研究報告2026目次【研究開発部】

有望シーズ展開事業

「光スイッチ医療創出」プロジェクト・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

「次世代合成生物基盤」プロジェクト・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・14

「革新的インダストリアルマルチスケールセンサ」プロジェクト・・・・・・・・・・・・・・27

「徐脈性不整脈の再生医療」プロジェクト・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・40

実用化実証事業

「人工細胞膜システム」グループ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 50

「次世代半導体用エコマテリアル」グループ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 63

「毛髪再生医療実証」グループ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 84

ライフサイエンス評価法開発研究

「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 96

戦略的研究シーズ育成事業

研究テーマ：内在性因子による造血幹細胞増幅法の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・113

研究テーマ：超高感度質量分析に向けたマイクロ流体技術の開発・・・・・・・・・・・・・117

研究テーマ：未知を知るAI搭載型ハードウェアの開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・122

研究テーマ：分子・形態共変動解析による未病創薬研究基盤の創成・・・・・・・・・・・・128

研究テーマ：身体直接駆動のための運動制御インタフェースの開発・・・・・・・・・・・・134

研究テーマ：準安定相境界を利用した新機能材料・デバイス開発・・・・・・・・・・・・・140

研究報告2026目次【研究開発部】

有望シーズ展開事業

「光スイッチ医療創出」プロジェクト

◆　統括・・・

「光スイッチ医療創出」プロジェクト

プロジェクトリーダー　佐藤　守俊

【基本構想】

本プロジェクトは、光操作に基づいて新たな医療技術を創出することを目的としている。医薬品として用いられる分子（化合物、ペプチド、抗体、酵素など）や細胞、ウィルス等は、いったん生体の中に入ってしまうと、その働きを生体の外からコントロールするのが極めて困難である。このことが、薬効が高く副作用が低い優れた医薬品を開発する上での大きなハードルとなっている。本プロジェクトでは、乗用車に取り付けられたアクセルやブレーキのように、生体の中に入った医薬品の働きを光で、特に、生体組織の透過性が極めて高い長波長の光で自由自在に操作するための、一般性・汎用性の高い基盤技術を開発する。さらに、この基盤技術を用いて、ゲノムの働きを光刺激でコントロールしたり、がん細胞を光刺激で破壊することで、革新的なゲノム治療やがん治療を実現する新たな技術を開発する。ゲノム治療については、生体組織に光を照射して変異遺伝子の塩基配列を正確に書き換えることができるようになったり、生体組織の遺伝子の発現を自由自在に光照射でコントロールできるようになれば、今までに治療法がなかった様々な難病（遺伝子疾患）の治療に大きく貢献し、アンメット・メディカル・ニーズに応えることが可能になる。DNA を標的とした光操作技術に加えて、RNA を標的とした光操作技術（RNA の転写レベルの光操作技術）を開発できれば、ゲノム治療の安全性をさらに高めるだけでなく、ゲノム治療の適用範囲を大幅に拡張できる。このような生体（*in vivo*）におけるゲノムの光操作だけでなく、例えば、人工多能性幹細胞（iPS 細胞）のゲノム DNA の塩基配列を、光で正確に書き換えることができるようになれば、遺伝子疾患を有する患者への再生医療にも大きく貢献できると考えている。またがん治療についても、本プロジェクトで開発する技術は、光照射を施した部位でのみ薬効を発揮させることができるため、従来のがん治療技術よりも大幅に薬効を高めるためのアイディアを導入しても安全性を担保できるのが大きな特長である。本プロジェクトで開発する技術により、今まで治療法がなかった難病の治療に加えて、長波長の光照射による革新的ながん治療が実現すれば、医療分野へのインパクトは非常に大きく、関連産業の振興に大きく貢献することが期待される。

1.　2025 年度の研究目的

生命現象の光操作を実現する上で、佐藤 P が最も重要と考えたのは、操り人形で言えばヒモとか棒に相当する基盤技術の開発である。植物や菌類のように光を利用して生きている生物は、光受容体と呼ばれるタンパク質を持っている。光受容体は、光を吸収すると大きく構造変化したり、別のタンパク質と結合したりすることにより情報を伝えている。つまり光受容体は、光による入力をタンパク質の構造変化や結合といった力学的シグナルとして出力できるのだ。しかし、野生型の光受容体は、反応速度が遅いなどの問題を抱えていることが多い。佐藤 P は糸状菌の一種であるアカパンカビ（*Neurospora crassa*）が持っている光受容体に着目し、これに対して様々なアミノ酸変異を導入してその性質を大幅に改良したり、新しい機能を付与したりするなどして、Magnet システムと名付けた光スイッチタンパク質を開発した（参考文献 1）。Magnet システムは、青色の光を照射すると互いに結合し、光照射をやめると解離するタンパク質のペアである。Magnet システムにタンパク質 A とタンパク質 B を連結すれば、A と B の結合・解離を青色光のオン・オフでコントロールすることができる。この Magnet システムの特長を利用することで、光で指令を与えて、酵素などのあらゆるタンパク質の働きを私たちの意のままに操作できるようになった。

佐藤 P では先行研究によって、Magnet システムを様々なゲノムエンジニアリングツール（ゲノム編集で利用される CRISPR-Cas9 システムなど）と組み合わせて、多様な光操作技術を開発してきた。これにより、光が得意とする高い空間・時間制御能に基づいて、生体組織の中の狙った部位や狙ったタイミングで、ゲノム DNA の塩基配列を書き換えたり（参考文献 2）、ゲノムにコードされた遺伝子の組換えを実行したり（参考文献 3、4）、ゲノム遺伝子の発現を自由自在に操作できるようになった。さらに最近では、ゲノムエンジニアリングツールに限らず、がん治療に応用可能なタンパク質の光操作にも Magnet システムを展開している。このような佐藤 P の一連の研究は、基礎生命科学を革新するリサーチツールを提供するとともに、既存の治療技術とは全く異なる、次世代の治療技術（ゲノム治療、がん治療など）につながる可能性を秘めている。

上述のゲノムの光操作技術や光駆動型の腫瘍溶解性ウィルスはいずれも、佐藤 P が開発した光スイッチタンパク質“Magnet システム”に立脚している。Magnet システムは、光操作のためのツールを我々が制御するための「アクセル」や「ブレーキ」であり、様々な生命現象の光操作を実現する極めて汎用性の高い基盤技術として位置付けることができる。本プロジェクトでは、Magnet システムに代わる新たな基盤技術として、生体組織透過性が極めて高い長波長の光照射でコントロール可能な光スイッチタンパク質を創出し、これを新たなゲノム治療技術とがん治療技術に展開することを目的とする。プロジェクト 4 年目となる 2025 年度は、以下の(1)から(4)の各項目を重点項目として開発研究を実施した。

(1) 光合成細菌の相互作用タンパク質に基づく長波長の光スイッチタンパク質の開発
(2) 進化分子光学的手法に基づく長波長の光スイッチタンパク質の開発
(3) 新たなコンセプトの光スイッチタンパク質の開発
(4) ドラッグ・リポジショニングに基づく遺伝子操作技術の開発

2. 2025 年度の研究成果

以下に、2025 年度の具体的な研究成果を挙げる。

(1) 光合成細菌の相互作用タンパク質に基づく長波長の光スイッチタンパク質の開発

青色光はヘモグロビンに吸収されてしまうため、生体組織での透過性が低い。一方、650 nm から 800 nm の光はヘモグロビンに吸収されず、生体組織透過性が高いことが知られている。このため、この波長領域で利用できる光スイッチタンパク質の開発ニーズは極めて高い。この観点から、光合成細菌が有する近赤外光受容体とその結合タンパク質が、近赤外光スイッチタンパク質として注目を集めている。佐藤 P は、前述のゲノム遺伝子の光活性化システムにおいて、Magnet システムをこの既存の近赤外光スイッチタンパク質で置き換えてみた。その結果、この近赤外光スイッチタンパク質には暗所でのリーク活性という致命的な欠点があることが明らかになった。このリーク活性は光操作の基盤技術としては致命的な欠点である。

佐藤 P は近赤外光スイッチタンパク質にアミノ酸変異を導入することで暗所でのリーク活性を低減させることを目的に研究を行なっている。さまざまな変異体を作製し、それぞれの変異体をゲノム遺伝子の光活性化システムに導入して、光照射条件と暗所条件での比較を行った。その結果、暗所リーク活性を大幅に低減させることに成功している。このように近赤外光スイッチタンパク質の改良版を導入した遺伝子活性化システムを NIR-CPTS（CRISPR-Cas9-based photoactivatable transcription system by near-infrared light）と名付けた。まず培養細胞での評価を行い、近赤外光の照射によって、NIR-CPTS が非常に効率よくゲノム遺伝子の発現を活性化できることを明らかにした。さらに、マウスの生体（*in vivo*）での NIR-CPTS の評価を行った．マウスの肝臓に NIR-CPTS を導入して、生体外から LED パネルを使って光照射を行ったところ、NIR-CPTS がマウスのゲノムにコードされた遺伝子を生体外からの非侵襲的な光照射で活性化できることが明らかになった。現在、より複雑な遺伝子の働きを自在に操作するための新たな技術開発を実施している。加えて、近赤外光スイッチタンパク質の作動メカニズムを解明し、その機能をさらに向上させるきっかけを掴むことにも成功している。

(2) 進化分子光学的手法に基づく長波長の光スイッチタンパク質の開発

研究項目（1）の光スイッチタンパク質は、光合成細菌の細胞の中で実際に使われている天然のタンパク質を改変して開発する光スイッチタンパク質である。研究項目（2）では、研究項目（1）とは全く異なり、進化分子工学的手法に基づいて、全く新しい長波長の光スイッチタンパク質を開発することを目標とする。進化分子工学的手法に基づいて、全く新しいタンパク質相互作用に基づいて光スイッチタンパク質を開発することにより、天然のタンパク質相互作用のデメリットを克服するような、新たな光スイッチタンパク質が開発できるとの期待を持ってこの研究項目（2）を遂行している。

さまざまなバクテリアが持つ赤色光受容体タンパク質のバクテリオフィトクロム（BphP）の中で、特に放射線抵抗性細菌（*Deinococcus radiodurans*）が有する BphP（DrBphP）に着目した。DrBphP は哺乳類細胞に内在する色素のビリベルジン（BV）を補因子として結合し、赤色光（~660 nm）に応答して構造が大きく変化する性質を持っている。この DrBphP の構造変化を認識して結合するタンパク質（以下、バインダー）を開発することで、赤色光スイッチタンパク質を開発できると考えた。この DrBphP とアフィボディ（バインダー）からなる光スイッチタンパク質は、本研究グループが先行研究で開発した青色光スイッチタンパク質“Magnet”（マグネット）の赤色バージョンという意味を込めて“MagRed”（マグレッド）と名付けた（参考文献 9）。

さらに、MagRed を用いてゲノムにコードされた遺伝子を発現の赤色光で操作する技術（Red-CPTS）を開発したところ、暗環境下で遺伝子発現の活性がほとんど検出されず、赤色光照射で非常に効率良く遺伝子発現を誘導できることから、MagRed が極めて高い光制御能を有することがわかった。

加えて，研究項目（1）で開発した NIR-CPTS と研究項目（2）で開発した Red-CPTS を同時に使って、近赤外光と赤色光でそれぞれ異なる遺伝子を光操作するための技術開発とその実証に関する研究を実施した。生体組織透過性の高い近赤外光と赤色光での光操作が実現したことで、生体深部における生命現象の解明や、遺伝子疾患や細胞治療など生命科学・医学分野を含む幅広い研究分野において役立つことが期待される。

(3) 新たなコンセプトの光スイッチタンパク質の開発

佐藤 P では先行研究で、アカパンカビ（*Neurospora crassa*）が持っている光受容体に着目し、これに対して様々なアミ

ノ酸変異を導入してその性質を大幅に改良したり、新しい機能を付与したりするなどして、光スイッチタンパク質のMagnet システムを開発してきた。Magnet システムを用いることで、光で指令を与えて、様々なタンパク質の働きを私たちの意のままに操作できるようになり、PA-Cas9 や PA-Cre といった光操作ツールが佐藤 P によって生み出されている。佐藤 P では現在、この Magnet システムの改良を進めている。この研究の過程で、単なる改良にとどまらず、今までの光スイッチタンパク質とは異なる、新たなコンセプトの光スイッチタンパク質を開発しつつある。

Magnet システムは光刺激で 2 量体を形成する相互作用型の光スイッチタンパク質であるが、現在、この Magnet システムに対して、「concatenation」と名付けたアプローチでの改良を進めている。このアプローチによって、光照射で極めて効率よく分割タンパク質を活性化でき、かつ暗所ではほとんど活性を持たない、新たな構造変化型の光スイッチタンパク質を開発しつつある。加えて、この光スイッチタンパク質を、PA-Cas9 や PA-Cre といった佐藤 P がこれまで開発してきた光操作ツールに導入することで、これらのパフォーマンスを大幅に向上できることが明らかになりつつある。このアプローチをさらに継続して、新たな光スイッチタンパク質の開発を完結させるとともに、佐藤 P で開発を進めている新たな光操作ツールに導入し、特に光スイッチ遺伝子医薬としての開発を進めて、細胞レベルや動物レベルでの検証研究を実施していく予定である。

なお、Magnet システムを用いた応用研究にも積極的に取り組んでおり、例えば、Magnet システムと制限酵素を組み合わせた新たなツールを設計・開発し、光刺激によって細胞内の染色体の再編成を誘導することにも成功している（参考文献 8、9）。

(4) ドラッグ・リポジショニングに基づく遺伝子操作技術の開発

細菌感染症の治療に用いられている薬（承認薬）のトリメトプリム（trimethoprim; TMP）を用いて（＝ドラッグ・リポジショニングのアプローチに基づいて）、遺伝子のはたらきを生体内（*in vivo*）でコントロールする技術を開発した（参考文献 10）。この「SPEED（split-protein-based efficient and enhanced degradation）」と名付けた技術は、タンパク質の「分割」と「分解」という 2 つの制御機構を組み合わせた戦略に基づいており、DNA 組換え酵素の Cre など、様々なタンパク質の操作に利用できることを示した。TMP は血流に乗って全身に速やかに送達されるため、SPEED は生体の広い領域（全身など）や生体深部での遺伝子の操作において強みを発揮する。

3. まとめと今後の展望

上述のように、2025 年度までの研究によって、新たな光スイッチタンパク質等を開発することができた。最も重要なのは、光スイッチタンパク質が極めて一般性が高く、様々な光操作技術を実現できる基盤技術になり得ることである。佐藤 P は、光スイッチタンパク質によって、幅広い創薬モダリティを大きく革新できると考えている。この観点から、遺伝子医薬や細胞医薬を含めた様々な創薬モダリティに光操作技術を導入するための研究を実施している。2026 年度以降は、この様に幅広く展開する探索研究の結果を踏まえて、事業としてより大きな価値を持つ医療技術と光操作技術を組み合わせて、社会実装に向けた研究を進めていくことが重要と考えている。さらに、光スイッチタンパク質は、医療技術としてのみならず、幅広い分野に応用可能と考えており、バイオものづくり等の先端分野への光スイッチタンパク質の応用に向けて研究を実施している。

【参考文献】

1. F. Kawano, H. Suzuki, A. Furuya and M. Sato, “Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins” Nat. Commun., 6, 6256 (2015).

2. Y. Nihongaki, T. Otabe, Y. Ueda and M. Sato, “A split CRISPR–Cpf1 platform for inducible genome editing and gene activation” Nat. Chem. Biol., 15, 882-888 (2019).

3. K. Morikawa, K. Furuhashi, C. de Sena-Tomas, A. L. Garcia-Garcia, R. Bekdash, A. D. Klein, N. Gallerani, H. E. Yamamoto, S.-H. E. Park, G. S. Collins, F. Kawano, M. Sato, C.-S. Lin, K. L. Targoff, E. Au, M. Salling and M. Yazawa, “Photoactivatable Cre recombinase 3.0 for in vivo mouse applications” Nat. Commun., 11, 2141 (2020).

4. Y. Koganezawa, M. Umetani, M. Sato and Y. Wakamoto, “History-dependent physiological adaptation to lethal genetic modification under antibiotic exposure” eLife, 11, e74486 (2022).

5. Y. Kuwasaki, K. Suzuki, G. Yu, S. Yamamoto, T. Otabe, Y. Kakihara, M. Nishiwaki, K. Miyake, K. Fushimi, R. Bekdash, Y. Shimizu, R. Narikawa, T. Nakajima, M. Yazawa and M. Sato, “A red light-responsive photoswitch for deep tissue optogenetics” Nat. Biotechnol., 40, 1672-1679 (2022).

6. T. Okura, M. Tahara, N. Otsuki, M. Sato, K. Takeuchi and M. Takeda, “Generation of photocontrollable recombinant bovine parainfluenza virus type 3” Microbiol. Immunol., 67, 166-170 (2023).

7. T. Nakajima, Y. Kuwasaki, S. Yamamoto, T. Otabe and M. Sato, “A red light-activatable endogenous gene transcription system” Methods Mol. Biol., 2840, 45-55(2025).

8. H. Yone, Y. Kawashima, H. Hirai, A. H. Oda, M. Sato, H. Kono and K. Ohta, “Light-controlled Spo11-less meiotic DNA breaks by MagTAQing lead to chromosomal aberrations” Nucleic Acids Res., 53, gkaf206 (2025).

9. H. Yone, H. Kono, M. Sato and K. Ohta, “AlphaFold3-guided optimization of a photoactivatable endonuclease for top-down genome engineering” J. Biol. Chem., 301, 110762 (2025).

10. D. Cai, F. Kawano, T. Otabe, K. Hashimoto and M. Sato, “A chemically inducible, leakless Cre recombinase by split-protein-based efficient and enhanced degradation (SPEED)” Commun. Biol., 9, 93 (2026).

近赤外光スイッチタンパク質の開発

「光スイッチ医療創出」プロジェクト
中嶋　隆浩

1.　はじめに

光操作技術・オプトジェネティクスは、淡水性プランクトンであるクラミドモナスが有するチャネルロドプシンというタンパク質の発見により始まった。チャネルロドプシンは、光を受容することで活性化し、構造変化をして陽イオンを透過するようになる光活性化型の陽イオンチャネルである。マウスの培養神経細胞にチャネルロドプシンを異所性に発現させると、光照射依存的に活動電位を発生させられることが示された（参考文献１）。さらに、マウスの脳にチャネルロドプシンを発現させて、光ファイバーを脳に埋め込むことで、光によってマウスの行動をコントロールできることも示された（参考文献２）。このように、チャネルロドプシンを用いた光操作技術は、神経科学の分野に革命をもたらした。

しかし、チャネルロドプシンは細胞内の陽イオン濃度を操作することしかできない。より一般的に、例えばタンパク質や酵素の活性を光で操作できるようになったり、遺伝子の発現を光で操作できるようになれば、神経細胞だけでなく様々な細胞・生物に対して光操作技術を用いることができる。そのような目的のために、佐藤プロジェクトは、光スイッチタンパク質と呼ばれる光操作の基盤技術の開発を行っている。光スイッチタンパク質とは、光によって結合・解離をコントロールできるタンパク質ペアのことである。佐藤プロジェクトの先行研究では、Magnet システムという青色光スイッチタンパク質を開発した（参考文献３）。Magnet システムを用いることで、光操作技術は、細胞内の様々なタンパク質や酵素の活性を光で自在に操作できる時代に突入した。

しかし、青色の光はヘモグロビンなどに吸収されてしまうため、生体組織透過性が比較的低い。そのため、生体外からの青色光照射で効率よく操作できる部位は、皮膚や筋肉、肝臓の腹側など、生体表面から近い組織・器官に限定されてしまい、青色光が届きにくい生体深部に位置する臓器や骨の中の骨髄、あるいは頭蓋骨に覆われた脳などの操作は困難であることが明らかになりつつある。したがって生体深部で光操作を行うためには、ヘモグロビンなどによる吸収が小さく生体組織透過性が高い 650 nm から 800 nm の光を用いることが望ましい。近年、赤色光（660 nm）による光スイッチタンパク質は、いくつか報告されてきている。しかし、そのいずれもが汎用性や一般性が無いという課題や、光照射に関係なく作動してしまい光制御能が著しく低いといった課題、また、哺乳類細胞内には無い光合成生物由来の色素の添加が必要といった課題を抱えていた。そこで、我々はこれらの既存の技術の問題を克服できる、新たな赤色光スイッチタンパク質（MagRed：マグレッド）を開発した（参考文献４、５）。MagRed は、外来性の色素の添加を必要とせず、赤色光の ON・OFF による極めて高い制御能を有する。また、MagRed は、高い汎用性を持ち、赤色光による遺伝子発現や DNA 組換え反応の光操作を実現した（参考文献４、５）。

今回我々は、さらに長波長の光で作動する近赤外光スイッチタンパク質の開発を行った。この目的のために我々は、さまざまなアミノ酸変異体やドメインの欠失変異体、あるいはドメインを人工的に並び替えた変異体を作製して評価した。このようにして得られた近赤外光スイッチタンパク質は、MagRed の活性化光である 660 nm よりさらに 100 nm 以上長波長の、760 nm から 800 nm の近赤外光によって効率よく作動する。したがって、近赤外光スイッチタンパク質を用いることで、さらに生体の奥深くでの光操作が可能になる。

2.　実験と結果

(1) 近赤外光スイッチタンパク質の開発

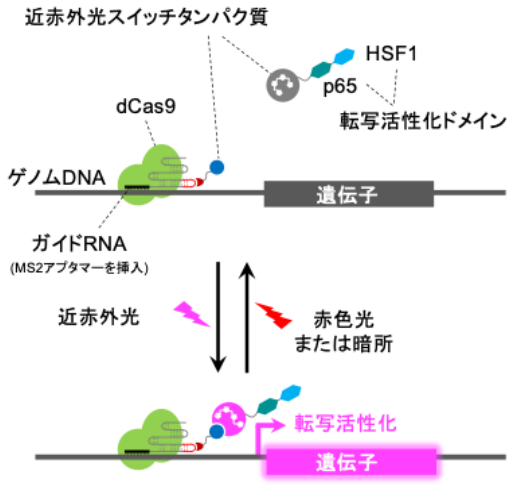


図1　ゲノム遺伝子光活性化システム･CPTS の原理

CRISPR–Cas9-based photoactivatable transcription system（CPTS）は、次のようにして標的遺伝子を活性化できる。DNA 切断活性を失活させた dCas9 と MS2 アプタマーを含むガイド RNA を用いて、標的遺伝子の上流に光スイッチタンパク質の一方を係留させる。もう一方の光スイッチタンパク質には、転写活性化因子を繋いでおく。こうすることで、光照射によって光スイッチタンパク質ペアが結合すると、転写活性化因子が標的遺伝子の近傍にリクルートされ、遺伝子発現が誘導される。一方、暗所では光スイッチタンパク質ペアは結合しないので、標的遺伝子の活性化は低く保たれる。

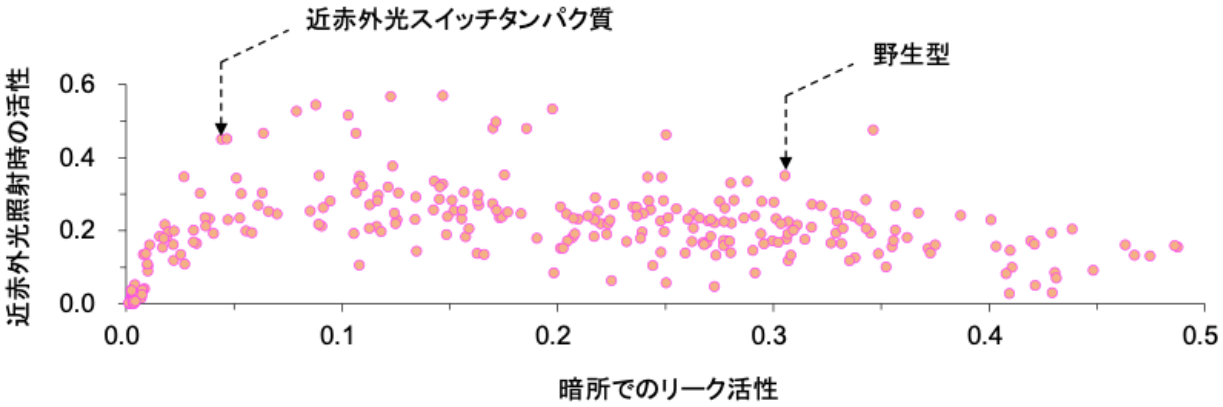


図２　近赤外光スイッチタンパク質変異体のスクリーニング

天然の近赤外光スイッチタンパク質ペア（野生型）を出発点として、光受容体側および結合パートナー側にアミノ酸置換、ドメイン欠失、ドメインシャッフリングを導入した。各変異体の組み合わせを CPTS に組み込み、暗所でのリーク活性と近赤外光照射時の活性を評価した。プロット中の各点が各変異体の組み合わせが与えた活性を表している。暗所でのリーク活性が低く（左側寄り）、近赤外光照射時の活性が高い（上側寄り）のものが、このスクリーニングで狙っているものである。出発物質の野生型とスクリーニング成果物である最適化変異体の位置を矢印で示す。

近赤外光スイッチタンパク質の開発は、光合成細菌が有する天然の近赤外光受容体とその結合タンパク質を出発物質として用いた。まず、我々はこの天然の近赤外光スイッチタンパク質が、致命的な欠点を持つことを明らかにした。この性質を評価する系として、佐藤プロジェクトで開発したゲノム遺伝子の光活性化システムを用いた。以下にその詳細を述べる（図１）。

このゲノム遺伝子の光活性化システムは、CRISPR–Cas9 システムを利用しており、次のような動作原理となっている（図１）。Cas9 の 10 番目のアミノ酸と 840 番目のアミノ酸に変異を導入して DNA 切断活性を失活させた変異体（$Cas9_{D10A/H840A}$； dCas9）とガイド RNA の複合体を、ゲノム遺伝子の上流に結合させておく。ガイド RNA には、MS2 タンパク質が結合するアプタマー配列が挿入してある。MS2 タンパク質と光スイッチタンパク質の一方を繋ぎ、もう一方の光スイッチタンパク質には転写活性化因子を繋いでおく。こうすることで、光照射によって光スイッチタンパク質を結合させた時にのみ、転写活性化因子をゲノム遺伝子直上に近接させて、遺伝子活性化を誘導することができる（図１）。ここに天然の近赤外光スイッチタンパク質を導入したところ、光照射を行った場合のみならず、暗所に保持した場合においても遺伝子活性化を誘起してしまうことがわかった。Magnet や MagRed を利用した場合にはこの暗所での活性化は観察されなかったことから、天然の近赤外光スイッチタンパク質を導入した場合に観察された活性化は、天然の近赤外光スイッチタンパク質の暗所での結合活性（リーク活性）に原因があると考えられる。このリーク活性は非常に高いため、光照射を行って

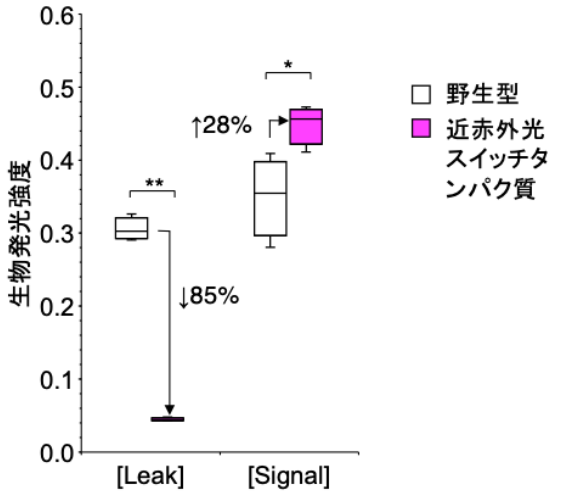


図３　プロテインエンジニアリングによる暗所リーク活性の低減と近赤外光照射時活性の向上

スクリーニングにより得られた変異体は、野生型の近赤外光スイッチタンパク質ペアと比較して、暗所でのリーク活性を 85%低減し、近赤外光照射時の活性を 28%向上させた。アスタリスクは t 検定による有意差を示す（*P < 0.05, **P < 0.01）。

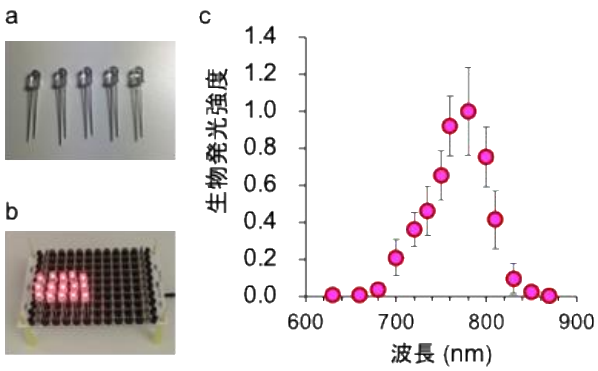


図４　近赤外光スイッチタンパク質を搭載した NIR-CPTS の波長依存性

（a, b）さまざまな波長の LED を用いて、異なる波長の光照射による遺伝子活性化効率を評価した。(c) NIR-CPTS は 780 nm 付近で最も高い活性を示し、800 nm という長波長光でも十分な遺伝子活性化を誘導した。

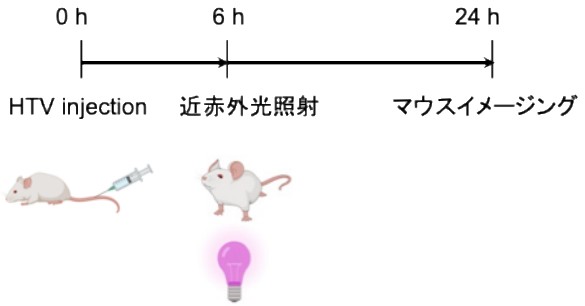


図５　マウス肝臓への NIR-CPTS 導入と近赤外光照射実験のスケジュール

Hydrodynamic tail vein injection 法により、NIR-CPTS をマウス肝臓へ遺伝子導入した。遺伝子導入後、所定の時間に近赤外光を体外から照射し、その後、*in vivo* イメージングによりレポーター遺伝子の活性化を評価した。

も、わずかにしか遺伝子活性化を誘起できない。このように、暗所でも高いリーク活性を持つことは、光照射を行う前から活性化が起こっていることを意味しており、光操作の基盤技術としては致命的な欠点となる。

そこで、我々は天然の近赤外光スイッチタンパク質にさまざまな変異を導入することで、この暗所のリーク活性を低減させられるかを検討した。我々の変異導入は複数のアプローチからなる。まず、天然の近赤外光受容体のさまざまなアミノ酸残基を１つずつアラニンに置換して、どのアミノ酸残基が結合活性に影響を与えるかを調べていった。この結果、暗所下の結合に影響を与えるアミノ酸残基と近赤外光照射下の結合に影響を与えるアミノ酸残基が存在することがわかり、アミノ酸残基のアノテーション付けに成功した。次に、そのうちのいくつかのアミノ酸残基を選択して、20 種類のアミノ酸すべての置換体を作製し、暗所下の結合活性が低い性質や近赤外光照射下の結合活性が高い性質を持つものを選び出した。次に、天然の結合パートナーについても同様に、アラニン置換体によるアノテーション付けと、アミノ酸残基の最適化を行った。また、

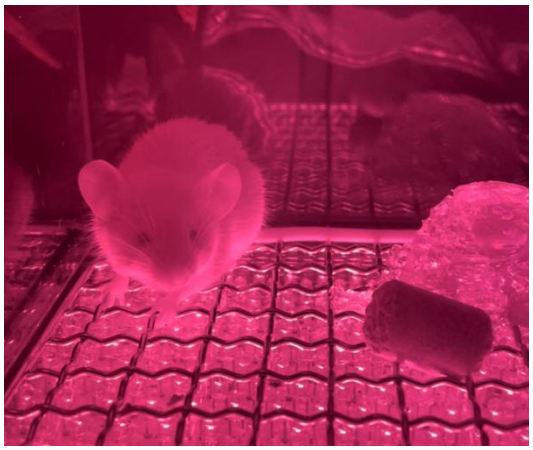


図６　LED パネルを用いたマウスへの近赤外光照射

NIR-CPTS を導入したマウスに対して、LED パネルを用いて体外から近赤外光を照射した。

天然の結合パートナーは５つのドメインからなっており、これらのドメインの順番を入れ替えたり（ドメインシャッフリング）、欠失させたり（ドメイン欠失変異体）することで暗所リーク結合活性が変化するかどうかを調べた。その結果、天然では存在しない順番のドメイン連結体が、暗所でのリーク活性を抑えることを見出した。以上に述べてきた変異体は、それぞれ組み合わせることが可能である。我々は、さまざまな変異体の組み合わせを作製し、前述の遺伝子光活性化システム CPTS に導入して測定を行った（図２）。

その結果、図３に示すように、暗所リーク活性を野生型から 85%低減させ、近赤外光照射時の活性を野生型よりも 28%向上させた変異体（近赤外光スイッチタンパク質）の開発に成功した。また、この近赤外光スイッチタンパク質を導入した遺伝子活性化システムを NIR-CPTS (CRISPR–Cas9-based photoactivatable transcription system by near-infrared light）と名付けた。

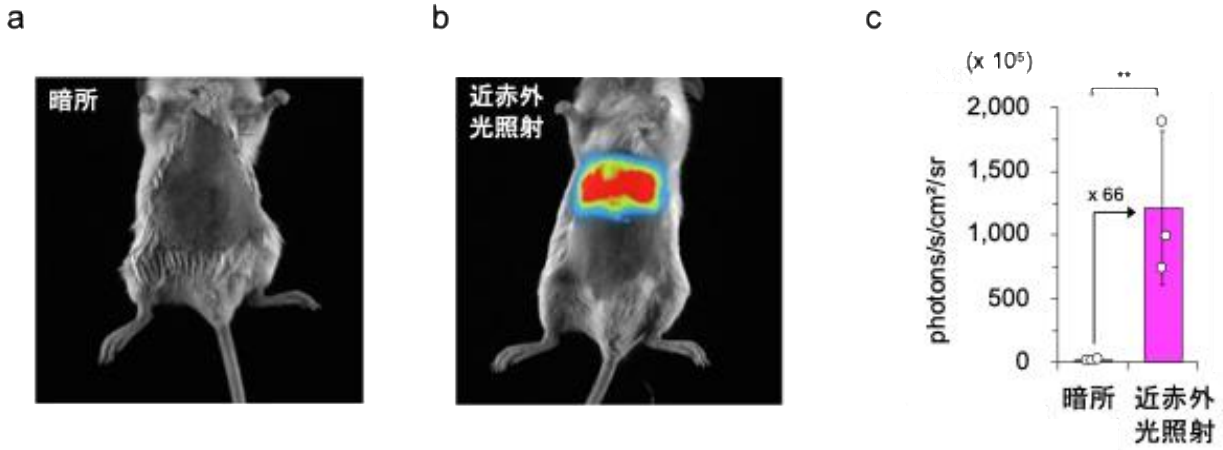


図７　マウス肝臓における近赤外光依存的なレポーター遺伝子活性化

NIR-CPTS を導入したマウスを暗所保持群（a）と近赤外光照射群（b）に分け、レポーター遺伝子の発現を *in vivo* イメージングにより評価した。近赤外光照射群では肝臓領域に強い発光シグナルが観察され（b）、定量解析においても暗所群と比較して顕著な発光強度の増加が認められた（c）。アスタリスクは t 検定による有意差を示す（P < 0.01）。**

(2) マウス生体（*in vivo*）における近赤外光照射依存的なゲノム遺伝子の活性化

先に述べたように、650 nm から 800 nm の光は生体組織透過性が高い。近赤外光スイッチタンパク質の波長依存性を、NIR-CPTS の遺伝子活性化を指標として調べたところ、当該システムは、780 nm が最適の波長であり、800 nm でも十分な遺伝子活性化を誘導できることがわかった（図４）。そこで我々は、NIR-CPTS を用いてマウスの生体（*in vivo*）で遺伝子活性化を制御できるかどうか調べた。まず、hydrodynamic tail vein injection 法でマウスの肝臓に NIR-CPTS を導入した（図５）。マウスへの近赤外光照射は、生体外から LED パネルを使って行った（図６）。このような非侵襲的な光照射方法でも、マウス肝臓において、レポーター遺伝子の活性化を誘起することができた（図７）。さらに、NIR-CPTS を用いて、マウスのゲノムにコードされた遺伝子（*ASCL1* を例に）を非侵襲的な光照射で活性化できることも明らかになった。このように、我々は開発した近赤外光スイッチタンパク質の特性を、NIR-CPTS というゲノム遺伝子の活性化技術として評価した。その結果、開発した近赤外光スイッチタンパク質は生体内でも光操作の基盤技術として利用できることがわかった。

現在、より複雑なゲノム遺伝子の働きを自在に操作できるようにするために、複数の波長の光照射で操作する新たな技術の開発を行っている。また、それに加えて、近赤外光スイッチタンパク質の作動メカニズムの解明も行った。この知見を用いて、さらなる機能向上も開始している。

3. 今後の展望

生体組織透過性が高い近赤外光でコントロール可能な光スイッチタンパク質を開発し、これを用いて、近赤外光照射によってゲノム遺伝子を活性化する光操作ツール（NIR-CPTS）の開発を行った。今後は、がんを治療する細胞医薬に NIR-CPTS を搭載させて、光スイッチ細胞医薬を開発する。これは、光照射を施した部位でのみ薬効を発揮させることができるため、従来のがん治療に比べて、正常組織への副作用を抑えて安全性を担保しながら、薬効を大幅に高めることが可能である。長波長の光照射による革新的ながん治療が実現すれば、医療分野へのインパクトは非常に大きく、関連産業の振興に大きく貢献することが期待される。

【参考文献】

1. M. Hausser and S. Smith, “Controlling neural circuits with light” *Nature*, **446**, 617-619 (2007).
2. F. Zhang, V. Gradinaru, A. Adamantidis, R. Durand, R. Airan, L. Lecea and K Deisseroth, “Optogenetic interrogation of neural circuits: technology for probing mammalian brain structures. *Nature Protocols,* **5**, 439–456 (2010).
3. F. Kawano, H. Suzuki, A. Furuya and M. Sato, “Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins” *Nature Communications*, **6**, 6256 (2015)
4. Y. Kuwasaki, K. Suzuki, G. Yu, S. Yamamoto, T. Otabe, Y. Kakihara, M. Nishiwaki, K. Miyake, K. Fushimi, R. Bekdash, Y. Shimizu, R. Narikawa, T. Nakajima, M. Yazawa and M. Sato, “A red light-responsive photoswitch for deep tissue optogenetics” *Nature Biotechnology,* **40**, 1672-1679 (2022)
5. T. Nakajima, Y. Kuwasaki, S. Yamamoto, T. Otabe and M. Sato, “A red light-activatable endogenous gene transcription system with Red-CPTS” *Methods Mol. Biol.*, **2840**, 45-55 (2025).

光スイッチ遺伝子医薬の開発

「光スイッチ医療創出」プロジェクト
小田部尭広

1. はじめに

近年、ゲノム編集をはじめとする遺伝子治療技術の臨床応用が急速に進展している。しかし、ゲノム編集技術では酵素活性を空間的・時間的に厳密に制御することが難しく、意図しない組織や細胞において編集が生じるリスクがあるため、安全性の確保が大きな課題となっている。そこで本プロジェクトでは、我々の研究グループが独自に開発した光スイッチタンパク質を組み込んだゲノム編集の光操作技術を活用し、安全性と有効性を向上させた新しい概念の光スイッチ遺伝子医薬の創出を目指している。我々は、糸状菌の一種である赤パンカビ（Neurospora crassa）由来の光受容体タンパク質に着目し、多様なアミノ酸変異を導入することでその性質を改良するとともに新たな機能を付加し、光スイッチタンパク質「Magnet システム」を開発した（参考文献 1)。Magnet システムは、青色光の照射によって互いに結合し、照射を止めると解離する一対のタンパク質から構成される。これらに任意のタンパク質 A および B を融合することで、青色光照射に応じて A と B の相互作用を制御することができる。この特性を利用することで、興味のある酵素をはじめとするさまざまなタンパク質の機能を、光を介して自在に調節することが可能となった。これまで我々は、Magnet システムを基盤技術として活用し、さまざまなゲノム編集ツールと組み合わせることで、多様な光操作技術を開発してきた。まず一つ目の例として、CRISPR-Cas9 システムの光操作技術の開発が挙げられる。この技術では、標的となるガイド RNA を設計するだけで、光による高い時空間的制御性を活かし、生体組織内の特定の部位やタイミングにおいてゲノム DNA の塩基配列を書き換えることが可能となった（参考文献 2)。さらに、この技術を応用することで、遺伝子発現のオン・オフを自由に、かつ繰り返し制御することも実現している。（参考文献 3)。

二つ目の例として、バクテリオファージ由来の DNA 組換え酵素 Cre の組換え活性を、青色光照射によって制御可能とした光活性化型 Cre（PA-Cre）を開発した（参考文献 4, 5, 6, 7)。本技術により、特定の組織や細胞を標的として DNA 組換え反応を誘導し、遺伝子機能を時空間的に制御することが可能となった。この技術は、さまざまな疾患関連遺伝子の機能解析に有用であるだけでなく、近年では治療に必要な遺伝子発現を制御する遺伝子医薬への応用も視野に入れ、研究開発を進めている。

また我々は、Magnet システムをゲノム編集ツールの光制御に限定することなく、多様なタンパク質へと応用することで、その利用範囲を拡大してきた（参考文献 8)。Magnet システムは、青色光に応答して 2 分子の結合と解離を可逆的に制御できる優れた光スイッチタンパク質である。一方で、その機能は 2 分子間相互作用を基本原理としているため、細胞内における各分子の発現量や局所濃度の影響を受けやすいという課題がある。すなわち、細胞内で両分子が十分に遭遇できない場合には反応効率が低下し、遺伝子治療への応用時には期待される治療効果が十分に得られない可能性がある。この課題を解決するため、我々は Magnet システムのさらなる高機能化に取り組み、次世代の基盤技術の構築を進めてきた。この基盤技術をさらに発展させることで、PA-Cre のさらなる高機能化を進めている（**図 1**)。

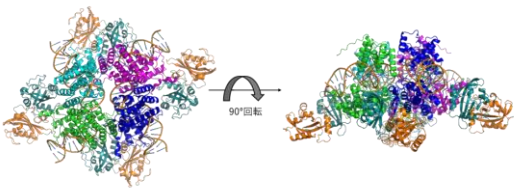


図 1 AlphaFold による予測構造をもとにした PA-Cre の改良

一方で我々は、光応答だけでなく、低分子化合物を利用した遺伝子制御技術の開発にも取り組んでいる（参考文献 9)。Cre リコンビナーゼを利用した薬剤誘導型 DNA 組換えシステムは、強力な遺伝学的解析や遺伝子制御を実現す

るための有用なツールである。しかし、既存の薬剤誘導型 Cre システムの一部では、薬剤非存在下でもリーク活性を示すことが課題となっている。そこで我々は、この課題を解決するため、承認薬によって作動を制御でき、かつ意図しない Cre-loxP 組換え反応を極めて低く抑制した新たな薬剤応答型 Cre システム(SPEED-Cre)を開発した。SPEED-Cre は、新規手法である SPEED 戦略（Split-Protein-based Efficient and Enhanced Degradation）にもとづいて設計した薬剤応答型 Cre である。

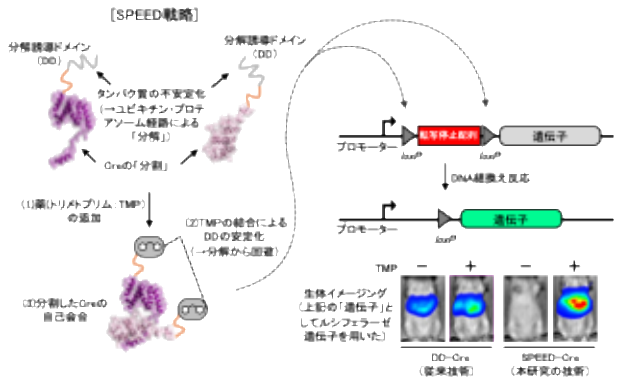


図 2 薬剤応答型 DNA 組換え技術「SPEED-Cre」の概要。「分割×分解」の分子設計戦略により、承認薬トリメトプリム（TMP）で DNA 組換えを誘導しつつ、薬剤非存在下でのリーク活性を極めて低く抑制した。生命科学研究および遺伝子治療研究への応用が期待される。

本システムでは、自発的に会合する分割 Cre に、大腸菌由来ジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）の不安定化ドメイン（DD）変異体を融合しており、この DD は抗生物質トリメトプリム（TMP）の存在下で安定化される。その結果、TMP 非存在下では有意なバックグラウンド DNA 組換え活性を示さない一方、哺乳類細胞およびマウス生体内において、TMP 依存的な Cre-loxP 組換え反応を高効率に誘導できることを示した（**図 2**）。これらの成果は、光と薬剤という異なる外部刺激を利用した相補的な遺伝子制御技術として、目的や用途に応じた最適な遺伝子制御システムの構築につながるものと期待される。

2. 実験方法

(1) Magnet システムの改良

Magnet システムは 2 分子間相互作用を利用して機能するため、反応効率が細胞内の分子濃度に依存しやすいという課題があった。そこで我々は、構造情報を活用した「concatenation」アプローチにより、この課題の解決を図った新規 Magnet システムを構築した（図 1）。本システムでは、青色光照射時の反応効率向上が期待される。さらに、開発した Magnet システムを既存の光活性化型 Cre リコンビナーゼ（PA-Cre）へ適用し、DNA 組換え反応効率を評価した。

(2) 改良型 PA-Cre の評価

改良型 PA-Cre の機能評価には、loxP サイトで挟まれた停止配列（ストップカセット）をレポーター遺伝子の上流に配置した評価系を用いた。この評価系では、ストップカセットの存在により通常はレポーター遺伝子の発現が抑制されているが、青色光照射によって改良型光活性化 Cre リコンビナーゼ（PA-Cre）が活性化されると、ストップカセットが切除され、レポーター遺伝子が発現可能となる。一方、暗所では PA-Cre は作動しないためストップカセットは除去されず、レポーター遺伝子は発現しない。このとき暗所においてわずかに検出されるレポーター遺伝子の発現を「リーク活性」と定義した。本実験では、レポーター遺伝子として生物発光タンパク質であるホタルルシフェラーゼ（Fluc）を使用した。

実験では、まず細胞を 2 枚の 96 ウェルプレートに播種し、24 時間後にリポフェクション法を用いて各種プラスミド DNA を導入した。導入後は 24 時間暗所で培養した後、プレートを青色光照射群と暗所維持群の 2 群に分け、37°C、CO_2インキュベーター内でさらに 24 時間培養した。青色光の照射には LED アレイを使用した（図 3A）。その後、両群の培地をホタルルシフェラーゼ（Fluc）の基質であるルシフェリンを含む培地へ交換し、生物発光シグナルを測定した。

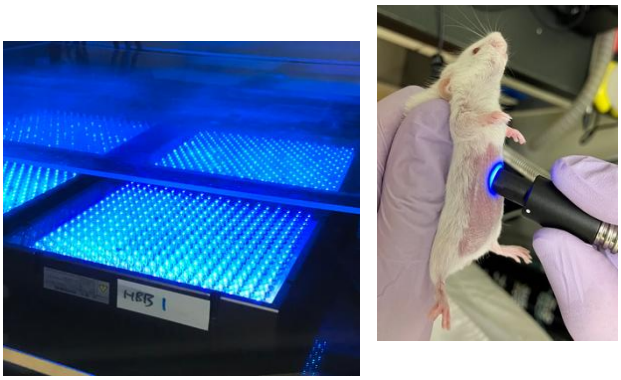


図 3 (A) 細胞への光照射に用いた青色 LED アレイ（波長：470 ± 20 nm、光強度：1.0 W m^{-2}）。(B) LED ポイント照明装置によるマウスへの局所光照射の様子

3. 実験結果と考察

Magnet システムに「concatenation」アプローチを導入し

た結果、暗所におけるリーク活性をほとんど増加させることなく、青色光照射時の活性を従来の PA-Cre と比較して大幅に向上させることに成功した。この性能向上は、「concatenation」によって細胞内濃度への依存性が低減され、従来の課題を克服できたことによるものと考えられる。現在は、改良型 PA-Cre のさらなる高性能化を目指し、分割位置、細胞内局在、および Cre と Magnet システム間の距離などの設計パラメータについて最適化を進めている。今後は、暗所でのリーク活性を一層抑制するとともに、青色光照射時の活性をさらに向上させた PA-Cre の開発を目指す。

4. 今後の展開

本研究では、既存の Magnet システムに「concatenation」アプローチを取り入れることで、従来を上回る性能を有する新たな基盤技術を構築した。さらに、この改良型 Magnet システムを PA-Cre へ適用し、その有用性を実証した。今後は、遺伝子治療ベクターとして広く利用されているアデノ随伴ウイルス（AAV）へ改良型 PA-Cre を搭載し、マウスを用いた動物実験へ展開することで、光スイッチ医療の実現に向けた実証研究を進める（図 3B）。加えて、遺伝子医薬への応用を見据え、近年 AAV ベクターへの搭載が可能となった CRISPR-Cas システムと、本研究で開発した新規 Magnet システムを組み合わせた光スイッチ遺伝子医薬の開発にも取り組んでいる。本研究で開発した光スイッチタンパク質は、従来の相互作用型光スイッチタンパク質にはない特徴を備えており、これまで実現が困難であった新たな光スイッチ医薬の創出につながるものと期待される。この技術についても、さらなる研究開発を進めている。また、我々は光だけでなく薬剤を入力とする遺伝子制御技術の開発にも取り組んでおり、それぞれの特徴を活かした外部刺激応答型遺伝子制御基盤の構築を進めている。これらの技術は医療分野のみならず、微生物を利用した有用物質生産など産業応用への展開も期待される。

【参考文献】

1. F. Kawano, H. Suzuki, A. Furuya and M. Sato, “Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins” Nat. Commun., **6**, 6256 (2015).
2. Y. Nihongaki, F. Kawano, T. Nakajima, and M. Sato, “Photoactivatable CRISPR-Cas9 for optogenetic genome editing” *Nat. Biotechnol.,* **33**, 755-760 (2015).
3. Y. Nihongaki, Y. Furuhata, T. Otabe, S. Hasegawa, K. Yoshimoto, and M. Sato, “CRISPR-Cas9-based photoactivatable transcription systems to induce neuronal differentiation” *Nat. Methods,* **14**, 963-966 (2017).
4. F. Kawano, R. Okazaki, M. Yazawa and M. Sato, “A photoactivatable Cre–*loxP* recombination system for optogenetic genome engineering” *Nat. Chem. Biol.,* **12**, 1059-1064 (2016).
5. T. Takao, Y. Hiraoka, K. Kawabe, D. Yamada, L. Ming, K. Tanaka, M. Sato, and T. Takarada, “Establishment of a tTA- dependent photoactivatable Cre recombinase knock-in mouse model for optogenetic genome engineering” *Biochem. Biophys. Res.Commun*., **526**, 213-217 (2020).
6. K. Morikawa, K. Furuhashi, C. de Sena-Tomas, A. L. Garcia-Garcia, R. Bekdash, A. D. Klein, N. Gallerani, H. E. Yamamoto, S.-H. E. Park, G. S. Collins, F. Kawano, M. Sato, C.-S. Lin, K. L. Targoff, E. Au, M. Salling and M. Yazawa, “Photoactivatable Cre recombinase 3.0 for in vivo mouse applications” *Nat. Commun*., **11**, 2141 (2020).
7. K. Yoshimi, Y. Yamauchi, T. Tanaka, T. Shimada, M.Sato and T. Mashimo, “Photoactivatable Cre knock-in mice for spatiotemporal control of genetic engineering in vivo” *Lab. Invest*., **101**, 125-135 (2021).
8. M. Tahara, Y. Takishima, S. Miyamoto, Y. Nakatsu, K. Someya, M. Sato, K. Tani, and M. Takeda, “Photocontrollable mononegaviruses” *Proc. Natl. Acad.Sci. USA*, **116**, 11587-11589 (2019).
9. D. Cai, F. Kawano, T. Otabe, K. Hashimoto, M. Sato, “A Chemically Inducible, Leakless Cre Recombinase by Split-Protein-Based Efficient and Enhanced Degradation (SPEED),” *Communications Biology*, Vol. 9, p. 93 (2025).

業績

【原著論文】

1. H. Yone，Y. Kawashima，H. Hirai，Arisa H. Oda，M. Sato，H. Kono,and K. Ohta, “Light-controlled Spo11-less meiotic DNA breaks by MagTAQing lead to chromosomal aberrations” *Nucleic Acids Research*, 53, (2025)
2. H. Yone, H. Kono, M. Sato, and K. Ohta, “AlphaFold3-guided optimization of a photoactivatable endonuclease for top-down genome engineering” *Journal of Biological Chemistry*, 301,(2025)
3. D. Cai, F. Kawano,T. Otabe,K. Hashimoto and M. Sato, “A chemically inducible, leakless Cre recombinase by split-protein-based efficient and enhanced degradation (SPEED)” *Communications Biology* 9, 93 (2026)

【総説】

なし

【書籍】

なし

【口頭発表】

1.中嶋隆浩、桑﨑勇人、山本翔太、小田部尭広、佐藤守俊
「生体深部で生命現象を光操作するための赤色光スイッチタンパク質」
第 31 回 日本遺伝子細胞治療学会学術集会、2025 年 7 月 24 日、東京

2.小田部尭広、大木 悠翔、橋本 講司、佐藤 守俊
「光制御型プライムエディターの開発」
第 31 回 日本遺伝子細胞治療学会学術集会、2025 年 7 月 24 日、東京

3. 河田紗弥、小田部尭広、佐藤守俊
「光操作可能なバクテリアの開発」
第 65 回生命科学夏の学校、2025 年 8 月 29 日、東京

4. 中嶋隆浩，小田部尭広，佐藤守俊
「近赤外光によるゲノム遺伝子の活性化システム」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

5. 小田部尭広，大木悠翔，橋本講司，佐藤守俊
「光操作可能なプライムエディターの開発」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

6. Dewen Cai, Fuun Kawano, Takahiro Otabe, Koji Hashimoto, Moritoshi Sato
「A chemically inducible, leakless Cre recombinase achieved by split protein based efficient and enhanced degradation (SPEED)」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

7. 何季璇，橋本講司，河野風雲，佐藤守俊
「Enhancing the Photoactivated Heterodimerization“Magnet” by Directed Evolution」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

8. 上野李王，橋本講司，佐藤守俊
「赤色光操作に基づく DNA 組換え制御システム「RedPA-Cre」の改良」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

9. 常峰，小田部尭広，佐藤守俊
「光応答可能な Cas13 によるスプライシング制御技術の開発」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

10. 青野侑基，一宮航，吉田まゆみ，中嶋隆浩，佐藤守俊
「Highly efficient fluorescent probe to visualize nanoscale architecture of protein interaction by super-resolution microscopy」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

11. 福武幸之助，小田部尭広，佐藤守俊
「生体外から制御可能なリコンビナーゼの開発」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

12. 于柔，中嶋隆浩，青野侑基，佐藤守俊
「Optogenetic Control of Fluorescence Fluctuations for Super-resolution Imaging」
Chem-Bio Joint Seminar 2025、2025 年 8 月 30 日、つくば

13. 佐藤守俊
「Manipulating biological processes by light」
8th Stockholm Trio-The University of Tokyo – Workshop、2025 年 9 月 29 日、東京

14. 佐藤守俊
「Optical manipulation of the genome」
第 54 回内藤コンファレンス、2025 年 10 月 8 日、札幌

15. 佐藤守俊
「光スイッチ技術の創出」
第 2 回 OEB×GteX 連携イベント、2025 年 9 月 29 日、東京

16. Dewen Cai, Fuun Kawano, Takahiro Otabe, Koji Hashimoto, Moritoshi Sato
「A chemically inducible, leakless Cre recombinase achieved by split protein based efficient and enhanced degradation (SPEED)」
第 54 回内藤コンファレンス、2025 年 10 月 9 日、札幌

17. Takahiro Nakajima, Yuto Kuwasaki, Shota Yamamoto, Takahiro Otabe, Moritoshi Sato
「MagRed: a red light–responsive photoswitch for deep tissue optogenetics」
Pacifichem 2025、2025 年 12 月 16 日、ハワイ

18. Yuki Aono, Takahiro Nakajima, Moritoshi Sato
「A highly efficient fluorescent probe to visualize protein

interactions at the super-resolutions」
Pacifichem 2025、2025 年 12 月 17 日、ハワイ
19. Saya Kawata, Takahiro Otabe, Moritoshi Sato
「Development of light-controllable bacteria using photoactivatable Cre」
Pacifichem 2025、2025 年 12 月 19 日、ハワイ
20. Rio Ueno, Koji Hashimoto, Moritoshi Sato
「Lentivirus-based directed evolution for enhancing red-light-activated Cre recombinase」
Pacifichem 2025、2025 年 12 月 19 日、ハワイ

【特許】

⑴国内特許出願　0 件
⑵国際特許出願　0 件

研究報告2026目次【研究開発部】

有望シーズ展開事業

「次世代合成生物基盤」プロジェクト

◆ 統括・・・

「次世代合成生物基盤」プロジェクト

プロジェクトリーダー　相澤　康則

【基本構想】

本プロジェクトでは、独自の iPS 細胞ゲノム構築技術群や大規模ゲノム改変技術を活用し、創薬分野での革新的イノベーションを生み出すプラットフォーム技術の開発と、高付加価値な疾患モデル細胞リソースの構築を推進しています。具体的には、現代人の健康寿命を脅かすがん領域において、膨大な変異遺伝子発現 iPS 細胞コレクションと細胞評価自動化システム、独自のバーコード識別解析系を融合させ、遺伝的背景のノイズなしに病態化メカニズムを深く理解できる環境を整備しています。さらに、公的規制研究機関との連携によるゲノム品質評価基準の策定や、国内外のトップ研究機関との共同研究を通じた神経変性・脳神経系疾患、糖尿病等の病態解明、宿主細胞内で長鎖 DNA の合成から高効率回収までを完結させる革新的なゲノム構築技術の開発を担っています。これらの研究リソースを最大限活用し、がん治療や再生医療の基盤となり得る国内外の研究機関や企業との連携を拡げ、神奈川県における創薬研究開発支援の拠点形成に資することを目指しています。

1.　2025 年度の研究目的

前年度までに構築した技術基盤や各種ライブラリーなどの独自創薬研究リソースを実用的な病態検証および応用展開のフェーズへと移行させ、国内外における共同研究の本格化を見据え、各研究項目について以下のように目標を設定して研究を実施した。

研究項目A：がんモデルiPS細胞ライブラリーの開発とその活用

がんは複数の遺伝子変異の蓄積によって進行する「遺伝子の病気」であり、臨床現場における抗がん剤抵抗性の獲得や腫瘍の再拡大は、これら複数変異の相乗効果が深く関与している。当グループでは、これまで培ってきたヒトゲノム構築技術を活用し、がん臓器で高頻度にみられる290種類のがん遺伝子を変異型として人工的に発現誘導できるヒトiPS細胞の実験系（プラズミドライブラリーおよび細胞株）を前年度までに開発してきた。2025年度は、この独自の創薬研究技術基盤を活用するため、以下の3つの具体的な目標を設定した。

変異遺伝子発現iPS細胞を活用した遺伝性腫瘍症候群に対する創薬基盤研究　遺伝性腫瘍症候群における若年がん化の遺伝子メカニズムを理解することは、効果的な予防法や新薬開発の基盤として重要である。しかし、従来の患者由来iPS細胞を用いたアプローチでは、個々人の遺伝的背景に由来するノイズが大きく、特定の遺伝子変異が腫瘍形成へ及ぼす直接的な影響を正確に見極めることが困難であった。本年度は、当グループが保有する発現誘導型がんモデルiPS細胞が健常者由来であることの優位性を活かし、同症候群の原因とされる遺伝子変異による幹細胞分化抵抗性を検証することとした。

遺伝子変異による抗がん剤抵抗性の評価研究　がん治療における最大の障壁である抗がん剤抵抗性と遺伝子変異の間の因果関係データを網羅的に取得するため、前年度までに構築した変異体発現iPS細胞群と多種類の抗がん剤を組み合わせた大規模な細胞機能解析（生存・死滅プロファイリング）の開始を計画した。本年度は、この膨大な組み合わせ評価をハイスループット化するため、細胞自動評価システムの運用に加えて、同一ウェル内で多種類の変異発現細胞を同時に培養・解析できるDNAバーコードシステムの導入を目標とした。

iPS細胞のゲノム品質評価基準の開発　当グループの開発してきた変異遺伝子発現誘導系は、がん発症の理解のみならず、再生細胞医療製品の安全性・ゲノム品質評価基準を策定する上でも有用である。本年度は、国立医薬品食品衛生研究所（国衛研）とのAMED共同研究プロジェクトのもとで薬剤誘導後の細胞評価系を共同で推し進めるため、まずは評価用細胞株の提供を進めることとした。並行して、実際の細胞培養下において自然発生しやすい特定の変異を網羅的に選定し、これらをあらかじめゲノム内へ導入した新規の品質評価用iPS細胞ライブラリーを構築することを目標とした。

研究項目B：各種疾患モデルiPS細胞の応用性検証

1細胞あたり2コピー存在する遺伝子のうち、一方のアリルのみに効率よく変異を導入するアリル特異的ゲノム改変技術（asUKiS）は、本事業で既に確立済みである[1]。asUKiS法は、一方のアリルの変異のみで発症する様々な顕性疾患（神経変性疾患など）を模倣するiPS細胞の作成において高い汎用性と優位性をもつ。2025年度は、asUKiS法を基盤に、国内外のトップ研究機関との多角的な共同研究を本格化させ、技術の応用性を広く実証することを目的とした。

研究項目C：ゲノム構築による感染症対策技術の開発

本研究開始当初に計画していたウイルスゲノムの合成法開発は研究リソースの集中と選択のために一時中断しているが、ウイルスゲノム合成以外にも多くの用途に活用できるゲノム構築基盤技術の開発は続けている。

国際的にも多くの研究室が使っている長鎖DNA合成法では、酵母と大腸菌といった２種類の宿主細胞を使うが、そのために長鎖DNAの回収率が大きく低下する課題があった。2025年度は、単一の細菌宿主内で長鎖DNAの相同組換えによる「合成」から「直接かつ大量の回収」までをシームレスに完結できる、枯草菌を宿主とした新規の形質転換アプローチの確立を目指した。

2. 2025 年度の研究成果

2025年度は国内外の研究機関との共同研究を本格化させると共に、グループ内では具体的な病態解明や創薬スクリーニング、ゲノム品質評価基準の策定において研究を強力に推進した。研究成果の詳細は、倉澤氏や赤瀬氏からの報告に譲り、ここではその特筆すべき内容だけを述べる。

研究項目A：がんモデルiPS細胞ライブラリーの開発とその活用

2024年度は薬剤による発現誘導型プロモーターを用いて、がん臓器で高頻度にみられる290種類のがん遺伝子を安定発現するプラズミドライブラリーを完成させると共に、それらプラズミドをゲノム導入したiPS細胞株を樹立した。2025年度は、これら研究リソースを活用し、以下の3つの研究を本格的に展開した。

・変異遺伝子発現iPS細胞を活用した遺伝性腫瘍症候群に対する創薬基盤研究 特定の遺伝性腫瘍症候群では、若年期に高い頻度で各種の腫瘍（副腎皮質がん、乳がん、中枢神経系腫瘍、骨肉腫、軟部肉腫など）を発症することが知られている。その原因遺伝子として特定のガン抑制遺伝子変異が関与しているとされている。個々の変異の影響や、他遺伝子変異との相乗効果を理解する上で、患者由来iPS細胞を用いた従来研究では遺伝的背景のノイズから検証が困難であった。本年度、当グループが作製した健常者由来iPS細胞をベースとする変異型遺伝子発現iPS細胞を用いて、同症候群における特定の腫瘍形成（骨芽細胞のがん化など）メカニズムの解明に着手した。外部研究機関との連携（殿町・羽田地域内連携）のもと、iPS細胞から骨芽細胞への分化プロトコールを導入および最適化を進めている。現在、がん抑制遺伝子の変異型を発現するiPS細胞株を用いた分化実験を開始しており、次年度中の解析完了と早期の論文投稿を目指す。

遺伝子変異による抗がん剤抵抗性の評価研究 がんモデルiPS細胞コレクションの機能解析の一環として、抗がん剤抵抗性を誘発する遺伝子変異の探索研究を開始した。同一ゲノム背景を持つ20種類の変異体発現iPS細胞に対し、入手した13種類の抗がん剤（承認済：8種、開発中：5種）を作用させ、細胞生存・死滅プロファイリングの検証を進めている。本評価のハイスループット化にあたり、自動細胞解析システムの活用に加え、変異発現プラズミドへ独自の「DNAバーコード配列」を導入した。これにより、多種類の変異発現細胞を同一ウェル内で混合培養（One-pot解析）し、抗がん剤処理後に生存した細胞のバーコード領域を解析することで、抵抗性を示す変異株を網羅的に同定することが可能となった。さらに本年度は、第三世代シーケンサーを用いたバーコード識別用のバイオインフォマティクス解析系も確立した。本システムを用いて特定の抗がん剤に対する抵抗性スクリーニングを試行した結果、特定の抗がん剤に対して4種類のTP53遺伝子変異が有意な抵抗性を示すことを見出した。

iPS細胞のゲノム品質評価基準の開発 国立医薬品食品衛生研究所（再生・細胞医療製品部：国衛研）とのAMED共同研究プロジェクトのもと、iPS細胞培養過程で自然発生する遺伝子変異の影響評価を進めた。国衛研における薬剤誘導後の細胞評価系確立に向け、昨年度作製したTP53変異体を単独発現するiPS細胞株（20株）を提供した。並行して、自然発生頻度が高い特定の変異体上位15種（がん関連変異3種、機能不明変異12種）を選定し、これらをLanding Padへ導入した新規iPS細胞ライブラリーの構築も完了した。現在、薬剤による発現誘導の確認実験を行っており、確認され次第、国衛研へサンプルを提供して品質評価基準の策定を推進する。

研究項目B：各種疾患モデルiPS細胞の応用性検証

当グループが確立したアリル特異的ゲノム改変技術（asUKiS）を基盤に、国内外の研究機関との多角的な共同研究を展開し、大規模ゲノム改変技術の有用性を実証した。

神経変性・脳神経系疾患モデルを用いた共同研究 国内大学との共同研究である、ハンチントン病（HD）モデルiPS細胞を用いた創薬研究については、現在共同研究先にて論文発表に必要な最終データの収集が進んでいる。また、新規の共同研究提案に基づき、特定の脳神経系疾患（てんかん性脳症等）のモデルiPS細胞の作製を完了して共同研究先への送付を終えた。さらに、特殊なゲノム高次構造形成が関与する疾患のモデルiPS細胞株についても、現在作製を進めており、26年度夏の送付を予定している。

国際共同研究の展開 米国大学との間で、当グループの大規模ゲノム改変技術を活用した国際共同研究を開始した。マウスゲノム上に多数存在する特定の受容体遺伝子群を対象とし、最も多くの遺伝子が含まれる上位8箇所のクラスターをマウスES細胞内で段階的に欠損させる。本年度は、これら8クラスターをそれぞれ単独で欠損したES細胞クローンの作製、増幅、および凍結保存を完了した。次年度はこれらの細胞を同大学へ提供し、個体マウスの作製および脳神経系への影響評価（遺伝子発現に関する仮説検証）を開始するとともに、多重欠損細胞の作製へと進める。

その他の新規共同研究の展開 次年度より国内の医療機関・大学との共同研究を開始する。糖尿病におけるインスリン分泌不全メカニズムを解明するため、特定の受容体遺伝子を欠損したマウス細胞を当グループで構築し、先方が機能評価を行う。

当グループの大規模ゲノム改変技術の優位性が国内外で広く認知されつつあり、共同研究ネットワークは確実に

拡大している。今後も積極的な情報発信を継続し、インパクトの高い研究成果創出を目指す。

研究項目C：ゲノム構築による感染症対策技術の開発

従来の長鎖DNA合成技術において広く用いられてきた出芽酵母によるギャップリペア修飾法（GRC法）では、出芽酵母内連結したDNAの回収効率が極めて低く、増幅のために大腸菌への再導入（形質転換）を要する多段階プロセスが大きなボトルネックであった。本年度、当グループはこれらの制限を打破すべく、単一の細菌宿主内で長鎖DNAの「合成」と「直接かつ大量の回収」をシームレスに行うことができる、枯草菌を宿主とした新規GRCシステムを確立した。枯草菌の天然の形質転換機構では導入時にDNA末端が消失しやすいという課題に対し、プロトプラスト形質転換法を導入・最適化することでこれを回避した。さらに、ゲノム上の内因性*recA*プロモーターをキシロース誘導型プロモーターへと置換した特殊な評価株を構築した。細胞増殖期に一時的にRecAを発現誘導させることで、ゲノムの安定性を損なうことなく、相同組換え効率を劇的に向上させるプロトコールを完成させた。

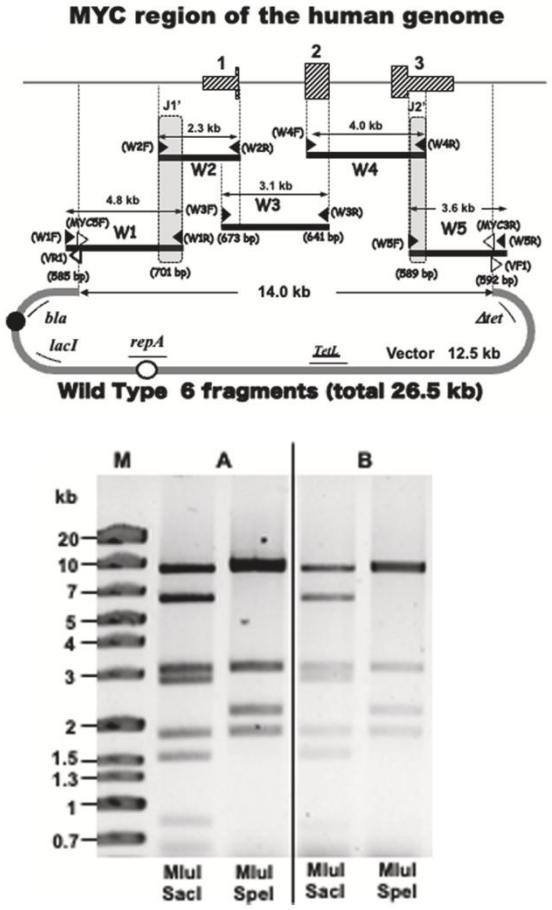


図 1　ギャップリペア修飾法によるヒト MYC 遺伝子部位のゲノム断片連結。上段：DNA 断片再構築を示す模式図。MYC 遺伝子領域をカバーする５つの DNA 断片（W1-5）を、pGETS109 由来のプラズミドと相同組換えによって連結させる。下段：得られた２種類のプラズミド（A および B）に対する制限酵素切断評価。期待する長さの DNA 断片が検出されている。

本システムの実証として、ヒトゲノム領域由来の断片を含む最大 26.5 kb に及ぶ巨大プラスミドの単一ステップ合成にも成功し、標準的なキットを用いてクリーンかつ大量に DNA を直接回収できる優位性を実証した（図１）[2]。本技術は、物理的剪断に極めて脆い長鎖ウイルスゲノム等の直接調製プロセスを大幅に効率化するものであり、合成ゲノミクス分野における汎用性の高い基盤技術である。

参考文献：

（１）Kurasawa H, Matsuura Y, Yamane R, Ohno T, Aizawa Y. *Genes Genet Syst*, *100*, 10.1266/ggs.25-00016 (2025).

（２）Kaneko S, Nakahama M, Hashimoto H, Aizawa Y. *Journal of Biotechnology*, *415*, 130-134 (2026).

