれている。さらに、精密加工、半導体製造、光学、計測、電子デバイスといったナ ノテクノロジー分野では熱膨張によるわずかな位置ズレも許容できなくなってきており、熱膨張 制御の強い要請がある。研究代表者は Co ドープ BiFeO3 を薄膜形態で安定化させ、室温で弱強 磁性と強誘電性が共存するマルチフェロイック物質であること、分極回転の起こりうる結晶構造 で圧電特性が向上することを実験的に確認した。また、サイト間電荷移動という全く新しいメカ ニズムで室温で巨大な負の熱膨張を示す BiNiO3 ベースのペロブスカイト型酸化物を発見し、新 聞報道されるなど注目を集めた。本プロジェクトでは、精密構造解析と電子状態解析に基づく物 質設計で、低消費電力不揮発性メモリ材料につながる強磁性強誘電体や、風や振動から電気エネ ルギーを生む圧電発電のための非鉛圧電体、外気温の変化から生じる熱歪みを吸収する負熱膨張 材料などの、革新的な環境調和機能性材料の開発を目指す。

#### 1. 研究目的

プロジェクト1年目となる 29 年度は、以下の各項目を 重点項目として研究を行った。

#### (1) 非鉛圧電体の開発

非鉛圧電体の開発には、代表的な鉛系圧電体である PbZr1-,Ti<sub>x</sub>O3 (PZT)に倣った材料設計を行う事が大切であ る。28 年度に論文・新聞発表した、格子定数の小さな LaAlO3基板上に成長させたBiFe1-xCoxO3 (BFCO)薄膜では、 対称性から電気分極の方向が変化(回転)できる、Maと 呼ばれる単斜晶の結晶構造相で、圧電応答が増大する。こ れは PZT の巨大圧電応答の起源であるとされているメカ ニズムである。LaAlO3基板の方位を変え、c軸を面内に倒 すことで,分極が回転できる余地を大きくすることでの圧 電性向上も目指す。

SrTiO<sub>3</sub> が常誘電の立方晶ペロブスカイト構造を持つの に対し、Sr をイオン半径の大きな Ba で置換した BaTiO<sub>3</sub> は極性構造を持つ強誘電体である。さらに、立体活性を持 っ Pb で置換した PbTiO<sub>3</sub> では、強誘電性の目安である *c/a* 比が 1.064 に増大する。PbTiO<sub>3</sub>型の構造を持つ酸化物に、 PbVO<sub>3</sub> がある。ここでは  $d^1$ 電子配置を持つ V<sup>4+</sup>の  $d_{xy}$ 軌道 秩序のため、c/a=1.21 という巨大な正方晶歪みが実現して いる。SrTiO<sub>3</sub>、BaTiO<sub>3</sub>、PbTiO<sub>3</sub> からの類推では BaVO<sub>3</sub> も 極性構造を持つと期待されるが、高圧合成で得られた BaVO<sub>3</sub> は立方晶構造を持つ。そこで、基板からのエピタキ シャル応力を利用できる薄膜の形で、極性の Sr<sub>1-x</sub>Ba<sub>x</sub>VO<sub>3</sub> の合成に挑戦する。

#### (2) 強磁性強誘電体の開発

BiFe0.9Co0.1O3 薄膜を格子定数のミスマッチの小さな 111 配向 SrTiO<sub>3</sub>や GdScO<sub>3</sub> 基板上に成膜すると、結晶構造が菱 面体晶に変化する。この際、反強磁性秩序したスピンの方 向と電気分極の方向が直交するため、両者と直交する方向 に、ジャロシンスキー守谷相互作用による自発磁化が現れ、 強誘電性と強磁性が共存する。電気分極と磁化方向は直交 しているので、一度分極を面内に倒し、それから反対方向 に向けることで、磁化を反転できると期待できる。既に GdScO3 基板上に成膜した薄膜試料について、原子間力顕 微鏡 (MFM) による磁気ドメインと圧電応答顕微鏡 (PFM) による強誘電ドメインの観測に成功している。さらに、 10Vの電圧印加で電気分極の方向を変える(分極処理)と、 磁気ドメインの形状の変化することを確認済みである。分 極処理の方向を変え、磁化が反転する条件を明らかにする。 これにより、電場による磁化反転を狙っておこせるように なる。

#### (3) 負熱膨張物質の開発

有機錯体法で前駆体を調製する事で 3GPa までの低減に 成功した BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub>の合成圧力を、さらに 2GPa にまで 低減し、産業化への道を拓く。クエン酸の代わりにギ酸を 用いたり、熱処理条件の最適化で前駆体の結晶化を防ぐ事 で目的を達成する。また、戦略的シーズ育成事業で開発し た Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub> についても、同様に合成圧力を低減する。

還元処理した Ca2RuO4 は常圧下の固相反応方で合成で きる上、-123℃ から 72℃ に渡って-115×10<sup>-6</sup>/ ℃ もの負熱 膨張を示す。しかしながら高価な Ru を含むため、構造材

223

料には適さない。また、針状結晶の長手方向が膨張し、面 内方向が収縮することが焼結体の負熱膨張につながると 考えられるが、異方的熱膨張の起源は不明である。放射光 X線回折でそのメカニズムを解明する。

# 2. 研究成果

以下に挙げるのは、平成 29 年度の具体的な研究成果で ある。

#### (1) 非鉛圧電体の開発

単斜晶相 Co 置換 BiFeO3 では、c 軸長よりも a, b 軸長の 方が、分極回転に対してより敏感に変化すると報告されて いる。そのため、(001)配向の薄膜試料よりも、これらの軸 を含んだ(101)や(110)、(100)等の配向はより大きな応答を 示すと期待される。(110)pc配向の LaAlO3 基板上に作製し た(101)pc配向の Ga 置換 BiFeO3 薄膜の圧電特性を評価した 結果、従来の(001)配向を 1.6 倍程度も上回る圧電応答が発 現することが確認された(図 1-1)。これより、分極回転に 対して敏感な軸方向への配向制御が Bi 系ペロブスカイト の圧電応答向上に有効であることが明らかとなった。



