



研究成果報告書

(2022年度採択 研究開発助成)

設 立 の 趣 旨

設 立 の 趣 旨

科学技術の振興は、一国の産業発展の原動力となるとともに、国民福祉を増進させる上で極めて重要な役割を担うことは、改めて申すまでもありません。

戦後の荒廃した日本経済が、短時日のうちに復興し、めざましい躍進を遂げたのも、我が国における科学技術の著しい進歩とその成果の積極的な活用によるものであるといえます。こうして我が国は今日、世界の経済大国にまで発展いたしました。ところが、昨今において我が国をめぐる経済環境は極めて厳しく、資源・エネルギーの制約、国際競争の激化、高齢化社会の到来、社会資本の不十分など解決を図るべき諸問題が山積しております。こうした問題や、将来我が国が直面するであろう問題を克服し、長期にわたって調和ある発展を実現していく上で、新しい科学技術の研究開発を推し進め、高付加価値産業、知識集約産業の振興、社会開発の強化を図ることが何よりも肝要であります。このためには優れた研究開発課題の発掘と推進、創造性に富んだ研究、人材の育成、科学技術に対する一般の理解の強化などが是非必要であります。

我が国科学技術が直面する、以上のような状況にかんがみ、株式会社島津製作所の拠出資金により財団法人島津科学技術振興財団を設立し、科学技術に関し、研究開発の助成及び振興を図り、もって我が国産業の発展と福祉の増進に寄与しようとするものであります。

(設立 昭和55年6月10日)

事 業

1. 科学技術に関する研究開発の助成
2. 科学技術の普及啓発
3. 科学技術に関する研究において著しい成果をあげた功労者の表彰
4. その他この法人の目的を達成するために必要な事業

研究成果報告 (2022年度採択 研究開発助成) 23件

研究題目	研究者	ページ
スピン量子操作法の確立による2次元窒化ホウ素結晶超高感度量子センサの開発	量子科学技術研究開発機構 量子生命科学研究所 チームリーダー 石綿 整	1
原子間力顕微鏡を用いた生細胞内側焦点接着斑観察方法の開発	金沢大学 ナノ生命科学研究所 特任助教 市川 壮彦	5
個体深部における特定分子の活性を非侵襲検出する生物発光技術の開発	宮崎大学 テニユアトラック推進室 講師 岩野 智	10
核医学治療のMicrodosimetry による物理的・生物学的組織吸収線量評価	福島県立医科大学 ふくしま国際医療科学センター 講師 右近 直之	13
微小熱流計測のための極薄HfO ₂ 薄膜焦電センサの開発	産業技術総合研究所 エレクトロニクス・製造領域 研究員 宇佐美 潤	17
温度記憶に関わる神経細胞のメモリー動態の計測	甲南大学 理工学部 特任研究准教授 太田 茜	22
液体中の秩序構造を明らかにする前方散乱ハイパーラマン分光法の開発	東京大学 総合文化研究科 准教授 奥野 将成	27
中赤外シリコンオンチップ量子計測に向けた量子もつれ光子対の生成と評価	香川大学 創造工学部 助教 小野 貴史	32
ビデオレート超解像赤外吸収顕微鏡の開発	大阪大学 大学院基礎工学研究科 助教 加藤 遼	38
安心・安全な放射線治療の実現に向けた中性子用線量計の開発	産業技術総合研究所 分析計測標準研究部門 研究員 木村 大海	42
界面の形と構造のin situ 測定によるナノフルイドの超濡れ現象の解明	東北大学 大学院工学研究科 准教授 庄司 衛太	47
電気回転速度を指標とした単一細胞の非染色電気特性評価装置の開発	兵庫県立大学 大学院理学研究科 准教授 鈴木 雅登	55
発作感受性消去によるてんかん根治療法の開発	近畿大学 薬学部 医療薬学科 教授 竹内 雄一	61

研究題目	研究者	ページ
膵癌前癌病変の特異的検出を目的とした分子プローブ開発	金沢大学 医薬保健研究域 薬学系 准教授 淵上 剛志	67
軟磁性体磁気異方性を用いたねじれ振り子型磁力計の開発	産業技術総合研究所 研究員 不破 麻里亜	73
高い時空間分解能をもつ神経活動の操作・記録法の開発と脳領域間ネットワーク解析への応用	大阪公立大学 大学院医学研究科 講師 宮脇 寛行	78
近赤外線スペクトロスコーピーと冠循環生理学指標による冠動脈疾患予後予測モデルの構築	国立循環器病研究センター 心臓血管内科 医師 邑井 洸太	84
マイクロRNA検出紙の開発	東京大学 大学院工学系研究科 准教授 森廣 邦彦	92
超高速時間分解光電子分光法による有機半導体単分子膜の電子状態・発光特性の相関評価	大阪大学 大学院理学研究科 助教 山田 剛司	96
アザアントラセンの特性を活かした有機小分子蛍光プローブ開発	就実大学 薬学部 講師 山本 浩司	102
形状センシングと深層学習を相補的に用いたフレキシブル超音波イメージングの開発	産業技術総合研究所 健康医工学研究部門 主任研究員 津村 遼介	108
超音波計測と数値計算の融合による複雑流体のメゾスケール挙動予測	産業技術総合研究所 計量標準総合センター 主任研究員 芳田 泰基	116
局所CVマッピング法と機械学習の融合による強誘電ドメインダイナミクス分析	東北大学 電気通信研究所 准教授 平永 良臣	123

スピン量子操作法の確立による 2次元窒化ホウ素結晶超高感度量子センサの開発

量子科学技術研究開発機構 量子生命科学研究所

量子バイオエンジニアリングチーム チームリーダー 石綿 整 *

1. はじめに

固体量子センサの代表例であるダイヤモンド中の窒素-空孔 (nitrogen vacancy: NV) センターを用いた生体計測は、ナノスケール (単一細胞以下) の領域における物理・化学パラメータの非侵襲的・高感度計測を可能とする手法として注目されている。分子よりも小さなスケールで量子状態を活用する本技術は、例えば渡り鳥の磁気感受性や植物の光合成機構といった、生体内における量子現象の存在を明らかにする手段として期待されている。近年では、NV センターにおけるスピン量子操作技術が高度に発展し、スピンコントラストおよびコヒーレンス時間に基づく理論的感度限界に到達している。

一方で、こうした量子センシングの生体応用において最大の課題は、量子センサと観測対象との距離を極限まで短縮することである。量子センサの感度は観測対象との距離 r の逆三乗 ($\propto 1/r^3$) に依存するため、距離の短縮が計測性能の向上に直結する。たとえば、単一タンパク質からの NMR や ESR 信号の検出はすでに実現されている^{[1][2]}ものの、構造解析に必要な高次元 NMR 測定を実現するには、さらに 100 倍以上の感度向上が必要とされている。

NV センターは結晶内に深さを制御して埋め込まれる必要があるが、 sp^3 結合から成るダイヤモンド結晶は、その成長・加工が非常に困難である。原子層堆積法 (ALD) や分子線エピタキシー (MBE) などの原子レベル制御が可能な手法においても、ダイヤモンドの成長には適していない。これは、炭素の sp^2 結合 (グラファイト構造) が熱力学的

により安定であるためであり、 sp^3 結合からなる高品質なダイヤモンド薄膜の形成は依然として困難である。そのため、NV センターの深さ制御には材料物性上の限界が存在し、さらなる距離短縮には構造自体の転換が求められる。

本研究では、この課題を解決するために、二次元材料である六方晶窒化ホウ素 (hexagonal boron nitride: hBN) 中に形成されるホウ素空孔欠陥 (boron vacancy: VB) センターに着目した。VB センターは原子層厚の二次元結晶内に形成され、センサ・ターゲット間の距離を 1 nm 以下に制御可能な唯一の量子センサであり、超近接センシングに特に有利な構造を持つ。我々は、これまで NV センターにおいて確立してきた量子スピン操作技術を基盤とし、現在当研究所において世界に先駆けて進めている VB センターに対するスピン量子操作法の開発を通じて、次世代の高感度二次元量子センサの実現可能性を検証した。

2. 蛍光スペクトラムによる VB センターの検証

まず、二次元材料である hBN 中に形成される VB センターの形成を確認するため、厚さの異なるサンプルにおける蛍光スペクトルの計測を行った。hBN は粘着テープを用いた機械的剥離法 (mechanical exfoliation) によりシリコン基板上に転写され、その後電子線照射を施すことで VB センターを生成した。得られた代表的なサンプルを Fig. 1 a) - d) に示す。

hBN 薄膜は薄膜干渉 (thin film interference) により厚みに応じて異なる色調を呈する。この現象は、入射光が薄膜の表面および内部界面で反射し干渉することで、一部の波長の光が強調または

* (助成採択時) 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構量子生命科学研究所 主任研究員

消失することに起因する。通常、数 nm～数十 nm 程度の極薄膜は灰色、無色透明、淡い黄色または青色として観察され、一方で数百 nm～ μm オーダーの厚膜は、赤紫、青紫、緑、赤、オレンジなどの強い干渉色を示す。

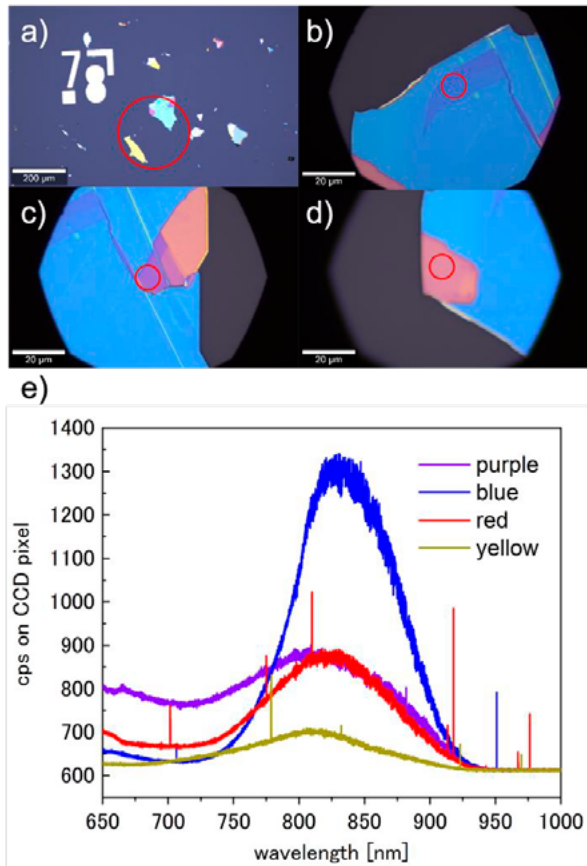


Fig. 1 a)-d) hBN 薄膜の顕微鏡画、e) hBN 薄膜から取得された発光スペクトラム

Fig. 1 b) - d) では、異なる色調を持つ領域を選択し、532 nm の緑色励起レーザーにより発光スペクトルを取得した。得られたスペクトルは Fig. 1 e) に示す通りであり、すべての厚みのサンプルから、おおよそ 820 nm を中心とした広帯域の発光が観測された。これは、負に帯電した VB センターに特徴的な発光であり、強い電子-フォノン結合およびヤーン・テラー効果による電子状態の混合に起因するとされている。

最も高い信号対雑音比 (signal-to-noise ratio:

SNR) が得られたのは青色を呈する薄膜であり、推定される厚みは約 10 nm であった (Fig. 1 e))。これに対し、より薄い黄色系の膜厚領域では、SNR が著しく低下した。また、数百 nm～ μm オーダーの厚みを持つ紫色および赤色の厚膜においても、同様に SNR の低下が確認された。これまでのダイヤモンド中の NV センターに関する研究では、厚膜によるセンサ特性の劣化は報告されていないが、本研究により hBN においては過剰な厚みが発光特性に対して負の影響を及ぼすことが明らかとなった。以上の結果より、hBN 中における VB センター形成において最適な膜厚条件を検討することの重要性が示唆された。

3. ODMR 顕微鏡を用いた VB センターの検証

最適な蛍光スペクトル特性を示した hBN 薄膜を用いて、ODMR 顕微鏡による観測を実施した。まず蛍光の安定性を評価するため、共焦点顕微鏡による 3 次元スキャンを行い、スキャン中におけるリアルタイムの蛍光強度変化を記録した。

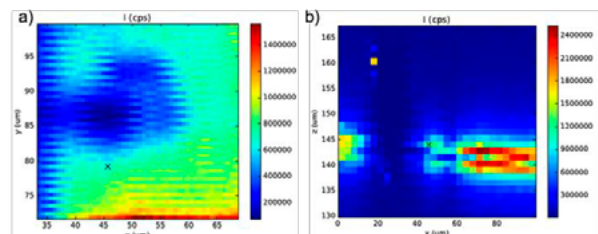


Fig. 2 a) XY 方向への共焦点顕微鏡スキャン結果、b) XZ 方向への共焦点顕微鏡スキャン結果

各測定ポイントでは、約 2 ms 間、0.5 mW 以上の強度で 532 nm レーザーを照射した。Fig. 2 a)、b) にそれぞれ XY 面および XZ 面方向へのスキャン結果を示す。レーザー照射の繰り返しにより、特定の領域で顕著な蛍光強度の低下が確認され、特に高蛍光強度を示す hBN 中の VB センターにおいては、長時間照射に起因するフォトリーチ

ングまたは欠陥状態の変化による蛍光強度の不安定性が課題として顕在化した。この結果は、今後の安定した計測のために、励起強度・照射時間・膜構造等の最適化が必要であることを示唆している。

一方で、全測定領域の中で数は少ないものの、比較的蛍光強度が安定し、ODMR 計測に適した領域が確認された。[Fig. 3 a\)](#) にその代表的な ODMR スペクトルを示す。hBN 中の負に帯電した VB-センターは、基底状態において三重項スピン構成を有し、室温下でのゼロ磁場スプリットイング (zero-field splitting: DGS) はおおそ 3.46 GHz とされている^[3]。[Fig. 3 a\)](#) に示すスペクトルでは、ゼロ磁場下において約 3.33 GHz 付近に共鳴が観測された。理論値とのずれは、hBN 薄膜内に存在する内部応力や格子ひずみなど、局所的な結晶場の変化に起因する可能性がある。

また、[Fig. 3 b\)](#) には、蛍光強度の安定性が低い領域における ODMR スペクトルを示す。[Fig. 3 a\)](#) と比較してバックグラウンド信号が増大しており、VB センター以外の発光が顕著に寄与していることが示唆される。これにより、信号対雑音比の低下および共鳴ピークの広がり観測され、 T_2^* 緩和時間の短縮を含むスピン特性の劣化が生じていると考えられる。これらの結果は、蛍光安定性およびスピン特性を両立させるための材料設計およびプロセス最適化の必要性を示している。

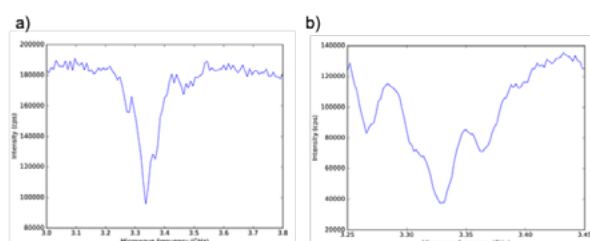


Fig. 3 a) 蛍光安定性を示す VB センターの ODMR スペクトラム、b) 蛍光安定性の無い VB センターの ODMR スペクトラム

4. 結論

本研究では、hBN 中における VB センター形成に対する膜厚依存性を系統的に評価し、さらに形成された VB センターの蛍光安定性および ODMR スペクトルの取得によるスピン量子操作の可能性を検討した。その結果、約 10 nm 厚の hBN 薄膜において VB センターの形成効率が最も高いことが示され、加えて、形成されたセンターにおいては顕著な蛍光強度の不安定性が課題として確認された。

また、蛍光安定性の高い領域では、低バックグラウンドかつ高シグナル強度を有する ODMR スペクトルの取得に成功した。一方で、得られた共鳴周波数は過去の報告値と比較して約 0.1 GHz 程度のシフトが認められ、薄膜内の格子歪みや内部応力による局所的な結晶場の変化が影響している可能性が示唆された。さらに、蛍光強度の安定性が低い薄膜では、ODMR ピークの半値幅の増大が確認され、これは T_2^* 緩和時間の短縮、すなわちスピンコヒーレンス特性の劣化を反映していると考えられる。

今後は、10 nm 前後の hBN 薄膜を用いた最適厚膜条件下において、電子線照射エネルギーや照射条件の最適化を図ることで、蛍光安定性に優れた VB センターの高効率形成を目指す必要がある。

5. 参考文献

- [1] Shi, F. et al. Single-protein spin resonance spectroscopy under ambient conditions. *Science* 347 1135 (2015).
- [2] Lovchinsky, I. et al. Nuclear magnetic resonance detection and spectroscopy of single proteins using quantum logic. *Science* 351 836 (2016)
- [3] Gottscholl, A., Diez, M., Soltamov, V. et al.

Spin defects in hBN as promising temperature,
pressure and magnetic field quantum sensors.
Nat Commun 12, 4480 (2021)

盤研究所 山崎雄一 上席研究員にサンプルの
提供を感謝します。

また、本研究は、島津科学技術振興財団の助成
金によるご支援の下で実施致しました。

6. 謝辞

量子科学技術研究開発機構 高崎量子技術基

原子間力顕微鏡を用いた生細胞内側焦点接着斑観察方法の開発

国立大学法人 金沢大学ナノ生命科学研究所 特任助教 市川 壮彦

1. 研究の背景と目的

焦点接着斑 (Focal Adhesion, FA) は細胞表面付近で細胞自身と細胞外マトリックス (ECM) を接着しているタンパク質集合体であり形態維持や細胞移動にとって必須であるだけでなく細胞周辺の微小環境を検知するシグナルセンターとしても機能している^{[1][2]}。FA は細胞膜を貫通している $\alpha\beta$ -integrin と integrin の細胞内ドメインに結合する talin, paxillin, vinculin, α -actinin 等の分子から構成されており、これらの細胞内構成分子にアクチン骨格が結合することで細胞の移動等を可能にしている^[3]。FA 形成の異常は胚発生、免疫、創傷治癒等に影響を与えることが知られている一方、FA の詳細な構造やその形成過程については未だ多くが不明である^{[4][5][6]}。

劣性多発性嚢胞腎 (ARPKD) は新生児に発症する単一遺伝子変異による腎疾患であり、約 10,000 - 40,000 人に 1 例が発症し生後 1 ヶ月で約半数が死亡する^[7]。発症メカニズムは現在でもほとんど不明であり根本的な治療方法も存在しない。ARPKD 患者の腎臓には直径 2 cm 以下の嚢胞が無数に生じ、腎集合管の拡張と胆管の異形成が特徴として見られる^[7]。

ARPKD の原因は PKHD1 遺伝子の変異であり、これは fibrocystin/polyductin (FPC) をコードしていることが報告されている^{[8][9]}。FPC は細胞接着やそれに関するシグナル伝達に関与すると考えられているが、どのような働きをしているのか、その変異がどのようにして病態を引き起こすのかといったことはまだほとんど分かっていない。ARPKD 患者の腎上皮細胞では FA 形成に異常が見られることから、このことが細胞接着や移動の異常を介して尿細管や胆管の異形成を引き起こ

している可能性が考えられている (Fig. 1(a))^[10]。

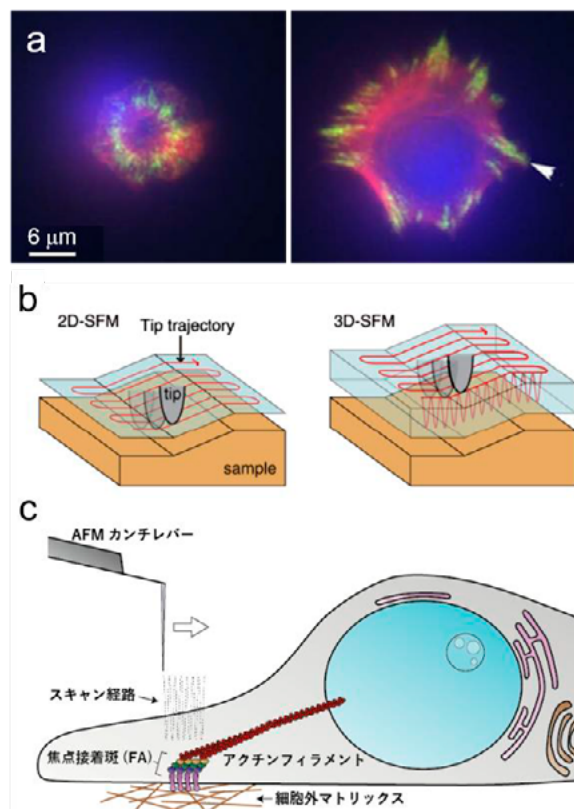


Fig. 1 (a) 正常な腎上皮細胞 (左) と ARPKD 患者の腎上皮細胞。青: 核、赤: アクチン、黄色: FA。矢じりが異常形成した FA。スケールバー: 6 μ m。(S. Israeli et al. Am J Physiol Cell Physiol 2010 を改変)。(b) 2D-AFM と 3D-AFM の模式図 (T. Fukuma et al. Phys. Rev. Lett. 2010 を改変)。(c) 3D-AFM を応用したナノ内視鏡法による細胞内 FA 観察の模式図。

本研究では報告者がこれまで開発してきた、原子間力顕微鏡 (AFM) を応用した「ナノ内視鏡法」を用いて FA の詳細な構造とその形成過程を観察することにより ARPKD メカニズムの一端を解明しようとする。

AFM は鋭くとがった探針を試料に接近させ探針と試料の間に働く原子間力を一定に保つよう

に探針-試料間距離をフィードバック制御することによって微細な表面構造を観察する顕微鏡である。光学顕微鏡と比べ非常に高い空間分解能で観察が可能であり、液中の1原子観察が既に達成されている^{[11][12]}。通常のAFMは表面形状に合わせてなぞっていくように探針を走査する2次元AFM (2D-AFM) であるが、これに対し1点毎に強制的にカンチレバーを引き上げ下ろす時のz方向の引っかかり力を測定することにより3次元空間の構造物を測定する方法が3次元AFM (3D-AFM) である (Fig. 1(b))^{[13][14]}。報告者が所属する研究室では既にこの3D-AFMを用いてマイカ表面に形成される水和分子の3次元構造観察に成功している^{[15][16]}。報告者は3D-AFM技術を細胞内観察に応用し、細く長い探針を用いて細胞内部にアプローチし細胞内器官の微細構造を観察する技術の開発を行ってきた (Fig. 1(c))。

本研究では、3D-AFMを生細胞内観察に応用した「ナノ内視鏡法」を用いてFA形成過程の詳細を明らかにすると共に、PKDH1変異によるFA形成への影響を明確にすることによってARPKD治療方法開発のための基礎情報を得ることを目的とする。このことは未だに治療法の存在しないARPKDの創薬ターゲット提供に繋がる可能性があると同時にAFMを用いて細胞内観察を行った初の例となり回折限界を超えた微小スケールで生きた細胞内を観察する次世代ツールの確立となり得るものである。

2. 研究結果

FAのマーカーであるPaxillinにYFPが融合したタンパク質を発現するラット線維芽細胞を作製し、それを用いて蛍光で焦点接着斑の位置を確認し、その付近をナノ内視鏡AFM観察した (Fig. 2)。蛍光像や弱拡大のAFM像では先端ほど細く

なっているように見えたが、先端をさらに拡大してみると30-300 nm程度の島状の構造物が分布していることが明らかになった。この結果は、FAが数十nmのislandを形成しているという1分子イメージングの結果とよく一致する^[17]。

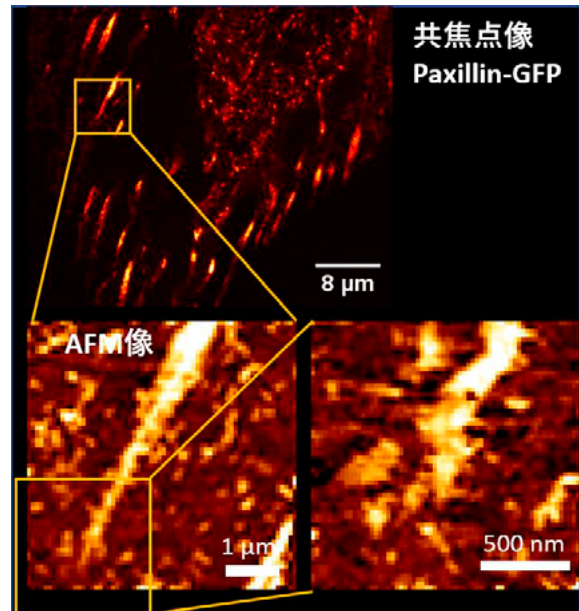


Fig. 2 ラット線維芽細胞 (Ref52) の Paxillin-YFP 像。
下図は四角で囲まれた領域を AFM 観察した結果。

次に、FA形成中のタイムラプスライブイメージングを行った。Fig. 3(c)の左図はナノ内視鏡AFM像、右図はPaxillin-YFP像で赤点線に掛かる力をクロスセクションで示したのがFig. 3(d)である。Fig. 3(e),(f)は27分後のAFM、蛍光、力のクロスセクション像である。0分の像と比較すると、繊維状の構造が出現し、さらにFA全体が細胞後方に引っ張られたような構造になっている。繊維状の構造はFAを基盤として伸長しているように見える。これは恐らく、アクチン繊維がFAから伸長し細胞内の他の構造と接続し、FAを引っ張る力が発生したためと思われる。

FAから伸長しているアクチン繊維はこれまで、

伸長した状態で FA と結合していると考えられてきたが、実際には FA を起点としてアクチン繊維が伸長している新たな可能性を提示することとなった。現在これらの結果をまとめて論文を作成している。

将来的には、より高分解能で長時間の FA 観察を行うことにより FA の形成から崩壊までの過程を詳細に明らかにする。FA 構成分子である Vinculin をノックアウトした細胞を作製し、Vinculin が FA 形成とアクチン繊維の結合にどのように関わるのかを明らかにする。また、微小管の重合が FA 形成を阻害することが報告されているため、微小管重合阻害剤を用いることにより微小管が FA 形成に及ぼす影響について明らかにする。さらに、ARPKD における FA 形成を観察するために短鎖干渉 RNA (siRNA) を転写するプラスミドベクターを用いて ARPKD の原因遺伝子産物である Fibrocystin/Polyductin (FPC) をノックダウンした MDCK 細胞を作製する。ARPKD モデル細胞における FA と正常 MDCK 細胞における FA の構造・形成過程を比較することにより ARPKD 患者の細胞で起こっている FA 形成異常メカニズムを明らかにする。

3. 結論

ナノ内視鏡 AFM を用いて生きた細胞内の FA を観察する手法を確立し、その形成過程を高分解能で観察することに成功した。その結果、FA 先端では島状の構造が点在していること、FA に接続しているアクチン繊維は FA を基盤として伸長する可能性があることを明らかにした。

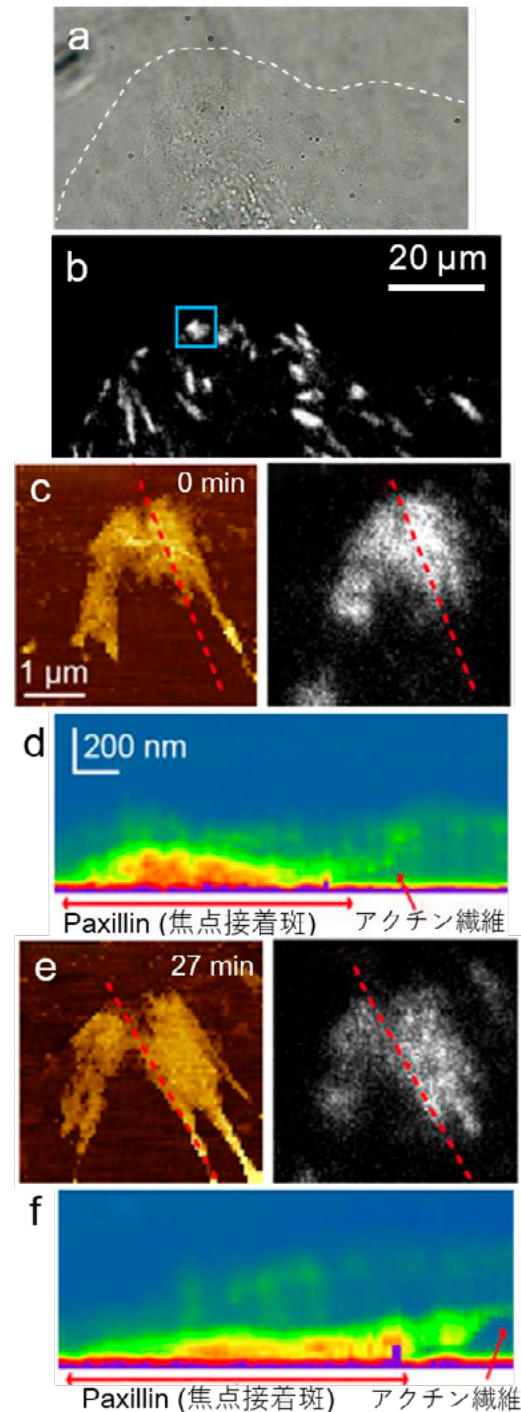


Fig. 3 (a) Ref52 細胞の明視野像。(b) Paxillin-YFP 像。青枠部分を AFM 観察した。(c) 焦点接着班のナノ内視鏡 AFM 像 (左) と Paxillin-YFP 像 (右)。(d) (c) の赤点線に沿ったフォースマップのクロスセクション図。(e) 27 分後の同じ焦点接着班のナノ内視鏡 AFM 像 (左) と Paxillin-YFP 像 (右)。(f) (e) の赤点線に沿ったフォースマップのクロスセクション図。

4. 参考文献

- [1] J. T. Parsons, A. R. Horwitz, M. A. Schwartz, Cell adhesion: integrating cytoskeletal dynamics and cellular tension. *Nat Rev Mol Cell Biol* **11**, 633-643 (2010).
- [2] M. A. Wozniak, K. Modzelewska, L. Kwong, P. J. Keely, Focal adhesion regulation of cell behavior. *Biochim Biophys Acta* **1692**, 103-119 (2004).
- [3] J. M. Goffin *et al.*, Focal adhesion size controls tension-dependent recruitment of alpha-smooth muscle actin to stress fibers. *J Cell Biol* **172**, 259-268 (2006).
- [4] K. Burridge, K. Fath, T. Kelly, G. Nuckolls, C. Turner, Focal adhesions: transmembrane junctions between the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Annu Rev Cell Biol* **4**, 487-525 (1988).
- [5] B. Geiger, A. Bershadsky, R. Pankov, K. M. Yamada, Transmembrane crosstalk between the extracellular matrix--cytoskeleton cross-talk. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2**, 793-805 (2001).
- [6] A. H. Baker, D. R. Edwards, G. Murphy, Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci* **115**, 3719-3727 (2002).
- [7] L. M. Guay-Woodford, R. A. Desmond, Autosomal recessive polycystic kidney disease: the clinical experience in North America. *Pediatrics* **111**, 1072-1080 (2003).
- [8] C. J. Ward *et al.*, The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein. *Nat Genet* **30**, 259-269 (2002).
- [9] L. F. Onuchic *et al.*, PKHD1, the polycystic kidney and hepatic disease 1 gene, encodes a novel large protein containing multiple immunoglobulin-like plexin-transcription-factor domains and parallel beta-helix 1 repeats. *Am J Hum Genet* **70**, 1305-1317 (2002).
- [10] S. Israeli, K. Amsler, N. Zheleznova, P. D. Wilson, Abnormalities in focal adhesion complex formation, regulation, and function in human autosomal recessive polycystic kidney disease epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **298**, C831-846 (2010).
- [11] G. Binnig, C. F. Quate, C. Gerber, Atomic force microscope. *Phys Rev Lett* **56**, 930-933 (1986).
- [12] B. Drake *et al.*, Imaging crystals, polymers, and processes in water with the atomic force microscope. *Science* **243**, 1586-1589 (1989).
- [13] J. Steinwachs *et al.*, Three-dimensional force microscopy of cells in biopolymer networks. *Nat Methods* **13**, 171-176 (2016).
- [14] T. Fukuma *et al.*, Mechanism of atomic force microscopy imaging of three-dimensional hydration structures at a solid-liquid interface. *Phys Rev B* **92** (2015).
- [15] K. Miyazawa *et al.*, A relationship between three-dimensional surface hydration structures and force distribution measured by atomic force microscopy. *Nanoscale* **8**, 7334-7342 (2016).
- [16] T. Fukuma, R. Garcia, Atomic- and Molecular-Resolution Mapping of Solid-Liquid Interfaces by 3D Atomic Force Microscopy. *Acs Nano* **12**,

11785-11797 (2018).

[17] T. K. Fujiwara *et al.*, Ultrafast single-molecule imaging reveals focal adhesion nano-architecture and molecular dynamics. *J Cell Biol* **222** (2023).