がんモデル iPS 細胞ライブラリの構築

「次世代合成生物基盤」プロジェクト
倉澤　光

1. はじめに

(1-1) 背景

がんは、細胞が複数の遺伝子変異を段階的に獲得することで発症・進行する多段階悪性化疾患である。がん関連遺伝子のうち、変異によって細胞増殖、生存、浸潤・転移などを直接的に駆動するものは「ドライバー遺伝子」と呼ばれる。臨床においては、同一の原発臓器由来のがんであっても、保持するドライバー遺伝子の種類やその組み合わせの多様性（多様な共起変異）によって、腫瘍の生物学的特性や治療応答性が大きく異なる。したがって、がんの本質的な理解および精密医療（プレシジョン・メディシン）の確立に向けては、個々のドライバー遺伝子変異が細胞表現型に与える単独の影響のみならず、複数変異が共存した際の相互作用（相乗効果や排他性）を体系的に検証することが不可欠である。

近年、次世代シーケンサー（NGS）技術の飛躍的発展と The Cancer Genome Atlas（TCGA）[1]などの国際的な大規模がんゲノムプロジェクトにより、がん種ごとの変異プロファイルや高頻度な共起・排他関係が網羅的にカタログ化されてきた。これらゲノム解析から得られる情報は静的な「変異の有無」の記述に留まり、各変異が細胞のシグナル伝達や形質転換に果たす動的な機能的意義を直接的に証明するものではない。特に、患者由来のがん組織や既存のがん細胞株は、すでに無数の背景変異や染色体不安定性を抱えているため、特定の変異がもつ影響や、変異間の相乗効果を個別に切り分けて精密に解析することは極めて困難である 。

この課題を克服するアプローチのひとつとして我々は、同一の遺伝的背景（アイソジェニックな背景）を持つ健常者由来の人工多能性幹細胞（iPS 細胞）へ、変異したガンドライバー遺伝子を導入し、その表現型変化を直接比較する実験系を構築してきた。本プロジェクトでは、我々が培ってきた高度なゲノム編集技術を駆使し、「がんモデル iPS 細胞ライブラリ」の構築を推進している。本ライブラリは、単一の親 iPS 細胞株を出発材料として、そのゲノムの同一遺伝子座にがんドライバー遺伝子発現カセットを単独、または多重に組み合わせて組み込んだアイソジェニックな細胞株コレクションである。さらに、培地への薬剤添加によって任意のタイミングでがんドライバー遺伝子の発現を誘導できるシステムを組み込んでいる。これにより、遺伝的背景のばらつきやサイレンシングの影響を排除した同一条件下において、変異単独の機能、および複数変異間の相互作用を定量的かつ体系的に評価可能な基盤の創出を目指している 。

(1-2) 令和7年度末までの成果

(1-2-1) ドライバー遺伝子の選定とライブラリ構築

がんモデルiPS細胞ライブラリで発現させるガンドライバー遺伝子の選別から本プロジェクトは始まった。先行研究[2]で同定された299種類のガンドライバー遺伝子を出発点とし、主要ながん種において特に高頻度に変異が認められる11種類のコアドライバー遺伝子を選定した。さらに、米国国立がん研究所（NCI）が公開するデータベース（Genomic Data Commons Data Portal）を詳細に解析し、これら11遺伝子においてがん特異的に頻発している合計290種類の変異遺伝子を対象とすることとした。

その後、これらすべての変異ガンドライバー遺伝子の発現プラズミドを設計及び構築した（表 1）。現在、PIK3CA（83 変異体）、KRAS（36 変異体）をはじめとする全 290 種類の変異体プラスミドがすべて利用可能な状態に整備されている。

遺伝子名	作製した変異体数
PIK3CA	83
KRAS	36
FBXW7	36
NRAS	21
HRAS	14
IDH1	6
NFE2L2	22
BRAF	24
ERBB2	14
AKT1	4
PIK3R1	30

表 1　全 290 種類のドライバー遺伝子ライブラリ。米国国立がん研究所が公開している、がん組織における遺伝子変異のデータベース（Genomic Data Commons Data Portal）を解析し、高頻度で観察される変異体を作製した。

(1-2-2) 薬剤誘導式 Landing pad 細胞株の作製

ヒト細胞内でガンドライバー遺伝子変異体の機能を正確に評価するには、各変異体をゲノム上の同一位置へ高効率に導入し、発現タイミングと量を厳密に制御できる実験系が必要である。そこで我々は、Clontech社のTet-Onシステムを利用し、ドキシサイクリン（Dox）により発現制御可能な薬剤応答型プラットフォームを構築した。

具体的には、まずiPS細胞のセーフハーバー遺伝子座へ、CRISPRゲノム編集により外来遺伝子の受け皿となる

「Landing pad」カセットをノックインした（図1）。このシステムは特異的インテグラーゼによる配列特異的組換えを利用するため、任意の変異体プラスミドを常にゲノム上の同一位置へ、コピー数を制御して確実に挿入できる。次に、この株に対してDox誘導式プラスミドとインテグラーゼ発現プラスミドを共導入し、正確なゲノム組み込みを行った。本システムでは、培地へのDox添加によりDox応答転写因子（rtTA等）がプロモーターを活性化し、下流のドライバー遺伝子発現を速やかに誘導できる設計となっているが、後述するように令和７年度では、この実験系のさらなる改良を実施することとなった。

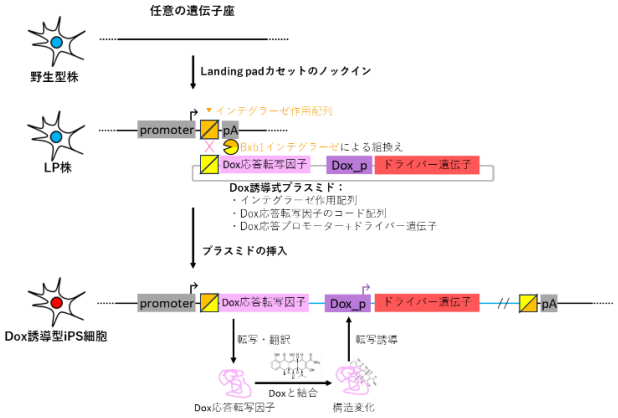


図１　Dox 誘導型ドライバー遺伝子発現システムの作製工程。第 1 ステップでは、あるゲノム領域に対して、プロモーター・インテグラーゼ作用配列・ポリ A 付加配列を有するカセットを組み込む。第 2 ステップでは、Dox 誘導式プラスミドおよびインテグラーゼ発現プラスミドを細胞に導入することで、インテグラーゼ作用配列間で DNA 鎖の交換反応が起き、Dox 誘導式プラスミドがゲノムに組み込まれる。Dox 誘導式プラスミドに搭載するドライバー遺伝子を変えることで、種々のドライバー遺伝子を発現する iPS 細胞株を樹立することができる。

2.　実験と結果

従来型Dox誘導カセットにおける発現応答性の評価

令和６年度末までに開発した「がんドライバー遺伝子ライブラリ」および「Dox依存的にがんドライバー遺伝子を発現誘導するプラットフォーム細胞株」を実際に運用するにあたり、まず本発現システムの基本性能を評価した。具体的には、赤色蛍光タンパク質（RFP）をレポーターとして用いて、従来型のDox応答プロモーター（Dox_p）カセットにおけるDox応答性の定量的な検証を行った。

その結果、Dox 添加後に RFP 発現が明瞭に上昇する細胞集団が認められた一方で、全体の約 50%を占める細胞では、Dox 添加後も十分な RFP の発現上昇が認められないという現象が観察された（図 2）。すなわち、同一の発現カセットを遺伝子座特異的に導入したアイソジェニックな細胞集団内においても、Dox に対して良好に応答する細胞と、応答しにくい細胞が混在していることが明らかとなった。

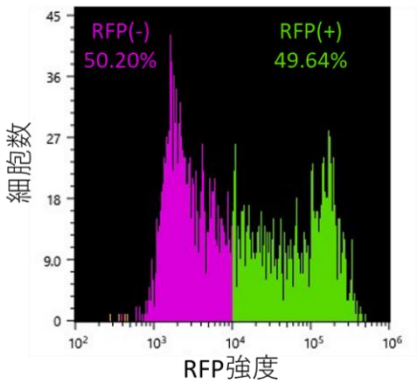


図 2　従来型 Dox_p カセットにおける Dox 応答性のばらつき。RFP をレポーターとして、従来型薬剤誘導カセットの Dox 応答性をフローサイトメトリーにより評価し、RFP シグナル強度をヒストグラムとして示した。Dox 添加後、RFP シグナル値 10^4を閾値とした場合、49.64%の細胞は RFP 陽性であった（緑色）。一方で、50.20%の細胞では十分な RFP 発現上昇が認められなかった（マゼンタ色）。この結果から、従来型カセットでは Dox に応答する細胞と応答しにくい細胞がほぼ同程度の割合で混在しており、発現誘導の均一性に課題があることが明らかとなった。

多数のドライバー遺伝子変異の機能を正確に比較評価するためには、Dox 添加に応じて、可能な限り均一かつ再現性よく目的遺伝子の発現を誘導できるシステムが求められる。したがって、RFP レポーター実験で観察された「Dox 非応答細胞の存在」は、本プラットフォームをがん変異機能評価系として高精度化させるうえで、最優先で解決すべき課題と考えられた。

不均一性の原因追究とインスレーター配列の導入

この非応答性・不均一性が生じる原因として、Tet-Onシステム自体の活性だけでなく、発現カセットが置かれたゲノム上の局所的な環境（位置効果）が影響している可能性が想定された。具体的には、挿入部位周辺の局所的なクロマチン状態の閉鎖化、近傍のゲノム領域に存在する内因性プロモーターとの干渉、あるいは外来発現カセットに対する細胞固有のサイレンシング傾向などが原因となり、一部の細胞でDox_pの転写活性化能が十分に発揮されていない可能性が考えられた。

この課題を解決するため、我々は「インスレーター配列」の導入を試みた。インスレーター配列とは、遺伝子発現カセットの周囲に配置することで、近傍のゲノム配列やクロマチン状態からの構造的・転写的な影響を遮断する、いわば「仕切り（境界エレメント）」の役割を果たすDNA配列である。そこで、Dox_pからRFPコード配列までを含む発現カセットの両側にインスレーター配列を挿入した「改良型カセット（改良型Dox誘導式プラスミド）」を新たに設計・作製し、その効果を検証した（図3）。なお、本研究で用いたインスレーター配列の具体的な種類や詳細については、知的財産および今後の発表の兼ね合いから、本報告書での記載は控える。

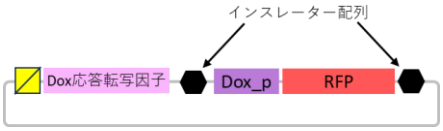


図 3　改良型 Dox 誘導式プラスミドの構造。Dox_p から RFP コード配列までを含む発現カセットの両側に、「仕切り」としての機能を有するインスレーター配列（黒色・六角形）を導入している。

改良型カセットによるDox応答性の改善効果

作製した改良型薬剤誘導プラスミドをLanding pad細胞株に導入し、同様にDox添加によるRFP発現誘導率をフローサイトメトリーにより評価した（図4）。その結果、Dox添加後にRFP陽性となる細胞の割合は88.78%にまで大幅に向上した 。従来型カセットで大きな課題となっていたDox非応答細胞の割合は、約50.20%から約11.05%へと大きく低減した 。すなわち、発現カセットの両側をインスレーター配列で保護することにより、Dox添加に応答して均一に発現誘導される細胞が劇的に増加し、応答性のばらつきが大幅に改善されることが実証された 。

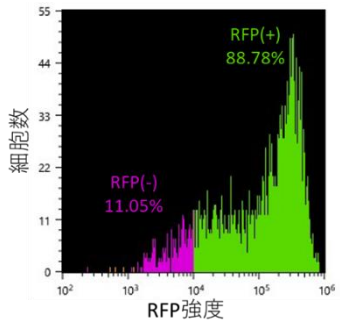


図 4　インスレーター導入による RFP 発現誘導率の改善。従来型 Dox_p カセットで認められた Dox 非応答細胞を低減するため、インスレーター配列を導入した改良型カセットを作製し、RFP レポーターを用いて Dox 応答性を評価した。フローサイトメトリーにより取得した RFP シグナル強度をヒストグラムとして示している。RFP シグナル値 10^4を閾値とした場合、Dox 添加後に RFP 陽性となる細胞は 88.78%であった（緑色）。一方、非応答細胞は 11.05%まで低減した（マゼンタ色）。従来型カセットでは非応答細胞が約 50%存在していたことから、改良型カセットでは Dox 応答性が大きく改善したことが示された。

この結果は、従来型カセットで見られた非応答性の少なくとも一部において、発現カセット周辺のゲノム環境やエピジェネティックなクロマチン状態が不均一性に直接関与していたという仮説を強く支持するものである 。したがって、がんドライバー遺伝子の精密な機能比較評価を達成するための薬剤誘導式発現系においては、プロモーターや転写因子の選定だけでなく、発現カセット全体の配列構成（周辺環境からの保護設計）もまた、誘導発現の安定性と均一性を左右する極めて重要な要素であることが明らかとなった 。

3. 総括および今後の予定

がんドライバー遺伝子ライブラリ、薬剤誘導式Landing pad細胞株、ならびにDox応答性を大幅に改善した改良型発現カセットを整備した。これにより、本研究の目的である「変異単独の影響および複数変異間の相互作用を、位置効果によるノイズを排除して精緻に評価する」ための実験基盤が整った。

今後は、この均一かつ高精度な発現誘導プラットフォームを用いて各ドライバー遺伝子の発現を誘導し、細胞増殖能、生存・アポトーシス抵抗性、薬剤応答性、ならびに未分化性の維持や分化運命制御（分化指向性）への影響を中心に評価する予定である。さらに、必要に応じて足場非依存的増殖能や浸潤・遊走能など、細胞のがん化・悪性化に直結する表現型（フェノタイプ）についても多角的に検討する。

加えて、RT-qPCRやRNA-seq等によるハイスループットな遺伝子発現解析（トランスクリプトーム解析）を組み合わせることで、各ドライバー遺伝子変異がどのような分子シグナル経路を介して細胞状態を変化・悪性化させるのかを分子レベルで明らかにする予定である。

これらの実験により、がんにおける各変異の動的な機能的意義を体系的に解き明かし、将来的には、ゲノム変異情報に基づくがんの病態理解の深化、および個々の症例に最適化された精密医療（プレシジョン・メディシン）の基盤構築に貢献することを目指す。

【参考文献】

1. Cancer Genome Atlas Research Network *et al.*, *Nat. Genet.* 45, 1113–1120 (2013).
2. Bailey, M. *et al.*, *Cell* 173, 371-385.e18 (2018).
3. Gossen, M. & Bujard, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 89, 5547-5551 (1992)

iPS 細胞ライブラリを用いた抗がん剤耐性評価系の構築

「次世代合成生物基盤」プロジェクト
赤瀬　太地

1. はじめに

がん治療において大きな課題の一つは、抗がん剤耐性の獲得である。治療開始時には高い治療効果を示す薬剤であっても、治療の継続に伴い耐性を獲得したがん細胞が選択的に生存・増殖することで薬効が低下し、最終的には再発や転移につながることが少なくない。このような薬剤耐性は、化学療法のみならず分子標的薬や免疫療法においても重要な課題となっており、がん治療成績を制限する主要因の一つとして認識されている。これらの耐性獲得には、がん細胞が保有する遺伝子変異とそれらに起因するシグナル伝達経路の変化が深く関与していることが知られている[1]。しかし、実際に個々の変異がどの程度薬剤耐性に寄与するのかについては、依然として十分な実験的検証が行われておらず、多くの変異についてはその機能的意義が未解明のままである。

近年、次世代シーケンサーの発展により、多数のがん患者についてゲノム変異情報が蓄積されてきた[2]。その結果、がん組織において、どの遺伝子にどのような変異が存在するかは網羅的に把握できるようになった一方で、それぞれの変異が細胞機能に与える影響や薬剤耐性との因果関係については十分に解明されていない。今後も継続的な蓄積が見込まれる膨大なゲノム変異情報を医学・創薬へ活用するためには、変異情報の収集だけでなく、その生物学的機能や薬剤応答への影響を体系的かつ高効率に評価できる実験基盤の整備が不可欠である。

我々はこれまでに、ドキシサイクリン誘導型発現システムを利用し、がん関連変異を同一の遺伝的背景を有するヒト iPS 細胞で比較評価できる実験プラットフォームを構築してきた。本プラットフォームでは、ドキシサイクリン誘導型発現システム（Tet-On システム、Clontech 社）を用いることで、細胞株の樹立過程では変異遺伝子を発現させず、ドキシサイクリン添加後にのみ目的の変異体を誘導発現させることができる。このため、細胞株樹立時に変異体発現に伴う選択圧を回避できることから、変異導入以外の要因による影響を最小限に抑え、同一の遺伝的背景を維持した状態で各変異体の機能を比較評価することが可能となる。これまでに 11 種類の原がん・がん抑制遺伝子において、合計 299 種類のがん関連遺伝子変異体を整備し、本プラットフォームを用いた機能解析基盤を構築している。

本年度は、ヒトがんで最も高頻度に変異が認められるがん抑制遺伝子 *TP53* をモデル遺伝子として、本プラットフォームを用いた *TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリを構築し、抗がん剤に対する薬剤感受性・耐性を網羅的に評価した。以下に、2025 年度に実施した研究成果のうち公開可能な内容について報告する。

2. 実験と結果

(1) *TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリの構築

前年度までに構築した 20 種類の *TP53* 変異体発現 iPS 細胞株に加え、比較対照として野生型 *TP53* 発現 iPS 細胞株および空ベクター導入 iPS 細胞株（mock）を用い、計 22 種類の iPS 細胞株を等量ずつ混合して *TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリを作製した（表 1）。

#	Gene	Genomic position (hg38)	がんドライバー変異	タンパク質上の変異
1	*TP53*	chr17:7675088	C>T	R175H
2	*TP53*	chr17:7674220	C>T	R248Q
3	*TP53*	chr17:7673803	G>A	R273C
4	*TP53*	chr17:7673802	C>T	R273H
5	*TP53*	chr17:7674221	G>A	R248W
6	*TP53*	chr17:7673776	G>A	R282W
7	*TP53*	chr17:7674894	G>A	R213*
8	*TP53*	chr17:7674872	T>C	Y220C
9	*TP53*	chr17:7674945	G>A	R196*
10	*TP53*	chr17:7674230	C>T	G245S
11	*TP53*	chr17:7675076	T>C	H179R
12	*TP53*	chr17:7670685	G>A	R342*
13	*TP53*	chr17:7673704	G>A	R306*
14	*TP53*	chr17:7674953	T>C	H193R
15	*TP53*	chr17:7675143	C>A	V157F
16	*TP53*	chr17:7675124	T>C	Y163C
17	*TP53*	chr17:7674947	A>G	I195T
18	*TP53*	chr17:7673802	C>A	R273L
19	*TP53*	chr17:7674957	G>A	Q192*
20	*TP53*	chr17:7674216	C>A	R249S

表 1　前年度までに構築した 20 種類の *TP53* 変異体リスト。米国国立がんセンター（NCI）が公開しているがん臓器における遺伝子変異のデータベース（Genomic Data Commons Data Portal）を解析し、*TP53* 遺伝子にて高頻度で報告されている上位 20 種類の変異を抽出した。

本ライブラリでは、ドキシサイクリンの添加により、それぞれの細胞が異なる *TP53* 変異体を誘導発現する。また、各細胞株には固有の DNA バーコードがあらかじめ導入されているため、混合培養後も各細胞株の存在比率を定量的に解析することができる（図 1）。この特徴を利用することで、22 種類の細胞株を単一の培養系で同時に評価できるため、個別培養で生じる実験条件のばらつきを抑制するとともに、時間・資源の両面でコストを大幅に削減できる。DNA バーコードを指標として薬剤処理前後における各細胞株の存在比率を定量的に比較することで、各 *TP53* 変異体の薬剤感受性および耐性を効率的かつ網羅的に解析することが可能となる（図 2）。



図 1　ドキシサイクリン誘導型がん変異体発現システム。本システムでは、ドキシサイクリン誘導型プロモーターを用いることで、がん関連遺伝子変異体を誘導発現させることができる。各変異体には固有の DNA バーコードが 1 種類ずつ対応しており、黒色矢印で示したプライマーを用いて DNA バーコード領域を PCR 増幅することができる。

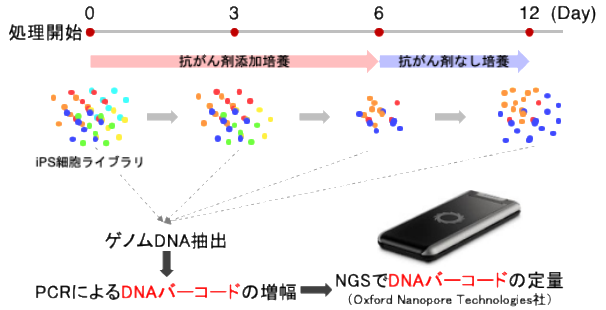


図 2　iPS 細胞ライブラリを用いた細胞毒性タイムコース試験概略。あらかじめ混合して作製した *TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリに対して抗がん剤処理を行い、経時的に細胞を回収する。各時点で回収した細胞からゲノム DNA を抽出し、各細胞株に固有の DNA バーコードを PCR によって増幅する。得られた PCR 産物には、ライブラリを構成する各細胞株由来の DNA バーコードが混在しており、それぞれのバーコード量は対応する細胞数を反映する。そのため、PCR 産物を次世代シーケンサーで解析し、各 DNA バーコードのリード数を定量することで、ライブラリ中における各細胞株の存在比率を算出することができる。これにより、抗がん剤処理前後における各 *TP53* 変異体を有する細胞の増減を網羅的に評価することが可能となる。

(2) 抗がん剤の有効濃度の検討

本評価系に適用する薬剤および処理条件を決定するため、臨床で使用されている抗がん剤および開発段階にあるシーズ化合物を含む計 13 種類の薬剤を選定した。これらは作用機序の異なる複数の薬剤群から選択した。ライブラリ解析では、薬剤が十分な選択圧として機能しつつ、一部の細胞が生存可能な処理条件を設定することが重要であることから、まず各薬剤について複数段階の希釈系列を用いた細胞毒性評価を実施し、有効濃度の探索を行った。

その結果、13 種類のうち 8 種類の薬剤において明確な細胞毒性が認められ、濃度依存的な細胞生存率の低下を確認した（図 3）。一方、残る 5 種類の薬剤については、本評価条件では顕著な細胞毒性は認められなかった。これらの結果を踏まえ、十分な選択圧が得られた 8 種類の薬剤について、本スクリーニング系に適用可能な処理条件を決定し、以降のライブラリ解析に用いた。

(3) 抗がん剤 A を用いた細胞毒性タイムコース試験

TP53 遺伝子は、DNA 損傷応答の中心的な役割を担う代表的ながん抑制遺伝子であり、細胞周期停止、DNA 修

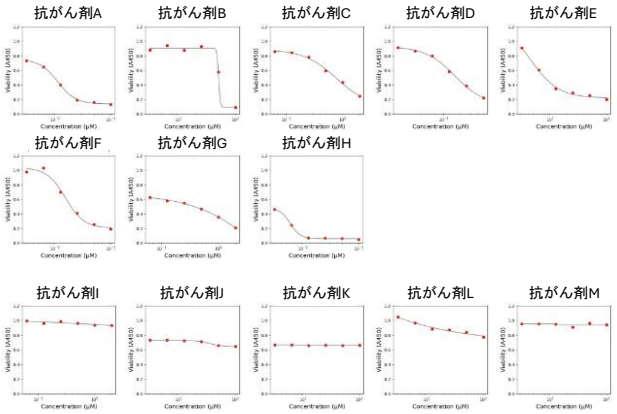


図 3　抗がん剤の細胞毒性評価試験。*TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリを用いて、抗がん剤 A～M の細胞毒性を CCK-8 アッセイにより評価した。各薬剤について希釈系列を作製し、細胞生存率を測定することで、ライブラリ解析に適用する薬剤処理条件を検討した。その結果、抗がん剤 A～H では明確な細胞毒性が認められた一方、抗がん剤 I～M では本評価条件において顕著な細胞毒性は認められなかった。

復およびアポトーシス誘導などの多様な生物学的機能を制御している。そのため、*TP53* の変異は DNA 損傷を介して作用する抗がん剤に対する感受性や耐性に大きく影響することが知られている [3]。そこで、本研究では DNA 損傷を誘導し、標準治療薬として広く用いられている抗がん剤 A を用いて、*TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリの薬剤応答を経時的に解析する細胞毒性タイムコース試験を実施した。

本試験では、臨床における抗がん剤治療を模倣することを目的として、約 1 クールの治療スケジュールを参考に薬剤処理日数を設定した。*TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリに対して 6 日間連続で抗がん剤 A を曝露したところ、多数の細胞が薬剤作用によって死滅した一方、一部の細胞は薬剤存在下でも生存が認められた。薬剤処理期間中の細胞集団の変化を解析するため、薬剤処理開始 3 日後および 6 日後に細胞を回収した。さらに、6 日間の薬剤処理終了後は薬剤を含まない通常培地へ交換し、生存細胞を回復培養することで、後続の分子解析に十分な細胞数を確保した。

各時点で回収した細胞からゲノム DNA を抽出し、DNA バーコード領域を PCR によって増幅した後、次世代シーケンサーを用いて各 *TP53* 変異体由来 DNA バーコードの存在比率を定量した。その結果、抗がん剤処理中の各タイムポイントにおける *TP53* 変異体の存在比率を比較することが可能となった。

解析の結果、野生型 *TP53* 発現細胞および mock 細胞に加え、多くの *TP53* 変異体発現細胞では、薬剤処理の進行に伴って存在比率が大きく低下し、抗がん剤に対して高い感受性を示した（図 4）。一方で、特定の *TP53* 変異体（変異 X、Y および Z）は薬剤処理後に存在比率が顕著に増加し、薬剤存在下において選択的に生存・増殖し

ていることが確認された。この結果は、これらの *TP53* 変異が抗がん剤 A に対する耐性の獲得に寄与している可能性を示唆するものである。

以上の結果から、本ライブラリ解析系は、単一の培養系において多数の *TP53* 変異体の薬剤応答を同時に評価し、薬剤処理過程における耐性変異の動態を経時的に捉えることができることを示した。さらに、*TP53* 変異の種類によって薬剤応答性が大きく異なることが明らかとなり、本プラットフォームが変異依存的な抗がん剤耐性を高効率に探索・評価できる有用な実験基盤であることが示された。

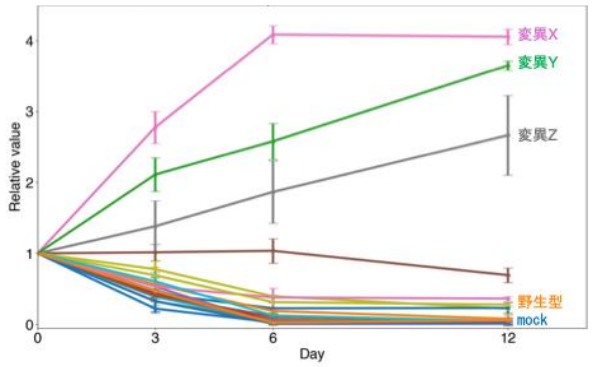


図 4　*TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリを用いた抗がん剤 A の細胞毒性タイムコース試験結果。抗がん剤処理前に検出された各 DNA バーコード由来のリード数を 1 として正規化し、各時点における相対量を示した。22 種類の細胞株のうち、*TP53* 変異 X、変異 Y および変異 Z を発現する細胞で相対量の増加が認められ、これらの変異を有する細胞が抗がん剤 A 存在下で優先的に生存することが示唆された。

(4) 抗がん剤 A 耐性変異体候補の個別検証

細胞毒性タイムコース試験によって耐性変異体候補として同定された *TP53* 変異体について、それぞれ個別に樹立した細胞株を用いて抗がん剤耐性試験を実施した。その結果、ライブラリ解析で耐性候補として抽出された変異体のうち、変異 Z を除く、変異 X と Y で個別培養系においても抗がん剤 A 耐性を示し、スクリーニング結果を再現することができた（図 5）。以上の結果から、ライブラリ解析によって抽出された耐性候補変異を個別の実験系でも再現できることが確認され、本プラットフォームが変異依存的な薬剤耐性を高効率に評価する実験系として有用であることが示された。

3.　考察及び今後の展望

本研究では、*TP53* 変異体発現 iPS 細胞ライブラリを用いることで、薬剤処理に伴う各変異体の存在比率を経時的に解析し、抗がん剤耐性候補変異を効率的に抽出することができた。従来のように変異体ごとに個別評価を行うことなく、多数の変異体を同一遺伝的背景下、かつ同一条件下で網羅的に比較できることから、本評価系は変異依存的な薬剤応答を解析するための有用なスクリーニング手法であるといえる。

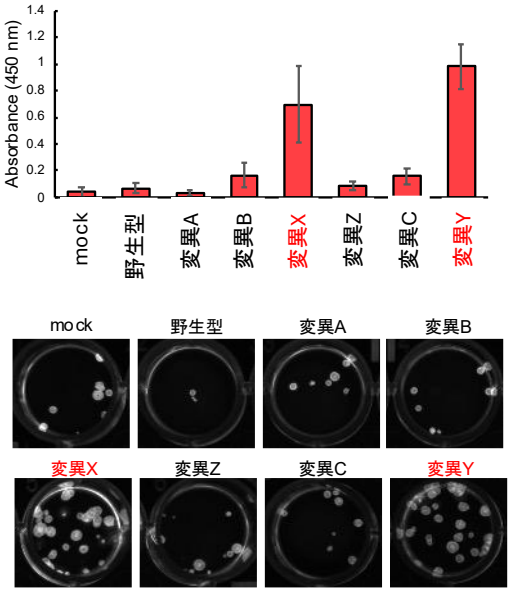


図 5　*TP53* 変異体発現 iPS 細胞株を用いた抗がん剤 A に対する耐性評価。混合前の各細胞株に対して抗がん剤 A を処理し、生存率を CCK-8 アッセイ（上）およびコロニー形成アッセイ（下）により評価した。ライブラリ解析で候補として抽出された変異 X および変異 Y では、いずれの評価系においても対照細胞（mock と野生型）と比較して高い生存率を示し、抗がん剤耐性が確認された。一方、変異 Z では明確な耐性は認められず、ライブラリ解析の結果を個別評価では再現できなかった。

一方、ライブラリ解析で耐性候補として抽出された *TP53* 変異体のうち、一部は個別培養系でも同様の耐性傾向を示したものの、全ての候補変異が再現されたわけではなかった。このことから、本評価系は耐性候補変異を効率的に抽出する一次スクリーニングとして有用である一方、候補変異の機能をより正確に評価するためには個別検証を組み合わせることが重要であると考えられる。今後は、ライブラリの設計や薬剤処理条件、データ解析手法のさらなる改良を進めることで、本プラットフォームの感度および再現性の向上を図りたい。

現在、抗がん剤処理後に生存した細胞を単離し、遺伝子発現解析や分子生物学的解析を通じて、各 *TP53* 変異がどのような分子機構を介して薬剤耐性を獲得するのかを詳細に解析している。耐性獲得に関与するシグナル伝達経路や転写制御機構を明らかにすることで、新たな治療標的の同定につながることが期待される。

さらに、本評価系を他の DNA 損傷誘導型抗がん剤や分子標的薬へ展開するとともに、*TP53* 遺伝子以外の主要ながん関連遺伝子についても同様の変異ライブラリを構築し、薬剤応答との関連を体系的に評価する予定である。これにより、多数のがん関連変異について薬剤感受性を包括的に評価できる基盤を構築したいと考えている。

最終的には、本グループで構築してきた変異体細胞ラ

イブラリおよび薬剤評価プラットフォームを発展させることで、多様ながん関連遺伝子変異の機能を網羅的かつ高効率に解析できる基盤技術を確立するとともに、ゲノム医療や個別化医療における変異機能評価への応用を目指す。さらに、蓄積されるゲノム変異情報の機能的解釈を加速し、創薬研究や新規治療法の開発に貢献することが期待される。

【参考文献】

1.Holohan *et al*., *Nat. Rev. Cancer*, 13, 714-726 (2013)
2.The Cancer Genome Atlas Research Network *et al*., *Nat. Genet.*, 45, 1113-1120 (2013)
3.Peuget *et al.*, *Nat. Rev. Cancer*, 24, 192-215 (2024)

業績

【原著論文】
（投稿掲載）
1. Shinya Kaneko, Hiromi Fukushima, Misako Nakahama, Kenji Tsuge, Jun Ishii, Yasunori Aizawa, Mitsuhiro Itaya, Akihiko Kondo “Versatile methodology for efficient large-sized DNA delivery between microorganisms without in vitro purification.” *Journal of Molecular Biology*, 437(17):169289 (2025) [IF: 4.5]

【総説】
1.橋本陽太、山﨑翔太、金子真也、相澤康則 「ヒト uORF 由来タンパク質の細胞内安定性を決定する要因の探究」生物工学会誌、2026 年 2 月 25 日掲載予定

【書籍】
1. 相澤康則「ゲノム構築による真核生物システムの理解とその応用」合成生物学ハンドブック（1 編 2 章）2025 年 12 月 1 日投稿予定

【口頭発表】
1. 相澤康則（招待講演）「Mega-engineering of human X chromosome」ニューヨーク大学システム遺伝学研究所所内セミナー、2025 年 4 月 14 日、ニューヨーク大学
2. Shota Yamazaki, Yuta Matsuura, Yuriko Hori, Kazuki Yamamoto, Yasunori Aizawa（ポスター）「Systematic evaluation of genomic regions essential for cell proliferation under autotrophic or heterotrophic conditions in *Cupriavidus necator* H16」 Metabolic Engineering 16、2025 年 6 月 7 日、Tivoli Hotel and Congress Center (Copenhagen, Denmark)
3. 相澤康則（招待講演）
「ゲノム構築への道」
大学特別講義、2025 年 7 月 10 日、八王子高校
4. 金子真也、相澤康則（一般講演）
「枯草菌を用いた Gap Repair Cloning 法の改良」
2025 年度グラム陽性菌ゲノム機能会議、2025 年 8 月 28 日、KKR 熱海ホテル
5. 相澤康則（招待講演）「ゲノムを書き換えて非コード領域の意味を知る」第 7 回転移因子研究会、2025 年 9 月 1 日、遺伝学研究所
6. 相澤康則（招待講演）「東京科学大学/GteX ゲノム構築拠点での研究活動」第 42 回日本植物バイオテクノロジー学会、2025 年 9 月 7 日、神戸大学
7. 赤瀬太地、倉澤光、山根里歩、川上惠利、橋本陽太、松浦優太、遠藤成将、堀川あゆみ、山崎翔太、金子真也、大野知幸、相澤康則（一般講演）「20Mb 領域のミニマム化によるヒトゲノム配列機能性の理解へ」日本遺伝学会第 97 回大会、2025 年 9 月 10 日、神戸大学
8. 橋本陽太、赤瀬太地、相澤康則（一般講演）「ヒト上流 ORF にコードされるタンパク質の細胞内安定性を決定する要因の探索」日本遺伝学会第 97 回大会、2025 年 9 月 11 日、神戸大学
9. 金子真也、相澤康則（一般講演）「枯草菌での Gap Repair Cloning 法の改良」日本遺伝学会第 97 回大会、2025 年 9 月 10 日、神戸大学
10. 金子真也、相澤康則（一般講演）「枯草菌を用いた DNA 構築と他の宿主への導入法」第 4 回総合微生物学研究会、2025 年 9 月 16 日、ラフォーレクラブ修善寺
11. 相澤康則（招待講演）「ゲノムを作る、ということ。」第 63 回 工大祭 2025（公開講義）、2025 年 11 月 2 日、東京科学大学大岡山キャンパス
12. 相澤康則（招待講演）「ヒトゲノム・ライティング：高度なヒト iPS 細胞を用いた動物実験代替モデルを実現する基盤技術」日本動物実験代替法学会第 33 回大会、2025 年 11 月 3 日、パシフィコ横浜ノース
13.相澤康則（招待講演）「革新的基盤技術：ゲノム構築で iPS 細胞を自由に改変し社会実装へ導く！」RINK FESTIVAL 2026、2026 年 2 月 6 日、TIAT SKY HALL (Haneda Airport Terminal 3)
14.倉澤光、赤瀬太地、 山崎翔太、遠藤成将、山根里歩、鈴木貴久、松浦優太、金子真也、相澤康則（ポスター）「ゲノム構築拠点形成の現状と計画」GteX バイオものつくり領域第 4 回領域全体会議、2026 年 3 月 3 日、神戸大学統合研究拠点コンベンションホール
15.金子真也、鈴木貴久、松浦優太、山本和輝、遠藤成将、相澤康則（ポスター）「枯草菌を用いた長鎖 DNA 構築法」GteX バイオものつくり領域第 4 回領域全体会議、2026 年 3 月 3 日、神戸大学統合研究拠点コンベンションホール
16.金子真也、鈴木貴久、松浦優太、山本和輝、遠藤成将、田中寛、相澤康則（ポスター）「藻類の人工核染色体の開発」GteX バイオものつくり領域第 4 回領域全体会議、2026 年 3 月 3 日、神戸大学統合研究拠点コンベンションホール
17.相澤康則（一般講演）「Engineering Hypoimmunogenic and Functionally Enhanced iPSC-Derived β Cells Using a High-Precision Genome Writing Platform: Geno-Writing™」Keystone Symposia on Molecular and Molecular Biology (Islet Biology and Diabetes)、2026 年 3 月 17 日、Beaver Run Conference Center（米国コロラド）
18.黒田拓也，松山さと子，草川森士，倉澤光，赤瀬太地，相澤康則，佐藤陽治，安田智（ポスター）「hiPS 細

胞の形質変化を指標にした遺伝的不安定性評価法の開発」第 25 回日本再生医療学会総会、2026 年 3 月 18 日、神戸国際会議場・神戸国際展示場

19.相澤康則（招待講演）「ヒトゲノム大規模改変技術からの創薬への挑戦」日本薬学会第 146 年会、2026 年 3 月 27 日、関西大学千里山キャンパス

研究報告2026目次【研究開発部】

有望シーズ展開事業

「革新的インダストリアルマルチスケールセンサ」プロジェクト

◆ 統括・・・

革新的インダストリアルマルチスケールセンサプロジェクト

プロジェクトリーダー　河野　行雄

【基本構想】

近年、対象を破壊せずに検査を行う非接触・非破壊検査の重要性が増しており、その市場は年々拡大している。対象物を画像化する検査手法は、視覚的に分かりやすい形で詳細な情報を得ることが可能であるため、様々な場面での活用が期待されている。特に、光を用いた分光画像計測はその代表例の一つである。一方、実際の検査対象は微細なものから大型のものまで多岐にわたり、これらをマルチスケールで可視化する必要があるが、統合的な分析は依然として困難である。革新的インダストリアルマルチスケールセンサプロジェクトでは、「新たな材料・構造体による光の自由度制御とマルチスケール光分析」というコンセプトのもと、新奇なセンサの構造や原理を探求し、非破壊画像検査の機能および適用範囲の拡張を行う。この目的を達成するために、材料や構造体の光・電子物性の研究から出発し、光の機能を最大限に引き出す技術の開発を行っている。その成果として、様々なスケールの対象物に対して分光画像分析が可能なシステムの提供を目指している。

1.　研究目的

検査対象を壊さずに画像化する非破壊画像検査の実現に向けて、当研究室では広帯域光センサ[1-10]の高性能化、マルチスケール計測化[11-13]を行っている（図１に微小領域計測用周波数可変アンテナの例[12]）。これらのセンシング技術をより高度化し、広範囲なスケールで分析可能な技術の創出を行う。2025 年度では、マルチスケール計測用の光制御素子ならびに分光画像分析・解析手法の開発、マルチスケール計測に必須の材料加工・表面観察体制の構築を実施した。

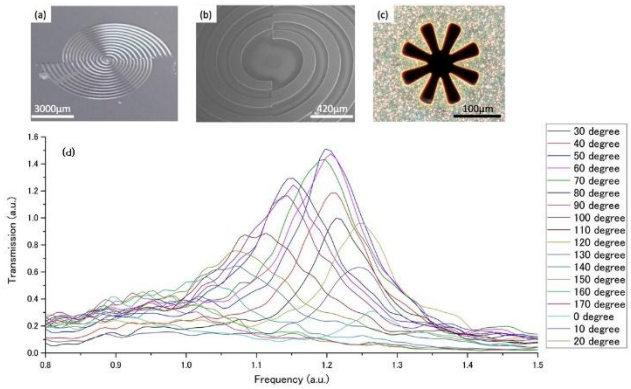


図１：（a）周波数可変の非円形プラズモニック構造体の写真。（b）（a）の一部の拡大画像。（c）（b）の一部の拡大画像。（d）入射テラヘルツ波の偏光方向を変えた場合の（a）の透過スペクトル[12]。

2.　研究成果

マルチスケール計測分析を実現するためには、複数分野に属する研究者の連携が重要となる。情報解析は大川研究員、分光分析は佐世研究員、材料作製・評価は秋本研究員が中心になって実施し、有機的に連携しながら研究を進めた。以下、主な成果について説明する。

①　電磁波の自由度に応じた素子の開発

照射電磁波の波長域や電界振動の特徴に応じた素子開発を行った。材料の物性と構造の両面から検討を行い、電磁界シミュレーションと実験による性能評価を実施した。波長域ごとの特異的な電磁波応答を見出し、その特徴にもとづく素子設計が可能となった。これにより、膜の材質、薄膜の表裏、吸着分子、膜サイズ・形状等による自在な制御を明らかにした。

今後は、分析システムの中で必要とされるスペックをもとに、素子を最適化し、一コンポーネントとして導入することで高性能化する予定である。

②　センシングの多機能化に向けた分光画像分析・解析手法の開発

検査対象を構成する材料に関して特徴量を抽出するため、異種のセンシング信号を取得する研究を実施した。特に多成分系の場合、成分ごとの相互作用を考慮する必要がある。光学情報と、光以外の情報との相関から、上記の相

互作用に関する影響を引き出すことが可能となった。これは、より複雑な構成による対象物に対しても複数種類の情報を取得可能なシステムの構築につながる可能性を示している。現在、上記の成果に基づく具体的な分析器の設計・試作・評価を行っている（図 2）。

また、電磁波の新たな計測・方法として空間情報復元手法を開発した。前年度開発した手法と組み合わせ、よりロバストな手法を目指す。

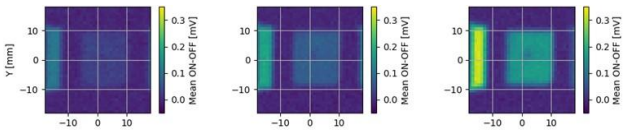


図 2：試作した分析器による画像計測の例。

③　材料加工・観察体制の構築

本プロジェクトでは、マルチスケールでの分析を主眼としているため、観測対象の試料、測定のための素子・光学部品などについて、様々なサイズの材料を加工し、状態を観察することが必須となる。このため、研究所内の技術部と連携し、所内にある設備（図 3、レーザー加工機やレーザー顕微鏡等）を活用させていただくことで、材料・素子の一貫した評価が可能となった。これにより、作製や性能評価のスピードが格段に上がり、研究全体の加速につながった。現在さらに高周波測定や微細加工等での活用も検討しており、マルチスケール計測の範囲を広げる。



図 3：本プロジェクトにおいて活用している、研究所内技術部のレーザー加工機（左）とレーザー顕微鏡（右）。

上記の通り、各研究項目とも順調に進んでおり、成果発表も積極的に行っているため、引き続き、それぞれの研究を進める。

来年度は、用途に応じたマルチスケール計測の分析器を試作し、性能を評価する。

【参考文献】

1. D. Suzuki, S. Oda, Y. Kawano, *Nature Photonics* **10**, 809 (2016).
2. D. Suzuki, Y. Ochiai, Y. Nakagawa, Y. Kuwahara, T. Saito, and Y. Kawano, *ACS Applied Nano Materials* **1**, 2469 (2018).
3. D. Suzuki and Y. Kawano, *Carbon* **162**, 13 (2020).
4. D. Suzuki, K. Li, K. Ishibashi, Y. Kawano, *Advanced Functional Materials* **31**, 2008931 (2021).
5. K. Li, R. Yuasa, R. Utaki, M. Sun, Y. Tokumoto, D. Suzuki, and Y. Kawano, *Nature Communications* **12**, 3009 (2021).
6. K. Li, T. Araki, R. Utaki, Y. Tokumoto, M. Sun, S. Yasui, N. Kurihira, Y. Kasai, D. Suzuki, R. Marteijn, J.D. Toonder, T. Sekitani, Y. Kawano, *Science Advances* **8**, eabm4349 (2022).
7. K. Li, Y. Matsuzaki, S. Takahara, D. Sakai, Y. Aoshima, N. Takahashi, M. Yamamoto, and Y. Kawano, *Advanced Materials Interfaces* **10**, 2300528 (2023).
8. Rei Kawabata, Kou Li, Teppei Araki, Mihoko Akiyama, Kaho Sugimachi, Nozomi Matsuoka, Norika Takahashi, Daiki Sakai, Yuto Matsuzaki, Ryo Koshimizu, Minami Yamamoto, Leo Takai, Ryoga Odawara, Takaaki Abe, Shintaro Izumi, Naoko Kurihira, Takafumi Uemura, Yukio Kawano, Tsuyoshi Sekitani, *Advanced Materials* **36**, 2309864 (2024).
9. K. Li, Y. Kinoshita D. Shikichi, M. Kubota, N. Takahashi, Q. Zhang, R. Koshimizu, R. Tadenuma, M. Yamamoto, L. Takai, Z. Zhou, I. Sato, and Y. Kawano, *Advanced Optical Materials* **12**, 2302847 (2024).
10. Minami Yamamoto, Daiki Sakai, Yuto Matsuzaki, Leo Takai, Yukito Kon, Yuto Aoshima, Noa Izumi, Naoko Hagiwara, Hayato Hamashima, Daiki Shikichi, Junyu Jin, Qi Zhang, Kohei Murakami, Yuya Kinoshita, Satsuki Yasui, Norika Takahashi, Hajime Nishiyama, Yukio Kawano, Kou Li, *npj Flexible Electronics* **9**, Article number: 42 (2025).
11. T. Iguchi, T. Sugaya, and Y. Kawano, *Appl. Phys. Lett.* **110**, 151105 (2017).
12. X. Deng, L. Li, M. Enomoto, and Y. Kawano, *Scientific*

Reports **9**, 3498 (2019).

13. X. Deng, S. Oda, Y. Kawano, *Optical Engineering* **62,** 097102 (2023).

GHz 帯分光における干渉抑制手法と材料表面状態識別への応用

「革新的インダストリアルマルチスケールセンサ」プロジェクト
大川　拓樹

1.　はじめに

本プロジェクトでは、GHz スペクトルの分光情報を活用することで材料の表面状態変化の有無を識別する手法を着想してきた。

前年度までの取り組みとして、GHz 帯の反射測定に不可避な光学系内部反射に起因する干渉歪みに対して、サンプル距離を微小変化させながら多点データを取得し、数理モデルに基づいてサンプル固有の反射成分のみを抽出する干渉除去手法を開発し、特許出願を行った。

本年度は、この干渉除去手法を実測データによって検証するとともに、無処理と酸化処理の金属を対象として表面状態の識別精度向上への応用を検討した。均質な樹脂サンプルを用いた定量評価、および金属サンプルへのイメージング応用を通じて、手法の妥当性と実用的な識別への有効性を確認した。

2.　実験と結果

(1) 実験系

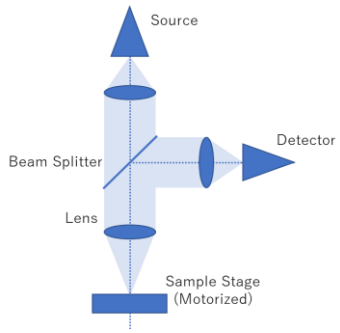


図１　光学系の概要

図１に使用した光学系を示す。ビームスプリッター・集光レンズ・電動ステージを備えた反射型垂直入射構成とし、GHz 帯電磁波源からの出力をサンプル上に集光して反射波を検出する。

干渉除去手法の適用にあたっては、サンプル–検出器間距離をステージで微小変化させながら各距離での反射スペクトルを連続取得する（インターフェログラム測定と同様の手順）。取得した多点データと前年度に構築した干渉モデルを照合することで、光学系内部反射成分を分離し、サンプル固有の反射スペクトルを算出した。

(2) 干渉抑制手法の検証

手法の定量的な妥当性評価を目的として、まず均質な樹脂サンプルを用いた検証を行った。厚さの異なる複数の板を測定し、反射吸収スペクトルを取得した。

図２に測定結果を示す。提案法を適用したスペクトルでは、サンプル膜厚に起因する等間隔のフリンジ（干渉縞）が顕在化した。このフリンジの周波数間隔から、屈折率を逆算した。

各厚さのサンプルから求めた屈折率は、3 試料間で良好な一致が得られた。また、サンプルの可視域屈折率とも整合しており、提案する干渉除去・フリンジ解析手法が GHz 帯域においても光学的屈折率の定量評価に活用できることが実証された。

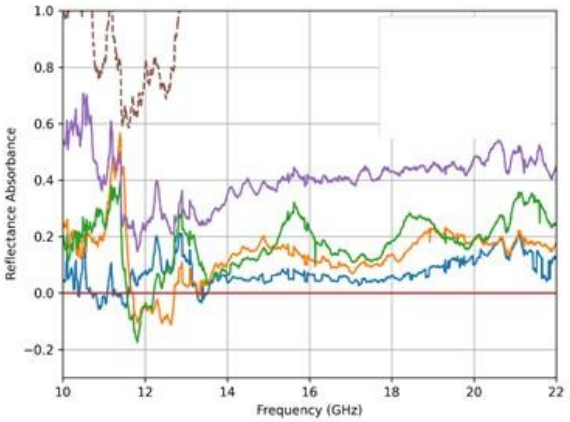


図２　樹脂サンプルの反射吸光スペクトル

(3) 表面状態変化の識別評価

次に、実際の金属サンプルを用いた識別実験を行った。無処理および酸化処理の反射スペクトルを、従来法（サンプル–検出器間距離固定）と提案法のそれぞれで取得し、比較した。

従来法では、光学系内部反射の強い条件下において全サンプルのスペクトル間に有意な差が認められず、電磁波

吸収体のスペクトルも他サンプルと同程度の強度を示した。これは干渉成分がサンプル固有の反射情報を埋没させていることを示している。

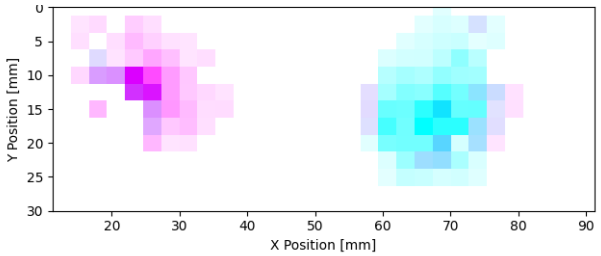


図３　スペクトル分離を用いた表面処理の有無の識別マップ

一方、提案法では吸収体のスペクトルが原理的にゼロ近傍に抑えられるとともに、無処理・酸化処理の間のスペクトル差異が明確に顕在化することが分かった。この結果は、不要反射成分の除去によってサンプル固有の反射特性が正確に抽出されたことを示す。

さらに、取得した反射スペクトルを基に、各材料の代表スペクトルとの差分を用いて、XY スキャン画像の各ピクセルに適用することで GHz 分光マッピングを実施した。結果として、無処理と処理領域が空間的に分離された識別マップが得られ（図３）、分光イメージングによる材料識別の有効性が実証された。

3.　考察および今後の展望

本年度の取り組みにより、前年度に提案した干渉除去手法の実験的妥当性が均質樹脂サンプルおよび実金属サンプルの双方で確認された。特に、提案法によって取得したスペクトルが既知の光学定数と整合したことは、本手法が GHz 帯においても定量的な分光計測として機能することを示す重要な根拠となる。また、表面処理識別マッピングの実現は、将来的な金属の品質診断イメージングへの道を開くものである。

今後は、識別アルゴリズムの高度化により、識別精度のさらなる向上に取り組む。これにより、材料の健全性診断を、客観的なスペクトルデータに基づく定量評価へと転換する検査技術の確立を目指す。

【参考文献】

[1] 大川拓樹ほか, P11, 日本金属学会 2023 年秋期大会（前々年度実績）

[2] 大川拓樹ほか, GHz 帯域反射分光における干渉抑制手法と金属表面状態識別への応用, 日本金属学会 2025 年春期大会

[3] ITU-R, Recommendation P.2040-1 (2015)

[4] Yan, M. et al., J Mater Sci: Mater Electron, 29, 20260-20270 (2018)

分光法を利用した食品の品質評価に関する研究

「革新的インダストリアルマルチスケールセンサ」プロジェクト
佐世　美帆

1. はじめに

本プロジェクトでは、マルチスケールで対象物の検査が可能な検査システムの開発を進めている。柔軟でマルチスケールな計測特性を食品の品質評価に活かす技術の構築を目的として、2025 年度に取り組んだ主な研究を二つ報告する。

一つ目は、農作物の非破壊的な腐敗検出に関する研究である。農作物の腐敗は、耕作・貯蔵・流通などの各過程においてリスクがあり、その検出技術には需要がある。このような、生体試料の内部情報を観測するアプローチとして、近年は、近赤外領域の応用研究が盛んである。実際に、果実の糖度計測や魚の脂質量検査では実用化が進んでいるが、これは、近赤外領域の光が適度に果実や魚などの生体を透過し、対象物の吸収特性を解析することが可能な波長域であるためである。

農作物の腐敗検出における課題は、いかに腐敗初期の局所的な変化を検出するかという点にある。従来の近赤外光を利用したライン検査システムは、反射や透過光を検出するための光路が固定されている場合が多く、対象物のサイズや向きのばらつきによって検査精度が低下する問題が報告されている。そのため、腐敗検出では対象物の形状や、耕作・貯蔵・流通などの工程に合わせて柔軟に対応可能な光学系が求められている。

本研究では、光ファイバーのような柔軟な光源と、広帯域な受光特性とフレキシブルな性質を兼ね備える検出器を組み合わせた新たな評価系を構想し、研究を進めている。

二つ目の研究は、テラヘルツ分光法による食品評価に関する研究である。

食品の品質は、味・香り・食感といった感覚的な要素に加え、安全性・保存性・栄養価・鮮度などの機能的な要素によって総合的に決定される。これらの品質については、要素ごとに評価技術の研究が進められてきた。味については近年、味覚センサの研究が盛んに行われており、香りについてはガスクロマトグラフィーや質量分析を応用した評価が主流である。食感などの力学特性の評価にはテクスチャアナライザなどが用いられ、ミクロな構造状態は光学顕微鏡や電子顕微鏡・各種の光散乱計測によって評価される。水と油・液体と固体・固体と気体の間の界面等は食品物性と密接に関係している。

このように、食品の品質評価には分子スケールからマクロスケールにわたる多角的な情報が必要となる。しかし、これらの手法はそれぞれ独立した原理に基づいており、いずれも専用の装置や試料調製を要する。

テラヘルツ領域は近年、計測技術の進展に伴い、物理・化学・生命科学など幅広い分野で注目されている。しかしながら、多成分系においては観測されるスペクトルの物理的帰属が困難な場合が多く、得られる分光情報が未だ十分に活用されていない。本研究では、食品のような多成分系に対して、テラヘルツ分光法の応用可能性を探索するため、さまざまな品質の試料についてテラヘルツ吸収スペクトルを収集し、統計的な解析を進めることで、その応用可能性を開拓することを目指している。

2. 光学測定による食品腐敗の識別

(1) 概要

食品の内部腐敗は早期に外観から判別することが難しく、腐敗を非破壊的に検出する手法として近赤外分光法が注目されている。先行研究では透過や反射光学系を用いることで腐敗を識別可能であることが報告されているが、対象物のサイズや向きに起因する精度の低下が課題とされている。本研究では、食品を多方向から計測することで局所的な腐敗を検出することを目的とし、複数の位置における光学特性を分析した。

(2) 実験

腐敗程度の異なる複数の食品を対象に、複数部位の試料を採取した。試料の近赤外域スペクトルを取得し、クラスタリング解析を行った。

クラスタリングでは、主成分において健常と腐敗が明瞭に分離された。腐敗クラスタ内では部位（上部・下部）によって傾向が分かれており、腐敗が上部から進行するという観察結果と整合する傾向があった。また、目視では健常と判定された食品の一部においても腐敗クラスタへの帰属が認められ、外観では検出できない初期の内部変化を捉えた可能性が示唆された。

さらに、健常試料と腐敗試料からサンプリングした組織片について、上記とは別の波長領域における光吸収ス

ペクトルの測定を行った。これにより、成分組成に関するより明確な情報を提供する。結果として、腐敗液中においてその原因となる成分の特定ができた。

これらの結果は、局所的な腐敗の検出に向けた多点光計測の有効性を示すとともに、光学スペクトルの情報を幅広く活用することで、総合的に把握できることを意味しており、マルチスケールセンシングの意義を示すものである。

3. テラヘルツ分光法による食品の成分組成および物性評価

(1) 概要

テラヘルツ分光法では、電場の時間波形から物質の複素誘電率（実部・虚部）や屈折率、吸収係数などの光学定数を導出できる。これにより、一般的な可視～近赤外の分光法と比べ、テラヘルツ分光法では多角的な情報の解釈を行うことができる。本研究では、成分比を系統的に変化させた食品モデル試料を用い、成分組成とスペクトル特徴量の関係を解析した。

(2) 実験

テラヘルツ分光を用いて、水、タンパク質、糖質、脂質の成分比を系統的に変化させた食品サンプルを測定・解析した。スペクトルの分析では、試料の成分組成に応じてスペクトルクラスターが分離されることを確認した。さらに、複素誘電率の実部と虚部はそれぞれ異なる特徴量を示すことから、複数の光学定数を組み合わせることで、成分評価の精度向上や分子の運動性に由来する物性推定の可能性も期待できる。

本研究は、以上の知見をもとに、食品の分野への応用研究をさらに深めていく予定である。

4. 今後の展望

対象物に特殊な前処理を施さない光計測は、客観的で条件依存性の低い評価手段となる。光は帯域によって物質への透過性が大きく異なり、得られる情報もユニークである。分光スペクトルから得られる情報をマルチスケールに活用することで、化学結合の振動特性から分子の運動性に至るまで、幅広い情報を統合した多角的な解釈を行うことができる。今後、多点計測システムの構築を進め、実用化を目指す。

【参考文献】

1.西野守ら, 農業情報研究 79, 254-262 (2017)

2.黒木信ら, Postharvest Biol. Technol. 128, 18-23 (2017)

3.H. Hoshina, Y. Iwasaki, E. Katahira, M. Okamoto, and C. Otani, Polymer, Volume 148, 49, 2018

4.曽根　良介, CSJ Current Review 42 赤外線の化学利用―近赤外からテラヘルツまで, 化学同人, 2021

5.斗内政吉, テラヘルツ時間領域分光 物質科学への応用, 内田老鶴圃, (2021)

6.佐世美帆ら, テラヘルツ分光法と多変量解析によるゲル状食品の成分評価, 第 74 回日本食品科学工学会 関東支部大会, 2026 年 2 月

マルチスケールセンサの高度化に向けた構造制御および高精度加工技術の開発

「革新的インダストリアルマルチスケールセンサ」プロジェクト
秋本 沙織

1. はじめに

現代社会において、産業製品を構成する微小な部品から、巨大な建造物に至るまで、安全確保や品質管理を目的とした検査技術の重要性が年々高まっている。これら多岐にわたる対象物を効果的に診断するためには、検査部位のスケールや複雑な形状に依存しない高い配置自由度を持ち、狙った領域を的確に網羅できる「空間的なマルチスケール計測」の実現が不可欠である。

以上を背景として、本プロジェクトでは、波長帯を超えた複合的なアプローチを可能とし、あらゆる検査ニーズに柔軟に対応する、革新的なマルチスケールセンサの開発を進めている。以前に開発したマクロ[1,2]からミクロ[3]にわたるセンシング技術をもとに、さらに、小さなものから大きなものまで対象のサイズや形状に合わせて曲面や複雑な構造体へ自由自在にセンサを配置することで、あらゆるスケールと環境に対応した、マルチスケールな非破壊診断を可能とする 。

このマルチスケールセンサの実証には、多様な作製手法や成膜・塗布条件による特性変化を正確に評価するための、高品質かつ形状制御されたサンプルの安定作製技術が不可欠である。そこで今年度は、このセンサ作製の基盤となる材料薄膜・素子パターンの品質安定化、材料特性の解明、およびマスキングやレーザーアブレーションによるパターン加工技術の開発を実施した。本報告では、主に成膜条件がセンサ集積構造に与える影響の解明から、デバイス化に向けた形状加工プロセスの検討、および作製サンプルを用いたセンサ動作の基礎検証に至る一連の成果について述べる。

2. 実験と結果

(1) プロセス最適化と膜厚の一意制御技術の確立

前述の新拠点への成膜技術の完全な移転に伴い、まずは基盤となる成膜技術の最適化と安定化を目的として検証を行った。将来的な吸収特性や電気的特性といった比較評価を行うためには、作製再現性を高める必要がある。しかし、従来は成膜プロセスに関する詳細な検討が不十分であった。

今年度は、成膜プロセスによる物性変化を検証、最適化を試みた。品質検証として膜厚測定を実施した結果、図 1 に示す通り原材料の液量と実際の膜厚の間に極めて良好な線形性（正の相関）を確認した。これにより任意のターゲット膜厚を持つ薄膜を高い再現性で安定作製できる技術基盤を確立した。その結果、形状変化に伴う特性評価を正しく行うための、再現性の高い比較用サンプルの調製が可能となった。

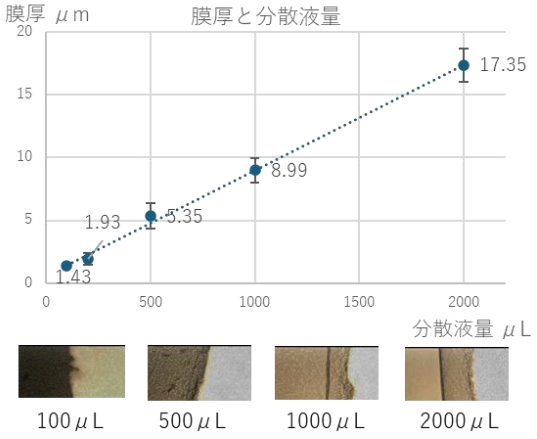


図 1 超深度形状測定顕微鏡による膜厚の液量依存性および測定試料外観

(2) 光学測定による薄膜の集積構造および配向特性の評価

成膜時において、基材の材質や、その「表面」と「裏面」のどちらに成膜するかによって、完成した薄膜の表面光沢（外観）に顕著な差異が認められた。この目視レベルでの外観差（集積構造の違い）を解明するため、光

学測定装置を用いて、多角的な構造評価を実施した。その結果、下地材質や成膜面の組み合わせによって、センサの集積構造が変化することを突き止めた。なかでも特定の偏光条件で顕著な光吸収挙動（強度の変化）が観察されたことから、薄膜の極表層における分子や官能基等が、成膜条件に応じて特徴的な配向性を持つ可能性を明らかにした。一方、下地自体が持つミクロな不均一性（異方性）が、材料の配向挙動に影響を与える挙動も確認された。これらの知見により、成膜面や評価面の選定次第で薄膜の構造状態を制御・使い分けられるプロセス下地を構築した。

(3) デバイス化に向けた形状加工プロセスの検討

マルチスケールセンサとしての機能性をさらに引き出すため、マスキングやレーザーアブレーション技術を用いた、薄膜の精密なパターン形状加工プロセスの検討を行った。前述の膜厚制御技術を応用することで、厚みの均一性を維持したまま、形状の長短や細線化など、多様な素子パターンの成膜・加工を実現した。さらに、これらの加工技術を基盤として作製した高品質なパターン形状サンプルを用い、センサ動作に関わる機能検証を実施した。その結果、特定の測定条件下において、これまでにない新たな興味深い光学応答（電磁波吸収挙動）データの取得に成功した。これは、設計したパターンによる形状効果や、精密に制御された薄膜の集積構造の有効性を実験的に裏付ける成果である。

一方、加工パターンの微細化や厚膜化を進めるに伴い、境界（エッジ）部分の形状精度や、基材に対する膜の密着性において、新たなプロセス上の課題も明確化された。特定の加工条件下では、境界の直線性の確保や、パターン剥離時の微小な欠け・浮きの対策が必要となる傾向が確認された。これらはさらなるデバイス精度を左右する重要な因子となるため、次年度に向けたプロセスの最適化と、より精密な形状制御を達成するための課題とする。

3. 考察及び今後の展望

今年度は、成膜プロセスの最適化を達成し、予測されていた飽和挙動を覆す良好な膜厚一意制御技術を確立した。さらに、光学測定装置を用いた多角的な評価により、基材の材質や成膜面のミクロ構造を起点として、薄膜の集積構造や配向状態を高度に制御・使い分けられるプロセス下地を構築した。これらの技術を基盤とした形状加工と、その後の機能検証において得られた新たな興味深い光学応答の知見は、マルチスケールセンサのさらなる高感度化へ向けた極めて重要な足がかりとなる成果である。

今後は、今年度明確となった形状加工プロセスにおける境界部の直線性と均一性を高めるプロセス改良を進め、より精度の高い加工を目指していく。具体的には、マスキング材料の選定や密着プロセスの最適化、およびレーザーアブレーション条件の精緻化により、パターン精度を高める。これにより、作製サンプルの品質および形状効果のさらなる向上を達成し、社会実装に資するマルチスケールセンサへの応用展開を図る。

【参考文献】

[1] D. Suzuki, S. Oda, Y. Kawano, Nature Photonics 10, 809 (2016).

[2] K. Li, T. Araki, R. Utaki, Y. Kawano, et al., Science Advances 8, eabm4349 (2022).

[3] X. Deng, L. Li, M. Enomoto, and Y. Kawano, Scientific Reports 9, 3498 (2019).