図 1-1 BiFe<sub>1-x</sub>Ga<sub>x</sub>O<sub>3</sub> 薄膜における圧電応答のGa置換量依存性と配向依存性

パルスレーザー堆積(PLD)法を用いて、SrTiO3(STO)、 (LaAlO<sub>3</sub>)<sub>0.3</sub>-(SrAl<sub>0.5</sub>Ta<sub>0.5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>0.7</sub> (LSAT), LaAlO<sub>3</sub>(LAO)の(001) 単結晶基板上に Sr1-xBaxVO3 (x = 0-1.0)薄膜試料を作成し、 結晶構造と電気抵抗率の温度依存性を調べた。その結果、 基板によらず c 軸方向に配向した薄膜試料の合成に成功 した。逆格子マッピング測定(RSM)から、STO 上と LSAT 上に成膜した薄膜がコヒーレントに成長していることが 確認できた。一方 LAO 上に成膜した薄膜は、Ba 置換に伴 い格子緩和を生じることがわかった。また、Ba 置換によ る c/a 比の増加が確認できた LSAT 上に成膜した薄膜で電 気抵抗率の温度依存性を調べた結果、Ba 置換に伴い電気 伝導率の上昇を確認し、Ba置換量が0.4以上で温度変化に よる金属絶縁体転移を観測した。これらの結果は、Ba 置 換に伴う c/a 比の増加が電気抵抗に影響を及ぼしており、 PbVO3 と同様の軌道秩序が起きていることを示唆してい る(図 1-2)。



図 1-2 SBVO/LSAT の格子定数、c/a、単位胞体積の Ba 置換量依存性(左)と SBVO/STO の電気抵抗温度依存性(右)

#### (2) 強磁性強誘電体の開発

室温で強磁性の発現が期待される BiFe0.9Co0.1O3 (BFCO) 薄膜を PLD 法を用いて作製し、電場印加磁化反転の直接 観察を試みた。(110)。配向の GdScO3 基板に作製された BFCO 薄膜は格子歪みの少ない結晶性に優れた試料であ り、室温で面直の磁化成分を有すること確認された。圧電 応答顕微鏡(PFM)と磁気力顕微鏡(MFM)を用いることで、 強誘電および磁気ドメインの直接観察に成功した。磁気ド メインが強誘電ドメインと同じストライプ構造を持つこ とから、両者は相関を持つと明らかとなった。電場印加に よって電気分極の面直成分を反転させたところ、ドメイン 形状を維持する 71°分極反転が起きた場所では、面直磁化 成分が反転していることが確認された(図 2)。これより、 室温弱強磁性強誘電体 BFCO は電場による磁化制御が可 能であると明らかになった。将来の低消費電力磁気メモリ への応用が期待される。この成果は特許を申請、論文も投 稿中である。



図 2 BiFe0.90C00.10O3/GdScO3 薄膜の分極反転前後の PFM 像と MFM 像。強誘電ドメインの 71°スイッチングに伴い、磁化の面 外成分が反転していることがわかる。

強磁性体薄膜は記録媒体として、また、スピン流生成の ために重要な材料である。Aサイト秩序型四重ペロブスカ イト LnCu<sub>3</sub>Mn<sub>4</sub>O<sub>12</sub>(*Ln*=希土類元素)は、平面四角形サイト の Cu<sup>2+</sup>と八面体サイトの Mn<sup>3+</sup>が反強磁性的に秩序するフ ェリ磁性体として知られる。350 K 以上の高いネール温度 (*T*<sub>N</sub>)を持つこと、大きな磁気抵抗効果を示すことからスピ ントロニクスへの応用が期待されている。YAO(110)。基板 上に PLD 法で成膜することで、*Ln*= Ce, Nd, Gd, Ho の薄膜 試料の作製に成功した。中でも CeCu<sub>3</sub>Mn<sub>4</sub>O<sub>12</sub>は室温をはる かに超える 420K の磁気転移温度と、式量あたり 9μB の大 きな飽和磁化を持つ事から、スピントロニクスデバイスへ の応用が期待できる。このため、特許申請を行った。

#### (3) 負熱膨張物質の開発

BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub> については、ギ酸を用いた有機錯体法で調整した原料を用いる事でも、3GPa での合成が可能である ことを確認した。また、キヤノンとの共同研究で、熱可塑 性樹脂であるポリカーボネートを用いたゼロ熱膨張コン ポジットの作成方法を確立した。一方で、Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub> に おいては転移が 2 次的になり、昇温によって連続的な体積 収縮が起こるため、温度履歴が抑制される事がわかった。 低温相においては Bi<sup>3+</sup>と Bi<sup>5+</sup>への電荷不均化が起こってい るが、放射光X線 PDF 解析の結果、これらは長距離秩序 を持たず、また、Bi<sup>3+</sup>の 6s<sup>2</sup>孤立電子対の秩序も消失した、 空間群 P21/mの構造を持つ事がわかった。この成果は Appl. Phys. Exp.誌に掲載が決定した。(論文発表 8)



図 3-1 放射光X線 PDF 解析で解明した Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub> の結晶構造

Ca2RuO4 については、高価なルテニウムを 8%程安価な 鉄で置換しても良好な負熱膨張特性を保つことを確認し た。また、ゼロ熱膨張コンポジットの作成に成功した。 PbTiO3型結晶構造の PbVO3は、d<sup>1</sup>電子配置の V<sup>4+</sup>イオンの ヤーンテラー効果のため、c/a=1.21 と巨大な正方晶歪みを 持つ。Pb<sup>2+</sup>を Bi<sup>3+</sup>で一部置換し、電子ドープを行った Pb<sub>1-x</sub>Bi<sub>x</sub>VO<sub>3</sub>は、最大 8%もの体積収縮を伴った負熱膨張を 示す事を見いだした。La<sup>3+</sup>, Bi<sup>3+</sup>両置換を行った Pb<sub>0.76</sub>La<sub>0.04</sub>Bi<sub>0.20</sub>VO<sub>3</sub>は、230Kから410Kの間で、6.7%の体 積収縮を示す。これは、これまでに報告されている負熱膨 張材料の中で最大の体積収縮である。(発表論文10、発明 届け済み)