5. 本研究にかかわる成果発表等

- M. S. Alam, T. Ichikawa, T. Fujiwara, C. M. Franz, T. Fukuma "Nanoendoscopy-AFM: A new technique to explore Focal Adhesions in living cells", European Microscopy Congress (EMC2024), August 25-30, 2024, Copenhagen, Denmark
- M. S. Alam, T. Shirokawa, T. Ichikawa, C. M. Franz, T. Fukuma, "Investigating the Mechanical Properties and Dynamics of Focal Adhesions in Living Cells by Nanoendoscopy-

AFM Technique," IUPAB2024, June. 24 - 28, 2024, Kyoto, Japan

- Biointerphases Student Poster Awards at AVS-68, "Direct observation of focal adhesion by nanoendoscopy-AFM in live cells", Alam Mohammad Shahidul(令和4年11月6-11日)
- ULVAC Student Prize at IVC-22, "Direct observation of focal adhesions by nanoendoscopy-AFM in live cells", Alam Mohammad Shahidul(令和4年9月16日)

6. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の研究開発助成により行われました。また、ナノ生命科学研究所の福間剛士所長及び実験を担当した Mohammad Shahidul Alam さんに深く感謝いたします。

個体深部における特定分子の活性を非侵襲検出する生物発光技術の開発

国立大学法人 宮崎大学テニユアトラック推進室 講師 岩野 智

1. 研究目的

本研究グループでは、生物発光反応に基づくバイオイメーjing技術の開発と実践的な応用研究を行っている。

これまでに動物個体で起こる生命現象を従来技術の 100-1000 倍高感度に可視化できる高感度近赤外生物発光反応 AkaBLI(人工基質 AkaLumine と人工酵素 Akaluc で構成)を開発した(Fig. 1A)^[1]。AkaBLI は NIH の Somatic Cell Genome Editing Program で動物個体での検出システムに第一候補としてリストされており、技術的優位性は依然高い^[2]。

AkaBLI は Akaluc の発現量(=発光強度)を基に、動物個体内に数個細胞の局在、増殖の過程や遺伝子発現動態を高感度にモニタできる技術である。しかし、複雑な生命現象を読み解くには、特定の分子に呼応して発光活性(強度/波長)を変調させるプローブの開発が不可欠である。

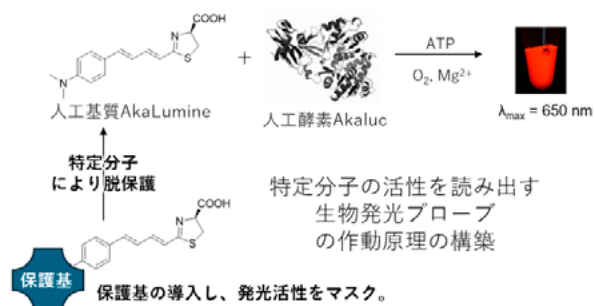


Fig. 1 AkaBLI に基づく生物発光プローブの模式図

そこで本研究では、AkaBLI を基盤にした基質構造の改変により、特定の生理機能を非侵襲に可視化できるターンオン型の機能プローブの作動原理の構築を目指す。具体的には、人工基質の AkaLumine に化学修飾を施し発光活性をマスク

し、特定分子(例:プロテアーゼ)により修飾が取り除かれる事で発光活性を回復する機能プローブである。概念実証のため、創薬ターゲットとして有力視されている SARS-CoV-2 メインプロテアーゼ(3CL)の標的ペプチドを発光基質に修飾し、3CL の存在の有無により発光が Off→On するかを調べた。

2. 研究実施状況・研究成果

2.1. 3CL 検出用発光プローブ 1 の前駆体である

AkaLumine モノメチル体の合成と評価

3CL 検出用発光プローブ 1 での発光基質は AkaLumine モノメチル体である。そこでまず、AkaLumine モノメチル体の合成を合成した(Fig. 2A)。AkaLumine モノメチル体は天然の Fluc(Akaluc の祖先)と反応し良好な発光活性を示す予備的知見を持って、本研究を企画したが、Akaluc との反応性は調べられていなかった。そこで、AkaLumine モノメチル体と精製タンパク質である Akaluc を利用した in vitro での発光活性評価を実施した。AkaLumine と比較してモノメチル体は 4%程度の発光強度を示した (Fig. 2B)。

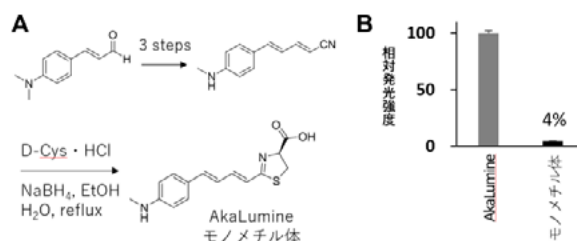


Fig. 2 AkaLumine モノメチル体の合成(A)と in vitro での Akaluc との発光活性評価(B)

AkaLumine の化合構造を少し変化させるだけで、Akaluc の基質認識に影響を与え、大幅に発光活性が低下することが判明した。

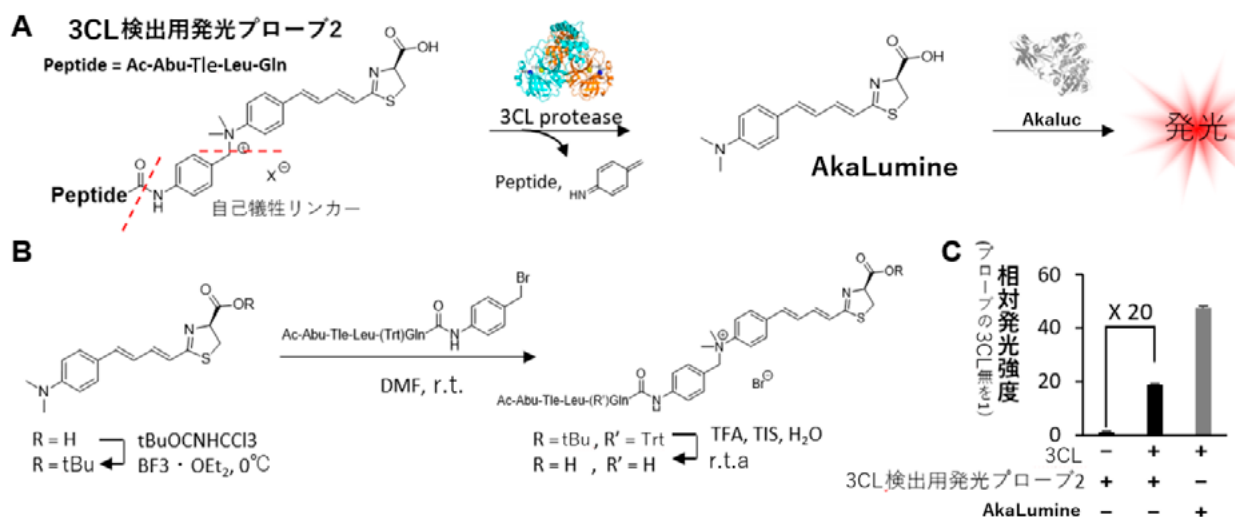


Fig. 3 3CL 検出用プローブ 2 の動作原理(A)と合成(B)、in vitro での機能評価

機能プローブが良好な機能を示すためには、Akaluc 存在下 AkaLumine モノメチル体が AkaLumine と同等の発光強度を示す必要がある。3CL により AkaLumine モノメチル体が遊離するプローブでは、プローブが極めて良好に動作しても、AkaBLI の 4%程度の性能しか出ないことが明らかとなった。このため、研究開始当初想定していた 3CL 検出用発光プローブ 1 の合成は、取りやめ、Fig. 3 に示す分子デザインでのプローブの開発、目的達成を目指し、研究を進めた。

2.2. 自己犠牲リンカーを利用した 3CL 検出用発光プローブ 2 の合成と評価

2.1 章の結果を受け、3CL による修飾ペプチドの切断により、AkaLumine そのものが遊離するプローブをデザインした(Fig.3A)。3CL 検出用発光プローブ 2 はペプチドが修飾された臭化ベンジルと AkaLumine エステルの縮合、続くメチルエステルの脱保護により合成した (Fig.3B)。得られた 3CL 検出用発光プローブ 2 を in vitro で機能の評価した。リコンビナント 3CL で処理 (1 時間、37 度) した後、リコンビナント Akaluc との発光活性により、3CL 非存在下に比べ 20 倍発光強度が向

上した (Fig. 3C)。in vitro では良好に機能することが明らかになった。

この結果を受け、個体レベルでのプローブの評価を行った。3CL 非発現の Akaluc 全身発現マウスで評価を行った。このマウスに 3CL 検出用発光プローブ 2 を投与したところ、AkaLumine を投与した場合と比較して 20%程度の発光強度を示した (Fig.4A)。in vitro の結果を踏まえ、3CL を発現しない当該マウスでは発光が確認されない（されても 1%程度の微弱である）と想定していた。

マウスに投与後、何かしらの分子によって修飾ペプチドが非特異的切断を受けていると考え、原因究明を進めた。まず血液中にある成分に注目した。野生型マウスから採血を行い、in vitro でマウスの血液存在下、3CL 検出用発光プローブ 2 の評価を行ったところ、血液非存在下と比較して 20 倍程度発光強度が増加した (Fig.4B)。血清を利用しても結果は再現した。血液成分中のプロテアーゼなどにより 3CL 検出用発光プローブ 2 の修飾ペプチドが加水分解され AkaLumine が遊離したと考えられる。非特異的切断のより精微な検討のため、合成の容易なクマリンにペプチドを修飾した

蛍光プローブを合成した(Fig.4C)。このプローブではペプチドの脱離により、蛍光波長が変化する。このプローブにマウス血液を作用させるとアミノクマリン由来の蛍光が確認されることから、当該ペプチド以外の構造によらず当該ペプチドを加水分解するプロテアーゼであることが示唆された (Fig. 4D)。また、いくつかのプロテアーゼ阻害剤を利用した検討を実施した。これにより、セリンプロテアーゼ阻害剤 AEBSF により非特異的切断が抑制されることから、セリンプロテアーゼがかかわっていることが示唆された。

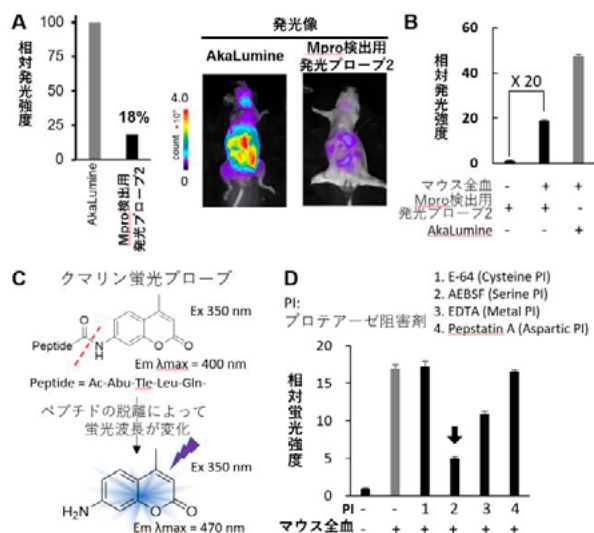


Fig. 4 3CL 検出用蛍光プローブ 2 の個体での評価 (A)、マウス血液を利用した非特異的切断の検討(B)、クマリン蛍光プローブ(C)、プロテアーゼ阻害剤による検討(D)

3. まとめ

発光基質の修飾による機能プローブ開発は、in vitro、または培養細胞レベルでは成功した。この技術は、3CL の阻害剤のハイスループットスクリーニングや、新型コロナウイルスの感染成立を培養細胞レベルで検出する有用な発光プローブとなりうる。しかし、当初の目的としていた個体レ

ベルで利用できるプローブ開発には、本研究期間中には至らなかった。しかしながら得られた知見から、酵素 Akaluc の改変によるプロテアーゼプローブの開発に着手しており、良好に機能する分子を見出している。またこの Akaluc 改変プローブを基に、異なるウイルスに由来するプロテアーゼに対応するプローブ技術を進めているところである。

4. 参考文献

- [1] Satoshi Iwano, et al; Single-cell bioluminescence imaging of deep tissue in freely moving animals, *Science*, **359**-6378, (2018), 935-939
- [2] Krishanu Saha, Erik J. Sontheimer, et al; The NIH Somatic Cell Genome Editing program, *Nature*, **592**, (2021), 195-204.

5. その他成果発表等

木山 正啓、岩野 智、特定のプロテアーゼで活性化される生物発光反応の開発は存外前途多難, P13, 第 55 回若手ペプチド夏の勉強会, 京都大学・宇治おうばくプラザ, 2023/8/8-10, ベストフェイルドアワード受賞.

6. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金を活用して実施しました。大変感謝申し上げます。本研究の実施に当たって、プローブの非特異的切断について相談させていただきました山本瑞樹博士、門之園哲也博士、高倉栄男博士、松本武久博士、築地真也博士に感謝申し上げます。また、非特異的切断の責任因子の同定の検討についてご助力いただきました小松徹博士に感謝申し上げます。

核医学治療の Microdosimetry による 物理的・生物学的組織吸収線量評価

福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター 講師 右近 直之

1. はじめに

近年、 α 線放出核種を用いた核医学治療（RI 内療法）が注目されている。 α 線は線エネルギー付与（LET）が格段に大きいため、従来用いられている β 線放出核種よりも少ない投与量で高い治療効果が期待できる。特に ^{225}Ac -PSMA リガンドによる去勢抵抗性前立腺がんの治療は、強力な治療効果が実証されており^[1]、 α 線放出核種を用いた治療薬の開発が活発に行われている。

この治療の特徴は腫瘍細胞に特異的に集積する特性を持つ薬剤を患者に投与し、その薬剤から放出される放射線を用いて治療を行う。しかし α 線は飛程が短く、薬剤が取り込まれる細胞内の部位によって細胞核などマイクロレベルで見た吸収線量（マイクロ線量）に不均一性が生じる。この不均一性によってX線治療や粒子線治療など放射線外照射治療と異なり、同じ吸収線量でもその生物学的効果に差が生じると予想される。核医学治療ではこの生物学的効果の比（RBE）を定量的に評価することが難しく経験的に決められた RBE が用いられている。したがって個人個人の放射性薬剤の投与量の変化によって治療効果や副作用が大きく異なる可能性がある。

これまで、放射線外照射治療では実験、理論の両面からその RBE を評価するために様々な研究が行われマイクロ線量の不均一性を考慮した RBE 計算手法が考案されている。しかし核医学治療では、薬剤が細胞のどの部位（細胞核、細胞質など）に取り込まれるか測定できないために、理論的な計算手法の確立が難しかった。そこで、本研究は、新たな α 線計測システムを用いた実験的手法によって RBE を評価するための実測データを収集

することで精密な吸収線量測定を行う。

福島県立医科大学では α 線放出核種の ^{211}At （アスタチン-211）を標識した核医学治療薬の開発を進めてられており、 ^{211}At -MABG を用いた悪性褐色細胞腫の治療のための医師主導治験が開始されている。しかし、 ^{211}At を標識した薬剤を投与した後、実際にどれくらいの薬剤ががん細胞や組織に届き、細胞にどれくらいの線量の α 線が吸収されるのか、明らかになっていない。そこで局在化した組織や細胞への薬剤集積のメカニズムや吸収線量の正確な評価に向け、細胞のイメージング技術が要求されている。細胞イメージングでは、蛍光観察がこの用途でよく用いられているが、ここで利用されるトレーサの分子量は比較的大きいため、細胞が薬剤を取り込む様子の直接観察は難しい。よって、生体細胞とほぼ同じ性質のトレーサを利用可能な核医学イメージングを、細胞観察に対応させることで、より多様な観察ができるようになる考えた。

観察対象の細胞は、約 $10\mu\text{m}$ 程度の大きさであり、空間分解能がミリ単位の既存のデバイスでは、このイメージングは難しいため、放射線との相互作用で発光するシンチレーターと、その発光を撮影するイメージングセンサーによる、新しい核医学イメージング手法（ α カメラ）^{[2][3]}が提案された。

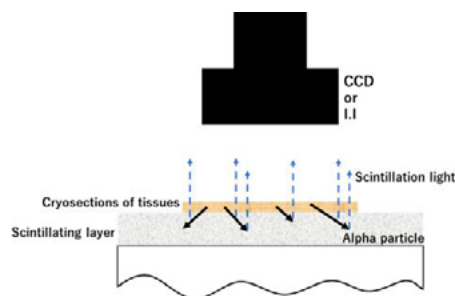


Fig. 1 α カメラの概略図

α カメラによって正常臓器や腫瘍などのマクロレベルでの局在性の評価は可能であった。そこで本研究では α 線検出用シンチレーターおよび CMOS カメラを用いた提案手法のイメージングにより細胞レベルのイメージングに挑戦する。さらに得られた実験データから細胞核や細胞質などのマイクロ線量の不均一性の違いから放射線外照射治療と比較した α 線放出核種による核医学治療の RBE を実験的、理論的に決定することで物理学的、生物学的な組織吸収線量の評価法を確立する。

核医学治療においては、組織吸収線量との正常臓器の耐容線量は未確定な部分が多い。飛程が細胞数個分と短い α 線による臓器障害の定量評価は、骨髄では造血細胞、腎では尿細管上皮細胞など、標的となる細胞のマイクロ線量が必要であるが、正確な測定法は未だ確立されていない。

また、 α 線による核医学治療の原理は、放射線が与えるエネルギーによる細胞内 DNA の損傷であり、外部放射線治療とその本質は何ら変わるものではない。そこで核医学治療の線量評価法として従来用いられている MIRD 法を用いて吸収線量を算出し、全身や各臓器における副作用予測や治療の指針としてきた。しかし、 α 線は数十 μm の短い飛程であるため、SPECT 等の体外計測を用いて、組織内の α 線の分布を評価することは不可能であり、推定線量と現実の副作用（内部被ばく）の間に解離を生じさせている。

本研究では上記に加えて、マウスの *ex vivo* 試料を用いて α 線の組織内分布を可視化できる α カメラ技術と動物用 SPECT を用いて、マクロとミクロの線量計算の結果を比較する。均一に分布すると仮定する MIRD 法の計算結果と比較し、その違いを生み出す要因について考察した。

2. 方法

2.1. α カメラの性能評価

計測の対象は、イメージングによる局在化した組織および細胞の集積である。 α カメラは複数の装置が開発されており、福島県立医科大学には CMOS カメラを用いた従来の α カメラおよびイメージインテンシファイアを用いた IQID カメラが設置されている。それら 2 つの装置と α 線放出核種以外の放射線検出技術を利用して生体内の分布を可視化可能なオートラジオグラフィーによる画像との比較を行った。

CMOS カメラを用いた提案手法のイメージング性能を実験から評価した。本学に設置されているサイクロترون製造可能な ^{211}At を一様に塗布した ZnS シンチレーター上に、直径 100 μm 及び 25 μm の金属ワイヤーを設置し、シンチレーション光を遮へいすることで陰影像を撮像し、画像の空間分解能を評価した。

さらに、 ^{211}At 標識化合物を投与されたマウスの腫瘍を摘出し、凍結切片を作成し 3 つのモダリティによる撮像を行い評価した。

2.2. 単一光子放射断層撮影装置 SPECT のイ

メージングによる組織吸収線量評価

^{211}At 標識化合物を用いた治療の診断および治療効果の予測には標的化合物が同一で放射性同位元素に診断用核種 ^{123}I を使用した放射性薬剤がコンパニオン診断薬として期待されている。本研究では、PC12 異種移植マウスを用いた ^{123}I -MIBG の生体内分布を測定しコンパニオン診断薬としての妥当性を評価した。さらに ^{123}I -MIBG イメージングと生体外臓器および腫瘍集積を比較することにより、イメージング線量測定の正確さの評価を行った。

マウスには、PC12 異種移植マウスを用い生体内分布研究用に 1.02 MBq の ^{123}I -MIBG を、または in vivo イメージング用に 11.45 MBq を静脈内投与した。組織中の放射能濃度 (%ID/g) は、投与後 1 分、1 時間、6 時間、24 時間で腫瘍を摘出しカウンターで測定された。in vivo イメージング Inveon PET/SPECT/CT 装置 (Siemens Healthineers AG) で行われ、投与後 1 時間、6 時間、24 時間でそれぞれマウスを屠殺し、1 時間の SPECT 撮像を行った。また、動物実験により得られた腫瘍移植モデルマウスにおける ^{123}I -MIBG の体内動態から臓器中の放射能の時間積分 (累積放射能) を解析することで内部被ばく線量が算出できる。内部被ばく線量評価として、アメリカ核医学会内に設置された Medical Internal Radiation Dose Committee (MIRD 委員会: 1964 年に活動開始) によって刊行された出版物に展開されている内部被ばく線量評価法である MIRD 法により線量評価を行った。

3. 結果

3.1. α カメラの性能評価

MIRD 法による線量評価結果を Fig. 2 に示す。

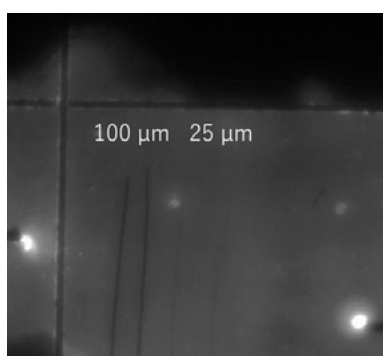


Fig. 2 ^{211}At 標識化合物を一樣に塗布された ZnS シンチレーター上に金属ワイヤーを設置した際の陰影像

2 本の 100 μm および 25 μm の金属ワイヤーによりシンチレーション光を遮へいすることができ、アルファカメラは 25 μm の空間分解能を有する可能性が示唆された。

また、Fig. 3 にオートラジオグラフィー、 α カメラ、iQID カメラによる ^{211}At の腫瘍イメージングの比較を示す。各撮像モダリティでは定量性や時間分解能などの特性は異なるが、空間分解能には大きな違いは無いことが確認された。

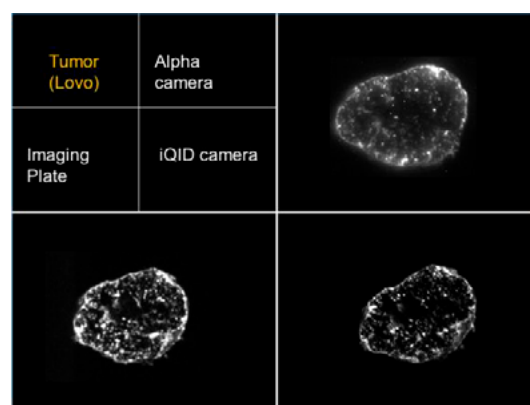


Fig. 3 ^{211}At 標識化合物を投与されたマウスの腫瘍を摘出し撮像した 3 つのモダリティによる画像

3.2. 単一光子放射断層撮影装置 SPECT のイメージングによる組織吸収線量評価

PC12 異種移植マウスにおいて、in vivo と ex vivo の ^{123}I -MIBG の生体内分布プロファイルは、どの時点でも非常によく一致していた。画像から得られた腫瘍の分布は ex vivo の測定に比べ低くなったがサンプル数を増やし検討する必要がある (Fig. 4)。一方で、 ^{123}I -MIBG の生体内分布のデータを使用し、RI の情報を ^{211}At に置き換えた ^{123}I -MIBG から推定された ^{211}At -MABG を想定した組織吸収線量として ^{211}At -MIBG の吸収線量の算出を行ったところ、 ^{123}I -MIBG の生体内分布プロファイルは、どの時点でも ^{211}At -MABG とよく

一致しており、吸収線量評価においても同等の結果が得られた。

^{123}I -MIBG 画像は、コンパニオンドラッグとして ^{211}At -MABG 放射線治療の治療判断のための線量測定に用いることが可能であることが示唆された。

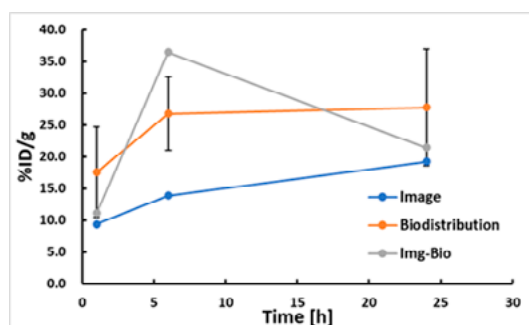


Fig. 4 ex vivo および in vivo イメージングから求めた腫瘍の放射能(%ID/g)の比較

4. 参考文献

- [1] Kratochwil, C et al.; ^{225}Ac -PSMA-617 for PSMA-Targeted α -Radiation Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer, J Nucl Med., **57** – 12, (2016), 1941-1944.
- [2] Bäck, T et al.; The alpha-camera: a quantitative digital autoradiography technique using a charge-coupled device for ex vivo high-resolution bioimaging of alpha-particle, J Nucl Med., **51** – 10, (2010), 1616-1623.
- [3] Miller, BW et al.; The iQID camera: An ionizing-radiation quantum imaging detector. Nucl Instrum Methods Phys Res A. **11**, 767, (2014), 146-152.

5. その他成果発表等

5.1. 発表論文

- Ukon N, et al. Manual on the proper use of meta- ^{211}At astato-benzylguanidine (^{211}At MABG) injections in clinical trials for targeted alpha therapy (1st edition). Ann Nucl Med. **36** – 8, (2022), 695-709.

5.2. 代表的な学会発表

- Ukon N, et al. Similarities and differences of dosimetry between meta- ^{211}At astatobenzylguanidine (^{211}At -MABG) and meta- ^{123}I -iodobenzylguanidine (^{123}I -MIBG) as companion diagnostic drug in PC12 pheochromocytoma model mice. EANM2022. Barcelona.
- Ukon N, et al. コンパニオン診断薬画像による核医学治療線量評価のための基礎検討. 第 17 回小動物インビボイメージング研究会 2022/08/27. Web.
- Ukon N, et al. Comparison of ex-vivo and in-vivo ^{123}I -MIBG imaging for dosimetry in PC12 model mice. The 62st JSNM. 京都.
- 右近直之. 「アルファカメラと SPECT 診断を用いたドジメトリの融合とモンテカルロシミュレーションによる理論予測との比較による射線障害の予測」第 4 回 放射線災害・医科学研究拠点 ワークショップ. 20230221. 広島

6. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金により実施しました。この場をお借りして心より御礼申し上げます。

微小熱流計測のための極薄 HfO₂ 薄膜焦電センサの開発

国立研究開発法人産業技術総合研究所エレクトロニクス・製造領域 研究員 宇佐美 潤

1. はじめに

IT 化の進展に伴い、コンピュータからの廃熱は処理性能や電力消費の両面において大きな課題となっている。これらの課題に対応するためには、熱の正確な計測・評価がますます重要になっている。そのため、高速かつ高感度に熱を検出できるセンサの開発が求められている。

温度を測定には、プラチナ(Pt)抵抗体などの温度で電気抵抗が変化する素子が用いられることが一般的である。しかし、電気抵抗を測定するために印加する電流によって発生するジュール熱が、微小な温度変化や熱流の測定の妨げとなる。そこで、本研究では強誘電体薄膜の焦電効果に着目した。

焦電効果とは、誘電体の温度が変化した際に分極が変化する現象であり、キャパシタ構造として回路に接続することで、焦電効果による表面電荷の変化を焦電流 (I_p) として測定することができる。焦電流の大きさは焦電係数 (Π)、キャパシタ電極面積 (A)、温度の時間変化 (dT/dt) に比例し、

$$I_p = \Pi A \frac{dT}{dt} \quad \text{Eq.(1)}$$

で与えられる。焦電素子を微細化して空間分解能を高める応用を考えると、面積を小さくしても焦電係数や温度変化を大きくすることで、センサの感度を向上させることができる。特に、薄膜の面直方向の熱緩和時間は厚さの 2 乗に比例するため、膜を薄くすることで感度と応答速度を向上させることが可能である。

焦電係数の測定には、間接法、パルス法、交流法などがある。間接法は、焦電係数を残留分極の温度依存性から求める方法であるが、薄膜では基

板との熱膨張差による圧電効果といった二次的な効果を見逃すことができず、正確な評価が難しい。次にパルス手法とはパルスの温度を変化させてその時の焦電流を測定するものであるが、測定感度を十分に大きくするためにはレーザーによる高速な温度上昇などを利用する必要があり、実験的な障壁が高い。また、トラップされた電荷が温度変化によって流れる、熱刺激流と焦電流を区別することができない。一方、サイン波的に試料温度 ($\Delta T = \Delta T \sin \omega t$) を変化させ交流手法では、試料温度変化に追従する熱刺激流に対して、焦電流

$$I_p \propto dT/dt = \Delta T \omega \cos \omega t \quad \text{Eq.(2)}$$

が時間微分のため位相差 $\pi/2$ 生じ、これらを区別することができる。

焦電センサに薄膜を使用することが有効であるものの、薄膜は基板に比べて熱容量が小さいためにその温度を測定することは容易でなく、焦電係数の正確な評価は容易ではない。基板と薄膜が十分緩和するような条件では、温度変化が緩慢なため焦電流は小さくなり、計測が難しい。このジレンマを解決するために、本研究では、強誘電体薄膜上に微細加工で局所加熱ヒーター兼温度計を作製し、基板全体を温めることなく焦電流を効率よく測定した(先行研究^[1]を参考にした)。

本研究では極薄 10 nm 厚でも強誘電性を示すことが最近報告された HfO₂ の応用を見据えた研究であったが、HfO₂ 薄膜では本測定デバイス作製時に面積が大きいことによるリークが発生してしまい、デバイスサイズを小さくするように改良中である。

一方、テスト測定を行った Pb(Zr_xTi_{1-x})O₃ (以下 PZT) 薄膜において、新しい観点での焦電係数

向上に関する知見を得ることができたので、詳細を報告する。

2. 交流法による焦電流の直接測定

ここでは、焦電係数測定のための先行研究がある PZT 薄膜を使用した。

2.1. 基板温度変化による焦電流測定

まずは、温調プローブシステムを用いて、基板を含めた試料温度を 0.01 Hz で変化させ、電極から発生する焦電流を測定した (Fig.1)。この温度変調に対して、位相が $\pi/2$ だけずれた焦電流が観測された。焦電係数は $-120 \mu\text{C}/\text{m}^2\text{K}$ であった。

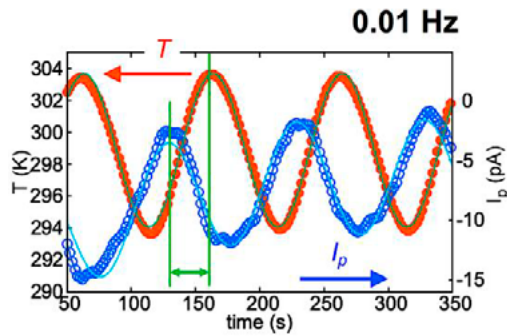


Fig. 1 基板を 0.01 Hz で温度変化させ、焦電流を測定した時の時間変化。

2.2. 3ω 法による焦電流測定

次に、微細加工により PZT 薄膜キャパシタ (Ti/Pt/PZT/Pt/Ti) 上に絶縁 SiO_2 膜を介して、ヒーター兼温度計として利用する Pt/Ti 薄膜を成膜し、リフトオフによりパターン形成した (Fig.2)。

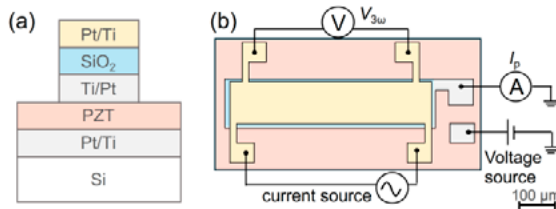


Fig. 2 3ω 法による焦電流測定試料の(a)断面概要図と(b)上からみた測定のイメージ図。

ヒーター部 (電気抵抗 $R = R_0$) に交流電流 $I = I_0 \sin(\omega t)$ を印加した。Fig. 3 に示すように周波数を増加させることで、焦電流は大きくなり、基板も含めた 0.01 Hz 温調では pA オーダーだった信号が、100 nA オーダーまで増大した。

以下では、温度変調と焦電流の関係について述べる。まず、ヒーター部に電流を印加することでジュール発熱

$$\begin{aligned} \dot{Q} &= RI^2 = R_0 I_0^2 \sin^2(\omega t) \\ &= \frac{R_0 I_0^2}{2} \{1 - \cos(2\omega t)\} \end{aligned} \quad \text{Eq.(3)}$$

が発生する。それに伴い PZT 薄膜は温度が周波数 2ω で変調され、その成分 ΔT は係数 Z 、位相差 φ を用いて

$$\Delta T = -\frac{R_0 I_0^2 Z}{2} \cos(2\omega t + \varphi) \quad \text{Eq.(4)}$$

で記述できる。それに伴い、ヒーター部の電気抵抗も 2ω で変調され、その成分 ΔR は温度係数 α を用いて、 $\Delta R = R_0 \alpha \Delta T$ と書ける。ここで、ヒーター部には周波数 ω の電流を印加しており、 $\Delta V = \Delta RI$ の変調電圧がロックインアンプで測定可能である。特に、 2ω と ω の合成による 3ω の成分 $V_{3\omega}$ は

$$V_{3\omega} = -\frac{R_0^2 I_0^3 Z \alpha}{4} \sin(3\omega t + \varphi + \pi) \quad \text{Eq.(5)}$$

で得られる。

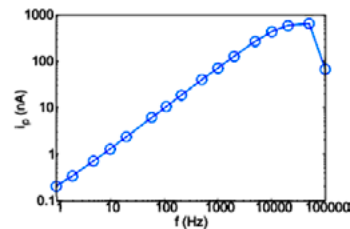


Fig. 3 3ω 法での焦電流の印加電流の周波数依存性。

また、焦電流もキャパシタンス電極間をロックインアンプで測定することで、

$$I_p = \Pi A \omega R_0 I_0^2 Z \sin(2\omega t + \varphi) \quad \text{Eq.(6)}$$

を得ることができる。

ここで、 $V_{3\omega}$ を測定することで温度変調がわかるので、Eq.(5)、(6)より焦電係数を求めることができる。また、位相の情報から、熱刺激流と区別することができる。本手法で得られた焦電係数は、基板温度変化による焦電流測定で得られた値と一致した。

3. 非対称な焦電流

3ω 法による焦電流測定の利点として、(A)位相情報から熱刺激流などのノイズを除去できること、(B)周波数を上げることで焦電流の信号強度が増加し、S/N比を改善できることが挙げられる。これらの特性を利用した測定として、焦電流の電圧依存性、ヒステリシスカーブの測定がある。

従来、バルク材料や基板の拘束を受けない膜材料において、焦電係数は残留分極に比例するものと理解されていた。一方、基板に拘束された強誘電体薄膜では、分極が反転しない「非反転分極」に起因する焦電効果が観測されている^[2]。一般的な分極ヒステリシスカーブ測定では、分極反転に伴う電荷移動のみを測定するため、そのような非反転分極の影響は検出できない。これに対して、本研究では、分極量に相当する焦電流を直接検出するため、電圧依存性、ヒステリシスカーブには非反転分極の影響も反映する。

Fig. 4は、膜厚 $1 \mu\text{m}$ のモルフォトロピック相境界組成 (Zr:Ti = 48:52) の PZT 薄膜^[3]に対して、上および下向きに DC 電圧印加時間を段階的に増加させた時の分極および焦電ヒステリシスカーブを示している。

初期段階 (1 s 印加) では、焦電ヒステリシス

カーブは下向き分極状態が強く、基板に拘束される薄膜では非反転分極が存在することが示唆された。さらに電圧印加時間の増加に伴い、焦電ヒステリシスカーブは電圧印加方向に依存して非対称に拡大し、DC 電場によって非反転分極が增強されていることが確認された。

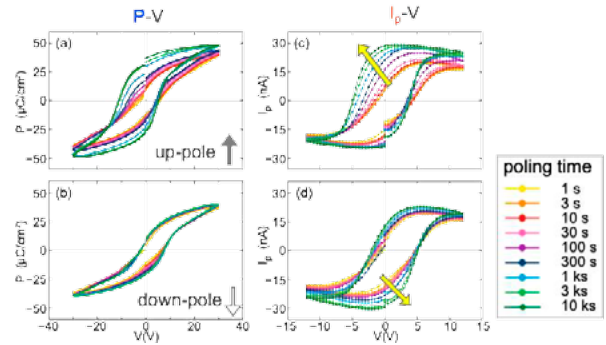


Fig. 4 面直上、下向きに DC 電圧印加時間を増やしながら分極処理を行った時の分極および焦電ヒステリシスカーブ。

ここで、0 V での上向き (+)、下向き (-) の焦電流 $I_{p,r\pm}$ は、反転分極 (s) と非反転分極 (ns) の寄与、 $I_{p,r,s}$ 、 $I_{p,r,ns}$ の和として表すことができる：

$$I_{p,r\pm} = I_{p,r,s} + I_{p,r,ns} \quad \text{Eq.(7)}$$

この関係を用いて、各電圧印加時間での反転、非反転分極の寄与をプロットしたのが Fig. 5 である。反転分極の寄与に加え、非反転分極の寄与も印加電圧時間の増加に伴い増加した。これらの結果は以下の重要な示唆を与える。

- 1) これまで焦電係数はその分極方向依存性は着目されていなかったが、基板上的の薄膜など反転対称性が破れている試料では、上下方向での非対称性が無視できない。
- 2) 一般的な分極測定では非反転分極の影響は検出できないため、焦電流の直接測定が分極状態の有効な検出手法となる。

- 3) 焦電センサなどでは分極反転を伴わない動作が一般的であり、一方向の特性を最大化する設計が望まれる。DC 電圧印加などを使い材料を準備することが有用である。
- 4) 非反転分極は反転分極と同程度の寄与を持つ可能性があり、今後の材料開発として、積極的に非反転分極を利用するような設計が有効である。

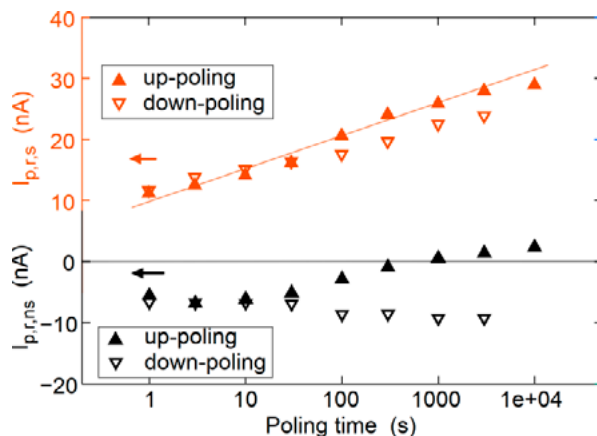


Fig. 5 上下向きの DC 電圧印加時間に対する反転、非反転分極による焦電流への寄与。

4. 結論

本研究では、3 ω 法を用いた薄膜試料への局所加熱による高精度な焦電係数の直接測定手法を確立した。PZT 薄膜を用いた実験において、従来の基板全体を加熱する低周波温調法と比較して、数桁大きな焦電電流の検出に成功した。

さらに、この手法を応用して焦電ヒステリシスカーブを測定し、これまで見過ごされていた分極方向に依存した焦電係数の存在を明らかにした。特に、非反転分極の寄与が焦電応答に大きく影響することが示され、これは強誘電体薄膜の設計や最適化に新たな指針を与える。本成果は、焦電材料の物性理解を深めるとともに、分極制御による焦電特性の高性能化に寄与し、今後の材料開発や熱センサへの応用展開に貢献するものである。

5. 参考文献

- [1] S. Pandya *et al.*, “Direct Measurement of Pyroelectric and Electrocaloric Effects in Thin Films,” *Phys. Rev. Appl.* **7**, 034025 (2017).
- [2] S. W. Smith *et al.*, “Thickness scaling of pyroelectric response in thin ferroelectric $\text{Hf}_{1-x}\text{Zr}_x\text{O}_2$ films,” *Appl. Phys. Lett.* **113**, 182904 (2018).
- [3] T. Kobayashi *et al.*, “Effect of multi-coating process on the orientation and microstructure of lead zirconate titanate (PZT) thin films derived by chemical solution deposition,” *Thin Solid Films* **489**, 74 (2005).