業績

【原著論文】
（投稿掲載）

01. Miki Kubota, Yuya Kinoshita, Sayaka Hirokawa, Daiki Shikichi, Noa Izumi, Naoko Hagiwara, Daiki Sakai, Yuto Matsuzaki, Minami Yamamoto, Leo Takai, Yukito Kon, Yuto Aoshima, Raito Ota, Mitsuki Kosaka, Meiling Sun, Yukio Kawano, Kou Li, "In-line multi-wavelength non-destructive pharma quality monitoring with ultrabroadband carbon nanotubes photo-thermoelectric imaging scanners", *Light: Science & Applications* 14, 306 (2025) [23.4]

02. Kou Li, Norika Takahashi, Yoshiaki Togami, Ryo Koshimizu, Noa Izumi, Naoko Hagiwara, Asumi Sano, Qi Zhang, Junyu Jin, Minami Yamamoto, Yukio Kawano, "A chemically enriched, repeatedly deformable, and self-recoverable broadband wireless imager sheet", *Communications Materials* 6, Article number: 147 (2025) [9.6]

03. Minami Yamamoto, Daiki Sakai, Yuto Matsuzaki, Leo Takai, Yukito Kon, Yuto Aoshima, Noa Izumi, Naoko Hagiwara, Hayato Hamashima, Daiki Shikichi, Junyu Jin, Qi Zhang, Kohei Murakami, Yuya Kinoshita, Satsuki Yasui, Norika Takahashi, Hajime Nishiyama, Yukio Kawano, Kou Li, "Mechanically alignable and all-dispenser-printable device design platform for carbon nanotube-based soft-deformable photo-thermoelectric broadband imager sheets", *npj Flexible Electronics* 9, Article number: 42 (2025) [15.5]

04. Leo Takai, Yuya Kinoshita, Norika Takahashi, Minami Yamamoto, Daiki Shikichi, Noa Izumi, Yuto Matsuzaki, Yukito Kon, Naoko Hagiwara, Yukio Kawano, Kou Li, "n-type carbon nanotube inks for high-yield printing of ultrabroadband soft photo-imager thin sheets", *Flexmat* Vol.2, Issue1,27 April 2025 [-]

05. Miki Kubota, Leo Takai, Minami Yamamoto, Kohei Murakami, Asumi Sano, Yukio Kawano, Kou Li, "Simultaneous multi-layer stacking for longer-wavelength broadband computed tomography with a carbon nanotube film photo-thermoelectric camera sheet", *Advanced Sensor Research 5*, Article number: 2 (2026) [3.5]

06. Hayato Hamashima, Norika Takahashi, Honghao Li, Ryoga Odawara, Asumi Sano, Naoko Hagiwara, Qi Zhang, Minami Yamamoto, Noa Izumi, Yukio Kawano, Kou Li, "Structural stability-driven dynamic range analysis of carbon nanotube photo-thermoelectric sensors", *Advanced Sensor Research* 5, Article number: 2 (2026) [3.5]

07. Miki Kubota, Mitsuki Kosaka, Daiki Shikichi, Noa Izumi, Tomoki Nishi, Minami Yamamoto, Hayato Hamashima, Yukio Kawano, Kou Li, "Operation speed tuning for infrared computer vision testing with pixel integration structures of carbon nanotube", *Optics Continuum 4,* Article number: 12 (2025) [1.4]

08. Hajime Nishiyama, Pham Nam Hai, Yukio Kawano, "Mid-infrared photothermoelectric detector using topological insulator BiSb thin film", *Optical Materials Express* 16, Article number: 3 (2026) [3.1]

09. Masayuki Ishihara, Daichi Suzuki, Kazuhiro Yoshida, Kanae Oi, Kou Li, Yuhi Inada, Takeshi Yamao, Yukio Kawano, Yoshiyuki Nonoguchi, "Synergistic Plasmonic-Thermoelectric Enhancement in Semiconducting Carbon Nanotubes for Infrared Light Detection", *Small Structures* Volume 7, Issue 2 (2026) [11.3]

10. Hajime Nishiyama, Pham Nam Hai, Tomohiro Amemiya, Shun Hashiyada, Yukio Kawano, "Infrared optical constants n, κ, and absorption of topological insulator BiSb thin films determined by the reflectance-transmittance technique", *Optics Letters* Volume 51, Issue 7 (2026) [3.3]

【総説】
（投稿掲載）

01. Yukito Kon, Kohei Murakami, Junyu Jin, Mitsuki Kosaka, Hayato Hamashima, Miki Kubota, Leo Takai, Yukio Kawano, Kou Li, "All-solution-processable robust carbon nanotube photo-thermoelectric devices for multi-modal inspection applications", *Materials* 2025, 18(21), 4980 [3.2]

【口頭発表】

01. Kohei Murakami, Minami Yamamoto, Ryoga Odawara, Hayato Hamashima, Leo Takai, Yukio Kawano, Yoshihiro Watanabe, Kou Li
Soft nanocarbon-based ultrabroadband thin-film camera sheet with visual augmented display
第 8 回フレキシブル・ストレッチャブルエレクトロニクス研究会, 2025 年 05 月, 札幌

02. Hayato Hamashima, Ryoga Odawara, Kohei Murakami, Minami Yamamoto, Yukio Kawano, Kou Li
High-sensitive design of carbon nanotube photo-thermoelectric sensor by selective surfactant removal for flexible high-speed inspection camera sheets
第 8 回フレキシブル・ストレッチャブルエレクトロニクス研究会, 2025 年 05 月, 札幌

03. Jin Junyu, Asumi Sano, Qi Zhang, Naoko Hagiwara, Yukio Kawano, Kou Li
Development of Repeatedly Washable, Ultrawideband, and Flexible Photo-Imaging Sensor Sheets
第 8 回フレキシブル・ストレッチャブルエレクトロニクス研究会, 2025 年 05 月, 札幌

04. 昆 裕樹仁, 高井 怜於, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
多波長計測可能なカーボンナノチューブカメラによる非破壊検査に適した写真撮影・動画撮影
2025 年度　日本写真学会年次大会, 2025 年 05 月, 東京

05. 小坂 充輝, 敷地 大樹, 出水 のあ, 久保田 実樹, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
カーボンナノチューブ膜センサを用いた広帯域反射型構造復元
2025 年度　日本写真学会年次大会, 2025 年 06 月, 東京

06. Yukio Kawano, Kou Li
CARBON-BASED MULTI-VIEW TERAHERTZ AND INFRARED IMAGERS
The 25th International Conference on the Science and Applications of Nanotubes and Low-Dimensional Materials, 2025 年 06 月, 京都

07. Junyu Jin, Asumi Sano, Qi Zhang, Naoko Hagiwara, Yukio Kawano, Kou Li
Development of repeatedly washable ultrabroadband and soft photo-imaging sensor sheets
CLEO/Europe-EQEC 2025, 2025 年 06 月, ミュンヘン

08. Masakazu Konishi, Hiroki Okawa, Shun Hashiyada, Yuto Matsuzaki, Qi Zhang, Hajime Nishiyama, Kou Li, Yoshito Tanaka, Yukio Kawano
Design and Evaluation of a Bull’s Eye Structure for Improving the Response Speed and Voltage of Carbon Nanotube Films in GHz Range
CLEO/Europe-EQEC 2025, 2025 年 06 月, ミュンヘン

09. Mitsuki Kosaka, Daiki Shikichi, Noa Izumi, Miki Kubota, Minami Yamamoto, Yukio Kawano, Kou Li
Reflective angular estimation with carbon nanotube broadband infrared scanners for non-destructive tomographic reconstruction
CLEO/Europe-EQEC 2025, 2025 年 06 月, ミュンヘン

10. Yukito Kon, Minami Yamamoto, Leo Takai, Ryoga Odawara, Yukio Kawano, Kou Li
Carbon nanotube optical sensor sheet designed by geometric pixel arrangement
The World Conference on Carbon, 2025 年 07 月, サン・マロ

11. Hayato Hamashima, Ryoga Odawara, Kohei Murakami, Minami Yamamoto, Yukio Kawano, Kou Li
Selective extraction of chemical solvent residues with carbon nanotube ultrabroadband sensors for noise signal management
The World Conference on Carbon, 2025 年 07 月, サン・マロ

12. Leo Takai, Yuto Matsuzaki, Reiji Tadenuma, Yuto Aoshima, Norika Takahashi, Minami Yamamoto, Yukio Kawano, Kou Li
Hybrid integration of carbon nanotube inks and inorganic pastes for high-performance testing devices
The World Conference on Carbon, 2025 年 07 月, サン・マロ

13. 村上 幸平, 小田原 遼河, 山本 みな美, 濱島 隼人, 高井 怜於, 河野 行雄, 渡辺 義浩, 李 恒
現場でのリアルタイムな透過型非破壊検査に向けたデバイスの基礎構造検討
The 2nd Japan Visualization Symposium, 2025 年 07 月, 東京

14. 濱島 隼人, 小田原 遼河, 村上 幸平, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
多波長な光を吸収するカーボンナノチューブ膜センサの熱ノイズ除去 による性能向上
2025 年度 第 1 回保守検査ミニシンポジウム, 2025 年 07 月, 東京

15. 小坂　充輝, 出水 のあ, 久保田 実樹, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
光熱起電力型カーボンナノチューブ膜センサを用いた広帯域多波長計測 による構造復元
2025 年度 第 1 回保守検査ミニシンポジウム, 2025 年 07 月, 東京

16. Kohei Murakami, Ryoga Odawara, Minami Yamamoto, Hayato Hamashima, Leo Takai, Mitsuki Kosaka, Yukio Kawano, Yoshihiro Watanabe, Kou Li
Nanocarbon-based ultrabroadband longer-wavelength camera sheet inspection system with dynamic visual augmentation
35th International Conference on Diamond and Carbon Materials, 2025 年 09 月, グラスゴー

17. Junyu Jin, Asumi Sano, Qi Zhang, Naoko Hagiwara, Yukio Kawano, Kou Li
Development of an Ultrawideband (Millimeter-Wave–Visible-Light) Image Sensor Sheet with Liquid Washing Resistance Carbon Nanotube Layers
35th International Conference on Diamond and Carbon Materials, 2025 年 09 月, グラスゴー

18. Miki Kubota, Minami Yamamoto, Noa Izumi, Yukio Kawano, Kou Li
Multi-wavelength infrared–terahertz computer tomography measurements for structure reconstruction with 2D integrated carbon nanotube-based imager sheets
35th International Conference on Diamond and Carbon Materials, 2025 年 09 月, グラスゴー

19. 大川 拓樹, 大橋 隆宏, 田邉 匡生, 佐藤 いまり, 河野 行雄
GHz 帯域反射分光における干渉抑制手法と金属表面状態識別への応用
2025 年秋期(第 177 回)講演大会, 2025 年 09 月, 札幌

20. 河野 行雄
ナノカーボン物質の次元制御と光機能創出
日本物理学会第 80 回年次大会(2025 年), 2025 年 09 月, 広島

21. Hideaki Sato, Daiki Asamoto, Hayato Hamashima, Kohei Murakami, Toui Yamazaki, Minami Yamamoto, Yukio Kawano, Kou Li
Design and Fabrication of Carbon Nanotube Photo-thermoelectric Sensors with Wavelength-Selective Layers
第 69 回 フラーレン・ナノチューブ・グラフェン総合シンポジウム, 2025 年 09 月, 台湾

22. Toui Yamazaki, Leo Takai, Minami Yamamoto, Yukito Kon, Kohei Murakami, Hayato Hamashima, Daiki Asamoto, Hideaki Sato, Yukio Kawano, Kou Li
Development of bottom-up layered camera sheets for simultaneous, real-time, and wavelength-selective infrared–visible light visualization
第 69 回 フラーレン・ナノチューブ・グラフェン総合シンポジウム, 2025 年 09 月, 台湾

23. Kodai Kobayashi, Minami Yamamoto, Leo Takai, Yukito Kon, Hayato Kanno, Tsubasa Hiyoshi, Yukio Kawano, Kou Li
Carbon nanotube thin-film wearable longer-wavelength photo-sensor for non-destructive testing with skin-breathability and flexibility
第 69 回 フラーレン・ナノチューブ・グラフェン総合シンポジウム, 2025 年 09 月, 台湾

24. Susumu Katahira, Mai Okumura, Tatsuya Shirasaki, Junyu Jin, Noa Izumi, Asumi Sano, Norika Takahashi, Yukio Kawano, Kou Li
p-type dope tuning for carbon nanotube films with different semi-metal ratios and monitoring of Seebeck coefficients for a sensor design database
第 69 回 フラーレン・ナノチューブ・グラフェン総合シンポジウム, 2025 年 09 月, 台湾

25. 浅本 大輝, 佐藤 秀明, 濱島 隼人, 村上 幸平, 山本 みな美, 山﨑 桃生, 河野 行雄, 李 恒
カーボンナノチューブを用いた波長分解赤外イメージセンサシートの基礎構造検討
材料シンポジウム 「若手学生研究発表会」, 2025 年 10 月, 京都

26. 日吉 翼, 菅野 颯人, 高井 怜於, 昆 裕樹仁, 山本 みな美, 佐野 明日美, 出水 のあ, 小林 晃大, 濱島 隼人, 河野 行雄, 李 恒
カーボンナノチューブ型イメージセンサのインクジェット印刷に向けた液中粒径制御及び基礎物性評価
材料シンポジウム 「若手学生研究発表会」, 2025 年 10 月, 京都

27. 昆 裕樹仁, 高井 怜於, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
多波長光検出カーボンナノチューブ薄膜センサシートのカメラ構造設計による材料同定と非破壊検査可能なイメージングデバイスへの応用
第 22 回研究集会「GX を支える薄膜技術」, 2025 年 10 月, 京都

28. 管野 颯人, 日吉 翼, 高井 怜於, 昆 裕樹仁, 小林 晃大, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
CNT 膜の低粘度化インクジェット印刷と p 型ドーピングによる導電性および光熱電応答
第 22 回研究集会「GX を支える薄膜技術」, 2025 年 10 月, 京都

29. 今村 恒水, 久保田 実樹, 出水 のあ, 小坂 充輝, 敷地 大樹, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
薄膜カーボンナノチューブセンサによる構造復元と材質同定
第 22 回研究集会「GX を支える薄膜技術」, 2025 年 10 月, 京都

30. 張 鐔鐔, 佐野 明日美, 黒崎 天翔, 根本 樹希, 金 峻宇, 王 世豪, 河野 行雄, 李 恒
カーボンナノチューブおよび導電性高分子の選択的なスプレー塗布工程によるオンサイト光センサの設計
第 22 回研究集会「GX を支える薄膜技術」, 2025 年 10 月, 京都

31. 小林 晃大, 山本 みな美, 高井 怜於, 昆 裕樹仁. 管野 颯人, 日吉 翼, 李 恒, 河野 行雄
通気性・柔軟性を備えた非破壊検査用カーボンナノチューブ薄膜ウェアラブル長波長光センサ
2025 年度 秋季講演大会,2025 年 11 月, 福岡

32. 佐藤 秀明, 濱島 隼人, 村上 幸平, 浅本 大輝, 山﨑 桃生, 李 恒, 河野 行雄
非破壊検査への応用に向けた赤外-テラヘルツ波長選択性フレキシブルカーボンナノチューブセンサ
2025 年度 秋季講演大会, 2025 年 11 月, 福岡

33. Lwin Han Min, 久保田 実樹, 小坂 充輝, 出水 のあ, 今村 恒水, 奥村 まい, 李 恒, 河野 行雄
観察物の透過・反射・吸収が透視により識別可能な長波長光コンピュータビジョン
2025 年度 秋季講演大会, 2025 年 11 月, 福岡

34. 高井 怜於, 昆 裕樹仁, 管野 颯人, 日吉 翼, 山本 みな美, 河野 行雄, 李 恒
インクジェット印刷を用いたカーボンナノチューブ薄膜広帯域イメージングセンサの微細化プロセス
第 10 回フォトニクスワークショップ, 2025 年 11 月, 沖縄

35. 佐世 美帆, 大川 拓樹, 小川 剛伸, 田中 充, 河野 行雄
テラヘルツ分光法と多変量解析によるゲル状食品の成分評価
日本食品科学工学会 令和 8 年度 関東支部大会, 2026 年 3 月, 東京

研究報告2026目次【研究開発部】

有望シーズ展開事業

「徐脈性不整脈の再生医療」プロジェクト

◆　統括・・・

徐脈性不整脈の再生医療プロジェクト

プロジェクトリーダー　遠山　周吾

【基本構想】

洞不全症候群や房室ブロック等の徐脈性不整脈では、心不全症状や脳虚血症状が生じるため、一般的に人工ペースメーカ植え込み術が行われる。本邦における件数は年間 4 万件以上(電池交換を除く)にのぼる。しかし、人工ペースメーカ植え込み術は根治治療法ではなく、定期的な電池交換やリードトラブル、感染、自律神経に対する不応答など、さまざまな課題が存在している(**図 1**)。また、人工ペースメーカの市場は大きく、国内のみで 2000 億円規模、世界では約 70 億米ドルと予測されている(世界の心臓ペースメーカ市場に関する調査レポート：予測 2023-2035 年、SDK.jp)。本邦では、人工ペースメーカは 100%海外からの輸入に依存しており、8000 億円に上る医療機器の貿易赤字の多くを占めている。心臓ペースメーカオルガノイド移植治療の開発は、人工ペースメーカ植え込み術がかかえる医学的な課題を解決するとともに、海外に依存し、貿易赤字の一因となっている人工ペースメーカからの脱却につながることが期待される。

そこで本事業では、ヒト iPS 細胞から作製したバイオペースメーカ細胞移植により、従来の課題を解決することを目的として研究を行う。ペースメーカ細胞移植治療を実現するにあたり、**① ペースメーカ細胞の大量作製、② 腫瘍化の原因となる残存未分化幹細胞の除去、③ 徐脈性不整脈モデル大型動物の作製、④ ヒト細胞を生着可能な大型動物の作製、⑤ 効率よい移植法の開発、⑥ 臨床グレード培養法の確立、⑦ 臨床応用のノウハウ・経験値**、といった課題が存在するが(**図 2**)、当研究室ではその課題の多くを克服する技術をこれまでに開発してきた(①関連, *iScience* 2021, *STAR Protocols* 2022a, *Stem Cell Rep* 2017、②関連, *Cell Stem Cell* 2013, *Cell Metab* 2016, *iScience* 2020, *STAR Protocols* 2022b、④関連, *Nat commun* 2019、⑤関連, *Nat methods* 2010, *J Heart Lung Transplant* 2019, ⑥関連, *Stem Cell Rep* 2017)。また、我々は臨床応用が目前に迫った重症心不全患者に対するヒト iPS 細胞由来心室筋細胞移植療法における臨床研究の実務責任者および品質管理責任者を務めており、⑦に関しても十分なノウハウと経験値が備わっている。ヒト iPS 細胞からペースメーカ細胞を含むオルガノイドという組織塊を効率よく作製し、徐脈性不整脈患者の心臓に移植することで、人工ペースメーカ植え込み治療ではなし得なかった、徐脈性不整脈に対する新たな治療法を開発することを目指す。

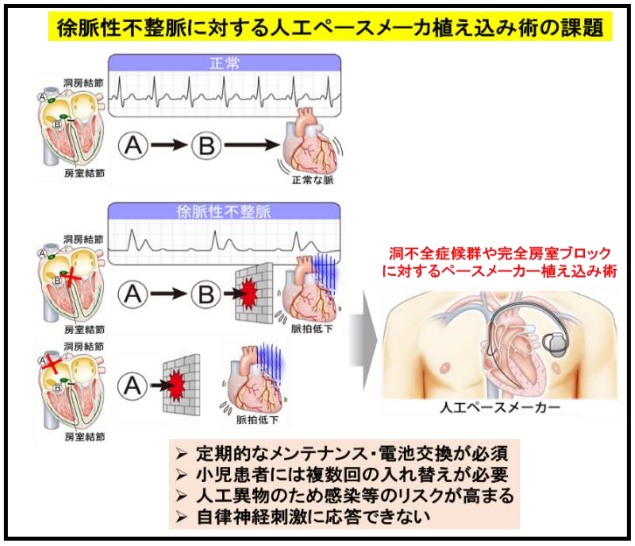


図 1：徐脈性不整脈に対する人工ペースメーカ植え込み術の課題

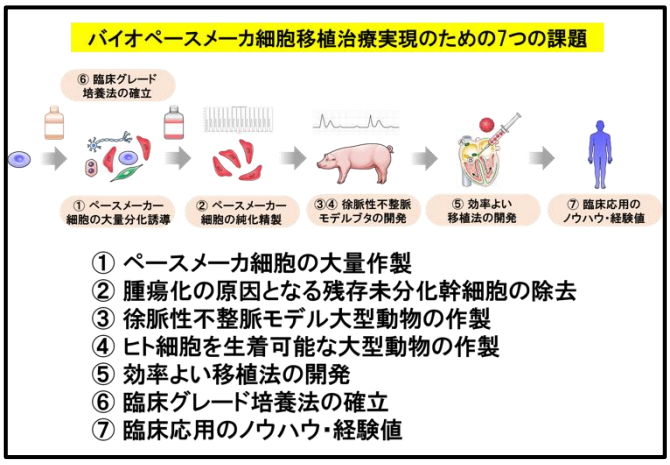


図 2：ペースメーカオルガノイド移植治療実現のための課題

1. 2025 年度の研究目的

本事業の目的は、移植後に拒絶反応が起こりにくいように遺伝子改変を行った低免疫原性ヒト iPS 細胞から心臓ペースメーカオルガノイドを作製し、それを心臓へ移植することで徐脈性不整脈の治療を可能にする新たな治療法を構築することである。上述(図 2)にあるような課題を解決するために、具体的にはトリプトファン強化培養液によるヒト iPS 細胞の増殖促進法（①関連, *iScience* 2021, *STAR Protocols* 2022a)、心筋細胞の大量作製法（①関連, *Stem Cell Rep* 2017)、培養上清中 miRNA を用いた品質管理法（②関連, *Stem Cell Rep* 2023)、特殊培養液による超高純度（99%以上）心筋作製法（③関連, *Cell Stem Cell* 2013, *Cell Metab* 2016)、ペースメーカ細胞の純化精製法（③関連, *unpublished* 特許出願)、脂肪酸合成経路阻害による残存未分化幹細胞除去（③関連, *iScience* 2020, *STAR Protocols* 2022b)、心筋組織球移植法（④関連, *Nat methods* 2010, *Cell Reports Methods* 2023)、奇形腫イメージング法（④関連, *iScience* 2024, 特許出願)、ヒト細胞を生着可能な中大動物への免疫抑制剤投与条件（⑤関連, *Circulation* 2024)、臨床グレード培養液（⑥関連, *Stem Cell Rep* 2023）等の開発を行ってきた。

2025 年度は、本プロジェクトの臨床応用に向けて、

❶ペースメーカ細胞の分化誘導プロトコールの確立、
❷ペースメーカ細胞の純化精製プロトコールの確立、
❸ペースメーカオルガノイドの作製と特性解析、
❹ペースメーカオルガノイドを用いた非臨床試験 (安全性・有効性)

に関して研究遂行することを目的とした。

2. 2025 年度の研究成果

❶ ペースメーカ細胞の分化誘導プロトコールの確立

心不全に対する細胞移植治療においては心室筋細胞が、徐脈性不整脈に対する細胞移植治療においてはペースメーカ細胞（および心房筋細胞）が必要である。ヒト iPS 細胞から心室筋細胞への分化誘導に関しては、発生の過程を模倣し、Wnt シグナルや BMP シグナルを調節することで可能となっている。そこで、本プロジェクトにおいて必要となるペースメーカ細胞への分化誘導についても、発生学的な観点から試みることとした。まず、Wnt シグナルや BMP シグナルの調節に加えて、レチノイン酸を添加するプロトコールで、心房筋細胞とペースメーカ細胞を効率よく分化誘導することに成功した。この条件で分化誘導した細胞集団に対してシングルセル RNA-seq を行ったところ、SHOX2 陽性のペースメーカ細胞は 15%程度含まれていた。

誘導効率をさらに向上させるため、発生機構に基づいて TGF、FGF シグナルなどに着目した 30 以上の条件を検討し、誘導効率を大幅に上昇させることに成功した（特許出願中)。ペースメーカ細胞の含有率が高いほど安定した品質のオルガノイドを作製することが可能であり、また移植細胞数を減らすことにも直結する (***unpublished***)。

❷ ペースメーカ細胞の純化精製プロトコールの確立

従来のペースメーカ細胞の選別方法として、ペースメーカ細胞特有の遺伝子座に蛍光タンパクを組み込み、セルソーターを用いて選別する手法が主であるが、移植治療を目的とした本事業に用いることは難しい。我々は、心筋細胞と非心筋細胞の代謝の違いを利用し、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞のみを純化精製できることを報告した (***Cell Stem Cell*** 2013, ***Cell Metab*** 2016)。具体的には、グルコースとグルタミンを除き乳酸を添加した培地で培養すると、非心筋細胞は生存できず、心筋細胞のみを純化精製することができる。本研究では、代謝の違いを利用して、ヒト iPS 細胞由来の心室筋細胞は生存できず、ペースメーカ細胞（および心房筋細胞）が生存可能な培養条件を開発した。心室筋細胞およびペースメーカ細胞（および心房筋細胞）の代謝を詳細に検討し、その結果に基づいた特殊培地で培養したところ、心室筋細胞は生存できないが、ペースメーカ細胞（および心房筋細胞）は生存できることを明らかにした(***unpublished***, 特許出願中)。ヒト iPS 細胞からペースメーカ細胞へ分化誘導した後に、特殊培地に暴露させることで、ペースメーカ細胞（および心房筋細胞）のみを純化精製することが可能となった。現在、心室筋のみが特異的に死滅する分子機序の解明を行っている。

❸ ペースメーカオルガノイドの作製と特性解析

我々はさまざまな手法を用いてオルガノイドを効率よく作製する手法を開発してきた（*Cell Reports Methods*

2023, *Circulation* 2024, *STAR Protocols* 2025)。

凍結の有無による拍動率への影響を調べるため、また凍結融解後のヒト iPS 細胞由来ペースメーカオルガノイドを作製し、Cell Motion Imaging System (LPIXEL)を用いて経時的に拍動率を評価した。その結果、凍結融解はペースメーカオルガノイドの拍動率に影響しないことが示唆された。

研究グレードペースメーカ細胞の特性解析として、KISTEC 研究開発部 次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクトの石黒チームと連携し、シングルセル RNA-Seq 解析を現在進めている。シングルセルライブラリは調整済みであり、バイオインフォマティクス解析を予定している。

詳細に個々の細胞の遺伝子発現解析を行い細胞の性質を評価するほか、心室筋との比較解析を行うことで特異な代謝機構の解明に繋げていく。

❹ ペースメーカオルガノイドを用いた非臨床試験 (安全性・有効性)

造腫瘍および長期生着の有無を評価するため、免疫不全マウスの皮下および心臓にペースメーカオルガノイドを移植した。半年～1 年間観察し、生着および腫瘍化の評価を行う予定である。

モルモットの心臓における、房室結節を鍼灸針を用いて焼灼することで、心拍数が 50/分程度にまで低下し、完全房室ブロック（徐脈性不整脈モデル）を作製することに成功した。徐脈不整脈モデルのモルモット心臓にヒト iPS 細胞由来ペースメーカオルガノイドを移植し、*ex vivo* imaging により移植したペースメーカオルガノイドがバイオペースメーカとして機能していることを確認し、PoC を取得した。

また、サルの心臓において、房室結節をカテーテルを用いて焼灼することで、心拍数が 40/分程度にまで低下し、完全房室ブロック（徐脈性不整脈モデル）を作製することに成功し、3 か月に渡って徐脈を維持することを確認した。

今後は、サル徐脈性不整脈モデルにペースメーカオルガノイドを移植し、心拍数の変動を評価する予定である。

【参考文献】

1. Umei TC, et al. Serine synthesis pathway regulates cardiac differentiation from human pluripotent stem cells. *iScience.* 2025 Jun 7;28(7):112843.
2. Kobayashi H, et al. Regeneration of Nonhuman Primate Hearts With Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Spheroids. *Circulation* 150(8) 611-621, 2024.
3. Sekine O, et al. Seamless and non-destructive monitoring of extracellular microRNAs during cardiac differentiation from human pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*, 2023,18,1925-1939
4. Moriwaki T, et al. Scalable production of homogeneous cardiac organoids derived from human pluripotent stem cells. *Cell Reports Methods,* 2023,3,100666-100666
5. Tanosaki S, et al. Fatty acid synthesis is indispensable for survival of human pluripotent stem cells. *iScience*, 2020,23,101535-101535
6. Tohyama S, et al. Efficient large-scale 2D culture system for human induced pluripotent stem cells and differentiated cardiomyocytes. *Stem Cell Reports*, 2017,9,1406-1414
7. Tohyama S, et al. Glutamine oxidation is indispensable for survival of human pluripotent stem cells. *Cell Metabolism*, 2016,23,663-674

   Tohyama S, et al. Distinct metabolic flow enable large-scale purification of mouse and human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Cell Stem Cell*, 2013,12,127-137
8. Hattori F, et al. Nongenetic method for purifying stem cell-derived cardiomyocytes. *Nature methods*, 2010,7,61-66

バイオペースメーカオルガノイドの作製および特性解析

「徐脈性不整脈の再生医療」プロジェクト
森田　唯加、森脇　大順

1. はじめに

洞不全症候群や房室ブロック等の徐脈性不整脈では、心不全症状や脳虚血症状が生じるため、一般的に人工ペースメーカ植え込み術が行われる。しかしながら、定期的な電池交換手術、デバイス感染やリード断線や機器のメンテナンス等さまざまな課題が存在する。そこで本研究では、ヒト iPS 細胞から作製したバイオペースメーカ細胞移植により、従来の課題を解決することを目的として研究を行う。バイオペースメーカ細胞移植を実現するにあたり、**① ペースメーカ細胞の大量作製、② 腫瘍化原因細胞の除去、③ 徐脈性不整脈モデル大型動物の作製、④ ヒト細胞を生着可能な大型動物の作製、⑤ 効率よい移植法の開発、⑥ 臨床グレード培養法の確立、⑦ 臨床応用のノウハウ・経験値**、といった課題を解決する必要がある。

当研究室では課題の多くを克服しており、これまで蓄積してきた技術を駆使し、**徐脈性不整脈に対する新たな治療法の開発を目指している**。

(1) 背景

洞不全症候群や房室ブロック等の徐脈性不整脈では心不全症状や脳虚血症状が生じるため、一般的に人工ペースメーカ植え込み術が行われており、本邦における植え込み件数は**年間 4 万件以上**（電池交換を除く）に上る。人工ペースメーカの移植により、生活の質(QOL)を向上させることは可能であるが、しかしながら、**人工ペースメーカ植え込み術においては、定期的な電池交換手術、デバイス感染や機器のメンテナンス等さまざまな課題が存在**する。一方で、ヒト多能性幹細胞から誘導したバイオペースメーカ細胞の移植による治療法では、ペースメーカ細胞が脱落しない限り永続的にペースメーカとしての機能を維持できるため、定期的な電池交換手術やデバイス感染、リード断線など機器のメンテナンス等のさまざまな課題を克服できる可能性を秘めている。

ヒト多能性幹細胞から心筋細胞を誘導する手法はこれまでに多く報告されているが、特定の心筋タイプを誘導する手法ではないため、さまざまな心筋細胞が雑多に誘導されており、中でも心室筋細胞がほとんどである[1, 2]。近年ペースメーカ細胞に特異的に誘導する手法として、発生機序を模倣しシグナル伝達経路(BMP, WNT, RA)を緻密にコントロールすることで、心室筋細胞の誘導を抑えてペースメーカ細胞を誘導する手法が取られている。これまでにペースメーカ細胞の誘導効率を向上させることに成功したことがいくつか報告されているが、それでもいまだに効率は低く改善が求められる(表 1)。ペースメーカ細胞の誘導効率を向上させる他に濃縮する手法も検討されており、表面抗原を用いたセルソーティング法が報告されているが、抗体を用いる選別法はコストがかかる上に、セルソーティングによる物理的・生理的ダメージがあるため医療応用を目指すには適さない。

したがって、本研究では効率の良いペースメーカ細胞の誘導方法の最適化、かつ長期間ペースメーカとしての機能を維持することが可能な安定した表現型を示すペースメーカ細胞の作製、さらに細胞移植を目指すためにペースメーカ細胞作製の低コスト化や、ペースメーカ細胞以外の細胞を除去するための選別法の開発が必要とされる。また、ペースメーカ細胞の移植による有効性・安全性を評価するには、徐脈性不整脈モデル動物の作製や効率のよい移植方法といった技術開発も必須であり、本プロジェクトはこれらの課題の解決に挑む。

Cell line	Year of publication	Publication	Method	Differentiation efficiency	Reference Number
hES	2017	Protze et al	3D	35±1% (Nkx2-5GFP-/cTNT+)	3
hES/hiPS	2019	Liang et al	2D	20-30% (NKX2-5-/ cTNT+)	4
hES/hiPS	2020	Liu et al	2D	55% (NKX2-5-/cTNT+)	5
hiPS	2020	Yechikov et al	2D	20-30%	6
hiPS	2022	Wiesinger et al	2D	FACS解析なし	7
hiPS/hES	2022	Hou et al	2D	45%(NKX2-5-/ cTNT+)	8
hiPS	2022	Yin et al	2D	21.3%(cTNT+/NKX2-5-) 18.7% (Nkx2-5-/SHOX2+)	9
hiPS	2022	Darche et al	2D	FACS解析なし	10
hiPS	2022	Liu et al	2D	30.9±6.5%(cTNT+/SHOX2+) 38.9±9.8% (Nkx2-5-/cTNT+)	11

表 1 ペースメーカ細胞の誘導法および分化効率[3-11]

(2) 目的

本プロジェクトは、ヒト iPS 細胞から作製したペースメーカ細胞を移植することにより、従来の人工ペースメーカ移植にまつわる全ての課題を解決することを目的として研究を行う。令和 7 年度においては、

① 研究グレードペースメーカオルガノイドの作製と特性解析
② 研究グレードペースメーカオルガノイドの品質規格設定
③ 研究グレードペースメーカオルガノイドを用いた非臨床試験(安全性・有効性)

に関して研究遂行することを目的とした。

2. 実験と結果

(1) 実験計画

(1)-1 研究グレードペースメーカオルガノイドの作製と特性解析

複数のシグナル調節因子を添加することでヒト iPS 細胞からペースメーカ細胞への分化誘導が可能になってきており、令和 7 年度は、まず研究グレードのヒト iPS 細胞からペースメーカ細胞を効率よく作製するための最適な誘導条件を決定する。また、心室筋細胞は死滅するがペースメーカ細胞(および心房筋細胞)は生存でき、ペースメーカ細胞の純化精製ができる培養環境をこれまでの研究により明らかにしたが、令和 7 年度は、そのメカニズムの解明を検討する。さらに、これまでに確立したオルガノイド作製法をもとに、研究グレードのペースメーカオルガノイドを作製する。作製したペースメーカオルガノイドの特性解析として、免疫染色による評価、シングルセル RNA-seq による遺伝子プロファイル解析、HISCL(Sysmex)を用いた培養上清タンパクの定量評価、Motion Vector Imaging System (LPIXEL)を用いた拍動率の評価などを行う。

(1)-2 研究グレードペースメーカオルガノイドの品質規格設定

令和 7 年度は、臨床応用を念頭に、作製したペースメーカオルガノイドの適切な品質評価法を確立する。想定している項目は、細胞の純度、生存率、残存未分化幹細胞の割合、オルガノイドの拍動率などである。培養上清中の miRNA を検出することで残存未分化幹細胞の割合を定量化する方法を開発済みであり、この技術を用いてペースメーカオルガノイドを作製する際の残存未分化幹細胞の割合を定量的に評価できる系を確立する。また、Cell Motion Imaging System (LPIXEL)を用いて、移植にあたって適切なペースメーカオルガノイドの拍動率の決定を行う。

(1)-3 研究グレードペースメーカオルガノイドを用いた非臨床試験(安全性・有効性)

令和 7 年度は、免疫不全マウスの皮下および心臓に研究グレードペースメーカオルガノイドを移植し、in vivo 発光イメージングにて、最長 1 年間、生着を評価していく。また、in vivo PoC 取得のため、徐脈性不整脈モデルのモルモットやサルの心臓に研究グレードペースメーカオルガノイドを移植して有効性を評価する（信州大との共同研究)。移植後に、植込み型心電計や経時的なホルター心電図にて徐脈の改善の有無を評価し、血中の BNP や cTnT などを測定することで心負荷の程度を評価する。数か月間のフォローアップ後、心臓を摘出して、移植されたペースメーカオルガノイドの働きを ex vivo のカルシウムイメージングにて評価する。令和 7 年度は、まず徐脈性不整脈を呈するモルモットあるいはサルのモデル作製を行う。具体的にはカテーテルもしくは開胸で房室結節をアブレーションして完全房室ブロックを作製し、3 か月ほど経過をみて徐脈が持続していること確認した上で、ペースメーカオルガノイドを移植する。

(2) 結果

(2)-1 研究グレードペースメーカオルガノイドの作製と特性解析

研究グレードのヒト iPS 細胞由来ペースメーカ細胞の高効率な誘導法の条件を決定した(図 1)。研究グレードペースメーカ細胞の特性解析として、KISTEC 研究開発部次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクトの石黒チームと連携し、シングルセル RNA-Seq 解析を現在進めている。シングルセルライブラリは調整済みであり、バイオインフォマティクス解析を予定している。詳細に個々の細胞の遺伝子発現解析を行い細胞の性質を評価するほか、心室筋との比較解析を行うことで特異な代謝機構の解明に繋げていく。

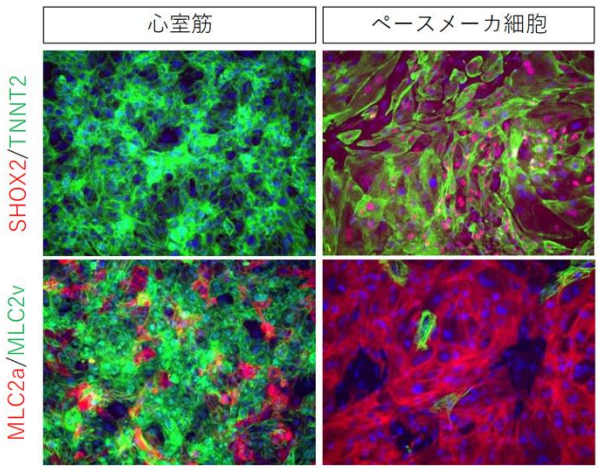


図 1 ヒト iPS 細胞由来心室筋およびペースメーカ細胞
心筋マーカーTNNT2, ペースメーカ細胞特異的マーカーSHOX2, 心室筋マーカーMLC2v, 幼若心筋および心房筋・ペースメーカ細胞マーカーMLC2a での染色結果を示す。

(2)-2 研究グレードペースメーカオルガノイドにおける拍動プロファイル解析

ペースメーカオルガノイドの品質規格設定に関して Cell Motion Imaging System (LPIXEL) を用いて移植前のペースメーカオルガノイドの拍動率を評価し(図 2)、移植後に十分な心拍数を維持するオルガノイドの指標を検討した。

ペースメーカオルガノイドを移植するにあたり、適切なペースメーカオルガノイドの心拍数の決定が重要であり、Cell Motion Imaging System (LPIXEL)を用いて、凍結の有無による拍動率への影響を調べ、また凍結融解後のヒト iPS 細胞由来ペースメーカ細胞の拍動率を経時的に評価した。その結果、凍結によるペースメーカ細胞への影響は見受けられず、融解直後である一定数の拍動率を維持していれば長期培養での拍動率も安定していることが示唆された。

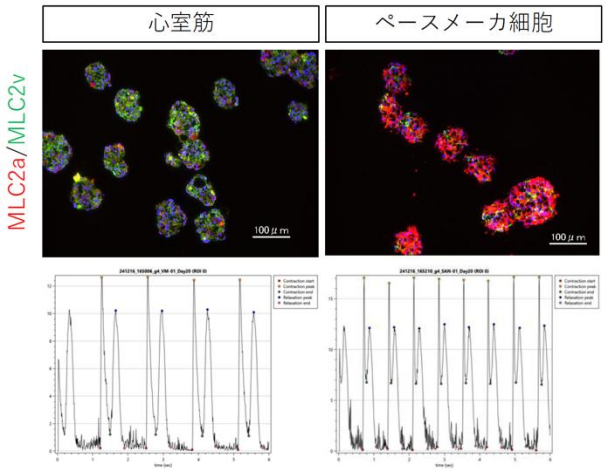


図 2 ヒト iPS 細胞由来心室筋オルガノイドとペースメーカオルガノイド による拍動率の比較

(2)-3 研究グレードペースメーカオルガノイドを用いた非臨床試験(安全性・有効性)

免疫不全マウスの皮下および心臓に研究グレードのヒト iPS 細胞由来ペースメーカ細胞を移植し、in vivo 発光イメージングで最長 1 年間、生着を評価中である。心室筋スフェロイドおよびペースメーカオルガノイドを各々別々に移植した免疫不全マウスを用いて現在移植後の細胞生着率や細胞形態、未分化細胞残存による腫瘍化の有無に関して移植サンプルを提出し評価を進めている。また、in vivo PoC 取得のため、徐脈性不整脈モデルモルモットおよびサルの作製を進め、徐脈性不整脈モデルの構築に成功した。また、徐脈性不整脈モデルのモルモットにヒト iPS 細胞由来ペースメーカオルガノイドを移植し、ex vivo imaging を行った。その結果、移植したペースメーカ―オルガノイドがバイオペースメーカとして機能していることを ex vivo imaging により明らかにした。

3. 考察と今後の展望

低免疫原性臨床グレードヒト iPS 細胞から臨床グレードの培養液を用いてペースメーカ細胞を作製し、製造法を決定する。さらに、これまでに確立したオルガノイド作製法を用いて臨床グレードペースメーカ細胞を含むオルガノイドを作製し、特性解析も進めていく。

また、作製したペースメーカオルガノイドの適切な品質評価法を確立する。想定している項目は、細胞の純度、生存率、残存未分化幹細胞の割合、オルガノイドの拍動率などである。

研究・臨床グレードペースメーカオルガノイドを免疫不全マウスの皮下および心臓に移植し、長期生着が可能かを確認する。 1 年間観察し、試験終了時に皮下に移植されたペースメーカオルガノイドについては、拍動を観察し、機能維持を評価する。

【参考文献】

1. He, J.Q., et al., *Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes: action potential characterization.* Circ Res, 2003. **93**(1): p. 32-9.
2. Ma, J., et al., *High purity human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: electrophysiological properties of action potentials and ionic currents.* Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011. **301**(5): p. H2006-17.
3. Protze, S.I., et al., *Sinoatrial node cardiomyocytes derived from human pluripotent cells function as a biological pacemaker.* Nat Biotechnol, 2017. **35**(1): p. 56-68.
4. Liang, W., et al., *Canonical Wnt signaling promotes pacemaker cell specification of cardiac mesodermal cells derived from mouse and human embryonic stem cells.* Stem Cells, 2020. **38**(3): p. 352-368.
5. Liu, F., et al., *Enrichment differentiation of human induced pluripotent stem cells into sinoatrial node-like cells by combined modulation of BMP, FGF, and RA signaling pathways.* Stem Cell Res Ther, 2020. **11**(1): p. 284.
6. Yechikov, S., et al., *NODAL inhibition promotes differentiation of pacemaker-like cardiomyocytes from human induced pluripotent stem cells.* Stem Cell Res, 2020. **49**: p. 102043.

7. Wiesinger, A., et al., *A single cell transcriptional roadmap of human pacemaker cell differentiation.* eLife, 2022. **11**: p. e76781.
8. Hou, X., et al., *Chemically defined and small molecules-based generation of sinoatrial node-like cells.* Stem Cell Research & Therapy, 2022. **13**(1): p. 158.
9. Yin, L., et al., *RA signaling pathway combined with Wnt signaling pathway regulates human-induced pluripotent stem cells (hiPSCs) differentiation to sinus node-like cells.* Stem Cell Res Ther, 2022. **13**(1): p. 324.
10. Darche, F.F., et al., *Improved Generation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Pacemaker Cells Using Novel Differentiation Protocols.* Int J Mol Sci, 2022. **23**(13).
11. Liu, F., et al., *The Biphasic Effect of Retinoic Acid Signaling Pathway on the Biased Differentiation of Atrial-like and Sinoatrial Node-like Cells from hiPSC.* International Journal of Stem Cells, 2022. **15**(3): p. 247-257.

業績

【原著論文】
（投稿掲載）

1. Taijun Moriwaki, Hidenori Tani, Kotaro Haga and Shugo Tohyama
   Protocol for production of homogeneous for iPSC spheroids and microtissues using the suction technique
   STAR Protocols, 6, 103891(2025), [IF 1.3] ***Cell Press***

2. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama, Yuika Morita-Umei, Manami Katoh, Seitaro Nomura, Kotaro Haga, Takako Hishiki, Tomomi Matsuura, Hidenori Tani, Yusuke Soma, Otoya Sekine, Msatoshi Ohno, Masashi Nakamura, Taijun Moriwaki, Yoshikazu Kishino, Keiichi Fukuda and Masaki Ieda
   Serine synthesis pathway regulates cardiac differentiation from human pluripotent stem cells
   iScience**,** *28*, 112843(2025), [IF 4.1] ***Cell Press***

3. Taijun Moriwaki, Hidenori Tani and Shugo Tohyama
   Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes for disease modeling and drug discovery
   Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, Volume 13, 1687840(2025), [IF 4.0]

4. Shuji Chino, Hajime Ichimura, Shugo Tohyama, Hideki Kobayashi, Takashi Shiina, Hiroki Sakai, Keiichi Fukuda, Takuro Tomita, Mitsuhiko Yamada, Ayako Tateishi, Maki Ohya, Mikiko Kobayashi, Hiroyuki Kannno, Hirohito Ishigaki, Masahiro Agata, Hidekazu Takahashi, Jian Zhao, Xiao Yang, Zouhour G. Omar, Ada Caruso, Yuki Tanaka, Naoko Shiba, Yuko Wada, Tatsuichiro Seto, James J.H. Chong, Shin Kadota and Yuji Shiba
   Immune regulation following allogeneic iPSC-derived cardiomyocyte transplantation in non-human primates
   Cardiovascular Research (2025)00, 1-12, doi.org/10.1093/cvr/cvaf249 [IF 10.787]

5. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama
   Cardiac regeneration: The present state and future direction of human pluripotent stem cell therapy
   Journal of Cardiology, doi.org/10.1016/j.jjcc.2026.01.006[IF 2.6]

【口頭発表】

1. 遠山周吾
   心不全に対するヒト iPS 細胞を用いた心筋再生治療法の開発：基礎から応用へ
   第 11 回日本心筋症研究会、2025 年 5 月、山形

2. Shugo Tohyama
   Human iPSC-based Cardiac Regenerative Therapy for Heart Failure: from Bench to Bedside
   PROGRAM-PLURIPOTENT STEM CELL CONFERENCE 2025、2025 年 6 月、北京

3. 遠山周吾
   循環器疾患に対するヒト iPS 心筋組織移植～基礎から応用へ～
   第 10 回日本心血管協会(JCVA)学術集会、2025 年 6 月、名古屋

4. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama, Yuika Morita-Umei, Manami Katoh, Seitaro Nomura, Kotaro Haga, Takako Hishiki, Tomomi Matsuura, Hidenori Tani, Yusuke Soma, Masatoshi Ohno, Masashi Nakamura, Taijun Moriwaki, Yoshikazu Kishino, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda
   Serine Synthesis Pathway Controls Cardiac Differentiation from Human Pluripotent Stem Cells
   第 42 回国際心臓研究学会（ISHR2025）、2025 年 5 月、奈良

5. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama, Yuika Morita-Umei, Kotaro Haga, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda
   SERINE SYNTHESIS PATHWAY CONTROLS CARDIAC INDUCT ION OF HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS
   International Society of Stem Cell Research 2025 Annual Meeting (ISSCR2025)、2025 年 6 月、香港

6. 遠山周吾
   循環器疾患に対する心筋組織移植治療法の開発と疾患研究にむけた基盤技術開発
   第 31 回日本心臓リハビリテーション学会学術集会、2025 年 7 月、名古屋

7. 遠山周吾
   殿町・羽田エリアにおける再生医療研究について（パネルディスカッション）
   2025 年度 RINK 会員総会、2025 年 7 月、川崎

8. 遠山周吾
代謝制御による細胞炸裂と心筋再生治療への応用
Dialogue 20th Anniversary PHARMA & BIOTECH 2025, 2025 年 8 月、神奈川

9. 遠山周吾
ヒト iPS 細胞における代謝の理解に基づく心筋再生治療法の開発：基礎から臨床へ
シスメックス再生医療セミナー2025、2025 年 9 月、Web セミナー

10. 遠山周吾
ヒト iPS 細胞を用いた心筋再生治療法の開発と疾患研究に向けた基盤技術開発
2025 年度日本心脈管作動物質学会若手研究者交流シンポジウム、2025 年 9 月、東京

11. 森脇大順
形態的及び機能的高均質性を有するヒト iPS 細胞由来心臓組織球の大量作製法の開発
2025 年度日本心脈管作動物質学会若手研究者交流シンポジウム、2025 年 9 月、東京

12. 遠山周吾
ヒト iPS 細胞の代謝機構に基づく心筋細胞の作製と臨床応用
第 66 回日本脈管学会学術総会、2025 年 10 月、東京

13. 遠山周吾
DMPK special issue : 医薬品研究開発における動物代替法・生体模倣システム開発の最前線と将来像
日本薬物動態学会　第 40 回年会、2025 年 10 月、京都

14. Shugo Tohyama
Metabolism-based cardiomyocytes production systems from human iPSCs for regenerative therapy and disease modeling
Asian Alliance for Stem Cells and Regenerative Medicine(AASCRM), 2025 年 11 月, Zoom Meeting

15. Shugo Tohyama
Production of Cardiac Microtissues from Human iPSCs for Regenerative Therapy and Disease Modeling
The 9th JCS Council Forum on Basic Cardiovascular Research, 2025 年 12 月, Kyoto

16. 森田唯加
徐脈性不整脈の再生治療に向けたペースメーカオルガノイド作製法の開発
KISTEC Innovation Hub, 2025 年 11 月, 川崎

17. 遠山周吾
新天地殿町で新たな展望を期待して、徐脈性不整脈の再生医療の挑戦！
RINK FESTIVAL 2026, 2026 年 2 月, 羽田空港

18. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama, Yuika Morita-Umei, Kotaro Haga, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda
Serine Synthesis Pathway Regulates Cardiomyocyte Differentiation from Human Pluripotent Stem Cells
The 7th Asian Cardiovascular Symposium A pre-meeting symposium of BCVS-2025, 2025 年 7 月, USA

19. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama, Yuika Morita-Umei, Kotaro Haga, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda
Serine Synthesis Pathway Regulates Cardiomyocyte Differentiation from Human Pluripotent Stem Cells (Poster Presentation)
The 7th Asian Cardiovascular Symposium A pre-meeting symposium of BCVS-2025, 2025 年 7 月, USA

20. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama, Yuika Morita-Umei, Kotaro Haga, Keiichi Fukuda, Masaki Ieda
Serine Synthesis Pathway Regulates Cardiomyocyte Differentiation from Human Pluripotent Stem Cells
Basic Cardiovascular Sciences 2025, 2025 年 7 月, USA

21. Tomohiko C. Umei, Shugo Tohyama
Even with efficient purification, CM yield depends on differentiation efficiency
American Heart Association Scientific Sessions 2025, 2025 年 11 月, USA

22. Shugo Tohyama
Metabolism-Based Cardiomyocytes Production Systems for Regenerative Therapy and Disease Modeling
CuSTOM/RIKEN-BDR Joint Symposium, 2026 年 3 月, USA

【特許】

(1)国内特許出願　3 件
(2)海外特許出願　1 件

研究報告2026目次【研究開発部】

実用化実証事業

「人工細胞膜システム」グループ

◆　統括・・・

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マイクロチップ上に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つの人工細胞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 年度に実用化実証事業に移行後は、地域イノベーション戦略支援プログラムの支援も受けながら、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きた。具体的には、効率的膜システム要素技術の開発として、人工細胞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し、膜タンパク質の調製・導入法の開発として、イオンチャネルや GPCR、トランスポータなどを人工細胞膜に効率的・体系的に導入できる手法の研究開発を実施している。最終的に、大学・研究機関などで使用できるシステムや製薬企業から薬剤候補化合物の評価を受託できる評価法の開発を目標とした。2021 年度、このイオンチャネルの機能評価技術を基盤とするベンチャーの起業に至った。一方で、NEDO 事業(2015-2019 年度)および地域イノベーション・エコシステム形成プログラム(2018-2022 年度)では、膜タンパク質の機能利用による人工細胞膜センサに関わる研究開発を行っている。膜タンパク質である嗅覚受容体に代表されるように、生体のもつセンサは優れた感度・特異性をもつことが知られており、膜タンパク質をセンサ素子として活用するための研究開発を実施している。JST-CREST 事業（2020 年度開始）、科研費研究（2021 年度開始）において、細胞をセンサ素子として用いる研究開発も企業と共同で進めている。周辺技術も含め、小型・高性能な次世代センサの実用化技術の開発を目標としている。

1.　2025 年度の研究目的

実用化実証事業 13 年目となる 2025 年度は、イオンチャネル機能評価システムについて、設立した KISTEC 発ベンチャーの継続的な研究開発支援として計測精度および計測効率の向上を目標とした。一方で、センサ開発に関しては、東大・住友化学と共同で実施している標的物質に応答する細胞をセンサ素子とするバイオハイブリッドセンサ研究開発について、細胞センサのアレイ化技術を確立することを目標とした。

(1) イオンチャネル機能評価システムの開発

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し、その膜に再構成する標的膜タンパク質の活性を保持したまま機能解析を可能とするシステムである。実用化実証事業においては、これらの人工細胞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実現を目標として研究開発を行ってきた。
2025 年度はわれわれの技術を元にした KISTEC 発ベンチャーである「株式会社 MAQsys」の研究開発支援を継続した。計測チップやタンパク質調製技術の改良を行うことで、計測精度および計測効率の向上を目標とした。

(2) バイオハイブリッドセンサの開発

膜タンパク質は、匂いや味などの化学量センサとしての役割を生体内で担っており、その感度や特異性は人工的なセンサに比べ非常に高いことが知られている。こうした膜タンパク質の機能を活用することができれば、小型で高性能の化学量センサを実現できると考えられる。
イオンチャネル機能評価システムの開発成果により、マイクロチップ上での脂質二重膜を再現良く形成し、そこに再構成したイオンチャネルの機能を活用できるようになった。NEDO 事業（2015-2019 年度）では、昆虫嗅覚受容体を脂質二重膜に組み込んだ人工細胞膜センサのプラットフォーム技術を確立し、地域イノベーション・エコシステム形成プログラムでも、この人工細胞膜センサの要素技術の研究を行ってきた。その成果のデモンストレーションとして、ヒトの呼気中に混合したごく微量の疾患マーカの検出を実証し、新聞・TV 等で取り上げられるなど注目された。2020 年度より、JST-CREST および科研費の支援を受け、生体機能と機械を融合したバイオハイブリッドセンサの学術基盤および概念実証を目的とする研究を進めている。
2025 年度は、複数種類の標的物質（疾患マーカー）に応答可能な細胞センサを実現するためのアレイ化技術の確立を目標とした。

2. 2025 年度の研究成果

(1) イオンチャネル機能評価システムの開発

JST 大学発新産業創出プログラム（START、2018-2021 年度）等の公的研究費による支援と、東レエンジニアリング社の技術協力を得て、2021 年 8 月、KISTEC 発ベンチャーとして「株式会社 MAQsys」を設立した。同社は形質膜や細胞内小器官のイオンチャネルを標的とした薬剤候補化合物の評価を通して、新たな創薬市場の創出を目指している。2025 年度は、MAQsys 社が事業開始に向けて行う研究開発に関して、計測チップやイオンチャネル材料調製技術の改良に関する研究支援を行い、計測精度および計測効率の更なる向上に取り組んだ。
イオンチャネル材料調製技術については、GoTech 補助事業の採択を受けて、東京薬科大学と共同で、イオンチャネル材料の発現・調製および脂質二重膜への導入技術の開発を行った。薬剤標的となるイオンチャネルに対して、複数の発現方法・調製・精製方法および条件検討を実施した。イオンチャネルを担持するための脂質媒体について、一般的なプロテオリポソームに加えて、異なる媒体への担持を検討し、脂質二重膜との融合効率の評価などを行った。
計測チップに関しては、イオンチャネルの脂質二重膜への再構成を促進するため、セパレータの孔形状を一般的な円形からさまざまな非円形状へと変更する検討を継続して行った。各孔形状における定量評価を実施し、イオンチャネルが脂質二重膜に効率的に再構成される形状について明らかにした。またセパレータ作製工程についても、より簡便かつ効率的なプロセスの開発を行った。
成果展開として、協力研究員による萌芽研究を実施している。また国内外の研究機関との共同研究も行っている。2025 年度は、米国 Iona 大学との人工細胞膜中の油相の分配に関する共同研究成果が Journal of Physical Chemistry B 誌に掲載された。

(2) バイオハイブリッドセンサの開発

生体機能と機械を融合したバイオハイブリッドセンサに関しては、科研費研究（2021-2025 年度）による学術基盤確立、JST-CREST 事業（情報担体；2020-2026 年度）による実用性実証をそれぞれ目的として、研究および開発を進めている。CREST 事業については 1 年間の追加支援により研究開発を継続することとなった。細胞上に発現させた受容体をセンサ素子とする細胞センサに関して、東京大学、住友化学と共同で実施している。KISTEC では、センサ細胞が標的物質に応答して発する微小シグナルをデバイスで検出するための計測基盤について研究を行い、概念実証のための計測システムを製作・開発することを目標としている。
2025 年度は、複数の標的物質に対する細胞センサの応答特性を評価するための、細胞センサのアレイ化技術を構築し、その細胞センサアレイを用いて臨床検体の評価を開始した。
まずセンサ細胞のアレイ化技術について、多種センサ細胞を簡便・迅速にアレイ化する技術を確立した。鉤爪を配列したデバイスにおいて、鉤爪内に細胞を含む溶液をピペットで滴下してゲル化することで、細胞アレイを作製した。このデバイスおよび手法を用いて多種類のセンサ細胞からなるアレイを作製し、さまざまな標的物質に対してセンサ細胞が特異的に応答することを示した。この細胞センサアレイを用いて臨床検体の評価を開始した。臨床検体の評価に向けて、検体に含まれる夾雑成分や蛍光計測への影響を抑えながら、揮発性成分をセンサへ導入するための技術開発も進めた。これにより、実際の検体を対象としたセンサ評価に必要な周辺技術の整備が進んだ。
一方で、規則性をもって配列することなく異なるセンサ細胞を判別する技術を構築した（Small 誌掲載）。すなわち、特徴的な形状のハイドロゲル内にセンサ細胞を包埋することで、位置情報に頼ることなく、撮影画像中のセンサ細胞を機械学習により自動で形状判別を行い、ハイドロゲルに包埋されたセンサ細胞を特定する。本技術により乱雑な状態のセンサ細胞の配置であっても、センサ細胞の応答パターンを評価できる。
また、気相中の匂い成分をセンサ細胞が応答しやすい液相へ効率よく取り込むための気液変換技術についても検討

を進めた。気液界面を拡大する方法を用いることで、揮発性成分を効率的に液中へ導入するための基盤技術を構築した。
こうした細胞センサアレイを搭載し、蛍光計測が可能な小型蛍光イメージング装置について、試作機の開発を行った。

(3) 共同研究による成果

サウジアラビアの King Saud 大学と実施した共同研究成果が Biosensors and Bioelectronics 誌に掲載された（記事掲載）。ヤシ類の害虫として知られるゾウムシの探索を目的として、ゾウムシが分泌する集合フェロモンを気相で検知できるセンサを開発した。ゾウムシのフェロモン受容体をもつセンサ細胞を作製し、センサチップ化することで、フェロモン特異的に蛍光応答するセンサを構築することに成功した。
また、人工細胞研究では、細胞膜モデルであるリポソームの内部に核膜機能をもつ構造体を再現できることを示した（Small 誌掲載）。この成果は、人工細胞を用いた生命現象の理解や、将来的な新しいバイオ材料開発につながる基盤技術として新聞掲載された。さらに人工細胞研究のためのリポソーム作製技術として、遠心機に取り付けてリポソームを大量作製するデバイス技術を構築した。

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。また、コア技術・要素技術として重要な成果については特許出願も行っている。

人工細胞膜中の油性分子によるナノ空間の制御

人工細胞膜システムグループ
大崎寿久、Caroline Scott、竹内昌治、Sunghee Lee

１．はじめに

私たちの体をつくる細胞は、細胞膜と呼ばれる薄い膜に包まれている。細胞膜は、細胞の内側と外側を区切るだけでなく、必要な物質を取り込んだり、不要な物質を外へ排出したり、情報を細胞の内外へ伝えたりする重要な役割を担っている。この細胞膜の基本構造は、脂質二重膜と呼ばれる構造である。脂質分子が 2 層に並ぶことで、厚さ数ナノメートル程度の非常に薄い膜を形成している。

脂質二重膜は一見すると、脂質分子がすき間なく詰まった均一な膜のように見える。しかし実際には、膜の内部には分子の動きやすさに関係するわずかな空間、すなわち自由体積が存在している。この自由体積は、膜の柔らかさ、物質の通りやすさ、膜タンパク質の働きやすさなどに影響すると考えられている。たとえば、膜の内部にどれだけすき間があるかによって、小さな分子やイオンが膜を通りやすくなったり、膜に埋め込まれたタンパク質の形が変わりやすくなったりする可能性がある[1]。

平面脂質二重膜（人工細胞膜）は、このような細胞膜の性質を調べるためのモデルとして広く用いられている。平面脂質二重膜を用いると、脂質の種類や溶液条件を制御したうえで、膜そのものの物理化学的な性質を詳しく調べることができる。また、イオンチャネルなどの膜タンパク質を膜に組み込むことで、創薬研究やセンサ開発にも応用できる[2]。そのため、平面脂質二重膜の構造や安定性を理解することは、基礎研究だけでなく、医療・創薬・バイオセンサ技術にもつながる重要な課題である。

平面脂質二重膜を作製する方法のひとつに、液滴接触法がある。この方法では、油の中に水滴をつくり、水滴の表面に脂質単分子膜を形成させる。2 つの水滴を接触させると、それぞれの表面にできた単分子膜が向かい合い、接触面に脂質二重膜が形成される（図 1a）[3]。液滴接触法は、簡便かつ安定的に平面脂質二重膜を作製できるため、イオンチャネルの電気生理学的機能の計測や人工細胞研究に利用されている。

一方で、液滴接触法をはじめとする多くの平面脂質二重膜作製法では、その過程で脂質を分散する溶媒（油）を用いるため、油を構成する疎水性分子が脂質二重膜の内部に残る可能性がある。これらの分子は、脂質分子のすき間に入り込み、膜の厚さや内部構造、自由体積を変化させると考えられる。しかし、どのような油性分子が膜の内部に残り、どのような分子が膜から排除されるのか、またそれが膜の厚さにどのような影響を及ぼすのかについては、十分には分かっていなかった。

そこで米国の Iona 大学との共同研究により、平面脂質二重膜中に入り込む疎水性分子の性質に着目し、それらが脂質二重膜の厚さに与える影響について調べた。具体的には、液滴接触法で形成した平面脂質二重膜に、性質の異なる複数の炭化水素分子を加え、膜の電気的な性質から膜厚を評価した。本研究により、分子の大きさや結晶化しやすさの違いによって、油性分子が膜に取り込まれる場合と、逆に膜から排除される場合があることが明らかになった[4]。

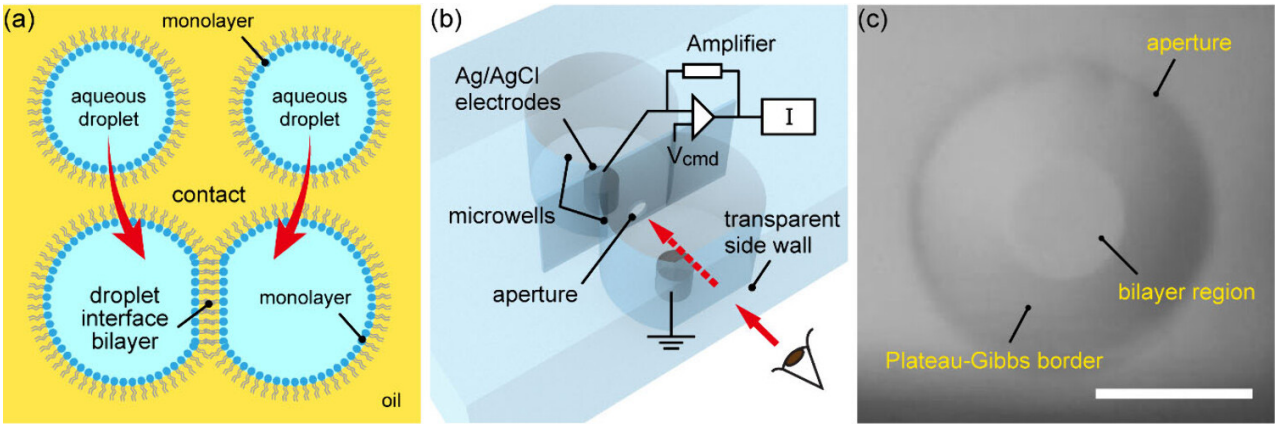


図 1　(a) 液滴接触法による脂質二重膜形成。脂質を分散させた溶媒中で、一対の水滴が接触することにより二重膜が形成される。(b) 本研究で使用した脂質二重膜形成チップの模式図。(c) DOPC 脂質二重膜の顕微鏡画像。スケールバー：300 μm。油中の二つの水滴が接触することで、微小孔に脂質二重膜が形成される。チップ上で膜を作製して膜静電容量を測定した。Reproduced from ref. [4].

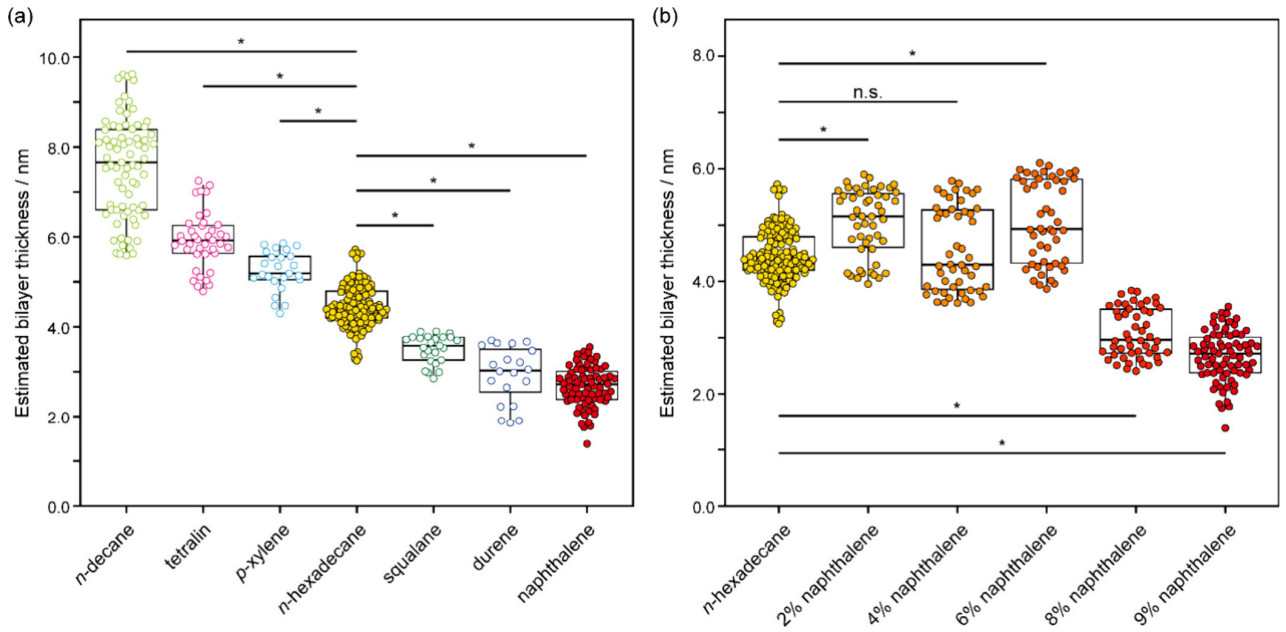


図 2　*n*-ヘキサデカンを溶媒として形成した平面脂質二重膜の推定膜厚。炭化水素分子を添加した推定膜厚と、添加していない *n*-ヘキサデカンのみを用いて形成した場合の推定膜厚を比較した。(a) 6 種類の炭化水素分子を溶媒に対して 9 wt%の濃度で添加した結果。(b) ナフタレンを溶媒に対して 0~9 wt%の範囲で濃度を変えて添加した結果。各条件の測定数は 20~130。統計解析には一元配置分散分析を用い、その後 Tukey-Kramer 法による多重比較検定を行った。有意差は、$p > 0.05$ を「n.s.」、$p \leq 0.01$ を「*」で示した。箱ひげ図は、中央値（中央線）、四分位範囲（箱）、および外れ値を除いた全データ範囲を示す。Reproduced from ref. [4].

2．実験方法

本研究では、DOPC と呼ばれるリン脂質からなる脂質二重膜を用いた。DOPC は人工細胞膜研究でよく用いられる脂質であり、室温で流動性の高い膜を形成する。膜は、液滴接触法により作製した。具体的には、DOPC を含むヘキサデカン溶液と塩化カリウム水溶液を、微小な 2 つのウェルをもつチップ内に加えた。これにより油中に水滴が形成され、水滴表面に DOPC 単分子膜ができる。2 つの水滴がセパレータの微小孔部分で接触すると、接触面に DOPC 二重膜が形成される。実験に用いたチップは、2 つのウェル、微小孔をもつセパレータ、銀／塩化銀電極、外部機器と接続するためのコネクタから構成される（図 1b）[5]。セパレータの微小孔に平面脂質二重膜が形成され、その膜を通る電流応答を計測することで、膜の電気的性質を評価できる。膜の形成と面積は顕微鏡で観察し、膜領域が形成されていることを確認した（図 1c）。

膜の厚さは、膜静電容量と膜面積から推定した。脂質二重膜は非常に薄い絶縁膜として振る舞うため、電気的にはコンデンサのような性質をもつ。膜が薄いほど静電容量は大きくなり、膜が厚いほど静電容量は小さくなる。この関係を利用すると、膜に電圧をかけたときの電流応答から膜静電容量を求め、そこから膜厚を推定することができる。本研究では、矩形波の電圧刺激を与え、そのときに流れる電流応答（充電電流応答）を測定して、膜静電容量と膜厚を算出した[5]。

本研究で調べたのは、ヘキサデカンに少量加えた 6 種類の炭化水素分子である。これらの分子は、水には溶けにくく油には溶けやすい疎水性分子であり、脂質二重膜の内部に入り込む可能性がある。具体的には、直鎖状の *n*-デカン、大きな分岐構造をもつスクアラン、芳香族化合物である *p*-キシレン、テトラリン、ナフタレン、デュレンを用いた。これらは、分子の大きさ、形、室温で液体か固体か、結晶化しやすいかどうかが異なる。

実験では、これらの炭化水素分子をヘキサデカンに一定濃度で加え、その溶液を用いて DOPC 二重膜を形成した。そして、それぞれの条件で膜厚を測定し、どの分子が膜を厚くするのか、あるいは薄くするのかを比較した。また、ナフタレンについては濃度を段階的に変え、濃度によって膜厚変化の傾向がどのように変わるかも調べた。

3．結果と考察

3．1　非結晶性分子の取り込みによる膜厚の増加

ヘキサデカンのみを用いて作製した DOPC 二重膜の厚さを基準として、各種炭化水素分子を質量比で 9%加えた場合の膜厚を比較した結果を図 2a に示す。

n-デカンはヘキサデカンよりも分子サイズが小さく短い直鎖状炭化水素である。*n*-デカンをヘキサデカンに加えると DOPC 二重膜の厚さが増加した。これは、n-デカン分子が脂質分子の疎水性部分、すなわち脂質の炭化水素鎖が集まる膜の内部に入り込み、膜の疎水性領域を広げたためと考えられる。

同様に、*p*-キシレンやテトラリンといった小さな芳香族分子も、膜厚を増加させた。これらの分子は芳香環をもつが、非結晶性で通常は液体状態の小分子である。そのため、

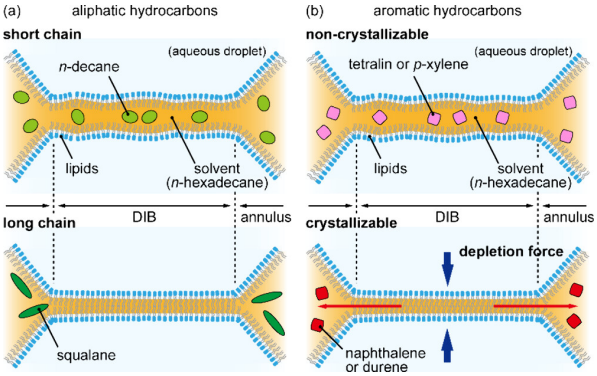


図 3　ヘキサデカン中に各種炭化水素分子を加えて形成した平面脂質二重膜において、分子が膜内に取り込まれる、または膜外へ排除される様子を示した模式図。(a) 脂肪族炭化水素を加えた場合。(b) 芳香族炭化水素を加えた場合。Reproduced from ref. [4].

膜内部のすき間に単独分子として入り込むことができたと考えられる。つまり、分子が小さく、膜内部で凝集せずに存在できる場合には、油性分子は脂質二重膜の中に取り込まれ、膜を厚くする方向に働くことが示された。

この結果は、人工細胞膜を液滴接触法で作製する際、使用する油やそこに含まれる微量成分が膜構造を大きく変える可能性を示している。油は単なる外部溶媒ではなく、膜内部に残って膜の物理的性質を変える要因になり得る。人工細胞膜を用いた計測では、このような油性分子の影響を考慮する必要がある。

3．2　嵩高い分子・結晶性分子の排除による膜厚の減少

一方で、ヘキサデカンよりも嵩高な分子であるスクアランを加えた場合、膜厚はむしろ減少した。スクアランは膜内部の限られた空間に入り込むにはサイズが大きすぎると考えられる。そのため、膜内部から排除され、結果としてヘキサデカンなどの残留溶媒も膜から押し出されるように働いた可能性がある。

さらに興味深いことに、ナフタレンやデュレンといった芳香族分子を加えた場合にも、膜厚は減少した。ナフタレンやデュレンは、*p*-キシレンやテトラリンと同程度の大きさをもつ分子である。しかし、*p*-キシレンやテトラリンが膜を厚くしたのに対し、ナフタレンやデュレンは膜を薄くした。この違いは、分子サイズだけでは説明できない。ナフタレンやデュレンは、結晶性分子であり、分子同士が集まって凝集しやすい性質をもつ。そのため、膜内部に高濃度で取り込まれようとすると、単独分子として安定に存在するのではなく、分子同士が集まって集合体をつくりやすくなると考えられる。脂質二重膜の内部は非常に薄く狭い空間であるため、このような集合体は膜内部に収まりにくい。その結果、ナフタレンやデュレンは膜から排除され、膜内部に残っていたヘキサデカンも一緒に押し出されることで、膜が薄くなったと考えられる。

この結果は、平面脂質二重膜が形成された状態で温度を下げることで溶媒成分が固化し、二重膜から排除される Freeze out 現象と類似しており[6]、等温的な Freeze out 現象と捉えることができる。すなわち、本研究では温度を下げていないにもかかわらず、結晶化しやすい分子が膜内部で凝集し、膜から排除されるような挙動が観測されたと考えられる。

ナフタレンについては、添加濃度による膜厚の変化についても観測した。図 2b に示すように、低濃度では膜厚に大きな影響を与えない一方で、高濃度では膜厚が減少することが分かった。低濃度では、ナフタレン分子は膜内部に単独分子として入り込み、非結晶性の油性分子と同じように膜を少し厚くする。しかし濃度が高くなると、膜内部やその近傍でナフタレン分子同士が集まりやすくなる。集合体をつくると膜内部には安定に存在しにくくなり、膜から排除される。その結果、膜内部の油性分子全体が減少し、膜が薄くなる。このような力は、枯渇力と呼ばれる物理的な効果として説明できる。分子が膜内部に入りにくくなることで、膜内部と周囲の溶媒との間に分子濃度の差が生じ、二重膜の両側を近づけるような力が働くと考えられる（図 3）。

3．3　膜厚制御が人工細胞膜研究にもたらす意義

本研究の結果は、人工細胞膜を使った実験を正しく解釈するうえで重要である。液滴接触法などの平面脂質二重膜作製法では、脂質を分散するために溶媒（油）を用いる。これまで、溶媒は膜形成の補助的な材料として扱われてきたが、こうした疎水性分子は、脂質二重膜の中に入り込んだり、逆に排除されたりすることで、膜の厚さや内部構造を大きく変化させることが分かった。

膜の厚さや自由体積は、膜タンパク質の働きにも影響する。たとえば、イオンチャネルやトランスポータなどの膜タンパク質は、脂質二重膜の中に埋め込まれて機能する。そのため、膜が厚すぎたり薄すぎたり、内部のすき間が変化したりすると、タンパク質の構造や活性が変わる可能性がある。人工細胞膜を用いて膜タンパク質を評価する場合、脂質の種類だけでなく、膜内部に残る油性分子の影響も考慮する必要がある。

また、本研究は人工細胞膜センサや薬剤評価システムの設計にも関係する。膜を使ったセンサでは、膜の安定性や物質の透過性がセンサ性能に影響する。膜内部の自由体積を制御できれば、膜の柔らかさや透過性を調節し、目的に応じた膜を設計できる可能性がある。たとえば、膜をより安定にしたい場合、あるいは特定の分子を通しやすくしたい場合に、油性分子や脂質組成を調整することで膜物性を制御できるかもしれない。

さらに、細胞膜そのものの理解にもつながる。実際の細胞膜にも、脂質以外の疎水性分子や油滴成分が存在し、膜構造や膜タンパク質の機能に影響している可能性がある。人工細胞膜を使ってこれらの影響を調べることで、生体膜の物理化学的な性質をより深く理解できる。

4．　まとめ

本研究では、液滴接触法で作製した DOPC 脂質二重膜

を用いて、疎水性の炭化水素分子が人工細胞膜の厚さに与える影響を調べた。膜の電気的性質である静電容量を測定し、そこから膜厚を推定することで、膜内部に分子が取り込まれるか、あるいは排除されるかを評価した。

その結果、非結晶性の疎水性小分子は、脂質二重膜の内部に入り込み、膜を厚くすることが分かった。一方で、嵩高い分子や、結晶性の凝集しやすい小分子は膜内部から排除され、膜を薄くすることが示された。ナフタレンでは、低濃度では膜厚に大きな影響を示さない一方で、高濃度になると凝集・排除によって膜を薄くするという、濃度依存的な効果が観察された。

これらの結果は、人工細胞膜の構造や性質が、脂質分子だけでなく、膜作製時に存在する疎水性分子の種類や濃度によって影響を受けることを示している。人工細胞膜を用いた膜タンパク質計測、センサ開発、薬剤評価、人工細胞研究では、膜内部の自由体積や残留溶媒の影響を考慮することが重要である。

本研究成果は、人工細胞膜の物性をより精密に理解し、目的に応じて膜の厚さや内部空間を制御するための基礎的な知見を提供するものである。今後、膜内部の自由体積を設計・制御する技術が発展すれば、より生体膜に近い人工膜モデルの構築や、膜タンパク質の機能を高精度に評価できる人工細胞膜システムの開発につながると期待される。

【謝辞】

本研究内容の一部は、JSPS 科研費（JP21H05013）および米国 NSF（NSF-CHE-2002900, 2304913）の支援により行われました。ここに感謝申し上げます。

【参考文献】

[1] Tripathy, M.; Srivastava, A. Lipid packing in biological membranes governs protein localization and membrane permeability. Biophys. J. 2023, 122, 2727-2743.

[2] Osaki, T.; Takeuchi, S. Artificial cell membrane systems for biosensing applications. Anal. Chem. 2017, 89, 216-231.