図 3-2 Pb<sub>0.76</sub>La<sub>0.04</sub>Bi<sub>0.20</sub>VO<sub>3</sub>の単位格子体積の温度変化 (上)と熱膨張曲線(下)

#### 3. 今後の展開

室温での電場印加磁化反転の観察に成功した BiFe0.90Coo.10O3に関し、リソグラフィーで円板上に微細加 工を行い、単一ドメイン化を図る。成功すれば上部電極と ホール素子を成膜し、電極を用いた電場印加による分極反 転と、ホール素子による磁化反転の検出を行い、メモリデ バイスとしての動作を実証する。

巨大負熱膨張材料 BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub>については、人造ダイヤ モンドを生産している企業への製造委託を行うべく調整 中である。上手くいけば、先ずはサンプル品として販売を 行い、各企業との共同研究へとつなげる。 業績

# 【原著論文】

- Y. Okimoto, S. Naruse, R. Fukaya, T. Ishikawa, S. Koshihara, K. Oka, M. Azuma, K. Tanaka, H. Hirori Ultrafast Control of the Polarity of BiCoO<sub>3</sub> by Orbital Excitation as Investigated by Femtosecond Spectroscopy Phys. Rev. Appl., 7, 064016 (2017).
- Z. Pan, J. Chen, X. Jiang, L. Hu, R. Yu, H. Yamamoto, T. Ogata, Y. Hattori, F. Guo, X. Fan, Y. Li, G. Li, H. Gu, Y. Ren, Z. Lin, M. Azuma, X. Xing Colossal Volume Contraction in Strong Polar Perovskites of Pb(Ti,V)O<sub>3</sub> J. Am. Chem. Soc., **139**, 14865 (2017).
- K. Takenaka, T. Shinoda, N. Inoue, Y. Okamoto, N. Katayama, Y. Sakai, T. Nishikubo, M. Azuma Giant negative thermal expansion in Fe-doped layered ruthenate ceramics Appl. Phys. Exp., 10, 115501 (2017).
- J. Yang, J. Dai, Z. Liu, R. Yu, H. Hojo, Z. Hu, T. Pi, Y. Soo, C. Jin, M. Azuma, Y. Long High-Pressure Synthesis of the Cobalt Pyrochlore Oxide Pb<sub>2</sub>Co<sub>2</sub>O<sub>7</sub> with Large Cation Mixed Occupancy Inorg. Chem., 56, 11676 (2017).
- L. Zhou, J. Dai, Y. Chai, H. Zhang, S. Dong, H. Cao, S. Calder, Y. Yin, X. Wang, X. Shen, Z. Liu, T. Saito, Y. Shimakawa, H. Hojo, Y. Ikuhara, M. Azuma, Z. Hu, Y. Sun, C. Jin, Y. Long Realization of Large Electric Polarization and Strong Magnetoelectric Coupling in BiMn<sub>3</sub>Cr<sub>4</sub>O<sub>12</sub> Adv. Mater., 29, 1703435 (2017).
- H. Yamamoto, Y. Sakai, K. Shigematsu, T. Aoyama, T. Kimura, M. Azuma Reorientation of the Magnetic Easy Plane in a Co-Substituted BiFeO<sub>3</sub> Single Crystal Inorg. Chem., 56, 15171 (2017).
- K. Oka, T. Yamauchi, S. Kanungo, T. Shimazu, K. Ohishi, U. Yoshida. M. Azuma and S. Tanusri Experimental and Theoretical Studies of the Metallic Conductivity in Cubic PbVO<sub>3</sub> under High Pressure J. Phys. Soc. Jpn., 87, 024801 (2018).
- T. Nishikubo, Y. Sakai, K. Oka, M. Mizumaki, T. Watanuki,
   A. Machida, N. Maejima, S. Ueda, T. Mizokawa, and M.

#### Azuma

Optimized negative thermal expansion induced by gradual intermetallic charge transfer in Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub> Appl. Phys. Exp., **11**, 061102 (2018).

 K. Shigematsu, T. Asakura, H. Yamamoto, K. Shimizu, M. Katsumata, H. Shimizu, Y. Sakai, H. Hojo, K. Mibu, and M. Azuma

Room temperature ferromagnetism in BiFe<sub>1-x</sub>Mn<sub>x</sub>O<sub>3</sub> thin film induced by spin-structure manipulation Appl. Phys. Lett., **112**, 192905 (2018).

 H. Yamamoto, T. Imai, Y. Sakai, and M. Azuma Colossal Negative Thermal Expansion in Electron-Doped PbVO<sub>3</sub> Perovskites Angew. Chem. Int. Ed. Engl., accepted (2018).

# 【総説】

- 東正樹 金属間電荷移動による巨大負熱膨張材料 BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub> と ゼロ熱膨張コンポジット セラミックス, 52, 590 (2017).
- M. Azuma, Y. Sakai, T. Nishikubo, M. Mizumaki, T. Watanuki, T. Mizokawa, K. Oka, H. Hojo, M. Naka Systematic charge distribution changes in Bi- and Pb-3d transition metal perovskites Dalton Transactions, 47, 1371 (2018).