6. 本研究に関わる成果発表

6.1. 論文発表

- ・ J. Usami, Y. Okamoto, H. Inoue, N. Makimoto, T. Kobayashi, H. Yamada, “Directional enhancement of pyroelectricity in $\text{Pb}(\text{Zr}_{0.52}\text{Ti}_{0.48})\text{O}_3$ Films by DC poling,” *Applied Physics Letters* **126**(9), 092902 (2025).

6.2. 学会発表

- ・ 宇佐美 潤, 山田 浩之, “薄膜強誘電体の焦電効果の直接測定”, 第 84 回応用物理学会秋季学術講演会, 熊本, 2023 年 9 月.
- ・ 宇佐美 潤, 岡本 有貴, 井上 悠, 小林 健, 山田 浩之, “分極処理による強誘電体薄膜の焦電と電気熱量効果への効果”, 第 85 回応用物理学会秋季学術講演会, 新潟, 2024 年 9 月.
- ・ Jun Usami, Yuki Okamoto, Hisashi Inoue, Takeshi Kobayashi, Hiroyuki Yamada, “Pyroelectric Effect Enhancement by Poling in PZT Thin Films”, *FerroSchool2024*, Ljubljana, 2024 年 11 月.
- ・ Jun Usami, Yuki Okamoto, Hisashi Inoue,

Takeshi Kobayashi, Hiroyuki Yamada, “Poling Effect on Pyroelectric Effect in Ferroelectric Thin Films”, 2024 MRS Fall Meeting & Exhibit, Boston, 2024 年 12 月.

7. 謝辞

本研究は、島津科学技術振興財団による助成金の支援を受けて実施されました。学位取得後かつ新しい研究分野での挑戦でしたが、ご支援により論文出版まで至ることができ大変感謝申し上げます。

温度記憶に関わる神経細胞のメモリー動態の計測

甲南大学理工学部 特任研究准教授 太田 茜 *

1. はじめに

温度は生命維持にとって必須の環境情報であり、脳神経系に関わる温度情報の記憶に基づく体の生理的応答の原理の解明は地球温暖化社会において重要である。また、脳神経における温度記憶のメカニズムを理解することは、認識や記憶学習といった神経疾患等の医療面においても重要である。しかし、人間の脳は約 1000 億個の神経細胞をもつため、それらが組合わさってできる神経ネットワークの規模は天文学的なものとなる。そこで、本研究では、シンプルな神経系をもつ線虫 *C. elegans* をつかい、そのなかでも、10 個以下の神経細胞と筋肉などで構成される「温度耐性・馴化」を制御する神経・組織ネットワークを実験モデルにもちいる [1][2][3]。この神経・組織ネットワークにおいて、細胞活動の光学イメージング技術とオートマティック計測技術を導入し、温度耐性・馴化の制御にかかわる神経回路や関連組織の情報処理の基盤解析系の創出を目指す。特に最近、頭部の数個の温度受容ニューロン自身が温度を記憶する表現型を示したため、温度記憶の生理的動態の光学計測(イメージング)を行う。神経細胞の生理的・物理的性質は、人間から線虫まで広く保存されているため、本研究で得られる解析技術の基盤は、将来的に人間の脳情報処理の計測や、ブレインマシン インターフェイスの開発や、人工神経回路の開発も応用されることが期待される。

2. 実験方法

2.1. 系統

srh-40: ADL 温度受容ニューロンで機能する G タンパク質共役型受容体が欠損した変異体。*srh-*

40 遺伝子は ADL 特異的に発現している。

2.2. カルシウムイメージング用系統作成

野生株などの ADL 感覚ニューロンにカメレオン遺伝子である *yc3.60* とマーカー遺伝子として *ges-1p::tagRFP* をマイクロインジェクションによって導入した。遺伝子導入できたものは、腸に RFP の蛍光と ADL 感覚ニューロンにカメレオンの青色の蛍光が観察される。得られた個体(F1)を 1 個体ずつ NGM プレートに移し、15°C で飼育した。

2.3. カルシウムイメージング

24×24 カバーガラスの上に、10%アガロースパッドを作成する。上記で作成した、カルシウムイメージング用の系統(ADL 感覚ニューロンでカメレオン YC3.60 の蛍光が見られる線虫)を、1~数匹置き、医療用アロンアルファで線虫の側部を 2~3 点接着し固定する。M9 バッファーを滴下し、やさしくカバーガラスを掛ける。カルシウムイメージング中、温度制御装置により、13°C→27°C→13°Cの温度変化刺激を与えて、300 秒間 ADL 感覚ニューロンの細胞体内のカルシウム濃度の変化を測定する。細胞内カルシウム濃度の変化は、カメレオン YC3.60 の YFP と CFP の蛍光比の変化として計測される (Fig. 1)。

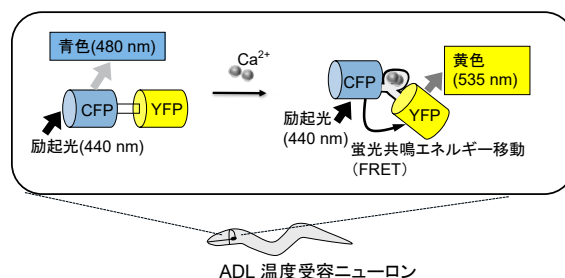


Fig. 1 細胞内カルシウムインジケータカメレオン:YC3.60 を使ったカルシウムイメージング

* (助成採択時) 甲南大学理工学部 特任研究講師

2.4. クリムゾン Chrimson を用いた神経活動の操作

これまで *C. elegans* の神経系には活動電位は存在せず、主に Ca^{2+} 濃度変化に依存したアナログな電位変化によって神経細胞の活性化が伝導されと考えられてきた。そのため、線虫の神経活動の測定には主に Ca^{2+} インディケーターであるカメレオンや GCaMP が使われてきた一方で、*C. elegans* にも活動電位が存在することが見つっている。神経回路活動の計測に加え、神経活動の光技術による操作もツールとして用いている。具体的には、特定の光を受容して活性化する微生物型ロドプシンを用いた人工的な神経活動の制御を行っている。これまで神経を活性化させる際には、*Chlamydomonas reinhardtii* の眼点から同定された非選択的陽イオンチャネル ChR2 が使用されてきた。ChR2 は青色光を受容すると開口し、細胞内に陽イオンを流入させる膜貫通型タンパク質である。しかし青色光は Ca^{2+} インディケーターとして主に用いられる Yellow カメレオンの蛍光(約 480nm)や GCaMP(約 475nm)の励起光が重複するため、ChR2 と Ca^{2+} インディケーターを併用すると任意のタイミングで神経を活性化させ、神経活動を計測するのは難しかった。それに対して、*Chlamydomonas noctigama* から同定されたチャネルロドプシン Chrimson は、約 590nm をピークとする橙色～赤色光によって励起することができるため、既存の ChR2 より長波長の光で活性化することが可能である。筆者らは現在、青色光の蛍光や励起光をもつ Ca^{2+} インディケーターと Chrimson 併用し、温度馴化の神経回路の神経操作と Ca^{2+} イメージングを同時に行うことで、ニューロン内の神経活動制御の動態の解明を目指している。Chrimson を使うことで、主に神経細胞では Na^{+} イオンが流入して脱分極が引き起こさ

れるので、神経細胞の興奮を誘導できる (Fig. 2) (福本ら, アグリバイオ, 2021)。

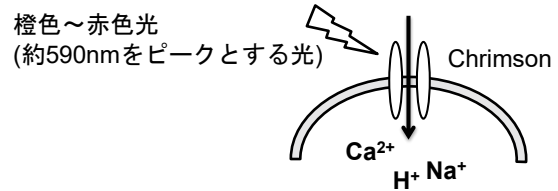


Fig. 2 Chrimson を用いた神経細胞の活性化制御: 特定の神経細胞の膜上に、橙色～赤色光(約 590nm ピーク)の照射によって開口する藻類由来の 7 回膜貫通型の陽イオンチャネル (Chrimson)を発現させることで神経活動を操作できる。実際の解析では、励起光源として LED や半導体レーザーを用いるため約 640nm 付近の赤色光を励起光に用いている。(福本ら, アグリバイオ, 2021 より改変引用)

2.5. クリムゾンをを用いた解析

ASJ ニューロンでクリムゾンを発現させた変異体を、2 個体ずつ新しい $5\mu\text{M}$ ATR 入り 35mmNGM プレートに植え継ぐ(P0)。赤色光を当て、PVQ の温度応答をカルシウムイメージングで解析した。

3. 結果

3.1. ADL 温度受容ニューロンにおける GPCR

srh-40 の変異体のカルシウムイメージング

従来、フェロモンを受容することで知られていた ADL 感覚ニューロンが温度の応答に関与し、ADL が飼育温度依存的な体内の温度記憶とリンクした個体の温度順化に関与することが分かってきた。本研究では、ADL で発現している G タンパク質共役型受容体(GPCR)である *srh-40* が個体の温度順化に関わるかを調べ、さらに *srh-40* が ADL の温度情報伝達に関与するかをカルシウムイメージング法で調べた。

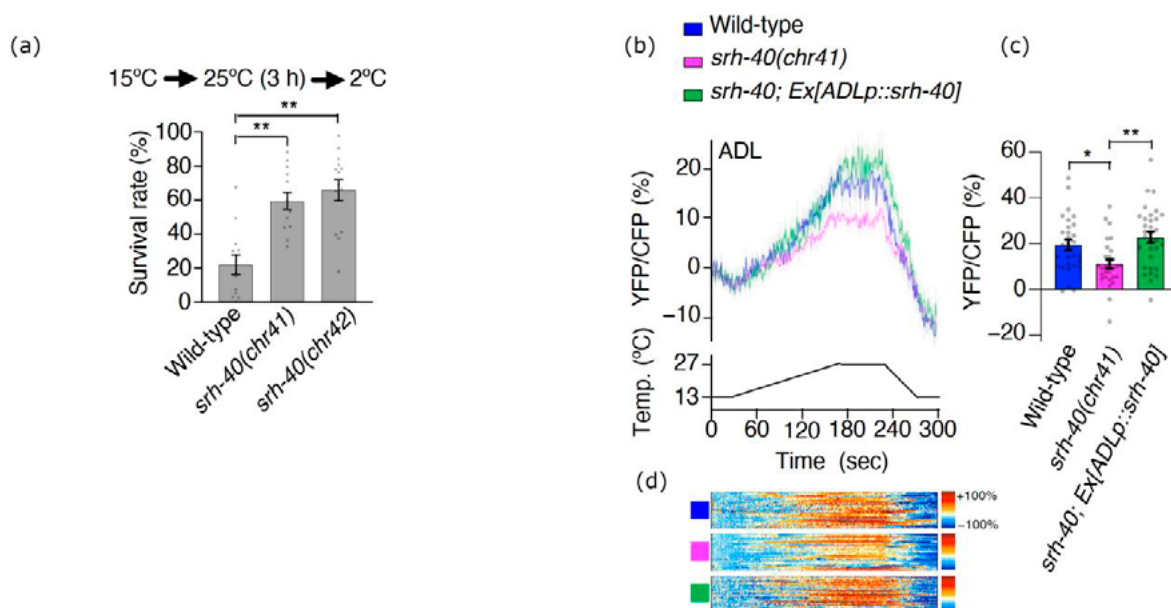
野生株を 15°C で飼育した後に 25°C で 3 時間静

置き、2 度に 48 時間おくと大部分の個体が死滅した (Fig. 3 a)。それに対して、*srh-40* が欠損した変異体は、約 60% の個体が生存していた。つまり、*srh-40* が欠損した変異体では、温度順化が増強する異常が見られた (Fig. 3 a)。

YC3.60 が ADL 温度受容ニューロンで発現する野生株個体を 15°C で飼育し、13 °C→27°C→13°C

の温度刺激を与えた時の YC3.60 の YFP/CFP の値を測定した結果、約 20% の変化が見られた (Fig. 3 b-d)。それに対して、*srh-40* が欠損した変異体では、約 10% の変化が見られた (Fig. 3 b-d)。

さらに、*srh-40* が欠損した変異体の異常は、ADL 温度受容ニューロンに特異的に *srh-40cDNA* を導入することで回復した (Fig. 3 b-d)。



a. *srh-40* 変異体は温度順化異常を示す (15°C→25°C(3 h)→2°C)。 *srh-40* 変異体は飼育温度をシフトした後の低温耐性異常が野生株よりも上昇していた。(アッセイ数 ≥ 9、平均 ± 標準誤差)。飼育条件は 15°C→25°C (3 h)→2°C。統計処理は、Tukey-Kramer 検定を用いて多重比較を行った (**p < 0.01)。

b. 線虫頭部の感覚ニューロン ADL にカメレオンを発現させて、細胞内カルシウム濃度を測定した結果。温度変化刺激(13°C→27°C→13°C)を与えて、細胞内カルシウム濃度の変化を測定した。15°C飼育の野生株は温度に対する反応がみられたが、*srh-40* 変異体では、反応が低下していた。この異常は ADL 特異的に *srh-40* cDNA を導入することで回復した。

c. b のグラフの 211-220 s を平均化した棒グラフ。ドットは各個体の生データを示す。統計処理は、Tukey-Kramer 検定を用いて多重比較を行った (**p < 0.01, *p < 0.1)。各グラフの色は b の系統に対応する。

d. b のグラフの生データをヒートグラフとして示したもの。横軸が時間(秒)、縦方向に各個体のデータを並べた。各グラフの左の四角の色は b の系統に対応する。(Ohnishi et al., Nature communication, 2024^[4] より引用(a-d))

Fig. 3 *srh-40* 変異体の表現型

3.2. ASJ でクリムゾンを発現させた系統の PVQ のカルシウムイメージング

現在までの研究で *C. elegans* の低温適応に ASJ 感覚ニューロンが関与している事が明らかになっており、ASJ 感覚ニューロンは温度依存的に細胞体内に Ca^{2+} が流入することにより、尾部の PVQ 介在ニューロンを活性化し、温度順化を制御することがわかっている^[3]。本研究では、ASJ に光駆動性チャネルであるクリムゾンを発現させた系統を用いて、ASJ の反応性の人工操作を行うことにより、PVQ の神経活動が変化するかをカルシウムイメージングで測定した。しかし、予測に反して、YC3.60 を用いたカルシウムイメージングのレベルでは、ASJ でクリムゾンを活性化させても PVQ の神経活動の変化は見られなかった。

4. 考察

4.1. ADL 感覚ニューロンによる GPCR による 温度の受容情報伝達

srh-40 変異体の温度順化の表現型や *srh-40* 変異体の ADL 温度受容ニューロンのカルシウムイメージングの結果などから、温度順化において ADL 温度受容ニューロンにおいて *srh-40* が温度受容体であることが示唆された。さらに、情報伝達に使われる分子も G タンパク質などが機能していることが示唆された。一方で、*srh-40* のノックアウトだけでは、ADL 温度受容ニューロンの温度応答性が完全に欠損しないため、他の温度受容体が存在する可能性が考えられるが、その温度受容体はまだ見つかっていないため、今後の興味深い課題である。

4.2. ASJ でクリムゾンを発現させた系統の解析

ASJ において Ca^{2+} の流入が起こることにより、ASJ のシナプスを介して下流の PVQ ニューロンを活性化していることがこれまでの研究で分

かっている。ASJ でクリムゾンを発現させた系統において、光刺激を与えて ASJ を強制的に活性化させる様々な条件検討をおこない、PVQ のカルシウムイメージングを行ったが、現在のところ PVQ の温度応答に変化は見られていない。この原因として、最近、クリムゾンがカメレオンの励起波長でも少し活性化することが報告されているため、カルシウムイメージングの励起光でクリムゾンが少し活性化しており、PVQ がすでに活性化状態になっている可能性が考えられる。そのため、他のアクチュエーターの利用も検討している。

5. 結論

本研究と本研究以外の結果を総合的に結びつけると、飼育温度依存的な温度メモリーを伴う温度順化において、GPCR が温度を感知することが明らかとなった。動物個体の温度適応を制御する GPCR の同定は初めてのものであり、新しい概念が見つかった^[4]。

6. 参考文献

- [1] Ohta A., Ujisawa T., Sonoda S., Kuhara A.; Light and pheromone-sensing neurons regulate cold habituation through insulin signaling in *C. elegans*, **Nature commun.**, 5 - 4412, (2014), 1-12.
- [2] Okahata M., Wei A. D., Ohta A., Kuhara A.; Cold acclimation via the KQT-2 potassium channel is modulated by oxygen in *Caenorhabditis elegans*, **Science Advances**, 5 - 2, (2019), 1-12.
- [3] Motomura H., Ioroi M., Murakami K., Kuhara A., Ohta A.; Head-tail-head neural wiring underlies gut fat storage in *Caenorhabditis elegans* temperature acclimation, **PNAS**, 119 - 32, (2022), 1-9.

- [4] Ohnishi K., Sokabe T., Miura T., Tominaga M., Ohta A.*, Kuhara A.; G protein-coupled receptor-based thermosensation determines temperature acclimatization of *Caenorhabditis elegans*, *Nature commun.*, 15 - 1660, (2024), 1-13.

7. 本研究にかかわる成果発表等

- Ohta, A.*, Yamashiro S., Kuhara, A.; Temperature acclimation: Temperature shift induces system conversion to cold tolerance in *C. elegans*, *Neurosci Res*, 194, (2023), 1-6.

- 太田 茜, 保井コノ賞、お茶の水女子大学, 2023 年 2 月 14 日.
- 太田 茜, 奨励賞、日本神経科学学会, 2023 年 8 月 2 日.
- 太田 茜, 奨励賞、日本動物学会, 2023 年 9 月 7 日.

8. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人 島津科学技術振興財団に深くお礼申し上げます。

液体中の秩序構造を明らかにする前方散乱ハイパーラマン分光法の開発

東京大学総合文化研究科 准教授 奥野 将成

1. はじめに

液体中における分子の構造・ダイナミクスにはいまだ解明されていない点が多く残されている。その一つが、液体中における分子同士の運動の相関である。従来の分子分光法では、液体中の分子は互いに独立し、分子運動は個々の分子に局在化したものと仮定されている。一方、現実の液体中には分子間相互作用が存在し、分子運動は非局在化していると考えられる。これまでにさまざまな分光法によって液体中における分子運動の相関が研究されている。特に超高速分光によって近接した分子間の相互作用について精力的に研究がされており、液体の水であると分子振動を励起した際に、近隣分子にエキシトンが形成され励起エネルギーが非局在化することが示唆されている^[1]。

一方、数分子離れた分子同士の相関・分子運動の非局在化について、これまでほとんど研究が行われていない。本研究では、液体中では分子の運動が独立しているのではなく、秩序だった構造の中で互いに長距離の相関を有するという仮説を検証することを目的とした。その手法として、ハイパーラマン（HR）分光法という非線形ラマン分光のひとつを用いた。

HR 散乱は 2 光子が試料へと入射され、1 光子が散乱される。散乱された 1 光子のエネルギーは、入射 2 光子の和のエネルギーから分子振動のエネルギー分だけシフトしたものとなっている。振動分光法として広く用いられている赤外吸収分光やラマン分光と異なる物理的起源に基づくことから、HR 分光法ではこれらの分光法では得られない分子構造情報が得られることが期待され

る^{[2][3][4][5][6]} (Fig. 1)。本研究では、HR 分光法の非線形性に着目し、分子振動の長距離相関に関する情報を得ることを目指した。

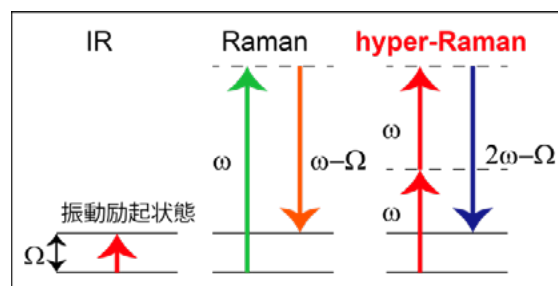


Fig. 1 赤外吸収（IR）、ラマン散乱、ハイパーラマン散乱のダイアグラム。ラマン散乱では 1 光子が入射して 1 光子が散乱されるのに対して、ハイパーラマン散乱では 2 光子が入射して 1 光子が散乱される。

検出対象としたのは、液体中におけるポラリトンである。固体物理学において、原子運動が位相関係を保った運動であるフォノンが生成する。フォノンの横光学（Transverse Optical: TO）モードと散乱光子が結合しポラリトンと呼ばれる特異な状態を示すことが知られている。本研究はこの概念を拡張し、液体中でも分子運動が位相関係を持ち、フォノンのようにふるまう運動を示し、その結果ポラリトンを形成する、という考えのもと HR 分光によってその性質を明らかにすることを目的とした。

2. 実験

本研究では HR 散乱光の中でも、入射光とほぼ平行に散乱される前方散乱光に着目した研究を行った。これまでのラマン分光による固体の研究の中で、前方散乱光を検出することによって、ポラリトンに由来する信号の変化を観測できる

ことが示されている。これは、分散関係を考慮すると入射光と散乱光、そして分子振動の波数ベクトルの保存から、わずかな散乱角度の変化でスペクトルが大きく変化するためである。本研究ではまず前方散乱 HR 分光装置を構築した。その後その装置を用いて液体中のポラリトンの検出を行った。

2.1. 前方散乱 HR 分光法の開発

Fig. 2 に構築した前方散乱 HR 分光装置の概念図を示す。

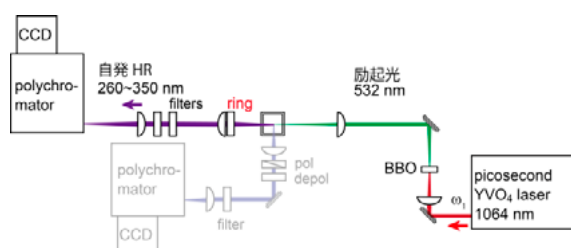


Fig. 2 前方散乱 HR 分光装置の概略図。532 nm のピコ秒レーザーを試料へと入射し、紫外域に発生した HR 散乱光を角度分解で測定する。

波長 532 nm のピコ秒レーザーを励起光として、試料を励起した。試料から発生した散乱光のうち、前方に散乱された光のみを励起光を除去するためのフィルターを通したのちに分光器へと導入し、CCD 検出器によって検出した。入射レーザーを長い焦点距離を持つレンズで集光することによって、入射光のもつ波数ベクトルの分散を小さくした。それによって、検出される振動のもつ波数ベクトルの分散を小さくした。また、前方散乱光のうち、特定の散乱角を持った信号のみを検出するために、試料と信号光を集光するレンズの間にアパーチャーを導入した。このアパーチャーは新たに加工して製作したもので、この実験装置の条件下では 0.6 度程度の角度範囲を持った散乱光を検出可能である。10 種のアパーチャーを用意し、それぞれを導入した

際のスペクトルを測定することで、入射光からの角度が 0 度から 6 度までのスペクトルを測定することができるようになった。

2.2. 液体水の前散乱 HR スペクトル

Fig. 3 に重水 (D_2O) からなる液体水の前散乱 HR スペクトルとその散乱角度依存性を示す。ほぼ入射光と平行に散乱される光から、入射光に対して 6 度程度の角度を持った光まで、0.6 度刻みで測定を行った。散乱角が変化するとつれて、スペクトルが大きく変化していることがわかる。

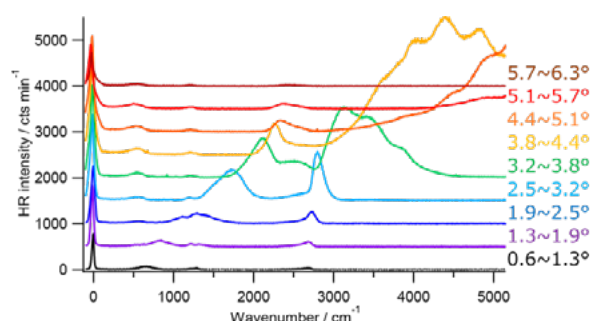


Fig. 3 前方散乱 HR 分光装置で測定した D_2O の散乱角度分解 HR スペクトル。角度の変化に伴いスペクトルが大きく変化している。

散乱角度によって、ピーク位置およびその強度、バンド形が非常に大きく変化している。たとえば散乱角度が 1 度程度のスペクトルには 2600 cm^{-1} あたりにバンドがみられる。これは角度を大きくしていくと、強度が大きくなり、さらに散乱角度 3 度あたりでバンド幅が高波数側に大きく広がっている。さらに角度を大きくすると、強度の増大とともにピーク位置の大きな高波数シフトおよびバンド幅の広がりが観測されている。高波数シフトにより、散乱角度が 6 度を超えると、該当する信号は測定範囲を超えていると考えられる。散乱角度が 1 度程度のスペクトルにおいて、 1300 cm^{-1} 付近および 650 cm^{-1} 付近

に観測されている信号も、角度が大きくなるにつれて強度の増大・バンド幅の広がり・ピーク位置の高波数シフトが観測されている。これらについては、いったん強度の増大・バンド幅の広がり、ピーク位置の高波数シフトが見られるものの、散乱角度が大きくなるにつれて強度・バンド幅およびピーク位置は収束している。特にピーク位置について、散乱角度が6度程度でそれぞれ 2500 cm^{-1} および 1200 cm^{-1} 付近に収束している。これは、通常の90度散乱で得られるHR信号のピーク位置とほぼ一致しており、それぞれOD伸縮振動およびDOD変角振動に帰属できる。

2.3. 分散曲線

前述のように、液体自らの前方散乱HRスペクトルにおいてバンド形・強度・ピーク位置の大きな散乱角度依存性が観測された。これは、分子振動数と信号の波数ベクトルの間の分散関係があることを意味している。

Fig. 4 にDOD変角振動およびOD伸縮振動のそれぞれについて得られた分散関係を示す。縦軸はそれぞれの振動の振動数（エネルギー）、横軸は入射光と散乱光およびそれらの間の角度から計算した信号の波数である。

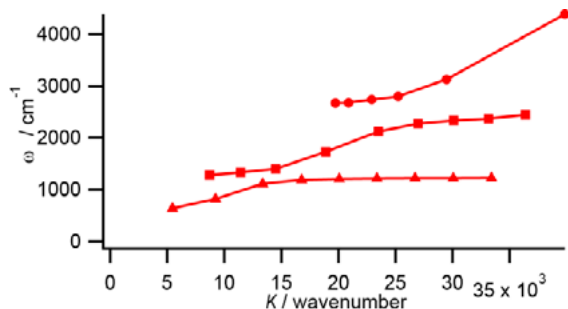


Fig. 4 それぞれの振動に関する分散。Fig. 3 のそれぞれのピーク位置を縦軸に、入射光・振動の散乱光と散乱角から計算した波数を横軸としている。

この曲線は典型的なポラリトンの分散曲線である。波数が小さくなる（散乱角が小さくなる）と、振動の位相速度が大きくなり、光と結合してポラリトンとなることを示している。また、最もエネルギーの大きい信号は波数が大きくなると線形にエネルギーが大きくなっている。これは、光（フォトン）の性質を示したアップパー・ポラリトンに対応している。

DOD変角振動およびOD伸縮振動の分散曲線は、波数が大きくなると振動数が収束し、90度散乱で得られる通常の分子振動数となっている。ここでは D_2O を試料とした結果を示したが、通常の H_2O を用いても、得られている結果は同様の性質を示している。

2.4. 前方散乱HR信号の入射光強度依存性

HR分光法は非線形光学過程に基づき、信号強度は光強度の2次に比例する。本研究では、光がポラリトン形成に以下に関係しているかを検討するために、前方散乱HR信号の入射光強度依存性の実験を行った。

Fig. 5 に入射光強度を240～500 mWに変化させた際の液体水（ H_2O ）から得られた前方散乱HRスペクトルを示す。散乱角度はすべて4度付近で固定している。

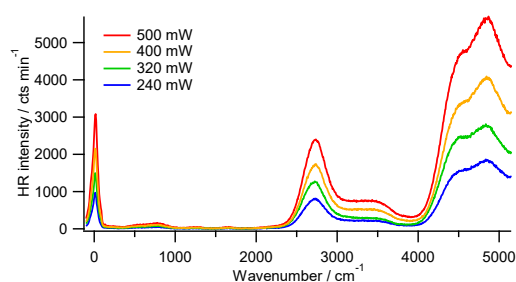


Fig. 5 散乱角3.8～4.4度における水から得られた前方散乱HRスペクトルの入射光強度依存性

また、Fig. 6 に $2500 \sim 5000\text{ cm}^{-1}$ の信号の面積強度を入射光強度に対してプロットした図を示

す。入射光強度を大きく変化させても、スペクトル形状に大きな変化がないことが Fig. 5 からわかる。また、Fig. 6 には入射光強度の 2 次および 3 次でフィッティングを行った結果を合わせて示している。3 次では全くフィッティングは実験結果と合致しないが、2 次での結果は実験結果を良好に再現していることがわかる。これは、ポラリトン由来の信号が入射光強度の 2 次に比例していることを意味している。通常の HR 散乱光強度は入射光強度の 2 次に比例するため、本研究で得られているポラリトン由来の前方散乱 HR 信号は、HR 散乱過程のみが関与しており、その他の光学過程が寄与していないことを示唆している。

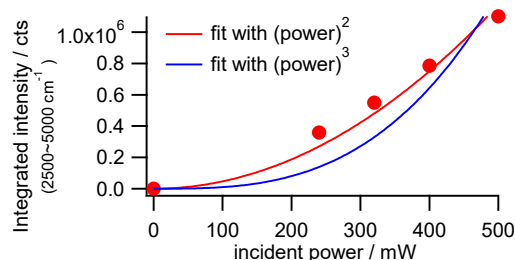


Fig. 6 面積強度の入射光強度依存性

以上の結果は、ポラリトン形成に光が HR 散乱過程以外の光が関与していないことを示している。ポラリトン形成のメカニズムのひとつの可能性として、分子運動の長距離相関があげられる。前述のように、フォノンの光学モードのうち横光学モード (TO) は光と結合し、ポラリトンを形成することが知られている。その類推で考えると、液体中にもフォノンのような位相相関を有した分子運動が存在し、ポラリトンを形成していることを示唆している。

2.5. まとめ

本研究では液体中に分子振動の相関がどれくらい存在するか、という問いに答えるため、前

方散乱 HR 分光装置を構築した。液体水を測定対象とし、良好なスペクトルを得ることができた。また、散乱角度に大きく依存したスペクトルが得られた。分散関係を求めたところ、この信号はポラリトンに由来するものと考えられる。ポラリトンの生成の由来として、分子振動の長距離の相関が考えられる。これは、液体中においてもフォノンのような位相相関を有する長距離相関を持った分子振動が存在していることを示唆している。

3. 参考文献

- [1] Ramasesha, K., et al, A. Water Vibrations Have Strongly Mixed Intra- and Intermolecular Character., *Nat. Chem.*, **5** - 11, (2013), 935-940.
- [2] Okuno, M., Hyper-Raman Spectroscopy of Alcohols Excited at 532 nm: Methanol, Ethanol, 1-propanol, and 2-propanol., *J. Raman Spectrosc.*, **52** - 4, (2021), 849-856.
- [3] Asakura, M. Okuno, M., Hyper-Raman Spectroscopic Investigation of Amide Bands of N-Methylacetamide in Liquid/Solution Phase., *J. Phys. Chem. Lett.*, **12** - 20, (2021), 4780-4785.
- [4] Inoue, K. Okuno, M., Hyper-Raman Study of Hydrated Excess Protons in Water: Measurement of Concentrated HCl Solution., *J. Raman Spectrosc.*, **53** - 10, (2022), 1679-1685.
- [5] Inoue, K., Okuno, M., et al., Is Unified Understanding of Vibrational Coupling of Water Possible? Hyper-Raman Measurement and Machine Learning Spectra., *J. Phys. Chem. Lett.*, **14** -12, (2023), 3063-3068.

- [6] Inoue, K., Okuno, M., Coherent anti-Stokes Hyper-Raman Spectroscopy., Nat. Comm., **16** - 1, (2025), 201-210.

4. その他成果発表等

- ・ Masanari Okuno, "Long-range correlation of molecular vibrations in liquid water probed by polarization-resolved hyper-Raman spectroscopy", 8th Asian Spectroscopy Conference, Niigata, 2023 年 9 月 4 日.

- ・ 奥野将成, 「液体中の分子振動の長距離相関」, 化学系学協会東北大会, 秋田大学, 2024 年 9 月 14 日.