[3] Funakoshi, K.; Suzuki, H.; Takeuchi, S. Lipid bilayer formation by contacting monolayers in a microfluidic device for membrane protein analysis. Anal. Chem. 2006, 78, 8169-8174.

[4] Scott, C.; Osaki, T.; Takeuchi, S.; Lee, S. Intercalant aggregation promotes nanoscopic depletion in droplet interface bilayers. J. Phys. Chem. B 2025, 129, 12179-12185.

[5] Scott, C.; Porteus, R.; Takeuchi, S.; Osaki, T.; Lee, S. Electrophysiological characterization of monoolein-fatty acid bilayers. Langmuir 2025, 41, 2293-2299.

[6] White, S. H. Temperature-dependent structural changes in planar bilayer membranes: solvent “freeze-out”. Biochim. Biophys. Acta - Biomembr. 1974, 356, 8−16.

センサ細胞を用いたゾウムシ集合フェロモンの気相検出法の開発

人工細胞膜システムグループ
三村久敏、大崎寿久、竹内昌治

１．はじめに

１．１　害虫の早期発見に向けたフェロモン検出技術

農作物や樹木に被害を与える害虫は、食料生産や自然環境に大きな影響を及ぼす。その中でもヤシオオオサゾウムシ（*Rhynchophorus ferrugineus*）は、ヤシ類を加害する世界的に重要な害虫として知られている [1]。本種は中東、東南アジア、ヨーロッパなど世界各地へ侵入・定着しており、40 種類以上のヤシ類に被害を与えることが報告されている。ヤシオオオサゾウムシによる被害は経済的損失も大きく、世界的な農業・環境問題として認識されている。近年では日本国内でも侵入が確認されている。

ヤシオオオサゾウムシの幼虫は樹木の内部に侵入して成長するため、被害の初期段階では外観から異常を確認することが難しい。被害が目視できる段階では、すでに樹木内部が深刻な損傷を受けている場合が多く、効果的な防除のためには早期発見が重要な課題となっている。

このゾウムシは仲間を呼び寄せるために集合フェロモンと呼ばれる匂い物質を放出する。集合フェロモンは複数の個体を同じ場所へ誘引する役割を担っており、被害木への集団的な侵入を促進する。ヤシオオオサゾウムシの主要な集合フェロモン成分として、フェルギネオール（ferrugineol）およびフェルギネオン（ferrugineone）が知られている。これらのフェロモンは害虫の存在を示す重要な化学的指標であり、高感度に検出できれば被害拡大前の早期発見やモニタリングへの応用が期待できる。

現在、フェロモンの分析にはガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）などの高性能分析装置が用いられている。しかし、これらの装置は大型かつ高価であり、専門的な操作も必要となるため、現場で簡便に利用することは容易ではない。一方、半導体ガスセンサなどの人工センサは小型化が可能であるものの、構造の似た匂い分子を高い選択性で識別することが難しい。このような背景から、生物が本来有する優れた匂い識別能力を利用したバイオハイブリッドセンサが注目されている [2]。

１．２　昆虫嗅覚受容体によるフェロモン認識

昆虫は触角に存在する嗅覚受容体を用いて、空気中に存在する様々な匂い物質やフェロモンを認識している。嗅覚受容体は細胞膜上に存在する膜タンパク質であり、特定の化学構造をもつ匂い分子と結合することで神経細胞を活性化する。昆虫はこの仕組みにより、餌、天敵、交尾相手、仲間の存在など、生存に必要な情報を匂いとして取得している。昆虫の嗅覚受容体（odorant receptor：OR）は、共受容体（odorant receptor co-receptor：Orco）と呼ばれるタンパク質と複合体を形成して機能する。匂い分子が OR に結合すると、OR/Orco 複合体が陽イオンチャネルとして開口し、ナトリウムイオンやカルシウムイオンなどが細胞内へ流入する。その結果として神経活動が引き起こされ、匂い情報として認識される。

これまでに多くの昆虫種で多数の OR が同定されており、それぞれが異なる匂い物質に対して高い選択性を示すことが明らかとなっている。特にフェロモンを認識する受容体は、特定の化学構造に対して極めて高い特異性を示す場合が多い。この優れた分子認識能力は人工センサでは実現が難しく、生物由来受容体を利用したセンサ開発が活発に進められている。

１．３　センサ細胞を利用したフェロモンセンサ

近年、昆虫由来の嗅覚受容体を培養細胞に人工的に発現させたセンサ細胞を利用するバイオハイブリッドセンサが注目されている。センサ細胞は、嗅覚受容体による分子認識機能と、培養細胞の扱いやすさを組み合わせたセンサ素子である。

本研究では、ヤシオオオサゾウムシのフェロモン受容体 RferOR1 と共受容体 RferOrco、さらにカルシウムイオン濃度変化を蛍光として可視化するタンパク質 GCaMP を培養細胞に発現させた [3]。フェルギネオールが RferOR1 に結合すると、OR/Orco 複合体を介して細胞内へカルシウムイオンが流入し、それに応じて GCaMP の蛍光が増加する。この仕組みにより、フェロモンの存在を蛍光シグナルとして検出することができる。

さらに、センサ細胞をハイドロゲルに封入してマイクロウェル上へ配置することで、多数のセンサ細胞を安定的に保持したセンサチップを構築できる [4]。このような細胞

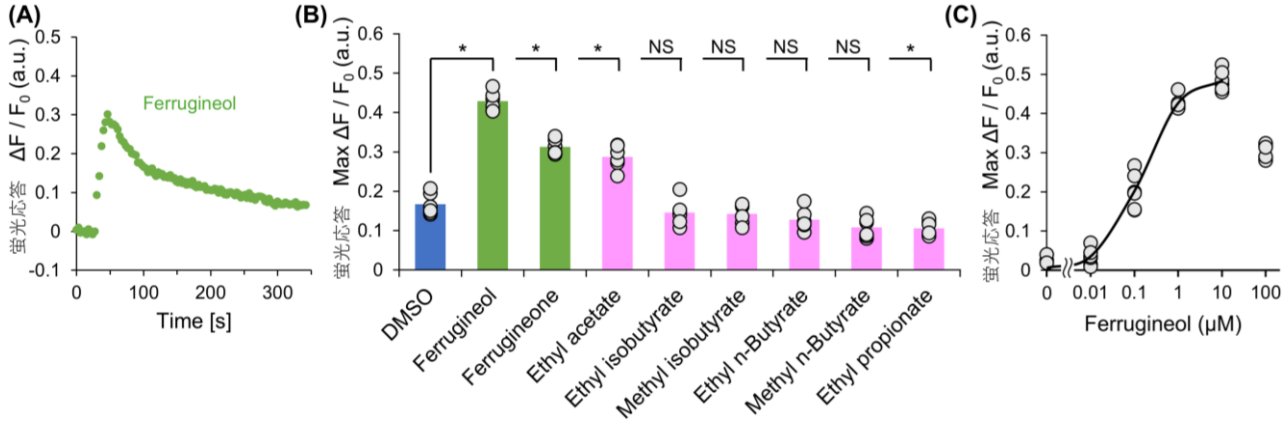


図 1　作製したセンサ細胞の評価。(A-C) フェルギネオールに対する時間応答性 (A)、選択性 (B)、濃度依存性 (C)。

ベースのセンサは、生物由来受容体が持つ高い選択性と光学的な信号検出を組み合わせた新しい匂いセンシング技術として期待されている。

1．4　本研究の目的

本研究では、ヤシオオオサゾウムシの主要な集合フェロモン成分であるフェルギネオールを検出するため、昆虫嗅覚受容体を利用したセンサ細胞の開発を行った。まず、作製したセンサ細胞がフェルギネオールに対して選択的かつ濃度依存的に応答することを評価した。次に、センサ細胞をハイドロゲルに封入し、マイクロウェルアレイ上に配置したセンサチップを作製した。さらに、フェルギネオールを気相中で揮発させ、開発したセンサチップによってガス状フェロモンを検出できるかを検討した。本研究を通じて、生物由来受容体を利用したフェロモン検出技術の可能性を示すとともに、害虫の早期発見や環境モニタリングへの応用を目指す。

2．　実験方法

2．1　センサ細胞の作製

センサ細胞には、ヒト胎児腎臓由来培養細胞である HEK293 細胞を用いた。HEK293 細胞は、外来遺伝子を効率よく発現できることから、嗅覚受容体の機能評価に広く利用されている。本研究では、ヤシオオオサゾウムシのフェロモン受容体 RferOR1、共受容体 RferOrco、およびカルシウム感受性蛍光タンパク質 GCaMP をコードするプラスミド DNA を HEK293 細胞へ導入した。これにより、集合フェロモン成分であるフェルギネオールを認識すると蛍光応答を示すセンサ細胞を作製した。

2．2　センサ細胞の応答評価

作製したセンサ細胞を 96 ウェルプレートに播種し、蛍光プレートリーダーを用いて応答を評価した。測定では、GCaMP を青色光（485 nm）で励起し、発せられる緑色蛍光（535 nm）の変化を記録した。フェルギネオールを添加した際の蛍光応答を測定するとともに、関連化合物や溶媒のみを添加した条件についても測定を行い、センサ細胞の選択性を評価した。また、フェルギネオール濃度を変化させ、濃度依存的な応答特性についても調べた。

2．3　センサチップの作製

フェロモンを気相中で検出するため、センサ細胞をハイドロゲルに封入し、マイクロウェルアレイ上に固定化したセンサチップを作製した。マイクロウェルアレイはアクリル製で、3×3 配列の計 9 個のマイクロウェルから構成される。培養したセンサ細胞を回収し、ゲル化前のハイドロゲルと混合した後、各マイクロウェルへ分注した。その後、一定時間静置してハイドロゲルをゲル化させることで、センサ細胞をウェル内に固定化した。

ハイドロゲルを用いることで、センサ細胞を高密度かつ三次元的に保持することができる。また、複数のマイクロウェルを利用することで、同時に複数点の蛍光応答を測定できるため、測定の再現性向上にも寄与する。

2．4　センサチップの応答評価

作製したセンサチップの性能を評価するため、フェルギネオール水溶液を添加し、蛍光応答を測定した。測定には、青色励起光（485 nm）と緑色蛍光フィルタ（530 nm）を備えた蛍光イメージャーを用いた。フェルギネオール添加前後の蛍光画像をタイムラプス撮影し、各マイクロウェルにおける蛍光強度の変化を記録した。

取得した画像は画像解析ソフトウェア ImageJ を用いて解析した。各マイクロウェルに関心領域 (ROI) を設定し、平均蛍光輝度を定量した。得られた蛍光強度から正規化蛍光変化量（$\Delta F/F_0$）を算出し、センサチップの応答特性を評価した。

2．5　気相フェロモンの検出

気相検出では、センサチップ内の培地を除去した後、チップを反転させて揮発用チャンバー上に設置した。フェルギネオールをヘキサンに溶解し、チャンバー内へ滴下することでフェロモンを揮発させた。揮発したフェルギネオールは微小空間内を拡散し、センサ細胞へ到達する。

フェロモン曝露後の蛍光応答は、タイムラプスイメージングによって記録した。記録した蛍光画像については、液相測定と同様に ImageJ を用いて解析し、各マイクロウェルの蛍光応答を定量した。フェルギネオール濃度を変化さ

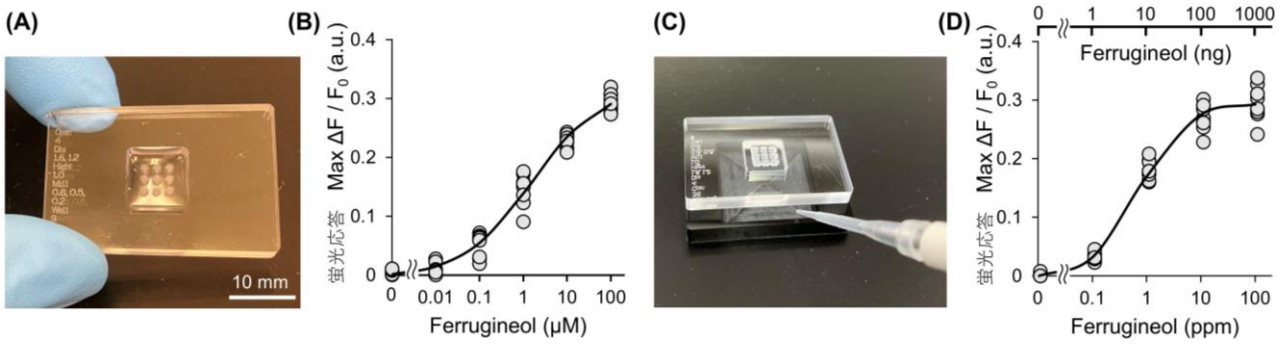


図 2　ハイドロゲル固定化センサチップを用いたフェルギネオール検出。(A) 開発したセンサチップ。(B) 溶液中フェルギネオールに対する濃度依存性。(C) センサチップを用いた気相中フェルギネオールの検出方法。(D) 気相中フェルギネオールに対する濃度依存性。

せることで、気相中におけるフェロモン検出性能を評価した。

3．　結果と考察

3．1　フェロモンに応答するセンサ細胞の作製

まず、RferOR1、RferOrco、および GCaMP を発現させたセンサ細胞の応答特性を評価した。フェルギネオールを添加すると、センサ細胞は速やかな蛍光応答を示した（図 1A)。フェルギネオール以外の関連化合物に対する応答を比較したところ、センサ細胞はフェルギネオールに対して最も強い応答を示した（図 1B)。一部の関連化合物に対して弱い応答は認められたものの、その応答強度はフェルギネオールよりも低かった。これは、ゾウムシ由来のフェロモン受容体 RferOR1 が標的フェロモンを選択的に認識していることを示している。また、フェルギネオール濃度を変化させたところ、センサ細胞の蛍光応答は濃度に応じて変化した（図 1C)。これらの結果から、作製したセンサ細胞はフェルギネオールを高感度かつ選択的に検出できることが確認された。

3．2　ハイドロゲル固定化センサチップでの検出

次に、センサ細胞をハイドロゲルに封入し、マイクロウェルアレイ上に固定化したセンサチップを作製した（図 2A)。作製したセンサチップにフェルギネオール水溶液を添加したところ、蛍光応答はフェルギネオール濃度の増加に伴って大きくなり、濃度依存的な応答が確認された（図 2B)。プレート上で培養したセンサ細胞と比較すると、ハイドロゲルはフェロモン濃度の急激な変化を緩和する働きを持ち、高濃度範囲まで安定した濃度依存応答を示した。この結果は、ハイドロゲルによる細胞固定化がセンサの定量性能向上にも寄与することを示している。

3．3　気相フェロモンの検出

最後に、開発したセンサチップを反転して小型チャンバー上に設置し、気相中のフェルギネオール検出を試みた（図 2C)。フェルギネオールを含むヘキサン溶液を滴下して揮発させたところ、フェロモン濃度に応じて蛍光応答が増加した（図 2D)。このことから、開発したセンサチップが液体中だけでなく、空気中に存在するフェロモンも検出できることが示された。害虫フェロモンは通常、空気中に極めて低濃度で存在するため、その検出は容易ではない。しかし本研究では、生物由来のフェロモン受容体を利用することで、ガス状フェロモンの検出が可能であることを示した。これにより、本手法が害虫の早期発見や発生モニタリングのための新しいセンシング技術として利用できる可能性が示されたと考える。

4．　まとめ

本研究では、ヤシオオオサゾウムシの集合フェロモンであるフェルギネオールを検出するため、昆虫嗅覚受容体を発現した培養細胞を用いるバイオハイブリッドセンサを開発した。作製したセンサ細胞はフェルギネオールに対して高い選択性を示し、ハイドロゲルに封入してマイクロウェルアレイ上に固定化することで、センサチップとして利用できることを確認した。さらに、開発したセンサチップは気相中のフェルギネオールを濃度依存的に検出できることを示した。

本研究で開発した技術は、害虫が放出するフェロモンを利用した新しい早期検出技術につながる可能性がある。今後はさらなる高感度化や小型化を進めることで、農業現場や環境モニタリングで利用可能な携帯型フェロモン検出システムへの発展が期待される。

【謝辞】

本研究は、JST CREST JPMJCR20C4、JSPS 科研費（23K06733)、および King Saud University の支援を受けたものです。また、フェルギネオールおよびフェルギネオンは信越化学工業（株）から供与いただきました。ここに記して感謝申し上げます。

【参考文献】

[1] Antony B, et al. Mol Ecol. 2021, 30, 2025.
[2] Hirata Y, et al. Lab Chip. 2021, 21, 2643.
[3] Mimura H, et al. Biosens Bioelectron. 2026, 302, 118537.
[4] Mimura H, et al. ACS Sens. 2026, DOI: 10.1021/acssensors.5c04942.

業績

【原著論文】

1. Sho Takamori, Hisatoshi Mimura, Toshihisa Osaki, Tomo Kondo, Miyuki Shintomi, Keishi Shintomi, Miho Ohsugi, and Shoji Takeuchi
   Nuclear assembly in giant unilamellar vesicles encapsulating Xenopus egg extract
   Small, Vol. 21, 2412126 (2025)
2. Mai Furuhashi and Shoji Takeuchi
   The effects of differentiation and aging on free amino acid profiles in cultured bovine muscle tissue
   Food Chemistry, Vol. 488, 144753 (2025)
3. Sho Takamori, Taisei Kawakami, Tomoko Ohnishi, Hisatoshi Mimura, Toshihisa Osaki, Norihisa Miki, and Shoji Takeuchi
   Shape-encoded hydrogel sensor particles enable multiplex odorant detection through deep-learning classification
   Small, Vol. 21, e07903 (2025)
4. Yuya Morimoto, Hirone Yamada, Byeongwook Jo, Minghao Nie, and Shoji Takeuchi
   Multipole electrodes for driving biohybrid robots via selective muscle contraction
   Sensors and Actuators B: Chemical, Vol. 448, 138924 (2026)
5. Caroline Scott, Toshihisa Osaki, Shoji Takeuchi, and Sunghee Lee
   Intercalant aggregation promotes nanoscopic depletion in droplet interface bilayers
   The Journal of Physical Chemistry B, Vol. 129, pp. 12179-12185 (2025)
6. Hisatoshi Mimura, Toshihisa Osaki, Sho Takamori, Mohammed Ali AlSaleh, Binu Antony, and Shoji Takeuchi
   Cell-based biohybrid sensing of a volatile aggregation pheromone component associated with the invasive red palm weevil
   Biosensors and Bioelectronics, Vol.302, 118537 (2026)
7. Byeongwook Jo, Tsuyoshi Koga, Hisatoshi Mimura, Minghao Nie, and Shoji Takeuchi
   Miniaturized fiber-coupled microscope with cell-embedded hydrogel for odorant sensing
   Sensors and Actuators B: Chemical, Vol. 458, 139855 (2026)
8. Kensei Okada, Byeongwook Jo, Minghao Nie, and Shoji Takeuchi
   Bovine plasma alginate gel beads as edible microcarriers for cultivated meat applications
   Innovative Food Science & Emerging Technologies, Vol. 111, 104568 (2026)

【総説】

1. 森田智博、竹内昌治
   バイオファブリケーション応用に向けた 3D プリンティング技術
   Nanofiber 第 16 巻 1・2・3・4 合冊号, ナノファイバー学会, 90-95 (2025)
2. 高森翔、竹内昌治
   バイオハイブリッドで実現する，細胞核をもつ人工細胞
   現代化学 2025 年 8 月号, 東京化学同人, No.653, p.8 (2025)
3. 小田悠加、竹内昌治
   藻類が駆動するマイクロマシンの開発
   生物物理 2026 年 2 月, 日本生物物理学会, Vol. 66, No.1, pp. 15-17 (2026)

【書籍】

1. 高森翔、大崎寿久、竹内昌治
   バイオハイブリッドセンサによる匂い計測技術
   ガス成分の高度なセンシング情報化ーにおい・気相情報のイメージングおよび知覚化ー, シーエムシー出版, pp. 47-58 (2026)

【口頭発表】

1. Shoji Takeuchi
   3D Muscle Tissue Engineering
   Webinar “Tissue and Organ Bioengineering” 2025, 2025 年 4 月, Online
2. Shoji Takeuchi
   Biohybrid Robotics
   1st IIT Madras–UTokyo IIS Bilateral Symposium on Microfluidics and Its Applications, 2025 年 5 月, Online
3. Shoji Takeuchi
   Advancing Biohybrid Robotics with Living Muscle Cyborg Futures - The Challenge of Implanting and Integrating Artificial Muscle, 2025 年 6 月, Online
4. Shoji Takeuchi
   Advancing Biohybrid Robotics with Living Tissues
   Biohybrid Robotics Symposium 2025, 2025 年 7 月, Switzerland
5. 千明大悟、森岡和大、守岩友紀子、藤野智史、齊藤直希、井上勝央、大崎寿久、柳田顕郎、東海林敦
   エクソソーム膜融合による膜タンパク質配向制御包埋法
   令和 7 年度 東日本分析化学若手交流会, 2025 年 7 月, 群馬

6. 竹内昌治
Biohybrid Robotics
KAIWA（HRI 社　社内講演会）, 2025 年 7 月, 埼玉
7. 中尾賢治、大崎寿久
イオンチャネル創薬を革新する人工細胞膜技術の挑戦
第 37 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2025 年 8 月, 東京
8. 千明大悟、守岩友紀子、森岡和大、藤野智史、齊藤直希、井上勝央、大崎寿久、柳田顕郎、東海林敦
配向を制御して人工生体膜に包埋した膜タンパク質の機能評価
第 37 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2025 年 8 月, 東京
9. 高森翔、三村久敏、大崎寿久、竹内昌治
人工組織構築へ向けたリポソーム大量作製法の開発
「細胞を創る」研究会 18.0, 2025 年 9 月, 東京
10.竹内昌治
Bottom-Up Assembly of Living Systems: From Synthetic Cells to Tissues
「細胞を創る」研究会 18.0, 2025 年 9 月, 東京
11.竹内昌治
生体界面を活かすバイオハイブリッドセンサ：分子認識から機能創出へ
日本分析化学会第 74 年会, 2025 年 9 月, 北海道
12.Shoji Takeuchi
Multiscale Biohybrid Systems: From Molecular Sensors to Muscle-Powered Robots
Advanced BIO Global Joint Research Center Hub Symposium 2025, 2025 年 11 月, Korea
13.Shoji Takeuchi
Building Living Systems: From Bottom-up Tissue Engineering to Biohybrid Robotics
The 29th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2025), 2025 年 11 月, Australia
14.Shinji Ezawa, Toshihisa Osaki, Hisatoshi Mimura, Sho Takamori, Norihisa Miki, and Shoji Takeuchi
Structural Modulation of a Biological Nanopore in a Surfactant Membrane
The 29th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2025), 2025 年 11 月, Australia
15.Haruka Oda, Hisatoshi Mimura, Toshihisa Osaki, and Shoji Takeuchi
Mosquito-Nose-On-A-Chip by Multi-Capillary Stamping
The 29th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS2025), 2025 年 11 月, Australia
16.三村久敏、大崎寿久、中尾賢治、高森翔、竹内昌治
微小孔構造による人工細胞膜の形状制御技術の開発
化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 52 回研究会（CHEMINAS52）, 2025 年 11 月, 栃木
17.高森翔、三村久敏、大崎寿久、竹内昌治
cDICE 法を用いたリポソームの短時間大量作製
化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 52 回研究会（CHEMINAS52）, 2025 年 11 月, 栃木
18.江澤伸司、大崎寿久、三村久敏、高森翔、三木則尚、竹内昌治
界面活性剤膜中における生体ナノポアの構造変化
化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 52 回研究会（CHEMINAS52）, 2025 年 11 月, 栃木
19.中嶋大貴、大崎寿久、三村久敏、高森翔、三木則尚、竹内昌治
人工細胞膜センサの応答性能に対する対流の影響
化学とマイクロ・ナノシステム学会 第 52 回研究会（CHEMINAS52）, 2025 年 11 月, 栃木
20.Shoji Takeuchi
Biohybrid Systems: Bridging Biological Tissues and Robotics through Microengineering
A virtual seminar series on microfluidics and lab-on-a-chip systems (μTAStic), 2025 年 11 月, Virtual
21.千明大悟、山内七海，森岡和大、守岩友紀子、大崎寿久、塩谷壮太、松本志門、柳田顕郎、東海林敦
人工生体膜とエクソソームの融合挙動を捉える計測アプローチ
膜シンポジウム 2025, 2025 年 11 月, 大阪
22.竹内昌治
筋肉をつくるテクノロジー ― バイオハイブリッドロボティクスの最前線
令和 7 年度兵庫県整形外科医会学術講演会（第 5 回）, 2025 年 12 月, 兵庫
23.山内七海、千明大悟、守岩友紀子、森岡和大、齊藤直希、井上勝央、大崎寿久、柳田顕郎、東海林敦
エクソソーム膜融合を介した人工生体膜上での膜タンパク質再構成と機能評価法
新アミノ酸分析研究会第 15 回学術講演会, 2025 年 12 月, 神奈川
24.Shoji Takeuchi
Biohybrid Robotics: Integrating Living Materials into Engineering Systems
Bionics and Biohybrids, 2026 年 2 月, India
25.竹内昌治
Bottom-Up Assembly of Synthetic Cells/Tissues and beyond: Biohybrid Robotics
機能進化エレクトロニクスの創出「進化トロニクス」公開成果報告会（兼 第 4 回領域会議）, 2026 年 2 月, 東京

【特許】

(1)国内特許出願　3 件
(2)国際特許出願　1 件

研究報告2026目次【研究開発部】

実用化実証事業

「次世代半導体用エコマテリアル」グループ

◆ 統括・・・

次世代半導体用エコマテリアルグループ

グループリーダー　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 10 ㎝の鉄の棒は、温度が 1℃上がるごとに 1.2mm の熱膨張を起こす。小型・高密度化が進む現在の LSI の配線幅は 10nm 以下であり、熱膨張の制御なしには精度を保つことができない。本プロジェクトでは、こうした熱歪みを吸収する「負」熱膨張材料に加え、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という、次世代半導体への応用展開を望める材料の研究を行っている。中でも負熱膨張材料については、企業との連携により安定な材料の供給ができる体制を整え、産業化への歩みを始めた。また、強磁性強誘電体に関しても、メモリデバイス化に必須なナノドッド化の基礎技術を住友化学次世代環境デバイス協働研究拠点において開発した。

1.　2025 年度の研究目的

①　巨大負熱膨張材料の社会実装と新物質開発

引きつづき日本材料技研と協同で、BNFO のさらなるラインナップ拡張を行う。広域動作品、微粒子品の販売開始を目標とする。$Bi_{1-x}Ca_xFe_{1-x}Zn_xO_3$ については、論文掲載と、PFM によるドメイン構造温度変化の観察を目指す。$BiCoO_3$ については、$BiFeO_3$ の負熱膨張化で実績のある、A, B サイト両置換を推進する。具体的には Bi への Ca 置換、Co への Ru, Ir, Zr 置換である。これによって、7%以上の体積収縮を実現したい。また、同様の構造を持つ Bi_2ZnVO_6 への電子ドープによる負熱膨張化を目指す。

②　強磁性強誘電体の磁化反転検出

電子線リソグラフィーを用いた BFCO 薄膜上へのリング電極の作製に注力する。形の整ったリングにすることで、分極反転に必要な電場を低減できると期待できる。また、Bi0.9Ca0.1Fe0.9Ru0.1O3 の薄膜化を行う。(110)配向 BFCO 薄膜における電場印加磁化反転の論文と、ナノドットの 180° 分極反転に伴う磁化反転の論文を掲載にこぎ着ける。

2.　2025 年度の研究成果

①　巨大負熱膨張材料の社会実装と新物質開発

2019 年に J. Am. Chem. Soc.に発表した、BNFO の Fe 置換量を増やすと高温での安定性が向上する知見を活かし、高耐熱グレードを 2 品目商品化した。日本材料技研からプレスリリースを行い、化学工業日報と PR TIMES で報道された。さらにベイズ最適化で組成探索を行った高温度域グレードもラインナップされた。

R5 年に報告した、共沈酸化同時法で調整した、高酸化状態アモルファス前駆体を高圧下で短時間熱処理する事で、BNFO の微粒子を得た研究が J. Am. Chem. Soc.に軽微な修正で掲載される見込みとなり、カバーアートの招待も受けた（2026 年 6 月に掲載、プレスリリース）。

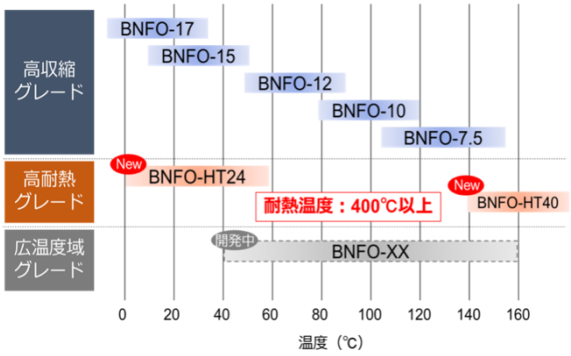


図 1：拡充した BNFO のラインナップ

昨年度特許申請（特願 2024-147412）した、Bi を Ca で、Fe を Ru, Ir または Zr で一部置換した $BiFeO_3$ の負熱膨張を、機械学習力場（MLFF）を用いた分子動力学（MD）シミュレーションで再現することに成功した。実験的に観測された、Zr, Ru, Ir の順に負熱膨張発現温度（強誘電転移温度）が低下する振る舞いが再現されたことから、この計算結果を加えたところ、論文が J. Am. Chem. Soc.に掲載され、プレスリリースを行った。

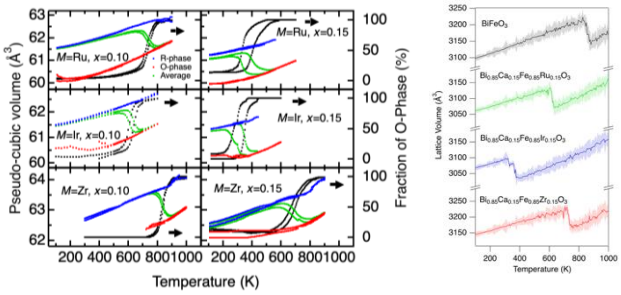


図 2：$Bi_{1-x}Ca_xFe_{1-x}M_xO_3$ (M = Ru, Ir, Zr)の熱膨張特性

左図は低温相、高温相、平均の格子体積（青・赤・緑のプロット）、高温相の分率（黒のプロット）の実験値。右図は機械学力場 MD シミュレーションの結果

上記の、$BiFeO_3$ の、Bi^{3+}を Ca^{2+}で、Fe^{3+}を Ru^{4+}, Ir^{4+}または Zr^{4+}で等量置換すると強誘電転移温度が低下し、負熱膨張が発現する、という結果に触発され、同じく強誘電−常誘電転移に伴う負熱膨張が期待される $BiCoO_3$ の Bi^{3+}を Ba^{2+}で、Co^{3+}を Ru^{4+}で等量置換し、さらに Bi^{3+}への La^{3+}置換も行った $Bi_{0.8}La_{0.1}Ba_{0.1}Co_{0.9}Ru_{0.1}O_3$ が、8.26%という非鉛材料としては最大の体積収縮を示す負熱膨張材料である事を見いだした。ポスト BNFO となる可能性が大きい発見なので、Ru の他に Ir や Zr, W 置換でも負熱膨張が起こることを確認して、特許の申請を行った（特願 2025-163287）。さらに、Sn^{4+}を用いた場合には 9.9%の体積収縮が起こることを見いだしている。転移温度を室温に近づけるべく、現在は、MLFF-MD シミュレーションとベイズ最適化を併用した組成探索を行っている。

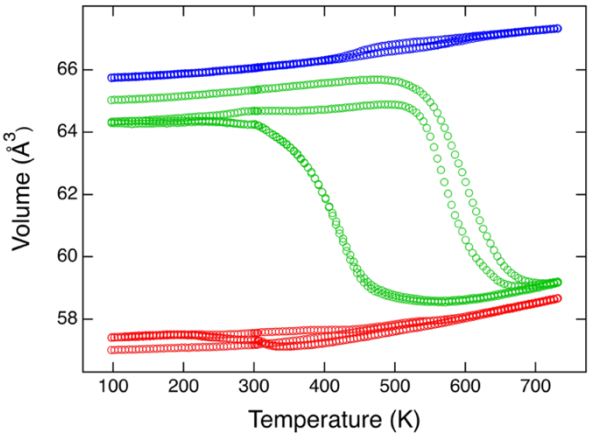


図 3：$Bi_{0.775}La_{0.127}Ba_{0.1}Co_{0.1}Sn_{0.1}O_3$ の熱膨張特性。

上記 $Bi_{0.775}La_{0.125}Ba_{0.1}Co_{0.1}Sn_{0.1}O_3$ など、$BiCoO_3$ ベースの負熱膨張物質は、低温から昇温して降温した際、最初の分率にまで低温相が回復しない。このことについて考察を行い、空間群 *P4mm* の低温相と *Pbnm* の高温相の間に部分群の関係がないために、昇降温を繰り返すことでドメインが微細化してしまう、というモデルを提案した。論文は現在投稿中である。

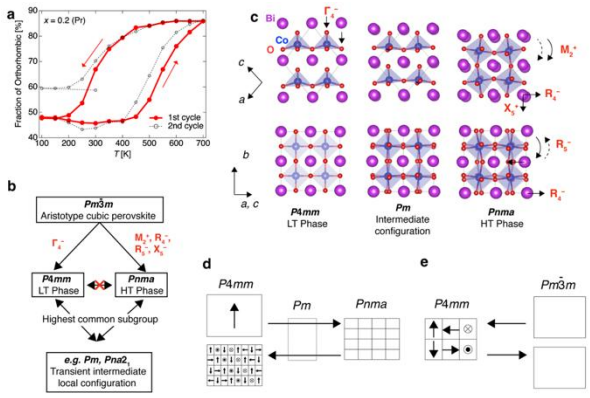


図 4：$Bi_{0.8}Pr_{0.2}CoO_3$ の熱膨張とドメイン変化に関する考察

負熱膨張物質の相分率変化や温度履歴を理解するには、ドメイン構造変化や核生成を調べる必要があることが明確に示された。その 1 つの方法として、1 粒子内の電子密度や応力を反映して回折スポットの周りに現れるスペックルパターンからドメイン構造を再構築する、ブラッグコヒーレント回折イメージング（BCDI）を行っている。強誘電歪みが大きすぎる $BiCoO_3$ の前段階として、*c*/*a* が $PbTiO_3$ と同程度の $Bi_{0.44}La_{0.06}Na_{0.5}VO_3$ の観察を行った。その結果、*c* 軸方向に層状に積層した低温正方晶相と高温立方晶相が、昇温に伴ってその分率を変化させる様子を観察することに成功した。

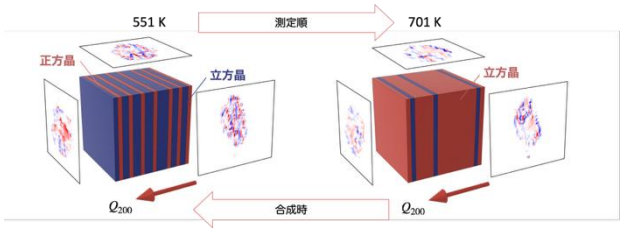


図 5：BCDI で決定した、$Bi_{0.44}La_{0.06}Na_{0.5}VO_3$ のドメイン構造温度変化。

強誘電転移型の負熱膨張材料では、極性の低温相と非極性の高温相が温度の関数として相分率を変化させながら共存する。上記のブラッグコヒーレント回折イメージングに加え、圧電応答顕微鏡を用いてドメイン観察ができるのではと期待して、室温で低温相。高温相がほぼ半分ずつの $Bi_{0.78}Ca_{0.22}Fe_{0.78}Zr_{0.22}O_3$ をターゲットに測定を行った。粉末の試料を銀ペーストで試料台に固定し、ラッピングフィルムで表面を研磨することで、PFM 観測に耐える平滑な試料を得ることに成功し、強誘電相と常誘電相の共存を確認した。さらに、電場印加で分極反転をした際に、常誘電相から強誘電相への電場誘起相転移が起こることも見いだした。

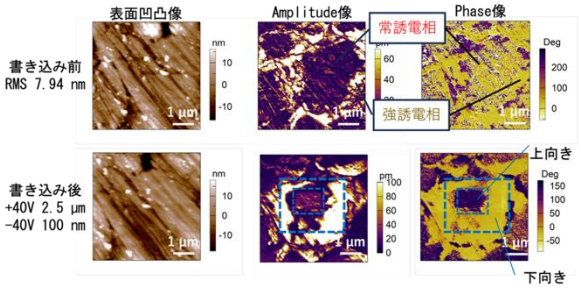


図 6：$Bi_{0.78}Ca_{0.22}Fe_{0.78}Zr_{0.22}O_3$ の圧電応答顕微鏡（PFM）像

② 強磁性強誘電体の磁化反転検出

昨年度特許申請（特願 2024-1474130）した、Bi を Ca で、Fe を Ru または Ir 一部置換した BiFeO3 の弱強磁性を第一原理計算で再現し、その計算結果を加えた結果、負熱膨張の結果と一緒にまとめた論文が J. Am. Chem. Soc.に掲載され、プレスリリースを行った。薄膜化も進めたが、室温では常誘電相になっており、低温実験を進めている。

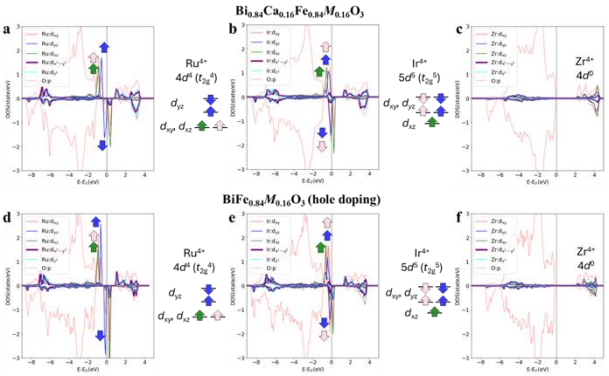


図 7：$Bi_{0.84}Ca_{0.16}Fe_{0.84}M_{0.16}O_3$ (a-c, M = Ru, Ir and Zr)と $BiFe_{0.84}M_{0.16}O_3$ (d-f)の軌道分解状態密度

面内電場印加による面外磁化の反転を観測していた(110)配向 BFCO 薄膜で、109°分極スイッチングに伴なって磁化の反転が起こることを DFT 計算で再現した。この結果を追加して再投稿したところ、Advanced Materials に論文が掲載され、プレスリリースを行った。

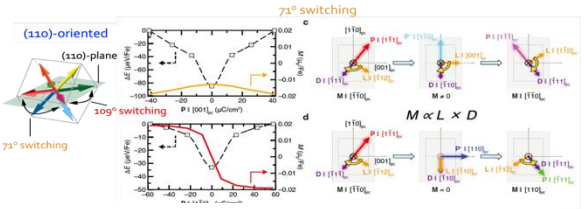


図 8：(110)配向 BFCO 薄膜における分極スイッチングと磁化の関係

ダイヤモンド NV センター磁気イメージングのデータを詳細に解析することで、PFM で観測されていた収束型強誘電トポロジカルドメイン構造から発散型強誘電トポロジカルドメイン構造からへの 180°分極スイッチングに伴って、4 つの分域それぞれで磁化の方向が回転することを見いだした。この結果をまとめた論文は Science Advance に掲載され、プレスリリースを行った。

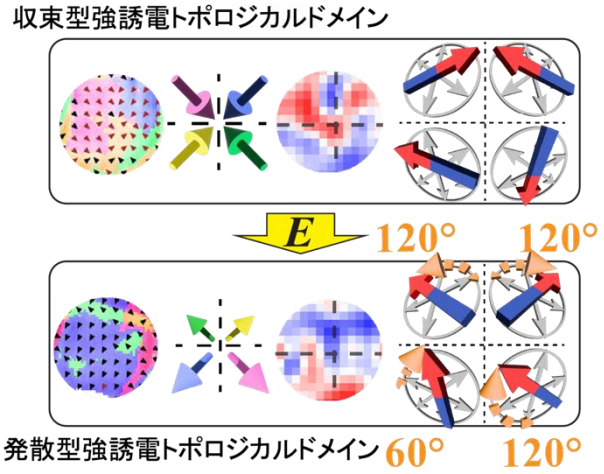


図 9：左から BFCO ナノドットの 3D PFM 像、分極方向の概念図、ダイヤモンド NV 像、そこから得られた各分域内の磁化の方向

電子技術部と共同で、HSQ マスクを用いて作製した直径 250nm の BFCO ナノドットで、トポロジカルドメイン構造の形成を確認し、電場印加による磁化反転を観察することに成功した。この結果は現在論文投稿中である。

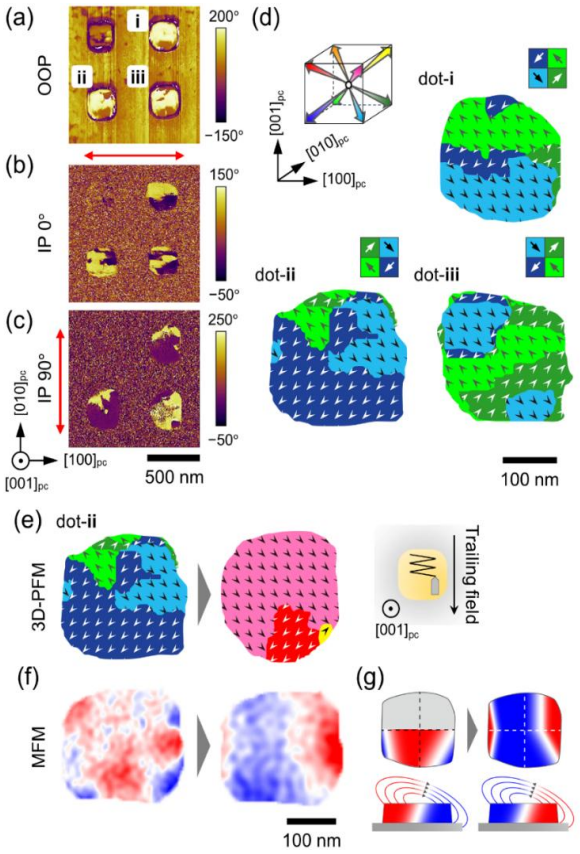


図 10：HSQ マスクを用いて作製した直径 250nm のドットの PFM 像(a-c)と、そこから作製した 3D PFM 像(d)、電場印加前後の 3D PFM 像(e)と MFM 像(f)と、その概略図(g)

トポロジカルドメイン構造を持つナノドットにおいて、180°スイッチングで面外磁化が反転する事から、面内の電場印加でも同様の磁化反転が起こるのでは、と考えて、連続膜の上にリング状電極を作成する研究を行っている。BFCO/$GdScO_3$ (110)薄膜上に金をスパッタし、AFM のチップを中心から外側へ、円を描きながらスキャンすることで金を削り取ることで直径 400 nm のリング状電極を作製した。昨年度の 800 nm から小さくすることで、分極反転に必要な電圧を 1/6 にすることができた。As grown では、$GdScO_3$ 表面の単斜晶歪みに由来するストライプ状の強誘電ドメインが PFM によって確認された。円の中心に PFM のカンチレバーを置き、そこから外周のリング状電極に向かって-10 V の電場を印加したところ、狙い通り湧き出し型のトポロジカルドメイン構造に変化した。さらに電場を反転したところ、吸い込み型のトポロジカルドメイン構造への変化が観測され、分極の面内成分が反転したことが確認された。これに伴い、MFM 像も As grown のストライプ状から-10 V で変化、さらに+10 V でコントラストの反転が観測され、面内電場

印加による磁化反転の確認に成功した。

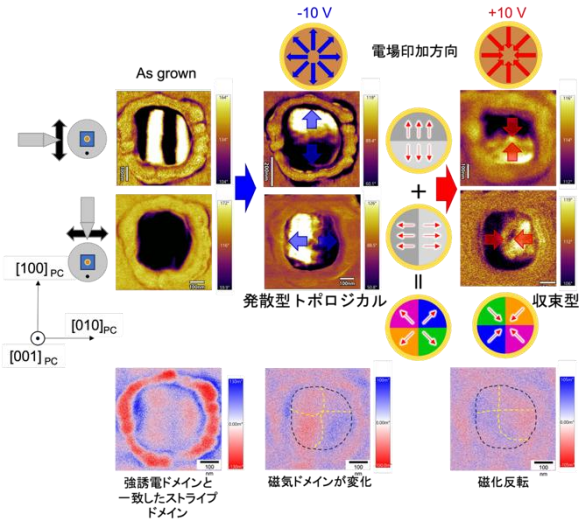


図 11：リング電極を用いた面内電場印加磁化反転

上記の結果を受けて、ダイヤモンドコートの AFM カンチレバーを用いて、表面を任意の形状に切り出して微細加工する研究にも取り組んだ。試料は BFCO/SRO/GSO 薄膜で、400 nm 程度の 4 つのドット形状に切り出した後、下の 2 つのドットに面外のポーリングを行ったところ、電気分極に加え、磁気コントラストの反転が観測された。

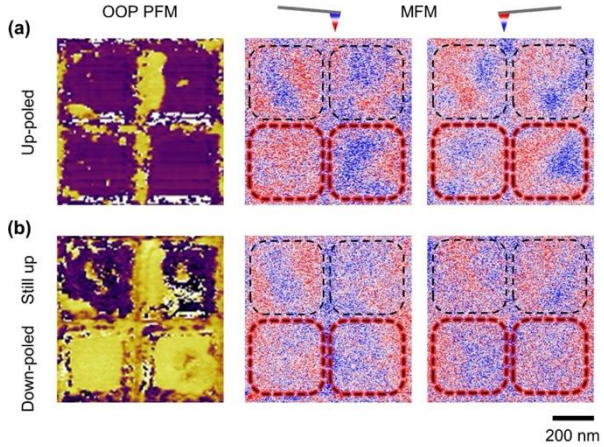


図 12： (a) 上向きポーリング後、(b) 下段のみ下向きポーリング後の、AFM リソグラフィ法ナノドットのドメイン構造。面直 PFM phase 像（左）および MFM 像（右）。各 2 枚の MFM 像は探針磁化方向を反転して測定された。

3. 今後の展望

$BiCoO_3$ への A-B サイト両置換による負熱膨張化の研究を加速させる。機械学習力場 MD シミュレーション・ベイズ最適化のマテリアルズインフォマティクス手法と、SPring-8 BL13XU の超高速放射光 X 線回折実験を組み合わせることで、効率的な組成探索を行い、室温近傍での 10%の体積収縮を目指す。この結果は直ちに日本材料技研へと技術移転される。また、同様の結晶構造を持つ Bi_2ZnVO_6 に対しても A-B サイト両置換による負熱膨張化を目指す。$BiFeO_3$ 系については高価な Ir^{4+}や Ru^{4+}の代わりに Mn^{4+}を使える目処が立ったので、水熱法での安価な合成を目指す。こちらは元々弱強磁性の賦与を目指して住友科学拠点で行った研究なので、住友化学への権利譲渡も検討する。

強磁性強誘電体に関しては、InSb ホールセンサーを用いて磁化反転を電気的に検出する、プロトタイプメモリデバイスの動作実証に注力する。また、リング電極論文の掲載を目指す。さらに、ダイヤモンドコート AFM チップを用いて作成したナノドットの、ドメイン構造のサイズ依存性を詳しく調べたい。

特異な秩序を持つ新規アニオン欠損ペロブスカイト $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$

次世代半導体用エコマテリアル 東グループ
西久保 匠

1. はじめに

ペロブスカイト型酸化物は、構成元素の組み合わせによって、多様な結晶構造や、酸素イオン伝導性、二次元的な金属性、磁気抵抗効果などの特異な物理的・化学的性質を示すことから盛んに研究されている。このペロブスカイト化合物にアニオン欠損が導入されることで、B サイトカチオン周りの配位環境は八面体型 6 配位からピラミッド型 5 配位や四面体配位、平面四配位などに変化する。このように変化した BO_n 多面体が配列することでアニオン欠損が秩序化する。ブラウンミレライト構造や無限層構造では立方晶ペロブスカイト構造の(100)p に秩序化する。一方で、$SrCrO_{2.8}$ や $SrCr_xFe_{1-x}O_{3-y}$, $SrVO_{2.2}N_{0.6}$ では BO_4 四面体と BO_6 八面体が$[111]_p$ に互いに積層し、$(111)_p$ に酸素欠損面を持つ[1-3]。これらの物質は八面体配位層が 3 層、四面体配位層が 2 層積み重なった構造をとっているが、八面体配位層の数が 4 層の $Ba_6Ta_2Na_2X_2O_{17}$ (X = P, V) ($BaNa_{1/3}Nb_{1/3}P_{1/3}O_{2.67}$)や 2 層の $AB_2V_2O_{11}$(A = Ba , Sr , Pb , B = Ta , Nb) ($A_{1/4}\square_{3/4}B_{1/2}V_{1/2}O_{2.75}$)、1 層の $Na_2BaMnV_2O_4$ といった類似構造の物質も報告されている[4-6]。

このような多彩な秩序構造を持つ化合物はペロブスカイトの A, B サイトの価数の和をとアニオンの価数を適切に調整することで得ることができる。そこで本研究ではこのような物質を合成するために A サイトが Bi である化合物に着目した。Bi や Pb はバレンススキッピングイオンと呼ばれ $6s^0$ (Bi^{5+}, Pb^{4+})と $6s^2$ (Bi^{3+}, Pb^{2+})を取るが $6s^1$ (Bi^{4+}, Pb^{3+})を取らないといった性質を持つ。さらに 6s 軌道の深さは第 4 周期遷移金属元素の 3d 軌道と近く、Bi, Pb を A サイト, 遷移金属元素を B サイトに持つペロブスカイト化合物の各サイトの価数は 3d 軌道の深さの順、すなわち周期表の順に系統的に変化する。$BiMO_3$ では $BiVO_3$, $BiCrO_3$, $BiMnO_3$, $BiFeO_3$, $BiCoO_3$ は $Bi^{3+}M^{3+}O_3$、$BiNiO_3$ では $Bi^{3+}{}_{0.5}Bi^{5+}{}_{0.5}Ni^{2+}O_3$ をとる。$PbMO_3$ では $PbTiO_3$ と $PbVO_3$ は $Pb^{2+}M^{4+}O_3$ であるが、$PbCrO_3$ と $PbCoO_3$ は、それぞれ $Pb^{2+}{}_{0.5}Pb^{4+}{}_{0.5}Cr^{3+}O_3$、$Pb^{2+}{}_{0.25}Pb^{4+}{}_{0.75}Co^{2.5+}O_3$ で $PbNiO_3$ は $Pb^{4+}Ni^{2+}O_3$ である[7-13]。このように Bi や Pb は電荷不均化を起こしながら平均の価数を変化していくため酸素欠損を導入した際に今まで見られなかった電荷秩序・結晶構造が得られることが期待される。

このような着想を検証する母物質として $BiNiO_3$ を選択した。$BiNiO_3$ は 6 GPa の高圧力下で合成されるペロブスカイト型化合物で、常圧で $Bi^{3+}{}_{0.5}Bi^{5+}{}_{0.5}Ni^{2+}O_3$ という特徴的な電荷分布を持ち、Bi^{3+}と Bi^{5+}が柱状に秩序した 2 つの Bi サイトが存在する三斜晶(*P*-1)をとる[13]。およそ 3 GPa 以上の圧力印加により Bi^{5+}と Ni^{2+}の間で電荷移動が起き，$Bi^{3+}Ni^{3+}O_3$ の価数状態へと変化し，Bi^{3+}と Bi^{5+}の電荷秩序が融けることで Bi サイトが 1 つの斜方晶(*Pbnm*)への構造相転移を伴う。さらに，Ni が 2+から 3+となることで、ペロブスカイト構造の骨格をなす NiO_6 八面体が収縮し、およそ 3%もの巨大な体積の収縮が起きる[14]。Bi の一部を 3 価のランタノイド[15]、または Ni の一部を Fe^{3+}で置換すると[16,17]、$Bi^{3+}Ni^{3+}O_3$ の価数状態が安定化されるため、昇温によって Bi-Ni 間電荷移動が生じるようになる。この体積収縮を伴う三斜晶から斜方晶への相転移が、温度によって相分率を変えながら、なだらかに起きるため、両相の分率の重みを付けた平均格子体積が連続的に収縮する負熱膨張が発現する。x>0.25 では Bi の電荷不均化と極性を併せ持つ菱面体晶相が出現し、2 つのメカニズムで負熱膨張を起こす[11]。本報告では、この特異な相転移と電荷の柔軟性を示す $BiNi_{1-x}Fe_xO_3$ に対し、トポケミカルなアニオン制御を施すことで得られた $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ の特異な電荷秩序・酸素欠損秩序について詳細を述べる。

2. 実験手法

Bi_2O_3, 金属 Ni と $Fe(NO_3)_3{\cdot}9H_2O$ を化学両論比で秤量し、濃硝酸に投入した。溶液を 373 K で十分に撹拌後、973 K で 12 時間加熱することで蒸発乾固させた。このようにして得られた前駆体に 20 wt%の $KClO_4$ を酸化剤として混合した後に、Au カプセルに封入し高圧セルに導入、キュービックアンビル型高圧装置を用いて 6 GPa 1273 K で 30 分間高圧高温処理をした。得られた試料は残存する KCl を除去するために水洗しよく粉砕した。得られた粉末の熱重量分析(TG)により酸素の脱離する温度と脱離量を決定した。$BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ の合成は $BiNi_{1-x}Fe_xO_3$ を 300℃で 12 時間加熱することで行った。得られた試料の酸素量決定のためヨードメトリーを行った。14 mg の試料を、過剰量の塩化カリウム (KI)とともに濃度 10%の塩酸に溶解させ、窒素ガスのバブリングと撹拌を行いながら 5 mM のチオ硫酸ナトリウム水溶液を滴下し電位差滴定をした。また、構造決定のため、第二光調波発生(SHG)での中心対称性の有無を確認し、

SPring-8 BL02B2 での放射光 X 線回折実験により得られたパターンのリートベルト解析を行った。Bi 及び Ni の価数を評価するために SPring-8 の BL09XU での硬 X 線光電子分光 (HAXPES)と BL27SU での軟 X 線吸収分光 (XAS)を行った。

3. 結果と考察

(1) $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ の合成と酸素量の検討

$BiNi_{1-x}Fe_xO_3$ の昇温下での放射光 X 線回折を測定したところ、350 K までに負熱膨張の由来である三斜晶から斜方晶の相転移が起こり、その後 700 K に向かうにつれて別の相になることが明らかになった。(図 1) 実験室で合成を試みたところ、この相は 350℃12 時間の加熱で得られた。合成時と同様の条件で TG を測定したところ、350℃で $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ まで、500℃までに Bi^{3+}, Ni^{2+}, Fe^{3+}になるまで酸素が脱離することが明らかになった(図 2 (a))。300℃で 12 時間加熱することで得られた試料のヨードメトリーにより酸素量を調査した。今回のヨードメトリーの全反応式は以下の式(1)のように表せる。

$$BiNiO_x + 6H^+ + 2(x-2.5)I^- \rightarrow Bi^{3+} + Ni^{2+} + (x-2.5)I_2 + xH_2O \quad (1)$$

ヨードメトリーで得られた *E*-*V* 曲線をシグモイドでフィッティングし、その変曲点を滴定の終点とした。図 2(b)にその結果を示す。終点を示すためにフィッティング関数の -d*E*/d*V* をともにプロットしている。$x = 2.7848$ に対応する点で終点を迎えることから TG の結果と同様、得られた相は $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ であると結論づけられる。

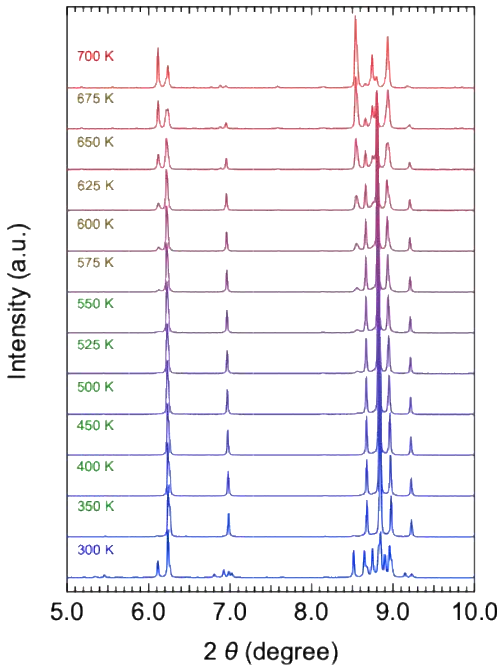


図 1 $BiNi_{0.85}Fe_{0.15}O_3$ の昇温下放射光 X 線回折パターン

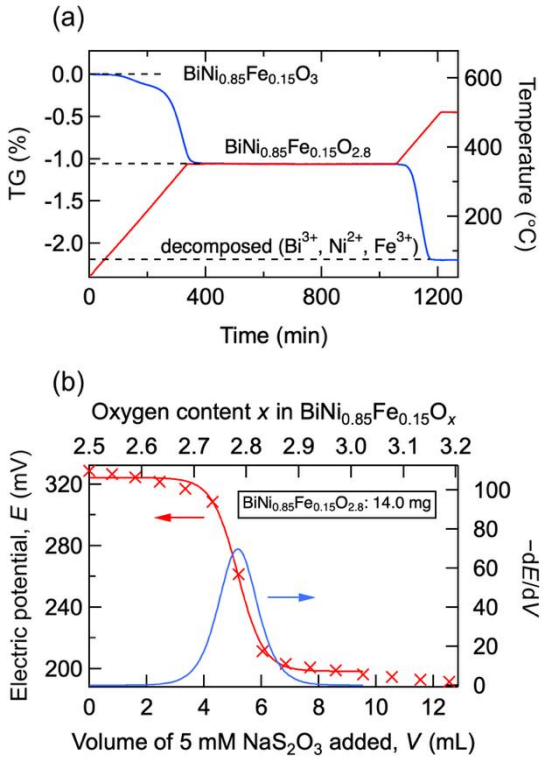


図 2 (a) TG による $BiNi_{0.85}Fe_{0.15}O_3$ の酸素脱離観察
(b) ヨードメトリーによる $BiNi_{0.85}Fe_{0.15}O_x$ の酸素量決定

(2) 構造と電荷分布の解明

放射光 X 線回折パターンのリートベルト解析の結果、空間群 *P*2/*c* もしくは *Pc* であることがわかった。(図 3(a)) これらは消滅則から SHG 測定の結果、レーザー強度の 2 乗に比例する 2 倍波が観測されたため対称中心がないことが示され、空間群は *Pc* と結論づけられる。(図 3(b)) 得られた構造は稜共有層と頂点共有層が擬立方晶の $[111]_{pc}$ 方向に沿って秩序化している。構造を見るとユニットセル内に稜共有した八面体の頂点が 4 箇所あるが、それらは 2 つの稜共有八面体のペアである。ユニットセル内に酸素原子は 30 個あり、2 箇所の頂点が酸素を共有し稜共有となることで 28 個となることで $ABO_{2.8}$ の組成比となる。これは頂点共有から稜共有になることで現れる、全く新しい酸素欠損秩序構造である。ボンドバレンスサムを計算すると、稜共有層は Bi^{5+}, Ni^{3+}、頂点共有層は Bi^{3+}, Ni^{2+}であると示唆される。(図 4)

Bi4f の HAXPES スペクトルを見ると $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ も $BiNiO_3$ 同様、Bi^{3+}と Bi^{5+}の 2 成分ある非対称なピークとなることがわかる。スクリーニング効果により高 Binding energy 側が Bi^{3+}、低 Binding energy 側が Bi^{5+}である。これらのピークをガウス関数でフィッティングし各成分の面積比率を求めることで価数を決定した。$BiNiO_3$ の Bi3+:Bi5+を 1:1 として 3 価と 5 価の比率求めると Bi の平均価数は 3.46+ となり構造解析で予想される $Bi^{3+}_{0.8}Bi^{5+}_{0.2}Ni^{2+}_{0.6}(Ni,Fe)^{3+}_{0.4}O_{2.8}$ と合致した。(図 5(a) また、Ni *L* 端の XAS スペクトルを $BiNiO_3$ (Ni^{2+}), $BiNi_{0.83}Fe_{0.17}O_3$

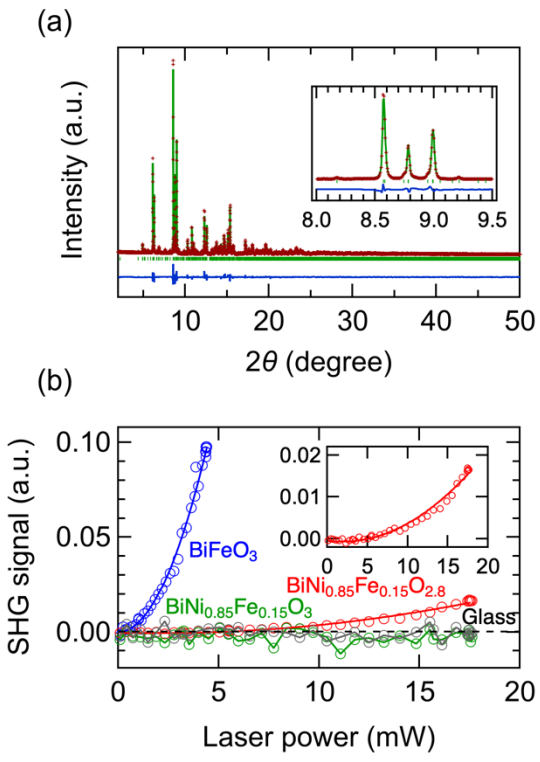


図 3 (a) $BiNi_{0.85}Fe_{0.15}O_{2.8}$ の放射光 X 線回折パターンのリートベルト解析結果

(b) SHG による対称中心の有無の確認

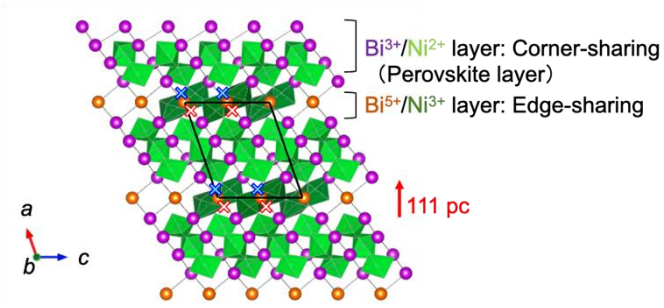


図 4 $BiNi_{0.85}Fe_{0.15}O_{2.8}$ の結晶構造。黄緑, 濃緑は Ni^{2+}, Ni^{3+}、紫, 黄は Bi^{3+}, Bi^{5+}を示す。×印は稜共有八面体の頂点を示し、ユニットセル内に 4 箇所存在する。

(Ni^{3+})と比較すると両者の足し合わせのような形状が見られた。上述の価数から予想される Ni^{2+}と Ni^{3+}の比は Fe が 3+であるとすると 0.6:0.25 となることから、同比で足し合わせたスペクトルを重ねて示すと、見事にスペクトルが一致した。(図 5(b)) 以上から還元により得られた相は、結晶学的・分光学的観点の両者から電荷と酸素欠損の両者が秩序した $Bi^{3+}_{0.8}Bi^{5+}_{0.2}Ni^{2+}_{0.6}(Ni,Fe)^{3+}_{0.4}O_{2.8}$ であることが示された。

この秩序構造が現れる理由を考察する。前述の通り、Bi の 6s 軌道は Ni の 3d 軌道と近い深さにある。そのため、$BiNiO_3$ では Bi が 3+と 5+に不均化し、Fe を一部置換した $BiNi_{1-x}Fe_xO_3$ では温度変化により Bi と Ni の間で電荷移動が起こる。$BiNiO_3$ の Ni サイトへの Fe^{3+}の導入も酸素欠損の導入も Bi もしくは Ni への電子ドープとなることは同一である。そのため、適切な電子ドープ(酸素欠損の導入)によって Bi の 6s と Ni の 3d の深さが変化し、この特異な電荷秩序が安定化したと考えられる。

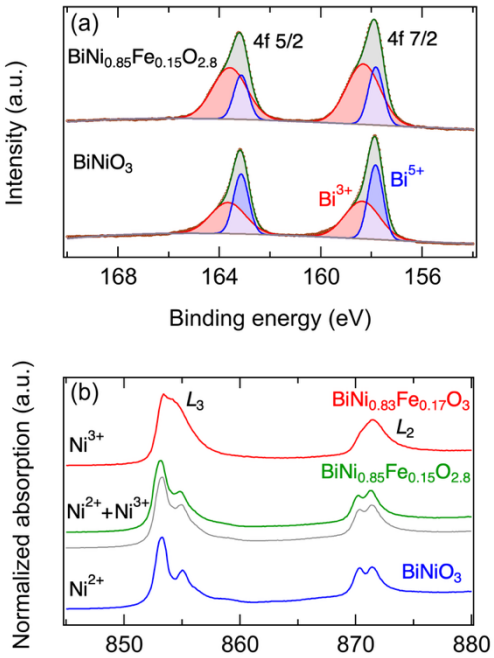


図 5 分光実験による価数の決定

(a)Bif HAXPES スペクトル。赤, 青は Bi^{3+},Bi^{5+}を示す。

(b)Ni *L* 端 XAS スペクトル。青, 緑, 赤はそれぞれ $BiNiO_3$ (Ni^{2+}), $BiNi_{0.85}Fe_{0.15}O_{2.8}$, $BiNi_{0.83}Fe_{0.17}O_3$ (Ni^{3+})のものであり、灰色は $BiNiO_3$ (Ni^{2+}), $BiNi_{0.83}Fe_{0.17}O_3$ (Ni^{3+})のものを 0.6:0.25 の比で足し合わせたものである。

3. 結論と今後の展望

本研究では $BiNi_{1-x}Fe_xO_3$ に対し、アニオン制御を施すことで特異な電荷秩序・酸素欠損秩序をもつ $BiNi_{1-x}Fe_xO_{2.8}$ を合成した。構造的・分光学的解析から、本物質は $[111]_{pc}$ に秩序化した稜共有層・頂点共有層の積層構造を持つことで酸素欠損が秩序化し、$Bi^{3+}_{0.8}Bi^{5+}_{0.2}Ni^{2+}_{0.6}(Ni,Fe)^{3+}_{0.4}O_{2.8}$ というきわめて特異な電荷秩序をもつ極性単斜晶相（空間群 *Pc*）であることを明らかにした。単結晶育成などによる本物質の 2 次元的な高価数面での物性測定ともに、常圧では準安定となる高圧相の適切な還元により新たな相を得るこの手法の他の物質への適応が期待される。

【参考文献】

1. Arévalo-Lõpez, A. M. *et al.* 'Hard-soft' synthesis of $SrCrO_{3-\delta}$ superstructure phases. *Angew. Chemie - Int. Ed.* 2012, *51*, 10791–10794.
2. Arévalo-López, A. M., Sher, F., Farnham, J., Watson, A. J. & Attfield, J. P., Cation, vacancy, and spin ordered 15R-superstructures in $Sr(Cr_{1-x}Fe_x)O_{3-y}$ ($0.4 \leq x \leq 0.6$) perovskites. *Chem. Mater.,* 2013, *25*, 2346–2351.
3. Yamamoto, T. *et al.* Strain-induced creation and switching of anion vacancy layers in perovskite oxynitrides. *Nat. Commun.,* 2020*, 11*, 1–8.
4. Kuang, X., Claridge, J. B., Price, T., Iddles, D. M. & Rosseinsky, M. J. Isolation of two-dimensional 2:1 cation-ordered perovskite units by anion vacancy ordering in Ba6Na2Nb2P 2O17. *Inorg. Chem.,* 2008*, 47*, 8444–8450.
5. Paidi, A. K., Jaschin, P. W., Varma, K. B. R. & Vidyasagar, K. Syntheses and Characterization of $AM_2V_2O_{11}$ (A = Ba, Sr, Pb; M = Nb, Ta) Vanadates with Centrosymmetric and Noncentrosymmetric Structures. *Inorg. Chem.* 2017, *56*, 12631–12640.
6. Nikolova, R. & Kostov-Kytin, V. Crystal chemistry of 'glaserite' type compounds. *Bulg. Chem. Commun.* 2023, *45*, 418–426.
7. Belik, A. A.; Azuma, M.; Saito, T.; Shimakawa, Y.; Takano, M. Crystallographic Features and Tetragonal Phase Stability of PbVO3, a New Member of $PbTiO_3$ Family. *Chem. Mater.* 2005, *17*, 269–273.
8. Shpanchenko, R. V.; Chernaya, V. V.; Tsirlin, A. A.; Chizhov, P. S.; Sklovsky, D. E.; Antipov, E. V.; Khlybov, E. P.; Pomjakushin, V.; Balagurov, A. M.; Medvedeva, J. E. Synthesis, Structure, and Properties of New Perovskite $PbVO_3$. *Chemistry of materials* 2004, *16*, 3267–3273.
9. Yu, R.; Hojo, H.; Watanuki, T.; Mizumaki, M.; Mizokawa, T.; Oka, K.; Kim, H.; Machida, A.; Sakaki, K.; Nakamura, Y.; Agui, A.; Mori, D.; Inaguma, Y.; Schlipf, M.; Rushchanskii, K. Z.; Ležaić, M.; Matsuda, M.; Ma, J.; Calder, S.; Isobe, M.; Ikuhara, Y.; Azuma, M. Melting of Pb Charge Glass and Simultaneous Pb–Cr Charge Transfer in $PbCrO_3$ as the Origin of Volume Collapse. *J. Am. Chem. Soc.* 2015, *137*, 12719–12728.
10. Ye, X.; Zhao, J.; Das, H.; Sheptyakov, D.; Yang, J.; Sakai, Y.; Hojo, H.; Liu, Z.; Zhou, L.; Cao, L.; Nishikubo, T.; Wakazaki, S.; Dong, C.; Wang, X.; Hu, Z.; Lin, H.-J.; Chen, C.-T.; Sahle, C.; Efiminko, A.; Cao, H.; Calder, S.; Mibu, K.; Kenzelmann, M.; Tjeng, L. H.; Yu, R.; Azuma, M.; Jin, C.; Long, Y. Observation of Novel Charge Ordering and Spin Reorientation in Perovskite Oxide $PbFeO_3$. *Nature Communications* 2021, *12* , 1917.
11. Sakai, Y.; Yang, J.; Yu, R.; Hojo, H.; Yamada, I.; Miao, P.; Lee, S.; Torii, S.; Kamiyama, T.; Ležaić, M.; Bihlmayer, G.; Mizumaki, M.; Komiyama, J.; Mizokawa, T.; Yamamoto, H.; Nishikubo, T.; Hattori, Y.; Oka, K.; Yin, Y.; Dai, J.; Li, W.; Ueda, S.; Aimi, A.; Mori, D.; Inaguma, Y.; Hu, Z.; Uozumi, T.; Jin, C.; Long, Y.; Azuma, M. A-Site and B-Site Charge Orderings in an s–d Level Controlled Perovskite Oxide $PbCoO_3$. *J. Am. Chem. Soc.* 2017, *139* , 4574–4581.
12. Inaguma, Y.; Tanaka, K.; Tsuchiya, T.; Mori, D.; Katsumata, T.; Ohba, T.; Hiraki, K.; Takahashi, T.; Saitoh, H. Synthesis, Structural Transformation, Thermal Stability, Valence State, and Magnetic and Electronic Properties of PbNiO3 with Perovskite- and $LiNbO_3$-Type Structures. *J. Am. Chem. Soc.* 2011, *133* , 16920–16929.
13. Ishiwata, S.; Azuma, M.; Takano, M.; Nishibori, E.; Takata, M.; Sakata, M.; Kato, K. High Pressure Synthesis, Crystal Structure and Physical Properties of a New Ni (II) Perovskite $BiNiO_3$. *J. Mater. Chem*. 2002, *12*, 3733–3737.
14. Azuma, M.; Chen, W.; Seki, H.; Czapski, M.; Olga, S.; Oka, K.; Mizumaki, M.; Watanuki, T.; Ishimatsu, N.; Kawamura, N. Colossal Negative Thermal Expansion in $BiNiO_3$ Induced by Intermetallic Charge Transfer. *Nat. Commun.* 2011, *2*, 347
15. Oka, K.; Mizumaki, M.; Sakaguchi, C.; Sinclair, A.; Ritter, C.; Attfield, J. P.; Azuma, M. Intermetallic Charge-Transfer Transition in $Bi_{1-x}La_xNiO_3$ as the Origin of the Colossal Negative Thermal Expansion. *Phys. Rev. B* 2013, *88*, 014112.
16. Nabetani, K.; Muramatsu, Y.; Oka, K.; Nakano, K.; Hojo, H.; Mizumaki, M.; Agui, A.; Higo, Y.; Hayashi, N.; Takano, M.; Azuma, M. Suppression of Temperature Hysteresis in Negative Thermal Expansion Compound $BiNi_{1-x}Fe_xO_3$ and Zero-Thermal Expansion Composite.