# 【書籍】

 竹中康司、東正樹、扇澤敏明、石川隆司、小橋眞、山村 泰久、表篤志、藤田麻哉、岡研吾、竹澤晃弘、荒井豊、 大野康晴、藤田俊輔、南川弘行、河原正美、木野久志、 田中徹、佐々木拓、八島正知、鈴木義和 第一章「無機材料の熱膨張と負熱膨張材料」 熱膨張制御材料の開発と応用 シーエムシー出版, 2018 年 1 月

#### 【口頭発表】

- 重松 圭、京兼広和、東 正樹 d<sup>1</sup> 電子配置の軌道秩序を利用する非鉛圧電体薄膜の開 発 学際・国際的高度人材育成ライフイノベーションマテ リアル創製共同研究プロジェクト第1回公開討論会、 2017年3月、名古屋大学
- 2. K. Shimizu, H. Hojo, Y. Ikuhara, and M. Azuma

Enhanced piezoelectric response due to polarization rotation in Co-substituted BiFeO3 epitaxial thin films IEEE-ISAF-IWATMD-PFM Conference, 2017年5月, ジョ

ージア工科大学

# 3. 西久保匠

Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub>の局所構造変化と負熱膨張 豊田理研特定課題研究「多元秩序制御による熱・体積 機能の開拓」平成29年度第1回研究会,2017年7月,東 工大すずかけ台キャンパス

4. 酒井雄樹

Bi<sub>1-x</sub>Pb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub>の負熱膨張 豊田理研特定課題研究「多元秩序制御による熱・体積 機能の開拓」平成29年度第1回研究会,2017年7月,東 工大すずかけ台キャンパス

#### 5. 西久保匠

負熱膨張物質 Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub>のサイト間電荷移動相転移の 観察

新学術領域研究「ナノ構造情報のフロンティア開拓-材 料科学の新展開」第5回若手の会,2017年7月,晴海グ ランドホテル

6. 尾形昂洋

PbTiO3型酸化物 PbVO3の Cr 置換による c/a 比の抑制と 負熱膨張の実現 新学術領域研究「ナノ構造情報のフロンティア開拓-材 料科学の新展開」第5回若手の会,2017年7月,晴海グ ランドホテル

- 7. H. Shimizu, H. Hojo, K. Shigematsu, M. Azuma Fabrication of negative thermal expansion material BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub> epitaxial thin films by pulsed laser deposition STAC-10, 2017 年 8 月, メルパルク横浜
- 8. T. Nishikubo, Y. Sakai, K. Oka, and M. Azuma Observation of intermetallic charge transfer transition in negative thermal expansion material Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub> STAC-10, 2017 年 8 月, メルパルク横浜
- H. Kyokane, K. Shimizu, K. Shigematsu, H. Hojo, and M. Azuma Fabrication of tetragonal Sr<sub>1-x</sub>Ba<sub>x</sub>VO<sub>3</sub> thin film with d1 configuration STAC-10, 2017 年 8 月, メルパルク横浜
- T. Yamamoto, H. Yamamoto, T. Nishikubo, Y. Sakai, H. Hojo, I. Yamada, M. Mizumaki, T. Mizokawa, S. Ueda and M. Azuma Structure and valence distribution of perovskite PbMnO<sub>3</sub>

STAC-10, 2017 年 8 月, メルパルク横浜

- 11. T. Ogata, Y. Sakai, H. Yamamoto, and M. Azuma B-site substituted PbVO3 with suppressed c/a ratio and negative thermal expansion STAC-10, 2017 年 8 月, メルパルク横浜
- T. Nishikubo , Y. Sakai, K. Oka , and M. Azuma Observation of intermetallic charge transfer transition in negative thermal expansion material Bi<sub>1-x</sub>Sb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub> AIRAPT26, 2017年8月, China National Convention Center
- Y. Sakai, J. Yang, R. Yu, H. Hojo, I. Yamada, P. Miao, S. Lee, S. Torii, T. Kamiyama, M. Mizumaki, J. Komiyama, T. Mizokawa, H. Yamamoto, T. Nishikubo, Y. Hattori, K. Oka, Y. Yin, J. Dai, W. Li, S. Ueda, Z. Hu, C. Jin, Y. Long, and M. Azuma Crystal structure, Valence Distribution and Physical

Properties of A-site and B-site Charge Ordered Perovskite PbCoO<sub>3</sub>

AIRAPT26, 2017年8月, China National Convention Center

- 14. T. Ogata, Y. Sakai, H. Yamamoto, T. Nishikubo, T. Imai, and M. Azuma Suppression of c/a ratio for PbVO3 and negative thermal expansion using chemical substitution of V for Cr AIRAPT26, 2017年8月, China National Convention Center
- H. Yamamoto, T. Kihara, K. Oka, M. Tokunaga, K. Mibu, T. Aoyama, T. Kimura, and M. Azuma Spin structure change and magnetoelectric effect in the ferroelectric ferromagnet BiFe<sub>1-x</sub>Co<sub>x</sub>O<sub>3</sub> AIRAPT26, 2017年8月, China National Convention Center
- 16. Y. Sakai

Crystal structure, Valence Distribution and Physical Properties of A-site and B-site Charge Ordered Perovskite PbCoO<sub>3</sub>

The 1st IOP-TIT Workshop on Condensed Matter Physics and Chemistry, 2017 年 8 月, Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences

17. H. Yamamoto

Spin structure change and strong magnetoelectric effect on  $BiFe_{1\text{-}x}Co_xO_3$ 

The 1st IOP-TIT Workshop on Condensed Matter Physics and Chemistry, 2017 年 8 月, Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences

18. T. Nishikubo

 $Observation \ of \ valence \ states \ in \ BiNiO_3 \ based \ negative \\ thermal expansion materials$ 

The 1st IOP-TIT Workshop on Condensed Matter Physics

and Chemistry, 2017 年 8 月, Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences

19. T. Ogata

Suppression of c/a ratio for PbVO<sub>3</sub> and negative thermal expansion using chemical substitution of V for Cr The 1st IOP-TIT Workshop on Condensed Matter Physics and Chemistry, 2017 年 8 月, Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences

20. 東正樹

Systematic Charge Distribution Change in Bi, Pb - 3d Transition Metal Perovskites IRMRS-ICAM, 2017 年 8 月, 京都大学吉田キャンパス