5. 謝辞

本研究を実施するにあたって、島津科学技術振興財団の助成金による援助をいただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

中赤外シリコンオンチップ量子計測に向けた 量子もつれ光子対の生成と評価

香川大学創造工学部 助教 小野 貴史

1. はじめに

近年、光量子技術の発展により、量子センシングや量子計測の分野では、高性能かつ高効率な実験系の実装が強く求められている。なかでも、シリコンを基盤とする光集積回路は、小型・高集積が可能であり、さらに既存の CMOS 技術との高い互換性を持つことから、将来的な量子デバイスのスケーラビリティを支えるプラットフォームとして期待されている [\[1\]\[2\]](#)。

これまでの光量子計測回路は、主に通信波長帯域 ($1.55\mu\text{m}$) を用いて実装されてきた [\[3\]\[4\]](#)。しかしこの波長帯では、シリコン中で不可避な 2 光子吸収により光損失が大きくなるという課題があり、非線形光学効果を用いた高強度な量子光源の実装が難しいという課題があった。これは、高性能な量子デバイスの開発におけるボトルネックの一つとなっている [\[5\]\[6\]](#)。

本研究では、このような課題を克服するために、2 光子吸収が抑制される中赤外波長領域（およそ $2\mu\text{m}$ ）に着目し、シリコンフォトニクスプラットフォーム上での非線形量子光源の開発と、それに基づく量子計測技術の基盤構築を目的とした [\[7\]\[8\]\[9\]](#)。具体的には、波長 $2.2\mu\text{m}$ 帯の中赤外光を用い、シリコン導波路内で自発的四光波混合 (Spontaneous Four-Wave Mixing, SFWM) を利用して量子もつれ光子対を生成し、その特性を評価することを目指している。

最終的な中赤外量子光源の構築に向けて、本研究では以下の準備を進めた。まず、中赤外波長に最適化された導波路構造の設計と、光学的伝搬特性に関する数値解析を行い、損失やモードプロファイルの最適化を図った。

さらに、量子光源実現に必要なレーザー光源の立ち上げを行い、先行的に通信波長帯域における SFWM 実験を実施した。また、分光器を用いたレーザースペクトルの計測やフィルタリングを通じて、光子対生成に適した波長およびスペクトル条件の検討を行った。

これらの取り組みは、中赤外波長帯での本格的な量子光源構築に向けた技術的基盤を整えるものであり、今後の研究展開において極めて重要な成果と位置付けられる。

2. 中赤外シリコンオンチップ量子計測に向けて

2.1. 導波路構造の最適化

四光波混合 (Four-Wave Mixing, FWM) は、三次の非線形光学効果の一つであり、3 つの異なる周波数を持つ光が媒質に入射されると、新たに第 4 の光が生成される現象である。中でも、シード光（外部からの入力光）を用いない場合は「自発的四光波混合」と呼ばれる。

本研究で用いる自発的四光波混合では、単一の周波数を持つ励起光（ポンプ光）を導波路に入射することで、異なる周波数を持つシグナル光子とアイドラー光子の対が生成される。この現象を光子の観点から見ると、励起光中の 2 つの光子が、シグナル光子とアイドラー光子へと波長変換される過程として理解できる。

自発的四光波混合を効率よく発生させるためには、エネルギー保存則と位相整合条件の両方を満たす必要がある。ポンプ光、シグナル光、アイドラー光の周波数をそれぞれ ω_p 、 ω_s 、 ω_i とすると、エネルギー保存則は以下のように表される：

$$2\omega_p = \omega_s + \omega_i \quad \text{Eq.(1)}$$

また、それぞれの波数を k_p 、 k_s 、 k_i としたとき、位相整合条件は以下のように表される：

$$-(2k_p - k_s - k_i) + 2\gamma P \approx 0 \quad \text{Eq.(2)}$$

ここで、 P は励起光の強度、 γ は非線形係数であり、媒質の非線形性の強さを表すパラメータである。

本研究では、生成されるシグナル光の(波長 λ_s)とアイドラー光(波長 λ_i)の波長差 $\Delta\lambda = \lambda_i - \lambda_s$ が、励起光の中心波長 λ_p に比べて非常に小さい条件($\Delta\lambda \ll \lambda_p$)を利用する。この条件下では、Eq.(2)の第1項は、シリコン導波路における群速度分散(Group Velocity Dispersion, GVD)により近似可能である。一方、Eq.(2)の第2項は常に正の値を持つため、位相整合条件を満たすには、少なくとも負の群速度分散を持つ導波路構造が必要であることが分かる。

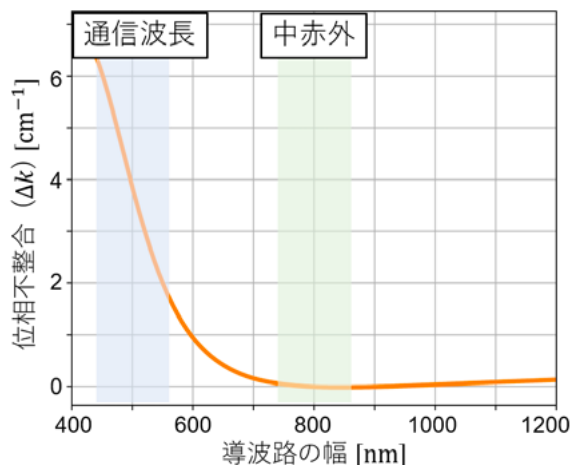


Fig. 1 位相不整合の導波路幅依存性

このような背景のもと、本研究では、シリコン導波路の厚みと幅を変化させた際の群速度分散の変化をシミュレーションによって調べた。Fig. 1には、波長 2200 nm、導波路厚み 220 nm の条件における、導波路幅に対する群速度分散の依存性を示している。縦軸には、光が 1 cm 進んだときの位相不整合量を示している。

シミュレーションの結果、通信波長帯域（1.55

μm ）においては導波路幅が約 500 nm 付近で群速度分散が最小となる一方で、中赤外波長帯（2.2 μm ）では約 800 nm 付近で位相不整合の値が最小となることが確認された。

さらに、導波路の厚みを増加させることで位相不整合の値をさらに低減できることも、同様のシミュレーションから明らかとなった。今後は、導波路厚みを大きくした設計についても検討を進めていく予定である。

2.2. 中赤外励起光源の構築

本研究では、シリコン光導波路における自発的四光波混合を利用した光子対生成において、より高効率な生成の実現を目指している。従来、通信波長帯域（約 1550 nm）を用いた実験では、ポンプ光として 100 mW 程度の出力を導波路に入力すると、シリコン材料における二光子吸収 (Two-Photon Absorption, TPA) の影響により、顕著な光損失が発生していた。これは、光子対生成効率を大きく制限する主要因の一つであった。

この課題を克服するため、本研究では、TPA の影響を受けにくい中赤外波長領域（2 μm 以上）を励起光源として採用し、自発的四光波混合による高効率な光子対生成の実現を試みている。中赤外領域では、シリコンのバンド構造上、TPA が大幅に抑制されることが理論および先行研究から知られており、これにより、従来の波長帯では困難であった高強度の励起光を用いた光子対生成が可能になると期待される。

本研究で構築した中赤外励起光源は、中心波長約 2200 nm、線幅 1 nm 以下の狭帯域な連続波 (CW) レーザーである。出力は安定しており、シリコン光導波路への十分な光入力が可能である。一方、スペクトル計測の結果、ピーク波長から若干離れた領域にも不要なスペクトル成分が確認されたため、これらを除去する目的で周波数フィ

ルタを導入し、光源の狭帯域化に取り組んだ。

中赤外領域での光学実験においては、通信波長帯とは異なり、市販のファイバーベースの光学部品（波長フィルタ、偏光板、アイソレータなど）の入手が困難であるという課題がある。そこで本研究では、ファイバーベースの構成を避け、バルク光学系による光制御を採用した（Fig. 2）。具体的には、ポンプ光スペクトルの狭帯域化には、焦点距離 10 cm のモノクロメータを用いた。モノクロメータは波長ごとの回折角を利用して高い波長選択性を実現できるため、中赤外領域においても有効な波長分離手段となる。このモノクロメータは、約 30 dB の除去比と 1 nm 程度の波長分解能を有しており、中赤外領域における SFWM 実験に十分な性能を示すことが確認された。

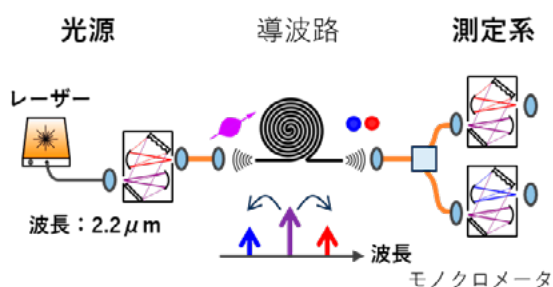


Fig. 2 測定系の概略図

モノクロメータによるスペクトル整形の結果、ピーク波長から離れた不要なスペクトル成分は測定限界程度にまで抑制され、目的とする波長のみを高純度で抽出できることが確認された。これにより、導波路内での非線形光学過程に対する不要な影響を低減し、効率的な光子対生成に寄与することが期待される。

2.3. 中赤外自発的四光波混合におけるシグナルおよびアイドラー光子の分離と検出系の設計

自発的四光波混合（SFWM）によって生成されるシグナル光子およびアイドラー光子の光強度

は、通常ごく微弱であり、数フェムトワット (fW) 程度にとどまると予想される。一方、これらの光子は高強度の励起光と同じ導波路内を伝搬し、かつ波長も励起光と非常に近接しているため、高精度に検出するには励起光と確実に分離するための高性能な波長選別手法が不可欠である。

本研究では、シリコン光導波路内で生成された光子対（シグナル光子およびアイドラー光子）と励起光を分離する手段として、光源スペクトルの狭帯域化と同様に、モノクロメータを採用する。これにより、微弱な光子信号の検出において、励起光に起因するノイズを大幅に抑制することが可能となる。

Fig. 2 には、本研究で構想する中赤外領域における SFWM 実験系の全体構成を示す。まず、前節で述べたように、モノクロメータによってスペクトルを狭帯域化した中心波長 2200 nm のレーザー光をシリコン光導波路に入射する。導波路内では、非線形光学効果によってシグナル光子およびアイドラー光子が生成され、励起光とともに射出される。これらの射出光は光ファイバに結合された後、ファイバ出力からバルク光学系へと導かれる。

バルク光学系では、まずビームスプリッターを用いて光を 2 つの空間モードに分岐させる。それぞれの光路にはモノクロメータを設置し、一方ではシグナル光子のみを選択的に取り出し、励起光およびアイドラー光子を除去する。もう一方では同様にアイドラー光子を抽出し、その他の成分を除去する。このようにして、シグナル光子とアイドラー光子をそれぞれ独立に検出できる実験系を構築する。

このような分離には、非常に高い除去率を持つモノクロメータが必要である。特に、励起光はシグナルおよびアイドラー光子よりも数桁以上強

力であるため、微弱な光子信号を正確に取り出すには、励起光を十分に抑圧する性能が不可欠である。

本研究では、候補として焦点距離の短いダブルモノクロメータと、焦点距離の長いシングルモノクロメータの2種類を比較検討した。一般に、焦点距離の短いモノクロメータは光の取り込み効率に優れ、装置をコンパクトにできる利点がある一方で、波長分解能や迷光抑制性能に劣る傾向がある。一方、焦点距離の長いモノクロメータは装置としては大型化するが、高い分解能と優れた迷光除去性能を有する。

これらを踏まえ、微弱なシグナルおよびアイドラー光子の精度の高い分離を最優先し、本研究では焦点距離の長いモノクロメータを採用することとした。現在、このモノクロメータを用いた検出系は構築段階にあり、今後、1台のモノクロメータで十分な迷光除去性能が得られない場合には、2台構成のダブルモノクロメータ系やバンドパスフィルタとの併用など、さらなる改善策についても検討を進める予定である。

2.4. 通信波長帯域レーザーを用いた自発的四光波混合による光子対生成

中赤外領域での自発的四光波混合に関する実験系の構築を進めるとともに、本研究では並行して、通信波長帯域の励起光を用いた自発的四光波混合による光子対生成実験を行った。通信波長帯域における光子対生成はすでに確立された技術であるが、中赤外領域での高強度励起光を用いた場合との生成効率の比較において重要な基準となる。

通信波長帯域の実験では、厚さ 220nm、幅 440nm のシリコン光導波路を使用した。中心波長 1549nm、出力約 10mW の連続波 (CW) 光源を長さ約 6mm の導波路に入射し、光源との結合に

はスポットサイズコンバータを用いた。結合損失は約 4dB であり、導波路内の光パワーは約 5mW と見積もられる。

シリコン導波路内では、自発的四光波混合によりポンプ光中の2光子が波長の異なるシグナル光子およびアイドラー光子へと変換される。これらの光子は同時に生成されるため、非常に短い時間幅内に存在し、時間的に強い相関を持つ。

導波路で生成されたシグナル光子とアイドラー光子は、再びスポットサイズコンバータを介して光ファイバへ結合し、その後、波長フィルタにより空間的に分離した。各光子は超伝導単一光子検出器によって検出し、同時検出のレートを計測した。

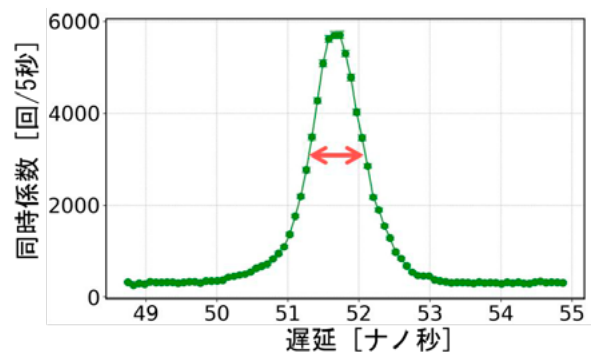


Fig. 3 シリコン中で生成した光子対の観測結果

Fig. 3 には、生成された光子対の一方に時間的な遅延を与えた際の、同時検出イベントのカウンtrateを示す。横軸は光子間に与えた時間差である。なお、今回の実験では、時間幅 1 ナノ秒内で同時に検出されたイベント数を「同時係数」としてカウントした。結果として、時間遅延が0のときにカウント数が増加することが確認され、時間的に相関のある光子が生成されていることが明らかとなった。

3. まとめ

本研究では、シリコンフォトニクスを基盤とした中赤外波長領域での非線形量子光源の構築を目指し、導波路構造の最適化、励起光源の開発、そして高精度な光子分離・検出手法の確立に取り組んだ。特に、シリコンにおける二光子吸収が抑制される中赤外波長域の活用により、従来の通信波長帯域では困難であった高強度励起下での自発的四光波混合を可能にする基盤技術を整えることができた。

また、シミュレーションによる群速度分散の最適化や、モノクロメータを用いた高性能なスペクトル分離系の設計・構築により、今後の光子対生成実験における高効率かつ高純度な信号抽出の実現に向けて、大きな一歩を踏み出すことができた。

これらの成果は、中赤外領域における量子計測・量子センシング技術の高度化だけではなく、将来的なオンチップ量子情報処理の実現にもつながる重要な基礎技術と位置付けられる。今後は、今回構築した実験系を用いた実際の光子対生成および量子相関測定の実施、さらには中赤外フォトニック回路の複雑化・多機能化に向けた展開を進め、量子フォトニクスの発展に貢献していきたい。

4. 参考文献

- [1] B. Jalali and S. Fathpour, "Silicon Photonics," *Journal of Lightwave Technology*, 24, 12, pp. 4600-4615.
- [2] Sun, C., Wade, M., Lee, Y., *et al*, "Single-chip microprocessor that communicates directly using light", *Nature*, 528, (2015) 534–538.
- [3] J. W. Silverstone, D. Bonneau, J. L. O'Brien and M. G. Thompson, "Silicon Quantum

Photonics," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 22, 6, (2016) pp. 390-402.

- [4] Wang, J., Sciarrino, F., Laing, A. *et al*. Integrated photonic quantum technologies., *Nat. Photonics*, **14**, (2020), p.273–284
- [5] Qiang, X., Zhou, X., Wang, J., *et al*, Large-scale silicon quantum photonics implementing arbitrary two-qubit processing., *Nature Photon*, **12**, (2018), p.534–539.
- [6] Shekhar, S., Bogaerts, W., Chrostowski, L., *et al*, Roadmapping the next generation of silicon photonics., *Nat Commun*, **15**, 751, (2024), p.1-15.
- [7] Jeff Chiles and Sasan Fathpour, "Mid-infrared integrated waveguide modulators based on silicon-on-lithium-niobate photonics," *Optica* 1, (2014), p. 350-355
- [8] Yi Zou, Swapnajit Chakravarty, Chi-Jui Chung, Xiaochuan Xu, and Ray T. Chen, "Mid-infrared silicon photonic waveguides and devices [Invited]," *Photon. Res.* 6, (2018), p. 254-276
- [9] C. J. Mitchell, T. Hu, S. Sun, C. J. Stirling, M. Nedeljkovic, A. C. Peacock, G. T. Reed, G. Z. Mashanovich, and D. J. Rowe, "Mid-infrared silicon photonics: From benchtop to real-world applications," *APL Photonics* 9, 080901, (2024), p.1-15.

5. その他成果発表等

・ 山下普暉, 藤原幹生, 三木茂人, 寺井弘高, 小野貴史, ボソニック光集積量子回路を用いた量子もつれ状態の評価, 第 48 回量子情報技術研究会, 京都, 2023 年 5 月 29 日.

- ・ 小野貴史, シリコンフォトニクスを利用した光量子回路とその応用, 第三期第 1 回光集積及びシリコンフォトニクス研究会, オンライン, 2023 年 6 月 30 日.
- ・ 安部駿佑, Wojciech Roga, 武岡正裕, 小野貴史, 少ない光子を用いた光量子分類器, 第 50 回量子情報技術研究会, つくば, 2024 年 5 月 28 日.
- ・ Takafumi Ono, Photonics in Japan, Quantum Bridge, オンライン, 2024 年 7 月 10 日.
- ・ 小野貴史, シリコンフォトニクスを活用した量子情報処理, フォトニクス技術フォーラム 第 3 回定例研究会, 大阪, 2024 年 11 月 14 日
- ・ Takafumi Ono, Wojciech Roga, Kentaro Wakui, Mikio Fujiwara, Shigehito Miki, Hirotaka Terai, Masahiro Takeoka, “Demonstration of a Bosonic Quantum Classifier with Data Reuploading”, Phys. Rev. Lett. 131, 013601, (2023), p.1-6.

6. 謝辞

本研究は、公益財団法人島津科学技術振興財団の研究開発助成を受け、実施されたものである。心より御礼申し上げます。

ビデオレート超解像赤外吸収顕微鏡の開発

大阪大学 大学院基礎工学研究科 助教 加藤 遼 *

1. はじめに

生体内で起きる様々な生命現象を理解するためには、それらを支配する細胞内の分子複合体の分布や構造、オルガネラの動態を高い時空間分解能で観察することが必要である。分子の化学構造を反映する光学効果(ラマン散乱・赤外吸収)を計測するラマン分光法や赤外分光法は、細胞内のタンパク質や核酸などの分布を蛍光標識なし(ラベルフリー)で可視化できる。また、化学結合情報を直接観察するため、生体内での分子の化学構造変化も分析できる。特に、サブマイクロ空間分解能を有するラマン分光法は、これまで細胞など多くの生体試料の機能解析に利用されており、生命科学の景色を刷新してきた。しかし、ラマン散乱光を取得するためには、高強度の入射光を要する。それゆえ、生物本来の機能やそれらが示す現象をありのままに観察することは難しい。その点、赤外吸収分光はラマン分光に比べ断面積が5桁以上も高いため、非破壊な分子イメージングが可能である。特に、タンパク質の2次構造や官能基の微小な変化が観察できるため、生体機能観察において高いポテンシャルを示す光計測技術である。しかし、赤外顕微鏡の空間分解能は10 μ m程度に制限される。細胞内の分子複合体やオルガネラを観察するためには、少なくともサブマイクロ程度の空間分解能が必要である。そこで、赤外顕微鏡の空間分解能を向上できれば、細胞内の分子ダイナミクスを真の状態を保ったまま高速観測できるという着想に至った。

その背景の元、筆者はサブマイクロ空間分解能と高い検出感度を併せ持つ超解像赤外顕微鏡の開発に取り組んできた[筆者筆頭,Vib. Spectro.,

(2022)]。この赤外顕微鏡は、分子の赤外吸収に伴う体積膨張を可視光を用いて検出することで、サブマイクロ空間分解能の赤外吸収イメージングを可能にする。筆者はこれまでに、組織切片のラベルフリー赤外分光分析に成功している[筆者筆頭,Anal. Chem.,(under revision)]。しかしながら、細胞内の分子動態を可視化できるほどの時間分解能は達成できておらず、技術的改良の余地がまだ残されている。本研究では、超解像赤外吸収顕微鏡のさらなる技術改良と生体観察の原理実証を通して、細胞内の分子動態をビデオレート・超解像・ラベルフリー計測できるバイオイメージング基盤の確立を目指す。細胞内に存在する低濃度の分子の状態を同定し、生命現象や疾病原因に新たな知見を与えることができる革新的な光計測技術と位置づけられる。

2. 研究方法と成果

2.1. 超解像赤外吸収顕微鏡の改良

Fig. 1(a)に、開発した手法の光学系を示す。これまでの装置では、可視光と赤外光を同軸で同じ反射型対物レンズを用いて集光していた。しかし、反射型対物レンズは開口数NAが1以下に限られるほか、低NA成分のスループットも低いため検出効率が低い。そこで、赤外光と可視光を別々の対物レンズで集光することで、可視の散乱光の検出効率を1桁以上向上することができる。また可視光は、顕微鏡下部から高NA(1.2)の透過型対物レンズで集光することで、高い検出効率と空間分解能(260 nm)が得られる。可視の散乱光強度をロックイン検出することで、赤外パルス光の周波数成分で変調される強度成分、つまり赤外吸収信号を抽出できる。

* (助成採択時) 徳島大学ポストLEDフォトリクス研究所 特任助教

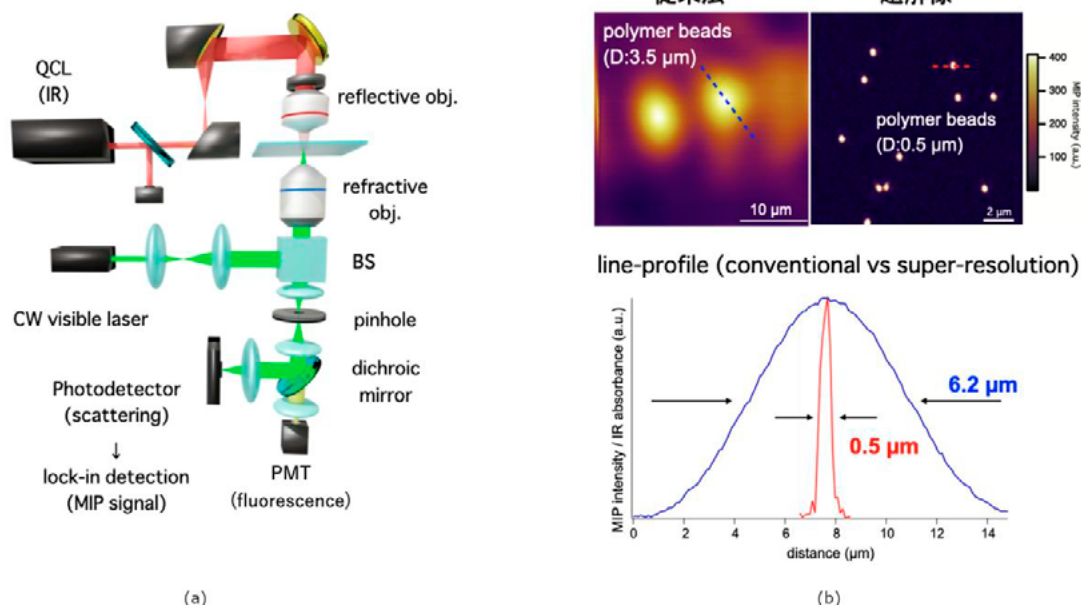


Fig. 1 (a) 超解像赤外分光顕微鏡の光学系. (b)従来法とのイメージング性能の比較

開発した手法を用いた測定結果を Fig. 1 (b)に示す。従来の赤外顕微鏡で撮像されたポリマー粒子（直径 3.5 μm）の赤外吸収像と、我々が開発した手法で取得したポリマー粒子（直径 0.5 μm）の赤外強度像の比較である。どちらもポリスチレンの芳香環伸縮振動由来の赤外吸収強度（波数 1494 cm^{-1} ）で画像化されたものである。中赤外光熱変換顕微鏡では、1 μm 以下の直径を持つ対象物であっても可視化できることが示されている。また、強度のラインプロファイルからも空間分解能の向上が明らかであり、従来と比較して 10 倍以上も高い空間分解能が得られている。また、1 点あたりの露光時間は、5-10 ms であり、高速イメージングが可能である。加えて、測定できる波数領域を拡張するために、異なる 2 つの中赤外レーザーを合波する光学系も確立し、これまで検出できていたアミノ酸や DNA に加えて、タンパク質のアミド結合情報や脂質のカルボニル基の情報も取得できる計測基盤も整えた。高速化に関しては、申請当初はビデオレート（秒オーダーの撮像

時間）を目指していたが、走査機器の機械的な律速や感度の観点から、分オーダーの高速性に留めておくことにした。開発した手法を用いて、生物計測応用を行なった。

2.2. マルチモーダルイメージングによるバクテリアバイオフィルムの可視化

超解像赤外吸収顕微鏡は、高い空間分解能に加えて、バイオイメージングにおけるもう一つの重要な利点がある。それは、試料の蛍光が赤外吸収信号と相互干渉しないため、2 つを共立化できることである。試料からの散乱光を蛍光フィルターで分光することで、蛍光信号と可視光の応答から読み出した中赤外吸収信号を個別に検出することが可能である。この特徴により、蛍光標識された試料や強い自家蛍光を持つ試料に対して、蛍光および赤外分光イメージングを同時に行うことができる。実際の応用例として、光合成微生物である藍藻と藍藻が細胞外に生成する多糖を主成分とするバイオフィルムのイメージング分析を

行なった。

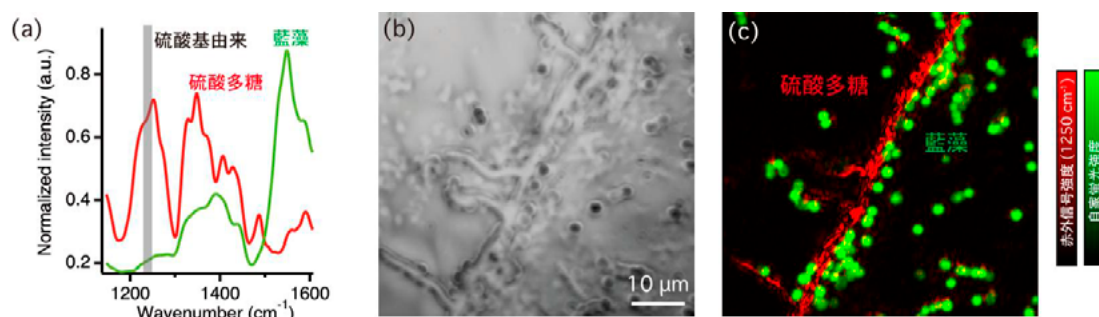


Fig. 2 (a) シアノバクテリアと硫酸多糖の中赤外スペクトル. シアノバクテリアバイオフィルムの(b)明視野像とマルチモーダルイメージング結果 (c). 緑：自家蛍光, 赤：中赤外光熱強度

自家蛍光を利用して藍藻を観察し、藍藻が生成する硫酸多糖の特定振動モードを用いてイメージングを行い、バイオフィルム内の各成分の分布を可視化した。Fig. 2 (a)に、藍藻と硫酸多糖の赤外吸収スペクトルを示した。硫酸多糖に含まれる硫酸基は、主にタンパク質で構成されるバクテリアとは異なる独自の赤外吸収信号を示す。この特異な波数領域を用いることで、硫酸多糖の可視化が実現できる。Fig. 2 (b),(c)には、透明基板上に生成された藍藻バイオフィルム試料の明視野画像、硫酸多糖の赤外吸収信号強度、およびバクテリアの自家蛍光強度が示されている。このマルチモーダルイメージングの結果、バイオフィルム内で藍藻と硫酸多糖が明確に可視化できた。この観察から、バイオフィルム内の硫酸多糖が繊維状の構造を形成し、その構造に沿って藍藻細胞が整列していることが判明した。しかし、他の領域をイメージングした結果では、藍藻細胞が必ずしも繊維状構造に沿って並んでいるわけではないことも確認された。従来の説では、バイオフィルムはブルーム状に形成されると考えられており、実際にマクロレベルでの観察でもブルーム状の形成が確認されていた。硫酸多糖の集合体が形成され

た後、培養液中で藍藻細胞がこれに結合し、気泡の浮力により自然に集まって密集したバイオフィルムが形成され则认为られてきた。今回のイメージング結果は、この予測が正しいことを示唆していると我々は考察している。今回は特に藍藻の硫酸多糖に焦点を当てて解析を行ったが、今後はバイオフィルムの形成や機能に関わるタンパク質や核酸など他の分子についても可視化を行う予定である。

2.3. 将来展望

超解像蛍光顕微鏡が様々な生物学的知見を与えたように、本技術により様々な生命現象のメカニズムや疾病原因を化学構造の観点から議論できることが本技術の特色である。例えば、生体機能の阻害や神経変性疾患の原因となる生体内のタンパク質のリン酸化や変性・凝集をリアルタイムで観察できるため、生体機能・疾病のメカニズム解明に貢献することが期待される。また、リン酸化による病気の進行度合いやウイルス感染者の重症度を示す血液中の ATP 濃度を非破壊で計測することなどにも応用可能なため、生命科学だけでなく、医学や創薬分野など広範な分野へ波及効果を持って貢献できると考える。計測対象とし

ても、細胞にとらわれずに広い意味での生体計測の可能性も本研究期間内で模索した。微生物や動物細胞以外に、歯科接着治療で用いる歯科用接着剤も強い自家蛍光を発する生体材料の1つであり、それらの分析においてもプレリミナリーな結果が現在出てきている。

またダイナミクス計測に向けては、更なる装置改良が必要となるという知見が得られた。今後の課題としては計測速度である。これはガルバノミラーによるレーザースキャンとデジタイザを利用した高速計測によって改善する予定である。計測の高速化も然りであるが、細胞培養を顕微鏡観察下で行う必要があると分かった。そこで、流体デバイス等を利用し、顕微鏡観察下で細胞培養できる環境を整えている (Fig. 3)。現状はこれらを統合した計測プラットフォームの確立まではできていないが、近い将来本イメージングと組み合わせることで、細胞内の分子動態を可視化することに挑戦できると期待している。



Fig. 3 顕微鏡観察下での細胞培養用のマイクロ流体デバイス

3. その他成果発表等

3.1. 論文発表

- ・ Ryo Kato*, Kaisei Maeda*, Taka-aki Yano, Kan

Tanaka, and Takuo Tanaka, “Label-Free Visualization of Photosynthetic Microbial Biofilms using Mid-Infrared Photothermal and Autofluorescence Imaging”, *Analyst*, **148**, 6241-6247 (2023)

3.2. 学会発表

- ・ Ryo Kato, “Paving Ways of Mid-Infrared Photothermal Microscopy for Biomedical Analysis”, The 22nd Annual Meeting of The Japan Association of Medical Spectroscopy, Osaka University, 2024.11.26
- ・ 加藤 遼, “微生物の代謝物解析に資する顕微分光計測法の開発と応用”, 日本微生物生態学会第37回広島大会 代謝物解析を通じて覗く環境微生物の世界, 広島国際会議場, 2024.10.31
- ・ Ryo Kato, “Mid-infrared chemical imaging using mid-infrared and visible lasers for biochemical analysis”, LDC2024, Tokyo, 2024.04.24
- ・ 加藤 遼, “中赤外光熱変換計測を用いたラベルフリー生体化学分析”, レーザー学会学術講演会第44回年次大会, 東京, (2024年1月17日)
- ・ Ryo Kato*, Taka-aki Yano, and Takuo Tanaka, “Mid-infrared photothermal spectroscopy and imaging for biochemical analysis”, Colloquium Spectroscopicum Internationale XLIII, June 27th. 2023, Tokushima Japan

4. 謝辞

本研究成果は、島津科学技術振興財団の助成金による支援を受けて実施しました。

安心・安全な放射線治療の実現に向けた中性子用線量計の開発

国立研究開発法人産業技術総合研究所 分析計測標準研究部門 研究員 木村 大海

1. はじめに

中性子はホウ素中性子捕捉療法(BNCT)^{[1][2]}、放射性同位体の製造^[1]、元素分析^[3]、中性子ラジオグラフィ^{[3][4]}など、多岐にわたる分野で利用されており、高感度かつ広いダイナミックレンジを有する中性子検出器の開発が求められている。中性子は電荷を持たないため直接的な電離を起こさないため、³He、⁶Li、¹⁰Bなどの核種との核反応により高エネルギーの光子や荷電粒子へ変換することで間接的に検出される。中でも、ホウ素を含む蓄積型蛍光体は、組織等価性および中性子に対する感度の観点から、中性子線量計として数多くの研究が行われてきた^{[5][6]}。蓄積型蛍光体は、入射放射線エネルギーの一部を吸収し、蓄積する素子である。放射線照射により材料内部に多数のキャリア(電子や正孔)が生成され、トラップサイトと呼ばれる欠陥準位に捕獲される。これらの捕獲されたキャリアは、加熱などの外部刺激により再励起され、発光中心に輸送され発光(thermally-stimulated luminescence: TSL)を呈する。

TSL強度は、放射線量に対して広い範囲で比例関係を持つことから、医療用画像診断^[7]、環境放射線測定^[8]、個人線量モニタリング^[9]など、さまざまな用途で利用されてきた。一方で用途に応じて素子の要求特性が異なるため、これまでに多種多様な蓄積型蛍光体が開発されている^{[10][11][12]}。

特に、希土類元素や遷移金属元素を添加したカルシウムホウ酸塩(CaB_2O_4 , $\text{Ca}_2\text{B}_2\text{O}_5$, CaB_2O_7)については、 β 線やX線照射後に強いTSLが観測されることが報告されている^{[13][14]}。

しかしながら、これらの材料における中性子照

射後のTSL特性についての報告は極めて限られており、現在までに報告されているのは主にTb添加やDy添加 $\text{Ca}_2\text{B}_2\text{O}_5$ セラミックスに関するものに限られる^{[15][16]}。

本研究では、希土類および遷移金属を添加した CaB_2O_4 単結晶に着目し、中性子照射後の光学特性およびTSL特性を評価し、その中性子線量計材料としての可能性について検討した。

手始めに0.5%のそれぞれの希土類(Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb)を添加した CaB_2O_4 (CBO)単結晶を合成した。これらについてTSL特性を調査したところ、希土類添加CBOはTSLを示さない結果を得た。一方で合成時にFeのコンタミネーションが生じた試料のみTSLを示したことから、添加材として遷移金属(Mn, Fe, Cuなど)を添加したCBO結晶を合成したところTSLを呈することが明らかになった。その中でも特に良好なTSL特性を示したMn添加CBOについて、詳細に報告する。

2. 実験方法

2.1. 試料合成

Mn濃度を0.01%、0.1%、および0.5%に変化させたMn添加CBO単結晶を、フローティングゾーン(Floating Zone: FZ)法により育成した。原料には、 CaCO_3 (純度4N、高純度化学研究所製)、 B_2O_3 (純度4N、高純度化学研究所製)、およびMnO(純度3N、高純度化学研究所製)を用い、化学量論比で秤量・混合した。 B_2O_3 には天然同位体組成のものを使用し、これは¹⁰Bが19.9%、¹¹Bが80.1%の割合で含まれている。

混合した粉末は、冷間静水圧プレスによって円柱形に成形し、成形圧力は40 MPa、保持時間は5

分とした。その後、電気炉を用いて 800℃で 8 時間焼結を行い、セラミック棒を作製した。作製した棒状試料は、楕円鏡とハロゲンランプにより構成される FZ 炉を用いて単結晶の育成を行った。育成条件として、引き上げ速度は 5 mm/h、回転速度は 15 rpm とした。

2.2. 評価方法

得られた結晶の組成を確認するために、X 線回折装置 (Rigaku 社製 MiniFlex400) を用いて構造解析を行った。光学特性については、フォトルミネセンス (PL) の励起および発光スペクトルならびに PL の減衰曲線を測定した。これらの測定には、それぞれ蛍光分光光度計 (日本分光製 FP-8550)、および蛍光寿命測定装置 (浜松ホトニクス製 Quantaaurus- τ 、型式 C11367) を使用した。TSL 特性の評価には、独自に構築した測定システムを用いて TSL グロー曲線を測定した^[17]。TSL グロー曲線は CBO 単結晶に対して中性子照射を行った後、50℃から 400℃まで 1℃/s の昇温速度で加熱した際の TSL 発光強度をモニターすることで取得した。中性子源としては、近畿大学の研究用原子炉 UTR-KINKI を使用した^[18]。中性子場には通常 γ 線が含まれているため、中性子をカットするための Cd フィルター (厚さ約 1 mm) で覆うことで、中性子場での γ 線の影響を考慮した。また、中性子フラックスと TSL 強度の関係を明らかにするために、 1.0×10^9 、 1.0×10^{10} 、 1.0×10^{11} neutrons/cm² の異なる中性子照射量 (フラックス) で TSL 測定を行い、中性子線量計としてのダイナミックレンジの評価を行った。

3. 実験結果

Fig. 1 に 0.5% Mn 添加 CBO の XRD パターンを示す。合成した試料の回折パターンはデータベースの CaB_2O_4 (COD:1010437) と一致しており、不純物相由来の回折ピークは検出されなかつ

た。したがって、FZ 法により単相の CBO 結晶の育成に成功した。

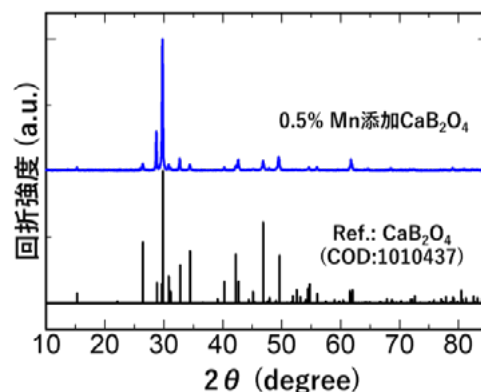


Fig. 1 0.5% Mn 添加 CBO の XRD パターン。

Fig. 2 に、0.5% Mn 添加 CBO 単結晶の PL 励起スペクトルおよび発光スペクトルを示す。405 nm の励起下において、530 nm 付近に発光ピークが観測された。既報からの類推により、発光起源は Mn^{2+} イオンの ${}^4\text{T}_1({}^4\text{G}) \rightarrow {}^6\text{A}_1({}^6\text{S})$ 遷移によるものであると考えられる^{[19][20]}。また Mn 濃度の増加に伴い発光強度が増加する傾向が確認された。530 nm 付近の発光をモニター波長として測定された励起スペクトルは、320 nm、350 nm、405 nm 付近に複数のピークが観測された。これらは、Mn における ${}^4\text{E}({}^4\text{D})$ 、 ${}^4\text{T}_2({}^4\text{D})$ 、および ${}^4\text{A}_1({}^4\text{G})/{}^4\text{E}({}^4\text{G}) \rightarrow {}^6\text{A}_1({}^6\text{S})$ の遷移に対応していると考えられる^{[20][21]}。