Appl. Phys. Lett. 2015, *106*, 061912.

17. Nishikubo, T.; Sakai, Y.; Oka, K.; Watanuki, T.; Machida, A.; Mizumaki, M.; Maebayashi, K.; Imai, T.; Ogata, T.; Yokoyama, K.; Okimoto, Y.; Koshihara, S.; Hojo, H.; Mizokawa, T.; Azuma, M. Enhanced Negative Thermal Expansion Induced by Simultaneous Charge Transfer and Polar–Nonpolar Transitions. *J. Am. Chem. Soc*. 2019, *141*, 19397–19403.

Computational Modeling of Thermal Expansion and Its Impact on Functional Properties

次世代半導体用エコマテリアル 東グループ
Hena Das（ヘナダス）

1. INTRODUCTION

Modern electronic and energy devices operate under increasingly demanding thermal conditions. Thermal mismatch between different material components generates internal stresses, cracks, delamination, and progressive degradation, ultimately limiting device reliability and lifetime [1 - 3]. Consequently, designing materials with tailored thermal expansion has become a major challenge for advanced technologies, including microelectronics, energy conversion systems, and aerospace components.

Negative thermal expansion (NTE) materials provide an attractive strategy for compensating the positive thermal expansion (PTE) of conventional materials, enabling the fabrication of composites with near-zero or tailored thermal expansion. Despite significant progress in understanding NTE mechanisms over the past decades [4–6], several major challenges remain. Most known NTE materials exhibit narrow operating temperature ranges, contain toxic or scarce elements, possess limited chemical or mechanical stability, or show poor compatibility with polymer-based composite systems. Consequently, the discovery and design of robust, environmentally benign NTE materials with broad thermal stability remain important scientific and technological challenges.

Current theoretical and computational approaches for studying NTE rely heavily on the quasiharmonic approximation (QHA), which neglects strong anharmonic effects and breaks down near structural phase transitions and in high-temperature dynamically unstable phases. Since phase transitions, lattice dynamics, defects, and chemical disorder often govern NTE behavior [5, 7 - 12], understanding their interplay is essential for developing predictive theories. Our research aims to (1) elucidate the mechanisms of NTE near phase transitions, emphasizing anharmonic lattice dynamics, defects, and high-entropy chemistry; (2) benchmark and develop computational approaches beyond the QHA; and (3) perform high-throughput screening to discover thermodynamically stable NTE materials. Our long-term goal is to establish predictive computational design strategies for technologically relevant NTE materials and accelerate their practical implementation.

2. RESEARCH METHOD

To achieve the project objectives, we combine first-principles density functional theory (DFT) calculations with complementary atomistic and statistical approaches.

(1) Molecular dynamics (MD) simulations [13 - 15]. inherently capture lattice anharmonicity at finite temperatures, enabling the investigation of phase transitions, thermal expansion, and finite-temperature lattice dynamics. The anharmonic lattice model [16] is employed to extract the temperature dependence of phonon frequencies and Grüneisen parameters.

(2) Cluster expansion (CE) method [17,18] is used to construct effective anharmonic vibrational Hamiltonians for complex oxides, providing an efficient description of lattice energetics, structural disorder, and finite-temperature thermodynamic properties.

(3) Machine-learned force fields (MLFFs) [19 - 21], to overcome the computational cost of ab initio molecular dynamics and material-specific CE Hamiltonians, machine-learned interatomic potentials

are trained on DFT datasets of relaxed and thermally perturbed structures. These models enable accurate large-scale simulations and high-throughput screening of candidate NTE materials.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

(1) NTE in Ca_2RuO_4 type materials

Ca_2RuO_4-type layered Ruddlesden–Popper oxides exhibit strong coupling among lattice, orbital, electronic, and magnetic degrees of freedom, leading to metal–insulator transitions, orbital ordering, and colossal negative thermal expansion (NTE) [22 - 24]. Their exceptional sensitivity to octahedral distortions makes them an ideal model system for investigating phase-transition-driven NTE.

During this project, we elucidated the microscopic origin of the colossal uniaxial NTE in Ca_2RuO_4 by combining *ab initio* molecular dynamics (AIMD), normal-mode decomposition, and an anharmonic Grüneisen framework [24]. Unlike the QHA, the proposed methodology explicitly captures temperature-dependent phonon renormalization and successfully reproduces the pronounced NTE along the **b** axis near the metal - insulator transition (MIT). We demonstrate that the NTE originates from the cooperative effects of elastic anisotropy and low-frequency anharmonic phonons with negative Grüneisen parameters. Furthermore, octahedral tilts, rotations, and antipolar Ca displacements collectively control the RuO_6 distortions responsible for the coupled structural and electronic transition.

We continue focusing on improving predictions of the transition temperature by investigating the impact of electron-electron correlation, spin–orbit coupling, and oxygen non-stoichiometry, while extending the methodology to other correlated oxides exhibiting coupled structural, electronic, and thermal anomalies.

Direct AIMD simulations combined with dynamical mean-field theory (DMFT) remain computationally prohibitive for systems of this complexity. To overcome this limitation, we performed MD simulations within the DFT+$\boldsymbol{U}$ framework over a range of Hubbard $\boldsymbol{U}$ values, followed by detailed electronic structure calculations using DMFT. We found that the MIT temperature is highly sensitive to the choice of $\boldsymbol{U}$, as shown in Figure 1. Optimizing this parameter significantly improved agreement with experimental observations [8, 22] and, importantly, enabled the reproduction of the crystallographic negative thermal expansion in the insulating phase (see Figure 1), which was not captured in our previous study [23].

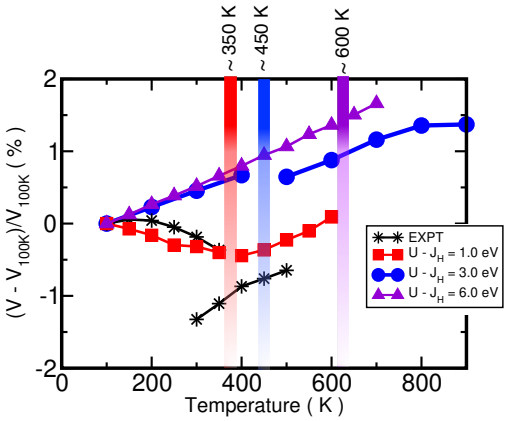


Figure 1 Comparison of the temperature-dependent unit-cell volume of Ca_2RuO_4 obtained from AIMD simulations using different Hubbard U values with experimental data from Ref. [22].

These results provide new insights into the interplay between electron correlations, lattice dynamics, and structural distortions. A comprehensive analysis of the electron–lattice coupling mechanism is currently underway and will be reported in a forthcoming publication.

(2) Bi- and Pb-Based Functional Perovskite Oxides

Bi- and Pb-based transition-metal perovskite oxides exhibit strong coupling among charge, spin, orbital, and lattice degrees of freedom, giving rise to diverse functionalities including ferroelectricity, multiferroicity, magnetoelectric coupling, pressure-

induced phase transitions, and negative thermal expansion (NTE) [5]. The stereo-chemically active $6s^2$ lone pairs of Bi^{3+} and Pb^{2+}, together with their valence-skipping behavior, drive pronounced structural distortions and electronic instabilities. High-pressure synthesis further expands the accessible compositional space, enabling metastable phases with novel functional properties. Our research employs first-principles and atomistic modeling to understand and predict the structure–property relationships in these materials.

As part of this effort, we established a theoretical framework for the magnetoelectric switching mechanism in (110)-oriented Co-substituted $BiFeO_3$ thin films [24]. Combining DFT+U, nudged elastic band (NEB) calculations, and symmetry analysis, we identified the lowest-energy ferroelectric switching pathways and demonstrated that only the 109° in-plane polarization switching enables deterministic reversal of the out-of-plane ferromagnetic moment through the evolution of the Dzyaloshinskii - Moriya interaction. The calculations further quantified the switching energy barriers, clarified the role of epitaxial strain, and provided theoretical support for the experimentally observed electric-field-driven magnetization reversal.

(2)-1 NTE in ferroelectric $PbTiO_3$ type systems

$PbTiO_3$ is a prototypical ferroelectric exhibiting pronounced negative thermal expansion (NTE) and serves as a model system for understanding polarization–lattice coupling [25]. Although previous studies based on the QHA, AIMD, and parameter-free DFT thermodynamics have provided valuable insights, failed to reproduce and explain the experimental thermal expansion across the ferroelectric–paraelectric phase transition [26 - 28]. This highlights the need for computational approaches capable of accurately describing finite-temperature anharmonicity and phase-transition dynamics.

To address these limitations, we have initiated the development of machine-learned force fields (MLFFs) for large-scale finite-temperature simulations. Using $PbTiO_3$ as a benchmark system, we performed a comparative assessment of On-the-Fly [19 -20] and MACE-based MLFFs [20]. Both approaches show encouraging agreement with DFT results and experimental data, demonstrating their potential for accurately predicting thermal expansion and phase-transition behavior in ferroelectric NTE materials.

A ML interatomic potential was developed using a training dataset comprising approximately 1500 - 2000 DFT-generated distorted configurations of

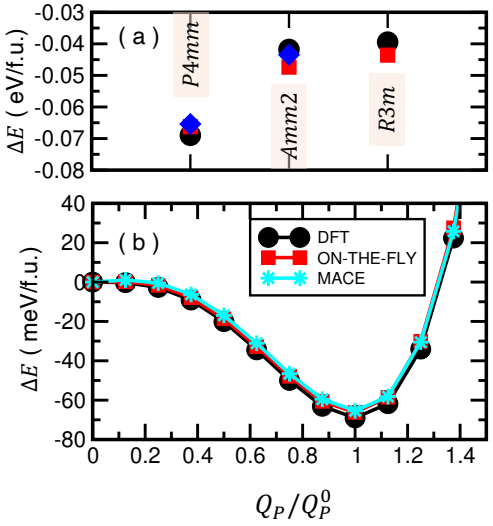


Figure 2 (a) Relative energies of the polar phases of $PbTiO_3$ with respect to the cubic $Pm\bar{3}m$ structure. (b) Energy profile of the ferroelectric $P4mm$ phase as a function of the polar distortion amplitude, referenced to the cubic phase.

$PbTiO_3$. As shown in Figure 2, the ML potential accurately reproduces the relative energies of the various polar phases with respect to the cubic phase, with deviations below 5 meV from the DFT reference data. The agreement (energies and phonons) demonstrates that the ML potential faithfully captures the underlying potential energy surface, providing a reliable foundation for large-scale finite-temperature MD simulations of thermal expansion and FE phase transitions.

The ML based MD simulations successfully reproduce the essential thermodynamic behavior of $PbTiO_3$, as summarized in Figure 3. Although the FE → PE transition temperature is underestimated (~ 650 K), the simulations capture the characteristic thermal expansion in both phases, the first-order nature of the phase transition, and the volumetric NTE in the FE phase. These results demonstrate that the ML potential accurately describes the finite-temperature free-energy landscape governing the structural transition. Ongoing work is focused on elucidating the microscopic origin of the NTE by determining whether it is governed solely by elastic anisotropy [18] or whether anomalous anharmonic phonon behavior also makes a significant contribution.

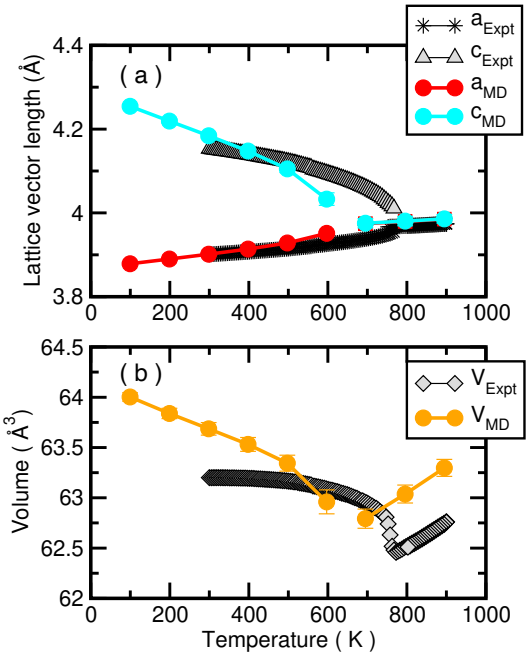


Figure 3 Comparison of the temperature dependence of the calculated lattice parameters (a) and unit-cell volume (b) of $PbTiO_3$ from MD simulations with experimental measurements from the Azuma-Lab (Institute of Science Tokyo).

The developed machine-learning framework is being extended to $BaTiO_3$, $PbVO_3$, and related ferroelectric perovskites to establish a unified understanding of thermal expansion and phase-transition mechanisms. Future efforts will focus on identifying materials exhibiting isotropic negative thermal expansion in cubic phases, which are particularly attractive for technological applications.

(2)-2 Charge Ordering and Spin Reorientation in $PbFeO_3$

Our investigations established the microscopic origin of the unusual magnetic behavior of $PbFeO_3$ [29]. We demonstrated that the long-range Pb^{2+}/Pb^{4+} charge ordering creates two crystallographically distinct Fe^{3+} sublattices with competing magnetic anisotropies, giving rise to the high-temperature spin reorientation transition in the absence of magnetic ions on the A site.

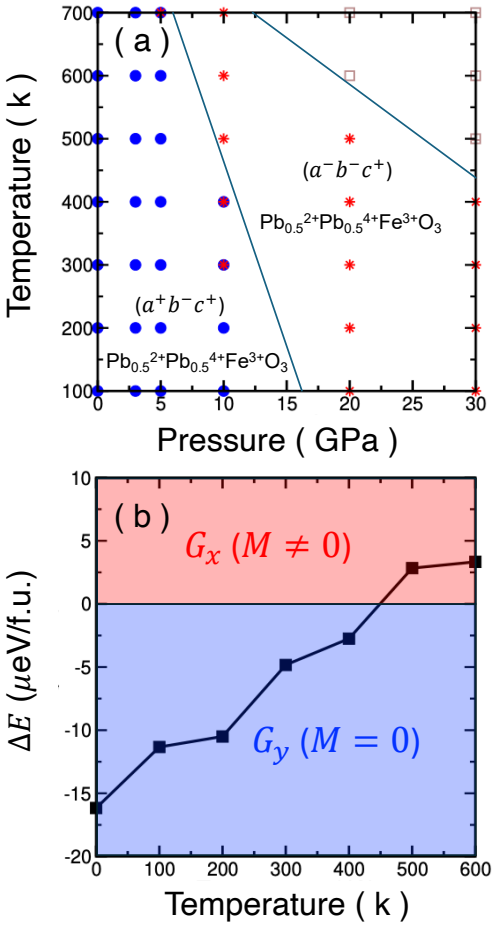


Figure 4 (a) Calculated temperature–pressure phase diagram of $PbFeO_3$, showing the stability regions of the structural phases. (b) Calculated magnetic phase diagram as a function of temperature. G_x and G_y denote G-type antiferromagnetic ordering with Fe spins aligned along the x- and y-directions, respectively.

Furthermore, our pressure-dependent DFT calculations revealed that the high-pressure phase transition is driven by a reconstruction of the FeO_6 octahedral rotation pattern, $\boldsymbol{a^+b^-c^+ \rightarrow a^-b^-c^+}$, accompanied by the collapse of long-range Pb charge ordering into a glassy Pb^{2+}/Pb^{4+} distribution, rather than by the anticipated Pb - Fe charge-transfer-induced MIT [30]. These results highlight the dominant role of lattice instabilities and octahedral connectivity in governing the structural, magnetic, and electronic responses of $PbFeO_3$ under external stimuli.

Building on our previous first-principles studies, we carried AIMD simulations to investigate the finite-temperature structural evolution of $PbFeO_3$, as summarized in Figure 4. The simulations reveal that both temperature and pressure induce structural phase transitions driven primarily by $\boldsymbol{a^+b^-c^+ \rightarrow a^-b^-c^+}$ phase change, rather than by the charge-transfer-induced MIT (Figure 4a). Furthermore, spin–orbit-coupled electronic structure calculations demonstrate that subtle lattice distortions modify the competing magnetic anisotropies of the two Fe sublattices, thereby driving the spin reorientation transition, $\boldsymbol{M = 0 \rightarrow M \neq 0}$ (Figure 4b). These findings establish a direct coupling between charge ordering in the Pb sublattice, octahedral distortions, and magnetic anisotropy, providing a new strategy for controlling magnetic phase transitions through manipulation of A-site charge order.

(2)-3 Competing phases in $PbMnO_3$

The crystal structure and electronic ground state of perovskite $PbMnO_3$ remain controversial, with multiple experimental studies reporting different structural models and no consensus emerging to date [31, 32]. Our investigations reveal that the Mn valence state, and consequently the crystal structure, is highly sensitive to the treatment of electron–electron correlations, as shown in Figure 5. Hybrid-functional (HSE) calculations predict two nearly degenerate insulating monoclinic Jahn–Teller distorted phases with distinct MnO_6 octahedral rotation patterns and columnar Pb^{2+}/Pb^{4+} charge order pattern, $\boldsymbol{a^-b^-c^+}$ and $\boldsymbol{a^+b^+c^-}$, in agreement with the experimentally observed insulating behavior [31, 32]. The small energy difference, ~ 1 meV/f.u., between these competing phases suggests that thermal fluctuations and external pressure may stabilize a mixed-phase state, giving rise to an average tetragonal structure, as proposed in previous experimental studies. Current efforts focus on finite-temperature simulations to clarify the structural evolution and phase stability of $PbMnO_3$ under realistic thermodynamic conditions.

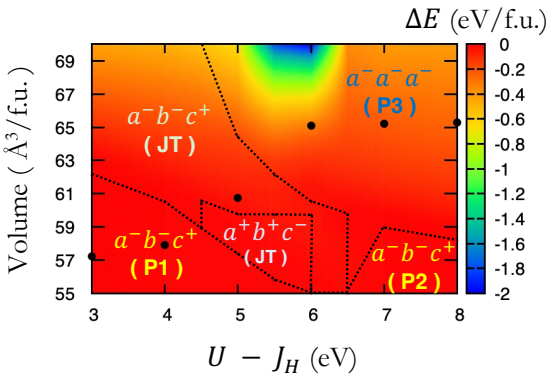


Figure 5 Computed volume – (U-J_H) phase diagram for $PbMnO_3$. P1, P2 and P3 phases correspond to $Pbnm$ ($Pb^{2+}Mn^{4+}O_3$), $Pbnm$ ($Pb^{4+}Mn^{2+}O_3$) and $R3c$ ($Pb^{4+}Mn^{2+}O_3$), respectively. The JT phases correspond to $P\bar{1}$ ($(Pb^{2+})_{0.5}(Pb^{4+})_{0.5}Mn^{3+}O_3$).

4. CONCLUSIONS AND FUTURE PLANS

This research has conducted the theoretical investigations of NTE and phase-transition phenomena in correlated transition-metal oxides by integrating first-principles calculations, anharmonic lattice dynamics and molecular dynamics. The developed computational framework has elucidated the microscopic mechanisms governing thermal expansion in representative oxides. Our results demonstrate that strong lattice anharmonicity, octahedral distortions, electron correlations, and spin–orbit coupling collectively govern the complex interplay between

structural, electronic, and magnetic degrees of freedom beyond the QHA.

Finally, this project benchmarks and employs computational methodologies capable of treating finite-temperature phenomena with near first-principles accuracy. Ongoing work focuses on extending these approaches to high-throughput discovery of NTE materials, understanding isotropic thermal expansion in cubic phases, and developing predictive design principles for technologically relevant materials for electronic, energy, and multifunctional applications.

[REFERENCES]

1. K. Takenaka, Front. Chem. **6**, 267 (2018**)**

2. P. Winiarz, A. Sultan, Y. Ling and K. Zheng, Sustainable Materials and Technologies **45**, e01442 (2025)

3. S. Guo, X. Li, C. Shen, Z. Han, Applied Thermal Engineering **279**, 128010 (2025)

4. K. Takenaka, Materials Transactions, **65**, 243-252 (2024)

5. M. Azuma, H. Hojo, K. Oka, H. Yamamoto, K. Shimizu, K. Shigematsu and Y. Sakai, Annual Review of Materials Research **51** (1), 329-349 (2021)

6. J. P. Attfield, Front. Chem. **6**, 371 (2018)

7. M. Azuma, Wt. Chen, H. Seki, *et al.* Nat. Commun. **2**, 347 (2011)

8. K. Takenaka, Y. Okamoto, T. Shinoda, *et al.* Nat. Commun. **8**, 14102 (2017)

9. T. Nishikubo,Y. Sakai, K. Oka *et al*. J. Am. Chem. Soc. **141**, 19397–19403 (2019)

10. Z. Liu, Y. Sakai, J. Yang *et al*. J. Am. Chem. Soc. **142**, 5731–5741 (2020)

11. T. Isobe, Y. Hayakawa, Y. Adachi, *et al.* NPG Asia Mater **12**, 80 (2020)

12. H. Zhao, Z. Pan, X. Shen, et al. Small **20**, 2305219 (2024)

13. H. C. Andersen, J. Chem. Phys., **72**, 2384 (1980)

14. M. Parrinello and A. Rahman, Phys. Rev. Lett. **45**, 1196 (1980)

15. M. Parrinello and A. Rahman, J. Appl. Phys. **52**, 7182 (1981)

16. A. Carreras, A. Togo, I. Tanaka, Computer Physics Communications **221**, 221–234 (2017)

17. J.M. Sanchez, F. Ducastelle, D. Gratias, Phys. A Stat. Mech. Appl. **128**, 334 (1984)

18. J. M. Sanchez and D. de Fontaine, Phys. Rev. B **17**, 2926 (1978)

19. R. Jinnouchi, J. Lahnsteiner, F. Karsai, G. Kresse, and M. Bokdam, Phys. Rev. Lett. **122**, 225701 (2019)

20. R. Jinnouchi, F. Karsai, C. Verdi, R. Asahi, G. Kresse, J. Chem. Phys. **152**, 234102 (2020)

21. https://mace-docs.readthedocs.io/en/latest/

22. L. Hu, Y. Zhu, Y.-W. Fang, *et al*. Chem. Mater. **33**, 7665–7674 (2021).

23. H. Das and M. Azuma, npj Comput Mater **11**, 356 (2025)

24. T. Itoh, K. Shigematsu, H. Das, *et al*. Adv. Mater. 2025, **37**, 2419580

25. G. Shirane and S. Hoshino, J. Phys. Soc. Jpn. **6**, 265-270 (1951)

26. H. Fang, Y. Wang, S. Shang, and Z.-K. Liu, Phys. Rev. B **91**, 024104 (2015)

27. E. T. Ritz and N. A. Benedek, Phys. Rev. Lett. **121**, 255901 (2018)

28. Z.-K. Liu, S.-L. Shang, J. Du, Y. Wang, Scripta Materialia **232**, 115480 (2023)

29. X. Ye, J. Zhao, H. Das, *et al*. Nat Commun **12**, 1917 (2021)

30. T. Nishikubo, T. Imai, Y. Sakai, *et al*. Chem. Mater., **36**, 1899−1907 (2024)

31. K. Oka, M. Azuma, S. Hirai, *et al*. Inorg. Chem. **48**, 2285–2288 (2009)

32. X. Li, Z. Hu, Y. Cho, *et al.* Chem. Mater. **33**, 92–101 (2021)

業績

【原著論文】

（投稿掲載）

1. Naike Shi, Xuyang Yan, Longlong Fan, Meng Xu, Yiming Yang, Mengzhe Hou, Takumi Nishikubo, Masaki Azuma, Jun Chen, “Negative thermal expansion in Ti_2O_3-SiC composites induced by microstructural effect”, *J. Alloy. Comp,* 1022, 180077 (2025) [IF:6.3]
2. Liang Chen, Yuming Zhang, He Qi, Ruiyu Wang, Yunxuan Ji, Takumi Nishikubo, Masaki Azuma, Chang Zhou, Jun Chen, “Ultrahigh Capacitive Energy Storage in Lead-Free Relaxors via Localizing Distortion”, *ACS nano,* 19(18), 7738-177 (2025) [IF:16.0]
3. Zhao Pan, Fengyi Zhou, Mengqi Ye, Duo Wang, Qiumin Liu, Takumi Nishikubo, Xubin Ye, Xiao Wang, Jin Liu, Nianpeng Lu, Shogo Kawaguchi, Masaki Azuma, Youwen Long, “Realizing negative thermal expansion over an extended temperature range in $PbTiO_3$-based perovskites” *J. Adv. Ceram.*, 14(7), 9221096 (2025) [IF:16.6]
4. Hajime Yamamoto, Boxuan Li, Hinako Telengut, Akari Takayama, Kenji Ishii, Hiroyuki Yamane, Suzuna Inoue, Satoshi Kobari, Ryuji Kawahara, Junya Yoshida, Susumu Yamamoto, Takuya Tsuji, Daiju Matsumura, Masaki Azuma, Takumi Nishikubo, Taiki Kosuge, Takafumi Yamamoto, Saneyuki Ohno, Tadashi Abukawa, “Absence of Long-Range V–V Dimer and Magnetic Orderings in High-Entropy $(Mg_{0.2}Mn_{0.2}Co_{0.2}Ni_{0.2}Cu_{0.2})VO_3$”, *Inorg. Chem.,* 64(34), 7496-17502 (2025) [IF:4.7]
5. Takuma Itoh, Kei Shigematsu, Hena Das, Peter Meisenheimer, Kei Maeda, Koomok Lee, Mahir Manna, Surya Prakash Reddy, Sandhya Susarla, Paul Stevenson, Ramamoorthy Ramesh, Masaki Azuma, “Electric‐Field‐Driven Reversal of Ferromagnetism in (110)‐Oriented, Single Phase, Multiferroic Co‐Substituted $BiFeO_3$ Thin Films”, *Adv. Mater.*, 37(29), 2419580, (2025) [IF:26.8]
6. Zhao Pan, Yue-Wen Fang, Sergey A. Nikolaev, Lin Wu, Jie Zhang, Mengqi Ye, Jin Liu, Xubin Ye, Xiao Wang, Takumi Nishikubo, Yuki Sakai, Runze Yu, Shogo Kawaguchi, Nianpeng Lu, Yoshihiro Kuroiwa, Jun Chen, Masaki Azuma, Xianran Xing, Youwen Long, “Anion-mediated unusual enhancement of negative thermal expansion in the oxyfluoride of $PbTiO_3$”, *Mater. Horiz.*,,12, 6804-6811 (2025) [IF:10.7]
7. Hena Das, Masaki Azuma, “Mechanistic Insights into Colossal Negative Thermal Expansion in Ca_2RuO_4 Mott insulator via Computational Modeling Approaches”, *npj Computat. Mater.*, 37, 8187-8194 (2025) [IF:11.9]
8. Kano Hatayama, Jun Miyake, Daiki Ono, Yusuke Shiono, Takumi Nishikubo, Koomok Lee, Shogo Wakazaki, Hena Das, Kei Shigematsu, Tomoko Onoue, Ko Mibu, Shogo Kawaguchi, Takafumi Yamamoto, Masaki Azuma, “Achieving Canted-spin Weak Ferromagnetism and Negative Thermal Expansion in A- and B-site Substituted Bismuth Ferrite”, *J. Am. Chem. Soc.,* 147, 44845-44851 [IF:15.6]
9. Taiki Kosuge, Chika Yamazoe, Shogo Kawaguchi, Shintaro Kobayashi, Naoto Nagata, Masaki Azuma, Saburo Hosokawa, Takafumi Yamamoto, “Designing Iron-Based Layered Perovskite Oxides with Optimized Oxygen Storage Performance and Structural Stability”, *Chem. Mater.*, in press [IF:7.0]
10. Hiroki Kobayashi, Yusuke Murata, Yurie Akiya, Tomomi Matsuoka, Hiromasa Otsuka, Akiko Tsunemi, Yoshihiro Nakamura, Masaki Azuma, Masanori Abe, “Multiple circulating inflammatory proteins are associated with pathological lesions and kidney function decline in IgA nephropathy”, Inflammation Research
11. Yasuhiro Fujiwara, Kota Suzuki, Satoshi Hori, Yoshiyuki Inaguma, Akitoshi Hayashi, Masaki Azuma, Yasutoshi Iriyama, Hirotoshi Yamada, Tetsuhiro Katsumata, Kazunori Takada, Ryoji Kanno, Masahiko Demura, “Designing a unified data structure for solid-electrolyte research projects”, Science and Technology of Advanced Materials: Methods, 5, 2568365 [IF:2.8]
12. Shogo Wakazaki, Masaki Azuma, “Screening and mechanism analysis of negative thermal expansion in $Bi_{0.85}Ca_{0.15}Fe_{0.85}M_{0.15}O_3$ (M: tetravalent cations) via machine learning force fields”, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 134, 98-102 [IF:1.1]
13. Jie Chen, Kei Shigematsu, Hajime Nakayama, Koomok Lee, Ko Mibu, Masaki Azuma, “Growth and characterization of epitaxial co-substituted bismuth ferrite thin films on silicon substrates” AIP Advances, 16, 035304 (2026) [IF:1.4]
14. Shogo Wakazaki, Yuki Sakai, Kazuki Takahashi, Hena Das, Masaki Azuma, “Large-scale molecular dynamics simulations of negative thermal expansion in $Bi_{1-x}La_x CoO_3$ using a pretrained machine learning force field”, *Sci. Rep.* accepted [IF:3.9]
15. Zhao Pan, Sergey Nikolaev, Xi Shen, Takumi Nishikubo, Lin Wu, Mengqi Ye, Xubin Ye, Shogo Kawaguchi, Yoshihiro Kuroiwa, Richeng Yu, Jun Chen, Masaki Azuma, Youwen Long, “Strong hybridization driving unusual enhanced negative thermal expansion in PbTiO 3-based ferroelectrics”, *Mater. Horiz.*, [IF:10.7]
16. Takafumi Yamamoto, Haruki Tochizawa, Teppei Nagase,

Hiroki Sahara, Takumi Nishikubo, Yuki Sakai, Takashi Honda, Hiroyuki Saitoh, Masaki Azuma, “Control of Anion Ordering in Perovskite Oxyhydrides by High-Pressure and High-Temperature Treatment”. *Inorg. Chem.*, in press [IF:4.7]

【総説】

1. Zhao Pan, Takumi Nishikubo, Hajime Yamamoto, Xubin Ye, Masaki Azuma, Youwen Long, “Negative Thermal Expansion in Metastable $PbVO_3$: High‐Pressure Synthesis, Advances, and Perspectives”, cMAT, 2(4), e70017 (2025)
2. Masaki Azuma, “Phase transition type giant negative thermal expansion materials”, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 133(8), 50-454 (2025)
3. Kei Shigematsu, Masaki Azuma “Electric-field-induced magnetization reversal in cobalt-substituted $BiFeO_3$: a review”, *Appl. Phys. Express, in press*

【書籍】

該当なし

【口頭発表】

1. Kei Shigematsu, "Magnetization Reversal in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ -I: Magnetic Domain Change Induced by In-Plane Electric Polarization Switching in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ Thin Film", 2025 MRS SPRING, アメリカ シアトル, 2025/4/7
2. Koomok Lee1 Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, Yasuhito Nagase, Kei Shigematsu, Hena Das, Ramamoorthy Ramesh, Masaki Azuma, “Magnetization Reversal in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$- II: 0 Electric Field induced Magnetic Domain Change after Ferroelectric Topological Domain Switching in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ nanodots “, 2025 MRS SPRING, アメリカ シアトル, 2025/4/7
3. Hajime Nakayama, Koomok Lee, Kuniyuki Kakushima, Takuya Hoshii, Satoru Kaneko, Manabu Yasui, Masahito Kurouchi, Kei Shigematsu, Masaki Azuma, “Magnetization Reversal in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ III: High-Quality Magnetoelectric $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ Nanodot Array Fabricated with Electron-Beam-Lithographed HSQ Mask”, 2025 MRS SPRING, アメリカ シアトル, 2025/4/7
4. Taiki Kosuge, Chika Yamazoe, Shogo Kawaguchi, Saburo Hosokawa, Masaki Azuma, Takafumi Yamamoto, “Time-Resolved XRD Measurement on Topotactic Reaction of Sr-Fe-Based Perovskaite Oxide”, 2025 MRS SPRING, アメリカ シアトル, 2025/4/7
5. Hena Das, Masaki Azuma, “Mechanism of 2D anisotropic thermal expansion in Ca_2RuO_4 Mott insulator”, 2025 MRS SPRING, アメリカ シアトル, 2025/4/7
6. Takumi Nishikubo, Yuki Sakai, Norihiro Oshime, Kento Sugawara, Kenji Ohwada, Akihiko Machida, Tetsu Watanuki, Kosuke Kurushima, Shigeo Mori, Masaki Azuma, “Domain Structure Observation and Design of Negative Thermal Expansion Material Induced by Polar-Nonpolar Phase Transition”, 2025 MRS SPRING, アメリカ シアトル, 2025/4/7
7. 東 正樹, “Magnetization Reversal by Electric Field in Co Substituted $BiFeO_3$ Thin Films” , 2025 Taiwan-Japan Workshop in Crystal Groth,Analysis and Calculation（TJ-CGAC) , 台湾 宜蘭, 5 月 9 日
8. 東 正樹 , “Colossal negative and positive thermal expansions induced by intermetallic charge transfer in $BiNiO_3$ and $PbCrO_3$”, 2025 International Symposium of Taiwan Consortium of Emergent Crystalline Materials, 台湾 宜蘭, 5 月 10 日
9. Koomok Lee, Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, YasuhitoNagase, Kei Shigematsu, Ramamoorthy Ramesh, Masaki Azuma, “Electric-Field-induced Weakly Ferromagnetic Domain Change by Ferroelectric Topological Domain Switching in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ Nanodots”, CEMS Symposium on Emergent Quantum Materials 2025, ベルサール半蔵門, 5 月 20 日
10. 塩野 裕介、西久保 匠、重松 圭、畑山 華野、東 正樹, ”圧電応答顕微鏡を用いた負熱膨張物質粒子のドメイン構造観察”, 粉体粉末冶金協会 2025 年度春季大会,京都大学宇治キャンパス 宇治おうばくプラザ, 5 月 29 日
11. 西久保 匠, 柴田 勇介, 吉田 駿之介, 清原 慎, 熊谷 悠, 東 正樹, ” ベイズ最適化を用いた多種元素置換による $BiNiO_3$ の負熱膨張特性制御”, 粉体粉末冶金協会 2025 年度春季大会,京都大学宇治キャンパス 宇治おうばくプラザ, 5 月 29 日
12. 李 邱穆, Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, 長瀬 泰仁, 重松 圭, Ramamoorthy Ramesh, 東 正樹, “BiFe0.9Co0.1O3 ナノドットにおける電場印加によるトポロジカルおよび磁気ドメイン構造の変化”, 第 42 回強誘電体会議, 京都産業会館ホール 北室, 6 月 13 日
13. 中山 創, 吉川 浩太, Lee Koomok, 角嶋 邦之, 星井 拓也, 金子 智, 安井 学, 黒内 正仁, 重松 圭, 東 正樹, “電子線描画 HSQ をマスクに用いた $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ ナノドットの作製”, 第 42 回強誘電体会議, 京都産業会館ホール 北室, 6 月 13 日
14. 前田 慶, Lee Koomok, 松浦 伊吹, 中山 創, 重松 圭, 東 正樹円環状電極を用いたマルチフェロイック $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$, “薄膜のトポロジカルドメン形成”, 第 42 回強誘電体会議, 京都産業会館ホール 北室, 6 月 13 日
15. Lee Koomok, Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, 長瀬泰仁,重松 圭,Ramamoorthy Ramesh, 東 正樹, "$BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ ナノドットにおける電場印加による

トポロジカルおよび磁気ドメイン構造の変化", 第7回固体化学フォーラム, 東京大学柏キャンパス物性研究所, 6 月 24 日

16. 松島航暉、東正樹、山本隆文, "高温高圧法で得られた新規有機-無機ハイブリッドハライドの構造及び光物性評価" , 第 7 回固体化学フォーラム 東京大学柏キャンパス物性研究所, 6 月 24 日
17. 長瀬 鉄平, 東 正樹, 山本 隆, "[111]方向に 5 倍の周期性を持つ B サイトカチオン秩序ペロブスカイト酸化物の合成と特性評価", 第 7 回固体化学フォーラム, 東京大学柏キャンパス物性研究所, 6 月 24 日
18. Lee Koomok, Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, 長瀬泰仁,重松 圭, Ramamoorthy Ramesh, 東 正樹, "$BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ ナノドットにおける電場印加によるトポロジカルおよび磁気ドメイン構造の変化", 第7回固体化学フォーラム, 東京大学柏キャンパス物性研究所, 6 月 24 日
19. 長瀬鉄平、山本隆文、東正樹, "(111)欠損ペロブスカイトの積層制御", 第 19 回 日本セラミックス協会関西支部 学術講演会 プログラム, 大阪大学（豊中キャンパス）, 7 月 24 日
20. Masaki Azuma , "Colossal Thermal Expansion in Ca Substituted $PbCrO_3$", ISNTE-5, The University of Porto , 7 月 30 日
21. Takumi Nishikubo, "Multiple elements substitution in $BiNiO_3$ based negative thermal expansion material with the aid of Bayesian optimization", ISNTE-5, The University of Porto , 7 月 30 日
22. Jun Miyake, Kano Hatayama, Takumi Nishikubo, Masaki Azuma, "Negative thermal expansion in A, B-sites substituted $BiFeO_3$", ISNTE-5, The University of Porto, 7 月 31 日
23. 永野翔也, 畑山華野, 中山創, Lee Koomok, 重松圭, 東正樹, "Ca, 4d・5d 遷移金属元素共置換 $BiFeO_3$ の薄膜成長", 第 86 回応用物理学会秋季学術講演会, 名城大学天白キャンパス, 9 月 8 日
24. 中山 創, 吉川 浩太, Lee Koomok, 角嶋 邦之, 星井 拓也, 金子 智, 安井 学, 黒内 正仁, 北條 元, 重松 圭, 東 正樹, "高品質 HSQ マスク法 $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ ナノドットのドメイン構造評価", 第 86 回応用物理学会秋季学術講演会, 名城大学天白キャンパス, 9 月 9 日
25. 前田慶, Lee Koomok, 松浦伊吹, 中山創, 重松圭, 東正樹, "リング電極を用いたマルチフェロイック $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ 薄膜のドメイン制御", 第 86 回応用物理学会秋季学術講演会 , 名城大学天白キャンパス, 9 月 9 日
26. 于洪武、作田楓斗、藤原孝将、金城克樹、那波和宏、加倉井和久、佐藤卓、深田幸正、矢野優太、朴規相、池田直, "$LuFe_2O_4$ 単結晶常磁性相における磁場による短距離磁気秩序の制御", 日本物理学会第 80 回年次大会, 広島大学東広島キャンパス, 9 月 16 日
27. 東 正樹, "ビスマス、鉛-3 d 遷移金属ペロブスカイトの固体化学" , 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス, 9 月 18 日
28. 塩野裕介、西久保匠、重松圭、三宅潤、畑山華野、東正樹, "圧電応答顕微鏡を用いた負熱膨張物質粒子の２相共存状態の観察", 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス, 9 月 19 日
29. 三宅 潤、畑山 華野、西久保 匠、東 正樹, "A- B-サイト両置換 BiFeO3 の負熱膨張挙動に対する 4 族元素の効果, 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス, 9 月 19 日
30. [111]方向に B サイトカチオン秩序をもつペロブスカイト酸化物の構造解析 長瀬 鉄平・西久保 匠・重松 圭・東 正樹・山本 隆文 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス 9 月 19 日
31. 小菅 大輝, 河口 彰吾, 小林 慎太郎, 横山 優一, 水牧 仁一朗, 細川 三郎, 東 正樹, 山本 隆文," 時分割 X 線回折測定とベイズ推定による $SrCrO_{3-\delta}$ の反応ダイナミクス解析", 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス 9 月 19 日
32. 松島航暉、伊藤龍寿、大見拓也、宮田大壽、上田純平、西久保匠、東正樹、山本隆文, "高温高圧法により合成される層状ハライド化合物における低温発光特性", 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス, 9 月 19 日
33. 佐原 広樹・栃沢 晴希・長瀬 鉄平・草野 圭弘・ 山田 大貴・ 壬生 攻・桑原 彰秀・ 西久保 匠・東 正樹・ 山本 隆文, "高圧法を用いた新規ペロブスカイト型鉄酸化物の合成", 日本セラミックス協会第３８回秋季シンポジウム, 群馬大学荒巻キャンパス, 9 月 19 日
34. Yusuke Shiono, Takumi Nishikubo, Kei Shigematsu,J un Miyake, Kano Hatayama, Masaki Azuma, "Observation of the coexistence of two phases of negative thermal expansion material particles using Piezoresponse Force Microscope" The Fifteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (STAC15), 東京科学大学大岡山キャンパス, 9 月 29 日
35. Kei Maeda, Koomok Lee, Ibuki. Matsuura, Hajime. Nakayama, Kei Shigematsu, Masaki Azuma, "Topological Domain Control in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ Thin Films Using Ring Electrodes", The Fifteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (STAC15), 東京科学大学大岡山キャンパス, 10 月 1 日
36. Hiroki Sahara, Haruki Tochizawa, Teppei Nagase,

Yoshihiro Kusano, Hiroki Yamada, Ko Mibu, Akihide Kuwabara, Takumi Nishikubo, Masaki Azuma, Takafumi Yamamoto, “High-pressure synthesis of novel oxygen-deficient perovskite iron oxide“, The Fifteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (STAC15), 東京科学大学大岡山キャンパス, 9 月 29 日

37. Hajime Nakayama, Koomok Lee, Kuniyuki Kakushima, Takuya Hoshii, Satoru Kaneko, Manabu Yasui, Masahito Kurouchi, Kei Shigematsu, Masaki Azuma, “High-Quality Co-Substituted BiFeO3 Nanodot Array Fabricated with Electron-Beam-Lithographed HSQ Mask”, The Fifteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (STAC15), 東京科学大学大岡山キャンパス, 9 月 30 日
38. Ibuki Matsuura, Hajime Nakayama, Koomok Lee , Kei Shigematsu, Masaki Azuma, Improvement of Properties in Multiferroic $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ for La Substitution The Fifteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (STAC15), 東京科学大学大岡山キャンパス, 9 月 30 日
39. Shoya Nagano , Kano Hatayama, Hajime Nakayama, Koomok Lee, Kei Shigematsu, Masaki Azuma, “Thin film growth of co-substituted $BiFeO_3$ with Ca and 4d/5d transition metals”, The Fifteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics (STAC15), 東京科学大学大岡山キャンパス, 9 月 30 日
40. Kano Hatayama , Jun Miyake, Takumi Nishikubo , Tomoko Onoue, Ko Mibu ,Masaki Azuma, “Weak Ferromagnetism and Negative Thermal Expansion in A- and B-sites co-substituted $BiFeO_3$”, AIRATP-29, Ehime Kenmin Bunka Kaikan (Ehime Prefectural Convention Hall), Ehime, 9 月 30 日
41. Takumi Nishikubo, Yusuke Shibata, Shin Kiyohara, Yu Kumagai, Masaki Azuma, “Multiple elements substitution in $BiNiO_3$ based negative thermal expansion material with the aid of Bayesian optimization, Ehime Kenmin Bunka Kaikan (Ehime Prefectural Convention Hall), Ehime, 9 月 30 日
42. Qiumin Liu, Masaki Azuma, Takumi Nishikubo, “Colossal Positive and Negative Thermal Expansions in Substituted $BiNiO_3$ and $PbCrO_3$”, AIRATP-29, Ehime Kenmin Bunka Kaikan (Ehime Prefectural Convention Hall), Ehime, 9 月 30 日
43. Hena Das, “Theoretical Elucidation of cross-coupling between Charge and Magnetic ordering in High-Pressure Synthesized Pb-Based Perovskites”, AIRATP-29, Ehime Kenmin Bunka Kaikan (Ehime Prefectural Convention Hall), Ehime, 9 月 30 日
44. Takehiro Koike, Hena Das, Kengo Oka, Yoshihiro Kusano, Noboru Kimizuka, Fernando Cubillas, Francisco Brown, Masaki Azuma, “Pressure-Induced $YbFe_2O_4$-Type to Spinel Structural Change of $InGaMgO_4$” AIRATP-29, Ehime Kenmin Bunka Kaikan (Ehime Prefectural Convention Hall), Ehime, 10 月 1 日
45. Masaki Azuma, “Magnetization Reversal by Electric Field in Co Substituted $BiFeO_3$ Thin Films “, The 16th ACPTP workshop on Multiferroics, 10 月 19 日
46. 松浦伊吹, 前田慶, 畑山華野, Lee Koomok, 重松圭, 東正樹 ”マルチフェロイック物質 $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ への La 置換による特性改善”, 粉末冶金協会 2025 年度秋季大会, 九州大学 医学部 百年講堂, 10 月 26 日
47. 三宅潤, 畑山華野, 西久保匠, 東正樹 “A- B-サイト両置換 $BiFeO_3$ の負熱膨張挙動に対する 4 族元素の効果” 粉末冶金協会 2025 年度秋季大会, 九州大学 医学部 百年講堂, 10 月 26 日
48. 中山 創, 吉川 浩太, Lee Koomok, 角嶋 邦之, 星井 拓也, 安井 学, 黒内 正仁, 金子 智, 北條 元, 重松 圭, 東 正樹, “高品質 HSQ マスク法 BiFe0.9Co0.1O3 ナノドットのドメイン構造評価” 粉末冶金協会 2025 年度秋季大会, 九州大学 医学部 百年講堂, 10 月 29 日
49. 東正樹, 柴田 勇介, 西久保 匠, 清原 慎, 熊谷 悠, ” ベイズ最適化を用いた負熱膨張材料の多元素化”, 粉末冶金協会 2025 年度秋季大会, 九州大学 医学部 百年講堂, 10 月 29 日
50. Masaki Azuma, “Bi- and Pb-Based Transition Metal Perovskite Oxides as Functional Materials”, The 10th NIMS-Rennes Univ- SG-CNRS Workshop, 11 月 6 日
51. Koomok Lee, Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, Yasuhito Nagase, Kei Shigematsu, Ramamoorthy Ramesh, Masaki Azuma, “Electric-Field-induced Weakly Ferromagnetic Domain Change by Ferroelectric Topological Domain Switching in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ Nanodots”, ISSSC2025, Matsue, 12 月 3 日
52. Yusuke Shiono, Takumi Nishikubo, Kei Shigematsu, Jun Miyake, Kano Hatayama, Masaki Azuma, “Observation of the coexistence of two phases in negative thermal expansion material particles using Piezoresponse Force Microscope” , ISSSC2025, Matsue, 12 月 3 日
53. Takumi Nishikubo, “Tuning of negative thermal expansion in $BiNiO_3$ with the aid of Bayesian optimization”, ISSSC2025, Matsue, 12 月 3 日
54. Koomok Lee, Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, Yasuhito Nagase1, Kei Shigematsu, Ramamoorthy Ramesh, Masaki Azuma, “Electric-Field-induced Weakly Ferromagnetic Domain Change by Ferroelectric Topological Domain Switching in $BiFe_{0.9}Co_{0.1}O_3$ Nanodots”, Materials Research Meeting 2025, 12 月 11 日
55. Hajime Nakayama, Koomok Lee, Kuniyuki Kakushima,

Takuya Hoshii, Satoru Kaneko, Manabu Yasui, Masahito Kurouchi, Kei Shigematsu, Masaki Azuma, “High-Quality Co-Substituted BiFeO3 Nanodot Array Fabricated with Electron-Beam-Lithographed HSQ Mask”, Materials Research Meeting 2025, 12 月 11 日

56. 大越 温斗, 西久保 匠, 東 正樹, “ペロブスカイト $Bi_{0.75}Pb_{0.25}MO_3$ および $Bi_{0.25}Pb_{0.75}MO_3$ の電荷分布と物性評価”, 第 64 回セラミックス基礎討論会, 豊橋技術科学大学, 1 月 10 日
57. 小池 剛大, 西久保 匠, 押目 典宏, 大和田 謙二, 東 正樹,”BCDI による $Bi_{0.44}La_{0.06}Na_{0.5}VO_3$ の粒子内ドメイン構造変化観察”, 第 64 回セラミックス基礎討論会豊橋技術科学大学, 1 月 10 日
58. 若崎 翔吾, 高橋 一樹, 酒井 雄樹, Hena Das, 東 正樹, “機械学習力場を用いた $Bi_{1-x}La_xCoO_3$ の負熱膨張挙動の再現豊橋技術科学大学, 1 月 10 日
59. 東正樹, “$BiNiO_3$ の巨大負熱膨張と $PbCrO_3$ の巨大熱膨張”, 第 32 回 CROSSroads Workshop 高圧中性子実験に向けた装置開発及び サイエンスへの展開, 1 月 8 日
60. 東正樹, “相転移を利用した負熱膨張物質の開発”, 第一回負熱膨張研究会, 東京科学大学田町キャンパス
61. 西久保匠, “ベイズ最適化を用いた BNFO の動作温度拡大”, 第一回負熱膨張研究会, 東京科学大学田町キャンパス
62. 塩野 裕介, 西久保 匠, 重松 圭, 三宅 潤, 畑山 華野 , 東 正樹, “圧電応答顕微鏡を用いた負熱膨張物質粒子の 2 相共存状態の観察”, 第 73 回 応用物理学会春季学術講演会, 東京科学大学大岡山キャンパス, 3 月 16 日
63. 李 邱穆(Lee Koomok), Peter Meisenheimer, Paul Stevenson, 長瀬 泰仁, 重松 圭, Ramamoorthy Ramesh, 東 正樹, “Co 置換 $BiFeO_3$ ナノドットの強誘電トポロジカルドメイン変化に伴う電場誘起磁気ドメイン変化”, 第 73 回 応用物理学会春季学術講演会, 東京科学大学大岡山キャンパス, 3 月 17 日
64. Kei Shigematsu, “Domain Structure and Magnetic Reversal by Electric Field in Cobalt-substituted Bismuth Ferrite Thin Films and Nanodots”, 2nd International Conference on Advanced Functional Materials and Devices (AFMD-2026), Nanotechnology Research Centre (NRC), SRMIST, Kattankulathur- 603203, Chennai, Tamil Nadu, India, 3 月 19 日
65. Masaki Azuma, “Giant negative thermal expansions induced by electronic phase transitions”, International Conference on Quantum Materials: Fundamentals to Functionalities QM:F2f 2026, Bambolim Beach Resort, Goa, India, 3 月 26 日

【記者発表，取材】

1. KISTEC, 東京工業大学
   電場による磁化反転の新たな経路を発見～素子設計の自由度拡張、低消費電力メモリ素子の実現へ弾み～
   2025 年 5 月 30 日
2. KISTEC, 東京科学大学
   複数元素置換で鉄酸ビスマスに新しい機能を付与
   2025 年 11 月 28 日 公開 コンデンサと磁石の性質に加え、室温での負熱膨張を発現, 2025 年 11 月 28 日

【特許】

国内特許出願　１件
国際特許出願　２件

【受賞等】

1. 于 洪 武 , 2025 International Symposium on Green Processing for Advanced Ceramics Young Scientist Award Platinum Prize
2. 中山創, 粉体粉末冶金協会 2025 年秋季大会優秀講演発表賞
3. 重松圭, 東京科学大学産学共創機構　優秀オープンイノベータ功労賞

研究報告2026目次【研究開発部】

実用化実証事業

「毛髪再生医療実証」グループ

◆　統括・・・

「毛髪再生医療実証」グループ

グループリーダー　福田　淳二

【基本構想】

現在、毛髪の再生医療のアプローチは、主に三つの手法に分けられる。1.「毛乳頭細胞」の移植、2.「毛包原基」の移植、3.「生体外で再生した毛包」の移植である。我々は、それぞれのアプローチを Hair Regeneration の頭文字 HR を使って，HR01，HR02，HR03 と名付け、実用化を目指した研究開発を進めている（図 1）。

「HR01 毛乳頭細胞の移植」は、間葉系細胞の機能を維持しながら細胞数を増加させる重層化培養技術を開発した。この技術で増殖させた間葉系細胞を移植することで細胞移植による毛髪再生の治療効果を向上できる可能性がある。連携企業や医療機関等と協力し、早期の実用化に取り組んでいる。

「HR02 毛包原基の移植」は、上皮系細胞と間葉系細胞から毛包原基を簡便かつ大量に作製する技術を開発した。脱毛症患者の細胞を用いて、上皮系細胞と間葉系細胞の増殖培養から移植に至るまで一連の技術を開発し、高効率に毛髪再生する手法を確立する。

「HR03 再生毛包の移植」に至っては、生体外でほぼ 100%の効率で毛髪を再生する技術をマウス細胞で確立し、再生毛包を移植すると皮下に生着し毛周期を繰り返すことを確認した。本手法を脱毛症患者の細胞に適用し、高効率で毛髪再生できる条件の探索を行う。また、生体外の毛髪再生技術を利用して構築した毛包オルガノイドを創薬モデルとして応用することで、脱毛症の治療薬開発にも貢献する。

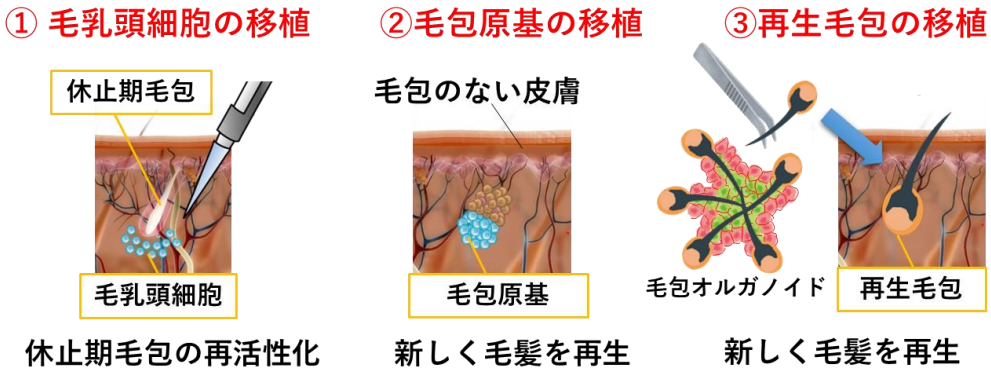


図 1　我々が進める 3 つの毛髪再生アプローチ

1.　2025 年度の研究目的

プロジェクト 6 年目となる 2025 年度は、毛髪再生医療の実用化を見据え、以下の 3 つのアプローチを中心に研究を推進した。なお、動物実験および患者組織の利用については、それぞれ横浜国立大学の関連委員会の承認を得て実施した。

(HR01)では、「毛乳頭細胞の重層化培養技術」に関する国内特許査定を取得し、実用化段階への移行が進展した。本年度は実用化に向けて、培養ディッシュ等の培養条件の最適化を行うとともに、凍結保存法の検討を開始した。また、培養中の酸素分圧と細胞機能（ALP など）との関連を明らかにし、非侵襲的に細胞品質を評価可能な手法の構築を試みた。これにより、大量培養における品質管理技術の基盤が強化された。

(HR02)では、毛乳頭細胞および毛包上皮細胞の機能回復培養法を確立したうえで、毛包原基の作製方法の検討を進めた。特に、簡便な遠心充填法を開発し、再現性の高い毛包原基形成を可能とした。また、培養した毛包原基の機能向

上を目的として、HIF-1 を介した低酸素応答に着目し、脂質（lipid）の添加による機能強化手法を導入した。

(HR03)では、毛包オルガノイドを用いた生体外毛髪再生技術の最適化を進めた。従来モデルを用いて白髪化に関与する遺伝子の検証を行うとともに、ヒト細胞への応用に向けて培養条件の改良を実施した。特に、上皮細胞をヒト iPS 細胞由来細胞へと置換することで、ヒト毛包再生系への展開を進めた。さらに、本オルガノイド系を創薬評価モデルとして活用し、セロトニンによる毛髪成長促進効果を新たに見出した。

以上のように、本年度は各アプローチの技術的進展に加え、細胞機能制御から組織再構築、さらに創薬応用へとつながる統合的な進展が得られた。本報告書では、これらの成果について概説する。なお、(HR01)はエン研究員 (HR03)は景山研究員が詳細を報告する。

2. 2025 年度の研究成果

（HR01）毛乳頭細胞の移植による毛髪再生

本年度は、重層化培養法の実用化および細胞製造プロセスの確立に向け、培養条件および品質管理技術の最適化を中心に研究開発を進めた。

まず、細胞の工業的生産を見据え、培養スケールに適した培養容器の選定を行った。複数の培養ディッシュおよび培養環境条件について比較検討を行い、細胞の増殖性、形態維持、および機能指標（ALP 発現など）を評価した。その結果、重層化培養において安定的かつ再現性の高い細胞増殖が可能となる培養容器および培養条件を特定し、大量培養への適用可能性を確認した。

次に、本年度は細胞の保存および輸送を可能とする凍結保存技術の検討に着手した。GMP 対応の保存基材およびアルブミン添加条件を用いた凍結保存試験を実施し、凍結後の細胞生存率および機能維持について評価を行った。その結果、高い生存率を維持可能な保存条件を見出すとともに、凍結保存後においても毛乳頭細胞の機能が一定程度保持されることを確認した。現在は、最適な保存条件の確立および品質評価指標の精緻化を進めている。

加えて、細胞機能の評価手法として、従来の PCR などのエンドポイント解析に加え、培養中の細胞状態を非侵襲的かつ連続的に把握可能な評価系の構築を試みた。特に、酸素分圧を指標としたリアルタイムモニタリング手法により、培養環境の変化と細胞機能との関連性を時系列で評価できる可能性が示された。この手法は、今後の細胞製造工程における品質管理技術としての応用が期待される。

以上の成果により、重層化培養法を基盤とした毛乳頭細胞の製造プロセスについて、培養、評価、保存の各工程における基礎的技術基盤を整備することができた。今後は、これらの技術を統合し、再現性およびスケーラビリティを備えた細胞製造プロセスの確立を目指すとともに、臨床応用に向けた品質基準および製造管理手法の構築を進める予定である。

(HR02)毛包原基の移植による毛髪再生

毛包原基移植は、“毛髪本数の増加”を可能とする再生医療技術として期待されており、上皮細胞と間葉系細胞の相互作用を生体外で再構築することが重要となる。本研究では、これまでに確立した毛包原基作製基盤を基に、より高機能な細胞調製および再生効率の向上に焦点を当てた検討を進めている。

まず、毛包原基の構築手法として、遠心操作を用いた細胞凝集（遠心充填法）による毛包原基形成技術の検討を行った[1]。本手法では、毛乳頭細胞と毛包上皮細胞を混合した後、遠心力により細胞間接触を迅速に誘導することで、従来の自発的凝集に依存しない均一な細胞集合体の形成が可能となる（図 2）。これにより、毛包原基のサイズや構造のばらつきを抑制し、再現性の高い原基形成が実現された。また、この方法により形成された毛包原基は、毛包様構造形成能を有することが確認されており、スケーラブルな毛包原基製造プロセスの基盤技術として有望である。

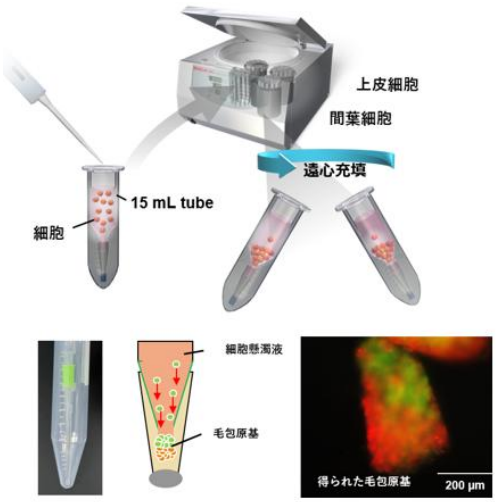


図２　毛包原基の遠心充填作製方法

一方、近年の研究進展として、毛乳頭細胞の機能制御において代謝および低酸素応答が重要な役割を果たすことが明らかになってきた。脂質代謝に着目した解析により、脂質補充は毛乳頭細胞の増殖および毛髪誘導関連遺伝子（ALP、VCAN、LEF1 など）の発現を促進することが示されている[2]。また、この作用は HIF-1α シグナルを介して

制御されることが確認されており、HIF-1αの抑制により遺伝子発現の上昇が消失することが報告されている 。

さらに、これらの効果は毛包オルガノイド系においても再現され、脂質添加により毛幹様構造の伸長が促進されることが示されている 。これらの結果は、毛包形成および毛髪再生において、細胞間相互作用のみならず、代謝環境が機能発現を制御する重要因子であることを示している（図 3）。

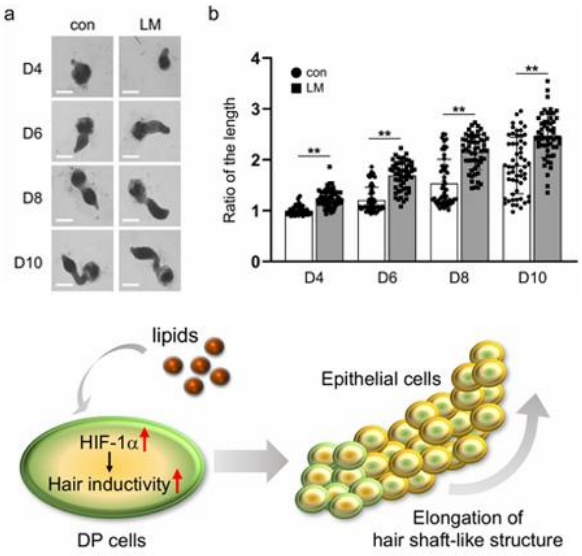


図 3　脂質添加による毛包原基の伸長促進効果およびその作用機序

以上の知見を踏まえ、本研究では、毛包原基の構築技術（遠心充填法）と細胞機能制御技術（代謝・低酸素応答）を組み合わせることで、より高い再現性と機能性を有する毛包原基の作製を目指す。今後は、これらの技術を統合し、ヒト細胞由来毛包原基のスケーラブルな製造および臨床応用に向けたプロセス確立を進める。

（HR03）再生毛包の移植による毛髪再生

毛包原基は“毛の種”として機能し、皮膚という環境に移植することで毛包を再生することが可能である。しかしながら、再生される毛髪の配向（毛並み）や再生効率の制御には依然として課題が残されている。特に、移植後に均一かつ高効率に毛包が再構築される保証はなく、臨床応用に向けては再現性と制御性の向上が求められている。このような背景のもと、生体外であらかじめ毛包構造を再構築し、それを移植するというアプローチが注目されている。

我々はこれまでに、上皮系細胞と間葉系細胞の自己組織化プロセスに着目し、細胞凝集体における空間配置を制御することで、高効率に毛包様構造を形成する培養技術を開発してきた。この手法により、in vitro において毛包形成および毛幹の伸長が再現され、移植後にも毛周期を伴う毛髪再生が観察されることが示されている。一方で、これらの技術は主にマウス細胞系に基づいており、ヒトへの応用にはさらなる最適化が必要である。

近年の進展として、ヒト iPS 細胞由来の外胚葉前駆細胞を利用した毛包オルガノイド形成技術が報告されている 。この研究では、従来使用されてきた Matrigel の代替としてコラーゲン I を用いることで、臨床応用に適した培養系の構築が試みられた[3]。特に、ヒト由来細胞とマウス間葉系細胞を組み合わせたキメラオルガノイドにおいて、in vitro および in vivo の両方で毛包形成が確認されており（図４）、ヒト毛包再生への重要なステップと位置付けられる。このように、細胞ソースおよび細胞外マトリクスの最適化は、毛包再生の再現性向上と臨床応用に直結する重要な要素である。

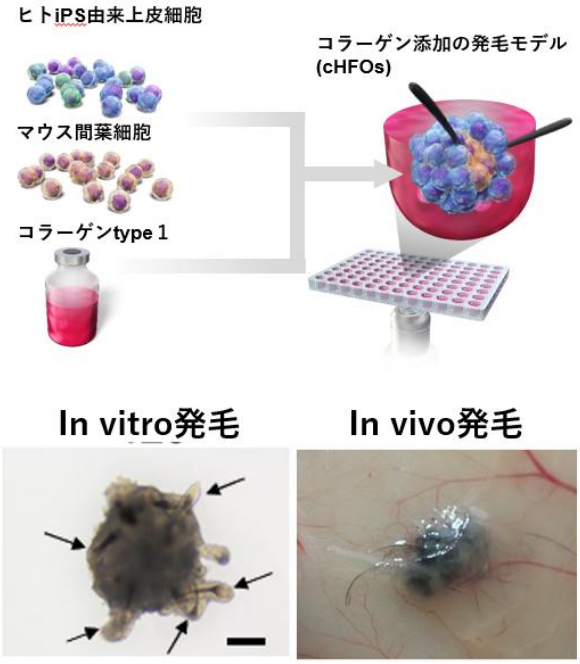


図４　ヒト iPS 上皮細胞を用いた毛包原基の構築

さらに、毛包オルガノイドは単なる再生モデルにとどまらず、機能解析および創薬評価系としても有用である。例えば、毛髪の色素形成に関する研究では、メラノソーム生成や輸送に関与する遺伝子（MITF、Bcl2、Rab11b など）のノックダウンにより白髪様変化を再現できることが示されている[4] 。この結果は、オルガノイドが上皮・間葉・神経堤系細胞の相互作用を三次元的に再現し、in vivo に近い形で毛包機能を評価できるモデルであることを示している。従来の二次元培養系では再現が困難であった複雑な細胞間相互作用を含めて解析可能である点は、今後の基礎

研究および創薬研究において大きな利点となる(図 5)。

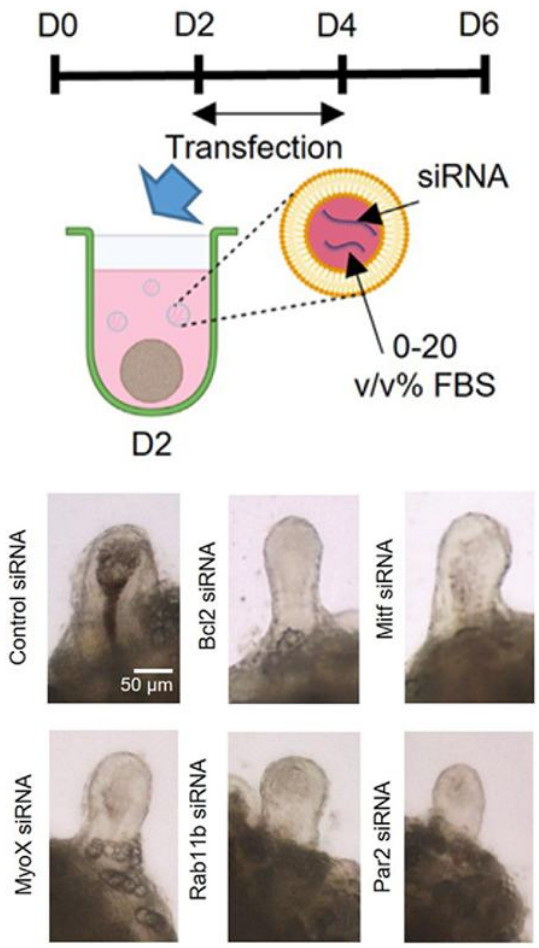


図 5　白髪モデルで白髪に関与する遺伝子の選別

また、今年度の重要な成果として、毛包オルガノイドを用いた薬理評価により、セロトニン（5-HT）が毛乳頭細胞を活性化し、毛髪成長を促進することを明らかにした[5] 。具体的には、5-HT 刺激により ALP や VEGF などの毛包誘導関連遺伝子の発現が上昇し、毛包オルガノイドにおいて毛幹の伸長が有意に促進されることが確認された（図 6）。さらに、臨床で使用されているセロトニン受容体アゴニスト（スマトリプタン）においても同様の効果が認められ、ドラッグリポジショニングの可能性が示唆されている。この成果は、毛包再生技術と創薬研究を統合する新たなアプローチとして重要である。

以上のように、毛包オルガノイド技術は、再生医療、疾患モデル、創薬プラットフォームの三つの側面を統合する基盤技術として急速に発展している。本研究においても、これらの知見を踏まえつつ、ヒト細胞を用いた毛包再生効率のさらなる向上および機能成熟の促進を目指している。今後は、完全ヒト由来系での毛包構築、毛並み制御、ならびに臨床グレード培養条件の確立を進めることで、実用的な毛髪再生医療への展開が期待される。

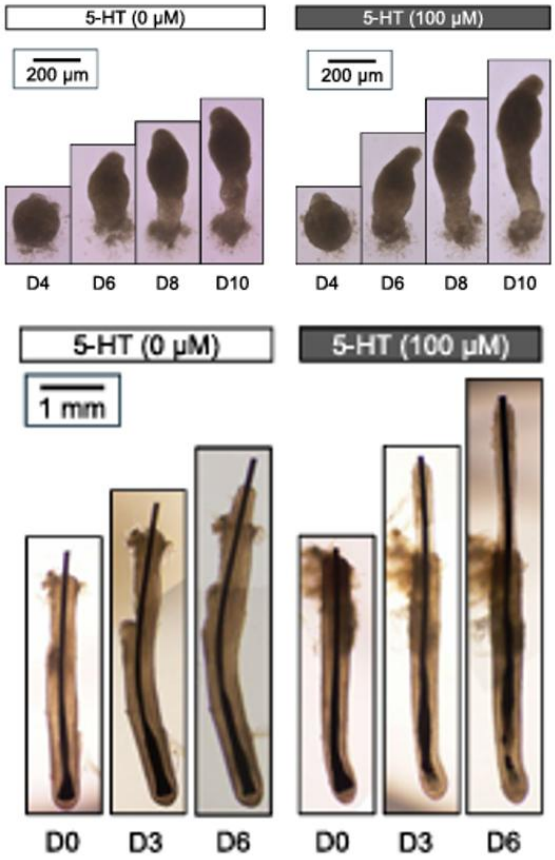


図 6　毛包原基モデルは毛包と同様にセロトニンに応答し、毛髪伸長を促進する

【参考文献】

1. Migita, Y. et al. Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine. Journal of Bioscience and Bioengineering 139, 445–450 (2025).

2. Seo, J. et al. The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway. Sci Rep 15, 4621 (2025).

3. Kageyama, T. et al. Hair Follicle Organoids Using Human iPSC-Derived Ectodermal Precursor Cells for Hair Regenerative Medicine. ACS Biomater. Sci. Eng. 12, 1704–1714 (2026).

4. Tu, S., Kageyama, T., Seo, J., Zhou, Y. & Fukuda, J. Development of in vitro hair pigmentation model using

hair follicle organoids. Journal of Bioscience and Bioengineering 139, 141–146 (2025).

5. Kageyama, T., Seo, J., Yan, L., Hamano, S. & Fukuda, J. Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth. Sci Rep 15, 24525 (2025).