21. 東正樹

コバルト置換ビスマスフェライトの強磁場磁化過程測 定の結果と、その知見を生かした室温強磁性強誘電体 の開発、さらには薄膜試料を用いた電場印加磁化反転 の実現について 第4回西日本強磁場科学研究会,2017年9月,大阪大学 待兼山会館

- 22. 重松圭、清水啓佑、東正樹 パルスレーザー堆積法による四重ペロブスカイト酸化 物の薄膜合成 応用物理学会秋季学術講演会,2017年9年,福岡国際会 議場
- 清水陽樹、清水啓佑、山本孟、北條元、重松圭、東正樹
   マルチフェロイック BiFe0.9Fe0.1O3 薄膜への第3元素置換
   応用物理学会秋季学術講演会,2017年9年,福岡国際会議場
- 清水 啓佑, 重松 圭, 東 正樹 四重ペロブスカイト LnCu<sub>3</sub>Mn<sub>4</sub>O<sub>12</sub> 薄膜の作製と室温フ ェリ磁性 応用物理学会秋季学術講演会, 2017 年 9 年, 福岡国際会 議場
- 25. 前林航紀、山本孟、西久保匠、鎌田慶吾、東正樹 ソフトプロセス前駆体を用いた巨大負熱膨張物質 BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub>の合成 日本セラミックス協会 第三十回秋季シンポジウム, 2017年9月,神戸大学
- 26. 山本孟、尾形昂洋、東正樹 巨大正方晶歪みを有するペロブスカイト型酸化物 PbVO3へのフィリング制御 日本セラミックス協会 第三十回秋季シンポジウム,

2017年9月,神戸大学

- 27. 酒井雄樹,岡研吾,西久保匠,尾形昂洋,東正樹
   Pb リッチ Bi<sub>1-x</sub>Pb<sub>x</sub>NiO<sub>3</sub>の負熱膨張
   日本物理学会 2017 年秋季大会,2017 年 9 月,岩手大学
   上田キャンパス
- 28. 尾形昂洋、酒井雄樹、山本孟、西久保匠、今井孝、東 正樹
  PbTiO3型酸化物 PbVO3の Cr 置換による c/a 比の抑制と 負熱膨張の実現
  日本物理学会 2017 年秋季大会, 2017 年 9 月, 岩手大学 上田キャンパス
- 29. 西久保匠,酒井雄樹,尾形昂洋,東正樹 元素置換による BilnO3の負熱膨張発現 日本物理学会 2017 年秋季大会,2017 年 9 月,岩手大学 上田キャンパス
- 30. K. Yamamoto, T. Mizokawa, M. Mizumaki, A. Yasui, E. Ikenaga, Y. Sakai, T. Nishikubo, T. Yamamoto, T. Ogata, M. Azuma Ni 2p Core-level Excitation of BiNiO<sub>3</sub> Studied by Hard X-ray Photoemission Spectroscopy 日本物理学会 2017 年秋季大会, 2017 年 9 月, 岩手大学 上田キャンパス
- 31. 室田康太,山本健登,溝川貴司,水牧仁一郎,保井晃, 池永英司,西久保匠,山本樹,尾形昂洋,東正樹,酒井 雄樹 X線光電子分光による PbMO<sub>3</sub>の電子構造 日本物理学会 2017 年秋季大会,2017 年 9 月,岩手大学 上田キャンパス
- 32. 三田村昌哉,井上徳大,岡本佳比古,片山尚幸,竹中康 司,西久保匠,酒井雄樹,東正樹 Ca2RuO4焼結体の微粒子化 日本物理学会 2017 年秋季大会,2017 年 9 月,岩手大学 上田キャンパス
- H. Kyokane, K. Shimizu, K. Shigematsu, H. Hojo, and M. Azuma Fabrication of Tetragonal Sr<sub>1-x</sub>Ba<sub>x</sub>VO<sub>3</sub> Thin Film with d1 Configuration ICMaSS2017, 2017 年 9 月,名古屋大学
- 34. 東正樹

Magnetization Reversal by Electric Field at Room Temperature in Co Substituted BiFeO3 Thin Film The 9th APCTP Workshop on Multiferroics, 2017 年 11 月, 東京大学柏の葉キャンパス

- 35. H. Shimizu, K. Shimizu, H. Yamamoto, H. Hojo, K. Shigematsu, and M. Azuma Stable polarization reversal in third elements substituted multiferroic BiFe0.9Co0.1O3 thin films The 9th APCTP Workshop on Multiferroics, 2017年11月, 東京大学柏の葉キャンパス
- 36. H. Yamamoto, T. Aoyama, T. Kimura, and M. Azuma Electric fiel induced reorientation of magnetic easy plane in BiFe<sub>1-x</sub>Co<sub>x</sub>O<sub>3</sub> single crystal The 9th APCTP Workshop on Multiferroics, 2017 年 11 月, 東京大学柏の葉キャンパス
- 37. K. Shimizu, R. Kawabe, H. Yamamoto, H. Hojo, K. Shigematsu, and M. Azuma Direct observation of magnetization reversal by polarization switching in multiferroic Co-substituted BiFeO<sub>3</sub> thin film The 9th APCTP Workshop on Multiferroics, 2017 年 11 月, 東京大学柏の葉キャンパス
- 38. 東正樹

Room Temperature Ferromagnetism in Co Substituted BiFeO3 Induced by Spin Structure Change The 6th Toyota RIKEN International Workshop 2017, 2017 年 11 月, トヨタ産業技術記念館

- K. Shimizu, H. Hojo, Y. Ikuhara, M. Azuma Enhanced piezoelectric response due to polarization rotation in cobalt-substituted BiFeO<sub>3</sub> epitaxial thin films JPSM International Conference on Powder and Powder Metallurgy, 2017 年 11 月, 京都大学百周年時計台記念館
- 40. 東正樹

多元秩序制御による熱・体積機能の開拓 金研ワークショップ「多自由度・多階層性が協奏する 物質材料システムの科学」,2017 年 12 月,東北大学金 属材料研究所講堂