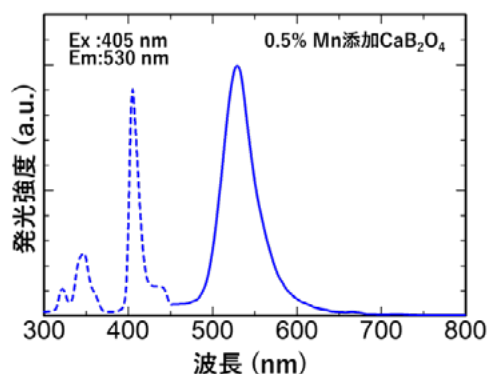


Fig. 2 0.5% Mn 添加 CBO の PL 励起(点線)および蛍光(実線)スペクトル。

Fig. 3 に Mn 添加 CBO 結晶の PL 減衰曲線を示す。Mn 添加 CBO 試料の減衰曲線は単一の指数関数で良好に近似でき、算出された蛍光寿命は 10.1 ms であった。これらの値は Mn^{2+} イオンの d-d 遷移における典型的な蛍光寿命と一致していた[20][22]。Mn 濃度が高くなるにつれて寿命が長くなる傾向も見られ、これは PL 強度の増加傾向とも一致しており、合理的な結果である。

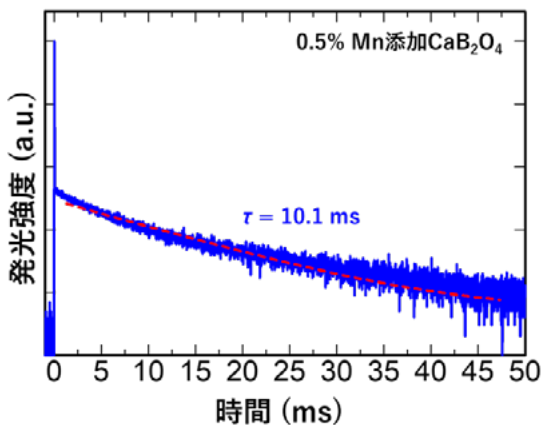


Fig. 3 400 nm の励起下における 0.5% Mn 添加 CBO の PL 減衰曲線。

Fig. 4 に 1.0×10^{10} neutrons/cm² の中性子照射後に得られた Mn 添加 CBO 単結晶の TSL グロー曲線を示す。ここで実線は Cd フィルター無し、点線は Cd フィルター有りで中性子を照射した結果である。すべての Mn 添加試料において、約 100°C、150°C、および 200°C 付近に複数のグローピークが観測された。これらのピーク位置は、既報の Mn 添加 CaB_4O_7 の報告と類似していた[15][16]。過去の研究によれば、100°C および 150°C 付近のピークは無添加 CBO セラミックスにおいても観測されており、それらのトラップ中心はアニオン格子中の欠陥に起因する可能性が示唆されている[23][24][25]。

グロー曲線の形状は、Cd フィルターの有無により明らかな違いが認められた。これは、中性子

場には通常 γ 線が混在しているためであり、Cd フィルターを使用することで熱中性子が効果的に吸収され、 γ 線のみが照射された条件と見なせる。Cd フィルターを用いた条件では、200°C 付近の TSL ピークの強度が他のピークと比較して顕著に減少していた。したがって、この 200°C 近傍のピーク強度の変化は中性子照射に起因していると考えられ、本試料が中性子検出に対して感度を有する可能性を示唆している。

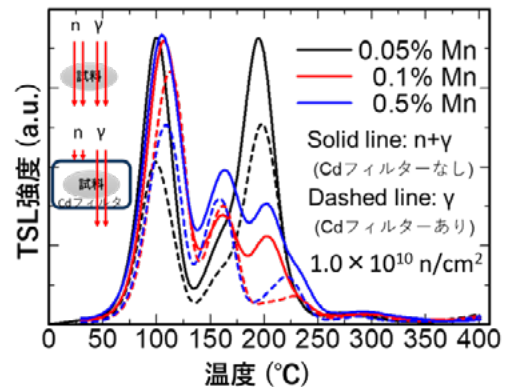


Fig. 4 中性子照射後における Mn 添加 CBO の TSL グロー曲線。実線と点線それぞれ Cd フィルターの有無で中性子照射を行った結果である。

Fig. 5 に Mn 添加 CBO 単結晶における中性子フラックスと TSL 積分強度との関係を示す。ここで TSL 強度の積分範囲は Cd フィルター有無の条件で顕著な強度差が確認されたピークを含む 70–230°C の温度域とした。結果として、すべての Mn 添加 CBO 結晶において、積分 TSL 強度は 1.0×10^9 – 1.0×10^{11} neutrons/cm² の範囲にわたり、中性子フルエンスに対して直線的に増加する傾向を示した。これは従来の線量計より高線量場での計測に対応可能であることを示している。さらに本研究で合成した Mn 添加 CBO 単結晶は、天然同位体組成の B_2O_3 (^{10}B が 19.9% 含有) を原料として使用しているが、原料粉末に ^{10}B を濃縮した B_2O_3 を用いることで、少なくとも 5 倍程度の

中性子感度の向上が期待される。

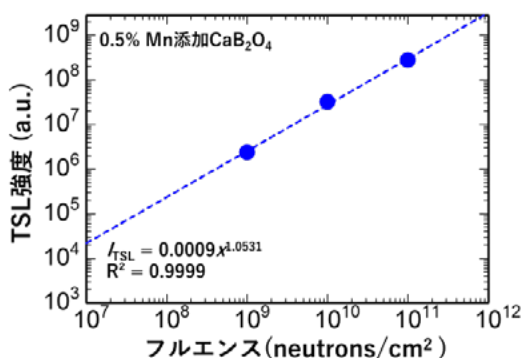


Fig. 5 中性子照射後における TSL 線量応答特性。

4. 参考文献

- [1] R.F. Barth, J.A. Coderre, M.G.H. Vicente, T.E. Blue; Boron Neutron Capture Therapy of Cancer: Current Status and Future Prospects, Clin. Cancer Res. 11, (2005), 3987–4002.
- [2] K. Watanabe; Applications of scintillators in optical-fiber-based detectors, Jpn. J. Appl. Phys. 62, (2023), 010507.
- [3] E. Witkowska, K. Szczepaniak, M. Biziuk; Some applications of neutron activation analysis, J. Radioanal. Nucl. Chem. 265, (2005), 141–150.
- [4] T. Fujiwara, K. Kino, N. Oshima, M. Furusaka; Development of a Bragg-edge Neutron Transmission Imaging Detector Combined with Micro-structured Boron Cathode and Glass Gas Electron Multiplier, Sens. Mater. 35, (2023), 537.
- [5] M. Prokić; Development of highly sensitive CaSO₄:Dy/Tm and MgB₄O₇:Dy/Tm sintered thermoluminescent dosimeters, Nucl. Instruments Methods. 175, (1980), 83–86.
- [6] E. Tekin (Ekdal), A. Ege, T. Karali, P.D. Townsend, M. Prokić; Thermoluminescence studies of thermally treated CaB₄O₇:Dy, Radiat. Meas. 45, (2010), 764–767.
- [7] N. Kurata, N. Kubota, Y. Takei, H. Nanto; Eu-doped CsBr phosphor as a new optically-stimulable phosphor material for medical X-ray imaging sensor, Radiat. Prot. Dosimetry. 119, (2006), 398–401.
- [8] M. Bakr, Z.G. Portakal-Uçar, M. Yüksel, Ü.H. Kaynar, M. Ayvacikli, S. Benourджа, A. Canimoglu, M. Topaksu, A. Hammoudeh, N. Can; Thermoluminescence properties of beta particle irradiated Ca₃Al₂O₆ phosphor relative to environmental dosimetry, J. Lumin. 227, (2020), 117565.
- [9] S.W.S. McKeever; Optically stimulated luminescence: A brief overview, Radiat. Meas. 46, (2011), 1336–1341.
- [10] M. Koshimizu, K. Oba, Y. Fujimoto, K. Asai; Thermoluminescence Properties of BCNO Phosphors after X-ray Irradiation, Sens. Mater. 36, (2024), 565.
- [11] S.A. Fartode, A.P. Fartode, S.J. Dhoble; A review: Thermoluminescence dosimetric application for phosphor, in: 2019: p. 020043.
- [12] S. Chand, R. Mehra, V. Chopra; Recent developments in phosphate materials for their thermoluminescence dosimeter (TLD) applications, Luminescence. 36, (2021), 1808–1817.
- [13] K.F. Oguz, E. Ekdal, M.A.A. Aslani, A. Canimoglu, J. Garcia Guinea, N. Can, T. Karali; Study of luminescence of Mn-doped CaB₄O₇ prepared by wet chemical method, J. Alloys Compd. 683, (2016), 76–85.
- [14] Y. Fukuda, A. Tomita, N. Takeuchi; Thermoluminescence and Thermally Stimulated Exoelectron Emission in Glass and

- Sintered $\text{CaB}_4\text{O}_7\text{:CuCl}_2$, *Phys. Status Solidi*. 85, (1984), K141–K144.
- [15] H. Komiya, I. Kawamura, H. Kawamoto, Y. Fujimoto, M. Koshimizu, H. Kimura, G. Okada, Y. Koba, T. Yanagida, G. Wakabayashi, K. Asai; Neutron-induced thermoluminescence properties of Tb^{3+} -doped $\text{Ca}_2\text{B}_2\text{O}_5$ ceramics, *Jpn. J. Appl. Phys.* 60, (2021), 092008.
- [16] H. Komiya, I. Kawamura, H. Kawamoto, Y. Fujimoto, M. Koshimizu, G. Okada, Y. Koba, G. Wakabayashi, K. Asai; Thermoluminescence properties of $\text{Ca}_2\text{B}_2\text{O}_5\text{:Dy}$ ceramics for neutron measurement, *Jpn. J. Appl. Phys.* 61, (2022), SB1007.
- [17] G. Wakabayashi, T. Yamada, T. Endo, C.H. Pyeon; Radiation Measurement and Application, in: *Introd. to Nucl. React. Exp.*, Springer Nature Singapore, Singapore, (2023), pp. 87–123.
- [18] W.H. Zachariasen; The Crystal Lattice of Calcium Metaborate, CaB_2O_4 , *Proc. Natl. Acad. Sci.* 17, (1931), 617–619.
- [19] A. Tomita, T. Sato, K. Tanaka, Y. Kawabe, M. Shirai, K. Tanaka, E. Hanamura; Luminescence channels of manganese-doped spinel, *J. Lumin.* 109, (2004), 19–24.
- [20] Y. Takebuchi, H. Fukushima, T. Kato, D. Nakauchi, N. Kawaguchi, T. Yanagida; Optical, scintillation, and dosimetric properties of Mn-doped MgAl_2O_4 single crystals, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 31, (2020), 8240–8247.
- [21] K.W. Park, H.S. Lim, S.W. Park, G. Deressa, J.S. Kim; Strong blue absorption of green $\text{Zn}_2\text{SiO}_4\text{:Mn}^{2+}$ phosphor by doping heavy Mn^{2+} concentrations, *Chem. Phys. Lett.* 636, (2015), 141–145.
- [22] V. Singh, R.P.S. Chakradhar, J.L. Rao, S.J. Dhoble, S.H. Kim; Electron Paramagnetic Resonance and Photoluminescence Studies of $\text{LaMgAl}_{11}\text{O}_{19}\text{:Mn}^{2+}$ Green Phosphors, *J. Electron. Mater.* 43, (2014), 4041–4047.
- [23] I.V. Berezovskaya, N.P. Efryushina, A.S. Voloshinovskii, G.B. Stryganyuk, P.V. Pir, V.P. Dotsenko; Luminescence and thermoluminescence of alkaline earth metaborates, *Radiat. Meas.* 42, (2007), 878–881.
- [24] Sangeeta, S. C. Sabharwal; Kinetics of thermally stimulated luminescence from alkaline earth borates, *J. Lumin.* 109, (2004), 69–74.
- [25] A Meijerink, G Blasse and M Glasbeek; Photoluminescence, thermoluminescence and EPR studies on $\text{Zn}_4\text{B}_6\text{O}_{13}$, *J. Phys.: Condens. Matter* 2, (1990), 6303.

5. その他成果発表等

- ・ 木村大海ら, 中性子線照射による Mn 添加 CaB_2O_4 単結晶の熱蛍光特性, 応用物理学会 極限的励起状態の形成と量子エネルギー変換研究グループ 第 13 回研究会, 鹿児島県指宿市, 2023 年 12 月 11 日 .
- ・ H. Kimura, *et al.*; Optically and Thermally Stimulated Luminescence Properties of Mn-doped CaB_2O_4 Crystals for Neutron Detection, *Sens. Mater.*, 37, (2025), 599-605.

6. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金の支援を受けて実施された。また UTR-KINKI における中性子照射は、近大原子炉における共同研究の一環として実施されました。

界面の形と構造の in situ 測定によるナノフルイドの超濡れ現象の解明

東北大学大学院工学研究科 准教授 庄司 衛太 *

1. はじめに

水や有機溶媒、高分子中にナノ粒子を分散させて得られるナノフルイドや高分子ナノコンポジットは、ナノ粒子のサイズ、形状、表面特性を適切に選択することで物性を制御できることから、幅広い分野で応用が期待される機能性材料である。これら材料の塗布、印刷といったプロセスにおいては、動的濡れの理解と制御が重要である。

ナノフルイドの動的濡れでは、ナノ粒子の添加によるバルクの熱物性変化はもちろんのこと^[1]、接触線近傍液膜内でのナノ粒子構造化による構造的分離圧の発現^[2]など、粒子サイズ程度の厚さを持つ液膜内の構造や力学の重要性が示されてきた。また、ナノフルイドに限らず、たとえば界面活性剤水溶液においても、接触線近傍の二重層形成による超濡れ現象発現^[3]といった構造化と動的濡れの関係も報告されてきた。これら研究が示すように、接触線近傍における液膜の構造や挙動の理解は、機能性材料の高精度な製造・制御に不可欠である。

本研究課題では、著者が発見したナノフルイドの超濡れ現象（超拡張濡れ現象）^[4]に着目し、そのメカニズム解明を目的とする。特に、界面の形状と内部構造、すなわち液滴形状と液滴内部のナノ粒子濃度分布の同時計測を通じて、現象の本質に迫ることを試みる。本報告では、ナノフルイドの超濡れ現象の特徴を概説するとともに、本現象の解明に向けて開発した光学計測系について報告する。

2. 実験方法および計測手法

2.1. 試料および実験条件

ナノ粒子には、超臨界水熱法により合成したデ

カン酸修飾 CeO_2 ナノ粒子（一次粒子の平均粒径：6 nm）^[5]を用いた。分散媒には、本ナノ粒子が高い分散安定性を示すノルマルアルカンを使用した^[6]。ナノ粒子と分散媒を混合後、遠心分離によって凝集体を除去し、ナノ粒子濃度が 0.1 wt%–5.0 wt% となるように調製した。

基板には、ピラニア溶液で洗浄した Si 基板を用いた。界面活性剤水溶液において、基板の表面エネルギーが超濡れ現象に影響を与えることが報告されている^[7]。これを踏まえ、ピラニア洗浄 Si 基板に加え、シランカップリング剤により表面修飾を施した基板を用意した。各基板の表面エネルギーは Owens-Wendt 法^[8]で評価し、洗浄 Si 基板で 62.7 mJ/m^2 、シラン処理基板で 30.9 mJ/m^2 であった。また、表面修飾ナノ粒子と基板間のポテンシャルモデル^[9]によれば、シラン処理はナノ粒子の基板への付着力を低減させる。

ノルマルアルカンは揮発性を有するため、密閉容器を用いて試料空間を飽和させ、液滴の蒸発を抑制した。ナノフルイド試料は、基板上に 0.2～0.3 μL 滴下し、拡張する液滴の液膜厚さ、ナノ粒子濃度分布を測定した。実験中は、環境温度および基板温度を $20 \pm 1^\circ\text{C}$ に一定に保った。

2.2. 位相シフトエリプソメータ

本研究で用いた低表面張力の液体では、液滴が基板上を薄く広がるため、従来の側面からの直接観察による液滴形状測定では、特に接触線近傍の薄い液膜領域の評価が困難である。さらに、膜厚スケールがナノメートルスケールとなると、濡れ挙動のダイナミクスを高精度に捉える手法は限られる。これらの課題に対して、本研究では、著者らが既に開発した位相シフトエリプソメータ

*（助成採択時） 東北大学大学院工学研究科 助教

[10]を用いた。本光学計測手法は、偏光解析法（エリプソメトリ）に位相シフト技術を組み合わせることで、液膜厚さの変化を高空間分解能かつ高時間分解能で非接触・非侵襲的に計測できる手法である。観察視野全体に対して、個々の画素ごとに偏光の振幅比と位相差を解析し液膜厚さを測定できるため、動的濡れの解析にも有効である[11]。

本報告においては、Fig. 1 に示す光学系構成の位相シフトエリプソメータを用いて、拡張液滴の液膜厚さ分布の時間変化を測定した。なお、位相シフトエリプソメータの原理、および本装置の光学系構成や各種光学素子の役割の詳細については、先行研究[4][10][11]を参照されたい。

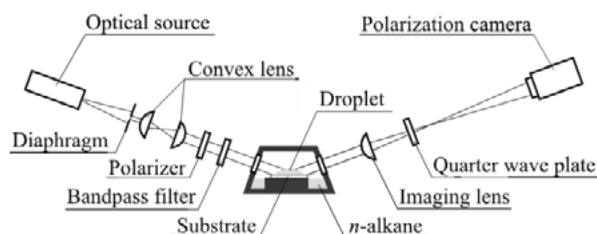


Fig. 1 位相シフトエリプソメータを備えた実験装置
(出典: 文献[4] (Shoji et al., 2024, CC BY 4.0))

2.3. 深紫外吸光顕微鏡

著者らは、これまでに開発した位相シフトエリプソメータを用いて、ナノフルイドの動的濡れを高空間・時間分解能で観察してきた。しかし、鍵となる液滴内部のナノ粒子分布については、粒径が極めて小さいことから、既存の観察手法では定量的な測定が困難であった。そこで本研究課題では、 CeO_2 ナノ粒子が深紫外光に対して高い吸光性を有することに着目し、液滴内部におけるナノ粒子濃度分布を非接触・高分解能で可視化可能な深紫外吸光顕微鏡を新たに開発した。

紫外可視分光光度計を用いて、ヘプタン中の CeO_2 ナノ粒子懸濁液（濃度 0.1 wt%、セル光路長 1 mm）とノルマルヘプタンの吸収スペクトルを測

定した結果を Fig. 2 に示す。ナノフルイドは波長 300 nm 以下の深紫外領域で吸光度 1 を超える強い吸収を示し、これは分散されたデカン酸修飾 CeO_2 ナノ粒子に起因することが明らかとなった。この結果に基づき、吸光度の高い波長 280 nm において、ナノ粒子濃度分布の可視化が可能であると判断した（このとき、ナノフルイドとノルマルヘプタンの吸光度はそれぞれ 1.14 および 0.0928）。

一方、位相シフトエリプソメータでは、ナノ粒子の吸光を排除するため、吸光度が 0.0187 と小さい波長 633 nm の光を用いて測定を行った。このように、二つの光学特性を活かし、液膜厚さとナノ粒子濃度の同時計測を目的として、位相シフトエリプソメータと深紫外吸光顕微鏡を統合した複合光学系を構築した (Fig. 3)。本構成は、基本的には Fig. 1 に示した位相シフトエリプソメータ光学系を踏襲しつつ、280 nm の深紫外光を入射角 5° で試料に照射し、その反射光を深紫外波長域に感度を持つカメラで撮影する設計とした。

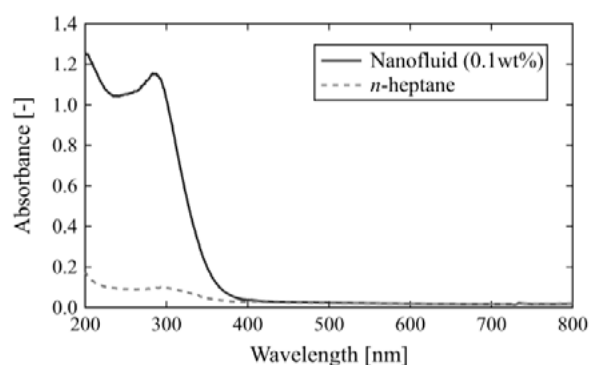


Fig. 2 ノルマルヘプタンおよびデカン酸修飾 CeO_2 ナノ粒子を分散したヘプタンナノフルイドの吸光スペクトル（紫外可視分光光度計）

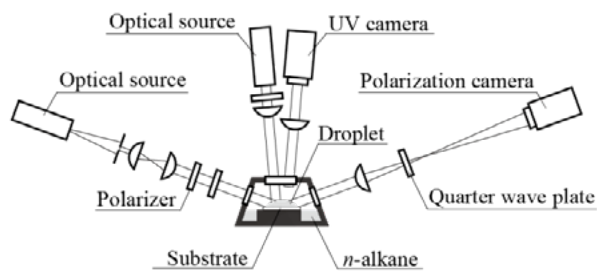


Fig. 3 位相シフトエリプソメータおよび深紫外吸光顕微鏡を組み合わせた複合光学計測系の概略

反射強度は、ナノ粒子による吸収を表す Lambert-Beer の法則に基づいて記述される。

$$A = -\log \frac{I_1}{I_0} = -\varepsilon c l \quad \text{Eq.(1)}$$

ここで、 I_0 は試料滴下前（基板のみ）の反射強度、 ε は吸収係数、 c はナノ粒子濃度、 l は光路長である。吸収係数は既知濃度のナノフルイドを用いた検量線から求められ、液膜厚さ l は位相シフトエリプソメータの測定値を用いる。したがって、本複合光学系により、液膜厚さとナノ粒子濃度の面分布を同時観測が可能となった。

3. 実験結果

3.1. ナノフルイドの超濡れ現象^[4]

本節では、深紫外吸光顕微鏡の開発に先立ち、ナノフルイドの超濡れ現象の特徴とそのメカニズムの検討について、主に位相シフトエリプソメータを用いた測定結果をもとに述べる。

3.1.1. 液滴拡張挙動の観察

Fig. 4 には、ノルマルヘプタンおよびナノフルイドの液滴に対する可視化結果を示す。ここでは、位相シフトエリプソメータによって取得したS波およびP波の位相差分布を示しており、現れる干渉縞はマイクロメートルスケール厚さの液膜の存在を示唆する。これらの干渉縞は、液膜厚さの等高線として解釈でき、液滴拡張の定量的な形状把握が可能となる。

いずれの液滴も軸対称に拡張していたが、ナノフルイドでは 300 秒以降も拡張が継続し、最終的にはノルマルヘプタンの 2 倍以上の接触半径に達した。さらに、液滴中心部には特徴的な扁平化構造の形成が確認され、この構造が液滴拡張の鍵となる要因の一つであると考えられる。

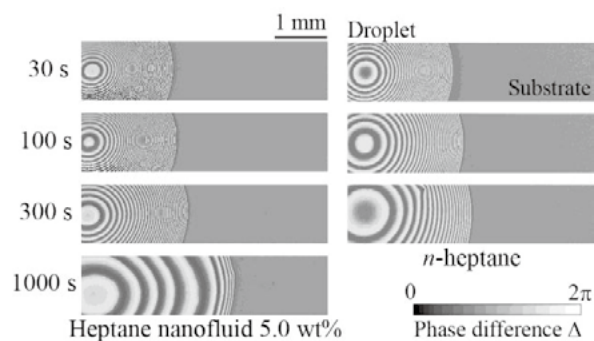


Fig. 4 Si 基板上に滴下したノルマルヘプタン液滴および 5 wt%ヘプタンナノフルイド液滴の接触線近傍の可視化

(出典:文献^[4](Shoji et al., 2024, CC BY 4.0))

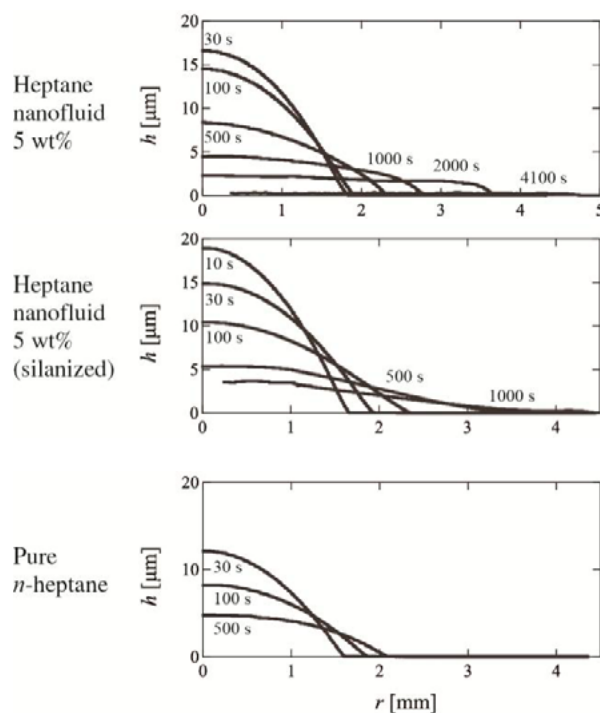


Fig. 5 液滴中心からの半径方向に沿ったマイクロメートル厚液膜の形状分布（すべてノルマルヘプタンを分散媒とした試料）

(出典:文献^[4](Shoji et al., 2024, CC BY 4.0))

Fig. 5 には、液滴形状の時間変化を示す。ノルマルヘプタンは球形を維持したのに対し、ナノフルイドは中心部の扁平化とともに継続的な広がりを示した。特に、ピラニア洗浄基板上では扁平化が顕著であった。

3.1.2. 拡張速度の定量評価と Tanner 則との比較

Fig. 6 に、接触半径 R と時間 t の関係を示す。ここでは、縦軸を滴下後 30 秒時点の接触半径 R_0 で規格化し、各条件を比較可能な形とした。全ての液滴において、滴下後およそ 100 秒までは、Tanner 則 ($R \propto t^{0.1}$) に従う拡張が見られた。しかし、ナノフルイドは 100 秒以降に拡張速度が増加し、特に 5 wt% のナノフルイドでは $R \propto t^\alpha$ の拡張指数 α が最大で $\alpha = 0.46$ に達した。この拡張指数 α は、界面活性剤水溶液における超濡れ現象の報告値 ($\alpha \sim 0.25-1$) と同程度であり、本系においても超濡れ現象が生じていると判断される。ナノ粒子濃度が高いほど拡張が顕著となる傾向も確認されたため、ナノ粒子の寄与の大きさが示唆される。

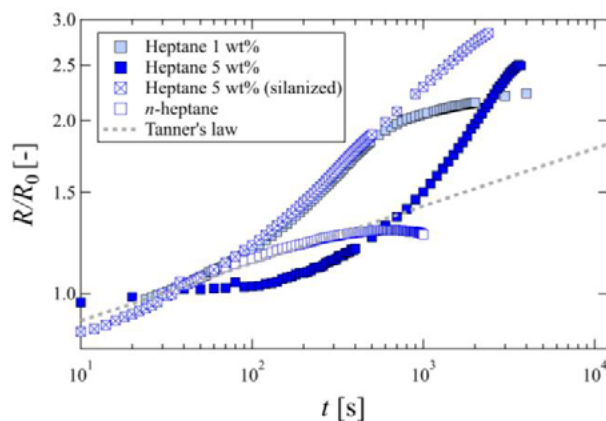


Fig. 6 無次元接触半径 R/R_0 と時間 t の関係

(出典: 文献[4] (Shoji et al., 2024, CC BY 4.0))

3.1.3. 拡張の駆動メカニズムの検討

構造的分離圧は、接触線近傍の液膜内におけるナノ粒子の構造化に起因して生じる段差状の圧

力であり、ナノ粒子径程度の階段状液膜の形成が報告されている^[2]。そこで本研究では、位相シフトエリプソメータを用いて、接触線近傍のナノメートルスケールの液膜厚さ分布を測定した (Fig. 7)。その結果、構造的分離圧に起因するとされる段差形状や液膜の階層構造は観察されなかった。さらに、既往研究に比べて本研究で使用したナノ粒子濃度は低く、このことから構造的分離圧の関与は小さいと考えられる。

次に、界面活性剤水溶液で知られるマランゴニ効果の関与を検討した。この効果は、気液界面における成分の濃度勾配によって表面張力差が生じ、液体流れを駆動するものである。これを検証するため、ペンダントドロップ法^[12]によりナノフルイドと純ノルマルヘプタンの表面張力を測定した。その結果、ナノフルイド (5 wt%) の表面張力は 19.7 ± 0.3 mN/m、ノルマルヘプタンは 19.8 ± 0.1 mN/m であり、ナノ粒子は気液界面に吸着せず、界面不活性であることが明らかとなった。したがって、マランゴニ効果に基づくメカニズムの適用は困難であると判断される。

最後に、ナノフルイドのレオロジー特性について検討した。既往研究^[13]によれば、本研究で用いたナノ粒子濃度範囲では、ナノフルイドの粘度はほぼ一定であり、せん断速度による粘度低下 (shear-thinning) や上昇 (shear-thickening) などの顕著な変化は見られない。さらに、5 wt% 条件においてより顕著な拡張が観察されたことは、粘度変化が拡張促進の主要因ではないことを示しており、レオロジー効果による説明とは整合しない。

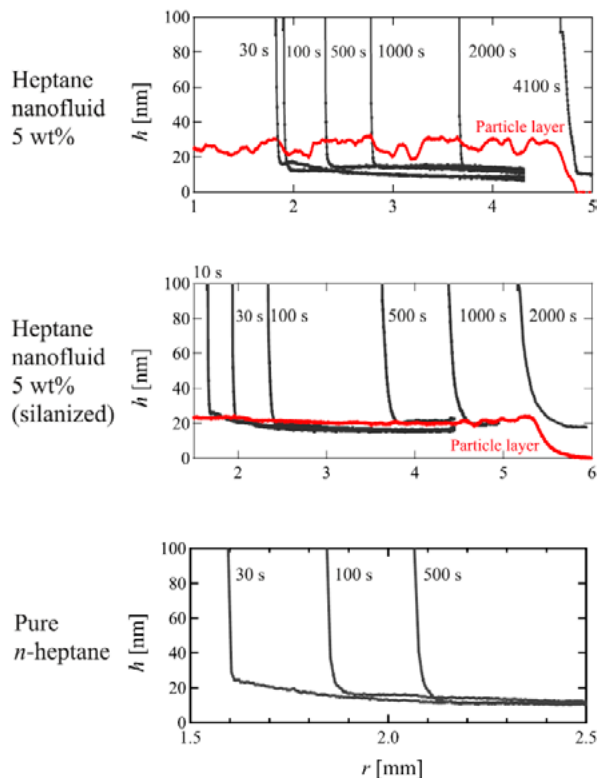


Fig. 7 ナノメートルスケールの接触線近傍液膜形状と、滴下 5000 秒後に液体蒸発後の残存ナノ粒子層の膜厚分布（赤線）
(出典:文献[4](Shoji et al., 2024, CC BY 4.0))

3.1.4. 液滴内ナノ粒子の存在の示唆

[Fig. 7](#) では、位相シフトエリプソメータで測定した、液体蒸発後に残存したナノ粒子層の膜厚分布を示す。5 wt%条件では拡張が 4100 秒まで継続したが、[Fig. 7](#) はその拡張範囲全体にナノ粒子層が存在していたことを示す。この結果は、接触線近傍のナノメートル厚さの液膜中にナノ粒子が存在し続けることが、超濡れ現象の持続に関与する可能性を示唆している。

[3.1.3](#) および [3.1.4](#) 検討より、ナノフルイドの超濡れ現象は、既往のメカニズムでは説明困難であり、液膜内ナノ粒子の構造が鍵となることが示唆された。これにより、ナノ粒子の in situ 濃度分布を可視化可能な新たな手法の必要性が明確となり、深紫外吸光顕微鏡の開発に至った。

3.2. 液膜厚さとナノ粒子濃度分布の同時計測

次に、位相シフトエリプソメータと深紫外吸光顕微鏡を組み合わせた複合光学系による、液膜厚さと吸光度分布の同時計測結果を [Fig. 8](#) に示す。ここで使用した試料は、ノルマルヘプタンを分散媒とし、デカン酸修飾 CeO_2 ナノ粒子を 4.3 wt% 含有するナノフルイドである。

[Fig. 8](#) (a)には、[Fig. 4](#)と同様に位相シフトエリプソメータにより得られたS波とP波の位相差分布を示している。一方、[Fig. 8](#) (b)は、深紫外吸光顕微鏡によって得られた反射光強度 I_1 の分布を示しており、 I_1 が小さい領域はナノ粒子による吸光が強く、液膜内のナノ粒子量が多いことを意味する。さらに、[Fig. 8](#) (c) には、液滴中心からの半径方向に沿った液膜厚さと吸光度の分布を示しており、両計測手法による同時計測が可能であることを実証している。この結果から、超濡れ条件下では液滴形状が単純な球形状から逸脱するとともに、液滴内部のナノ粒子濃度が不均一に分布していることが明らかとなった。

また、特筆すべきは、液膜厚さがマイクロメートル以下という薄い液膜領域においても、ナノ粒子による吸光分布が検出できた点である。これは、従来の光学手法では困難なナノ粒子分布の in situ 測定を可能にしたものであり、この複合光学計測手法の優位性を示す成果である。

本手法は、将来的に液膜厚さとナノ粒子濃度の定量的分布の解析を可能とするものである。ただし現時点では、両光学系の視野や観察領域の微小な位置ずれや、深紫外光における干渉効果による測定誤差の影響が懸念されるため、[Fig. 8](#) (c)の右軸にはナノ粒子濃度ではなく吸光度 A を表記している。今後はこれらの課題を克服し、より高精度な定量測定を通じて、ナノ粒子分布と濡れ現象の関係解明を進めていく予定である。

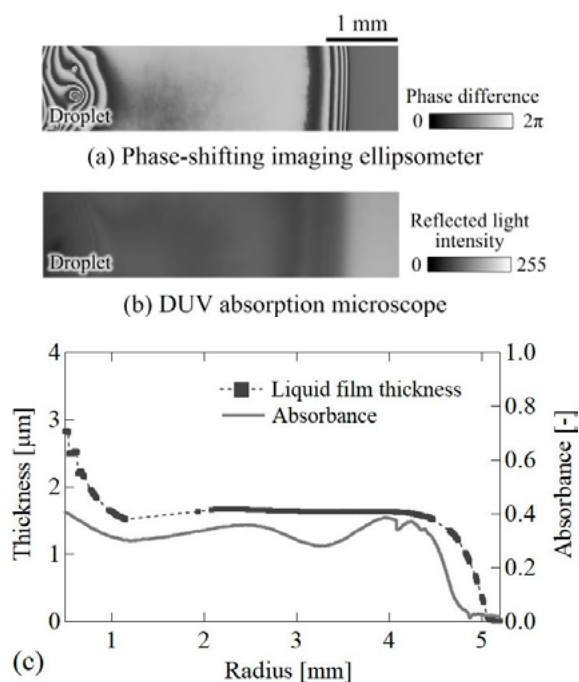


Fig. 8 Si 基板上に滴下したヘプタンナノフルイド液滴に対する滴下後 1000 秒時点の可視化および測定結果

4. 結論

本研究では、ナノフルイドが示す超濡れ現象に着目し、そのメカニズム解明を目的とした高分解能光学計測手法の開発と適用を行った。位相シフトエリプソメータによる液膜厚さの測定により、ナノフルイドが純溶媒と比べて顕著な拡張挙動を示し、液滴中心部の扁平化といった特徴的な形状変化が明らかとなった。拡張の駆動メカニズムとして、構造的分離圧、マランゴニ効果、レオロジー効果を検証した結果、いずれも支配的要因ではないことが示され、接触線近傍のナノ液膜内におけるナノ粒子の存在が拡張を駆動する重要な要素である可能性が示唆された。

この知見をもとに、ナノ粒子濃度分布を in situ 観測可能な深紫外吸光顕微鏡を新たに開発し、位相シフトエリプソメータと組み合わせることで、液膜厚さとナノ粒子分布の同時計測が可能であることを実証した。今後は、本手法のさらなる定

量精度の向上を通じて、ナノフルイド特有の濡れ・乾燥・構造化現象の理解を深めていく。

5. 参考文献

- [1] Lu, G., Wang, X.-D. and Duan, Y.-Y.; A critical review of dynamic wetting by complex fluids: From newtonian fluids to non-newtonian fluids and nanofluids, *Adv. Colloid Interface Sci.*, Vol. 236, (2016), 43-62.
- [2] Wasan, D. T. and Nikolov, A. D.; Spreading of nanofluids on solids, *Nature*, Vol. 423, (2003), 156-159.
- [3] Venzmer, J.; Superspreading – has the mystery been unraveled?, *Adv. Colloid Interface Sci.*, Vol. 288, (2021), 102343-102343.
- [4] Shoji, E., Hoshino, A., Biwa, T., Kubo, M., Tsukada, T., Tomai, T. and Adschiri, T.; Superspreading wetting of nanofluid droplet laden with highly dispersed nanoparticles, *Langmuir*, Vol. 40, (2024), 26509-26516.
- [5] Zhang, J., Ohara, S., Umetsu, M., Naka, T., Hatakeyama, Y. and Adschiri, T.; Colloidal ceria nanocrystals: A tailor-made crystal morphology in supercritical water, *Adv. Mater.*, Vol. 19, (2007), 203-206.
- [6] Tomai, T., Tajima, N., Kimura, M., Yoko, A., Seong, G. and Adschiri, T.; Solvent accommodation effect on dispersibility of metal oxide nanoparticle with chemisorbed organic shell, *J. Colloid Interface Sci.*, Vol. 587, (2021), 574-580.
- [7] Radulovic, J., Sefiane, K. and Shanahan, M. E. R.; Spreading and wetting behaviour of trisiloxanes, *J. Bionic Eng.*, Vol. 6, (2009), 341-349.