毛包オルガノイドを用いた育毛・発毛素材の評価

「毛髪再生医療実証」グループ
景山　達斗

1.　はじめに

創薬開発の現場では、ハイスループットかつ正確に薬効を評価できる実験系が求められる。現在の育毛・発毛剤の評価では、「実験動物を用いた発毛試験」および「ヒト毛包の器官培養」が用いられている。前者は、マウスの背部皮膚を剃刀で脱毛し、そこに薬剤を毎日塗布することで、薬による毛の成長変化を観察する方法である。経皮吸収も含めて評価できるが、マウスとヒトの種差による有効性の違いがあるため、必ずしも正確な結果が得られる訳ではない。また，近年の化粧品業界の動物実験の規制により、本実験系の使用が禁止となっている企業も多い。後者は、ヒトの頭皮から毛包をくり抜き、採取した毛包に薬剤候補を振りかけて、毛の長さを測定する方法である。種差の影響がないため信頼性の高い評価が行えるが、ヒトから採取できる毛包の数に限りがあるため、大規模な薬剤スクリーニングは難しい。

我々は、これらの課題を解決するために、細胞から毛包のクローン「毛包オルガノイド」を再生する技術を開発した [1, 2, 3]。生体外で細胞を大量に増殖させれば、毛包オルガノイドは大量に作製でき、大規模な薬剤のスクリーニングが可能となる。毛包オルガノイドは、生体外で毛幹を伸長させるため、ヒト毛包の器官培養と同様に毛幹の長さを指標に育毛・発毛剤の有効性を評価できる。実際に、毛包オルガノイドに既存の発毛剤（ミノキシジル）を添加すると、ヒト毛包の器官培養と同様に、薬剤に応答して毛幹の伸長速度が増加する様子を確認している [2]。毛幹伸長を観察するのみで薬効を評価できる簡便性は、網羅的なスクリーニングを行う上で圧倒的メリットであり、この要素を兼ね備えた毛包オルガノイドは薄毛治療薬の開発を加速させる *in vitro* 培養モデルとして期待できる。これまでに、この毛包オルガノイドを利用して育毛・発毛素材の評価を進めてきた（図 1）[4-7]。本稿では、今年度得られた成果を中心に紹介する。

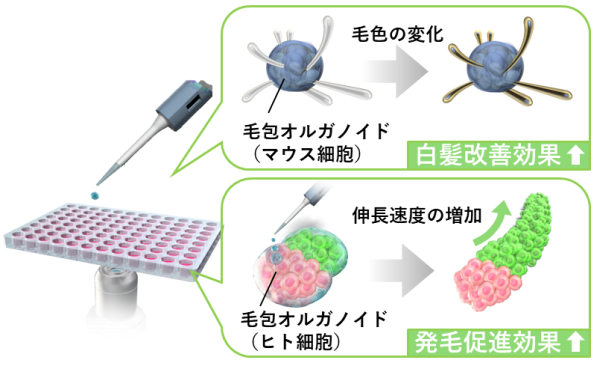
2.　実験と結果

(1)　ヒト毛包オルガノイドの作製技術

我々は、脱毛症治療薬のスクリーニングモデルとして、毛包オルガノイドが利用できるかの検討も進めている。この研究では、特に薬剤応答性が種差によって異なることを考慮し、ヒト細胞を細胞源に用いて、*in vitro* 培養モデルを構築している。ヒト毛乳頭細胞およびヒト毛包上皮細胞を 1：1 で混合した細胞懸濁液をスフェロイド培養プレートに播種し、マトリゲルをゲル化しない程の低濃度 (2 v/v%) で添加した培地で培養することにより、ヒト毛包オルガノイドを作製した [2]。2 種類の細胞は最初に単一の凝集体を形成した後、培養 4 日目には凝集体から毛幹様構造が形成し、培養 10 日目にはその長さは約 1 mm まで伸長した。形成した毛幹様構造は未熟ではあるが、毛髪コルテックスタンパクを形成しているなど毛髪としての特徴の一部が再現されている。

(2)　脂肪酸関連の育毛・発毛素材

脂肪酸は、皮膚のバリア機能を維持し、乾燥や肌荒れを防ぐなど皮膚の恒常性維持において重要な生体物質である。本研究では、毛包オルガノイドを用いて、脂肪酸が毛



毛包オルガノイドで有効性が認められた素材

添加因子	効果	分類
ミノキシジル	発毛促進	市販の育毛・発毛成分
オキシトシン	発毛促進	オキシトシン関連
ケイヒ酸	発毛促進	オキシトシン関連
WAY267464	発毛促進	オキシトシン関連
LIT001	発毛促進	オキシトシン関連
脂肪酸混合物	発毛促進	脂肪酸関連
セロトニン	発毛促進	セロトニン関連
スマトリプタン	発毛促進	セロトニン関連
α-MSH	白髪改善	メラノソーム生成
RGMB	白髪改善	メラノソーム輸送

図 1　毛包オルガノイドを用いた薬剤評価

包に与える作用を評価した。毛包オルガノイドの細胞に脂肪酸混合物を作用させると、毛包オルガノイドから伸長する毛幹様構造の長さが増加したことから、脂肪酸が育毛・発毛促進に関与している可能性が示された [8]。作用メカニズムとして、脂肪酸が HIF-1α の発現を向上させることで、毛乳頭細胞の発毛関連マーカー（LEF1、VCAN、ALP）の発現が増加したと考えられる。我々の先行研究において、毛乳頭細胞の発毛機能向上に HIF-1α が有効であることは報告していたが [9]、本研究では HIF-1α を脂肪酸により制御できることが明らかとなった。

(3)　セロトニン関連の育毛・発毛素材

我々は「セロトニン」の育毛・発毛作用に関しても、毛包オルガノイドを用いて評価を行った。セロトニンは脳や腸で産生されるホルモンであり、幸福感と関係があることから、幸せホルモンともよばれる。このセロトニンを毛包オルガノイドに添加すると、毛幹様構造の長さが有意に増加し（図 2）、ヒト毛包のオーガンカルチャーにおいても、セロトニン処理により毛幹の長さが有意に増加した [10]。これらの結果は、セロトニンに育毛・発毛作用があることを示唆している。セロトニン受容体をターゲットとした薬剤の一つに、片頭痛の治療薬として開発されたスマトリプタンがある。この薬剤を毛包オルガノイドに添加して発毛促進効果を検証した結果、スマトリプタンの添加により、オルガノイドの毛幹様構造の長さが有意に増加した。この結果は、セロトニン受容体をターゲットとした薬剤を、プロドラックとして育毛・発毛剤分野に応用できる可能性を示唆している。セロトニンは血液脳関門を通過しないため、毛包には腸で産生されたセロトニンが血液を通じて受け渡される。すなわち、セロトニンは腸－毛包相関に関わる因子である可能性が高い。腸内環境の改善による脱毛症治療という新たなアプローチも期待できるかもしれない。

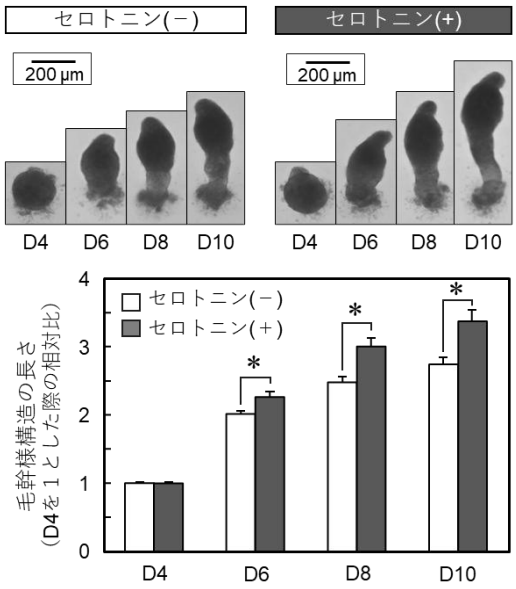


図 2　毛包オルガノイドを用いたセロトニンの評価、顕微鏡写真（上）と毛幹長の定量結果（下）

3.　まとめと今後の展望

本研究では、育毛・発毛素材の評価に毛包オルガノイドが利用できる可能性を明らかにした。今後、本評価系が毛髪科学分野の 1 つの評価系として利用されることに期待したい。一方、このモデルの課題として、生体外で毛周期まで観察できない点がある。休止期毛包の再活性化をターゲットとした脱毛症治療薬では、毛周期まで観察できることが好ましく、今後、毛包オルガノイド技術のさらなる深化が求められるだろう。

【参考文献】

[1] T. Kageyama, A. Shimizu, R. Anakama, R. Nakajima, K. Suzuki, Y. Okubo, J. Fukuda, Reprogramming of three-dimensional microenvironments for in vitro hair follicle induction, Sci Adv 8(42) (2022) eadd4603.

[2] T. Kageyama, H. Miyata, J. Seo, A. Nanmo, J. Fukuda, In vitro hair follicle growth model for drug testing, Sci Rep 13(1) (2023) 4847.

[3] T. Kageyama, R. Anakama, S. Hamano, S. Tu, Y. Migita, T. Asaba, A. Nanmo, K. Ishikawa, L. Yan, J. Seo, J. Fukuda, Hair follicle organoids using human iPSC-derived ectodermal precursor cells for hair regenerative medicine, ACS Biomat Sci Eng (2026).

[4] S. Tu, T. Kageyama, J. Seo, Y. Zhou, J. Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, J Biosci Bioeng 139(2) (2025) 141-146.

[5] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Effects of oxytocin on the hair growth ability of dermal papilla cells, Sci Rep 13(1) (2023) 15587.

[6] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Effects of oxytocin receptor agonists on hair growth promotion, Sci Rep 14(1) (2024) 23935.

[7] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, J. Fukuda, Cinnamic acid promotes elongation of hair peg-like sprouting in hair follicle organoids via oxytocin receptor activation, Sci Rep 14(1) (2024) 4709.

[8] J. Seo, K. Matsumoto, A. Nanmo, S. Tu, D.W. Jeong, Y.S. Chun, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda, The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway, Sci Rep 15(1) (2025) 4621.

[9] J. Seo, L. Yan, T. Kageyama, A. Nanmo, Y.S. Chun, J. Fukuda, Hypoxia inducible factor-1alpha promotes trichogenic gene expression in human dermal papilla cells, Sci Rep 13(1) (2023) 1478.

[10] T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, S. Hamano, J. Fukuda, Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth, Sci Rep 15(1) (2025) 24525.

毛乳頭細胞の機能回復における低酸素環境の役割

「毛髪再生医療実証」グループ
YAN LEI

1. はじめに

細胞移植による毛髪再生治療は、2024 年に資生堂が国内医療機関において自由診療として開始した。資生堂の毛髪再生治療では、特定細胞加工物（増殖培養した毛球部毛根鞘細胞）を脱毛症患者の頭皮に注入し、休止期毛包の活性化を介して発毛を促進することが報告されている。

一般に、細胞移植を用いた再生医療においては、特定細胞加工物の品質が治療効果を大きく左右する。特に、毛髪再生治療に用いられる細胞源（毛球部毛根鞘細胞や毛乳頭細胞）は、増殖培養過程において毛髪誘導能を著しく喪失しやすいことが知られており、高機能を維持したまま細胞を増殖させる培養技術の確立が、治療効果向上の鍵となる。

このような背景のもと、我々は毛髪再生治療に用いられる細胞源、特に毛乳頭細胞に着目し、その増殖培養技術の開発を進めてきた。これまでに、電気刺激培養[1]やゲルビーズ培養[2,3]など、毛髪誘導能の維持・向上を目的とした培養技術を開発している。さらに、毛乳頭細胞を長期間（30 日間）平面培養することで、従来のスフェロイド培養と比較して毛髪再生能を維持しつつ増殖可能な新規培養法を確立した（特許第 7380998 号、PCT/JP2023/006551）。本培養法においては、毛髪再生に関連する遺伝子（ALP 遺伝子）の発現がスフェロイド培養の 2 倍以上に増加し、細胞数は 30 日間で約 20 倍に増殖することを確認している。

我々は本培養法を「重層化培養」と定義し、現在、実用化に向けた検討を進めている。2024 年度には、共同研究先であるロート製薬に対して本技術の移転を実施し、企業研究者による再現性の検証を行った。その結果、細胞培養手法の再現、遺伝子発現解析および細胞増殖評価において、重層化培養の有効性が確認されている。また、臨床応用を見据えた培養条件の最適化についても検討を進めている。

一方で、重層化培養による毛乳頭細胞の機能回復の分子機序は未だ十分に解明されていない。さらに、非侵襲的に得られる細胞を用いた安定的な細胞製造および品質管理手法の確立も重要な課題である。

そこで本研究では、重層化培養環境における低酸素（hypoxia）状態に着目し、毛乳頭細胞の機能回復機構の解明を試みるとともに、低酸素環境を利用した細胞機能制御および品質評価指標の確立を目指す。

2. 実験と結果

(1) 酸素分圧の測定装置

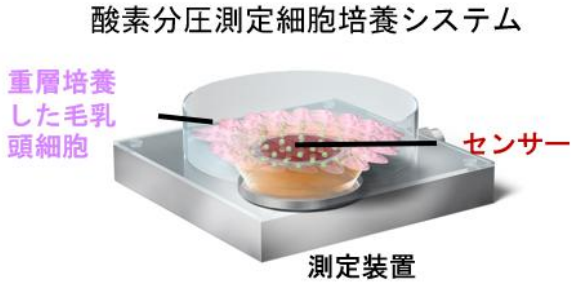


図 1　酸素分圧測定装置

まず、酸素分圧測定装置の開発を行い、日本エイブル株式会社にて作製した。酸素濃度の測定には、Able Biott JAPAN Co., Ltd（東京、日本）より提供された測定装置（THA-450-16SL）および専用センサーを用いた。測定装置は使用前にキャリブレーションを実施した。0%酸素濃度の校正には、2%亜ジチオン酸ナトリウムを添加した Milli-Q 水を用い、22%酸素濃度の校正には Milli-Q 水単独を用いた。

その後、酸素センサーを内蔵した培養ディッシュ上に毛乳頭細胞を播種し、重層化培養を行った。培養期間中、細胞周囲の酸素分圧を経時的に測定し、重層化培養環境における酸素動態の解析を行った。

(2) in vivo 試験

ヒト毛乳頭細胞を播種し、30 日間にわたり重層化培養を行った。培養期間中、細胞周囲の酸素分圧を経時的に測定した。実用化を見据えた評価として、従来培地である FBS 含有 Follicle Dermal Papilla Cell Growth Medium（PromoCell）（DPCGM）および、生産用途を想定したロート製薬株式会社製の EMP-1 培地を用いた。

その結果、両培地ともに培養 5 日目（細胞がコンフル

エントに達した時点）以降、酸素分圧の低下が認められた。培養 30 日目においては、DPCGM では酸素分圧が約 17%まで低下したのに対し、EMP-1 培地では約 12%まで低下しており、より強い低酸素環境が形成されていることが確認された。

さらに、低酸素応答因子である HIF-1 α の発現を解析したところ、EMP-1 培地においては DPCGM と比較して 5 倍以上の発現増加が認められた（図 2）。これらの結果から、重層化培養において EMP-1 培地はより顕著な低酸素環境を誘導し、毛乳頭細胞の低酸素応答を強く活性化する可能性が示唆された。

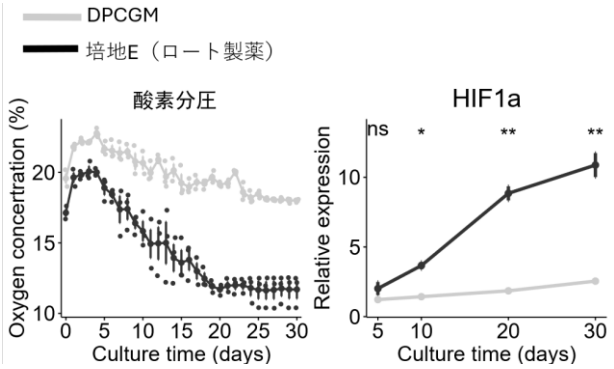


図 2　重層化による酸素分圧の低下及び低酸素因子の変化

毛乳頭細胞の機能回復を評価するため、関連マーカー遺伝子の発現を解析した。その結果、低酸素環境下においてこれらの遺伝子発現が顕著に上昇することが確認された。特に、ロート製薬株式会社製の EMP-1 培地を用いた条件では、毛乳頭細胞マーカーである ALP の発現が従来培地と比較して約 100 倍に増加しており、機能回復が著しく促進されることが明らかとなった（図 3）。

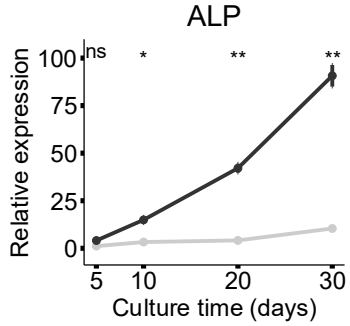


図 3　重層化培養に伴う毛乳頭細胞の機能回復関連マーカー遺伝子の発現変化

3. まとめと今後の展望

本研究では、酸素分圧測定装置を用いることで、重層化培養中における細胞周囲の動的な酸素分圧の変化をリアルタイムに測定することに成功した。また、異なる培地条件における酸素分圧の変化と毛乳頭細胞の機能回復との関連性を明らかにした。

再生医療の実用化、特に細胞の大量生産においては、細胞品質の管理が極めて重要である。そのため、機能が回復した細胞を迅速かつ正確に評価できる手法の確立が求められる。

本研究では、PCR 解析などの侵襲的評価法に依存せず、酸素センサーを用いた非侵襲的かつ連続的な評価手法の構築を試みた。本手法により、培養過程における細胞状態をリアルタイムかつ時系列で把握することが可能となり、細胞機能の指標として酸素分圧を活用できる可能性が示された。

今後は、本評価手法の精度および汎用性の検証を進めるとともに、低酸素環境と毛乳頭細胞の機能回復機構との関連について分子レベルでの解析を行うことで、より高度な品質管理技術の確立および再生医療への応用を目指す。

【参考文献】

[1]Zheng M, Jang Y, Choi N, Kim DY, Han TW, Yeo JH, et al. Hypoxia improves hair inductivity of dermal papilla cells via nuclear NADPH oxidase 4-mediated reactive oxygen species generation’. Br J Dermatol. 2019 Sept;181(3):523–34.
[2] Lei Yan, Jieun Seo, Tatsuto Kageyama, Junji Fukuda . ir Dermal papilla maintain its hair inducing characteristics via autocrine exosomal miR-23a-3p. bioRxiv.

業績

【原著論文】
（投稿掲載）

1. Kageyama, T. et al. Hair Follicle Organoids Using Human iPSC-Derived Ectodermal Precursor Cells for Hair Regenerative Medicine. ACS Biomater. Sci. Eng. 12, 1704–1714 (2026).

2. Asaba, T. et al. Human iPSC-derived cerebral organoids reveal oxytocin-mediated protection against amyloid-β pathology. Regenerative Therapy 30, 259–267 (2025).

3. Murayama, K. et al. Developmental Toxicity Assay Based on Real-Time Monitoring of Fibroblast Growth Factor Signal Disruption in Human Induced Pluripotent Stem Cells. JoVE 68910 (2025) doi:10.3791/68910.

4. Seo, J. et al. The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway. Sci Rep 15, 4621 (2025).

5. Kageyama, T., Seo, J., Yan, L., Hamano, S. & Fukuda, J. Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth. Sci Rep 15, 24525 (2025).

6. Migita, Y. et al. Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine. Journal of Bioscience and Bioengineering 139, 445–450 (2025).

7. Seo, J. et al. The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway. Sci Rep 15, 4621 (2025).

8. Tu, S., Kageyama, T., Seo, J., Zhou, Y. & Fukuda, J. Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids. Journal of Bioscience and Bioengineering 139, 141–146 (2025).

9. Yun, J. et al. Cancer Manipulates Adjacent Adipose Tissue to Exploit Fatty Acids via HIF‐1α/CCL2/PPARα Axis: A Metabolic Circuit to Support Tumor Progression. Advanced Science 13, e15186 (2026).

【口頭発表】

1. 右田裕起、立花龍弐、南茂彩華、景山達人、福田淳二、
In vitro hair reconstruction model for testing hair regeneration activity、化学工学会第 90 年会、2025 年 3 月 12 日-14 日、東京理科大学葛飾キャンパス

2.髙梨悠、Yan Lei、景山達斗、佐藤文仁、福田淳二、
毛髪再生医療のための毛包上皮幹細胞培養法、化学工学会第 90 年会、2025 年 3 月 12 日-14 日、東京理科大学葛飾キャンパス

3.福田淳二、
毛髪再生医療のためのバイオマテリアル技術、第 24 回日本再生医療学会、2025 年 3 月 20 日-22 日、パシフィコ横浜

4.西野未音、伊藤直哉、臼井俊博、福田淳二、
腸内細菌ビーズとシーソー型振盪培養器を用いた in vitro 腸モデル、第 32 回 HAB 研究機構学術年会、2025 年 5 月 8 日-9 日、湘南アイパーク

5.石川向陽、景山達斗、福田淳二、
オートファジー活性化によるヒト毛乳頭細胞の毛髪再生能の向上、第 32 回 HAB 研究機構学術年会、2025 年 5 月 8 日-9 日、湘南アイパーク

6.右田裕起、立花龍弐、南茂彩華、景山達人、福田淳二、
毛髪再生医療のための in vitro 発毛能評価モデル、第 32 回 HAB 研究機構学術年会、2025 年 5 月 8 日-9 日、湘南アイパーク

7.村山航己、福田淳二、
ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱を基にした発生毒性評価、第 32 回 HAB 研究機構学術年会、2025 年 5 月 8 日-9 日、湘南アイパーク

8.廣田京飛、大森清美、内田和歌奈、山岸夏望、小沼泰子、宮本健司、内田絢斗、白川真一、福田淳二、
Vision Transformer を用いた Bhas42 細胞形質転換試験のフォーカス判定モデルの構築、第 33 回 HAB 研究機構学術年会、2025 年 5 月 8 日-10 日、湘南アイパーク

9.福田淳二、
シグナル攪乱に着目した in vitro 発生毒性試験法、第 33 回 HAB 研究機構学術年会、2025 年 5 月 8 日-9 日、湘南アイパーク

10.景山達斗、福田淳二、
Oxytocin 関連発毛研究、ISSCR2025、2025 年 6 月 11 日-13 日、香港

11.村山航己、佐藤花音、松浦利絵子、Archana Mootha、平林容子、中島芳浩、大久保佑亮、福田淳二、

ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による精巣毒性物質の評価、第 52 回日本毒性学会学術年会、2025 年 7 月 2 日-4 日、沖縄コンベンションセンター

12.佐藤花音、村山航己、松浦利絵子、Archana Mootha、平林容子、中島芳浩、大久保佑亮、福田淳二、
ヒト iPS 細胞を用いた新型コロナウイルス感染症治療薬の発生毒性評価、第 52 回日本毒性学会学術年会、2025 年 7 月 2 日-4 日、沖縄コンベンションセンター

13.村山航己、佐藤花音、松浦利絵子、石川亜沙美、中元颯馬、平林容子、中島芳浩、大久保佑亮、福田淳二、
ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による精巣毒性物質の評価、第 65 回日本先天異常学会学術年会、2025 年 7 月 25 日-27 日、シンフォニアテクノロジー響ホール伊勢

14.福田淳二、
iPS レポーター細胞を用いた発生毒性試験、第 97 回日本組織培養学会大会、2025 年 8 月 21 日-22 日、山口東京理科大学

15.南茂彩華、鈴木敦、景山達斗、福田淳二、
毛髪再生医療のためのパーシャルリプログラミングによる細胞若返り、第 77 回日本生物工学会年次大会、2025 年 9 月 10 日-12 日、広島工業大学

16.石川向陽、景山達斗、福田淳二、
ヒト毛乳頭細胞におけるオートファジーの作用、第 77 回日本生物工学会年次大会、2025 年 9 月 10 日-12 日、広島工業大学

17.西野未音、伊藤直哉、臼井俊博、福田淳二、
創薬スクリーニングのための腸内細菌ビーズとシーソー培養を伴う in vitro 腸モデル、第 77 回日本生物工学会年次大会、2025 年 9 月 10 日-12 日、広島工業大学

18.景山達斗、福田淳二、
毛包オルガノイドを用いたセロトニンの発毛促進効果の理解、第 77 回日本生物工学会年次大会、2025 年 9 月 10 日-12 日、広島工業大学

19.滝本優南、景山達斗、福田淳二、
オキシトシンシグナルを介した育毛・発毛促進効果の評価、第 77 回日本生物工学会年次大会、2025 年 9 月 10 日-12 日、広島工業大学

20.出口佳哉、福田淳二、
ウォートンゼリー間葉系間質細胞の in vitro 免疫抑制能評価と I 型糖尿病への適用、第 77 回日本生物工学会年次大会、2025 年 9 月 10 日-12 日、広島工業大学

【記者発表・取材】
1.取材対応者 福田淳二
件名 所さん！事件ですよ
公表（予定）2026 年 3 月 14 日、NHK、取材 2025 年 12 月 16 日

【特許】
(1)国内特許出願　1 件
(2)国際特許出願　1 件

研究報告2026目次【研究開発部】

ライフサイエンス評価法開発研究

「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト

◆ 統括・・・

次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト

プロジェクトリーダー　石黒　斉

【基本構想】

本プロジェクトは、「感染症」、「未病」及び「再生・細胞医療」に関する評価サービスの提供による企業支援を推進していくとともに、新しい評価方法の提供に向けた研究開発を行っている。「感染症」に関しては、抗菌分野(JIS Z 2801)の ISO 17025 を取得しており、これに基づいた高い品質の抗菌・抗ウイルス性能評価サービスにより、各種団体の認証マーク取得に必要な結果を提供しており、企業の研究開発を推進する取り組みを行っている。更に、規格試験では対応できない抗菌・抗ウイルス材料や加工品について、それぞれのニーズに合わせた応用的な性能評価サービスを提案、提供している。「未病」に関しては、食品成分の機能性を明らかとすることにより、各企業の製品の付加価値を高めるための機能性評価サービスを提供している。具体的には化学技術部と連携をしながら食品の成分分析や食品成分の細胞に対する作用を遺伝子発現の変動を検討することで、食品成分の機能性評価を行っており、「ワンストップ型食品機能性評価サービス」として神奈川県の未病ブランドの認定を受けている。「再生・細胞医療」に関しては、細胞の特性を理解し、品質を評価するサービスである品質評価基盤の構築に向けた取り組みに加えて、新たにスタートアップ企業に対するレンタルラボの整備や人材育成セミナーの開催を行い、スタートアップ企業の製品開発の加速化に向けた基盤を構築する活動を行っている。

1.　2025 年度の研究目的

2025 年度の主要な研究項目は以下の通りである。

1-1. 各種相談に応じた性能評価の提供

各種規格に合わせた性能評価方法を提供し、様々な企業の製品開発の支援を行う。また、規格対応不可能な加工品に関しては、可能な限り適した評価方法を提供できるように努め、研究開発の支援を行った。

1-2. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み

1-2-1. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み(感染症)

上記（1）に記載したように、規格対応不可能な加工品の依頼に対して、新しい評価方法を検討する必要があり、本検討では、①バイオフィルム形成に対する液剤の評価方法の検討及び②新しいウイルスサンプラーの作成と性能評価について、今後の評価方法の提供に向けて研究を行った。

1-2-2. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み(再生・細胞医療)

間葉系間質細胞（MSC）は様々な細胞によって構成された不均一な集団であり、入手先や培養条件等のロットの違いによって、その特性が異なることが知られている。再生細胞医療の現場において、MSC は様々な機能を発揮する一方で、その特性の違いが問題となっている。そのため、個々のロットによる違いを明らかとすることにより、そこに含まれる細胞の特性を解析することで、品質管理や評価方法の確立につながると考える。これまでに、我々は MSC のロット違いの状態をシングルセル RNA-seq 解析により明らかとしてきた。本研究では、ロットの違う MSC のシングルセル解析データ、マイクロアレイ解析データや画像解析データ等を基にして、複合的な Bioinformatics 解析手法の有効性と妥当性の検証を行った。

1-3. その他活動

ISO や JIS 等の国内外の性能評価試験方法や新しい評価方法の確立に向けた検討を推進するため、光触媒工業会や一般社団法人抗菌製品技術協議会と協力をしながら活動している。

2.　2025 年度の研究成果

各項目の研究成果は以下のとおりである。

2-1. 各種相談に応じた性能評価の提供

各種規格に合わせた性能評価方法を提供し、様々な企業の製品開発の支援を行った。新型コロナウイルスの感染が落ち着いた後も継続して抗菌・抗ウイルス加工製品の研究開発を進めている企業や研究機関も多く、また通常の規格試験では対応できない加工品の相談への対応に注力することが出来た。今後も性能評価サービスの提供を続けることで、研究開発支援に取り組みを続けていく予定である。

2-2. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み

2-2-1. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み(感染症)

2-2-1-1. バイオフィルム形成に対する液剤の評価方法の検討

抗バイオフィルム活性評価試験として、2023 年に ISO 4768 が制定されている。この方法は平板状の加工品を菌液中に一定時間静置後、形成されたバイオフィルムを染

色、ぬぐい取った液の吸光度測定により抗バイオフィルム活性を確認する方法である。この ISO 4768 では加工品の取り扱いを簡便にするために、ガラス板に貼り付ける方法がとられている。一方で、バイオフィルム中の生菌数の確認やよりハンドリングのしやすい手法の検討を行ってきており、磁石でガラス板に貼り付ける手法を開発してきた。本検討ではこの手法を用いて、液剤による抗バイオフィルム活性を生菌数測定の観点から検討した。

細菌株は齲蝕（虫歯）の代表的な原因菌である *Streptococcus mutans* を用いた。試験片とガラス板の間を磁石で貼り付けた点、培養条件等は異なるが、基本的な手法は ISO 4768 に沿って行った。バイオフィルム形成後に、液剤に所定時間浸漬、その後試験片のみを剥離し、超音波処理及び振盪によりバイオフィルムを回収した。その結果、生菌数の減少が認められた液剤及び認められなかった液剤が明らかとなった。また、浸漬時間が長くなることで、生菌数の減少が認められた。このことから、本検討では液剤に対して、生菌数測定という観点から抗バイオフィルム活性を評価できる可能性を明らかとした。

2-2-1-2. 新しいウイルスサンプラーの作成と性能評価

空間中に浮遊するウイルスが感染経路の一つとして知られている。そのため、空間中に存在するウイルスを効率よく捕捉、検出することが感染拡大を防ぐために重要である。これまでに空間中のシステムの研究開発が進められてきているが、感度や携帯性等の課題を解決したシステムの開発には至っていない。我々は、株式会社デンソーが研究を進めている小型のウイルスサンプラーについて共同研究を進め、ウイルス検出について評価を行った。

グローブボックス内にウイルスサンプラーを設置した上で、A 型インフルエンザウイルス液をグローブボックス内に噴霧した。噴霧方法はウイルスサンプラーの回収口にネブライザーを極力近づけた状態（直接噴霧）及びグローブボックス内のファンにネブライザーを近づけた状態（空間噴霧）の 2 通りを行った。

その結果、直接噴霧及び空間噴霧のいずれについても、噴霧したウイルス量に比例した捕集量が得られた。一方で、捕集効率については直接噴霧が空間噴霧と比較して高い傾向が得られた。

今後も共同研究を進めて行き、製品化につなげていくための取組みを進めて行く予定である。

2-2-2. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み(再生・細胞医療)

我々がこれまでに行ってきた MSC のシングルセル RNA-seq 解析により、ロット間の状態の違いを明らかとしてきた。一方で、シングルセル RNA-seq 解析で得られたデータは更に多方面からの検証が必要である。そこで、各種解析データを統合した Bioinformatics 解析の手法を作成することで、より詳細に細胞の状態を明らかにするためのシステム構築を試みた。

まず、通常行われているシングルセル RNA-seq 解析手法に沿って、クラスタリングを行い、そこから特徴的な遺伝子群の抽出を行った。引き続いて、Pseudotime 解析による遺伝子発現プロファイルを解析、細胞クラスターの状態がどのように遷移していくか検討し、その結果から、各細胞クラスターがどのような状態変化を行っているか推測することが可能となった。

更に、遺伝子発現解析に関してシングルセル RNA-seq 解析で得られたデータの信頼性や妥当性を確認するために、マイクロアレイ解析を行い、標的とした遺伝子群の発現解析を行った。その結果、標的とする遺伝子群の発現を確認することが出来た。

最後に MSC の画像解析データをハイコンテントイメージングシステムにより取得、AI を用いた詳細な検討を行い、これまでに得られているデータと連動する方法について検討を行った。

これらの一連の解析から、多面的な細胞評価が可能となる Bioinformatics 解析手法のワークフローを作成することが出来、今後の研究開発において、MSC のみならず様々な標的細胞に対する特徴づけや品質評価法に役立つと考える。

2-2-3. 新たな評価方法の提供に向けた取り組み（創薬クラスターキャンパス事業）

スタートアップ企業を始めとする多くの企業は再生細胞等加工製品を始めとする創薬研究を行う上で、実験室や機器類の整備が負担となっているケースが多く、この状況をどのように解決するかが大きな課題であった。その中で、2025 年度に厚生労働省より「創薬クラスターキャンパス整備事業」の募集があった。そこで、上記課題を解決すする研究場所の整備、高額機器を利用した細胞解析のセミナーや規制情報に強い人材を育成するセミナーを開催することを目的に本事業申請を検討した。また、地域クラスターとして川崎市及び公益財団法人実中研の 3 機関で殿町地区における *in vitro* から *in vivo* までの研究開発を可能とし、更に人材の育成を可能とする事業として申請を行った。

その結果、全機関で採択を受けることができ、具体的な研究設備の整備、セミナーの準備にとりかかった。

2-2-3-1. 研究施設の整備

研究施設の整備に関しては、殿町にある Research Gate Building 2（RGB2）の 3 階に慶應義塾大学の協力を得ながら整備を進めた。施設はウイルスベクター等の利用や様々な細胞株を用いる可能性を考慮して、バイオセーフティ ーレベル 2、P2 の研究施設として整備を行った。本施設で提供することができる機器や利用方法の詳細については、下記 URL を参照することで確認可能である。

オープンラボ（KISTEC Bio Open Lab.）のご案内 - | KISTEC｜(地独)神奈川県立産業技術総合研究所
(https://www.kistec.jp/r_and_d/bio-open-lab/)

2-2-3-2. 人材育成セミナーの開催

人材育成の場として、整備した機器を用いた人材育成セミナーを開催した。本事業で整備したハイコンテントイメージアナライザー及び qPCR を使用した細胞解析手法について学ぶセミナーを開催した。用いた細胞は我々が既にシングルセル RNA-seq 解析やその他の分子生物学的な解析を行い、特性を明らかにしている間葉系間質細胞である。受講者には実際に手を動かしてもらいながら、実際の解析手法と特性との関連性を体験してもらった。

更に、人材育成セミナーとして弊所人材育成部と連携して、細胞加工製品の開発について、各開発フェーズで考慮すべき規制内容や情報のポイント、ベンチャー企業の目線から研究開発で気を付けるべきポイント、レギュ

ラトリーサイエンスの視点から品質特性に関するポイントを学ぶ講座を開催した。昨年度開催の内容であるが、詳細は下記 URL を参照することで確認可能である。

細胞加工製品の開発設計ポイント - | KISTEC｜(地独)神奈川県立産業技術総合研究所
（https://www.kistec.jp/learn_cabinet/cellqc12025/）

いずれのセミナーについても、参加者からのアンケートでは好評を得ることが出来た。次年度についても、引き続きより良いセミナーを開催できるように進めていく予定である。

2-3. その他

ISO や JIS 等の国内外の性能評価試験方法や新しい評価方法の確立に向けた検討を推進、光触媒工業会や一般社団法人抗菌製品技術協議会と協力をしながら標準化活動を進めた。

ウイルスサンプラーによる空間中のウイルス捕集性能の評価法開発

「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト
永井　武

1.　はじめに

空間中に含まれる化学物質、微粒子及び微生物などの空気質をコントロールすることは、人々の健康および安全で快適な生活を守るためにも重要である。現在、空気質のうち、有害なガス成分や二酸化炭素などのガス状成分、PM2.5、花粉、黄砂などの微粒子および臭気を測定できるセンサーは、実用化されており家電から工業製品に至るまで広く実装されている。一方、昨今の新型コロナウイルスによるパンデミックでは、空気中のウイルスを検知することが技術的にも困難であった。そのため、人が密に集る病院、公共機関、職場や家庭内に至るまで、広く混乱が生じた。このようなことから、空気中のウイルスを特異的に検知する技術は、病原体による感染拡大を未然に防ぎ、人々の生活を維持する上でも、非常に有用であると考えられる。これまでも、研究段階では、エアサンプラーと PCR を組み合わせた系や、エアサンプラーと抗体での検出を組み合わせた系などが報告されているが、検出感度や特異性及び携帯性などにおいて課題が多い。現在、株式会社デンソーが、アプタマーと半導体センサーによる小型のウイルス検出器及び電荷チャージ方式によるウイルスサンプラーを開発中である。そこで、本研究では、株式会社デンソーと共同してサンプラーによる空気中のウイルスを検出する評価法を検討した。

2.　材料と方法

2-1 材料

・ウイルス：*Influenza A virus* (H3N2) A/Hong Kong/8/68 株 (A 型インフルエンザウイルス、ATCC VR-1679)
・宿主細胞：MDCK 細胞（ATCC CCL-34）
・増殖培地：E-MEM（非必須アミノ酸、抗生物質、10%FBS を添加）
・維持培地：E-MEM
・グローブボックス：フロー型グローブボックス（サンプラテック、G-1000S、375L）
・ネブライザー：メッシュ式ネブライザー（オムロン、NE-U22）

2-2 方法

2-2-1 ウイルス液の調製

A 型インフルエンザウイルスの宿主細胞である MDCK 細胞を増殖培地を用いて、T-75 のフラスコで約 95%コンフルエントまで培養する。培地を除去した後、維持培地で洗浄後、インフルエンザウイルスを接種（moi = 0.01）し、1 時間培養する。その後、維持培地を加え、約 4 日間培養する。細胞変性効果が確認されたら、培地を回収、遠心分離後、上清を回収しウイルス液として使用する。

2-2-2 ウイルスの噴霧

グローブボックスは、底面にシリカゲルを敷き詰めることで庫内の湿度を 9～12%に維持しておく。次に、2-2-1 で作製したウイルス液 1 ml を入れたネブライザー、ウイルスサンプラー、アルミ缶及びウイルス液を図 1 に示すグローブボックスに入れる。



図 1 グローブボックスの全景

直接噴霧の場合は、エアサンプラーの吸引口に直接噴霧する。一方、空間噴霧の場合は、庫内天井に設置したファンに向けて噴霧し、ファンを通じて庫内全体に緩やかにウイルスを拡散させる（図 2）。

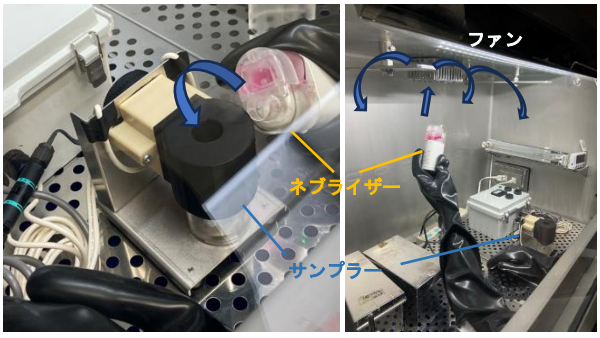


図 2 直接噴霧（左）と空間噴霧（右）

噴霧終了後、ウイルス液の残液量を測り、実際噴霧に使用したウイルス液量を計算する。

2-2-3 サンプリング

サンプラーの捕集容器は直径 40 mm×高さ 90 mm の円筒形で吸引ファンと放電電極、捕集電極を備えており、捕集電極には 4 ml の捕集液が接している。吸引した空気中のウイルスをコロナ放電で帯電させ、電気的に捕集電極に引き寄せられる際に捕集液に回収される。サンプラーのファンの風量は 40 L/min で、捕集時間は 10 分とした。

2-2-4 ウイルス感染価の測定

インフルエンザウイルスの感染価はプラーク法によって測定した。6 ウェルプレートに宿主細胞を約 95%コンフルエントに培養し、そこへウイルスを回収した捕集液および E-MEM で 10 倍の段階希釈をした希釈液をそれぞれ加える。1 時間培養後、寒天を加えた維持培地を重層し、4 日間培養する。固定および染色を行い、現れたコロニーの数からウイルスの感染価を計算する。

3. 結果

3-1 直接噴霧によるウイルスの捕集効率

ウイルスサンプラーの最大限の捕集性能を評価するため、直接噴霧での測定を行った。ネブライザーでウイルス液を噴霧している間、サンプラーを稼働させた。ウイルス液は約 10^8 ～10^4 pfu/ml の各濃度に調製し、それぞれを噴霧に用いた。ウイルスを捕集した捕集液中の感染価（pfu）をプラーク法で測定し、その結果を図 3 に示す。

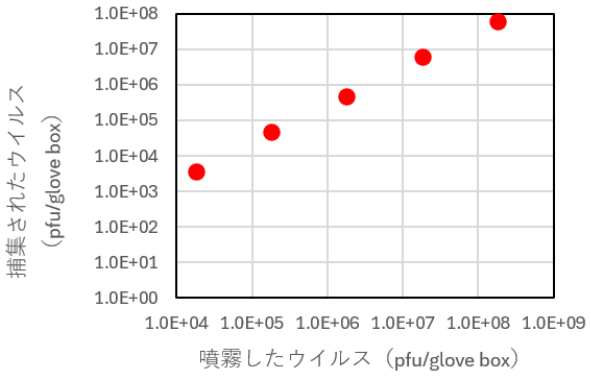


図 3 直接噴霧で捕集されたウイルスの感染価

噴霧したウイルスの量に比例して捕集できることが明らかとなった。また、得られた結果から、各噴霧での捕集効率を下記の式で求めた。

$$\text{捕集効率（\%）} = 100 \times \frac{\text{捕集されたウイルス（pfu）}}{\text{噴霧したウイルス（pfu）}}$$

その結果、直接噴霧での捕集効率は、20～34%と高い性能が示された。また、噴霧するウイルス濃度が高いほど捕集効率は高くなる傾向が見られた（図 4）。

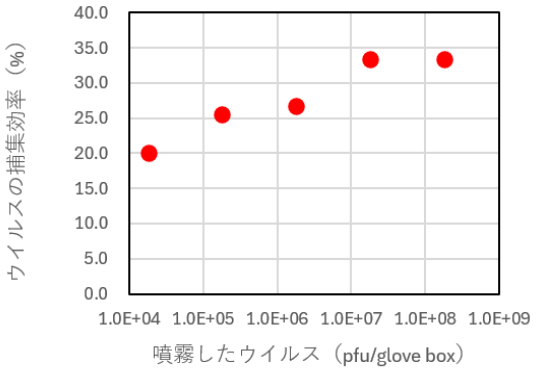


図 4 直接噴霧でのウイルスの捕集効率

3-2 空間噴霧でのウイルスの捕集効率

空間噴霧でのウイルスサンプラーの性能を評価するため、まずグローブボックス内にウイルス液を噴霧し、天井設置のファンで拡散させた。噴霧後に、サンプラーを 10 分間稼働させ、400 L の空気の捕集を行った。グローブボックスの庫内は、約 375 L であるため、全量を捕集したこととなる。捕集液中のウイルス感染価は、3-1 と同様にプラーク法にて測定した。その結果を図 5 に示す。直接噴霧同様、噴霧したウイルス量に比例して捕集されていることが分かる。一方、空間噴霧での捕集効率は、噴霧ウイルス量が増えると緩やかに低下する傾向が見られた。捕集効率は、2～5%であった（図 6）。

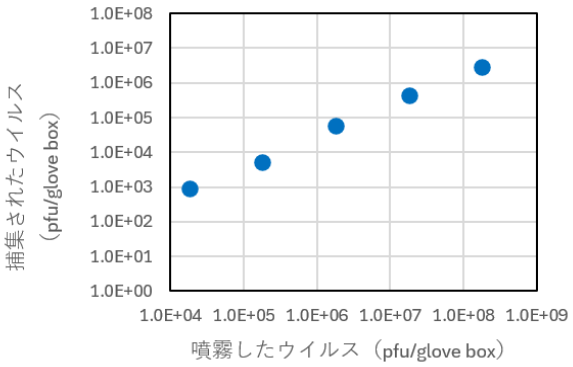


図 5 空間噴霧で捕集されたウイルスの感染価

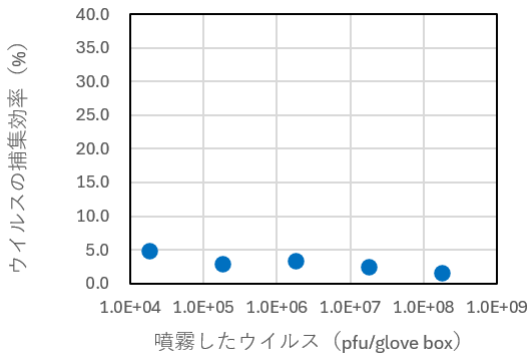


図 6 空間噴霧でのウイルスの捕集効率

上記の噴霧実験データは、N＝1 のものであり、測定のばらつきも重要となってくる。N＝4 または N＝5 での実験結果を図 7 に示す。ばらつきは見られるものの、評価系としては問題ない結果であった。

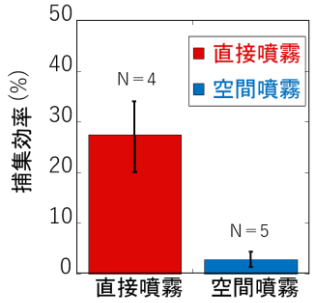


図 7 捕集効率のばらつき

4 今後の展望

ウイルスサンプラーによる空間中のウイルス捕集性能を評価するための試験系を構築することができた。今回使用した新規電荷チャージ方式のウイルスサンプラーは、試作段階のものであり、製品化を進める段階でも引き続き評価を通じて共同研究を続けていく予定である。

本研究は、株式会社デンソーとの共同研究として行い、室内環境学会学術大会（2025）にて発表を行った [1]。

【参考文献】

1. 中村 和也, 中川 和久, 糠塚 明, 永井 武, 石黒 斉, 澤田 和明, 室内環境学会学術大会講演要旨集, 124-125(2025)

Bioinformatics による再生医療等製品の細胞評価

「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト

河野　掌、石黒　斉

1. はじめに

近年、再生医療、創薬支援、安全性評価、疾患モデル解析などの分野において、培養細胞を用いた機能評価の重要性が高まっている。細胞の状態は、増殖、分化、成熟、老化、ストレス応答、薬剤応答、細胞形態変化など、多様な要素によって規定される。そのため、単一のマーカーや一つの機能試験のみで細胞状態を十分に評価することは困難であり、遺伝子発現情報、画像情報、機能評価データを組み合わせて解釈することが重要である。

Single-cell RNA sequencing（single-cell RNA-seq）は、細胞集団内に存在する不均一性を細胞レベルで評価できる有用な手法である。クラスタリング解析やマーカー遺伝子解析により、集団内に含まれる複数の細胞状態を可視化できる。また、pseudotime 解析を用いることで、分化、成熟、老化、ストレス応答などに伴う連続的な細胞状態変化や分岐構造を推定することが可能である。一方で、single-cell RNA-seq data には、解析コスト、サンプル数、バッチ効果、ドロップアウト、細胞解離に伴うバイアス、解析結果の解釈の複雑さといった限界がある。そのため、single-cell RNA-seq 解析のみで細胞機能を判断するのではなく、microarray 解析、画像解析、機能評価データ、実験条件やロット情報などのメタデータと組み合わせて解釈することが重要である。

本研究では、再生医療等製品に関わる細胞評価への応用を見据え、single-cell RNA-seq 解析、pseudotime 解析、microarray 解析、画像解析、機能評価データを組み合わせた Bioinformatics 解析ワークフローの検討を進めた（図 1）。既存の Linux 環境、R/Seurat、Python、R Markdown/Quarto を活用し、解析手順や出力結果を記録しながら、細胞状態を多面的に評価する方法を検討した。さらに、microarray 解析を用いて、single-cell RNA-seq 解析で得られた候補遺伝子やパスウェイの妥当性を確認し、解析結果の再現性を評価した。

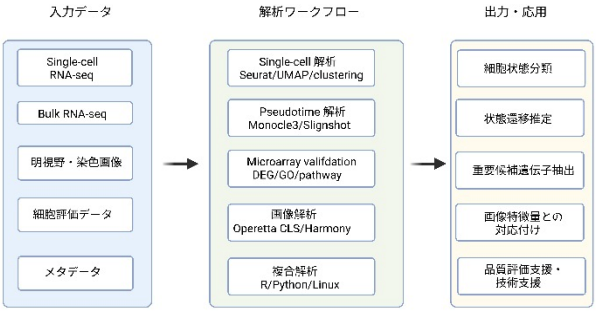


図 1　Bioinformatics 解析ワークフローの概要

Single-cell RNA-seq、microarray、画像データ、機能評価データ、メタデータを組み合わせて解析する流れを示す。Single-cell 解析および pseudotime 解析により細胞状態や状態遷移を推定し、microarray 解析により候補遺伝子・パスウェイの再現性を検証する。さらに、画像特徴量解析および機能評価データと対応付けることで、細胞状態や機能差を多面的に評価する。

2. 実験と結果

本研究では、細胞機能評価に用いる Bioinformatics 解析手法として、single-cell RNA-seq data、microarray data、画像データ、機能評価データ、メタデータを組み合わせて解釈するための解析ワークフローを検討した。解析環境として既存の Linux 環境を用い、FASTQ file、count matrix、画像データ、CSV 形式の機能評価データ、実験条件やロット情報などのメタデータを整理した。解析には主に R および Python を用い、R Markdown または Quarto により解析手順、入力データ、出力結果、図表を記録し、解析過程の再現性を確認できるようにした。

Single-cell RNA-seq 解析では、Cell Ranger 等により得られた遺伝子発現行列を R に読み込み、Seurat を用いて品質管理、正規化、次元削減、クラスタリング、細胞状態の可視化を行った。品質管理では、検出遺伝子数、UMI 数、ミトコンドリア遺伝子割合などを確認し、低品質細胞を除外した。正規化後、PCA、UMAP、クラスタリングを実施し、細胞集団内に含まれる複数の細胞状態を可視化した。

さらに、FindAllMarkers を用いて各クラスタの特徴遺伝子を抽出し、AddModuleScore、AUCell、GSVA などにより、分化傾向、細胞周期、代謝状態、ストレス応答、老化関連状態などの遺伝子セットスコアを算出した。複数サンプルを扱う場合には、Seurat integration や Harmony を用いてバッチ効果を補正し、サンプル間で比較可能な低次元空間を作成した。これにより、培養条件、ロット差、分化誘導、薬剤応答などに伴う細胞状態

の違いを評価するための解析手順を整理した。

Pseudotime 解析では、single-cell RNA-seq 解析で得られたクラスタ情報や低次元空間をもとに、Monocle3、Slingshot などを用いて細胞状態遷移を推定した。Pseudotime 解析により、細胞を遺伝子発現プロファイルの類似性に基づいて連続的に配置し、分化、成熟、増殖低下、老化様変化、ストレス応答などに関連する遺伝子発現変化を評価した。これにより、細胞集団を単なるクラスタとして分類するだけでなく、状態変化の方向性や分岐構造を推定することが可能である（図 2）。

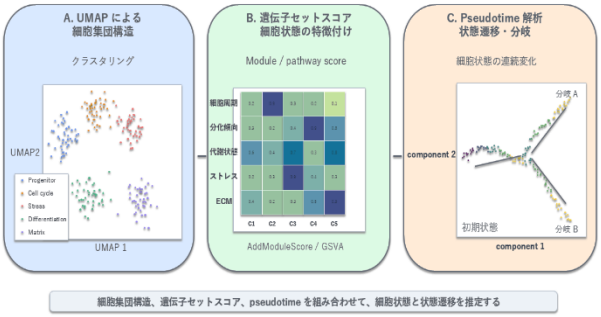


図 2　Single-cell RNA-seq 解析および pseudotime 解析による細胞状態評価

Single-cell RNA-seq data を Seurat/Scanpy により解析し、UMAP 上で細胞集団構造を可視化。各集団を特徴づけ、Monocle3 または Slingshot を用いた pseudotime 解析により、細胞状態の連続的変化や分岐構造を推定する。

また、市販のヒト間葉系間質細胞（MSC） 4 ロットについて、single-cell RNA-seq 解析で得られた細胞状態や遺伝子発現変化の妥当性を確認するため、microarray 解析を用いた検証を行った。Single-cell RNA-seq 解析は、細胞集団内の不均一性や細胞状態を高解像度に評価できる一方で、サンプル数、ドロップアウト、バッチ効果、細胞解離に伴うバイアスなどの影響を受ける。そのため、本研究では、single-cell RNA-seq 解析で抽出された遺伝子群やパスウェイについて、microarray 解析により試料全体の発現傾向として再現されるかを確認した。

Microarray 解析では、発現変動遺伝子解析、GO 解析、パスウェイ解析を行い、single-cell RNA-seq 解析で示唆された細胞周期、分化関連経路、代謝状態、ストレス応答、細胞外マトリックス関連経路などの変化を検証した。その結果、single-cell RNA-seq 解析で得られた候補遺伝子や経路変化の一部は microarray 解析においても確認され、解析結果の妥当性を支持する結果が得られた。一方で、microarray 解析単独では細胞集団全体の平均的な発現変化を反映するため、次元圧縮により細胞集団内の不均一性や少数細胞集団の寄与を直接捉えることは困難であった （図 3）。

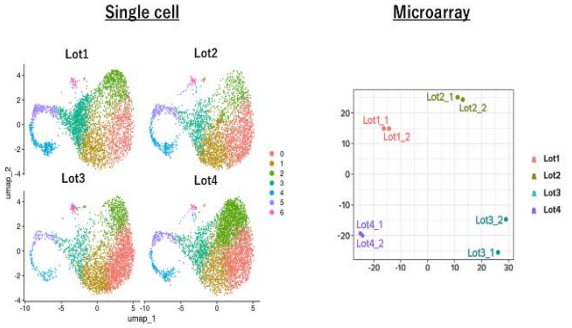


図 3　Single-cell RNA-seq 解析結果の microarray 解析による検証

市販ヒト MSC 4 ロットを対象として、single-cell RNA-seq 解析により各ロットの細胞状態分布を可視化し、同一試料の microarray 解析によりロット間の発現傾向を比較した。Single-cell RNA-seq 解析で示唆された細胞状態の違いの一部は、microarray 解析における試料全体の発現傾向としても確認された。

画像解析では、Revvity 社の Operetta CLS を用いて、高解像度の明視野画像および染色画像を取得し、Harmony software により AI を用いた細胞核数の計測、細胞形態、細胞面積、細胞密度、伸展性、染色強度、陽性領域、構造パターンなどの画像特徴量を定量化した。一例として、AI 処理により同定された細胞核の様子（図 4 左）と、MSC 4 ロットにおける培養日数による核数の変化（図 4 右）を示す。

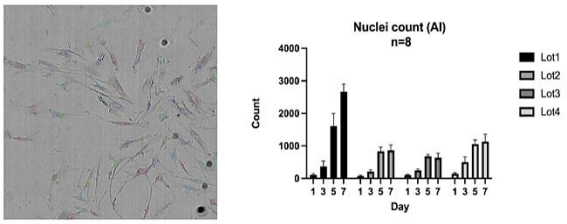


図 4　画像解析による細胞核検出および核数変化の定量

得られた画像解析結果は CSV 形式で出力し、R または Python を用いて single-cell RNA-seq 解析結果や機能評価データと対応付けた。R では tidyverse、ggplot2、pheatmap、ComplexHeatmap などを用いて、画像特徴量、遺伝子発現スコア、細胞状態、機能評価結果との関係を可視化した。Python では pandas、numpy、matplotlib などを用い、データ整形、統計解析、可視化を行った。

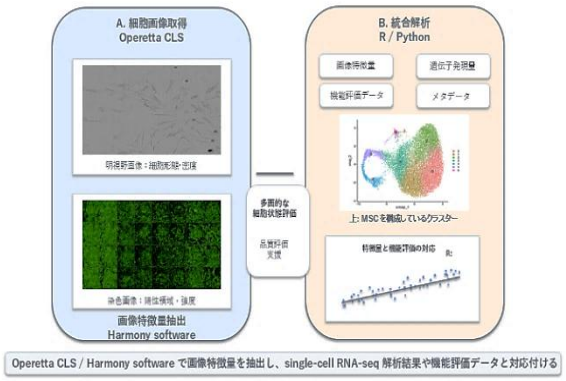


図 5　画像解析による細胞形態および機能評価

画像特徴量を single-cell RNA-seq 解析結果、機能評価データと対応付けることで、細胞状態を多面的に評価できる可能性が示された。

これらの解析を通じて、single-cell RNA-seq data、pseudotime 解析結果、microarray 解析結果、画像特徴量、機能評価データ、メタデータを組み合わせて解釈する Bioinformatics 解析ワークフローの有用性を確認した。具体的には、細胞集団内の不均一性、細胞状態の連続的変化、画像上の形態変化、増殖・分化・老化・薬剤応答などの機能評価結果を対応付けることで、細胞状態を多面的に評価できる可能性が示された。

また、本研究の解析手法をもとに、受託解析や、KISTEC 内外の研究者・技術者を対象とした教育講座およびオープンラボ（図 6）への展開を進めた。講座では、細胞培養実験、Linux や R 環境でのデータ管理、single-cell RNA-seq 解析、pseudotime 解析、microarray 解析、画像解析、統合解析の概要を紹介し、手技だけでなく Bioinformatics 解析技術の普及と人材育成を図った。



図 6　RGB2 3F に整備した KISTEC Bio Open Lab.

3. 考察及び今後の展望

本研究により、細胞機能評価においては、個別の実験データを単独で解釈するのではなく、single-cell RNA-seq 解析、pseudotime 解析、microarray 解析、画像解析、機能評価データ、メタデータを組み合わせて評価することが重要であることが示された。特に、Linux 環境を基盤とし、R/Seurat および Python を用いることで、解析手順を記録しながら、再現性を意識した Bioinformatics 解析を進めることができた。

Single-cell RNA-seq 解析は、細胞集団内の不均一性や細胞状態を高解像度に評価できる点で有用である。一方で、解析コスト、サンプル数、バッチ効果、ドロップアウト、細胞解離に伴うバイアス、解釈の複雑さといった限界を有する。そのため、single-cell RNA-seq 解析で得られた結果は、microarray 解析、画像解析、機能評価データと対応付けて解釈する必要がある。

Microarray 解析は、細胞集団全体の平均的な発現変化を反映するため、single-cell RNA-seq 解析のように細胞ごとの不均一性を直接評価することはできない。一方で、多検体を比較的安定して解析できる利点があり、single-cell RNA-seq 解析で得られた候補遺伝子やパスウェイの再現性を確認する検証手段として有用である。本研究では、single-cell RNA-seq 解析を探索的解析として用い、細胞集団内の不均一性や細胞状態を抽出した。そのうえで、microarray 解析により、これらの変化が試料全体の遺伝子発現傾向としても確認できるかを検証した。

Pseudotime 解析は、single-cell RNA-seq data から細胞状態の連続的変化や分岐を推定する有用な手法である。分化、成熟、老化、ストレス応答などの過程を理解するための仮説生成に役立つ一方で、pseudotime は実際の時間経過を直接示すものではない。開始点の設定、解析手法、クラスタリング、サンプル構成に影響を受けるため、時系列実験、機能試験、画像解析、qPCR、免疫染色などによる検証が必要である。

今後は、今回検討した Bioinformatics 解析手順をさらに整理し、細胞種や評価目的に応じて柔軟に適用可能な解析ワークフローとして体系化することを目指す。具体的には、single-cell RNA-seq 解析では Seurat および Harmony software を用いた品質管理・統合解析、pseudotime 解析では Monocle3 や Slingshot を用いた細胞状態遷移解析、microarray 解析では発現変動遺伝子解析およびパスウェイ解析による検証、画像解析では明視野画像および染色画像から得られる特徴量解析を組み合わせる。さらに、R Markdown や Quarto を用いて解析過程を記録し、共同研究や技術支援に利用可能な解析レポートとして整備することを目指す。

本解析ワークフローは、特定の細胞種に限定されず、iPS 細胞由来分化細胞、間葉系間質細胞、免疫細胞、疾患モデル細胞、創薬スクリーニング系、安全性評価系など、幅広い細胞評価へ応用可能である。今後は更なるデータの蓄積を通して細胞製品の品質評価に資する解析基盤としての機能を強化、また教育講座やオープンラボを通じて Bioinformatics 解析技術、single-cell RNA-seq 解析、pseudotime 解析、microarray 解析、画像解析、統合解析を外部へ展開し、共同研究の創出、人材育成、技術普及を進める。

これにより、KISTEC における Bioinformatics 支援および細胞機能評価技術の高度化を図るとともに、再生医療、創薬支援、安全性評価、疾患モデル解析に資する汎用的な解析手法としての展開が期待される。

【参考文献】

1. Stuart T. et al., Comprehensive integration of single-cell data. Cell, 177, 1888-1902, 2019.
2. Trapnell C. et al., The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells. Nature Biotechnology, 32, 381-386, 2014.
3. Cao J. et al., The single-cell transcriptional landscape of mammalian organogenesis. Nature, 566, 496-502, 2019.
4. Satija R. et al., Spatial reconstruction of single-cell gene expression data. Nature Biotechnology, 33, 495-502, 2015.

バイオフィルムに対する液剤の効力評価方法の検討

「次世代ライフサイエンス技術開発」プロジェクト
小林　慶一、永井　武、河野　掌、石黒　斉

1.　はじめに

歯の表面の歯垢（プラーク）や、台所、浴室・浴槽の内壁などでの「ぬめり」の正体はバイオフィルムである。バイオフィルムとは、細菌等の微生物やそれらが分泌する多糖類やタンパク質などの細胞外高分子物質が集合して形成される膜状の構造体である。細菌等がバイオフィルムを形成すると、薬剤に対しての耐性が上がり、汚染・感染源として問題となることもあることから、バイオフィルム対策は医療・歯科分野、食品・日用品分野など、各種分野で近年注目されている。

KISTEC では、2023 年 7 月に制定・発行された ISO 4768 (Measurement method of anti-biofilm activity on plastic and other non-porous surfaces)[1]を基にした抗バイオフィルム活性評価試験の受託試験サービスを提供している。ISO 4768 は、プラスチックやガラス、金属等の非多孔質の平板状の試験片表面への、表皮ブドウ球菌が形成するバイオフィルムの「付着しにくさ」の評価試験方法を規定した規格である。しかし、実際に抗バイオフィルム活性評価試験の相談を受ける研究開発段階のサンプルや材料の形状・性質、標的として希望する微生物等の種類、更には活性として評価を希望する観点（付着しにくさ、発生後の物理的な除去率、バイオフィルム中の生菌数など）は案件ごとに様々である。これらの案件に対しても、KISTEC では規格を参考に適した方法を考案・提案し、可能な限り対応に努めている。その一環として、我々は米国試験材料協会の試験規格 [3]のような専用のリアクター等を用いず、磁石を用いた簡便な試験片の固定によるバイオフィルム中の生菌数評価方法 [3]の開発を検討している。本稿では、当該評価法を利用した生菌数評価による、バイオフィルムに対する液剤の効力評価方法の検討の一部を報告する。

2.　実験と結果

前述のとおり歯の表面のプラークもバイオフィルムの一種であり、洗口液（マウスウォッシュ）や液体歯磨（デンタルリンス）などの市販の口腔ケア用品が液剤として安価かつ容易に入手できることから、これらを液剤として用いた試験系をモデル実験として採用した。

(1) 材料と方法

(1)-1 使用菌株と液剤試料

バイオフィルムを形成させる菌として、*Streptococcus mutans* NBRC 13955 を使用した。*S. mutans* は口腔内等に存在する通性嫌気性菌で、齲蝕（虫歯）の代表的な原因菌として知られている。スクロースを基質として *S. mutans* が多糖体のグルカンを生成し、これが虫歯の原因となるプラークを形成していく。

液剤試料としては、成分にイソプロピルメチルフェノール（IPMP）（図 1）を含んでいない市販品の洗口液（以下、「液剤 1」とする）、IPMP を含んでいる市販品の液体歯磨（以下、「液剤 2」とする）、そして対照試料としてリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を使用した。IPMP はプラスにもマイナスにも電荷を帯びない非イオン性の化合物であり、マイナスに帯電しているバイオフィルム表面に吸着されずにその内部まで浸透することができることから、バイオフィルムに対しても有効な薬剤として知られている。今回はモデル実験による評価方法の検証が目的であるため、予め明確な差異が期待でき、その差異が検出・評価できるか否かの系となることを主眼にこれら 2 種の市販品を液剤試料として選定した。

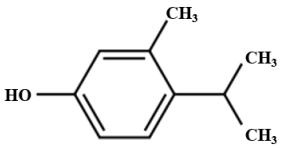


図 1 イソプロピルメチルフェノール（IPMP）

(1)-2 バイオフィルム形成

S. mutans NBRC 13955 が 10^5 cfu/mL 程度となるように調整した、0.5%スクロースを含む BHI（Brain Heart Infusion）液体培地 20 mL を滅菌済み容器に注ぎ、その中へ試験片として 30 mm×30 mm サイズのガラス板を以前報告した方法 [3]、すなわち磁石を利用した方法で基材に固定したうえで浸し、37°C、24 時間の嫌気培養をしてバイオフィルムを形成させた（図 2）。

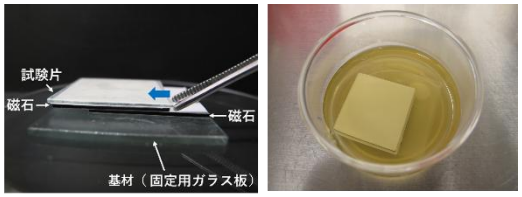


図 2 試験片の固定とバイオフィルム形成方法の概要
磁石を利用し、スライドさせることで簡単に外せるように試験片を基材に固定（写真左）し、BHI 液体培地で調製した菌液に浸し静置培養した。

(1)-3 液剤試料との反応とバイオフィルムの回収

上記 2. (1)-2 でバイオフィルムを形成させた後、滅菌水

約 200 mL で各試験片を基材ごと穏やかに濯ぎ、新たな滅菌済み容器に移した。その後、液剤試料をそれぞれ 20 mL ずつ注ぎ、室温で 30 秒間または 5 分間静置地した。所定時間静置後、再び滅菌水約 200 mL で各試験片を基材ごと穏やかに濯ぎ、試験片の縁をピンセットで軽く押し、磁石をスライドさせることにより試験片の表面を傷つけることなく、試験片だけを剥がし新たな滅菌済み容器に移した（図 3）。そこへ PBS 20 mL を注ぎ、超音波洗浄器（40 kHz）を利用して 5 分間超音波処理を行い、その後往復振盪（90 rpm、2 分）でよく撹拌し、試験片表面のバイオフィルムを回収した。

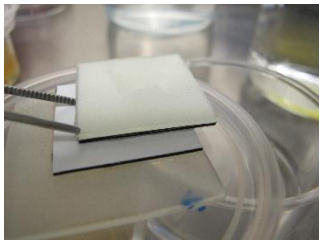


図 3 試験片回収の様子

(1)-4 バイオフィルムおよび培地中の生菌数計測

上記(1)-3 のとおり 20 mL の PBS で回収したバイオフィルム液を用いて 10 倍の希釈系列を作製し、TSY（Tryptone Soy Yeast extract）寒天培地に塗抹し、37°C、24 時間の嫌気培養を行った。培養後、出現したコロニー数をカウントし、生菌数を算出した。また、バイオフィルム形成のための培養後の培地についても同様に希釈系列を作製し、生菌数を算出した。

(2) 結果

対照試料、液剤 1 及び液剤 2 でそれぞれ所定時間浸漬し、回収したバイオフィルム中の生菌数を計測した結果（n＝3）を表 1、その生菌数を対数値に変換した結果を図 4 に示す。

表1　バイオフィルム中の生菌数

試料名	生菌数（cfu/sample）	
	浸漬30秒	浸漬5分
PBS	2.2×10^{8}	4.5×10^{8}
液剤1	1.9×10^{8}	2.4×10^{8}
液剤2	7.0×10^{6}	4.1×10^{5}

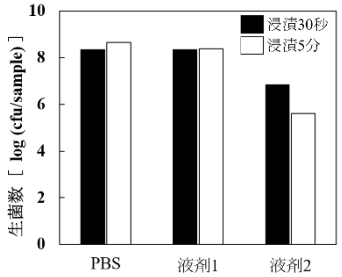


図 4 バイオフィルム中の生菌数の対数値

表 1 及び図 4 に示すとおり、液剤 1 に浸漬した場合のバイオフィルム中の生菌数は、5 分間浸漬した場合でも PBS に浸漬した場合とほぼ変わらなかったのに対し、液剤 2 に浸漬した場合の生菌数は PBS に浸漬した場合に比べ 30 秒間で 96.8%（約 2log CFU/sample）、5 分間では 99.9%（約 3log CFU/sample）減少していた。これらの生菌数の差は目視でも明確に観察された（図 5）。なお、バイオフィルム形成のための培養後の培地は、目視観察において菌の凝集等変わった様子を示したものはどの試験回にも無く、また培地中の生菌数もどれも 10^{7} cfu/mL 台の同程度となっていた。

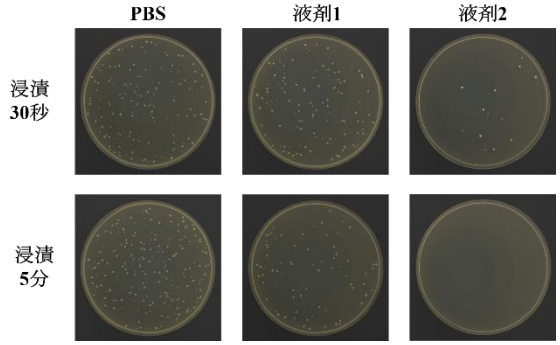


図 5 生菌数計測後の寒天培地写真の例
バイオフィルムを回収した液を TSY 寒天培地に塗抹し、37°C、24 時間嫌気培養。写真は希釈倍率 10^{5} 倍の回収液を塗抹した寒天培地で、白い点が生菌（*S. mutans* NBRC 13955）が形成したコロニー。

3. 考察及び今後の展望

液剤 1 には殺菌剤として塩化セチルピリジニウム（CPC）（図 6）が含まれているが、CPC はカチオン性の化合物（プラスの電荷を帯びる化合物）であるため、バイオフィルム表面に吸着し、表層の菌には作用するものの、その内部まで浸透して作用することができず、成分として IPMP を含む液剤 2 ほど生菌数が減少しないと予想される。結果に示すとおり、この予想と一致する評価結果が得られた。すなわち、液剤 1 と液剤 2 との間でのバイオフィルムに対する効力の差が生じていることを、磁石により試験片を固定する本試験系で捉えることができた。

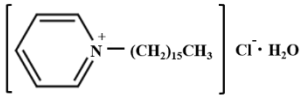


図 6 塩化セチルピリジニウム（CPC）

既存の手法 [2]で評価した場合の結果との比較など、検証することが望ましいと思われる点はまだあるが、今回のモデル実験を通して、磁石を用いた試験片の固定による生菌数評価が、バイオフィルムに対する液剤の効力評価に応用できる可能性を示すことができた。今後も抗バイオフィルム性能評価試験に限らず、抗微生物性能評価の受託試験として請けられる範囲拡張のための試行や検証を進めていく予定である。

【参考文献】

1. ISO 4768, Measurement method of anti-biofilm activity on plastic and other non-porous surfaces (2023)
2. ASTM E2871, Standard Test Method for Determining Disinfectant Efficacy Against Biofilm Grown in the CDC Biofilm Reactor Using the Single Tube Method (2021)
3. プロジェクト研究概要集 2025 年. 地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所. 2025 年. https://www.kistec.jp/kistec-manage/wp-

content/uploads/propj2025_jisedailife-1.pdf，（参照 2026-06-01）.

業績

【原著論文】

1.Ogawa N, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Processing and antiviral activity of Cu-modified ($Ce_{0.8}$, $Gd_{0.2}$)O_2-δ in the dark and under visible light. *Journal of the Ceramic Society of Japan*. 133[8], 474-480, 2025.

2.Nagai T, Mauliana A, Kobayashi K, Yamaguchi A, Miyazaki K, Yang Y, Takeshita J, Fujita T, Sunada K, Ishiguro H, Kondo T, Miyauchi M. Broad-spectrum antimicrobial effects of hydrogen boride nanosheets. *J. Mater. Chem. B.* 13, 5723, 2025.

3.Kiribayashi R, Miyazaki K, Nakane R, Sunada K, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Preparation of $La_2Sn_2O_7$, Mg_2SnO_4, and $MgSn(OH)_6$ and their antiviral and antibacterial activities. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 36:64, 2025.

4.Kiribayashi R, Sunada K, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Mochizuki Y, Nakajima A. Preparation and antiviral activity of La_2CuO_4 and $Y_2Cu_2O_5$, with mechanistic insights from first principles. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 17: 61872-61887, 2025.

5.Tomaru M, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Preparation and evaluation of antiviral activity of Zn-doped CeO_2 under dark and visible-light irradiation. *Journal of the Ceramic Society of Japan*. 134, 174-181, 2026.

【総説】

1.宮内 雅浩, 中野 竜一, 砂田 香矢乃, 山口 晃, 矢野 寿一, 永井 武, 石黒 斉. 室内環境で抗菌・抗ウイルス効果を発揮する光触媒(Cu_xO/TiO_2). バイオマテリアル —生体材料—.43 巻 2 号, 134-139, 2025.