- 41. M. Azuma Negative Thermal Expansions induced by Phase Transitions ISNTE-II, 2017 年 12 月, 東工大すずかけ台キャンパス
- 42. H. Kyokane, K. Shimizu, K. Shigematsu, H. Hojo, and M. Azuma Fabrication of Strain-induced Tetragonal Sr<sub>1-x</sub>Ba<sub>x</sub>VO<sub>3</sub> Thin Film

ISNTE-II, 2017 年 12 月, 東工大すずかけ台キャンパス

43. T. Yamamoto, H. Yamamoto, T. Nishikubo, Y. Okimoto, A. Ozawa, Y. Sakai, H. Hojo, I. Yamada and M. Azuma Structure and valence distribution of perovskite PbMnO<sub>3</sub> ISNTE-II, 2017 年 12 月,東工大すずかけ台キャンパス

- 44. Y. Sakai, J. Yang, R. Yu, H. Hojo, I. Yamada, P. Miao, S. Lee, S. Torii, T. Kamiyama, M. Mizumaki, J. Komiyama, T. Mizokawa, H. Yamamoto, T. Nishikubo, Y. Hattori, K. Oka, Y. Yin, J. Dai, W. Li, S. Ueda, Z. Hu, C. Jin, Y. Long, and M. Azuma Crystal structure, Valence Distribution and Physical Properties of A-site and B-site Charge Ordered Perovskite PbCoO<sub>3</sub> ISNTE-II, 2017 年 12 月, 東工大すずかけ台キャンパス
- 45. T. Ogata, Y. Sakai, H. Yamamoto, T. Nishikubo and M. Azuma B-site substituted PbVO<sub>3</sub> with suppressed c/a ratio and negative thermal expansion ISNTE-II, 2017 年 12 月,東工大すずかけ台キャンパス
- 46. T. Nishikubo, Y. Sakai, K. Oka, and M. Azuma Intermetallic charge transfers and local structures in BiNiO<sub>3</sub> based negative thermal expansion materials ISNTE-II, 2017 年 12 月,東工大すずかけ台キャンパス
- 47. K. Shimizu, H. Hojo, and M. Azuma Polarization rotation in BiFe<sub>1-x</sub>Co<sub>x</sub>O<sub>3</sub> and BiFe<sub>1-x</sub>Ga<sub>x</sub>O<sub>3</sub> epitaxial thin films ISNTE-II, 2017 年 12 月, 東工大すずかけ台キャンパス
- 48. H. Yamamoto, M. Azuma Physics of tetragonal distortion in perovskite vanadates ISNTE-II, 2017 年 12 月,東工大すずかけ台キャンパス
- 49. 山本 一理,清水 啓佑,重松 圭,東 正樹 四重ペロブスカイト LaCu<sub>3</sub>Mn<sub>4-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>12</sub> 薄膜の作製と磁 気特性
  第 65 回応用物理学会春季学術講演会,2018 年 3 月,早 稲田大学
- 50. 清水啓佑、川邊諒、北條元、山本孟、壬生攻、東 正樹 Co 置換 BiFeO3 薄膜における電場による面外磁化の反 転 第 65 回応用物理学会春季学術講演会, 2018 年 3 月, 早 稲田大学
- 51. 石崎颯斗・山本孟・酒井雄樹・東正樹 巨大 c/a 相 BiCoO<sub>3</sub> への Ti 置換を用いた電子ドープによ る常誘電相の安定化 公益社団法人日本セラミックス協会 2018 年年会, 2018 年3月, 東北大学
- 52. 今井 孝・山本 孟・西久保 匠・尾形 昂洋・東 正樹、 酒井 雄樹
   La、Bi同時置換による PbVO3の室温付近での巨大負熱

膨張の実現

公益社団法人日本セラミックス協会 2018 年年会, 2018 年3月, 東北大学

- 53. 山本孟・今井孝・前林航紀・西久保匠・尾形昂洋・酒 井雄樹・東正樹 巨大正方晶歪みを有するペロブスカイト型酸化物 PbVO3への電子ドープと巨大な負熱膨張 公益社団法人日本セラミックス協会 2018 年年会, 2018 年3月,東北大学
- 54. 東正樹 Magnetization Reversal by Electric Field at Room Temperature in Co Substituted BiFeO<sub>3</sub> Thin Film The 6th International Symposium on Advanced Ceramics, 2018 年 3 月,東北大学
- 55. 西久保匠,前林航紀,酒井雄樹,岡研吾,北條元,溝川 貴司,綿貫徹,町田晃彦,東正樹 BiNi<sub>1-x</sub>Fe<sub>x</sub>O<sub>3</sub>の負熱膨張と局所構造 一般社団法人 日本物理学会 第73回年次大会,2018年 3月,東京理科大 野田キャンパス
- 56. 山本孟,尾形昂洋,岡研吾,西久保匠,前林航紀, 酒井雄樹,東正樹 ペロブスカイト PbVO3へのフィリング制御と正方晶歪 み 一般社団法人 日本物理学会 第73回年次大会, 2018年3月,東京理科大 野田キャンパス

57. 室田康太,山本健登,溝川貴司,水牧仁一朗,保井晃, 西久保匠,山本樹,尾形昂洋,東正樹,酒井雄樹,池永 英司 PbMO<sub>3</sub>(*M* = Cr, Mn, Fe, Co)の電子構造と原子価状態一 般社団法人 日本物理学会 第73回年次大会, 2018年3月,東京理科大 野田キャンパス

- 58. 三田村昌哉, 井上徳大, 水野陽介, 岡本佳比古, 片山尚 幸, 竹中康司, 西久保匠, 酒井雄樹, 東正樹 負熱膨張性 Ca2RuO4焼結体の微粒子化 II 一般社団法人 日本物理学会 第73回年次大会, 2018年3月, 東京理科大 野田キャンパス
- 59. 重松 圭、浅倉武志、山本孟、清水啓佑、北條元、壬生 攻、東正樹 学際・国際的高度人材育成ライフイノベーションマテ リアル創製共同研究プロジェクト第2回公開討論会、 2018年3月、大阪大学中之島センター