- [8] Owens, D. K. and Wendt, R. C.; Estimation of the surface free energy of polymers, J. Appl. Polym. Sci., Vol. 13, (1969), 1741-1747.
- [9] Usune, S., Takahashi, T., Kubo, M., Shoji, E., Tsukada, T., Koike, O., Tatsumi, R., Fujita, M. and Adschiri, T.; Numerical simulation of structure formation of surface-modified nanoparticles during solvent evaporation, J. Chem. Eng. Jpn., Vol. 52, (2019), 680-693.
- [10] Shoji, E., Komiya, A., Okajima, J., Kubo, M. and Tsukada, T.; Three-step phase-shifting imaging ellipsometry to measure nanofilm thickness profiles, Opt. Lasers Eng., Vol. 112, (2019), 145-150.
- [11] Shoji, E., Kaneko, T., Yonemura, T., Kubo, M., Tsukada, T. and Komiya, A.; Measurement of dynamic wetting using phase-shifting imaging ellipsometer: Comparison of pure solvent and nanoparticle suspension on film thickness profile, apparent contact angle, and precursor film length, Exp. Fluids, Vol. 62, (2021), 1-13.
- [12] Mukawa, Y., Yamagiwa, K., Shoji, E., Kubo, M., Tsukada, T., Teratani, S. and Katano, K.; Prediction of surface tension of heavy oil based on principle of corresponding states combined with detailed composition and molecular structure analysis, J. Jpn. Inst. Energy, Vol. 99, (2020), 75-81.
- [13] Hossain, M. Z., Hojo, D., Yoko, A., Seong, G., Aoki, N., Tomai, T., Takami, S. and Adschiri, T.; Dispersion and rheology of nanofluids with various concentrations of organic modified nanoparticles: Modifier and solvent effects, Colloids Surf. A, Vol. 583, (2019), 123876.

6. その他成果発表等

- ・ 庄司衛太；ナノフルイド液滴のメゾスケール動的濡れの光学計測, 混相流, Vol. 39, Issue 1, 26-39.
- ・ Shoji, E., Hoshino, A., Biwa, T., Kubo, M., Tsukada, T., Tomai, T., Adschiri, T.; Superspreading wetting of nanofluid droplet laden with highly dispersed nanoparticles, Langmuir, Vol. 40, Issue 50, (2024), 26509-26516.
- ・ Shoji, E.; Optical measurements of wetting and thermophysical properties of nanofluids, Germany-Japan symposium on particles and dispersions: synthesis and characterization, Erlangen, Germany, 2025.03.28.
- ・ 庄司衛太, ナノフルイドの濡れと構造形成の計測・制御, 化学工学会第55回秋季大会, 北海道大学札幌キャンパス, 2024年9月11日.
- ・ 庄司衛太, 相澤啓太, 琵琶哲志, 基板上ナノフルイドの液膜厚さとナノ粒子濃度の同時計測光学系の開発, 第67回理論応用力学講演会, 神奈川大学みなとみらいキャンパス, 2024年9月3日.
- ・ 庄司衛太, 星野瑛, 琵琶哲志, 久保正樹, 塚田隆夫, 筈居高明, 阿尻雅文, 基板上高濃度ナノフルイド液滴の超拡張濡れの発現条件の検討, 第61回日本伝熱シンポジウム, 神戸国際会議場, 2024年5月30日.
- ・ 相澤 啓太, 庄司衛太, 琵琶哲志, 基板上ナノフルイド液滴の液膜厚さとナノ粒子濃度面分布の同時計測, 第24回日本伝熱学会学生発表会, 東北大学片平キャンパス, 2024年5月11日.
- ・ 庄司衛太, 齋藤大河, 琵琶哲志, 久保正樹, 塚田隆夫, 筈居高明, 阿尻雅文, 無次元数を用いた基板上インクジェットナノフルイド液滴の

パターン形成の整理, 化学工学会第 89 回年会, 大阪公立大学中百舌鳥キャンパス, 2024 年 3 月 18 日.

- ・ 庄司衛太, ナノフルイド液滴のパターン形成と超拡張濡れ -メゾスケール光計測によるアプローチ-, 化学工学会熱工学部会セミナー2023, 赤穂ハイッ, 2023 年 11 月 25 日.
- ・ 庄司衛太, メゾスケール光計測に基づくソフトマテリアルの動的濡れの研究, 日本伝熱学会北陸信越支部秋季セミナー, 新潟大学駅南キャンパス「ときめいと」, 2023 年 11 月 23 日.
- ・ Hoshino, A., Shoji, E., Biwa, T., Kubo, M., Tsukada, T., Tomai, T., Adschiri, T.; Time-resolved multi-scale droplet shape measurement of superspreading wetting of nanofluid, The 20th International Conference on Flow Dynamics, Sendai, Japan, 2023.11.06.
- ・ 庄司衛太, 動的濡れにおけるナノ液膜の計測と理解: ナノフルイドの超拡張からパターン形成まで, 相変化界面研究会, オンライン, 2023 年 6 月 30 日.
- ・ 庄司衛太, 星野瑛, 齋藤大河, 琵琶哲志, 久保正樹, 塚田隆夫, 筈居高明, 阿尻雅文, 接触線

近傍ナノ液膜の観測に基づくナノフルイド液滴の超拡張濡れのメカニズム検討, 第 60 回日本伝熱シンポジウム, 福岡国際会議場, 2023 年 5 月 26 日.

- ・ 庄司衛太, 星野瑛, 齋藤大河, 琵琶哲志, 久保正樹, 塚田隆夫, 筈居高明, 阿尻雅文, インクジェットナノフルイド液滴の超拡張濡れのメカニズム検討, 化学工学会第 88 回年会, 東京農工大学小金井キャンパス, 2023 年 3 月 17 日.
- ・ 庄司衛太, 動的濡れにおけるソフトマテリアル特有の駆動力特定に向けた溶質の局在構造イメージング手法の開発, コニカミノルタ科学技術奨励賞, コニカミノルタ画像科学振興財団, 2024 年 3 月 11 日.

7. 謝辞

本研究は、文部科学省「材料の社会実装に向けたプロセスサイエンス構築事業 (Materealize)」(課題番号: JPMXP0219192801)、JSPS 科研費(課題番号: 24K01230、20H02498)、および公益財団法人島津科学技術振興財団の研究助成を受けて実施されたものである。ここに記して、各助成機関に深く謝意を表する。

電気回転速度を指標とした単一細胞の非染色電気特性評価装置の開発

兵庫県立大学大学院理学研究科 准教授 鈴木 雅登

1. はじめに

近年、細胞内シグナル伝達を人工的に組み換え、治療や創薬材料の産生に利用できるデザイナー細胞の作製が進んでいる。デザイナー細胞は特定の刺激に対して目的の機能を発現するように人工的に高機能化された細胞である。例えば、ガン抗原に対する結合能と免疫活性化能を有するタンパク質（CAR）が組み込まれた T 細胞（CAR-T 細胞）やグルコースと結合してインスリンを分泌する人工 β 細胞などがある。しかし、人工的に高機能化した細胞群内で機能の発現にばらつきがあり、その品質管理が課題である。通常、単一細胞の評価には、細胞の破碎や細胞への染色を必要とし、評価した細胞の利活用ができない。

そこで本研究では、細胞の電気回転現象を利用して、非染色で網羅的に単一細胞の電気特性（細胞膜容量、細胞質導電率）を計測する装置の実現を目的にする。本研究の計測原理である電気回転は、外部から印加した回転電場と、その回転電場によって細胞内に誘起された分極電荷との相互作用によって細胞に対してトルクが生じ細胞が回転する現象である。回転速度は細胞の電気特性に依存するため、回転速度を計測するだけで、細胞への染色や微小電極などを接触させることなく非標識に細胞の電気特性の評価が可能である。通常の電気回転デバイスは、平板基板上に 4 種類の電極を配置させ、その中央部で形成される回転電場を用いて細胞を回転させる。そのため 1 度に評価可能な細胞数は数細胞程度で、さらに細胞は電極中央部に浮遊している状態のため溶液の流れによって容易に散逸し、溶液を介した抗原での刺激ができない。一方、本研究の電極デバイスは、個々の細胞をマイクロウェルに捕捉し、そのマイ

クロウェル内で電気回転を誘導するため、長時間安定して単一細胞の電気回転計測が可能である。

本研究では免疫を司る細胞の 1 つである T 細胞を計測対象とした。T 細胞は、異物（抗原）を細胞膜受容体で認識すると、細胞膜表面積の増大（細胞膜容量の増加に相当）やイオンチャネルの開閉（細胞膜のイオンコンダクタンスに相当）といった細胞の電気特性を動的に変化させる。その結果、異物排除に利用されるタンパク質（サイトカイン）の分泌や異物への結合能の向上など免疫機能を発揮する。そのため単一の T 細胞の電気特性の経時変化を網羅的で簡便に評価できれば、T 細胞の免疫応答を調整する薬剤の迅速なスクリーニングにつながる。さらに、細胞に対して非標識で網羅的に免疫応答を評価できれば、目的の応答を示した細胞を回収し培養することで均一な細胞集団が取得でき、その細胞集団を治療用の細胞として移植することで安全な細胞移植治療が期待できる。このように本計測技術は、移植用細胞の品質評価の分野に貢献できる。

T 細胞の活性化には細胞内 Ca^{2+} の増加が必要である。また、多くの細胞に置いて、細胞内 Ca^{2+} の増加は細胞膜の反転を誘導しその結果、細胞膜容量の増加が報告されている^{[1][2]}。そこで細胞内へ Ca^{2+} を導入させるイオノマイシン添加時の Jurkat 細胞の細胞膜容量の増加を電気回転速度の変化として検出することを目的とした。

2. 実験方法

2.1. 電気回転の原理

電気回転速度 Ω は Eq.(1) で示される。

$$\Omega = -\frac{\epsilon_s \epsilon_0}{2\eta} \text{Im}[\text{CM}] E^2 \quad \text{Eq.(1)}$$

ここで、 ϵ_s と η はそれぞれ溶液の比誘電率と粘度、 ϵ_0 は真空の誘電率、 E は電場強度を示す。Im [CM] は Clausius-Mossotti 因子の虚部を示し電気回転速度の向きと速度を決定する。Jurkat 細胞の Im[CM] の周波数依存性を Fig. 1 に示した。Im[CM] は Single-shell model を用い、計算に必要な Jurkat 細胞の細胞膜容量 (9.82 mF m^{-2})、細胞質導電率 (250 mS m^{-1}) は先行研究の値を参照した^[3]。300 kHz 付近にピークをもつ曲線が得られた。Im[CM] は 10 kHz から 5 MHz の範囲では負を示し、回転電場とは逆方向の回転を示す。

電気回転スペクトルは細胞膜容量の増加によって低周波数側にシフトする。低周波数に保持しながら電気回転すると細胞膜容量の増加を回転速度の増加として検出できる。

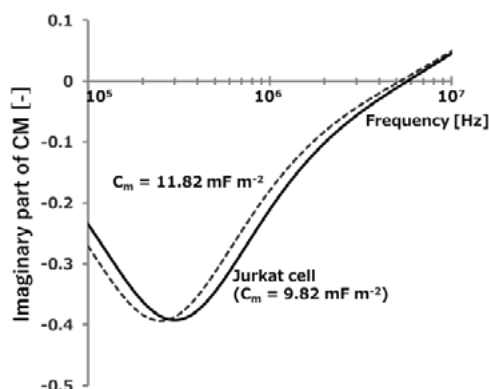


Fig. 1 Jurkat細胞の Clausius-Mossotti 因子の虚部の周波数特性（実線），および細胞膜容量が 2 mF m^{-2} 増加した場合（破線）

2.2. ウェル型電気回転デバイス

マイクロウェル型電極デバイスは 1,521 個の長方形型マイクロウェル ($20 \times 30 \mu\text{m}$ ，高さ $20 \mu\text{m}$) をもつ (Fig. 2 A)。マイクロウェル底面の短辺側に Indium-Tin Oxide (ITO) 透明電極（幅 $5 \mu\text{m}$ ，長さ $20 \mu\text{m}$ ），マイクロウェル長辺側の上面に Au/Cr 電極（露出領域幅 $5 \mu\text{m}$ ，長さ $20 \mu\text{m}$ ）を配線し 1 つのマイクロウェルに対して 4 電極を配置した

(Fig. 2 B)。マイクロウェル型電極デバイスは NTT-AT 社で作製した。電極チップにアクリル製溶液チャンバ（ひし形状，長辺 10 mm ，短辺 6 mm ，厚み 5 mm ）を取り付け，通電用の治具を介してファンクションジェネレータ (WW5064, TABOR Electronics) と接続した。電気回転デバイスへ 10 mg mL^{-1} BSA (bovine serum albumin) を溶解させたリン酸緩衝液を加えて 30 min 以上 4°C で静置しデバイス表面への細胞の非特異的な吸着を抑制した。

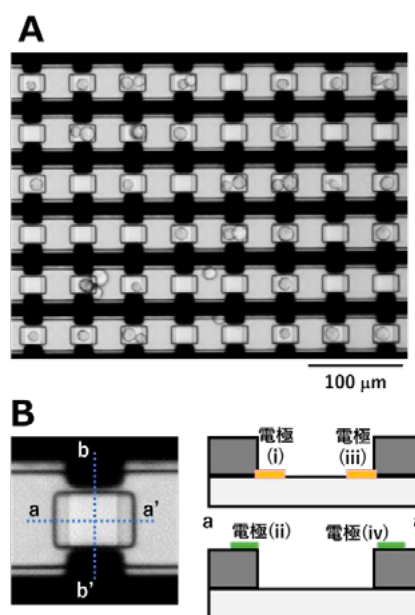


Fig. 2 A. マイクロウェル型電気回転デバイスの光学顕微鏡写真。長方形のマイクロウェルを 1,521 有する。B. 1 つのマイクロウェルの拡大写真と断面の模式図。電極 (i), (iii) がマイクロウェル底面，電極 (ii), (iv) がマイクロウェルに配置される。

2.3. 細胞の準備と電気回転計測

細胞は Jurkat E6.1 細胞 (以下 Jurkat 細胞) を用いた。Jurkat 細胞の培養には，10% fetal bovine serum と 1% penicillin-streptomycin を加えた RPMI1640 培地を用いて 5% CO_2 ， 37°C の雰囲気中で培養した。Jurkat 細胞懸濁液を遠心分離 (1000

rpm, 5 分) し, 電気回転溶液 (300 mM マンニトール水溶液で 10 倍へ希釈した RPMI1640 培地, 導電率 110 mS m^{-1}) へ置換した. 細胞濃度を $1.5 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ まで希釈した後にアクリル製溶液チャンバへ 200 μL 添加し 10 分静置した.

Jurkat 細胞への化学刺激にはイオノマイシンを用いた. 電気回転計測開始 10 秒後に 200 μM イオノマイシン溶液を 1 mL 添加し, イオノマイシンの終濃度 1 μM で Jurkat 細胞を化学刺激した.

2.4. 回転速度の評価

細胞の回転挙動はフレームレートが $60 \text{ frame second}^{-1}$ の CMOS カメラ (DFK33UX174, The Imaging Source, LLC) で記録した. 得られた動画へ研究室で作製したソフトウェアを適用して細胞の回転速度を算出した^[4]. 回転速度は各フレーム間での規格化相関係数から算出した. 基準とした時間の細胞画像から相関係数が最も高い細胞画像に至るまでのフレーム数を算出し, このフレーム数を細胞が 1 回転に要する時間とした.

3. 実験結果

3.1. Jurkat 細胞の電気回転特性

Fig. 3 に, Jurkat 細胞懸濁液を電気回転デバイスに滴下して 5 分後の光学顕微鏡写真を示した. マイクロウエルに Jurkat 細胞が単一細胞の状態で捕捉される様子が確認できた. 約 30% 程度のウエルで単一細胞の捕捉が確認できた. 細胞懸濁液の濃度を増加させると単一細胞を捕捉するウエル数は増加するが, 2 細胞以上含むウエルが増加した. 1 ウエルに複数の細胞が捕捉されると電気回転計測ができなくなる. そのため本研究では充填率は少ないが, 本細胞懸濁液の濃度を使用した.

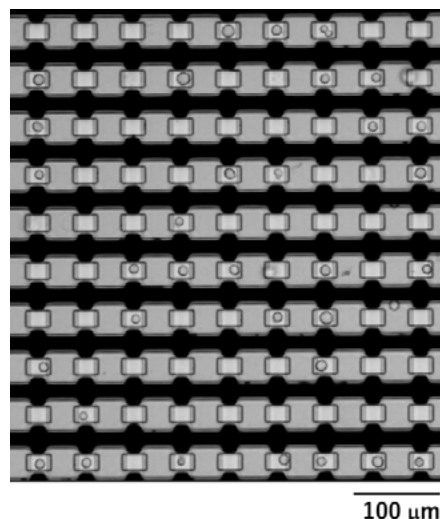


Fig. 3 Jurkat 細胞が捕捉されたマイクロウエル電気回転デバイスの光学顕微鏡写真. マイクロウエルへほぼ単一細胞の状態で捕捉された.

3.2. 電気回転計測における印加周波数

Jurkat 細胞のウエルへの捕捉を確認した後, 4 電極 (Fig. 2 B (i), (ii), (iii), (iv)) へ位相を 90° ずつずらした交流電圧を印加し各マイクロウエルへ回転電場を誘導した. Fig. 1 より $-\text{Im}[\text{CM}]$ が最小となる 300 kHz, 4 Vpp を印加するとその場で Jurkat 細胞は回転し始めた. 一方, 印加周波数を低下させ 50 kHz を印加するとほぼすべて細胞が回転しながらウエルへ放出された. この原因を考えるために, CM 因子の実部 ($\text{Re}[\text{CM}]$) の周波数依存性を計算した. $\text{Re}[\text{CM}]$ は Jurkat 細胞に作用する誘電泳動力の大きさと向きを示す. $\text{Re}[\text{CM}]$ が正の場合, 強電場領域への引力が Jurkat 細胞に作用し, $\text{Re}[\text{CM}]$ が負だと強電場領域からの反発力が作用する. Jurkat 細胞が安定に回転した 300 kHz は $\text{Re}[\text{CM}]$ がほぼ 0 になるため誘電泳動力は細胞に作用しない. そのため, 細胞はウエル内に保持された状態でその場で回転した. 一方, 印加周波数が 50 kHz では $\text{Re}[\text{CM}]$ は負の値を示し Jurkat 細胞へ負の誘電泳動が作用す

る。Jurkat 細胞にトルクが作用するとともに負の誘電泳動に由来した強電場領域からの反発力も作用したため、細胞は回転しながらウェルから放出されたと考えられる。

一方で、細胞膜容量の増加は電気回転スペクトルの低周波数側へのシフトを誘導する (Fig. 1)。膜容量の増加を検出するには低周波数 (50 kHz) での電気回転が有利である。そこで、負の誘電泳動の作用による Jurkat 細胞の散逸を抑制するために、ウェル上面の電極 (電極 ii, iv) への印加電圧を 4 Vpp, ウェル底面への電極 (電極 I, iii) への印加電圧を 2.8 Vpp へ変更した。その結果、細胞をマイクロウェルから散逸することなく安定して電気回転できた。そこで、この条件で電気回転させた Jurkat 細胞に対してイオノマイシンを添加しその回転速度を評価した。

3.3. イオノマイシン添加時の電気回転速度の計測

電気回転 (印加周波数 50 kHz, 電極 ii, iv への印加電圧 4.0 Vpp, 電極 i, iii への印加電圧 2.8 Vpp) させ、10 秒後にイオノマイシンを添加した。代表的な 1 細胞の電気回転速度の経時変化を Fig. 4 に示した。4 radian s^{-1} 程度の速度で回転し、40 秒程度はほぼ一定の速度で回転した。その後、徐々に回転速度が増加し、計測開始 140 秒後には 6 radian s^{-1} を示し、初期の回転速度に対して約 50% 回転速度が増加した。この回転速度の増加は膜容量の増加に起因する。

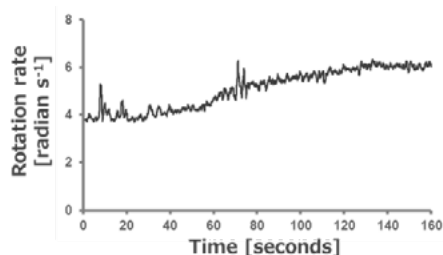


Fig. 4 電気回転速度の経時変化. 開始 10 秒後にイオノマイシン (終濃度 1 μM) を添加した。

この回転速度の増加を統計的に処理するために、計測開始 15~25 秒後間と 150~160 秒間の回転速度の平均値を算出し、イオノマイシン添加前後の回転速度を比較した。Fig. 5 にイオノマイシン添加前 (15~25 秒間の平均値) と添加後 (150~160 秒間の平均値) の相関図を示した。初期回転速度の 5% 以上増加した細胞は 224 細胞中 94 細胞で確認され、イオノマイシンによって誘導された細胞膜容量の増加を電気回転速度の増加として検出できた。

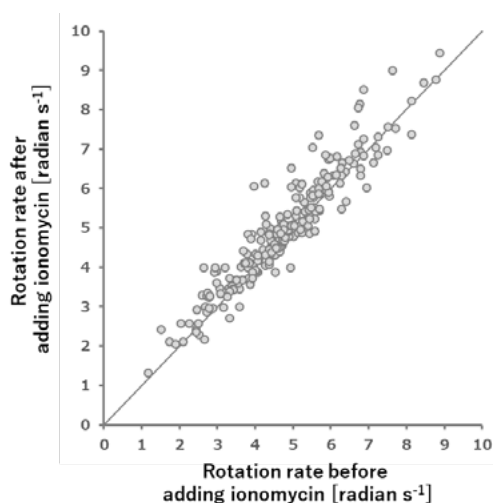


Fig. 5 イオノマイシン添加前後の電気回転速度の比較. 224 細胞分の回転速度を解析した。

4. 結論

本研究では、薬剤によって誘導される Jurkat 細胞の膜容量の増加の電気回転速度の変化として検出することを目的に、計測周波数を検討した。その結果、電気回転の理論計算から細胞膜容量の増加によって電気回転スペクトルの低周波数側へのシフトを確認した。一方で、低周波数である 50 kHz での電気回転は、負の誘電泳動も同時に作用しマイクロウェルから排出されてしまうことが判明した。マイクロウェルからの細胞の散逸抑制のために、上面電極への印加電圧を下面電圧と比較してわずかに大きくすることによって、マイ

クロウエルからの細胞の散逸を防ぐことに成功した。

イオノマイシンの添加により多くの細胞で回転速度が増加した。印加周波数が 50 kHz における回転速度の増加は細胞膜容量の増加を反映する。そのため、電気回転速度の増加としてイオノマイシンの添加によって誘導される細胞膜容量の増加を検出できた。通常、細胞膜容量の検出にはパッチクランプ法が利用される。パッチクランプ法は、ガラス電極を単一細胞に接触させ、細胞膜の一部を破断させるため煩雑で熟練した実験手技が必要である。また、パッチクランプ計測した細胞は大きく損傷を受け培養ができない。一方、本法は電極デバイスに細胞懸濁液の滴下だけで膜容量を概測できる。また、計測後の細胞をガラスピペットで回収し培養した結果、7 割程度の細胞の増殖を確認できた。この結果は、イオノマイシンの応答量に応じた細胞の選別やクローニングできることを示唆する。今後は、イオノマイシンに対する応答性の違う細胞をそれぞれ回収し培養し、単一細胞で評価した応答性を増殖後も維持されるかを検証する。また、薬剤に対する応答性だけではなく、抗体分泌細胞やウイルス完成細胞など、細胞膜の特徴に差がある細胞の電気回転評価を進め、電気回転計測に基づく細胞評価装置の開発を進める。

5. 参考文献

- [1] Bricogne, C.; Fine, M.; Pereira, P. M.; Sung, J.; Tijani, M.; Wang, Y.; Henriques, R.; Collins, M. K.; Hilgemann, D. TMEM16F Activation by Ca^{2+} Triggers Plasma Membrane Expansion and Directs PD-1 Trafficking. *Sci. Rep.* 9-1 (2019) 1–13.
- [2] Deisl, C.; Hilgemann, D. W.; Syeda, R.; Fine,

M. TMEM16F and Dynamin Control Expansive Plasma Membrane Reservoirs. *Nat. Commun.* 12 (1), 2021, 4990.

- [3] Kawai, S.; Suzuki, M.; Arimoto, S.; Korenaga, T.; Yasukawa, T. Determination of Membrane Capacitance and Cytoplasm Conductivity by Simultaneous Electrorotation. *The Analyst* 145 (12), 2020, 4188–4195.
- [4] Suzuki, M.; Kawai, S.; Shee, C. F.; Yamada, R.; Uchida, S.; Yasukawa, T. Development of a Simultaneous Electrorotation Device with Microwells for Monitoring the Rotation Rates of Multiple Single Cells upon Chemical Stimulation. *Lab Chip* 23 (4), 2023, 692–701.

6. その他成果発表等

- ・ Masato Suzuki “Non-invasive detection of cell surface morphological changes induced by T-cell activation using simultaneous electrorotation” UC San Diego | Kyoto University - KSAC Joint Research Symposium, UC San Diego, 2023 年 10 月 11 日.
- ・ 鈴木雅登, 中澤亜美, 磯崎勇志, 安川智之“一括電気回転計測によるアルカリフォスファターゼ分泌活性を有する細胞の識別”, 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 48 回研究会, 熊本, 2023 年 11 月 7 日.
- ・ Ryoga Yamada, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa “Monitoring Cell Membrane Capacitance by Cell Electrorotation in Microwells with Three Microelectrodes” 14th Asian Conference on Chemical Sensors, Manila, 2023 年 11 月 21 日.
- ・ 鈴木 雅登, 水谷櫻, 藤本萌, 山田稜河, 磯崎勇志, 安川 智之“細胞の一括電気回転を用いた

単一細胞の非標識な薬剤 応答の分析法の開発”，第 76 回日本生物工学会大会，東京，2024 年 9 月 8 日

鈴木雅登，水谷 櫻，吉川 雄人，今井健太，磯崎勇志，安川智之，化学とマイクロ・ナノシステム学会第 50 回研究会最優秀発表賞，CHEMINAS50 実行委員会，2024 年 11 月 26

日。

7. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金により遂行しました。貴財団からの助成に深く感謝を申し上げます。

発作感受性消去によるてんかん根治療法の開発

近畿大学 薬学部 医療薬学科 教授 竹内 雄一 *

1. はじめに

てんかんや鬱病などに代表される神経・精神疾患はしばしば薬剤抵抗性である^{[1][2][3]}。例えば、てんかんは薬剤より約7割の症例を制御可能だが、一方残りの3割は制御不良である。特に薬物療法開始から2年が経過しても発作が抑制されなければ難治性である割合が高い。難治てんかんのうち、一部は発作焦点切除などの外科手術が奏功する。しかしながら発作焦点がはっきりしない、複数存在する、あるいは切除不可能な箇所位置する場合は外科手術が適応しづらい。さらに外科手術には、高侵襲性、不可逆的な脳部位・機能の喪失というデメリットがある。

そこで外科手術に代わるてんかんの新規療法および補助療法として、電気、磁気、あるいは超音波など物理的な外力を用いた脳刺激法が注目されている。筆者は2015年に時間特異的脳刺激法の研究開発で著名な Antal Berényi 博士@セゲド大学と共同研究体制を築き、神経・精神疾患に制御を目的とした新機能刺激法の研究開発に取り組んできた。本稿では最近の筆者らの取り組みを中心に概説する。

2. 時間標的脳深部刺激法によるてんかん発作の制御

脳深部刺激や迷走神経刺激など電気による脳活動介入により、難治てんかんを制御する試みが行われている。ただし発作間欠期における刺激介入は、正常の脳活動・機能を妨げ、認知機能障害など副作用を生じる可能性がある。刺激介入を発作時のみに限ることで、そうした副作用を低減可能であると考えられる。Berényi は、2012年に欠神てんかんラットの脳波を常時モニターして、発

作出現時にのみ電気刺激で脳活動介入を行う、閉ループてんかん制御システムを開発し、当該システムにより、発作の持続時間を有意に減少することに成功した^[4]。この発作時間短縮作用に耐性は発達せず、少なくとも数ヶ月以上は効果の持続が認められた。

海馬を焦点とする内側側頭葉てんかんは、欠神てんかんなど、他のてんかん症候群に比べて薬剤抵抗性で難治性である割合が高い。側頭葉てんかんは適切に制御しないと、二次性に全般化して突然死の原因にもなるため、新たな制御法の開発が望まれている。筆者らは、前脳基底部の一部である内側中隔核が、海馬における周期的神経活動（オシレーション）を制御することに着目して検討を行ってきた。その結果、ラット海馬電気キンドリングモデルにおいて、発作時選択的な内側中隔核の電気刺激により、当該モデルの発作症状を軽減可能であることを見いだした^[5]。この発作症状軽減作用には、海馬てんかん波のリズムをリアルタイムに追従して内側中隔核を刺激することが必要条件であり、20 Hz など単純な固定頻度による刺激は無効であった。さらに光遺伝学的検討により、内側中隔核から海馬に投射する GABA 作動性ニューロンがこの発作症状軽減作用に関わることを明らかにした。

てんかん発作のオンデマンド制御に関しては、既に Responsive Neurostimulation (RNS) システムが臨床応用され一定の発作制御効果を示しているが、RNS システムで用いられる刺激パターンは、固定頻度パルスなど比較的単純である。筆者らの結果は、内側中隔核など標的脳部位によっては、てんかん波のリズムを模倣するなど、より

* (助成採択時) 北海道大学 大学院薬学研究院 医療薬学部門 准教授

複雑な刺激リズムパターンがてんかん発作の制御に必要であることを示唆する^[6]。

3. 経頭蓋集束電気刺激法の開発

最近筆者らは、てんかんのみならず、時間特異的な脳深部刺激法により、鬱病、および PTSD の症状を制御する新技術の創出に成功した^{[5][7][8][9]}。しかしながら当該知見の臨床応用に向けては、電極の脳実質への刺入による侵襲性が大きな課題である。そこで、筆者らは頭蓋の外から任意の脳領域に刺激を集束する新規非侵襲的脳刺激法の開発にも取り組んできた。

これまで伝統的に臨床で用いられてきた経頭蓋電気刺激法に関して、どの程度の電流が実際に頭蓋内空間に到達し、それにより神経細胞の活動がどの程度修飾されているかは不明であった^[10]。そのため筆者らは、まずラットおよび死後数日以内のヒト献体を用い、経皮的および経頭蓋的に負荷した電流が頭蓋内にどの程度の電位勾配を生じ、その電位勾配がどの程度神経細胞の膜電位および活動電位に影響するか、*in vivo* 細胞内記録および細胞外記録で検討した^[11]。その結果、負荷した電流のうち 50–80% は頭皮や頭蓋骨により短絡されて頭蓋内空間に到達しないことが明らかになった。特に神経細胞の発火頻度を修飾するためには、1 mV/mm 以上の頭蓋内電位勾配が必要であり、伝統的な経頭蓋電気刺激（～2 mA）では頭蓋内空間に 1 mV/mm の電位勾配は到底生じないことが明らかになった。この問題を克服するため、筆者らは新しい経頭蓋集束電気刺激法（Intersectional Short Pulse: ISP 法）を開発した。ISP 法の原理は、2.5–10 μ s 幅の短い電気刺激ビームを複数の電極対間でタイミングをずらして適応し、刺激を焦点に集束するものである。さらに刺激焦点間の位相をずらすことで、脳内情報フ

ローを自在に制御することも可能である^[6]。まず筆者らはラットを用い、ISP 法の空間的は刺激集束能を検討した。すなわち麻酔下で左右の海馬を刺激し分けることができるか検討したところ、右半球に集束した刺激は左側海馬の神経活動（神経発火）に影響を与えず、右側海馬における神経活動を優位に修飾できた。次に、健常ボランティア被験者において安静時脳波を測定し、ISP 法が脳活動を効果的に変調できるか検討した。脳波測定電極に加え、6 つの刺激電極対を頭皮上に配置し、1 Hz（～9 mA）の正弦波 ISP 刺激を負荷した。その結果、ISP 刺激は頭頂部（P3, P4）において、大脳半球および刺激位相選択的に α 周波数帯脳活動を增強した。この脳活動修飾作用は刺激後速やかに現れ、刺激後速やかに消失した。すなわち脳活動の長期間に渡る可塑的变化は認められなかった。ISP 法では、刺激強度を複数の電極対間で時空間的に分散するため、刺激電極直下の電流密度を下げることであり、そのため従来法の 8 倍にあたる 16 mA まで刺激強度を上げることに成功した。副作用としては、8 mA 以上の強度で若干の平衡感覚異常、味覚異常、および体性感覚（刺激電極下の痛み）が認められた。

4. 経頭蓋集束超音波照射技術によるてんかん発作制御法の研究開発

難治性てんかんや鬱病等、薬物抵抗性の神経・精神疾患の症状制御には、脳刺激法による神経活動の直接制御が効果的である。しかしながら従来用いられてきた脳深部刺激や光遺伝学刺激は電極等の脳実質への刺入に伴う侵襲性が課題であった。そこで本章では、生体透過性に優れた超音波を利用した非侵襲的脳刺激法の新規開発により、当該課題を解決することを目的とした。当該目的の達成のため、1) *In vivo* 超音波遺伝学の開発、

2) 小型超音波照射装置の開発、3) オンデマンド超音波遺伝学刺激法によるてんかん発作制御法の開発を実施した。

- 1) In vivo 超音波遺伝学の開発：まず、バクテリア由来機械受容チャネル eMscL^{G22S} を超音波遺伝学素子としてげっ歯類の脳神経細胞にアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを介して導入し、さらに当該素子を介した経頭蓋の神経活動操作を検討した。具体的には eMscL^{G22S} を介した経頭蓋の神経活動操作に関して最も効果的に神経活動を惹起する超音波照射パターン（周波数、音圧、デューティサイクル、反復刺激頻度等）を検討した。また最近我々は哺乳類の脳において超音波を介した神経活動修飾に TRPC6 分子が関与していることを見出した^[12]。そのため TRPC6 分子をやはり AAV ベクターを介してげっ歯類の脳神経細胞に過剰発現し、その超音波反応性を評価した。
- 2) 小型超音波照射装置の開発：現在上市されている超音波刺激トランスデューサーはサイズが大きすぎるため、自由行動下での適応が困難である。そのため自由行動下動物における経頭蓋集束超音波ニューロモデュレーションを目指し、小型集束超音波照射装置の開発を行った。I) 小型超音波振動子の作製：中心周波数 1、5、10 MHz、直径 10 mm、焦点距離 10 mm のチタン酸ジルコン酸鉛 (PZT) 振動子を特注作製した（富士セラミックス）。当該振動子を収納するケースを光造形 3D プリンター（Form 3+, Formlabs）で作製し、エポキシ系接着剤で振動子をケースに固定した。その後、振動子の中心周波数におけるインピーダン