【口頭発表】

1.石黒 斉. 再生・細胞医療の産業化に向けた取組について. KSF サイエンスフォーラム. 2025 年 12 月. 神奈川

2.石黒 斉. 殿町における KISTEC の取り組み. KISTEC Innovation Hub 2025. 2025 年 11 月. 神奈川

3.河野 掌. 一細胞トランスクリプトーム解析で評価する細胞の品質-MSC の品質管理. KISTEC Innovation Hub 2025. 2025 年 11 月. 神奈川

4.Fudauchi W, Sunada K, Mochizuki Y, Isobe T, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Improved antiviral performance and organic decomposition activity of Bi_2MoO_6 under visible light. The 15th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 2025 年 9 月. 神奈川

5.Kawazoe S, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Synthesis of Iodates from Ubiquitous Elements: Antiviral Properties and Textile Applications. The 15th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 2025 年 9 月. 神奈川

6.Kiribayashi R, Nakane R, Sunada K, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Mochizuki Y, Nakajima A. Antiviral activity and its mechanisms study on La_2CuO_4 and $Y_2Cu_2O_5$. The 15th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 2025 年 9 月. 神奈川

7.Miyazaki K, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Effect of mechanochemical treatment of Mn-based composite oxides on antiviral activity. The 15th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 2025 年 9 月. 神奈川

8.Nakane R, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Preparation of Bi/Ce-doped $Y_2Sn_2O_7$ and Rare-earth-doped $Bi_2Sn_2O_7$, and their Antiviral Activities. The 15th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 2025 年 9 月. 神奈川

9.Tomaru M, Mochizuki Y, Isobe T, Kobayashi K, Nagai T, Ishiguro H, Nakajima A. Synthesis of ($Ce1-xMx$)O_2-δ (M=Cu, Mg, Zn) and Their Antiviral Activity. The 15th International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics. 2025 年 9 月. 神奈川

10.宮崎 孝太郎, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島章. Mn を含む各種複合酸化物の作製とその抗ウイルス活性. 日本防菌防黴学会第 52 回年次大会. 2025 年 9 月. 三重

11.桐林 龍寿, 中根 陸, 砂田 香矢乃, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. 第一原理計算を用いた Cu 系複合酸化物によるバクテリオファージ Qβ ウイルスに対する抗ウイルス活性メカニズムの調査. 日本防菌防黴学会第 52 回年次大会. 2025 年 9 月. 三重

12.中根 陸, 桐林 龍寿, 砂田 香矢乃, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. 希土類ドープ $Bi_2Sn_2O_7$ の合成とその抗ウイルス活性. 日本防菌防黴学会第 52 回年次大会. 2025 年 9 月. 三重

13.外丸 瑞樹, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 中島 章, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉. ($Ce1-x,Mx$)O_2-δ (M=Cu, Mg, Zn)の作製とその抗ウイルス活性. 第 38 回秋季シンポジウム(公益財団法人日本セラミックス協会). 2025 年 9 月. 群馬

14.Ito T, Ishiguro H, Shimizu T, Shingubara S. Anti-virus performance of Si nanopillar array mimicking cicada wing surface. 51st International Micro and Nano Engineering Conference. 2025 年 9 月. Southampton (英国)

15.Ishiguro H. CD 18061-2 Antiviral activity with animal virus, UV. TC206/WG9. 2025 年 9 月. オンライン
16.Ishiguro H. CD 18071-2 Antiviral activity with animal virus, ILE. TC206/WG9. 2025 年 9 月. オンライン
17.Ishiguro H. ISO 18061-1 Antiviral activity with Qβ, UV. TC206/WG9. 2025 年 9 月. オンライン
18.Ishiguro H. ISO 18071-1 Antiviral activity with Qβ, ILE. TC206/WG9. 2025 年 9 月. オンライン
19.Ishiguro H. AWI 27447 Antibacterial activity, UV. TC206/WG9. 2025 年 9 月. オンライン
20.Ishiguro H. AWI 17094 Antibacterial activity, ILE. TC206/WG9. 2025 年 9 月. オンライン
21.Ishiguro H. Progress report for the standardization of antivirus activity by photocatalytic materials. Committee of Asian Standardization for Photocatalytic Material and Products 2025. 2025 年 10 月. オンライン
22.川添 照英, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. ユビキタス元素を用いたヨウ素酸化合物の合成：抗ウイルス活性と繊維製品への展開. 2025 年度色材研究発表会. 2025 年 10 月. 愛知
23.中根 陸, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. Bi/Ce ドープ $Y_2Sn_2O_7$ および希土類ドープ $Bi_2Sn_2O_7$ の作製とその抗ウイルス活性. 2025 年度色材研究発表会. 10 月. 愛知
24.札内 航, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島章. 暗所および可視光下における Bi_2MoO_6 の抗ウイルス活性および有機物分解活性の向上. 2025 年度色材研究発表会. 2025 年 10 月. 名古屋
25.平田 結麗, 河野 掌, 亀井飛鳥, 石黒 斉, 菅原 亨. TDP-43-ALS 患者 iPSC 由来 NSC における発現変動遺伝子の解析. 第 98 回日本生化学会大会. 2025 年 11 月. 京都
26.杉山 遥風, 河野 掌, 亀井 飛鳥, 石黒 斉, 菅原 亨. 血管内皮細胞に対する MSC パラクリン作用定量マーカー分子の探索. 第 98 回日本生化学会大会. 2025 年 11 月. 京都
27.中村 和也, 永井 武, 石黒 斉, 澤田 和明, 中川 和久, 糠塚 明. 浮遊インフルエンザウイルスを検出する革新的バイオセンシングシステム. 2025 年室内環境学会学術大会. 2025 年 12 月. 福岡
28.桐林 龍寿, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 望月 泰英, 中島 章. 機械学習による新規無機酸化物系抗ウイルス材料の探索. 日本セラミックス協会 2026 年年会. 2026 年 3 月. 神奈川
29.中根陸, 望月泰英, 磯部 敏宏、小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. 希土類ドープ $Bi_2Sn_2O_7$ の作製とその抗ウイルス活性. 日本セラミックス協会 2026 年年会. 2026 年 3 月. 神奈川
30.川添 照英, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井武, 石黒 斉, 中島 章. ユビキタス元素を用いたヨウ素酸化合物の合成：抗ウイルス活性と繊維製品への展開. 日本セラミックス協会 2026 年年会. 2026 年 3 月. 神奈川
31.宮崎 孝太郎, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. Mn 系複合酸化物のメカノケミカル処理が抗ウイルス活性へ及ぼす影響. 日本セラミックス協会 2026 年年会. 2026 年 3 月. 神奈川
32.札内 航, 望月 泰英, 磯部 敏宏, 小林 慶一, 永井 武, 石黒 斉, 中島 章. 希土類ドープ Bi_2MoO_6 の作製とその有機物分解活性ならびに抗ウイルス活性. 日本セラミックス協会 2026 年年会. 2026 年 3 月. 神奈川
33.河野 掌, 永井 武, 小林 慶一, 石黒 斉. 一細胞トランスクリプトーム解析で評価する細胞の品質 -MSC の品質管理-. 第 25 回日本再生医療学会総会. 2026 年 3 月. 兵庫
34.三浦 巧, 高野 慈美, 河野 掌, 西村 仁孝, 山元 智史, 草川 森士, 黒田 拓也, 平井 孝昌, 石黒 斉, 澤田 留美, 石井 明子, 佐藤 陽治, 安田 智. 間葉系間質／幹細胞由来細胞外小胞の機能と細胞基材特性との関連解析. 第 25 回日本再生医療学会総会. 2026 年 3 月. 兵庫

【特許】

2 件

研究報告2026目次【研究開発部】

戦略的研究シーズ育成事業

研究テーマ：内在性因子による造血幹細胞増幅法の開発

◆統括・業績・・・

内在性因子による造血幹細胞増幅法の開発

研究代表者：国立健康危機管理研究機構 国立国際医療研究所　田久保　圭誉

【基本構想】

多細胞生物を構成する各種の細胞は、それぞれが協調しながら臓器や個体が適切に作動するために固有の機能を発揮する。こうした細胞社会の作用の結果、それぞれの個体は恒常性を維持しながら生涯を過ごすことが可能になる。幹細胞は自己複製能と他分化能を有する細胞で、体内にある幹細胞（組織幹細胞）は日々組織の恒常性を維持するのみならず、細胞医療や臓器再生など、再生医学への応用が期待される細胞群である。体内の各臓器・組織には組織幹細胞が存在しているが、そのなかでも造血幹細胞は全ての血液・免疫細胞を産生する能力を持つ組織幹細胞である。哺乳類では骨の中・骨髄で自らを複製しながら、自身を維持し、必要なタイミングで必要な数の血液細胞を供給する。また、造血器腫瘍の根治療法である幹細胞移植に活用される細胞でもある。さらには、造血幹細胞レベルの単一遺伝子変異で生じる血液・免疫・代謝疾患において、造血幹細胞の遺伝子・細胞治療は重要なモダリティである。今後少子高齢化がさらに進む我が国においては、骨髄ドナーや臍帯血バンクに由来する造血幹細胞を含む移植細胞ソースは確保が困難になることが予想されている。治療における大きな障壁となり、医学的・社会的な問題が近い将来に生じる可能性が高い。

造血幹細胞を活用した医療を持続的に展開するためには、限られた幹細胞リソースを最大限に活用する必要があり、近年、造血幹細胞を体外で増幅する技術の開発が進められている。しかし、その効果は限定的である。一方、体内に存在するはずの、内在性の造血幹細胞に自己複製を誘導している因子は未発見であった。そのため、体内同様の造血幹細胞の自己複製誘導は達成されていなかった。

私たちのグループは、長く未発見であった内在性の造血幹細胞増幅因子（endogenous hematopoietic stem cell expander; EHE）を同定した。偶然同定された同因子は既存のベストとされる造血幹細胞培養法よりも高い幹細胞増幅活性を有しており、独自かつ有望な幹細胞増幅手法を提供する。つまり、今回同定した因子を用いて幹細胞培養を追究・洗練して、治療技術シーズを整える必要性は高い。

そこで本研究では、私たちが同定した内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構を解明しながら、幹細胞活性・性質を維持したまま造血幹細胞を増幅する培養技術を開発することを目的とし、2 つの研究項目「内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構の解明」および「内在性造血幹細胞増幅因子による試験管内増幅条件の同定」を設定して、令和 6 年度から 2 年間にわたり造血幹細胞医学に貢献する知見を得ることを目指した研究開発を進めてきた。本稿では、最終年度にあたる令和 7 年度の成果を中心に、2 年間の研究の到達点を報告する。

1.　研究目的

造血幹細胞は全ての血液・免疫細胞を産生する能力を持つ組織幹細胞である。ヒトを含む哺乳類の造血幹細胞は、骨髄に存在する特殊な微小環境（ニッチ）で自らを複製しながら、自身の数と機能を維持し、必要なタイミングで必要な数の血液細胞を供給することで造血システム全体を生涯にわたって維持する。造血幹細胞は、造血器腫瘍の根治療法である幹細胞移植に活用される細胞でもある。さらには、造血幹細胞レベルの単一遺伝子変異で生じる血液・免疫・代謝疾患において、造血幹細胞を用いた遺伝子・細胞治療は重要なモダリティである。一方、今後少子高齢化がさらに進んでいく我が国においては、骨髄ドナーや臍帯血バンクに由来する造血幹細胞を含む移植細胞ソースは確保が困難になることが予想されている。その結果、各種の造血幹細胞を活用した治療における大きな障壁が出現して、医学的・社会的な問題が近い将来に生じる可能性が高い。

限られた幹細胞リソースを活用する必要があるために、近年造血幹細胞を体外で増幅する技術の開発が進められているが、その効果は限定的である。一方、体内に存在するはずの、内在性の造血幹細胞に自己複製を誘導している因子は未発見であった。そのため、体内同様の造血幹細胞の自己複製誘導は達成されていなかった。

このたび私共のグループは、長く未発見であった内在性の造血幹細胞増幅因子を同定した。偶然同定された同因子は既存の培養法よりも高い幹細胞増幅活性を有しており、独自かつ有望な幹細胞増幅手法を提供する。つまり、今回同定した因子を用いて幹細胞培養を追究・洗練

して、治療技術シーズを整える必要性は高い。

そこで本研究では、私たちが同定した内在性造血幹細胞増幅因子（endogenous hematopoietic stem cell expander; EHE）の作動機構を解明しながら、幹細胞活性・性質を維持したまま造血幹細胞を増幅する培養技術を開発することを目的とし、それらに基づく加齢幹細胞の若齢化誘導や遺伝子編集法の開発につながる研究開発を進めることとした。

具体的には、2 年間の到達目標として、EHE を作用させた造血幹細胞のオミクス解析、シグナル解析、EHE 受容体の探索・同定を通じて EHE の「作動機構の解明」を行うこと（研究項目①）、ならびに各種の培地条件を網羅的に検討し、特にヒト造血幹細胞の増幅培養条件を同定することで「EHE の試験管内増幅条件の同定」を行うこと（研究項目②）を設定した。

2. 研究成果

本研究では、【研究項目①】内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構の解明と、【研究項目②】内在性造血幹細胞増幅因子による試験管内増幅条件の同定を両輪として研究を展開し、EHE の機能解明に基づいた増幅法の技術開発を進めた（図 1）。初年度（令和 6 年度）にはマウス造血幹細胞を中心に EHE の効果と作動機構に関する基盤的な検討を行い、第 2 年度（令和 7 年度）には、その成果に基づいて応用展開の可能性を見出すべく多面的な研究を実施した。研究は、国立健康危機管理研究機構 国立国際医療研究所（旧・国立国際医療研究センター研究所）造血システム研究部を拠点として実施した。以下、初年度の成果を概括したうえで、令和 7 年度の成果を報告する。

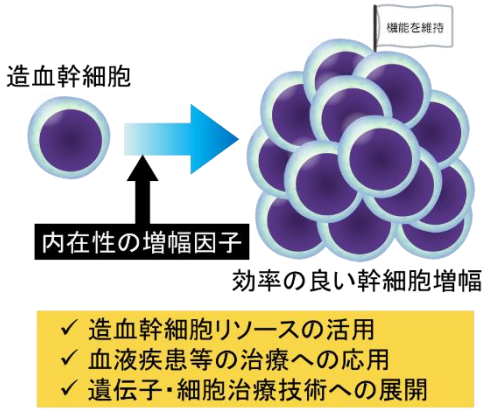


図 1　内在性造血幹細胞増幅因子（EHE）を活用した造血幹細胞増幅法の概念図。EHE は造血幹細胞の機能を維持したまま効率よく増幅し、幹細胞リソースの活用、血液疾患治療への応用、遺伝子・細胞治療技術への展開が期待される。

（1）初年度（令和 6 年度）の成果の概要

EHE の発見は、造血幹細胞エイジングの研究過程における偶然の産物であった。加齢に伴いあらゆる細胞は機能が変化し、その結果として個体の老化が進む。線維芽細胞を中心とした研究から、加齢に伴って細胞は増殖を停止し、炎症性のサイトカイン・ケモカインを産生することが知られるようになったが、造血幹細胞の加齢変化については不明な点が多かった。私たちは、加齢造血幹細胞で発現が上昇する因子を若齢造血幹細胞に発現させることで造血幹細胞エイジングに寄与する因子を探索し、その一つとして、ミトコンドリア呼吸鎖複合体 II のアセンブリーを促進する SDHAF1 が加齢造血幹細胞に代謝学的頑健性を付与することを論文発表した（Watanuki et al., Cell Stem Cell 2024）。この成果は、加齢で発現が上昇する因子のスクリーニングが造血幹細胞エイジングの分子機構の同定に有効であることを示すものであり、その過程で、候補因子の一つについて造血幹細胞エイジング誘導効果を検討することとなった。当該分子を添加した条件では、培養後の細胞クラスター内の造血幹細胞の割合と絶対数の双方が増加していた。この分子の効果から、同分子を EHE として本課題の検討を進めることとなった。

まず、EHE には関連分子や修飾体が存在することから、造血幹細胞の培養時に EHE および類縁分子群をそれぞれ添加し、14 日間の長期培養で造血幹細胞を維持・増幅できるのは類縁分子群の中で EHE のみであった。

既存法でベストとされる合成ポリマー添加培養との比較を行った。14 日間培養した造血幹細胞を移植し、移植後 4 か月まで 1 か月ごとに末梢血キメリズムを解析したところ、EHE 培養はポリマー添加培養に比べて有意に高い末梢血再構築能を発揮し、これは B 細胞、顆粒球、T 細胞の各系列についても同様であった。あわせて、培地交換の要否、培養プレートの形状、基本培地とその添加物についても評価を行い、EHE 培養に必要な添加物を同定して改良版の EHE 培地を作製した。

（2）令和 7 年度の成果

【研究項目①】内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構の解明

令和 7 年度は、初年度に確立した基盤的な検討に基づき、その応用展開の可能性を見出すべく多面的な研究を実施した。研究項目①では、初年度に引き続き、EHE が造血幹細胞に自己複製を誘導するメカニズムの解析を進めた。なお、初年度に着手した化合物スクリーニングについても、EHE 培養の改善に資する候補物質の探索を継続した。

【研究項目②】内在性造血幹細胞増幅因子による試験管内増幅条件の同定

初年度に至適化を進めた EHE による増幅条件のうち、ヒト造血幹細胞に対して、表面マーカーや遺伝子発現プロファイル等の形質の上でとりわけ良好な試験管内増幅効果を示すものを中心に、移植モデルを用いてさらに検討した。

（3）今後の展開

以上の成果を踏まえ、今後は EHE を核として、臨床実装が可能なヒト造血幹細胞の増幅培養プラットフォームを確立し、知財を創出しながら実用化への道筋をつける。さらに、これらの技術とその価値を高めるために、EHE が活性化する自己複製シグナル経路、EHE 受容体、

機械刺激受容機構、ならびに新規の増幅剤候補のスクリーニングといった独自の EHE 関連の知見を深掘りする。このために、高効率の造血幹細胞解析、次世代ヒト化マウスモデル、各種オミクス解析、構造生物学等の独自技術を含む先進的な手法を動員し、既存のポリマー添加培養法を凌駕する機能的な造血幹細胞増幅を、低毒性のプロセスとして実現する。今後 4 年間で、①臨床グレードの培養条件の決定、②同定した受容体や機械刺激受容機構を標的とした移植改善法の実証を達成し、知財と標準作業手順を整備して事業化へと接続することで、神奈川県発の新たな造血幹細胞医療の創出を目指す。

本研究は令和 7 年度をもって戦略的研究シーズ育成事業としての 2 年間の研究期間を終了し、令和 8 年度からは KISTEC 有望シーズ展開事業「造血幹細胞医療革新」プロジェクトとして研究開発を継続している。同プロジェクトでは、内在性の因子を軸に、①造血幹細胞を増やす培養法の確立と最適化、②増やした細胞を活かす新しい治療法への展開、③移植した細胞の生着を高める手法の開発、の 3 つの方向から研究開発を進める。①では内在性因子を基盤とした培養法をさらに改良し、培養前後の細胞の状態を遺伝子レベルまで詳細に調べることで有効な因子や条件を効率よく見出し、高い増幅効果と再現性の両立を目指す。②では安定して増やせるようになった造血幹細胞を、遺伝子を導入して機能を補う遺伝子治療など新しい治療法の基盤とし、これまで細胞数の制約から難しかった治療の設計に道を開く。③では増やした造血幹細胞が体内で確実に生着し造血を速やかに再構築する過程を詳細に解析し、移植成績のさらなる向上を目指す。これらを通じて、より多くの患者に、より安全で効果の高い移植医療を届けるとともに、次世代の造血幹細胞医療へと発展させることを目指す。

業績

【原著論文】

1.Morikawa T, Fujita S, Sugiura Y, Tamaki S, Haraguchi M, Shiroshita K, Watanuki S, Kobayashi H, Kanai-Sudo H, Naito Y, Hayakawa N, Matsuura T, Hishiki T, Matsui M, Tsutsui M, Suematsu M, Takubo K., *Nat Commun*, 16(1), 5475(2025)

【口頭発表】

1.Keiyo Takubo
Self-renewal and aging of hematopoietic stem cells
52nd IMSUT Founding Commemorative Symposium “Frontiers in Hematology Research”、2025 年 5 月、東京

2.田久保 圭誉
造血幹細胞の加齢変化の分子機構
第 37 回日本神経免疫学会学術集会、2025 年 8 月、千葉

3.田久保 圭誉
造血幹細胞とニッチの加齢変化
第 31 回八幡平造血セミナー、2025 年 8 月、盛岡

4.田久保 圭誉
骨髄の微小循環制御のエイジング
HypoxJP 2025、2025 年 9 月、東京

5.Keiyo Takubo
Identification of an endogenous expander for HSCs
ISEH2025、2025 年 9 月、熊本

6.Keiyo Takubo
Metabolic rewiring of HSCs in life and in culture
JSH2025、2025 年 9 月、神戸

7.田久保 圭誉
造血幹細胞が刻むリズム：静と動を操る
山梨大学・生命科学の最前線 特別シンポジウム“造血と生殖の最前線”、2025 年 10 月、甲府

【特許】

(1)国内特許出願　0 件
(2)国際特許出願　1 件

超高感度質量分析に向けたマイクロ流体技術の開発

研究代表者：慶應義塾大学　　嘉副　裕

【基本構想】

質量分析は、様々な分野における分析・検査に利用されており、近年では単一細胞プロテオミクスなどの超微量・超高感度分析への応用も期待されている。しかし、現状では分析対象である液体試料を質量分析計に導入・イオン化・検出する際に試料を噴霧するため、大部分が飛散してしまい、質量分析計への導入率が 1%以下に留まり感度に限界があるという原理的な問題がある。当グループは、独自のマイクロ・ナノ流体工学の方法論と技術に基づき、2 段階気液合流の流路構造を用いて液体試料を体積 fL の微小液滴に連続的に変換し方向制御して射出するマイクロ液滴シューターを創出し、質量分析計への試料導入率 100%と分析の 2 桁高感度化を達成した。しかし、従来の 2 次元微細加工ではデバイスの製造が難しく、更に、動作が不安定であるため液滴生成・射出の持続時間が短く、実用化に至っていない。本研究では、超微量・超高感度質量分析の実現とその応用に向けて、3 次元微細加工によるマイクロ・ナノ流体デバイス製造法を開発し、マイクロ液滴シューターにおける流体制御の問題を解消して安定な fL 液滴生成・射出を検証する。

1.　研究目的

質量分析（MS）は、バイオ、製薬、環境、食品など様々な分野の分析･検査に利用される分析法であり、近年では、難病の病態解明のために細胞が産生するタンパクを 1 細胞レベルで網羅的に解析する単一細胞プロテオミクスへの応用も期待されている。本分析法では、液体試料をイオン化して質量分析計に導入する MS インタフェースが重要であり、図 1(a)に示すエレクトロスプレーイオン化法が広く用いられてきた。しかし、試料を噴霧するため、質量分析計への導入率が 1%以下に留まり、感度に限界がある。そこで当グループでは、独自シーズとして、図 1(b)に示すように、数 1000 nm–数 10 μm の 2 段流路構造を用いた気液流体制御により液体試料を体積 fL の超微小液滴に変換して軌道を制御して発射するマイクロ･ナノ流体デバイス（マイクロ液滴シューター）を開発した。これを MS インタフェースに用いることで、試料を逃さず全て質量分析計に導入し、290 倍もの高感度化を達成した[1-3]。

しかし、マイクロ液滴シューターの動作が不安定化しやすく、液滴生成･射出の持続時間が数 10 分程度に留まり、実用化は依然として困難である。よって、この問題の解消が必要であるが、現状のリソグラフィ及びエッチングによる微細加工ではデバイス 1 つの製造に長時間（2 週間程度）を要し、不安定化の因子を特定する研究の妨げとなっている。また、流路が 2 次元形状に限定されるため、最適設計を追求する上で流路形状に制約がある。

そこで本研究では、マイクロ液滴シューターの実用化に

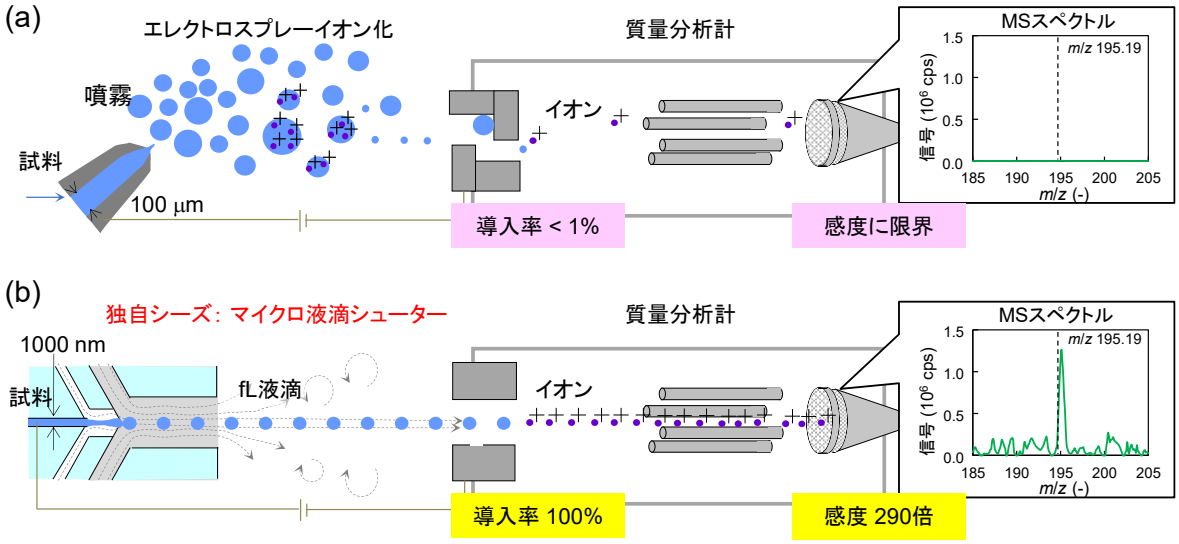


図 1.　質量分析（MS）インタフェース：(a) エレクトロスプレーイオン化法、(b) マイクロ液滴シューター

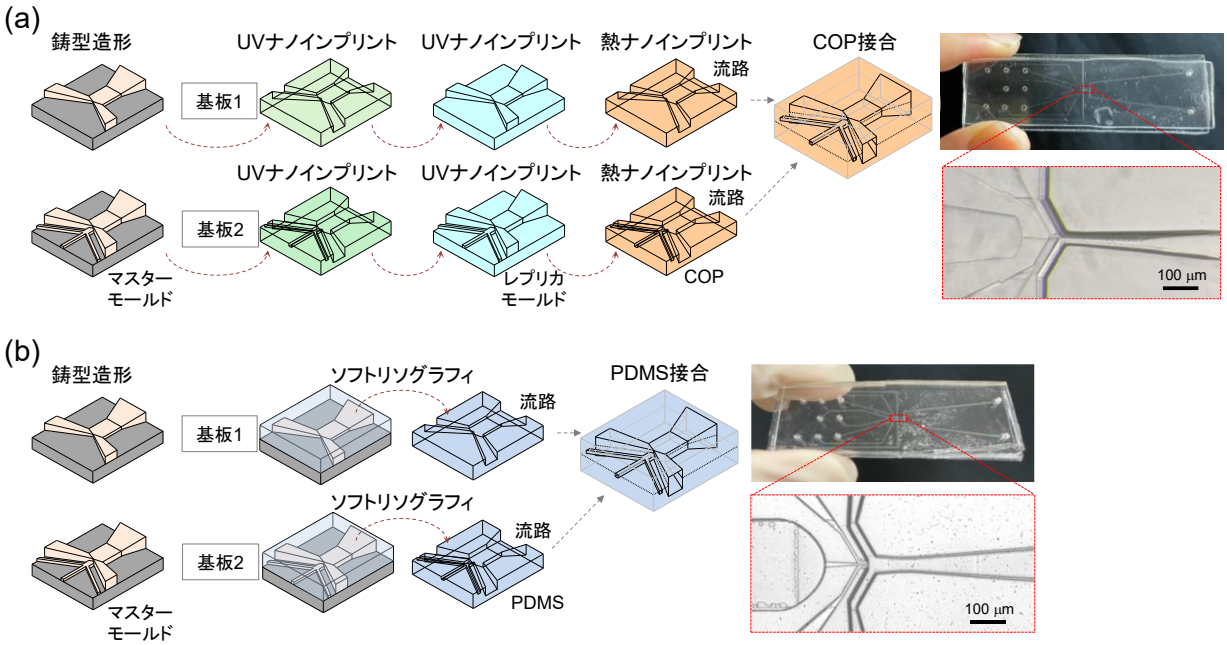


図 2.　3D 流路形状を有するマイクロ流体デバイスの作製：(a) 2 光子重合 3D 造形およびナノインプリントによるデバイス作製プロセス、(b) 2 光子重合 3D 造形およびソフトリソグラフィによるデバイス製造プロセス

向けて新たな基盤を構築することを目的とする。具体的には、デバイス製造法を 2 次元加工から 3 次元加工へと転換し、3 次元流路形状によるマイクロ・ナノ流体工学の新たなプラットフォームを創出する。3 次元造形の自由度が高い 3D プリンタおよび大量生産に適したナノインプリントによるデバイス製造プロセスを開発して、製造時間を数日にまで短縮し、歩留まりの問題を解決する。更に、3 次元流路形状を利用したデバイスの最適設計により流体制御の問題を解決し、マイクロ液滴シューターの安定・長時間動作を達成する。具体的には、研究項目 1）3 次元加工技術に基づくマイクロ・ナノ流体デバイス製造法の開発、研究項目 2）最適設計による fL 液滴の安定生成・射出の検証に取り組む。

令和 7 年度は、研究項目 1 については令和 6 年度に構築した 3D プリンタ及びナノインプリントによるマイクロ・ナノ流路作製法に基づき、流路の耐薬品性確保と基板接合のためのプロセス構築、更にプロセス統合によるデバイス製造の検証を目的とした。研究項目 2 については、数値計算によるマイクロ液滴シューターの設計の検討、設計に基づくデバイス作製と液滴生成・射出の検証を目的とした。

2.　研究成果

2.1　研究項目 1 の成果

令和 7 年度の成果の内、本研究で構築した加工プロセスの統合によるデバイス製造の検証について述べる。

従来の 2 次元微細加工では、マイクロ液滴シューターの 2 段流路作製のためにリソグラフィとエッチングの繰り返しが必要であり、工程数と製造時間が増加する要因となっている。そこで本研究では、図 2(a)に示すように、2 光子重合 3 次元造形とナノインプリントを用いた加工プロセスを構築してきた。まず、3D プリンタにより 2 段流路構造を造形する。ここで、2 光子重合により超微細な 3 次元構造を造形できる一方、デバイス全体を造形するための時間が長く生産性が低いという欠点がある。また、流路の材料も耐薬品性が低い光硬化樹脂に限定される。そこで、3D プリンタで造形した超微細構造を鋳型として、ナノインプリントにより樹脂製基板に構造を転写し流路を作製する。これにより、1 工程で複雑な 3 次元形状を有する流路の作製が可能となり、デバイスの生産性向上につながる。

2 光子重合 3D プリンタ（Photonic Professional GT2、Nanoscribe 社）及び UV/熱ナノインプリント装置（X-300、SCIVAX 株式会社）を用いて、マイクロ・ナノ流体デバイスを作製した。尚、デバイスの材料には耐熱性・耐薬品性に優れる環状オレフィンポリマー（COP）を用いた。図 2(a)のように、2 光子重合 3 次元造形により 2 段マイクロ流路を反転させた構造を有する鋳型を作製し、UV ナノインプリントにより光硬化樹脂に鋳型の構造を転写した。更に、UV ナノインプリントにより流路構造を熱耐性を有する光硬化樹脂に転写することでレプリカモールドを作製し、これを用いた熱ナノインプリントにより COP 基板上に 2 段マイクロ流路を作製した。O_2 プラズマにより表面を活性化して基板を貼り合わせ、110°C・5000 N で 10 分加圧し、ガラス転移点（138°C）以上の 145°C・200 N で 10 分アニールして接合した。これにより、COP 製のマイクロ流体デバイスの作製に成功した。更に、図 2(b)に示すように、マイクロ流体工学で一般的なソフトリソグラフィ法[4]を用いて、ポリジメチルシロキサン（PDMS）製デバイスを作製するプロセスも構築した。2 光子重合 3D プリントにより作製したマスターモールドに硬化前の PDMS を注いで硬化させることで流路を作製した後、O_2 プラズマにより表面を活性化して基板を貼り合わせ接合した。PDMS は耐薬品性が低いが、水溶液を用いた簡易検討には有効である。

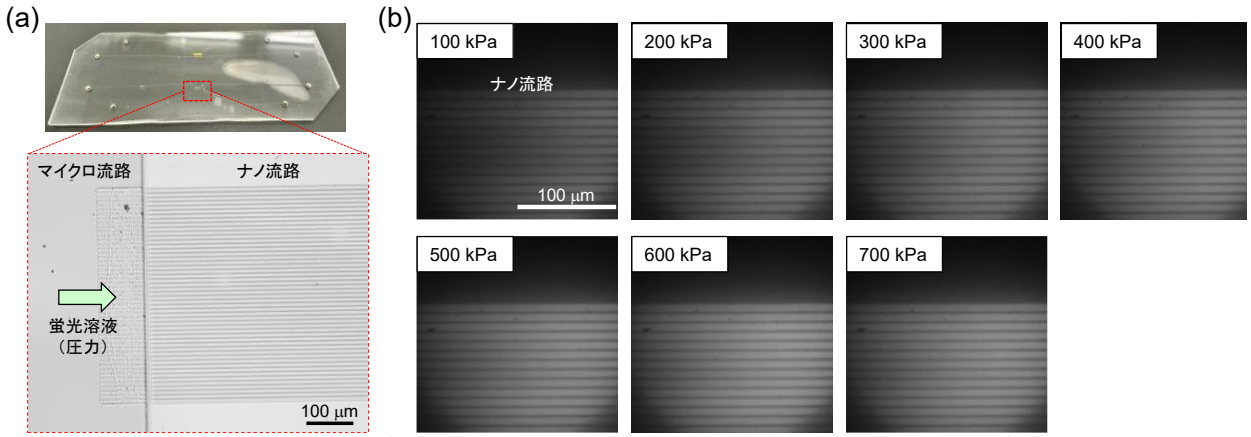


図 3.　COP 製マイクロ・ナノ流体デバイスの液漏れ評価：(a) 作製したマイクロ・ナノ流体デバイス、(b) 蛍光溶液を用いた液漏れ耐圧の評価結果

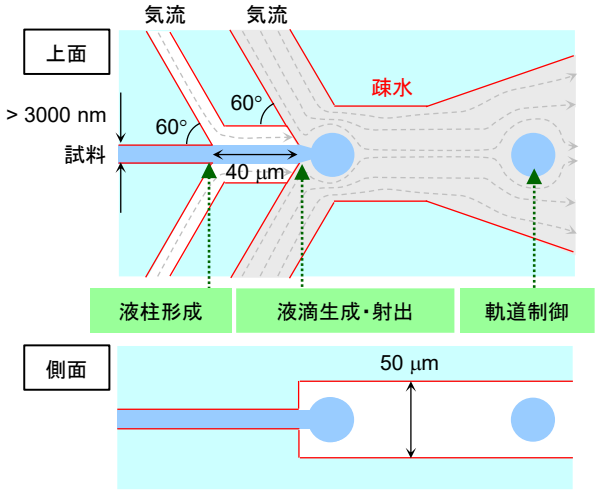


図 4.　マイクロ液滴シューターの構造および原理と現行設計

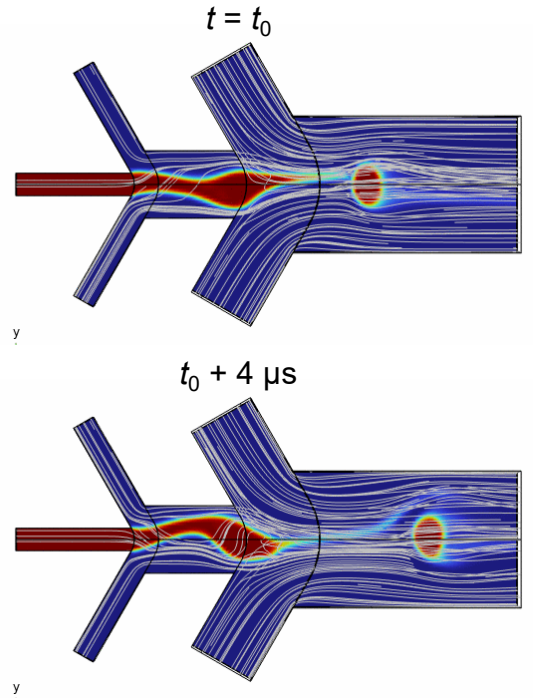


図 5.　流体の慣性力を考慮した数値計算により得られたマイクロ液滴シューターにおける気液二相流挙動

本研究で開発した製造法により作製したマイクロ･ナノ流体デバイスの実用性を検証するため、デバイスの液漏れ耐圧および接合強度を評価した。図 3 のように、幅 6 μm･深さ 200 nm のナノ流路を加工した COP 製ナノ流体デバイスに蛍光溶液（フルオレセイン 100 μM）を流した。液体駆動のための印可圧力を増加したところ、700 kPa まで上昇させても液漏れがなかった。よって、マイクロ･ナノ流体デバイスにおける実用的な圧力 100～500 kPa を上回る耐圧性能を検証した。更に、接合強度試験（ブレードテスト）を行ったところ、接合強度は 0.42 J/m^2 となり、マイクロ･ナノ流体デバイスで要求される 0.3 J/m^2 よりも高かった。以上から、実用的な耐圧性能を有する COP 製マイクロ・ナノ流体デバイスの作製に成功した。

以上、構築した 2 つのデバイス作製プロセスのいずれにおいても、2 光子重合 3 次元造形で加工した 3 次元流路構造の転写に成功し、マイクロ液滴シューターのデバイス作製を達成した。鋳型を繰り返し用いることで、製造プロセスを従来の 14 工程から 5 工程以下にまで短縮し、製造時間も従来の 2 週間から数日にまで短縮した。

2.2　研究項目 2 の成果

令和 7 年度は、数値計算を用いてマイクロ液滴シューターにおける問題点を明らかにして、これを解消する設計を提案し、デバイスを作製して液滴を検証した。以下、それぞれについて概要を述べる。

マイクロ液滴シューターの構造と原理、及び現行設計を図 4 に示す。液滴生成には気液界面のレイリー不安定性を利用しており、1000 nm スケールの液柱に 10^1–10^2 m/s の気流を合流させて界面を不安定化させることで液滴が生成される。この原理に基づき考案されたのが現行設計であり、1 段目の気流合流部で液柱を形成して、2 段目の気流合流部で界面を不安定化させ液滴を生成し、レイノルズ数が 200 程度の層流によって液滴の軌道を制御して外部に射出する。令和 6 年度に、有限要素法による数値計算モデルを構築して、流体の粘性力を考慮した層流条件下において計算を行ったところ、現行設計において不安定化の要因となる問題点はみられなかった。そこで、流体の慣性力を考慮して再度計算を行ったところ、図 5 のように、1 段目

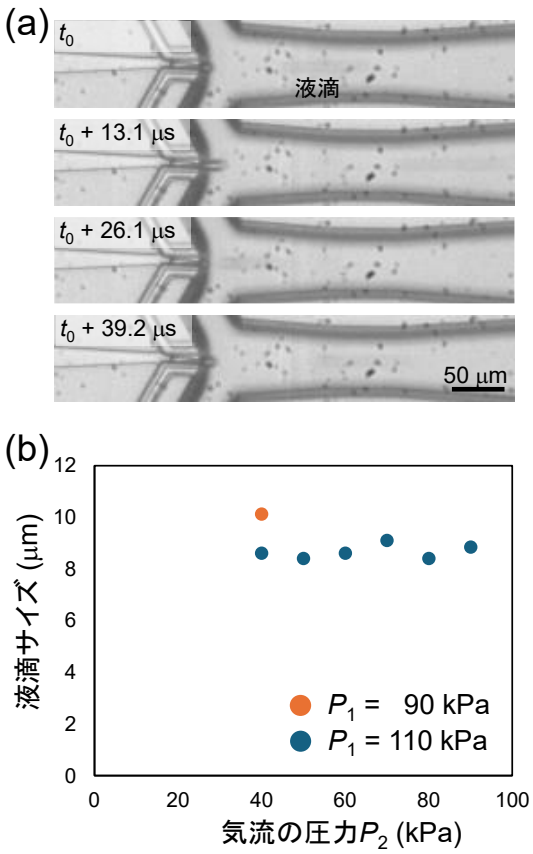


図 6. 新たに設計したマイクロ液滴シューターによる液滴生成結果：(a) 液滴生成時の時系列画像、(b) 1 段目の気流圧力 P1、2 段目の気流圧力 P2 と液滴サイズの関係

の気流合流後に流れが乱れて液柱が不安定化することが判った。この流れの不安定化がマイクロ液滴シューターの動作時間の短さに関連すると考えられる。

上記の結果に基づき、液柱の不安定化を抑制する流路構造を提案し、研究項目 1 で開発した製造法によりマイクロ流体デバイスを作製した。純水の液滴生成を高速度カメラにより撮像した結果を図 6 に示す。8～10 μm（300～500 fL）の液滴が安定に連続生成されていることが判る。また、1 段目の気流圧力によって液滴サイズが変化することも確認された。以上より、新たに開発したマイクロ液滴シューターによる液滴生成・射出に成功した。

まとめ

以上のように、令和 7 年度は、2 光子重合 3 次元造形とナノインプリントによるマイクロ・ナノ流路の加工プロセスによるデバイス作製を検証して、実用的な性能を有することを確認した。また、有限要素法によるマイクロ液滴シューターの数値計算に基づき、現行設計の問題点を解消する設計を提案して、これに基づきデバイスを作製し、安定な fL 液滴生成・射出を実現した。

参考文献

1. Kazoe, Y., Shimizu, Y., Morikawa, K., Terui, Y., Irie, T. and Kitamori, T., *Sens. Act. B*, 340, 129957, (2021).
2. Takagi, Y., Kazoe, Y. and Kitamori, T., *Microfluid Nanofluid*, 25, 74, (2021).
3. Takagi, Y., Kazoe, Y., Morikawa, K. and Kitamori, T., *Anal. Chem.*, 94, 10074-10081, (2022).
4. Whitesides, G.M., Ostuni, E., Takayama, S., Jiang, X. and Ingber, D.E., *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 3, 335-373, (2001).

業績

【原著論文】

1. Xin Jiang, Masafumi Watanabe, Yutaka Kazoe, *Anal. Sci.*, 42(1), 49-57(2026)

【総説】

なし

【書籍】

なし

【口頭発表】

1. S. Sugita, M. Watanabe, Y. Kazoe
   Femtoliter-sample injection by highly-integrated nanofluidic valves and its application to nanochannel chromatography
   OIST-Keio Showcase Talk Series 8, 2025 年 12 月, Kanagawa
2. M. Shibahara, M. Tsuda, Y. Kazoe
   Measurements of nanoparticle velocity distribution in a square micrometer-channel by defocusing nanoparticle tracking velocimetry
   MicroTAS 2025, 2025 年 11 月, Australia
3. M. Watanabe, S. Sugita, Y. Kazoe
   Femtoliter-sample injection by highly-integrated nanofluidic valves for nanochannel chromatography
   MicroTAS 2025, 2025 年 11 月, Australia
4. S. Noguchi, J. Xin, M. Watanabe, S. Sugita, Y. Kazoe
   A fabrication method for three-dimensional microchannels by 3D-printing and nanoimprint lithography
   MicroTAS 2025, 2025 年 11 月, Australia
5. Y. Sakurai, M. Watanabe, S. Sugita, Y. Kazoe
   Development of a fabrication method for micro and nanofluidic channels by thermal nanoimprint lithography
   MicroTAS 2025, 2025 年 11 月, Australia
6. 櫻井悠貴，杉田昌平，嘉副裕
   熱ナノインプリントリソグラフィによるマイクロ・ナノ流路加工法の開発
   化学とマイクロ・ナノシステム学会第 51 回研究会、2025 年 5 月、大阪
7. 野口翔，Jiang Xin，杉田昌平，嘉副裕
   3 次元光造形法とナノインプリントリソグラフィによるマイクロ流路加工法の開発
   化学とマイクロ・ナノシステム学会第 51 回研究会、2025 年 5 月、大阪

【特許】

(1)国内特許出願　0 件
(2)国際特許出願　0 件

未知を知る AI 搭載型ハードウェアの開発

研究代表者：横浜国立大学　　島　圭介

【基本構想】

深層学習や ChatGPT などが牽引する人工知能（AI）ブームはもはや第 4 次を迎え，日々めざましい進展を見せている．ただし，AI が万能ではないことは周知の事実であり，対象の問題に適切かつ十分な設備や費用を投入し，適切なモデルや多くの学習サンプルを用いて AI を正しく学習させなければ想定した成果が出せない．また，AI の高性能化に伴って，出力結果の信頼性・妥当性・説明性や AI と人の共存法が問題視されている．このような背景から AI 技術を身近な日常生活に十分に普及・定着させる新たな工夫が求められ，従来の AI が学習時に想定していない未知の対象を“知らない”と理解できないという根本的な問題や，通信環境や装置の制約によって人間支援ロボットなどのハードウェアへの AI モデルの搭載が難しいという課題などを解消する必要がある．本プロジェクトでは未知事象の推定と自律的な AI 構造の再構築機能を有する新しい確率型 AI チップを創生することで，これらの問題解決を目指している．

1.　研究目的

深層学習や ChatGPT が牽引している人工知能（AI）ブームはもはや第 4 次を迎えたともいわれており，いまだに日々めざましい進展を見せている．ただし，このような現状においても AI が万能ではないことは周知の事実であり，対象の問題に適切かつ十分な設備や費用を投入し，適切なモデルや多くの学習サンプルを用いて AI を正しく学習させなければ想定した成果が出せない．また近年では，AI の高性能化に伴って AI が出力する結果の信頼性・妥当性・説明性や，AI 活用や AI と人の共存法が問題視され，AI 技術を身近な日常生活に十分に普及・定着させる新たな工夫が求められる．その実現のヒントには大きな 2 つの課題，従来の AI が①学習時に対象としていた問題しか取り扱うことができず，未知の対象を“知らない”と理解できないという点，②数学的に表現された実空間の学習・識別モデルを人間支援ロボットなどのハードウェアに搭載することが困難である点を打破するアイデアが必要となる．

ロボットや工業用加工機，医療機器，検査装置などに AI 技術を導入する際には，通信環境や装置の制約から，比較的簡単な学習モデルや近似モデルを用いるしかなく，理論的に構築された識別能力を十分に適用できないという大きな矛盾がある．発展がめざましい高性能な AI 技術を人間社会に普及させるためには，確率的な振る舞いをする認識対象・データに対し，①学習していない未知の対象を“知らない”と AI 自身が高精度に認識できる革新的なアイデアと，ベイズ推論に基づいて AI の判断の根拠・信頼性・妥当性を議論／検討して，②AI そのものの構造を動的に変化できる基盤を整えること，さらにモデルに基づいて様々な対象に組み込んで適応・進化可能な③小型・高速な AI 搭載型ハードウェアの実現が必要不可欠である．

本研究では，AI を独自の確率モデルを用いて高性能化することにより，未知の事象の推定と自律的な AI 構造の再構築機能を有する新しい確率型 AI チップを創生することによってベイズ推論を進化させ，これらの問題解決を目指す．

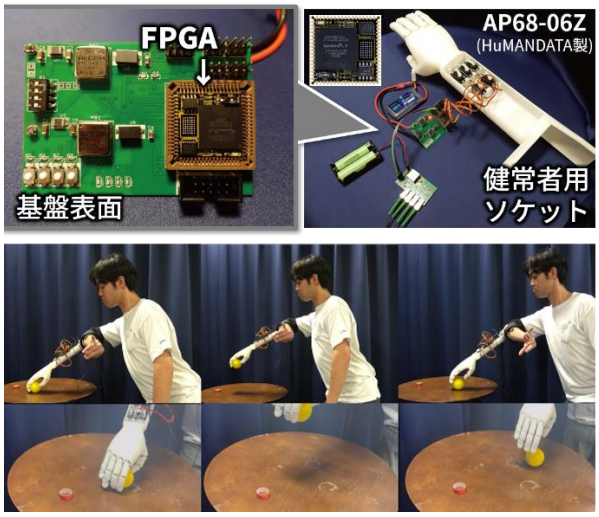


図 1：　未知 AI 未知を知る AI 搭載型筋電義手

昨年度までに，本研究では FPGA（Field Programmable Gate Array）に実装可能な近似 GMM 型未知推定ニューラルネットを提案し，前向き演算（推論）部分および誤差逆伝播演算（学習）部分の実装に成功していた．また，より小型かつ安価な FPGA に実装された実用的な未知 AI チップの作成に取り組み，その応用例として未知 AI チップを搭載した健常者用筋電義手（筋電位（EMG）信号によって制御可能な五指駆動型ロボットハンド）のプロトタイプ（図 1）の作成に至っている．

本稿では令和 7 年度の成果として，未知を知る AI の理論拡張，ならびに応用事例の創出について検討した内容について報告する．

2. 研究成果

2.1. 未知から知識を得ながら動的に AI 構造を適応・再構築する方法論の開発

パターン識別問題においては学習時に想定しない未知クラスのサンプルは異常値として扱われ, 未知クラスを分類できる異常検知手法は数多く存在する．一方，それらの手法では異常を検知のみで異常値の特徴やデータ構造など未知クラスに関する情報は一切得られないという問題が存在する．未知を知る AI のような異常検知を病症の診断支援や機器の故障検知に応用する場合, 異常値に関する情報にも関心があり, 未知クラスの内部構造推定は実運用上，必要不可欠となる．

令和 6 度までにディリクレ過程混合正規分布（DPGMM）[1]を利用した未知クラスの内部構造推定, 推定結果を未知 AI に反映するための分類対象とするクラスを追加/削除する方法論の確立，未知 AI のネットワークの重み係数を直接サンプリングする学習則の提案などを行ってきた. 特に, DPGMM の学習時に使用する中華料理店過程（CRP: Chinese Restaurant Process）に起因し，学習時間が非常に長くなってしまう（数時間から長い場合には数日）という課題の解消に取り組み，CRP による大局的な構造推定と棒折り過程（SBP: Stick Breaking Process）による詳細構造の獲得を組み合わせた新たな学習則を提案してきた. 昨年度は未知から知識を得ながら動的に AI 構造を適応・再構築する方法論を実装した筋電義手制御システムの構築を試み，詳細構造を取得するための SBP＋GMM の学習則について再検討も行った．

まず，SBP＋GMM に対する学習則についての再検討結果について述べる．これまでは CRP と SBP の両方においてもクラシカルなギブスサンプリングを採用していたが，SBP では変分ベイズ法による学習則 [5]も存在する．変分ベイズ法では事後分布からパラメータをサンプリングせず，変分下限（ELBO）を最大化するように各パラメータの最適化を実施するもので，集中パラメータ（コンポーネントの発生しやすさ）とコンポーネント数の上限数を定めることで，より高速かつ安定的な学習が可能となる．

ギブスサンプリングによる CRP と変分ベイズ法による SBP を組み合わせた提案法の性能を評価するために, 複雑な 2 次元データに対する教師なし学習を実施した. 図 2 に各手法による人工データのクラスタリング結果と得られた GMM の例を, 図 3 に交差検証を行った際の平均尤度に関する比較結果を示す．これらの結果から，CRP+SBP（変分ベイズ法）を適用した場合に最も高い尤度を記録し，適当な数の正規分布で各クラスタのデータ分布を表現できていることが確認できる．ただ，一部のクラスタ（オレンジや赤）では，過剰にコンポーネントが設定されていることが目視で確認でき, SBP の集中パラメータについても学習対象に設定すべきであることも示された．

2.2. 未知クラス推定確率ニューラルネットのライブラリ化

未知 AI は学習クラスに対応する正規分布と未知クラス

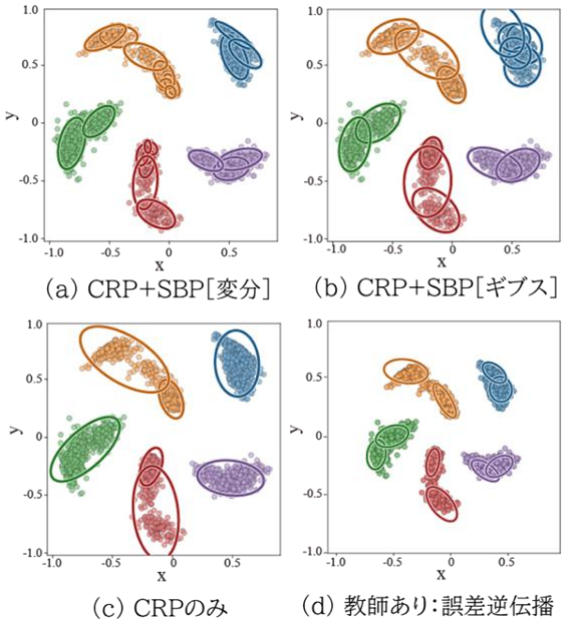


図 2：人工データに対するクラスタリング結果

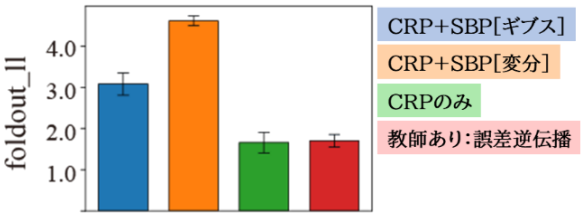


図 3:各学習法に対する交差検証尤度の比較

の分布を仮定した余事象分布を内包した識別モデルであり，ベイズの定理に基づき，事後確率が最大となるクラスを選択することでオープンセット認識（未知クラスを含む多クラス分類）が可能になる．また，識別精度と学習データに対する GMM の尤度を組み合わせた同時確率を高める新たな学習則（Energy-based model (EBM) [2,3]）を適用し，学習データの分布を正確に獲得することで，分類精度の向上と, 内包される確率分布のパラメータの誤差の低減を実現してきた．

昨年度は未知クラス推定確率ニューラルネットの学習則を改良し, ネットワーク構造とともにライブラリ化することで, 既存の深層学習ライブラリの枠組みの中での運用を可能にした．また，ライブラリ化の過程で誤差逆伝播演算を改良し, 従来と同等の学習時間で優れた識別領域を獲得することを実現した．

学習則をライブラリ化する上で特に重要な点は, 統計的制約機構の簡素化とサンプリング演算の高速化の 2 つである．まず，前述したように本手法で学習対象となる重み係数$\boldsymbol{w}_{k,m}$, $\boldsymbol{w}_{\varepsilon}^{(k,m)}$は共分散行列などに由来する統計的制約が含まれており, それらを担保した学習を行う必要がある．L2 正則化などとは異なり，より厳密な値域の制限が必要となるため，提案法では対応する重み係数を

$$w = \mathrm{sigmoid}(r) = \frac{1}{1+\exp(-r)} \qquad \cdots(1)$$

$$w = A\tanh(r) = A \cdot \frac{\exp(r) - \exp(-r)}{\exp(r) + \exp(-r)} \quad \cdots (2)$$

$$w = \mathrm{softplus}(r) = \log[1 + \exp(r)] \quad \cdots (3)$$

と再定義した．ここで，式 1 は値域を 0 から 1 までに，式 2 は値域を$-\boldsymbol{A}$から$\boldsymbol{A}$までに，式 3 は値域を正に制限する機能を有する．自動微分機能を使用し，置換変数$\boldsymbol{r}$に対する微分を算出するよう実装すれば容易に統計的制約の担保が可能となる．

次に，EBM に関する評価値 $\mathcal{L}_{\mathrm{JEBM}}$を算出する際に必要となるサンプリング操作の高速化を行った．提案法では，$\boldsymbol{z} = \mathcal{N}(\mathbf{0}, \mathbf{I})$となる標準正規乱数を変換し，任意の疑似データ$\tilde{\boldsymbol{x}} = \mathcal{N}(\boldsymbol{\mu}_{k,m}, \boldsymbol{\Sigma}_{k,m})$を生成する．また，$\boldsymbol{w}_{k,m}$の要素を並び替えるだけで抽出できる精度行列$\boldsymbol{S}_{k,m} = \boldsymbol{\Sigma}_{k,m}^{-1}$，および$\boldsymbol{\nu}_{k,m} = \boldsymbol{S}_{k,m}\boldsymbol{\mu}_{k,m}$を利用し，$\boldsymbol{z}$と$\tilde{\boldsymbol{x}}$の関係性を記述すると次式のようになる．

$$\tilde{x} = (\sigma^{-1})^{\mathrm{T}}\left(z + \sigma^{-1}\nu_{k,m}\right)$$

ここで，σ^{-1}は$\boldsymbol{S}_{k,m}$を Cholesky 分解して得られる下三角行列である．上記の式を使用すれば，統計的なパラメータの可逆抽出処理なしに，$\boldsymbol{w}_{k,m}$を使用した行列演算によって高速なサンプリングを実現できる．ここまで述べた操作も含め，繰り返し処理（for 文）や条件分岐（if 文）をほとんど使用しないようコーディングを実施し，学習速度低下を抑制したカスタムレイヤ（MATLAB 版）を作成した．

【検証 1：人工データ分類】まず，提案法の基礎的な有効性を確認するために，GMM から生成した 2 次元データに対する OSR を MATLAB 上で実施した．生成時には 8 個の学習対象クラス（GMM）を設定し，コンポーネント数を$M_k = 6$とした各 GMM から 500 個 / class の学習データを生成した．また，提案法において$M_k = 3$，あるいは$M_k = 8\ (k = 1, \ldots, 8)$とした条件で学習を実した．比較対象として，$\mathcal{L}_{\mathrm{JEBM}}$の算出，ならびにサンプリングを行わない条件での従来法と同様の学習（$M_k = 8$）も実施した．両条件で重み係数の初期化には *k*-means 法を使用した．図 4 に生成した学習データ（2 次元）を示す．

まず，提案法と従来法の各条件で獲得した識別領域と内包される GMM からサンプリングしたデータを図 3 に示す．図 5 (a)は$M_k = 3$とした提案法，(b)は$M_k = 8$とした提案法，(c)は$M_k = 8$とした従来法のもので，図中の濃紺部分は未知クラスに分類される領域を，それ以外は各学習対象クラスに分類される領域を表している．結果から，提案法ではどちらの場合でも適当な識別領域を獲得できており，分類精度もそれぞれ$0.90 \pm 0.06\ (M_k = 3)$，$0.91 \pm 0.05\ (M_k = 8)$と高い分類精度を記録している．一方，従来法でも0.92 ± 0.05という高い分類精度を記録したものの，必要以上に学習対象クラスの識別領域が拡大していることが確認できる．加えて，サンプリング結果を見ても，提案法の方が正しく学習サンプルの分布を獲得できていることがわかる．

【検証 2：前腕動作分類】図 6 に実施動作を表す．実施動作は 22 種類で，手首動作は掌屈(E1)，背屈(E2)，撓屈(E3)，尺屈(E4)，回内(E5)，回外(E6) の 6 動作，手指動作は E7-

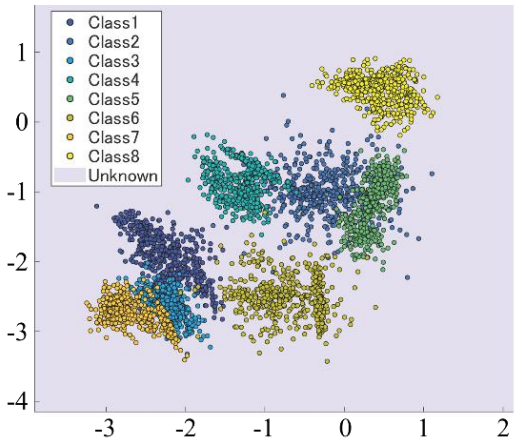


図 4：GMM から生成した人工データ

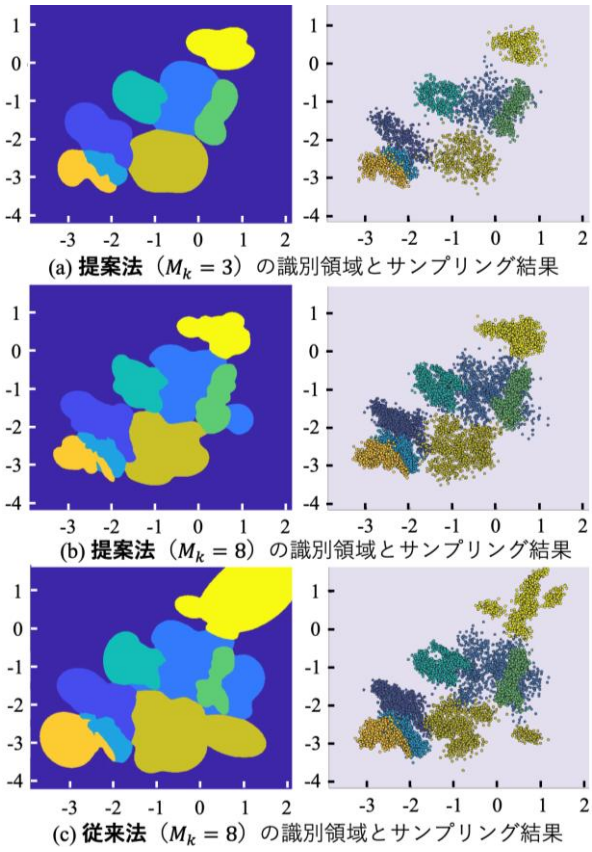


図 5：各条件における学習結果の可視化

22 の 16 動作とした．電極数は 4 対で，示指伸筋，尺側手根屈筋，指伸筋，長掌筋に貼付した．各動作の実施時間は 10 秒（サンプリング周波数：100 Hz）で，全動作を 3 回ずつ実施した．提案法のコンポーネント数は 3 個として，2 試行分（E1-6）は学習データに，残りの 1 試行分をテストデータとして使用した．

図 7 にテストデータに対する混同行列を示す．また，適合率（Precision），再現率（Recall），F1-score の平均値はそれぞれ0.91 ± 0.05，0.72 ± 0.21，0.79 ± 0.13となった．結果から，提案法によって学習対象動作は正しく分類された一方，大量に存在する未知動作の一部が学習対象クラスに誤分類されたことが確認できる．これは，提案法が学習 対象動作の EMG 分布を正しく獲得できたこと，学習対象動

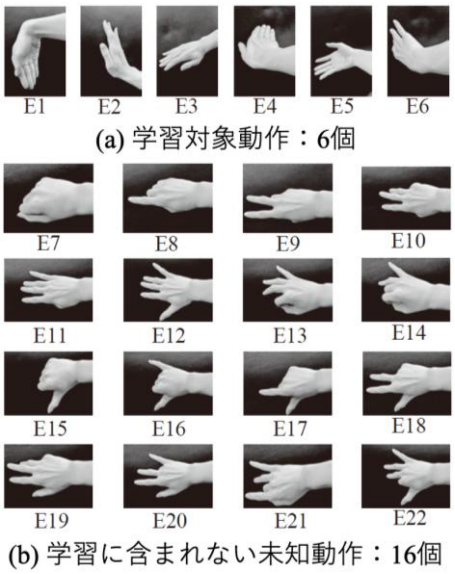


図 6：実施した前腕・手指動作（22 種）

提案法の分類結果

教師（正解）ラベル ＼	E1	E2	E3	E4	E5	E6	未知
E1	2011				186		17
E2		1980			1	19	61
E3	13		1784		9		244
E4	2	50		1786		135	102
E5	28				1911		101
E6		24			1	1888	
未知	1053		190	2135	815	2012	28672

図 7：提案法の分類結果（混同行列）

作と同様の EMG パターンを有する未知動作が複数存在することが示している．分類結果を詳細に分析すると，E7 が回内（E5）に，E18 と E20 が掌屈（E1）に，E22 が掌屈（E4）に誤分類されていて，EMG センサの貼付位置の変更やセンサ追加によって分離性能を向上させるための指針を得ることができる．以上の結果より，提案法の有用性が示された．

2.3. 福祉応用：爪郭部毛細血管画像の評価に基づく疾病検知システムの開発

神奈川県の取り組みとして未病改善が健康づくりの柱として設定されている．未病の中でもサルコペニア（筋減少症）は加齢により筋肉量・筋力が低下し，要介護リスクが高まる「未病（病気ではないが健康でもない状態）」の代表的な病態の 1 つで，サルコペニアに対する予防措置・早期介入の重要性が指摘されている．一方，サルコペニアのスクリーニング・診断指標（SARC-F、下腿周囲長など）は筋萎縮や筋力低下がすでに顕在化した段階での評価にとどまっており，「サルコペニア発症前の前兆」を捉える信頼性の高いバイオマーカーの確立には至っていない．そこで本年度では，新たなバイオマーカーとして爪郭部毛細血管（NFC）[4]に着目し，広島県立大学の研究グループとともに新たな未病検知手法に開発に取り組んだ．

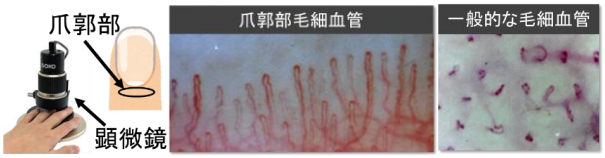


図 8：爪郭部毛細血管画像の例

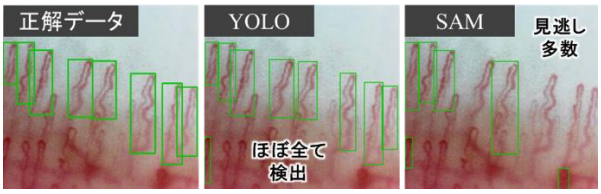


図 9：健常な SFC 画像に対する検出結果例

図 8 に示される爪郭部毛細血管（NFC）は，爪の根元（爪郭部）に存在する毛細血管である．体の内部から表皮方向に発達する一般的な毛細血管とは異なり，NFC は爪の根元から指先に向けて発達する血管で，毛細血管形状の観察が容易であるという特徴を有する．従来研究 [5]では毛細血管の退縮が分子レベルで示され，NFC に対する異常評価の重要性は非常に高い．また，サルコペニアだけでなく，糖尿病などの様々な疾患に対する応用可能性が指摘されており[6, 7]，未知 AI の応用先として非常に適している．

本年度の検討では，小型顕微鏡を利用した非侵襲かつ，安価，容易な未病評価システムを構築するべく，まず NFC 画像から特徴量抽出法の検討を実施した．提案法では，従来研究 [7]で示される毛細血管の解析項目の中でも毛細管の密度，ねじれの有無を自動的に抽出する．特徴抽出のフローは，①先端部にある解析対象の毛細血管のみを検知し，②検出された領域内での血管領域を推定，③検知された血管領域からパスを抽出⇒ねじれの有無を判定するというものである．

まず，①の毛細血管の検知手法について検証を行った．今回の検討では，研究の初期段階ということもあり，ラベル付きデータが少量しか存在しなかったため，提案法の検出手法として，2 種類のオブジェクト認識モデル：Ultralytics 社の YOLOv11-seg と Meta 社の SAM を選定した．YOLOv11-seg については少量のラベル付き SFC 画像でファインチューニングしたものを利用し，モデルが巨大な SAM については調整なしに適用する．図 9 に健常な SFC 画像に対する毛細血管の検出結果例を示す．この結果から，汎用的なモデルである SAM では通常の学習データに含まれないであろう毛細血管を正しく認識できておらず，ファインチューニングを施した YOLO では概ね解析対象血管を検出できていることがわかる．また，図 10 に示される悪条件化での検出結果を見ても，YOLO の方が比較的高い検出精度を記録しており，実験全体を通してファインチューニングの重要性が強く示された．

次の②血管領域の推定では，検出された血管フレーム内での血管領域がどこか，セグメンテーションを実施した．正解ラベルに対するセグメンテーションの精度（IoU: Intersection over Union）は，YOLO と SAM でそれぞれ，約 0.55 と約 0.25（全血管に対して），両方とも約 0.65（正し

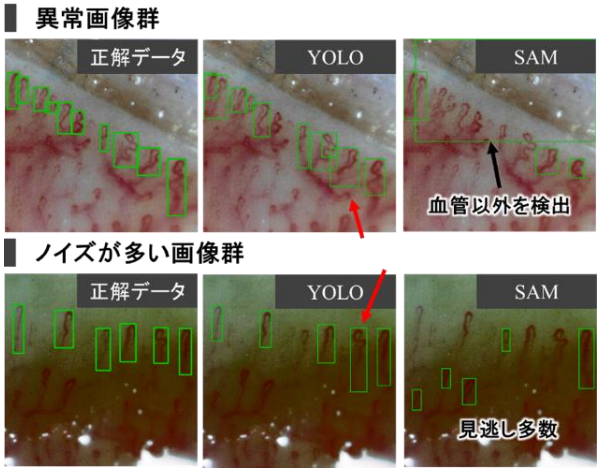


図 10：悪条件下での検出結果例

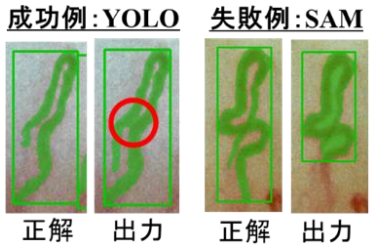


図 11：ねじれ検出の結果例

く検出できた血管のみに対して）となった．いずれの場合においても，①の段階でどれだけ正しく血管を検出できたか，という要素が支配的で，正しく検出できた血管の領域推定性能に大きな差はなかった．

最後に，③のねじれ検出結果については，YOLO と SAM でそれぞれの Accuracy（検出精度）が，0.6 と 0.2 程度となった．どちらの手法でも十分実用的な検出精度には至らなかったものの，この結果でもファインチューニングの有効性が示された．SAM で検出精度が低下した要因として，血管領域の推定結果が強く影響したことが推察される．図 11 にねじれ検出結果の成功例と失敗例を示す．この例から，SAM では血管の隙間の背景領域まで塗りつぶされており，血管のパスおよびその閉路が正しく認識しにくいものになっている．一方，YOLO の背景が正しく抜かれている場合では，閉路（ねじれ）を正しく認識できている．

以上の結果より，提案法によってラフなラベリングは可能なものの，正しい血管領域がラベリングされた学習データによるさらなるファインチューニングが必要不可欠であることが示された．

3. まとめと今後の展望

令和 7 年度では，前年度開発した未知 AI 搭載型の健常者用義手の実証や，未知 AI の学習理論の改善，未知 AI の応用事例創出に継続的に取り組んできた．

まず，動的に構造を再構成する未知 AI の学習理論を改良し，従来法より詳細かつ正確な分布形状および未知 AI 構造を獲得することが可能になった．提案法を筋電義手システムに適用した場合には，切断初期の筋電発揮が熟達していない状況でも制御信号として使用可能なクラスタの抽出を実現できる．さらに，未知クラス推定確率ニューラルネットを深層学習における出力レイヤーとして捉え，MATLAB で利用可能な未知 AI 層を開発した．開発したライブラリは繰り返し処理（for 文）や条件分岐（if 文）をほとんど使用しないように設計されており，従来の実装法より高速な動作を期待できる．また，他の特徴抽出層やリカレント層と結合した学習が可能になり，未知 AI を様々なオープンセット認識タスクに適用可能になった．以上の基礎理論検討に加え，福祉分野への未知 AI 適用を目標に爪郭部毛細血管（NFC）画像に対する特徴抽出手法に関する検討を実施した．今回の検討では NFC 画像に含まれる毛細血管を個別に検出し，その形状異常を検知することを試みたが，学習データの少なさから形状異常の検知精度には課題が残る結果となった．

今後も未知を知る確率的 AI チップの産業・医療・福祉応用に関する検討を継続的に実施していき，事業化を見据えた共同研究の促進に取り組んでいく．特にウェアラブル計測デバイスとの統合による未病評価システムや，化学プラントや工作機械の中で運用可能な異常検知システムの開発・実現を試みる．また，様々な応用事例を創出する上で，学習データに対するアノテーションコストの高さが大きな課題となっており，ラベル無しデータを活用した半教師あり自動アノテーション手法の研究にも取り組んでいく．

【参考文献】

[1] D. Görür *et al.*, “Dirichlet Process Gaussian Mixture Models: Choice of the Base Distribution,” Journal of Computer Science and Technology, 25, 653–664 (2010).
[2] W. Grathwohl *et al.*, “Your classifier is secretly an energy-based model and you should treat it like one,” arXiv preprint arXiv:1912.03263 (2017).
[3] Y. LeCun *et al.*, “A tutorial on energy-based learning.” Predicting structured data, 1(0) (2006).
[4] E. H. Serné *et al.*, “Microvascular function relates to insulin sensitivity and blood pressure in normal subjects,” Circulation, 99(7):896-902 (1999).
[5] J. Chen *et al.*, “High-resolution 3D imaging uncovers organ-specific vascular control of tissue aging,” Science Advances, Vol. 7, No. 6, eabd7819 (2021).
[6] G. Maldonado *et al.*, “Nailfold capillaroscopy in diabetes mellitus,” Microvasc Res, 112:41-46 (2017).
[7] J. Ciaffi *et al.*, “Nailfold capillaroscopy in common non-rheumatic conditions: A systematic review and applications for clinical practice,” Microvasc, 131:104036 (2020).