# 【特許】

国内特許出願 2件

## 【その他】

1. 雑誌 Pen+「SPring-8 のすべて」で、2017 年の代表的な 研究成果として、「コバルト酸鉛の合成に世界で初めて成 功し、新規の電荷分布を発見」が取り上げられた。

 ナノテクノロジープラットフォームの Web マガジン 「NanotechJapan Bulletin」で、「SPring-8 での微細構造解析 による負熱膨張材の電荷ガラス状態解明」が紹介された。
 http://nanonet.mext.go.jp/magazine/?Vol.%2010%2C%20No.%2
 06%2C%202017 年 12 月 27 日発行%2F ナノテクノロジー
 PickUp(第10回) NIMS QST

 3. 負熱膨張に関する国際会議「2nd International Symposium on Negative Thermal Expansion and Related Materials (ISNTE-II)」を12月12日~15日に東京工業大学すずかけ 台キャンパスにて主催した。

# 「グローバルヘルスリサーチコーディネーティング センター (GHRCC)」プロジェクト

プロジェクトリーダー 池田 正樹

# 基本構想

GHRCC プロジェクトは、以下に挙げる理念と6つの事業方針に基づき、研究活動を行っている。

# 理念

臨床研究の実施により得られる「知」と患者・家族・一般市民(コミュニティ)の「生活」を 融合することにより、"神奈川県から"医療の発展と世界の人々のより健康な暮らしに貢献する。

事業方針(6つの柱)

- 1) 臨床研究のマネジメント支援
- 2) わが国におけるグローバル臨床研究の推進
- 3) 未病の知識と対応の普及
- 4) 臨床研究のコンサルテーション
- 5) 臨床研究専門職の人材育成
- 6) 臨床研究方法論に関する研究活動
- 1. 平成 29 年度の研究目的

プロジェクト3年目となる平成29年度は,前 年度と同様に前述の6つの基本方針について以 下のとおり取り組んだ。

平成 29 年度の研究成果
 平成 29 年度の具体的な研究成果は以下のとおりである。

1) 臨床研究のマネジメント支援

臨床研究マネジメントの重点支援領域として 「希少がん」「精神・神経難病」「再生医療」を挙 げており、再生医療を除く、18 試験のマネジメ ント支援を継続して実施した。

「国際共同治験」については 28 年度に症例登録目標を達成した「PAOLA-1] 試験の症例管理を継続し、また、「AHEP0731」試験、「NRG-GY004」試験等の症例登録および症例管理を推進した。

「国内治験」については28年度に投与を終了 した神経難病を対象とした「0761HAM」試験の成 績がNEJM誌に掲載され、その中で調整事務局を 担ったKAST(現、KISTEC)への謝辞が記載され た。

「再生医療」については業務受注に繋げるべく, 基礎研究者との情報交換に努めた。

「NRG Oncology-Japan」及び「GOTIC」の専属 コーディネーティングセンターの立場から,海外 研究グループとの活発な情報共有を通して国内 体制の整備を継続実施し、マネジメント業務の品 質向上を図った。

上記の他,前年度に一般社団法人化した「NRG Oncology-Japan」の事務局として,本法人を一層 活性化すべく,種々の企画を盛り込んだ社員総会, 運営委員会を開催した。

2) わが国におけるグローバル臨床研究の推進

研究者および医療スタッフが国際共同研究に 参画することへのモチベーションを高める活動 を継続した。具体的には、国内外の研究機関や製 薬企業/医療機器企業に対して、学会発表、セミ ナーあるいは面談を通じ、米国 NCI 傘下の NRG Oncology と Children Oncology Group の2つの 臨床研究グループに対する支援活動の実際を説 明した。特に、これらの「国際的な研究ネットワ ーク」が企画運営する国際共同試験を医師主導治 験として実施することによって国内の新薬開発 や適応拡大へと発展した実績、及びそのメリット を強調した。

3) 未病の知識と対応の普及

未病への介入により健康への好影響があると いうエビデンスを示す研究について共同研究の 形で支援すべく検討を進めている。

また,一般市民に対象として GHRCC 主催の「臨

床研究おしゃべりサロン」と題した講演会を開催 し、未病の概念がうまく適合する「遺伝性乳がん 卵巣がん症候群に対する発症予防」や「認知症の 高リスク保持者への早期介入」というテーマの講 演によって未病への早期介入の重要性について 啓蒙を図った。

4) 臨床研究のコンサルテーション

GHRCC では、研究者や企業からの臨床試験実施 上の問題点や研究実施体制整備と必要な準備,確 認すべき規制要件,品質管理方法等の実務的側面 からの相談を受け付け、コンサルテーションを行 っている。本年度の相談実績は合計 12 件、相談 者の内訳は、製薬企業7件、研究者・研究グルー プ5件であった。

相談内容は、国際共同試験に参加を希望する国 内研究グループからの参加手法に関する相談、ま た抗がん剤開発中のベンチャー企業から AMED に よる研究開発支援事業への応募について、および 国立がん研究センター中央病院の医療系ベンチ ャー支援事業に対して第 I 相臨床試験計画を相 談するにあたっての試験計画であり、それぞれに 助言を行った。

5) 臨床研究専門職の人材育成

本邦における臨床研究の実務を支援し、品質向 上をおこなうにあたり必要な人材の育成を目指 し、GHRCCの経験を学会やセミナーを通じて紹介 した。

また,一般市民を対象とする臨床研究に関する 啓発活動としては,GHRCC 主催による臨床研究お しゃべりサロン」を4回開催した。テーマは「臨 床研究ってなぁに?」,「小児アレルギー領域の臨 床研究」,「認知症領域の臨床研究」,「臨床試験っ てなぁに?」であった。