スを測定し、パルストランスを用いて駆動用高周波増幅器（T145-4726AA, Thamway）の出力インピーダンスと整合した。振動子の駆動波形生成には一般的なファンクションジェネレーター（DG992, Rigol）を用いた^[13]。II) 小型超音波振動子の評価：振動子のインピーダンスは、振動子と直列に接続した基準抵抗とのそれぞれに負荷される交流電圧の振幅比により求めた。振動子の音響出力は音響放射力法により計測した。吸収体には音響吸収タイル（EUA201A, Eastek）を用い、放射力を分解能 1 mg の電子天秤（FX-300i, A&D Company）で計測した^[14]。超音波振動子の音場分布は k-Wave ソフトウェアを用いてシミュレーションするとともに^[15]、Pulser/Receiver (1050 PRJ/ Accu-Tron) およびマイクロマニピュレータ（David Kopf）を用いて 3 次元的に計測した。音圧の測定は、ニードル型ハイドロフォン（NH0500 型, Eastek）を用いて実施した。

- 3) オンデマンド超音波遺伝学刺激法によるてんかん発作制御法の開発：アデノ随伴ウイルスベクター（AAV5-hSyn-eMscL^{G22S}-mCherry）により、ラットの脳皮質神経細胞に超音波遺伝学素子を導入した。当該ラットを覚醒下で頭部固定し、脳における多チャンネル局所電場電位記録および筋電記録を行い、欠神発作を実時間モニターした。欠神発作が生じるや否や脳皮質を標的に経頭蓋集束超音波照射を行った。その結果、欠神発作エピソードに上記パラメータで即時経頭蓋超音波照射したところ、欠神発作エピソードの即時終息を達成でき

た。現在当該オンデマンド脳活動介入法が発作頻度、発作持続時間、1日あたりの総発作時間を減少・短縮するか解析中である。欠神発作の即時終息メカニズムの詳細は未だ不明であるが、超音波による神経活動介入が欠神発作リズム（5～15 Hz）を生じる脳内神経回路である大脳皮質一次体性感覚野－視床ループを発作エピソードの初期において断ち切った可能性がある。

5. 結論

筆者らが開発したこれらの技術の臨床応用について、特に経頭蓋集束電気刺激法（ISP 法）^[11]およびオンデマンド脳活動介入法^[5]の成果は、Berényi 博士を中心に、てんかん発作の制御を目的としたウェアラブル装置として実装された（<https://neunos.com/>）。既に難治性てんかん患者を対象に当該装置を用いた臨床研究を開始し、10名程度の患者において、その安全性および良好な治療成績を確認した^[16]。この疾患症状特異的な脳活動にオンデマンド介入することで症状を制御する戦略は、筆者らが最近開発したてんかんの発作感受性を定量する技術と組み合わせることで、てんかんの根治療法の研究開発を加速できる可能性がある^[17]。さらにてんかん以外の神経・精神疾患にも応用できる可能性がある^{[6][7][8][9]}。これらの実現が神経・精神疾患患者の Quality of Life 向上に資すれば幸いに思う。

一方、経頭蓋集束超音波照射法による超音波ニューロモデレーション法は、その神経機序に関しても未だ不明な点が多い^[12]。超音波刺激は、電気刺激や光遺伝学刺激に比べると、その刺激効率も十分ではなく、今後その向上を図る必要がある。機械受容チャネルの異所性強制発現による超音波（音響）遺伝学はその研究開発の方向性の一つであろう^{[18][19]}。

筆者らの研究に興味を持たれた方はお気軽に連絡されたい（<https://ytakelab.notion.site/>）。

6. 参考文献

- [1] Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ; Drug-resistant epilepsy, *New Engl J Med*, **365** - 10, (2011), 919–926.
- [2] Chen Z, Brodie MJ, Liew D, Kwan P; Treatment Outcomes in Patients With Newly Diagnosed Epilepsy Treated With Established and New Antiepileptic Drugs: A 30-Year Longitudinal Cohort Study, *JAMA Neurol*, **75** - 3, (2018), 279.
- [3] Dandekar MP, Fenoy AJ, Carvalho AF, Soares JC, Quevedo J; Deep brain stimulation for treatment-resistant depression: an integrative review of preclinical and clinical findings and translational implications, *Mol Psychiatry*, **23** - 5, (2018), 1094–1112.
- [4] Berényi A, Belluscio M, Mao D, Buzsáki G; Closed-Loop Control of Epilepsy by Transcranial Electrical Stimulation, *Science*, **337** - 6095, (2012), 735–737.
- [5] Takeuchi Y, Harangozó M, Pedraza L, Földi T, Kozák G, Li Q, Berényi A; Closed-loop stimulation of the medial septum terminates epileptic seizures, *Brain*, **144** - 3, (2021), 885–908.
- [6] Takeuchi Y & Berényi A; Oscillotherapeutics – Time-targeted interventions in epilepsy and beyond, *Neurosci Res*, **152**, (2020), 87–107.
- [7] Li Q, Takeuchi Y, Wang J, Gellért L, Barcsai L, Pedraza LK, Nagy AJ, Kozák G, Nakai S, Kato S, Kobayashi K, Ohsawa M, Horváth G, Kékesi G, Lörincz M, Devinsky O, Buzsáki G,

- Berényi A; Reinstating olfactory bulb-derived limbic gamma oscillations alleviates depression-like behavioral deficits in rodents, *Neuron*, **111**, (2023), 2065–2075.
- [8] 竹内雄一; うつ症状を生じる脳内メカニズムとその制御法, *神経科学ニュース*, **2024** - 5, 32–33. (2024)
- [9] Sierra RO, Pedraza LK, Barcsai L, Peijin A, Li Q, Kozák G, Takeuchi Y, Nagy AJ, Lőrincz ML, Devinsky O, Buzsáki G, Berényi A; Closed-loop brain stimulation augments fear extinction in male rats, *Nat Commun*, **14**, (2023), 3972.
- [10] Liu A, Vöröslakos M, Kronberg G, Henin S, Krause MR, Huang Y, Opitz A, Mehta A, Pack CC, Krekelberg B, Berényi A, Parra LC, Melloni L, Devinsky O, Buzsáki G; Immediate neurophysiological effects of transcranial electrical stimulation, *Nat Commun*, **9** - 1, (2018), 5092.
- [11] Vöröslakos M, Takeuchi Y, Brinyiczki K, Zombori T, Oliva A, Fernández-Ruiz A, Kozák G, Kincses Z T, Iványi B, Buzsáki G, Berényi A; Direct effects of transcranial electric stimulation on brain circuits in rats and humans, *Nat Commun*, **9** - 1, (2018), 483.
- [12] Matsushita Y, Yoshida K, Yoshiya M, Shimizu T, Tsukamoto S, Kudo N, Takeuchi Y, Higuchi M, Shimojo M; TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuromodulation in mammalian brain, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **121**, (2024), e2404877121.
- [13] Chan M, Yoshida K, Yang G, Mimura T, Kudo N, Takeuchi Y; Time-targeted intervention of brain oscillations with transcranial ultrasound irradiation. In: Ohki T (eds), *Neuromethods, in press*.
- [14] 工藤信樹; Part 3. Ultrasound measurement methods: Principle and practice, *Jpn J Med Ultrasonics*, **43** - 6, (2016), 719–721.
- [15] Treeby BE and Cox BT; k-Wave: MATLAB toolbox for the simulation and reconstruction of photoacoustic wave fields, *J Biomed Opt*, **15** - 2, (2010), 021314.
- [16] Chandaide Z, Fabó D, Barcsai L, Pejin A, Foldi T, Furuglyas K, Somogyvari Z, Gyurkovics T, Nadasdi M, Rafi P, Kamondi A, Buzsaki G, Devinsky O, Eross LG, Berenyi A; Initial evidence, safety and feasibility of Intersectional Short Pulse stimulation, a novel spatio-temporally focused closed-loop neuromodulation for drug resistant focal epilepsy, 2022 Neuroscience Meeting Planner, Society for Neuroscience, (2022), 697.05.
- [17] 竹内雄一; てんかん発作のオンデマンド介入法と発作感受性定量法の開発, *BIO Clinica*, **35** - 9, (2020), 771–774.
- [18] Ibsen S, Tong A, Schutt C, Esener S, Chalasani SH; Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans*, *Nat Commun*, **6** - 1, (2015), 8264.
- [19] Wang S, Meng W, Ren Z, Li B, Zhu T, Chen H, Wang Z, He B, Zhao D, Jiang H; Ultrasonic Neuromodulation and Sonogenetics: A New Era for Neural Modulation, *Front Physiol*, **11**, (2020), 787.

7. 本研究にかかわる成果発表等

- Li Q, Takeuchi Y, Wang J, Gellért L, Barcsai L, Pedraza LK, Nagy AJ, Kozák G, Nakai S, Kato S,

- Kobayashi K, Ohsawa M, Horváth G, Kékesi G, Lőrincz ML, Devinsky O, Buzsáki G, Berényi A; Reinstating olfactory bulb derived limbic gamma oscillations alleviates depression-like behavioral deficits in rodents, *Neuron*, 111 (2023), 2065–2075.
- Sierra RO, Pedraza LK, Barcsai L, Peijin A, Li Q, Kozák G, Takeuchi Y, Nagy AJ, Lőrincz ML, Devinsky O, Buzsáki G, Berényi A; Closed-loop brain stimulation augments fear extinction in male rats, *Nat Commun*, 14 (2023), 3972.
 - Matsushita Y, Yoshida K, Yoshiya M, Shimizu T, Tsukamoto S, Kudo N, Takeuchi Y, Higuchi M, Shimojo M; TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuro-modulation in mammalian brain, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 121 (2024), e2404877121.
 - Takeuchi Y; TRPC6 is a mechanosensitive channel essential for ultrasound neuro-modulation in mammalian brain, Gordon Research Conference: In Vivo Ultrasound Imaging 2024, Waterville valley, U.S.A., Aug 25–30, 2024.
 - Takeuchi Y; Research and development of novel brain stimulation technologies for controlling neurological and psychiatric disorders, 2024 Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea, Seoul, Korea, Nov 22, 2024.
 - Takeuchi Y; Research and development of novel brain stimulation technologies for controlling neurological and psychiatric disorders, QP45 & QBIC2025 International Joint Workshop, Chiba, Japan, Mar 7, 2025
 - 竹内雄一, 日本生理学会奨励賞, 神経・精神疾患の制御を目的とした新規脳刺激技術の研究開発、日本生理学会, 2024 年 3 月 29 日.

8. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金により実施した。

膵癌前癌病変の特異的検出を目的とした分子プローブ開発

金沢大学医薬保健研究域 薬学系 准教授 淵上 剛志

1. はじめに

膵臓がんは全がんの中で最も予後が悪く（5 年生存率 7%程度）、2030 年には世界でのがんの死亡率が第 2 位になる見込みで、その治療成績向上は喫緊の課題である。膵臓がんの画像診断には CT, FDG-PET や MR/ERCP が用いられるが、初期の段階では検査受療契機となるような症状を呈さないため、多くの患者では進行した状態で発見される^[1]。

膵臓がんは浸潤性のがんに変化するまでに 10 年程度はかかる前癌病変と呼ばれる膵上皮内腫瘍性病変（PanIN）や膵管内乳頭粘液性腫瘍（IPMN）が多くの症例で見られるため、この時点で発見できれば予後は大きく改善することが期待されている（膵がん診療ガイドライン 2019）。しかしながら、それらの病変は現状の画像診断では発見や鑑別が困難であり、鋭敏かつ特異的に発見できる診断法の開発が望まれる。

我々は、PanIN や IPMN や初期膵癌を特異的に検出するため、低分子やペプチドを基盤とする分子プローブの開発を進めてきた^{[2][3]}。加えて、これらの研究をさらに発展させ、近年注目されているリキッドバイオプシー^[4]を含む多角的な膵癌前癌病変の診断法構築が必要と考えるに至った。

そこで本研究では、同一の生体分子を標的としたリキッドバイオプシーおよび画像診断の両面から、PanIN や IPMN を高感度かつ高特異性で迅速に診断できる下記の機能性分子の開発を試みた。

- 1) 血液中のエクソソームおよび循環腫瘍細胞を標的としたラマンプローブ

- 2) 光音響イメージングや核医学イメージングに対応した分子プローブ

2. 結果と考察

2.1. 標的分子への機能性分子開発

金ナノ粒子への修飾を目的とした膵癌の初期段階（PanIN III）で高発現し予後不良に関与するタンパク質（ADAM8、survivin、Glypican-1）を標的としたナノボディの開発を試みた。その結果、ADAM8、survivin に結合するファージクローンを同定し、特に ADAM8 と survivin に対する親和性が高いクローン（ $K_d < 5$ nM）を得た。蛍光染色実験では、ADAM8 や survivin を発現する細胞においてナノボディの集積が確認された（Fig. 1）。

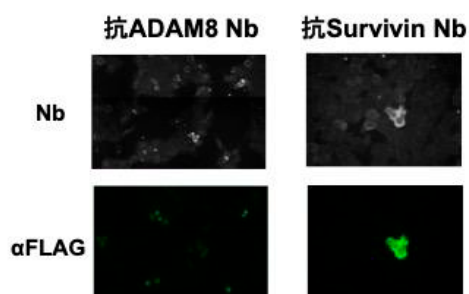


Fig. 1 eHAP 細胞への Nb の結合性評価。白; ナノボディ (Nb), 緑; α FLAG (標的タンパク質)。

放射標識ナノボディでは、 ^{125}I および ^{67}Ga 標識体を作製し、細胞結合実験を実施した。その結果、ADAM8 を高発現する細胞（PANC-1_A8、AsPC-1）で高い集積が確認され、特に ^{67}Ga 標識体が優れた結合性を示した。Survivin 標的のナノボディに関しても標的に対する高い選択性を示すことが見出され、がん治療薬としての可能性も示された^[5]。現在、膜透過ペプチドとの融合による細胞内導入効率や特異性の評価を進めている。

続いて、ADAM8 が前癌病変においても診断お

よび治療標的として有用であるかを検証するため、臨床検体を含む評価を実施した。病理切片を対象として、ADAM8 モノクローナル抗体 MAB1031 を用いた抗体染色を行ったところ、膵癌 (PDAC) および前癌病変または緩徐進行型膵癌 (IPMN) のいずれにおいても、細胞膜上への ADAM8 発現が確認された。従って、ADAM8 が前癌病変検出の有望な標的であることが示された。また、 ^{111}In -DTPA-MAB1031 の細胞結合実験では、ADAM8 高発現の AsPC-1 および過剰発現の PANC-1_A8 細胞における結合が、低発現の PANC-1 細胞よりも有意に高いことが確認された。さらに、マウスモデルを用いた SPECT/CT 評価では、 ^{111}In -DTPA-MAB1031 が ADAM8 陽性腫瘍組織に特異的に高いシグナルを示した (Fig.2)。

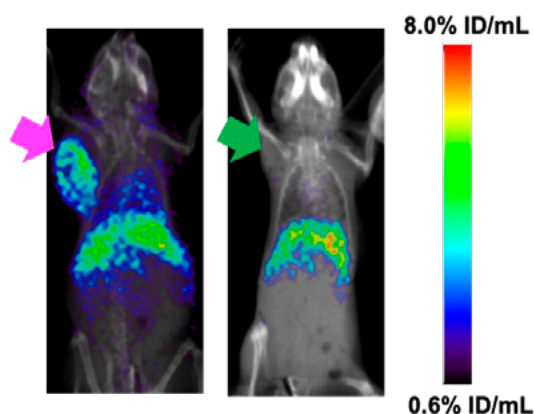


Fig. 2 ^{111}In -MAB1031 の担がんマウス SPECT/CT 画像 (ピンク色矢印; AsPC-1 (ADAM8 高発現), 緑色矢印; PANC-1 (ADAM8 低発現)).

加えて、 ^{211}At -MAB1031 の担癌マウスにおける抗腫瘍活性が確認され、ADAM8 を標的とした治療薬としての有効性が示唆された。これらの結果は、ADAM8 を標的とした前癌病変検出や膵癌早期診断および治療薬剤の開発に向けた重要な基盤となることが期待される (論文投稿準備中)。

これまでに我々は、がん細胞リン脂質を標的としたカチオン性両親溶性分子プローブ (CAPs)

を開発し、優れた腫瘍への集積性を示すことを見出している [6]。そこでこれらの CAPs とがん標的分子 (インテグリン指向性 RGD ペプチド) を融合した分子プローブの開発を行ったところ、単一標的分子よりもより高い腫瘍組織への送達が達成された (Fig.3) [7]。

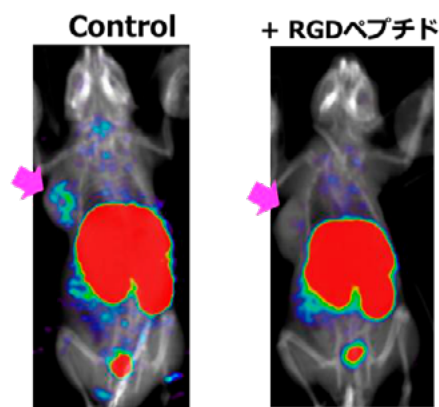


Fig. 3 ^{67}Ga 標識 CAPs-RGD 融合分子のマウス SPECT/CT 画像 (矢印; U87-MG (Integrin 高発現)).

また、ADAM8 や legumain などの腫瘍組織に高発現している酵素の活性に応答したペプチドプローブ開発にも着手した。すなわち、膜透過性の塩基性オリゴペプチドをその膜透過性を打ち消す酸性のオリゴペプチドを酵素切断スペーサーで連結させた分子を考案し、開発に着手した。これまでに legumain を標的としたペプチドプローブ開発について報告している [8]。一方で、血中などでの分解により、in vivo で標的への高い特異性が達成されていないので、様々な酵素切断部位やスペーサーなどの検討を行い、ADAM8 や legumain に特異性の高い分子プローブをそれぞれ見出した (論文投稿準備中)。

今後は種々のナノボディやペプチド分子の金ナノ粒子への導入とそれら複合型分子プローブにて前癌病変の検出や特性評価が可能であるかの検討を行う予定である。

2.2. ラマンイメージングへの応用を目的とした 球状シリカ金ナノ粒子の開発

近赤外光を利用した表面増強ラマン散乱 (Surface-Enhanced Raman Scattering: SERS) 分光法は、がんのリキッドバイオプシーや内視鏡診断支援への応用が期待される。近年、ラマンレポーター分子には IR780 のような近赤外蛍光色素が強いラマンシグナルを達成できるラマンレポーターとして主に用いられてきたが^[9]、金ナノ粒子表面からの脱離や吸着による蛍光ノイズが懸念される。そこで本研究では、低ノイズで安定したシリカ金ナノ粒子型ラマンプローブを開発するため、消光分子をラマンレポーターとして用いた新規プローブの作製と基礎評価を試みた。

ラマンレポーターを金ナノ粒子に吸着させたシリカ金ナノ粒子を作製し、ラマン測定や走査電子顕微鏡 (SEM) による評価を行った。その結果、作製したシリカ金ナノ粒子は、粒子径約 100 nm で 60 nm の金ナノ粒子がシリカ膜で覆われた構造を示した (Fig. 4)。

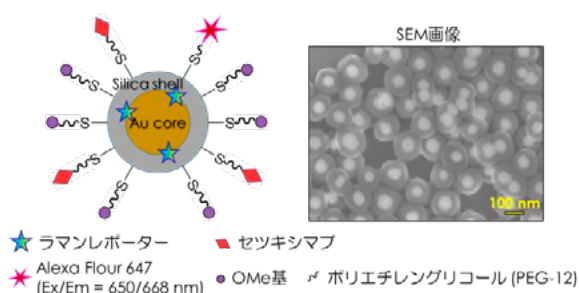


Fig. 4 修飾シリカ金ナノ粒子の模式図および SEM 画像。

特に消光分子 TQ7WS を導入した粒子は、IR780 導入粒子に匹敵する強いラマン強度を示し、EGFR 発現レベルに応じたラマンシグナルが細胞結合実験で確認された。次に、開発したラマンプローブの標的化の可能性を検討した。標的部位と

して、多くのがん細胞に高発現している表皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR) を選択して検討を行った。すなわち、ポリエチレングリコールを介して抗 EGFR 抗体セツキシマブを導入し、EGFR の発現レベルが異なる A431 細胞 (高発現) および NIH/3T3 細胞 (低発現) を用いて結合性を評価した。その結果、セツキシマブ修飾粒子の細胞取り込み実験では、EGFR の発現レベルに応じた蛍光顕微鏡画像が得られた (Fig. 5)。

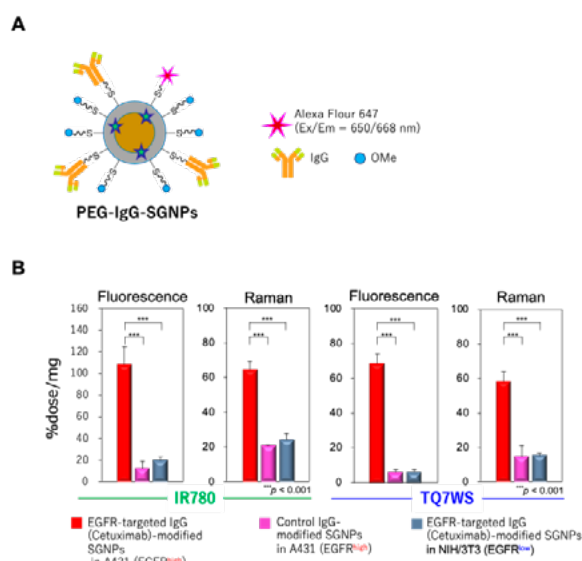


Fig. 5 (A) 標的化シリカ金ナノ粒子 (PEG-IgG-SGNPs) の模式図。 (B) セルソータによる細胞分離後の PEG-IgG-SGNPs の細胞内集積に関する蛍光強度及びラマンシグナル強度。

さらに、生体由来物質中での安定性を予測するため、FBS 中でのラマンスペクトル変化を測定した。その結果、IR780 導入粒子のみが蛍光ノイズを発生させたが、TQ7WS 導入粒子では蛍光ノイズは観察されなかったが、IR780 導入粒子よりも早期にラマンシグナルの減衰が観察された。以上の結果から、金ナノ粒子表面へのより高い結合性

を持つラマンレポーターの検討が今後の課題であるが、消光分子を用いたシリカ金ナノ粒子は高感度・低ノイズのラマンプローブとして、高精度ながん診断薬への応用が期待される。

2.3. 光音響イメージング剤への応用を目的とした金ナノロッドの開発

光音響イメージング剤への応用を目指し、 HAuCl_4 を出発原料として用い、CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) を用いることで金ナノロッドを高い再現性にて合成できることを FE-SEM にて確認した (Fig. 6)。現在、試薬の当量数、温度、反応時間などを種々検討することで、アスペクト比を有する金ナノロッドを調製し、吸光度や音響効果による熱の発生を検討して、NIR II 領域にて音響波を放出できる金ナノロッドの探索を検討中である。

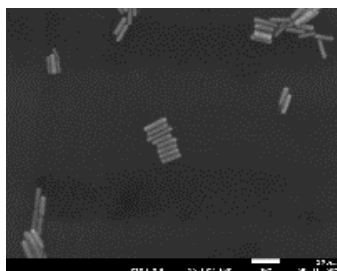


Fig. 6 シリカ金ナノロッドの FE-SEM 画像

3. 結論

本研究では、膵癌前癌病変の特異的診断を可能とする金ナノ粒子基盤の分子プローブを開発し、画像診断およびキッドバイオブシーへの応用の可能性を検討した。その結果、survivin や ADAM8 を標的としたナノボディや中分子の設計に成功し、さらに消光分子型のシリカ金ナノ粒子を用いた高感度・低ノイズのラマンプローブの作製により、EGFR 発現に応じた特異的なシグナル検出を達成した。これらの成果は、前癌病変の早期診断を目的とした新たながん診断薬の開発に

寄与するものと考えられる。また、本プローブは家族性膵癌など膵臓がんハイリスク群における前癌病変の早期発見にも応用が期待され、臨床的意義の高い診断技術として発展する可能性を有している。今後は各機能性分子の臨床検体などを対象とした有用性評価や、球状シリカ金ナノ粒子と金ナノロッドに同一のがん指向性分子を導入した一元的な膵癌前癌病変の診断薬へと展開していく予定である。

4. 参考文献

- [1] Gromisch C, Qadan M, Machado MA, et al; Pancreatic Adenocarcinoma: Unconventional Approaches for an Unconventional Disease, *Cancer Res*, **80**, (2020), 3179.
- [2] Nozaki I, Ishikawa N, Miyanari Y, et al; Borealin-Derived Peptides as Survivin-Targeting Cancer Imaging and Therapeutic Agents, *Bioconjug Chem*, **33**, (2022), 2149.
- [3] Ishikawa N, Fuchigami T, Mizoguchi T, et al; Synthesis and characterization of radioiodinated 3-phenethyl-2-indolinone derivatives for SPECT imaging of survivin in tumors, *Bioorg Med Chem*, **26**, (2018), 3111.
- [4] Luo K, Wang X, Zhang X, et al; The Value of Circulating Tumor Cells in the Prognosis and Treatment of Pancreatic Cancer, *Front Oncol*, **12**, (2022), 933645.
- [5] Tagawa A, Fuchigami T, Miyanari Y. Development of nanobodies against human Survivin, applicable to suppress cell proliferation., *bioRxiv*, doi: <https://doi.org/10.1101/2024.09.25>, (2024), 614874.
- [6] Fuchigami T, Chiga T, Yoshida S, et al;

- Synthesis and Characterization of Radiogallium-Labeled Cationic Amphiphilic Peptides as Tumor Imaging Agents., *Cancers*, **13**, (2021), 2388.
- [7] Fuchigami T, Shimo K, Hiwatashi T, , et al; Development of a Radiogallium-Labeled Heterodivalent Imaging Probe Targeting Negative Charges and Integrin on the Surface of Cancer Cell Membranes, *Mol Pharm*, **22**, (2025), 2053-2064.
- [8] Fuchigami T, Itagaki K, Ishikawa N, et al; Synthesis and evaluation of radioactive/ fluorescent peptide probes for imaging of legumain activity, *Bioorg Med Chem Lett*, **29**, (2019), 126629.
- [9] Yu JH, Steinberg I, Davis RM, et al; Noninvasive and Highly Multiplexed Five-Color Tumor Imaging of Multicore Near-Infrared Resonant Surface-Enhanced Raman Nanoparticles In Vivo, *ACS Nano*, **15**, (2021), 19956.
- 5. その他成果発表等**
- ・ Fuchigami T, Development of the Precision-designed Radiopharmaceuticals Depending on the Targeting Molecules, *RADIOISOTOPES*, **73**, (2024), 139.
 - ・ 海田 憲吾, 淵上剛志, 宗兼将之, 他; 膵臓がんセラノスティクス薬剤としての放射性ハロゲン標識抗 ADAM8 抗体の評価, 日本薬学会第 145 年会, 2025 年 3 月 (福岡).
 - ・ 淵上剛志, 豊田悠暉, 宗兼将之, 他; がん高精度診断を目的としたラマンプローブとしての新規シリカ金ナノ粒子の作製と評価, 日本薬学会第 145 年会, 2025 年 3 月 (福岡).
 - ・ 淵上剛志, 豊田悠暉, 宗兼将之, 他; 高感度がん診断を目的とした蛍光ノイズ抑制型金ナノ粒子ラマンプローブの開発, 日本薬学会北陸支部 第 136 回例会, 2024 年 11 月 (金沢).
 - ・ 越後拓亮, 宗兼将之, 淵上剛志, 他; RI 標識 RGD ペプチドの同所移植グリオブラストーマモデルでの評価, 第 64 回日本核医学会学術総会, 2024 年 11 月 (横浜).
 - ・ 淵上剛志, 豊田悠暉, 宗兼将之, 他; 高精度ながん診断を目的とした標的指向型金ナノ粒子ラマンプローブの開発, 第 41 回分析化学中部夏期セミナー, 2024 年 8 月 (富山).
 - ・ 須永隆太, 淵上剛志, 宗兼将之, 他; Survivin を標的としたがん核医学治療を目的とした放射性ハロゲン標識 Bor₆₅₋₇₅ 誘導体の開発, 第 21 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム (PPF2024), 2024 年 8 月 (東京).
 - ・ Chiga T, Fuchigami T, Matsuura A, et al; Synthesis and evaluation of a D-amino acid-based cationic amphiphilic peptide as a tumor imaging agent, The 12th China-Japan-Korea Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (CJKSRS2024), 2024 年 9 月 (金沢).
 - ・ 豊田悠暉, 淵上剛志, 宗兼将之, 他; 高精度がん診断のための蛍光ノイズを減弱させた金ナノ粒子型ラマンプローブ開発, 第 35 回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2023) , 2023 年 8 月 (札幌).
 - ・ 淵上剛志, 下昂平, 三代憲司, 他; がん細胞膜表面の負電荷およびインテグリンを標的としたヘテロ二価分子プローブの開発, 第 44 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 2023 年 9 月 (福岡).

6. 謝辞

した。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

本研究は、公益財団法人 島津科学技術振興財
団 2022 年度研究開発助成の支援の下で行われま

軟磁性体磁気異方性を用いたねじれ振子型磁力計の開発

産業技術総合研究所 研究員 不破 麻里亜 *

1. はじめに

1.1. 機械振動の量子計測

私が研究している量子情報処理分野では、原子、イオンや超伝導回路の量子力学的な性質を活かし、特定の計算を超高速化した量子計算機によって創薬や物流へ貢献したり、光の量子性を活かした量子暗号通信によって盗聴不可能な通信を実現したりすることを目指しています。このように、ある物質の量子力学的な性質を利用して新しい産業を創出するためには、まずその量子重ね合わせ状態を実現する必要があります。

そこで、未だ試みのない大きな物体の運動の量子重ね合わせ状態の実現を目指して、物体の運動を電磁波によって高精度に計測・制御する研究が進められています。例えば、重力波望遠鏡の技術を用いて、量子慣性計を実現できる可能性があります。このような背景の元は、本研究では、物性科学をこの量子計測分野と融合することで、世界で最も大きな固体の重心運動の量子性を機能化することを目指しています。

しかし物体が大きいほど、その量子性は物体を取り巻く環境からの外乱によって壊れやすくなるため、大きな物体の量子状態を実現するためには、エネルギーと角運動量が保存した孤立量子系であり、電磁波との相互作用により高精度に観測・制御可能な系が必要になります。

本研究提案時は、学習院大学松本研究室で低散逸化に成功している振子系を機械振動子として用い、軟磁性体の低散逸ねじれ振子の作製と実証を目指しておりました。磁気異方性のある強磁性体を用いると、磁気異方性によって磁性体が磁場の方向に回転するコンパス効果が起きます。こ

の回転角度を精密に計測することで、YIG 球に印可されている外部磁場を正確に計測できるようになります。そこで近年発達している低散逸振子作製技術およびマイクロ波計測技術を用いて、市販されているような従来コンパスを超える性能を持つ磁力計の開発を目指しました。

このような低散逸な系としてカンチレバーや MEMS などとは異なり、振動子を支える結合部分でのエネルギー散逸がない、浮上型機械振動子を用いることでねじれ振子より高感度な磁力計を実現できるのではないかと考えました。浮上型機械振動子の基礎研究は、米国のハーバード大学、カルフォルニア工科大学を初め、欧州、中国でも盛んに研究されており、数十億円相当の研究資金が投入されながら、今後も研究が加速すると予想されます。これらの大規模研究グループでは、浮上物体を剛体とみなし重心運動のみを対象としているため、これまで運動の量子状態を実現できた固体は、直径が 100 nm 程度のナノ粒子に限られていました。

1.2. 世界最大物体の運動の量子性観測へ

これらの研究では運動の量子状態を実現するためには、その重心運動を計測して制御するため補助的な電磁波が用いられます。この電磁波と運動の相互作用の強さは、量子的な零点振動の振幅に比例するため、質量 m が小さいほど相互作用が大きくなります。そのため質量が μg 以上、大きさが μm 以上の物体の運動の量子状態を生成するに当たっては、この相互作用の小ささが課題となっていました。

そこで私は、物性科学分野の知見を取り入れ、イットリウム鉄ガーネット (YIG) という磁性体

* (助成採択時) 学習院大学理学部 助教

の、集団スピン励起という内部スピン自由度を利用すること考えました。この集団スピン励起と電磁波の相互作用は、スピン数が多いほど強くなり、 $\sqrt{\text{質量}}$ に比例します。

そのため、重心運動と電磁波の間で、物体の大きさに依らない強い相互作用を実現できることを発見しました。これを利用することで、ナノ粒子より1兆倍重い世界最大固体の運動の量子状態を生成できることが理論的に示されています。

さらに YIG のスピン密度が高く、スピン寿命が長いという特長を活かすために、その集団スピン励起を様々な量子系と相互作用させる研究が進展しています。例えば、電気との相互作用を用いてダークマター探索を行うことができます。本研究では、このハイブリッド量子系に、重心運動という新たな力学的自由度を加えることで、磁性、重心運動が電磁波と互いに相互作用する新しい物理系を築き、より多機能な応用可能性を開拓します。

2. 軟磁性球ねじれ振り子の作成と評価

まず直径 $\phi = 0.5 \text{ mm}$ 、重さ 0.3 mg の YIG 球を光ファイバの先端に接着し、ねじれ振り子を作製しました。ここでは、線径 $150 \mu\text{m}$ 、長さ 8 mm のファイバを用い、共振周波数 f_0 は約 1200 Hz 、振動が励起されてから止まるまでの平均振動回数 Q として約 10^6 を目指しました。この際、磁気異方性が最大となる結晶軸に合わせて YIG 球をファイバに接着することで、YIG 球の異方軸を適切に合わせることができるようになります。

イットリウム鉄ガーネット (YIG) の集団スピン励起と同じエネルギーを持つマイクロ波を印加することにより、マイクロ波が吸収されて集団スピン励起が励起される強磁性共鳴が発生します。このときに吸収されるマイクロ波の周波数は、

強磁性共鳴周波数と呼ばれます。

そこで、作製したねじれ振り子に 240 mT の静磁場を印加しながら回転させ、強磁性共鳴周波数の変化を計測しました。YIG には結晶の対称性由来する磁気異方性が存在するため、静磁場を印加する角度に応じて強磁性共鳴周波数が変化することを確認できました。このような回転による磁気異方性の大きさから、ねじれ振り子が正しく作製されていることが示唆されます。

続いて、回転に対する強磁性共鳴周波数の変化が最大となる角度 (Fig. 1 における 110°) に静磁場を印加した上で、自作した磁気回路を用いて 1 mT の静磁場をさらに印加することにより、磁気異方性の影響でねじれ振り子を回転させました。これは、コンパスが地磁気によって回転する現象と同様です。

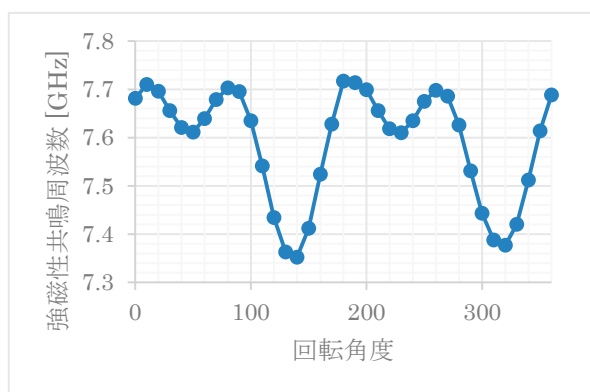


Fig. 1 YIG 球ねじれ振り子の磁気異方性

このときの強磁性共鳴周波数の変化をもとに、回転運動を減衰振動として観測しました (Fig. 2 参照)。この減衰振動の振動周期から、ねじれ振り子の共振周波数は $f_0 = 1184 \text{ Hz}$ 、平均振動回数は $Q \approx 20$ であることが明らかとなりました。

これにより、世界で初めて磁気異方性を利用した磁気-機械相互作用の読み出しに成功したと言えます。しかしながら YIG 球を支える振動部分におけるエネルギー散逸が支配的となっている