業績

【原著論文】
なし

【総説】
なし

【書籍】
なし

【口頭発表】
〔国際会議〕

1. Sougo Horimatsu, Kensuke Takenaka, Takayuki Mukaeda and Keisuke Shima: Estimating Wrist Joint Angle using Electromyography and Cepstral Coefficients, The 2026 IEEE/SICE International Symposium on System Integration (SII 2026，査読あり)，2026 年 1 月，カンクン（メキシコ）

〔国内会議〕

2. 柏木僚太，迎田隆幸，島圭介：FPGA 実装された近似 GMM 型オープンセット認識手法による筋電義手制御システム，第 43 回日本ロボット学会学術講演会（RSJ2025），2025 年 9 月，東京都目黒区
3. 迎田隆幸，柏木僚太，三笘凌，北原丈大，島圭介：未知クラス推定確率ニューラルネットのライブラリ化と前腕動作分類への適用，第 30 回知能メカトロニクスワークショップ（iMec2025），2025 年 9 月，北海道札幌市
4. 南部穣汰，迎田隆幸，柏木僚太，島圭介：並列棒折り過程を導入した対数線形化 IGMM による筋電義手インタフェース，インテリジェント・システム・シンポジウム 2025（FAN2025），2025 年 9 月，愛知県長久手市
5. 長濱和輝，三苫凌，迎田隆幸，金指美帆，島圭介，島谷康司：爪郭部の毛細血管異常の簡易評価に関する基礎的検討, 第 26 回 測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会（SI2025），2025 年 12 月，広島県広島市
6. 三苫凌，迎田隆幸，島圭介：Data Shapley 理論に基づくアンサンブル型疑似ラベル推定法, 情報処理学会 第 88 回全国大会（IPSJ 2026），2026 年 3 月，愛媛県松山市

【特許】
(1)国内特許出願　0 件

分子・形態共変動解析による未病創薬研究基盤の創成

研究代表者：東京科学大学　加納　ふみ

【基本構想】

治療効果が高く、副作用の少ない医薬品を創出するうえで、医薬品の作用点となる疾患関連性の高い標的分子を効率的に選定することは、製薬企業にとって重要な課題の一つである。従来の創薬では、すでに顕在化した病態において発現量や活性が大きく変化した分子を標的候補として探索することが多い。しかし、病態が進行した段階では、細胞状態の変化が不可逆的になっている場合や、二次的・代償的な変化が多数含まれる場合があり、真に病態の発症や進行を制御する標的分子の同定は容易ではない。

「未病」は、病態発症前の細胞状態であり、健常状態と病態状態の間を行き来し得る可逆的な状態と定義される。したがって、未病状態における細胞状態変化を捉え、その制御因子を標的化することができれば、病態が顕在化する前に細胞状態を健常側へ回復させる新たな介入が可能となる。未病状態を標的とした創薬は、未病バイオマーカーの同定による診断薬開発を含め、従来の病態進行後を対象とした創薬とは異なる薬効が期待できる新たな創薬戦略である。大きな変化が見られないことが想定される「未病」細胞状態の検出には、単一標的分子でなく、多種の生体分子群の総体（ネットワーク）として「細胞状態の改善」を目指す創薬戦略が必要である。さらに、微妙な細胞状態変化や多様化したモダリティーの薬効を精密に記述するためには、細胞内の多様な生体分子情報（遺伝子・タンパク質・代謝産物など）や細胞･オルガネラなどの形態・空間情報などの「多次元生物情報」の統合が求められる。

我々が開発した共変動ネットワーク解析法（PLOM-CON 解析法）は、細胞の蛍光抗体染色画像ビッグデータを基盤として、細胞内タンパク質の量、翻訳後修飾、細胞内局在、さらには細胞・オルガネラの形態情報を特徴量として定量化し、それらの特徴量間に生じる「時間相関」あるいは「細胞間相関」を指標として、細胞状態を共変動ネットワークとして可視化・解析する手法である。本手法の特徴は、個々の分子の平均的な量的変化のみを捉えるのではなく、複数の分子・形態特徴量の間に形成される関係性の変化、すなわち相関構造の変化を検出できる点にある。疾患の初期段階や薬剤応答の超早期段階では、個々のタンパク質量には顕著な変化が現れない場合でも、タンパク質間の連関、翻訳後修飾と局在の結び付き、あるいは細胞内構造との関係性が先行して変化する可能性がある。PLOM-CON 解析法は、このような従来の平均値ベースの解析では捉えにくい微細な細胞状態変化を、ネットワークの再構成として高感度に検出できる点に強みを有する。さらに、細胞におけるタンパク質の量的変化、翻訳後修飾状態、細胞内局在変化を統合的に取得できるため、細胞状態の変化を分子レベルと空間レベルの双方から記述することが可能である。これにより、未病状態や薬剤応答初期のように表現型変化が顕在化する前の段階においても、細胞内ネットワークの歪みや再配線を指標として、疾患関連性の高い制御因子や介入標的候補を抽出することが期待される。

この戦略的シーズ育成事業では、PLOM-CON 解析および早期予兆シグナル検出のため動的ネットワークバイオマーカー理論を技術的基盤として、アルツハイマー病(AD)患者由来の iPS 細胞の神経新生不全再現系を用い、AD の病態発症の「予兆(未病)形態マーカー」を分子情報に紐付いた形態(空間)情報から精度良く抽出する解析システムを構築する。これにより未病バイオマーカー創出の POC を達成するとともに、創薬標的候補の抽出や薬効の分子機構推定も一体的に実施可能な、汎用的な細胞状態解析プラットフォーム技術としての発展も目指す。

1.　研究目的

本事業の目的達成のため、細胞状態変化検出を得意とする PLOM-CON 法と、細胞状態変化の「予兆（=早期警告)」シグナル検出の理論（動的ネットワークバイオマーカー（DNB）理論）を最適にカップルさせ、超早期で起こる AD 神経分化不全に関わる「未病バイオマーカー」を同定し、所有する健常及び AD 患者由来 iPS 細胞の神経分化再現系を用いてそのマーカーの妥当性を検証・評価する。その結果を基に、PLOM-CON 法と DNB 理論を基軸にした「未病バイオマーカー」創出の POC を達成する。

本研究の基盤技術である「Protein Localization and Modification-based Covariation Network (PLOM-CON)解析法は、特定のシグナル入力におけるタンパク質群の「量・質・局在」の変化を、大量の細胞の蛍光抗体染色画像を基にしてタンパク質ごとに特徴量として定量化し、特徴量同士の「時間相関」あるいは「細胞間相関」を指標にタンパク質「共変動ネットワーク」として可視化する手法である（図 1)。この共変動ネットワーク解析法は、細胞に入力したシグナルの超早期の変化を相関解析により高感度なタンパク質ネットワーク変化として捉える。また、時間同調性さえ担保されれば、他のオミクスデータ、細胞画像から得られる形態（空間）情報をすべて結びつけ、多次元の分子・形態統合共変動ネットワークとして描くことができる。加えて、シングルセルレベルの分子・形態情報のデータセットを DNB 理論に適用することにより、細胞の状態に伴う形態変化の「予兆」を捉え、それを共変動ネットワークの多様な解析手法を駆使して分子情報と紐付けられる。このように本グループで確立する技術は、超早期の細胞形態変化で未病状態を非侵襲的に検知し、さらに紐付けられた分子情報からその分子機構推定まで活用できる、これまでにない日本発・世界初の技術である。

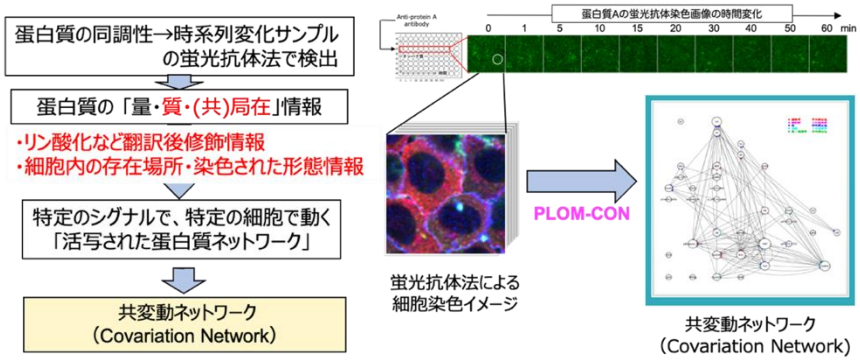


図 1　PLOM-CON 解析法の概要
PLOM-CON 解析法とは、タンパク質特徴量の時間変化相関を元に共変動ネットワークを構築する技術である。タンパク質情報は、蛍光抗体法で特定タンパク質を蛍光染色した細胞画像から求める。特定の細胞環境におけるタンパク質の関係性を「相関」で表す。

この戦略的シーズ育成事業では、本研究室で保有するアルツハイマー病(AD)患者由来の iPS 細胞の神経分化不全再現系を用い、AD の病態発症の「予兆(未病)形態マーカー」を分子情報に紐付いた形態（空間）情報から精度良く抽出する解析システムを構築する。

2.　研究成果

これまでの研究において、健常者および AD 患者由来 iPS 細胞株を取得し、神経分化誘導を行ったところ、分化誘導 28 日後の AD 細胞では神経分化が十分に進行しない神経分化不全の表現型が観察された[1]。一般に、iPS 細胞は初期化された細胞であり、iPS 細胞からの神経分化は胎生期様の発生過程を反映していると考えられる。一方で、我々の分化誘導系では、老化マーカーである SA-βGal の検出や、一部の SASP（senescence-associated secretory phenotype）関連因子の発現が認められ、老化様の細胞状態を伴うことが示唆された。また、成人ヒト脳においても海馬などで神経新生が認められること、さらに AD 患者脳では神経新生が阻害されていることが報告されている。したがって、我々の細胞系は、AD 患者で観察される神経分化阻害を一定程度反映するモデルであると考えられる。この神経分化不全は孤発性 AD 由来 iPS 細胞株 8 株と家族性 AD 由来 iPS 細胞株 2 株でも再現されており、AD 細胞株で広く認められる表現型である[1]。また、我々は化合物スクリーニングにより、AD iPS 細胞の神経分化不全を回復させる化合物として ALK2/3 阻害剤 LDN-193189 (LDN)を同定している。興味深いことに、LDN 処理は神経分化誘導 7 日目から 12 日目までの神経幹細胞誘導期に限定して行った場合でも、AD 細胞の神経分化能を十分に回復させることを見出した（図 2)。この結果は、神経分化初期における神経幹細胞分化過程での細胞状態制御が、AD 細胞の神経分化能の回復に重要であることを示している。そこで本研究では、神経分化初期における健常細胞と AD 細胞の状態差を高感度に検出することを目的として、形態—分子統合共変動ネットワーク解析を実施することとした。

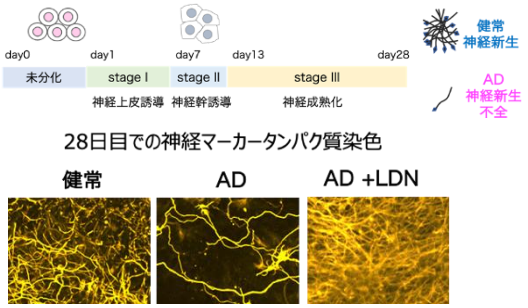


図 2　神経分化誘導プロトコールと 28 日後の健常・AD・AD+LDN 条件での神経マーカータンパク質染色像

① <u>PLOM-CON 解析パイプラインの高速化およびスケーラビリティの確保</u>

PLOM-CON 解析法は、主に①サンプル調製、②画像撮像（イメージング)、③画像解析、④数理解析の 4 工程で構成される。これまで、最終工程である「数理解析」には 1 ヶ月から 2 ヶ月を要しており、膨大な多次元データを扱う上での大きなボトルネックとなっていた。本手法の社会実装や多様な共同研究を並行して推進するためには、この解析プロセスの大幅なスピードアップとスケールアップが不可欠な課題であった。

そこで、 本研究期間において、数理解析工程の効率化を目的に以下の施策を講じた。1. 解析体制の強化： 数理解析を担当可能な人員を、従来の 1 名から 4 名体制へ

と拡充し、並列的な解析実行を可能とした。2. 解析パイプラインの標準化： 研究室内の複数のメンバーが汎用的に利用できるよう、解析コードの整理・最適化を実施した。3. ワークフローの統合： 個別に存在していた各解析コード間の連携をスムーズに繋ぎ込み、インプットデータからネットワーク構築までを一気通貫で実行できるパイプラインを構築した。

一連の効率化の結果、インプットデータから共変動ネットワークを導出するまでに要する期間を、従来の〜10 分の 1 に短縮することに成功した。これにより、数ヶ月を要していた大規模な解析が数週間単位で完結する体制が整った。本解析法の肝となるプロセスの大幅な時間短縮を実現したことは、今後関連する企業との共同研究や、多検体におよぶ臨床データの解析を円滑に実施する上で極めて重要な進展である。

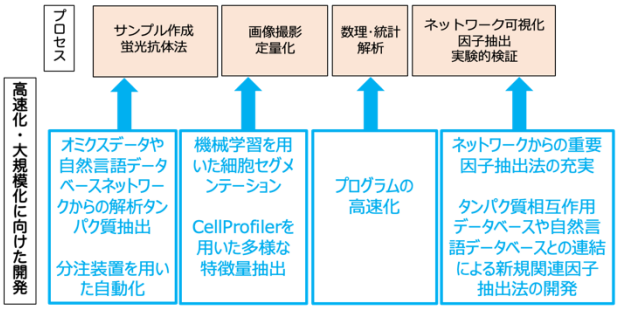


図３　PLOM-CON 解析法のプロセスと高速化・大規模化のための開発項目

② 時間相関型 PLOM-CON 解析法を駆使した形態特徴量の時間変化共変動ネットワーク構築

これまでの PLOM-CON 解析では蛍光抗体法による細胞染色画像をインプットとしてタンパク質の量・翻訳後修飾・局在情報を抽出し解析を実施してきた。今回は簡便な未病バイオマーカー検出を目指し、「形態特徴量」に着目した。形態特徴量とは、パターンやざらつき、規則性など、画像のテクスチャを表す特徴量であり、一つの画像から 100 以上の形態特徴量を抽出できることから、ネットワーク解析および後に行う DNB 解析にも活用可能であり、時間的にもコスト的にも負担の大きい蛍光抗体法のプロセスを最小化できると考えた。

まず、形態特徴量抽出のために用いる染色プローブおよび抗体の選定を行った。オルガネラや細胞骨格は細胞状態を反映する有用な形態指標となり得ると考え、各種オルガネラおよび細胞骨格に対する市販プローブ、ならびにそれらのマーカータンパク質に対する蛍光抗体法を実施した。その結果、形態や細胞内分布に興味深い変化を示すオルガネラ、細胞骨格マーカータンパク質を選定した。さらに、一細胞セグメンテーションのために核と細胞膜染色試薬も同時に染色し、これらの染色画像をネットワーク解析のためのインプットデータとして用いることとした。

次に、健常あるいはアルツハイマー病患者由来 iPS 細胞を神経分化誘導 7 日後、bFGF 刺激 0〜6 時間の間での 10 点で細胞を固定し、プローブあるいは蛍光抗体法による染色を行った。細胞条件は、健常由来 iPS 細胞（HC）、AD 由来 iPS 細胞（AD）、LDN-193189 を同時処理した AD 由来 iPS 細胞（LDN）の 3 条件である。電動ステージ搭載共焦点レーザー顕微鏡を用いて撮像を行った。取得した画像に対してセグメンテーションを行い、一細胞ごとに細胞領域、核領域、各オルガネラ領域を規定した。さらに、同定した各領域の形態特徴量を抽出し、これらを PLOM-CON 解析に供した。

PLOM-CON 解析では、解析の目的に応じて 2 種類の共変動ネットワークを構築することができる。第一は、「時間変化相関」に基づく共変動ネットワークである。この解析では、bFGF 処理後 0〜6 時間にわたる 10 タイムポイントのデータを連続的な時間変化として扱い、各タンパク質・形態特徴量が時間経過に伴ってどのように連動して変化するかを評価する。これにより、bFGF 刺激に対する細胞応答の過程で、どの分子・形態特徴量が時間的に協調して変動するかをネットワークとして可視化できる。

第二は、「細胞間相関」に基づく共変動ネットワークである。この解析では、各タイムポイントごとに取得された多数の単一細胞データを用い、同一時点における細胞間のばらつきを利用して、特徴量間の相関構造を計算する。すなわち、ある時点の細胞集団の中で、どのタンパク質・形態特徴量が細胞ごとに協調して高低を示すかを評価するものである。これにより、時間経過に伴って細胞集団内の共変動構造がどのように再編成されるかを、タイムポイントごとのスナップショットネットワークとして捉えることができる。

始めに、時間変化型共変動ネットワークを求めた。1000 以上の特徴量から構成されるネットワークであり、多数のクラスターに分かれた。多くのクラスターは各領域ごとに分かれており、同じオルガネラや細胞骨格の形態特徴量が強く相関するのは reasonable であると言える。その一方で、多くの構成要素からネットワーク間の違いを目視で検出するのは困難であった。そこで「相関異常度」を用いた変動特徴量の抽出を行った。相関異常度とは、2 つの条件間で構築した共変動ネットワークを比較し、各特徴量が他の特徴量と示す相関構造がどの程度変化したかを定量化する指標である。具体的には、各特徴量に接続する相関の強さや相関相手の変化を評価することで、条件間でネットワーク上の関係性が大きく変化した特徴量を抽出する。相関異常度解析の結果、HC と LDN 処理条件では大きな変化を示さず、AD 条件のネットワークにおいて特異的に変動する特徴量群は限定的であり、その変化量も必ずしも大きいものではなかった。一方で、抽出された特徴量の中には、特定のオルガネラ領域に由来する複数の形態特徴量が含まれていた（未発

表データ)。このことから、AD 細胞では全体的なネットワーク構造の大きな破綻というよりも、特定オルガネラの形態や細胞内分布に関わる局所的な共変動変化が生じている可能性が示唆された。したがって、これらのオルガネラ形態特徴量は、AD 特異的な細胞状態を反映する形態指標として有用である可能性がある。

③ 神経幹細胞分化過程を対象とした PLOM-CON 解析法を駆使した分子–形態統合共変動ネットワークの構築

さらに、これらの形態特徴量データと蛍光抗体法により取得した分子（タンパク質）特徴量データを統合し、形態-分子統合共変動ネットワークの構築を進めた。本解析は「時間変化相関」に基づき、形態特徴量とタンパク質特徴量が bFGF 処理後の時間経過に伴ってどのように連動して変化するかを評価するものである。具体的には、オルガネラや細胞骨格などから抽出した形態・分布・輝度に関する画像特徴量と、蛍光抗体染色により得られた各タンパク質の蛍光強度特徴量を同一の時間軸上で対応づけた。そして、形態特徴量と相関して変動するタンパク質特徴量を抽出することで、細胞形態やオルガネラ状態の変化に関与する分子ネットワークを明らかにすることを目的とした。これまでの研究において、シグナル伝達関連、神経分化関連転写因子などの 40 種類のタンパク質に対して、蛍光抗体染色により取得したタンパク質特徴量を用いた共変動ネットワークはすでに構築済みである。そこで本年度は、新たに取得・解析した形態特徴量に基づく共変動ネットワークを、この既存のタンパク質共変動ネットワークと統合した。これにより、分子レベルの変化と細胞・オルガネラ形態の変化を一体的に捉え、AD 細胞における神経分化初期の細胞状態異常を、形態—分子連関の変化として解析する基盤を構築した。構築した形態–分子統合共変動ネットワークについて、ネットワーク内で密に結合した特徴量群をクラスターとして抽出した。特に、形態特徴量とタンパク質特徴量が同一クラスター内に含まれる領域に着目することで、細胞・オルガネラ形態の変化と分子シグナル変化が連動して生じている可能性のある特徴量群を探索した。その結果、健常細胞および LDN により神経分化能が回復した AD 細胞では、特定オルガネラ形態とシグナル伝達分子の機能的連関が維持または回復しているのに対し、AD 細胞ではその連関が破綻している可能性を示唆した。今後は、このクラスターを構成するオルガネラ形態特徴量およびシグナル伝達分子に着目し、蛍光イメージングによる形態変化の定量、シグナル活性の評価、ならびに薬理学的介入実験を行うことで、AD 細胞における神経分化不全との関連性および LDN による回復機構への関与を検証する。

④ 細胞相関型シングルセル PLOM-CON 解析法を駆使した形態特徴量の細胞間共変動ネットワーク構築

次に、同一データセットを用いて、シングルセル型共変動ネットワーク解析を実施した。シングルセル型共変動ネットワーク解析では、各タイムポイントにおいて取得された単一細胞ごとの形態・分子特徴量を用い、細胞間のばらつきに基づく特徴量間相関を算出する。すなわち、同一時点の細胞集団内で、どの特徴量が細胞ごとに協調して変動しているかを評価し、その相関構造を共変動ネットワークとして可視化する解析である。
本研究では、bFGF 処理後 0〜6 時間の 10 タイムポイントについて、健常細胞、AD 細胞、AD 改善薬 LDN 処理細胞の 3 条件、および 2 種類の染色組み合わせを対象とし、合計 60 個のシングルセル共変動ネットワークを構築した。これにより、各時間点における細胞集団内のヘテロジェネイティ（不均一性）を、特徴量間の相関構造として動的に記述することが可能となった。
さらに、構築したネットワークに対して相関異常度を算出し、ヒートマップによる可視化を行った。これにより、健常、AD、および LDN 処理の 3 条件間で、どのタイムポイントにおいて、どの形態・分子特徴量を中心としたネットワーク構造の変化が生じているかを詳細に比較検討した。
相関異常度解析の結果、特定のオルガネラにおける形態特徴量では、特定の時間点で差異が大きくなるなどの変化は見られなかった。一方で、輝度に関連する特徴量群においては、全タイムポイントを通じて顕著な傾向が確認された。この結果は、LDN を投与しても輝度情報に反映される量的特徴については、健常状態まで十分に回復していない可能性を示している。一方で、時間変化に基づく PLOM-CON 解析では、疾患モデル条件に特徴的な変化が、ある特定のオルガネラの形態特徴量に認められ、LDN によってその時間的挙動が健常状態に近づく傾向が確認された。以上の結果から、本解析により、単一の特徴量の増減だけでは捉えにくい細胞状態の変化を、形態情報と分子情報の共変動構造として検出できることが示された。

細胞画像から抽出した形態特徴量を用いた共変動ネットワーク解析により、AD 細胞に特異的な変化を示す特定オルガネラ由来の形態特徴量を抽出することができた。さらに、タンパク質特徴量の時間相関変化を加えた形態—分子統合共変動ネットワーク解析を行った結果、健常細胞および LDN により神経分化能が回復した AD 細胞では、特定オルガネラ形態と特定分子の変動が連動しているのに対し、AD 細胞ではその共変動関係が失われている可能性を示した。すなわち、個々の特徴量の増減だけではなく、形態特徴量と分子特徴量の「関係性」そのものが、AD 細胞状態を反映する新規マーカーとなり得ることが示唆された。
今後は、当該クラスターを構成するタンパク質に着目し、ノックダウンや阻害剤処理によりその発現または活性を抑制した際に、特定オルガネラ形態がどのように変化するかを検証する。さらに、これらの介入が神経細胞分化過程に及ぼす影響を解析することで、抽出された形

態―分子共変動クラスターが AD 細胞における神経分化不全および LDN による回復機構に関与するかを実験的に明らかにする予定である。

【参考文献】

1．Nakatsu D, Kunishige R, Taguchi Y, Shinozaki-Narikawa N, Osaka K, Yokomizo K, Ishida M, Takei S, Yamasaki S, Hagiya K, Hattori K, Tsukamoto T, Murata M, Kano F. Stem Cell Reports. 2023 Mar 14;18(3):688-705. doi: 10.1016/j.stemcr.2023.01.004.

業績

【原著論文】
なし

【総説】
村田昌之、加納ふみ,実験医学増刊,44(5),627-634(2026)

【書籍】
なし

【口頭発表】
なし

【特許】
(1)国内特許出願　0 件
(2)国際特許出願　0 件

身体直接駆動のための運動制御インタフェースの開発

研究代表者：慶應義塾大学　　桂　誠一郎

【基本構想】

超高齢社会におけるさらなる人間支援の充実化のためには、人間の身体を直接的にサポートするための技術開発が不可欠である。アクチュエータが搭載された外骨格型のデバイスを身体に装着することで、身体運動のアシストが可能になる。しかしながら、運動の自由度を増やすためには駆動源となるアクチュエータの数も増えるため、大掛かりな装置が必要である。

そこで本研究では、医療分野で用いられている機能的電気刺激に基づいた身体運動の生成・補助を行うための技術開発を行う。皮膚の表面に電極を貼付して電流を流すことで、直接的な身体駆動が可能である。電流を生成するインタフェースの時空間分解能を向上することで、身体駆動の多自由度化やきめ細やかな運動制御の実現を目指す。

1.　研究目的

本研究では、機能的電気刺激を用いて人間の身体の直接駆動を行うための運動制御インタフェースの開発を目的としている。機能的電気刺激は皮膚の表面に貼付した電極に電流を印加することで筋収縮を発現させる技術であり、リハビリテーション等に利用されている。現状の装置では電流生成の時空間分解能が低く、運動性能に制限があった。本研究では、電流生成を高機能に行うための運動制御インタフェース技術を開発することで、運動の多自由度化や多機能化を目指す。

上記目的を達成するため、本研究では、図 1 に示すような機能的電気刺激インタフェースを開発する。FPGA（Field-Programmable Gate Array）を用いた電流生成装置のための電流制御回路を設計し、電流生成の時空間分解能を向上させる。その結果、フレキシブルな電流生成が可能になり、痛みや疲労の軽減のみならず、運動の多自由度化や多機能化が実現される。最終的には、開発した電流制御回路を組み込んだ運動制御インタフェースを運動学習やリハビリテーションに適用するための実用化へ向けた研究開発を進める。特に、これまでに実現が困難であった手指の独立駆動の実現を目指す。

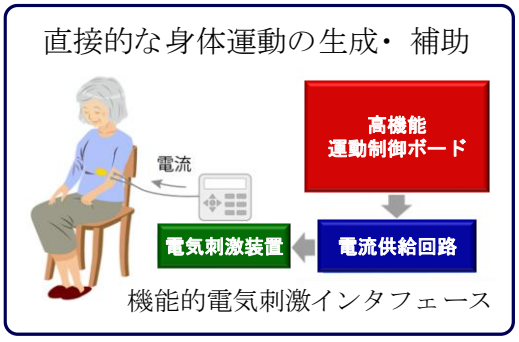


図 1　本研究で開発する機能的電気刺激インタフェース

2.　研究成果

2. 1.　電流制御回路の開発

従来の電気刺激装置では、電極間に一定の電圧を印加する定電圧回路が採用されてきた。皮膚の角質層、皮下脂肪、筋組織、および電極－電解質界面の影響により、電極間インピーダンスは周波数依存性を有し、かつ個人差や貼付状態、発汗などによりさまざまな時間スケールで変動する。定電圧回路は電極間の電圧を制御するため、生体を含む電極間インピーダンスの変化に伴い、最終的に流れる電流は変化することになる。その結果、特定部位に対して再現性のある刺激効果を得るためには、電極間を流れる電流を直接制御する定電流回路を構成することが必要となる。図 2 に定電圧制御と定電流制御の特性の違いを示す。

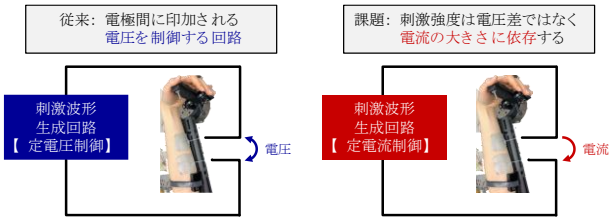


図 2　定電圧制御と定電流制御の違い

電極間電流を直接制御するためには、電流検出抵抗によって電流を電圧に変換し、負帰還を行う構成が有効である。本研究で新たに開発した定電流制御回路は図 3 に示すような電流制御ボードに組み込まれ、上位の運動制御装置と統合される。また、図 4 に実験機のセットアップを示す。

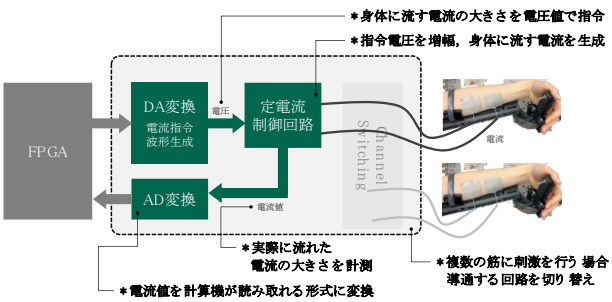


図 3　電流制御ボードの構成図

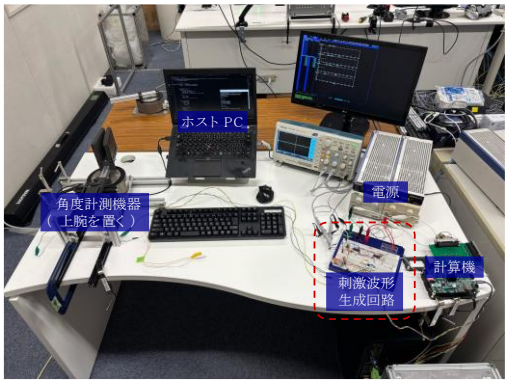


図 4　実験機のセットアップ

本研究で開発した定電流制御回路と従来の定電圧制御回路とを同一条件下で比較し、評価を行った。両回路に対して同一の参照波形および同一の電極配置を用い、出力電流、電極間電圧、および手関節屈曲方向の角度変化の挙動を評価した。生体負荷条件の変化を模擬するため、生体に対して直列に 470 Ω の抵抗を追加しない条件（低インピーダンス）と追加する条件（高インピーダンス）の 2 通りで比較を行った。

図 5 に定電圧制御回路による実験結果、図 6 に定電流制御回路による実験結果を示す。図 5 より、従来の定電圧制御回路では電流参照値に対して実際の電流応答が一致せず、生体インピーダンスの変化に伴って電流振幅が大きく変動することが確認できる。特に、容量性成分を含む負荷に対しては突入電流が生じ、駆動可能な最大電流に達することで出力電圧が制限され、結果として電流波形および電圧波形の立ち上がりが歪む挙動が確認できる。

図 6 より、本研究で新たに開発した定電流制御回路では、矩形波状の電流参照値に対して電流応答が良好に一致し、インピーダンス変動の有無にかかわらず所望の電流を安定して供給できていることが確認できる。

また、図 7 に定電圧制御回路と定電流制御回路によって駆動される関節角度の比較実験結果を示す。関節角度変化量の比較より、定電圧制御回路ではインピーダンス増加時に関節運動が顕著に減少し、刺激強度の再現性が損なわれることが示された。これに対し定電流制御回路では、インピーダンス変動条件下においても関節角度の変化量は概ね一定に保たれ、出力変動が抑制されていることが確認できる。

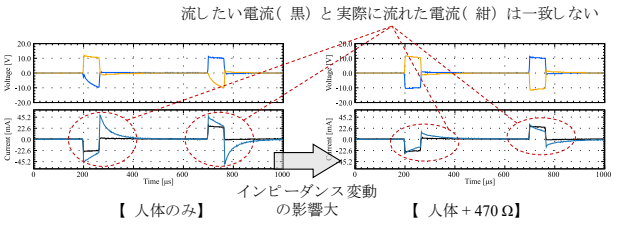


図 5　定電圧制御回路による実験結果

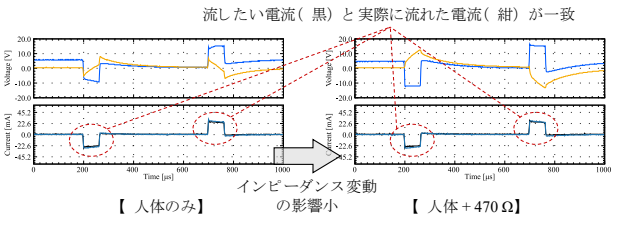


図 6　定電流制御回路による実験結果

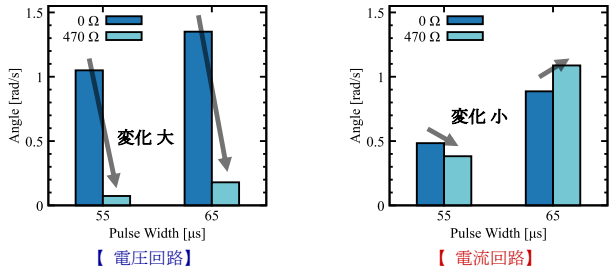


図 7　定電圧制御回路と定電流制御回路によって駆動される関節角度の比較実験結果

以上のように、本研究では新たに定電流制御回路を開発し、従来の定電圧回路と同一条件下で比較評価を行った。実験結果より、生体インピーダンス変動下においても所望の電流を安定して供給できることを確認した。このように、機能的電気刺激インタフェースのためのフレキシブルな電流刺激の生成が可能なハードウェア基盤構築に成功した。

2. 2.　運動制御インタフェースの開発

身体運動を機能的電気刺激により制御するためには、運動の出力となる関節角度・位置とトルク・力の計測が必要になる。そこで、関節角度・位置の取得のため、曲げセンサ情報に基づくセンシング手法の開発を行った。図 8 に曲げセンサを用いた指関節の動作計測の様子を示す。

曲げセンサによる指関節角度の計測にあたっては、伸縮を繰り返すことにより、初期角度のずれが生じることが確認できたため、モーションキャプチャを用いた非接触式での計測に関しても並行して実施した。モーションキャプチャによる指関節の計測結果の例を図 9 に示す。図 9 に示すように、指先（finger tip）、遠位指節間関節（Distal Inter Phalangeal: DIP 関節）、近位指節間関節（Proximal Inter Phalangeal: PIP 関節）の角度情報をリアルタイムに計測できることを確認した。



図 8　曲げセンサによる指関節の動作計測

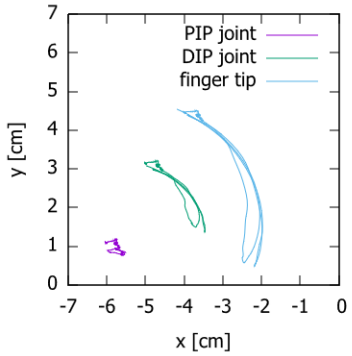


図 9　モーションキャプチャによる関節の動作計測結果

また、トルク・力の計測手法の開発を行った。外骨格型のインタフェースでは力センサを埋め込むことが可能であるが、本研究で開発する運動制御インタフェースは機能的電気刺激による直接的な身体駆動を実現するため、非拘束でセンシングする手法を新たに開発する必要がある。特に指先に関しては、直接力覚センサを装着することができないため、上肢筋電のセンシングに基づいて推定アルゴリズムを構築する。

従来、筋電を検出する際には 2 つの電極の電位差を増幅する手法が用いられてきた。特に、インスツルメントアンプを用いて 2 つの電位差を増幅し、後処理としてフィルタを導入することによりノイズ低減を実現している。しかし、リアルタイム性を重要とするヒューマンインタフェースにおいては、後処理は遅延の要因となる。また、ウェアラブルデバイスにおいては、消費電力が小さいことが望ましいが、後処理に伴う消費電力の増大も課題となっている。そのため、後処理を行うことなく筋電センシングを行う回路を新たに開発した。

本研究では、汎用演算増幅器を用い、かつ基準電位の設定方法を工夫することで、低ノイズで後処理を必要としない検出回路の設計を行った。具体的には、基準電位を電気活動の少ない骨に取ることで、より安定した基準電位を取得でき、それぞれの電極が受けるノイズを低減することが可能になる。

従来の作動増幅回路と本研究で開発した作動増幅回路による筋電のセンシング結果の比較を行った。実験の計測時には、被験者は筋肉を弛緩させ筋活動が活発に起こらない状態での筋電を計測した。従来の作動増幅回路による筋電のセンシング結果を図 10 に、本研究で開発した作動増幅回路による筋電のセンシング結果を図 11 にそれぞれ示す。基準電位を骨にとった提案回路の方が波形の振幅が小さく、残留ノイズの振幅が低いことが確認できる。各波形の全期間の最大値と最小値の差を算出すると、従来の作動増幅回路においては 0.178 V、本研究で開発した作動増幅回路では 0.128 V であった。このことから、基準電位を骨に取ることにより残留ノイズが約 28%低減されたことが確認できた。

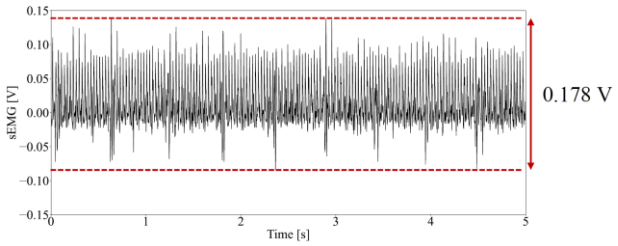


図 10　従来の作動増幅回路による筋電のセンシング結果

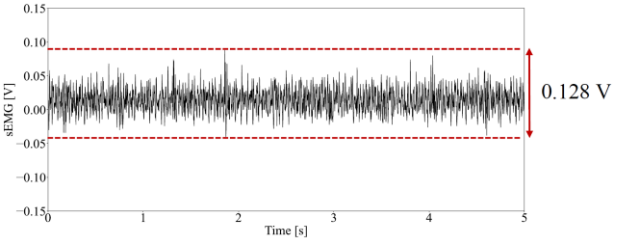


図 11　本研究で開発した作動増幅回路による筋電のセンシング結果

本研究では、力覚センサを直接指で押した際の上肢筋電データを取得し、加えた力と合わせて人工知能（AI）で学習を行った。図 12 に親指の指先力と母指球筋の筋電位の計測の様子を示す。指先に 3 軸力覚センサを配置し、指先力の計測を可能にしている。また、計測した母指球筋の筋電位と親指の指先力（Z 軸）の応答を図 13 に示す。

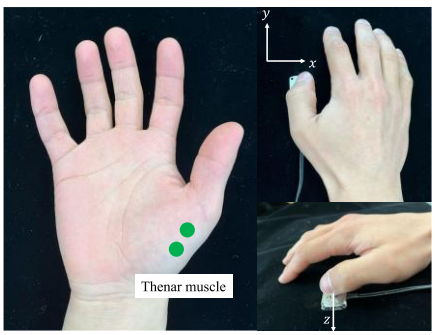
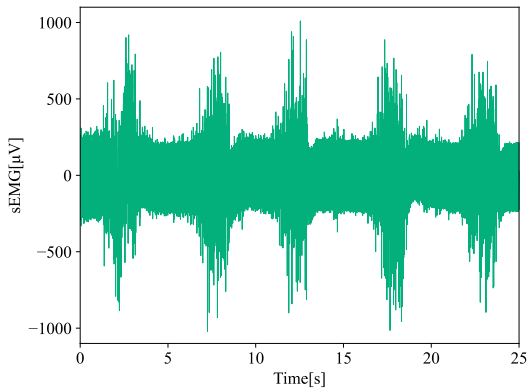
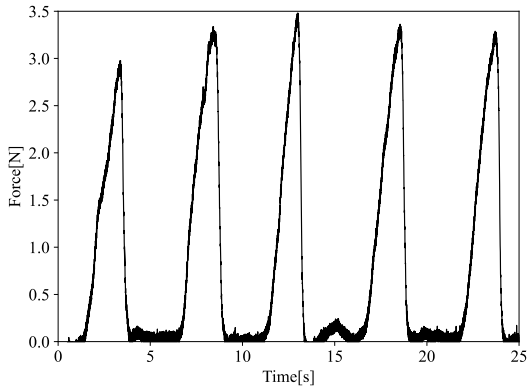


図 12　親指の指先力と母指球筋の筋電位の計測



(a) 母指球筋の筋電位



(b) 親指の指先力（Z 軸）

図 13　計測した母指球筋の筋電位と親指の指先力（Z 軸）の応答

図 13 の結果を基に、独自開発の AI 技術である「バイラテラル AI」を使用することで、得られたモデルがブラックボックス化されることなく、数式で表現して理解することが可能になる（図 14）。

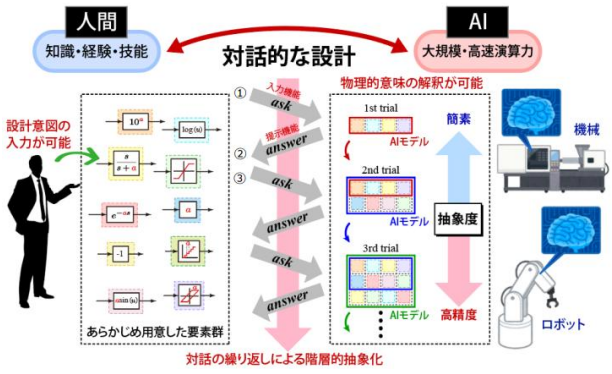
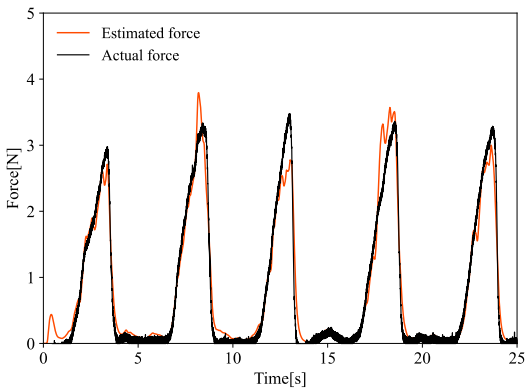
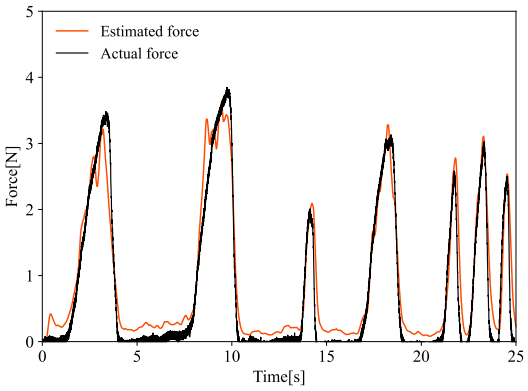


図 14　対話的設計が可能な人工知能技術「バイラテラル AI」

「バイラテラル AI」により得られた母指球筋の筋電位から指先力を推定するモデルを作成し、実験を行った。学習波形と評価波形を図 15 に示す。



(a) 学習波形



(b) 評価波形

図 15　母指球筋の筋電位に基づく親指の指先力（Z 軸）の推定結果

実験結果より、±0.1 N（10 g）にて指先力の推定が可能であることを確認した。「バイラテラル AI」はあらかじめ用意した要素の候補を基に最適化演算が行われるため、計算過程が全て物理式で明快に記述されるばかりでなく、その都度演算結果を見ながら対話型での設計が可能であるため、過学習などへの対応も可能になっている。

以上のように、本年度の研究内容の到達目標を全て達成することができた。また、次年度の研究項目に関しても一部前倒しをして開発を進めており、早期の社会実装を目指していく。

3. 今後の展望

本研究では、機能的電気刺激に基づく革新的な運動制御インタフェースの開発を目標としており、「身体駆動学」という新たな学理の構築を進めていく。この「身体駆動学」は、筋収縮を人工的に起こすことにより、人間の運動を直接的に制御する新たな学問となる。すなわち、本研究では単なるアプリケーション提案に留まることなく、機能的電気刺激の性能を決定づける電流制御系の構築を基本として、アウターループのロバスト制御系に基づく速度制御・力制御の同時実現、さらにヒューマンインタフェースとなる遠隔操作、通信制御へと続く技術の体系化を行うための研究を推進していく。

業績

【原著論文】

[1] Shunichi Sakurai, Seiichiro Katsura: “Position/Force Hybrid Control of Redundantly Actuated Cable-Driven Parallel Robot Based on Modal System Design,” *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*, Vol. 30, No. 6, pp. 7537-7546, December, 2025.
DOI: 10.1109/TMECH.2025.3577727
インパクトファクター（ＩＦ）６．３

[2] Shunichi Sakurai, Seiichiro Katsura: “Analysis and Development of a 6-DOF Manipulator Combining a Articulated Manipulator with a Cable-Driven Parallel Platform,” *Journal of Robotics and Mechatronics*, Vol. 37, No. 6, pp. 1508-1518, December, 2025.
DOI: 10.20965/jrm.2025.p1508 ＩＦ ０．８

[3] Daiki Sodenaga, Hisayoshi Muramatsu, Seiichiro Katsura: “Harmonic Reduction Using Periodic/Aperiodic Separation Filter for Surface-EMG-Based Force Estimation With Power Line Interference,” *IEEE Access*, Vol. 14, pp. 30726-30732, February, 2026.
DOI: 10.1109/ACCESS.2026.3666182 ＩＦ ４．２

[4] Masaki Takeuchi, Seiichiro Katsura: “Modeling of Electromagnetic Friction Clutches Considering Air Gap and Deflection,” *IEEJ Journal of Industry Applications*, Vol. 15, No. 2, pp. 203-211, March, 2026.
DOI: 10.1541/ieejjia.20250125 ＩＦ ２．４

[5] Shunichi Sakurai, Seiichiro Katsura: “Modal System Design for Robot Manipulators with Combined Kinematic Redundancy and Actuation Redundancy,” *IEEJ Journal of Industry Applications*, Vol. 15, No. 2, pp. 212-220, March, 2026.
DOI: 10.1541/ieejjia.20250127 ＩＦ ２．４

【口頭発表】

1. 招待講演

[1] Seiichiro Katsura: “Motion-Copying System for Reproduction of Human Motions,” 2025 *International Conference on Mechanical Automation and Engineering Applications, ICMAEA2025-CHONGQING*, Keynote Speech, September 19-21, 2025.

[2] Seiichiro Katsura: “Motion-Copying System for Reproduction of Human Motions,” *The 17th Conference on Control in Power Electronics and Electric Drives, SENE2025-LODZ*, Plenary Speech, November 26-28, 2025.

2. 国際会議発表

[1] Sora Yamaguchi, Seiichiro Katsura: “ReLU-Enhanced Neural Networks with Output Activation for Environmental Impedance Estimation,” *2025 International Conference on Mechanical Automation and Engineering Applications, ICMAEA2025-CHONGQING*, 4 page, September 19-21, 2025.

[2] Miharu Watanabe, Seiichiro Katsura: “Fingertip Position Control Using Finger Kinematics by Functional Electrical Stimulation,” *The 51st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, IECON'25-MADRID*, 6 pages, October 14-17, 2025.
DOI: 10.1109/IECON58223.2025.11221008

[3] Daiki Sodenaga, Daswin De Silva, Seiichiro Katsura: “Hysteresis Modeling of Thumb Tip Force Estimation from sEMG Using Element Description Method,” *The 51st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, IECON'25-MADRID*, 6 pages, October 14-17, 2025.
DOI: 10.1109/IECON58223.2025.11221085

[4] Kosuke Shikata, Seiichiro Katsura: “Quasi-Real-Time Motion Control via Measured Sampling Periods,” *The 51st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, IECON'25-MADRID*, 6 pages, October 14-17, 2025.
DOI: 10.1109/IECON58223.2025.11221715

[5] Mio Kanzawa, Seiichiro Katsura: “Optimization of Wave Control Design for Damping of Resonant System,” *The 51st Annual Conference of the IEEE Industrial Electronics Society, IECON'25-MADRID*, 6 pages, October 14-17, 2025.
DOI: 10.1109/IECON58223.2025.11221778

[6] Kazuma Morikawa, Seiichiro Katsura: “In-Link Actuators for Low-Inertia Robots,” *2025 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems, IROS2025-HANGZHOU*, Journal Transferred Paper, October 19-25, 2025.

[7] Fasih Munir Malik, Daiki Sodenaga, Victor Zhidchenko, Heikki Handroos, Seiichiro Katsura: “Joint Torque Estimation for Index Finger using sEMG and Joint Deflection: Ensuring End-to-End Transparency,” *2025 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics, ROBIO2025-CHENGDU*, pp. 190-195, December 3-7, 2025.
DOI: 10.1109/ROBIO66223.2025.11378296

[8] Kaito Yamamoto, Seiichiro Katsura: “Parts Assembly Configuration of Bendable Tubular Linear Motor Using Deformable Magnetic Material,” The 12th IEEJ International Workshop on Sensing, Actuation, and Motion Control, and Optimization, SAMCON2026-DAEGU, pp. 172-177, March 6-8, 2026.

[9] Reo Matsumoto, Seiichiro Katsura: “Vibration Control for a Flexible Structure Using Wave-based Sliding Mode Control,” 2026 IEEE 19th International Conference on Advanced Motion Control, AMC26-DAEGU, 6 pages, March 9-11, 2026.
DOI: 10.1109/AMC67705.2026.11435811

3. 国内会議発表

[1] 志方 鴻介, 桂 誠一郎:“波動モデルに基づく共振系のパラメータ同定と振動抑制”, 第 37 回「電磁力関連のダイナミクス」シンポジウム, No. 22B1-2, 6 pages, 5 月 21-23 日, 2025. (さいたま)

[2] 柴田 叡知, 桂 誠一郎:“コアレスアクチュエータのためのハルバッハ配列に基づくコイル配置”, 第 37 回「電磁力関連のダイナミクス」シンポジウム, No. 23B3-1, 6 pages, 5 月 21-23 日, 2025. (さいたま)

[3] 黒木 優作, 桂 誠一郎:“コンプライアンス制御を用いた物体衝突時の衝撃緩和”, 令和 7 年度電気学会産業応用部門大会講演論文集, Vol. II, pp. 147-152, 8 月 19-21 日, 2025. (徳島)

[4] 神沢 美桜, 桂 誠一郎:“二慣性系に対する振動抑制のための時間遅れ設計”, 令和 7 年度電気学会産業応用部門大会講演論文集, p. Y37, 8 月 19-21 日, 2025. (徳島)

[5] 櫻井 駿一, 桂 誠一郎:“(6+1) 自由度非対称パラレルメカニズムの作業領域拡大のためのリンク長最適化”, 第 43 回日本ロボット学会学術講演会, No. RSJ2025AC1D4-01, pp. 1-4, 9 月 2-5 日, 2025. (東京)

[6] 黒木 優作, 桂 誠一郎:“ロボットによるサッカーのトラップ動作の学習手法の比較検討”, 第 43 回日本ロボット学会学術講演会, No. RSJ2025AC1D5-02, pp. 1-4, 9 月 2-5 日, 2025. (東京)

[7] 鹿川 湧生, 桂 誠一郎:“スマートホームにおける自律移動家具ロボットのヒューマンインタラクション評価”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 11I-6, pp. 240-245, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[8] 錦 健志, 桂 誠一郎:“高速画像処理に基づく力センサシステムの開発”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 12G-3, pp. 500-503, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[9] 瀬戸口 佳司, 志方 鴻介, 桂 誠一郎: “機能的電気刺激下の拮抗筋共収縮制御における動作周波数特性の検証”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 13A-4, pp. 646-650, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[10] 袖長 大基, 梅野 和也, 四方 花香, 村松 久圭, 長津 裕己, 山之内 亘, 山田 千晴, 板口 典弘, 竹内 一生, 吉澤 浩志, 桂 誠一郎:“表面筋電位に基づく箸先把持力のセンサレス推定”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 13I-1, pp. 861-864, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[11] 巨知 達明, 桂 誠一郎: “歩行動作のモーションコピーのためのインソールセンシングシステム”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 13K-6, pp. 945-951, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[12] 志方 鴻介, 瀬戸口 佳司, 桂 誠一郎: “機能的電気刺激下の拮抗筋共収縮制御を用いた外乱抑圧特性の向上”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 22A-2, pp. 1336-1342, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[13] 岡田 直之, 桂 誠一郎:“機能的電気刺激による手指対立運動の制御”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 22A-3, pp. 1343-1348, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[14] 松本 麗央, 桂 誠一郎:“波動モデルとスライディングモード制御に基づく振動制御”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 22C-1, pp. 1397-1404, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[15] 竹内 政樹, 桂 誠一郎:“非対称プレイモデルと外乱オブザーバを用いたパウダーブレーキのロバスト速度制御”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 22F-4, pp. 1502-1507, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[16] 櫻井 駿一, 桂 誠一郎:“確率的モデリングに基づく反力推定オブザーバの構築”, 第 68 回自動制御連合講演会, No. 22F-5, pp. 1508-1511, 11 月 1-2 日, 2025. (名古屋)

[17] 山口 宙, 石川 朝香, 黒木 優作, 櫻井 駿一, 志方 鴻介, 松田 英子, 桂 誠一郎: “身体性 Human Dynamic Clamp: ロボット実装による実在感評価”, 電子情報通信学会 HCG シンポジウム 2025, No. B-2-5, 6 pages, 12 月 10-12 日, 2025. (北九州)

[18] 志方 鴻介, 桂 誠一郎:“実ネットワーク環境下のバイラテラル遠隔操作における通信品質の解析と補償”, 2026 年電子情報通信学会総合大会, Vol. 通信講演論文集 2, No. B-11-20, p. 317, 3 月 9-13 日, 2026. (福岡)

[19] 松本 麗央, 桂 誠一郎:“波動空間外乱オブザーバの帯域設計による振動制御”, 令和 8 年電気学会全国大会, Vol. 4, No. 4-157, pp. 272-273, 3 月 12-14 日, 2026. (仙台)

準安定相境界を利用した新機能材料・デバイス開発

研究代表者：東京科学大学 片瀬 貴義

【基本構想】

AI・IoT 技術の急速な発展に伴い、情報処理量は爆発的に増大している。これに伴い、データセンターやエッジデバイスにおける消費電力の増加が深刻な社会課題となっており、超低消費電力かつ高速動作を実現する次世代情報記録技術の創出が求められている。現在、有力候補の一つとして相変化メモリが注目されているが、その多くはアモルファス－結晶転移を利用しており、さらなる低消費電力化や高速動作化、そして新機能化には限界がある。当研究グループはこれまでに、非平衡プロセスによって安定化させた独自材料($Sn_{0.5}Pb_{0.5}$)Se において、温度変化によって 2 次元（2D）結晶構造と 3 次元（3D）結晶構造が可逆的に転移する現象を見出し、その転移に伴い電気伝導度や熱伝導率に巨大な変化を引き起こすことに成功してきた [1,2]。さらに、2D 構造相と 3D 構造相の相境界では、わずかな外場によって結晶構造と電子状態が大きく変化することから、従来の相変化材料では実現困難な巨大物性変化や新機能の発現が期待できる。本研究では、これまで開発してきた 2D–3D 構造転移材料を発展させ、電子構造や結晶構造が大きく異なる 2D・3D 構造物質の固溶体薄膜を作製し、温度誘起 2D－3D 構造転移に伴う電気・光・磁気・熱物性の巨大変調を実証する。さらに、2D 構造相と 3D 構造相が競合する準安定相境界において、外場（電流・電場・圧力・光）による 2D－3D 構造転移の可逆制御を実証し、電気伝導度、バンドギャップ、磁気特性、熱伝導率の巨大変調を実現する。最終的には、超低消費電力・高速動作を実現する次世代相変化メモリに加え、光・磁気・熱制御デバイスへと展開することで、次世代情報社会を支える革新的産業技術の創出を目指す。

1. 研究目的

本研究では、2D－3D 構造転移を示す薄膜を作製し、構造転移を利用した新機能の開拓とデバイスの実証を目指す。今年度は、室温以上で 2D－3D 構造転移を示す薄膜の実現を中心課題とし、2D－3D 構造転移に伴う磁気特性変調（新機能）の実証、圧力および電場による構造転移制御と電気特性変調の実証、さらに 2D－3D 構造転移を利用した相変化デバイスの動作実証を達成目標とした。具体的には、以下の 2 項目に取り組んだ。

(1) 温度誘起 2D－3D 構造転移による電気・光・磁気物性変調材料の開拓

室温以上の温度で 2D－3D 構造転移を示す薄膜材料の実現を目的として、SnSe 系よりも 2D 構造と 3D 構造の自由エネルギー差が大きい SnS 系に着目し、化学組成 x を制御した$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 固溶体薄膜の作製に取り組んだ。SnS 系では転移温度の高温化が期待されるため、組成制御による相境界形成と構造転移温度の制御に取り組んだ。

また、2D-3D 構造転移に伴う新機能創出を目的として、$(Pb_{1-x}Sn_x)Se$ に Mn を添加したバルク試料を作製した。MnSe は岩塩型構造を有する磁性体であり、3D 構造 PbSe と同じ結晶構造を持つことから、構造転移に伴う磁気特性変調の発現が期待される。

(2) 外場による 2D－3D 構造転移制御と物性変調

(1)で作製した相境界組成近傍の$(Pb_{1-x}Sn_x)Se$ と$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 固溶体薄膜を用いて、圧力および電場による 2D－3D 構造転移制御と電気特性変調に取り組んだ。相境界近傍では 2D 構造相と 3D 構造相の自由エネルギーが拮抗しているため、温度変化に加えて圧力や電場などの外場によっても構造転移を誘起できると期待される。本研究では圧力印加下および電界効果トランジスタ構造を用いた電場印加下で電気特性を評価し、外場による構造転移制御の可能性を検証した。

今年度の主要な成果として、室温以上での 2D－3D 構造転移の実現を目指して取り組んだ$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 固溶体薄膜の研究成果について報告する。

2. 研究成果

2.1. 非平衡プロセスによる$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の作製

$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜はパルスレーザー堆積法と高温固相反応・急冷処理を組み合わせた非平衡プロセス（図 1(a)）により作製した。具体的には、層状 SnS と岩塩型 PbS のバルク焼結体をターゲットとして用い、SnS/PbS の 2 層膜（トータルの膜厚は約 50nm）を MgO(100)基板上に堆積させた。SnS と PbS の膜厚比を調整することで組成 x を制御した。作製した 2 層膜を MgO 基板でキャップした後、Ar ガス雰囲気のガラス管内に封入して、550ºC で 30 分間の

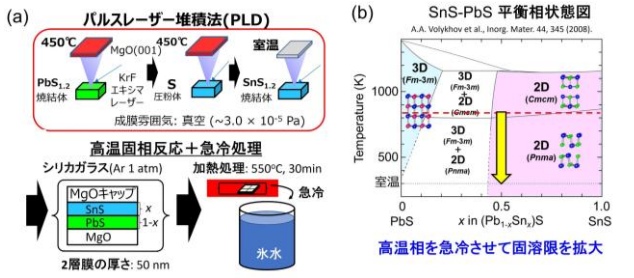


図 1. (a) パルスレーザー堆積法と高温固相反応・急冷処理を組み合わせた$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の作製プロセスの模式図。(b) SnS－PbS 平衡相状態図。

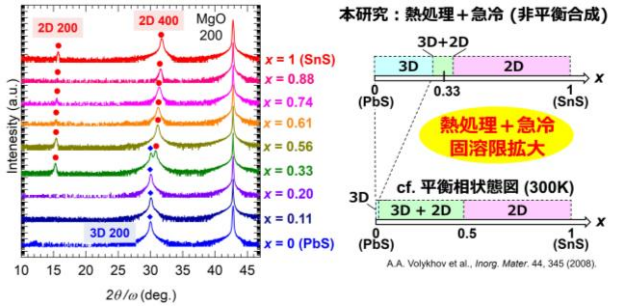


図 2. 非平衡プロセスにより作製した$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の Out-of-plane XRD パターン。右図には本非平衡プロセスと平衡合成における室温での組成 x と相の関係を示す。

熱処理を行って固相反応させてから室温に急冷させた。

図 1(b)に層状 SnS－岩塩型 PbS の平衡相状態図を示す。色塗り領域が 2D 層状構造（青）と 3D 岩塩型構造（赤）における固溶領域を示している。熱平衡状態では、層状 SnS に Pb が最大で約 50%まで固溶可能であるのに対して、岩塩型 PbS には Sn は殆ど固溶せず、中間組成では分相が生じることが分かる。一方、高温ではエントロピー項の寄与により、岩塩型 PbS への Sn の固溶濃度が増加することから、高温で固相反応により固溶体を形成した後に急冷することで、高温で安定な固溶体相を室温において凍結・安定化させることを狙った。

図 2 に、非平衡プロセスにより作製した$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の Out-of-plane XRD パターンを示す。x = 0(PbS)では岩塩型（3D）構造に由来する 200 回折ピークのみが観察され、x = 1(SnS)では層状（2D）構造に由来する 200 および 400 回折ピークが観察された。In-plane XRD 測定から、これらの両構造がいずれも MgO(100)基板上にエピタキシャル成長していることを確認した。Pb リッチ組成である x=0.11-0.20 では、3D 構造に由来する 200 回折ピークのみが見られたことから、3D 構造 PbS に Sn が固溶した単相薄膜が形成されていることが分かった。一方、Sn リッチ組成である x=0.56-0.88 では、2D 構造に由来する 200 および 400 回折ピークのみが見られたことから、2D 構造 SnS に Pb が固溶した単相薄膜が得られた。これに対して、x = 0.33 では 3D 構造相と 2D 構造相の両方に由来する回折ピークが観察され、両相が共存する混相状態が形成されており、この組成を境に結晶構造が急激に変化することが分かった。図 2 右には、本非平衡プロセスおよび平衡合成によって得られる$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ の室温における組成 x と相の関係をまとめている。非平衡プロセスにより、岩塩型（3D）構造への Sn 固溶領域が大きく拡張されたことによって、2D 構造と 3D 構造の直接相境界を形成することに成功した。

2.2. $(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の電気特性

次に$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の室温における電気特性を評価した。図 3(a)に、x に対する電気伝導度（σ）の変化を示す。まず純粋な 3D 構造 PbS と 2D 構造 SnS を比較すると、3D 構造 PbS は、2D 構造 SnS に比べて 2 桁以上高い σ を示すことが分かる。次に、2D 構造 SnS に Pb を置換していくと、σ が大きく減少した。さらに x = 0.33 において 3D 構造が混在すると σ は急激に増加し、その後 Sn 濃度をさらに低減して 3D 構造単相となる領域では、高 σ 状態を維持する傾向が得られた。これらの結果を考察するために、ホール効果測定を行い、キャリア濃度（n）と移動度（μ）の変化を調べた（図 3(b,c)）。□は P 型伝導、△は N 型伝導を表しているが、2D 構造$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜は P 型、3D 構造$(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜は N 型伝導を示した。2D 構造における Pb 置換では、μ は 10cm²/Vs 程度で大きな変化は見られない一方、n が約 4 桁低下することが分かった。さらに Pb 濃度を増加させると n は著しく減少し、ホール起電圧が測定できない領域となった。このことから、2D 構造 SnS へ

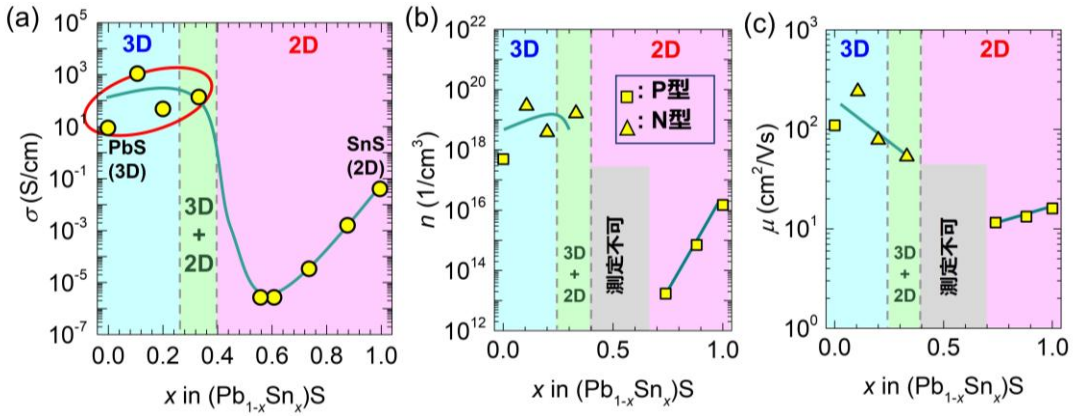


図 3. $(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の室温における電気特性の組成依存性。(a)電気伝導度、(b)キャリア濃度、(c)移動度。

の Pb 置換による σ の減少は、正孔濃度の減少に起因すると考えられる。詳細は割愛するが、第一原理計算による解析から、Sn をイオン半径の大きい Pb で置換することで層間距離が伸長し、自然に Sn や Pb のインターカレーションが生じることで電子ドープされることを明らかにした。さらに Pb 濃度を増加させると、キャリアの極性が P 型から N 型へと反転するとともに、n および μ がともに増加することが確認された。これは、3D 構造への構造変化に伴うバンドギャップの縮小により、キャリア生成が促進されるとともに、大きなバンド分散を反映して μ が大きく向上したためであると考えられる。

2.3. $(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 薄膜の 2D−3D 構造転移に伴う電気特性変化

次に、相境界組成である x=0.33 の試料について、σ の温度依存性を評価した（図 4(a)）。急冷直後の試料を昇温すると σ は急激に増加し、ヒステリシスを伴いながら室温で約 3 倍の増加を示した。図 4(b)に室温で測定した out-of-plane XRD パターンを示す。急冷直後の状態と比較すると、2D 構造に対して 3D 構造の回折ピーク強度が増大しており、低 σ の 2D 構造リッチな状態から高 σ の 3D 構造リッチな状態へと変化したことで、σ が向上したと考えられる。次に試料を冷却すると σ は急激に減少し、140 K まで降温した後に再び 300 K まで昇温した場合、ヒステリシスを伴いながら室温での σ は 1 桁以上減少した。対応する XRD パターンでは、3D 構造に対して 2D 構造のピークが優勢となっており、低 σ の 2D 構造リッチな状態へと変化したことで σ が減少したと考えられる。さらに再度昇温して室温に戻すと σ は再び増加し、高 σ 状態へと戻っており、XRD パターンからも高 σ の 3D 構造リッチな状態へ再び転移していることが確認された。以上の結果から、x=0.33 の試料では、温度変化に伴う 2D–3D 構造転移に起因して、室温を跨いだ大きな σ のヒステリシスが発現しており、高温安定相が 3D 構造、低温安定相が 2D 構造であることが明らかとなった。

3. まとめ

室温以上で 2D−3D 構造転移を示す薄膜の実現を目指し、非平衡プロセスを用いた $(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 固溶体薄膜の作製と構造・物性評価に取り組んだ。SnS/PbS 二層膜の固相反応と急冷処理を組み合わせることで、平衡状態では得られない広い組成範囲で $(Pb_{1-x}Sn_x)S$ 固溶体薄膜を形成し、3D 構造相と 2D 構造相が直接接する相境界を形成することに成功した。特に、相境界組成である x = 0.33 では、温度変化に伴う 2D−3D 構造転移が生じ、電気伝導度に室温を跨いだ大きなヒステリシスが発現することを明らかにした。今後は、この構造相制御を基盤として、2D-3D 構造転移を利用した相変化メモリを実証するとともに、光・磁気・熱機能への展開を進めることで、新原理機能デバイスの創出を目指す。

Reference

1. T. Katase et al., Science Advances 7, eabf2725 (2021).
2.Y. Nishimura et al., Adv. Electron. Mater. 8, 2200024 (2022).

業　績

【原著論文】

1. Hiroyasu Matsuura, Hidefumi Takahashi, and **Takayoshi Katase**, “History and perspective of phonon-drag effect advancing thermoelectrics”, Applied Physics Reviews Vol.13, No.1, p.11321 (2026).

2. Yuto Watanabe, Kota Suzuki, **Takayoshi Katase**, Akira Miura, Aichi Yamashita, and Yoshikazu Mizuguchi, “Uniaxial negative thermal expansion in a weak-itinerant-ferromagnetic phase of $CoZr_2H_{3.49}$”, Journal of the American Chemical Society Vol.148, No.7, p.7895-7904 (2026).

3. Zan Yang, Xinyi He, Hidetomo Usui, Toshio Kamiya, and **Takayoshi Katase**, “Axis-Dependent Conduction Polarity: Design Principles and High-Throughput Discovery of Transverse Thermoelectrics”, Journal of the American Chemical Society Vol.148, No.6, p.6704-6715 (2026).

4. **Takayoshi Katase**, Xinyi He, and Toshio Kamiya, “Unconventional Carrier Polarity and Conductivity Control by Ion-Substitution-Induced Structural and Defect Modulation in Layered Sn-based Chalcogenides”, Japanese Journal of Applied Physics Vol.65, No.2, p.020803 (2026).

5. Kazuki Mitsui, Sota Imada, Sayako Inoue, Gregory Tricot, Karima Ben Tayeb, Herve Vezin, Masami Mori, **Takayoshi Katase**, Hidenori Hiramatsu, and Akira Saitoh, “Degenerate n-type electrical conductivity in WO_3–P_2O_5 glasses with embedded WO_3 nanocrystals”, Journal of Physics and Chemistry of Solids Vol.211, p.113464 (2025).

6. **Takayoshi Katase**, Naoki Sato, Takao Mori, “Mixed-anion thermoelectrics: Advanced tuning of electron and phonon transport”, Applied Physics Reviews Vol.12, No.4, p.41319 (2025).

7. Xinyi He, Takehito Komatsu, **Takayoshi Katase**, Terumasa Tadano, Takashi Honda, Masayoshi Miyazaki, Masaaki Kitano, Hidenori Hiramatsu, Hideo Hosono, Toshio Kamiya, “Strong Phonon Scattering and Enhanced Thermoelectric Performance in $SrTiO_3$ Polycrystals by Simultaneous Hydrogen Substitution and Oxygen Vacancy Formation”, ACS Applied Energy Materials Vol.8, No.15, p.11447-11455 (2025).

8. Xinyi He, Kenji Matsuo, **Takayoshi Katase**, Kota Hanzawa, Hideto Yoshida, Shigenori Ueda, Hidenori Hiramatsu, Hideo Hosono, Toshio Kamiya, “Nanoscale Origin of Strong Charge Carrier Scattering at Grain Boundaries in Orthorhombic SnSe Semiconductor Thin Films”, ACS Applied Nano Materials Vol.8, No.16, p.8167-8175 (2025).

【口頭発表】

1. **片瀬貴義**, 熱電材料開発の新展開 : 環境調和性と性能を両立する複合アニオン酸化物,日本化学会 秋季事業 第 15 回 CSJ 化学フェスタ 2025, 2025 年 10 月 22 日-24 日, 東京, 日本

2. 田中大士, **片瀬貴義**, 神谷利夫, 2D-3D 可逆構造転移を示す$(Sn_{1-x}Pb_x)S$ エピタキシャル薄膜の作製と電気特性, 日本セラミックス協会 第 38 回秋季シンポジウム, 2025 年 9 月 17 日-19 日, 群馬, 日本

3. 鈴木航太, 木村茂, ホシンイ, 片瀬貴義, 神谷利夫, 逆ペロブスカイト型酸化物 Yb_3GeO の高純度試料合成と熱電特性,日本セラミックス協会 第 38 回秋季シンポジウム, 2025 年 9 月 17 日-19 日, 群馬, 日本

4. 森啓太, **片瀬貴義**, 神谷利夫, 層状 $Bi_9O_{7.5}S_6$ のメカノケミカル合成とキャリアドーピング,日本セラミックス協会第 38 回秋季シンポジウム, 2025 年 9 月 17 日-19 日, 群馬, 日本

5. 吉川桜良, **片瀬貴義**, 神谷利夫, 低次元層状オキシカルコゲナイドの薄膜成長と光電変換特性, 日本セラミックス協会 第 38 回秋季シンポジウム, 2025 年 9 月 17 日-19 日, 群馬, 日本

6. **片瀬貴義**, 非平衡相境界を利用した新機能開拓, 金研研究会「強相関物質における創発物性研究の現状と将来展望 2025」, 2025 年 5 月 31 日-6 月 1 日, 仙台, 日本

7. Sakura Yoshikawa, **Takayoshi Katase**, Toshio Kamiya, Epitaxial Growth and Photoelectric Properties of Low-Dimensional Layered Oxychalcogenide Semiconductor Thin Films, TMS 2026, the 155th Annual Meeting & Exhibition, March 15-19th, 2026, San Diego, USA

8. **Takayoshi Katase**, Large Modulation of Carrier and Phonon Transport by Isovalent Ion Substitution in SnSe, TMS 2026, the 155th Annual Meeting & Exhibition, March 15-19th, 2026, San Diego, USA

9. **Takayoshi Katase**, Mixed-Anion Oxides for Sustainable and High-Performance Thermoelectrics, 38th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC 2025), November 17-20th, 2025, Tokyo, Japan

10. **Takayoshi Katase**, Beyond Conventional Doping: Polarity Switching and Carrier Control in Sn-Based Chalcogenides, Materials Science & Technology Technical Meeting and Exbibition (MS&T25), September 28th-October 1st, 2025, Columbus, USA

11. **Takayoshi Katase**, Unconventional Doping Mechanisms in Layered Sn-based Chalcogenide Thermoelectrics, 6th Annual Meeting of the Taiwan Thermoelectric Society, August 29-30th, 2025, Hsinchu, Taiwan

12. **Takayoshi Katase**, Unusual Ion Substitution Effects on Carrier and Phonon Transport in Layered Sn-Chalcogenides, Tsukuba Workshop: Strategy and Outlook for TE Applications, June 21st-22nd, 2025, Tsukuba, Japan