少人数(10人−15人)のくだけた雰囲気の中 で自由に発言する中で,臨床研究に関する疑問や 不安を解決し,臨床研究の重要性を理解してもら うことを目的とした活動として,今後も継続して 開催する予定である。

6) 臨床研究方法論に関する研究活動

臨床研究,特に治験では質の確保とスピードア ップのために大な資金が必要である。反面,製品 として成功する成功確率は非常に低いのが現状 である。これらの問題を解決するために,臨床研 究方法論あるいは承認取得までのプロセスを鑑 みたレギュラトリーサイエンス研究が重要とな っている。

本年度は以下の研究を推進した。

- ① 本年度初頭に成立し、平成30年4月に公布 される臨床研究法について精査を行うとと もに、年度末に発出された同法施行規則を評 価し、GHRCCが支援中の試験の円滑な継続を 目指し対応策を検討した。
- ② 受託試験であるNRG-GY004研究で評価している薬剤の製造販売承認の可能性について、独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)との事前面談を実施した。承認申請まで進めるためには追加の試験実施が必要と判断し、同一研究グループが立案中の新たな国際同治験への参加を目指した。
- ③ ベンチャーー企業が開発中の薬剤について 安全性の確認と効率的な有効性評価を可能 とする第 I 相計画の立案を支援し、本計画の 実施予定先である国立がん研究センター中 央病院と試験計画の妥当性について検討を 重ねた。
- ④ 医療費が高騰する中,医薬品価値の実証は重要性を増している。このため新たな研究課題として「医療経済評価研究」を加え、治療薬剤、治療プロセスについての費用対効果評価を進め、論文および学会発表を行った。

以上

業

# 【原著論文】

1. Takeru Shiroiwa, Takashi Fukuda, Kojiro Shimozuma, Mitsuko Mouri, Yasuhiro Hagiwara, Takuya Kawahara, Shozo Ohsumi, Yasuo Hozumi, Yoshiaki Sagara, Yasuo Ohashi and Hirofumi Mukai. Cost-effectiveness analysis of the introduction of S-1 therapy for first-line metastatic breast cancer treatment in Japan: results from the randomized phase III SELECT-BC trial. BMC Cancer. 2017 Nov 17;17(1):773. doi: 10.1186/s12885-017-3774-7.

# 【学会発表】

- 1. Yusuke Kajimoto, Tsutomu Kitajima. Exploratory Analysis of Cost-Effective Dengue Vaccination Cost in countries in Asia and Latin America, International Health Economics Association. Jul 10, 2017. Boston.
- 2. 毛利光子,池田正樹,笠貫宏.国際共同で 実施する医師主導治験の体制構築と今後 の課題.日本生体工学会第14回RS研究会. 2017年8月26日. 東京
- 3. 增原直子, 森下真千子, 仲井暎子, 小池典子, 山崎顕,太田有紀,松本直樹,平山佑三子, 高橋まりも、山野嘉久. 患者レジストリを 活用した希少難病 HTLV-1 関連脊髄症患者 対象の医師主導治験を支援して-CRC に求 められる臨床試験マネジメントとは. 第17 回 CRC と臨床試験の在り方を考える会議. 2017年9月3日.名古屋
- 4. 松本光史, 岡本正彦, 山下啓子, 小松英彦,

# 績

石田孝宣,橋昌幸,中野隆史,大崎昭彦,伊 丹純, 大住省三, 吉中平次, 藤原恵一, 沼上 奈美,池田正樹,藤原康弘.国際共同アカ デミア試験への挑戦 -NRG Oncology-Japan から B-51 試験への参加を通じて. 第46回 日本癌治療学会学術集会総会. 2017年10月 22日. 東京

- 5. 岡本正彦、松本光史,山下啓子,小松英彦, 石田孝宣, 大崎昭彦, 永橋昌幸, 伊丹純, 大住省三, 吉中平次, 沼上奈美, 池田正樹, 藤原康弘, 中野隆史, 藤原恵一. NRG Oncology (旧 RTOG) 臨床試験への参画プロ ジェクトの現状と今後の課題. 日本放射線 腫瘍学会第 29 回学術大会. 2017 年 11 月 25 日. 京都
- 梶本雄介, 北島勉, 沢田貴志, 宮首弘子. 6. Pre-exposure prophylaxis の費用対効果に関 する文献レビュー. 第31回日本エイズ学会 学術集会総会. 2017年11月25日. 東京
- 7. 毛利光子, 沼上奈美, 高橋まりも, 中村文子, 内藤瞳, 高橋美雪, 松井直子, 池田正樹. 米 国がん治療グループ主導試験に対する国内 支援体制の構築と課題. 日本臨床試験学会 第9回学術集会総会. 2018年3月24日. 仙 台

【講演·参加報告】

- 1. 松井直子, Master of Clinical Science (臨床研 究・治験の支援)東北大学大学院薬学研究 科講義. 2016年6月30日. 仙台
- 梶本裕介, Gynecologic Cancer Intergroup, 2. Chicago 2017, Harmonization Committee 活動

233

報告. GOTIC 教育セミナー 2017 年 6 月 17 日. 東京

 <u>梶本裕介</u>, Gynecologic Cancer Intergroup, Viennna 2017, GOTIC 教育セミナー 2018 年 2月3日.東京

# 【謝辞】

 Sato T, Coler-Reilly ALG, Yagishita N, Araya N, Inoue E, Furuta R, Watanabe T, Uchimaru K, Matsuoka M, Matsumoto N, Hasegawa Y, Yamano Y. Mogamulizumab (Anti-CCR4) in HTLV-1-Associated Myelopathy. N Engl J Med. 2018 Feb 8;378(6):529-538. KISTEC への謝辞 掲載

ISSN 2434-5873

# **KISTEC** 研究報告 2018 2018年10月15日発行

発行地方独立行政法人
 神奈川県立産業技術総合研究所(KISTEC)
 研究開発部橋渡し研究課
 海老名市下今泉705-1 /〒243-0435
 TEL(046)236-1500

●無断転載・複製を禁じます。