ため、今後はより低いエネルギー散逸が見込まれ、浮上型振動子を用いるように方針転換をしました。

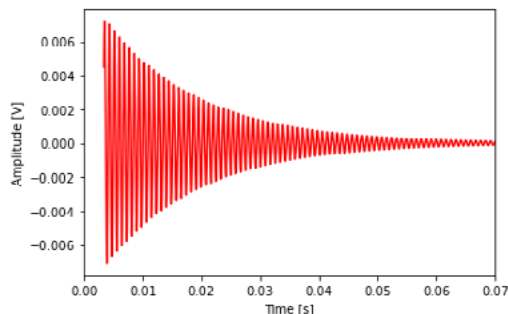


Fig. 2 減衰振動測定結果

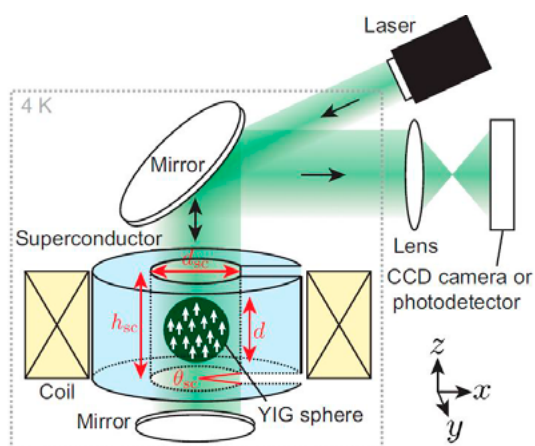


Fig. 3 YIG 球浮上実験系の概要図

3. YIG 球の磁気浮上

3.1. 浮上方法

これまで実験的に実現されてきた磁気浮上系は、永久磁石と超伝導バルクを用いたものが主流であり、YIG は外部磁場を印加して初めて永久磁石のように振る舞う軟磁性体の浮上方法は知られていませんでした。そこで、このように外部磁場を印加した超伝導バルクの穴の中に浮上させる方法を見出しました (Fig.3) ^[1]。ソレノイドコイルによって作られた一様磁場は、超伝導バルクによって外部磁場は集光され、超伝導体の穴の中心で極大値を取ります。YIG 球は強磁性体なので

磁場の極大値へと引力が働き、鉛直方向の安定化を図ることができます。

3.2. 実験結果

ニオブチタン超伝導線を 470 回巻いた自作小型超伝導コイルを作成し、そのボビンの中心にイットリウム系超伝導体である $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ (YBCO) を円柱状に切り抜き、さらに穴とスリットを開けたバルク体を固定します。その穴の中に YIG 球を固定し、超伝導コイルを用いて外部磁場を印可すると YIG 球を浮上させることができます。このようにして商用の直径 0.5 mm、質量 0.3 mg の YIG 球を実験的に浮上させることで世界で初めて YIG 球を浮上させることに成功しました ^[2]。

浮上した YIG 球の運動を読み出すために 532 nm のレーザー光を 5 mW 照射し、可視光反射率は 17 % 程度の YIG 球の反射光を焦点距離が $f = 250$ mm と長い望遠鏡を用いて検出しました。このようにして CCD カメラを用いて結像した YIG 球の像から、確かに球が浮上したことを視覚的に確かめました (Fig. 4)。

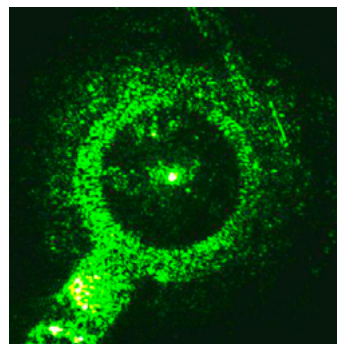


Fig. 4 浮上した YIG 球

3.3. エネルギー散逸計測

浮上した球の振動を定量的に読み出すために、望遠鏡で集光した光を光検出器で検出し、変位雑音換算スペクトラム (Fig.5) を測定しました。変位雑音換算スペクトラムでは、横軸が周波数、縦軸が変位を表しており、ピークが現れた周波数が

YIG 球の振動周波数を表しております。これより印加する外部磁場に比例して、機械振動子の共鳴周波数が変化し、動的にばね定数 k を変化させられることが分かりました。

浮上した YIG 球の振動振幅の減衰から、振動を励起してから止まるまでの平均振動回数が $Q \sim 10^3$ であることがわかりました。この原因として、一様磁場を印加する超伝導コイルのボビンにおける渦電柱損失が支配的であることも数値シミュレーションとの比較によってわかりました。渦電流損失は外部磁場 B に対して $B^{-0.5}$ に比例するため、外部磁場が強いほど Q 値は下がりますが、本実験でも同様の傾向を確認することができました。

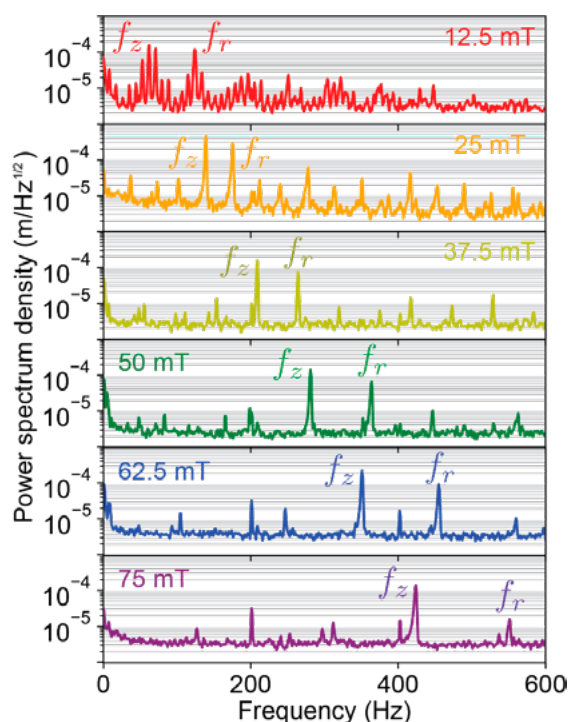


Fig. 5 浮上した YIG 球

4. 将来展望

本実験で観測された渦電流損失は、主に超伝導コイルの内径で生じていることが数値シミュレーションとの比較によってわかっております。

そこで超伝導コイルのボア径を 50 mm 以上に増やしたり、ヘルムホルツコイル構成を使用したり、ボビンにスリットを追加して渦電流の流れを緩和したりした上で、金属平面ステージを浮上系から 10 mm 以上離して配置することで、 $Q > 10^8$ を実現できることが期待されています。さらに、無酸素銅の代わりに融解シリカやサファイアなどの誘電材料を用いて治具を作製することで渦電流損失を大幅に軽減させられると期待されています。一方気体分子衝突によるエネルギー散逸は真空度と共に低下し、 10^{-4} Pa である本実験においては $Q > 10^{11}$ 以上になると予想されています。さらに YIG 球を直径 0.2 mm 以下のより小型なものへと変更することで、渦電流損失による $Q > 10^8$ 以上を実現できる可能性があります。

そこで本研究では今後、超伝導コイルのボビンのサイズと治具を改良することで平均振動数が $Q > 10^7$ を超える振動子を実現することを目指します^[2]。これにより将来的には浮上 YIG 球の運動の量子的な状態を実現し、高感度な磁力計による資源探索を行う第一歩を踏み出したいと考えております。

5. 参考文献

- [1] M. Fuwa, “Stable magnetic levitation of soft ferromagnets for macroscopic quantum mechanics”, Phys. Rev. A 108, 023523 (2023).
- [2] M. Fuwa, R. Sakagami, T. Tamegai, “Ferromagnetic levitation and harmonic trapping of a milligram-scale yttrium iron garnet sphere”, Phys. Rev. A 108, 063511 (2023).

6. その他成果発表等

- ・ M. Fuwa, “Ferromagnetic Levitation Yttrium Iron Garnet Spheres for Macroscopic Quantum Mechanics”, Schrodinger Cats: the quest to find

- the edge of the quantum world, Okinawa, Japan (Dec. 10, 2024).
- ・ 招待講演 M. Fuwa, Invited “Ferromagnetic Levitation of a Milligram-scale Yttrium Iron Garnet Sphere”, Quantum Engineering of Levitated Systems, Benasque, Spain (September, 2024)
 - ・ 不破麻里亜、「ミリグラムスケールのイットリウム鉄ガーネット球の磁気浮上と調和ポテンシャル内安定化」、日本物理学会第 78 回年次大会、17aB102-6、東北大学（川内キャンパス）（2023 年 9 月 17 日）
 - ・ 岩立大勇、中村遼、不破麻里亜、ポスター「イットリウム鉄ガーネットの回転磁気異方性によるスピン機械相互作用を用いたねじれ振子子の回転測定と評価」、日本物理学会第 78 回年次大会、16aPS-32、東北大学（川内キャンパス）（2023 年 9 月 16 日）

7. 謝辞

本研究は、島津科学技術振興財団および矢崎科学技術振興記念財団の助成金によって行われました。

高い時空間分解能をもつ神経活動の操作・記録法の開発と 脳領域間ネットワーク解析への応用

大阪公立大学大学院医学研究科 講師 宮脇 寛行

1. はじめに

ヒトを含む動物の脳はさまざまな刺激を受容し、「場所や時間といった状況の認識」や「嫌悪感や快感などの情動」などの生体にとって意味のある情報の抽出が並列的に行われる。次に、これらの並列的に処理された情報が統合されることで、認知・意思決定・記憶などの高次機能が実現されている^{[1][2]}。動物は経験を記憶し、それに基づいて同じ環境に置かれた場合であっても行動を変化させる。このことは、各脳領域での情報処理と脳領域横断的な情報統合のいずれか、あるいは両方が経験依存的に変化していることを示唆している^[3]。

これまで、多くの研究では、場所情報や情動など特定の情報について「その情報を処理している脳領域はどこか」あるいは「その情報は脳においてどのように表現されているか」という点に注力して進められてきた。その結果、脳では同時に活動する比較的少数のニューロン集団であるセル・アンサンブルの活動として情報が表現されることが明らかにされてきた^{[4][5]}。さらに、経験に応じてそれぞれの脳領域に存在するセル・アンサンブルの構成が変化することも報告されている^{[6][7]}。これらは、経験に応じて個々の脳領域での情報処理様式が変化することを示唆している。

その一方、単一の記憶に関するセル・アンサンブルは複数の脳領域に存在しており^[8]、経験に応じて異なる脳領域に存在するセル・アンサンブル間の同期活動が変化することが明らかにされている^{[9][10]}。このことは、経験依存的に脳領域横断

的な高次情報の統合様式が変化することを示唆している。

このように、記憶プロセスに応じて、個々の脳領域内の局所ネットワークと脳領域横断的な広域ネットワークの両方が変化することが示唆されている。しかし、これら異なる解剖学的スケールの変化の間にどのような関係があるのかについては不明な点が多い。そこで本研究では、脳領域横断的な同期活動を解析することで、局所ネットワークの動態と広域ネットワークの動態の関連を明らかにすることを目指した。さらに、脳領域間の情報伝達に選択的に介入するための技術開発を行った。

2. 材料と方法

本研究ではラット脳からの神経活動の記録とその解析を行った。実験は大阪市立大学・大阪公立大学動物実験委員会の承認を受け、アメリカ国立衛生研究所ガイドラインに従って行った。

2.1. 自由行動下ラットからの電気生理学記録

自由に行動しているラットの神経活動の解析には、既報のデータ^[10]を用いた。概略を示すと、イソフルラン麻酔下で大脳皮質前頭前野、扁桃体基底外側核、腹側海馬 CA1 領域へそれぞれ 64ch シリコン製微小電極を留置した。術後回復期を経て、電極からのシグナルを約 17 時間にわたって連続記録し、記録中に恐怖条件付け学習課題、記憶想起ならびに消去学習課題、消去学習の保持課題を行った (Fig. 1)。

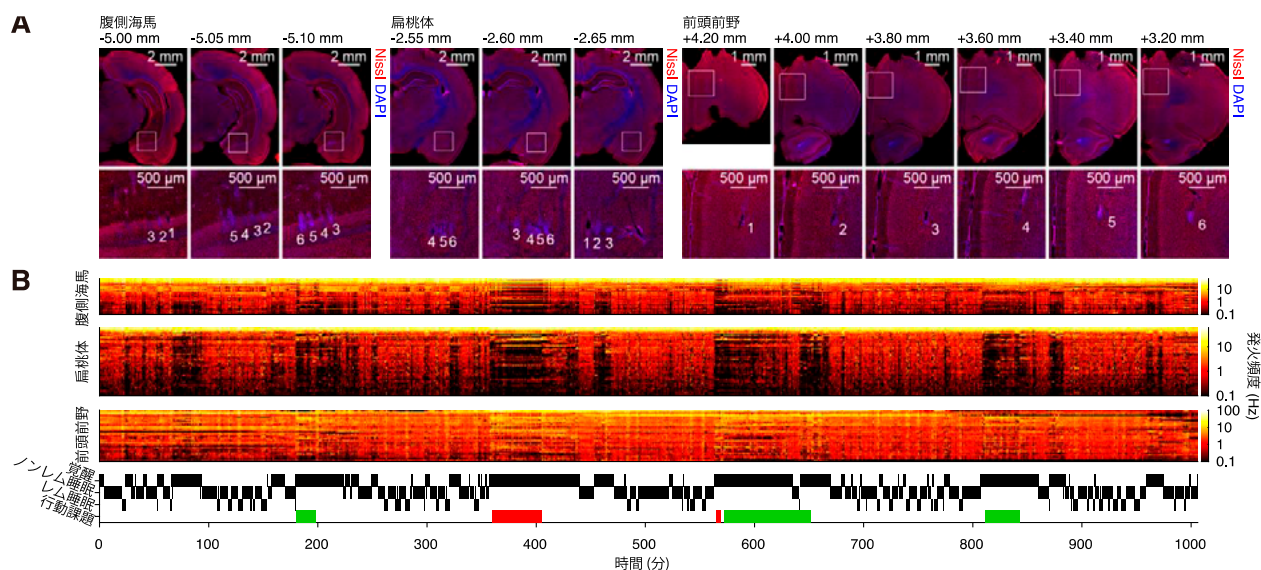


Fig. 1 3領域同時・大規模電気生理学記録

(A) 腹側海馬、扁桃体、前頭前野の記録電極の位置。(B) パネル A で示した電極から記録された神経活動 (上) と、睡眠・覚醒状態の履歴 (下)。行動課題を行っているタイミングを緑および赤の帯で示した。
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス 4.0(CC-BY)のもと、文献[10]より改変。

2.2. 麻酔下ラットからの電気生理学記録

イソフルラン麻酔下でアデノ随伴ウイルス・ベクター (AAV) を腹側海馬 CA1 領域に接種し、抑制性オプシンである JAWS^[11]を発現させた。その後 3～4 週間の発現期間を経て、ウレタン麻酔下で赤色レーザーダイオードに光ファイバーをカップリングさせたものを貼り付けたシリコン製微小電極を腹側海馬ならびに前頭前野へと刺入し、自発発火の測定ならびに光刺激による自発発火の抑制を検証した。

2.3. データ解析

各脳領域におけるセル・アンサンブルの同定ならびにセル・アンサンブルの脳領域横断的な同期活動の検出については、公開済みの MATLAB スクリプト^[10]を用いた。その他の解析については、カスタマイズの Python スクリプトを用いて行った。

3. 結果と考察

3.1. 脳領域横断的な同期活動と各脳領域内の神経活動パターンの安定性の関係

まず、広域ネットワークの活動と、各脳領域内のセル・アンサンブルの動態との関連について、恐怖条件付け記憶の消去学習をモデルとして解析を行った。具体的には、腹側海馬・扁桃体・大脳皮質前頭前野について個別に、消去学習時に活動するセル・アンサンブルを同定した。さらに、恐怖条件付け学習時や消去記憶の想起時についても同様にセル・アンサンブルを同定し、これらの類似性をコサイン類似度の絶対値によって評価した。その結果、恐怖条件付け学習時から消去学習の想起課題まで保持されているセル・アンサンブルが存在する一方で、消去学習後に消失するものや、消去学習によって新たに出現するセル・アンサンブルも存在していた。このようなセル・アンサンブル動態の多様性は今回解析したすべ

での領域において認められた。

哺乳類の睡眠はレム（REM: rapid eye movement）睡眠とノンレム睡眠という2つの状態に大別され、ノンレム睡眠中はセル・アンサンプルの脳領域横断的な同期活動が経験依存的に生じることが知られている^[10]。そこで、各脳領域で消去学習中に同定されたセル・アンサンプルのについて、ノンレム睡眠中に見られる脳領域横断的な同期活動を解析した。その結果、脳領域横断的に同期して活動するセル・アンサンプルのペアの数は学習前後で変化しないものの、同期活動を示すセル・アンサンプルのうち約4分の1において、学習前後で同期するパートナーが変化していることが明らかとなった。さらに、消去学習の想起時まで保持されていたセル・アンサンプルの割合は、脳領域横断的な同期活動に関与するアンサンプルのほうが関与しないものより高いことが判明した。

ノンレム睡眠中にはしばしばニューロン集団の同期した活動が生じ、これを反映して脳波上に高周波数オシレーションが観察される^[12]。興味深いことに、脳領域横断的な同期活動に関与し消去学習の想起時まで保持されるセル・アンサンプルは、それ以外のセル・アンサンプルに比べて脳波の高周波数オシレーションの際に活動する頻度が高い傾向が認められた。睡眠時の高周波数オシレーションは睡眠による記憶の定着に関与すると考えられている^{[13][14]}。このことを踏まえると、これらの結果は、脳波の高周波数オシレーションが生じる際の脳領域横断的なネットワークが、各脳領域のセル・アンサンプルを安定化させることで記憶の定着に寄与している可能性を示唆している。

3.2. ニューロンの睡眠状態選好性と広域ネットワーク活動の関係

前節でも述べた通り、哺乳類の睡眠はレム睡眠とノンレム睡眠という2つの状態に大別される。これら2つの睡眠状態ではニューロンの活動も異なっており、その結果として異なる脳波パターンが観察される。しかし、睡眠状態によるニューロンの活動変化が細胞間でどの程度まで多様であるのかは不明であった。そこでまず、海馬、扁桃体、前頭前野から記録された個々のニューロンについて、それぞれの細胞が睡眠状態に応じて発火活動をどのように変化させるかを解析した。その結果、いずれの脳領域においても半数以上のニューロンがレム睡眠の間により高い活動を示す一方で、20~30%程度のニューロンはノンレム睡眠中により高い活動を示すことが明らかとなった^[15]。

次に、レム睡眠選好性ニューロンとノンレム睡眠選好性ニューロンそれぞれについて、高周波数オシレーションによる活動制御を比較した。その結果、高周波数オシレーションが生じる際のニューロン活動の増加率が異なることが明らかとなった^[15]。さらに、高周波数オシレーションが生じている際の活動の同期性の強さを脳領域横断的なニューロン・ペアについて解析した結果、同じ睡眠状態選好性を示すニューロン同士のパアの方が、異なる睡眠状態選好性を示すニューロンのペアよりも強い同期性を示すことを見出した^[15]。これらのことから、ニューロンの同期活動は睡眠状態による活動制御と関連しており、それぞれが部分的に交わりながらも異なるネットワークを形成していることが示唆される。

さらに興味深いことに、強い情動をともなう経験の際には上述の関係が一時的に逆転し、異なる睡眠選好性を示すニューロンのペアの方が同じ

睡眠選好性を示すニューロンのペアよりも強い同期性を示すことが観察された^[15]。このことは、ゆるやかに分離されているネットワーク間の同期活動が一時的に増強されることが、記憶情報の獲得に重要な役割を担っている可能性を示唆している。

3.3. 広域ネットワーク活動への介入手法の開発

前節までに述べてきた結果はいずれも神経活動の観測に基づく相関関係をベースとした解析である。脳領域横断的な同期活動のもつ機能的意義をより明確に検証するためには、神経活動への介入、とくに脳領域横断的な広域ネットワークへの介入を行う必要がある。そこで、シリコン製多点電極を用いた電気生理学的記録と光遺伝学的手法による神経活動操作を組み合わせ、特定のタイミングで神経活動を選択的に抑制できる実験系を構築した。具体的には、まず AAV を用いて抑制性オプシンである JAWS^[11] を腹側海馬に導入した (Fig. 2 A)。次に、シリコン製多点電極に光ファイバーを貼り付けることで記録部位への光照射を可能にした電極を腹側海馬に留置した。これにより、多数の神経細胞の活動の記録と操作を同時に行うことが可能となった (Fig. 2 B)。

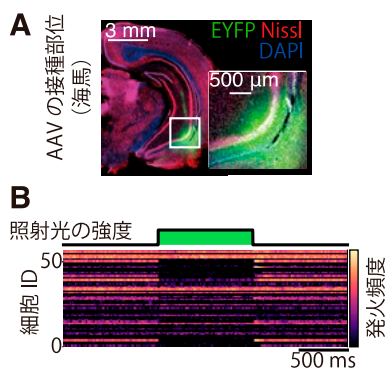


Fig. 2 神経活動への介入とその結果の実測 (A) AAV を用い腹側海馬に JAWS を導入した例。 (B) パネル A で示した個体において、光照射による自発発火抑制の例。

今回の検証は麻酔下動物を用いたものであるが、同様の手法は自由に行動している動物にも適用可能である。この手法を、これまで確立してきた自由行動動物からの大規模電気生理学記録と組み合わせることで、脳領域横断的な同期活動と広域ネットワーク変化の関係をより詳細に検討できると考えられる。

4. 結論と展望

本研究により、広域ネットワークの活動が個々の脳領域の局所ネットワークの活動に影響している可能性が明らかとなった。また、個々のニューロンの睡眠選好性の違いが広域ネットワーク活動にも影響している可能性を示唆する結果も得られた。これらは、解剖学的に異なるスケールの活動が互いに影響し合うことで、脳の複雑な情報処理が実現されていることを示唆している。

また、特定の脳領域の活動を特定のタイミングで制御し、その神経活動への影響を直接計測する手法を確立することにも成功した。今後は、この手法を用いることで、異なる解剖学的スケールの間にある相関関係を崩し、その影響を評価することによって広域ネットワークと局所ネットワークの動態がどのように制御され、脳機能が実現されているのかを明らかにしていきたい。

5. 参考文献

- [1] Mesulam, M.M.; From sensation to cognition. *Brain*, **121**, (1998), 1013-1052.
- [2] Miller, E.K. & Cohen, J.D.; An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu. Rev. Neurosci.*, **24**, (2001), 167-202.
- [3] Buonomano, D.V. & Merzenich, M.M.; Cortical plasticity: from synapses to maps. *Annu. Rev. Neurosci.*, **21**, (1998), 149-186.

- [4] Liu, X., Ramirez, S., Pang, P.T., Puryear, C.B., Govindarajan, A., Deisseroth, K. & Tonegawa, S.; Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*, **484**, (2012), 381-385.
- [5] Tonegawa, S., Liu, X., Ramirez, S. & Redondo, R.; Memory Engram Cells Have Come of Age. *Neuron*, **87**, (2015), 918-931.
- [6] Maboudi, K., Giri, B., Miyawaki, H., Kemere, C. & Diba, K.; Retuning of hippocampal representations during sleep. *Nature*, **629**, (2024), 630-638.
- [7] Ghandour, K., Ohkawa, N., Fung, C.C.A., Asai, H., Saitoh, Y., Takekawa, T., Okubo-Suzuki, R., Soya, S., Nishizono, H., Matsuo, M., Osanai, M., Sato, M., Ohkura, M., Nakai, J., Hayashi, Y., Sakurai, T., Kitamura, T., Fukai, T. & Inokuchi, K.; Orchestrated ensemble activities constitute a hippocampal memory engram. *Nat. Commun.*, **10**, (2019), 2637.
- [8] Roy, D.S., Park, Y.G., Kim, M.E., Zhang, Y., Ogawa, S.K., DiNapoli, N., Gu, X., Cho, J.H., Choi, H., Kamentsky, L., Martin, J., Mosto, O., Aida, T., Chung, K. & Tonegawa, S.; Brain-wide mapping reveals that engrams for a single memory are distributed across multiple brain regions. *Nat. Commun.*, **13**, (2022), 1799.
- [9] Mizuseki, K. & Miyawaki, H.; Fast network oscillations during non-REM sleep support memory consolidation. *Neurosci. Res.*, **189**, (2023), 3-12.
- [10] Miyawaki, H. & Mizuseki, K.; De novo inter-regional coactivations of preconfigured local ensembles support memory. *Nat. Commun.*, **13**, (2022), 1272.
- [11] Chuong, A.S., Miri, M.L., Busskamp, V., Matthews, G.A., Acker, L.C., Sorensen, A.T., Young, A., Klapoetke, N.C., Henninger, M.A., Kodandaramaiah, S.B., Ogawa, M., Ramanlal, S.B., Bandler, R.C., Allen, B.D., Forest, C.R., Chow, B.Y., Han, X., Lin, Y., Tye, K.M., Roska, B., Cardin, J.A. & Boyden, E.S.; Noninvasive optical inhibition with a red-shifted microbial rhodopsin. *Nat. Neurosci.*, **17**, (2014), 1123-1129.
- [12] Buzsáki, G.; Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus*, **25**, (2015), 1073-1188.
- [13] Klinzing, J.G., Niethard, N. & Born, J.; Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nat. Neurosci.*, **22**, (2019), 1598-1610.
- [14] Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S.I., Buzsáki, G. & Zugaro, M.B.; Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat. Neurosci.*, **12**, (2009), 1222-1223.
- [15] Kajiya, R., Miyawaki, H., Nakahara, H. & Mizuseki, K.; Firing Activities of REM- and NREM-Preferring Neurons Are Differently Modulated by Fast Network Oscillations and Behavior in the Hippocampus, Prelimbic Cortex, and Amygdala. *eNeuro*, **12**, (2025), 10.1523/ENEURO.0575-24.2025.

6. その他成果発表等

- ・ Miyawaki H. “Neuronal activity patterns during sleep shape those in subsequent wakefulness” APPW2025, Makuhari, Japan, Mar. 18th, 2025.

- ・ Kajiya R., Miyawaki H. & Mizuseki K. “NREM- and REM-preferring cells in the limbic system and prelimbic cortex are differently modulated by fast network oscillations and behaviors.” The 47th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Fukuoka, Japan, Jul 26th, 2024.
- ・ Miyawaki H. & Mizuseki K. “Inter-regional coactivation during fast network oscillations stabilizes local ensembles during sleep following fear extinction learning.” The 47th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Fukuoka, Japan, Jul 25th, 2024.
- ・ Kajiya R., Miyawaki H. & Mizuseki K. “Neural activity dynamics of NREM- and REM-preferring cells in the limbic system and prelimbic cortex.”, The 48th Annual Meeting of Japanese Society of Sleep Research, Yokohama, Japan, Jul 18th, 2024.
- ・ Kajiya, R., Miyawaki, H., Nakahara, H. & Mizuseki, K.; Firing Activities of REM- and NREM-Preferring Neurons Are Differently

Modulated by Fast Network Oscillations and Behavior in the Hippocampus, Prelimbic Cortex, and Amygdala. eNeuro, **12**, (2025), 10.1523/ENEURO.0575-24.2025.

7. 謝辞

本研究は大阪公立大学大学院医学研究科神経生理学教室（水関研究室）で行われました。本研究の推進にあたり、ご指導ご鞭撻をいただいた水関健司教授に深く感謝いたします。睡眠状態選好性の解析についてご尽力いただいた鍛冶谷里咲大学院生に深く感謝いたします。事務作業をはじめ多岐にわたりご支援いただいた荒巻知子研究補助員に感謝いたします。また、折りに触れ議論いただき、研究推進を支えていただいた水関研究室のメンバー各位に感謝いたします。本研究は島津科学技術振興財団の助成金を受けて行われました。温かいご支援をいただいた島津科学技術振興財団ならびに関係各位に深く感謝いたします。

近赤外線スペクトロスコピーと冠循環生理学指標による 冠動脈疾患予後予測モデルの構築

国立研究開発法人 国立循環器病研究センター心臓血管内科 医師 邑井 洸太

1. はじめに

本邦では、急速に進む高齢化や生活習慣の欧米化による影響のため、動脈硬化症に起因する狭心症などの冠動脈疾患患者数が増加傾向にある。心筋梗塞・致死的不整脈の原因にもなる病態であり、冠動脈疾患のリスク評価と有効な予防対策の確立が求められている。

冠動脈疾患の原因となる動脈硬化症に起因する冠動脈狭窄は、心筋虚血を引き起こし、心血管イベントリスクを高めると考えられてきた。近年、プレッシャーワイヤーを用いて測定される冠血流予備能比（FFR：fractional flow reserve）を始めとした冠循環生理学指標が登場し、精度の高い心筋虚血指標として国内外のガイドラインで推奨されている^{[1][2][3]}。しかしながら、FFRで心筋虚血を有さない（FFR>0.80）と判断された症例でも、5年間の観察期間における心血管イベント発生率は10%にも達している^[4]。本邦における安定冠動脈疾患症例4,031症例の予後評価試験では約3年間における心血管イベント発生率が2%であることから^[5]、冠動脈疾患患者の予後予測・将来の心事故りリスク評価において、より精度の高い手法の確立が求められている。

冠動脈狭窄は、血管内皮障害等の存在により脂質成分を含有し、将来の心筋梗塞等の心血管イベント発生原因となりうる^[6]。欧米からの報告では、FFRで心筋虚血を有さなくとも、近赤外線分光法による観察で脂質に富むプラーク性状が認められる病変では高率に心血管イベントを発症することが示された^[7]。筆者らは、冠動脈狭窄の脂質成分描出が可能な新しい血管内画像診断装置：近赤外線スペクトロスコピー（NIRS: near-infrared

spectroscopy）を用いた臨床研究を行った。その結果、心筋虚血陽性（FFR≤0.80）症例において、冠動脈病変内の脂質成分量は血管拡張薬に対する冠循環生理学指標の変化量：delta-FFR = Change in Pd/Pa に影響を及ぼす指標であることを世界で初めて報告した^[8]。Change in Pd/Pa に基づいた予後予測はプラークの不安定性も加味しており、従来のFFRのみでは層別化できない高リスク症例も同定しうる、高精度なアプローチとなる可能性があると考えられた。本研究課題の目的は、下記2つの研究計画によって新しい冠循環生理学指標 Change in Pd/Pa が心筋梗塞の原因となる脂質プラークの存在を同定し、予後予測に有用であることを明らかにすることである。

2. 研究（1） Change in Pd/Pa を用いた冠動脈病変内の脂質成分の同定能検証研究

2.1. 目的

心筋虚血陰性症例を含めた包括的な冠動脈疾患症例において、Change in Pd/Pa が脂質性プラーク同定に有用な指標かを検証する

2.2. 研究の対象と方法

2.2.1. 研究対象

2018年12月～2025年1月の期間に国立循環器病研究センターにおいて冠動脈造影検査が行われた冠動脈疾患症例のうち、FFRが測定され、かつ同病変をNIRSで観察し得た217病変を対象とした。

2.2.2. 研究方法

冠動脈造影上25～74%の狭窄度を有する病変に対して、術者の判断でFFRによる虚血評価が行われた。ガイディングカテーテルを挿入した後、プレッシャーワイヤーを可能な限り遠位部まで挿

入し、まず安静時の冠動脈圧／大動脈圧比 (Pd/Pa at rest) を測定した。その後、アデノシンまたはニコランジルを投与して最大冠拡張 (Hyperemia) を得た状態での冠動脈圧／大動脈圧比 (=FFR) を測定した。この際、Change in Pd/Pa は下記 Eq.(1)を用いて算出した^[8]。

$$\text{Change in Pd/Pa} = \text{Pd/Pa at rest} - \text{FFR} \quad \text{Eq.(1)}$$

続いて、NIRS-IVUS (intravascular ultrasound : 血管内超音波) カテーテル (Dualpro, ニプロ) を対象冠動脈の可能な限り遠位部まで挿入し、NIRS-IVUS 画像取得を行った。IVUS 評価項目として最小血管面積とプラーク面積率を計測した。NIRS 評価項目は対象血管全体における脂質性プラーク指標 (LCBIvessel) と、対象病変における脂質性プラーク指標 (maxLCBI4mm) とした。maxLCBI4mm > 400 の病変は Lipid-rich plaque と定義した。

2.2.3. 統計解析手法

各変数の相関は Pearson 検定を用いて評価した。Lipid-rich plaque を予測する因子は多変量ロジスティック回帰分析を用いて検討した。

2.3. 結果

2.3.1. 患者背景

患者背景を Table 1 に示す。平均年齢は 69.7 歳、81%が男性であった。高血圧症、脂質異常性、糖尿病を有する割合がそれぞれ 83%、91%、56%と高率であった。31%が心筋梗塞の既往を有していた。スタチンは 96%の症例で投与されており、LDL コレステロールの平均値は 73.4mg/dL であった。

Table 1 研究 (1) 患者背景

	Overall N=217
年齢, 歳	69.7±9.9
男性	81%
BMI, kg/m ²	24.6±3.3
高血圧	83%
脂質異常症	91%
糖尿病	56%
喫煙	12%
心筋梗塞既往	31%
透析	6%
左室駆出率, %	56.8±10.2
急性冠症候群	1%
アスピリン	96%
スタチン	96%
β 遮断薬	53%
LDL-C, mg/dL	73.4±22.9
HDL-C, mg/dL	48.0±13.9
HbA1c, %	6.53±0.85
eGFR, mL/min/1.73 m ²	60.2±20.4

2.3.2. 病変背景

対象病変の詳細を Table 2 に示す。対象となった病変は約半数が左前下行枝に存在していた。平均の径狭窄度は 48.3%、FFR の中央値は 0.87、Change in Pd/Pa の平均値は 0.09 であった。NIRS での評価において、平均の maxLCBI4mm は 442.7 であり、53%の病変で Lipid-rich plaque が同定された。

Table 2 研究 (1) 病変背景

	Overall N=217
血管造影所見	
病変分布	
左主幹部	4%
左前下行枝	70%
左回旋枝	10%
右冠動脈	17%
径狭窄度, %	52.7±12.0
病変長, mm	18.5±12.2
冠循環生理学的指標	
Pd/Pa at rest	0.90±0.06
FFR	0.75 (0.70–0.79)
Change in Pd/Pa	0.15±0.06
IVUS 指標	
最小血管面積, mm ²	2.75±1.70
プラーク面積率, %	79.8±7.5
NIRS 指標	
LCBIvessel	141.4±85.3
maxLCBI4mm	442.7±212.7
Lipid-rich plaque (maxLCBI4mm>400)	53%

2.3.3. FFR, Change in Pd/Pa と NIRS 指標

FFR と LCBIvessel、maxLCBI4mm との相関を Fig. 1、Fig. 2 に示す。FFR は NIRS 指標と有意な負の相関を示し、プラーク内の脂質成分蓄積は心筋虚血の誘発に影響を及ぼしうることが示された。

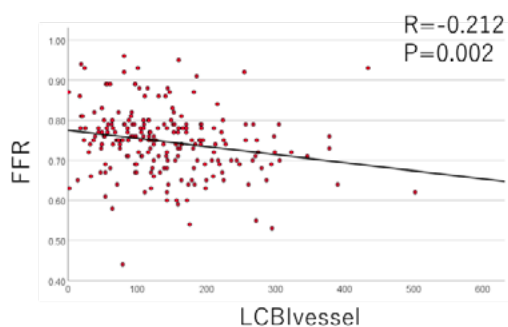


Fig. 1 FFR と LCBIvessel との相関

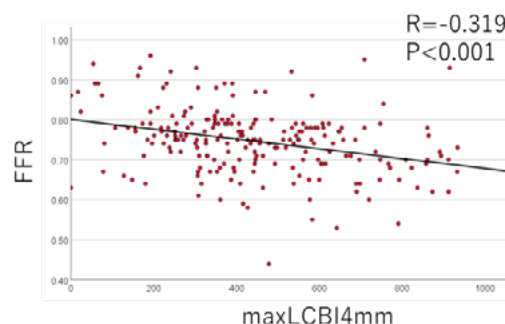


Fig. 2 FFR と maxLCBI4mm との相関

一方、Change in Pd/Pa は LCBIvessel、maxLCBI4mm のいずれとも有意な正の相関関係を示した。(Fig. 3、Fig. 4)

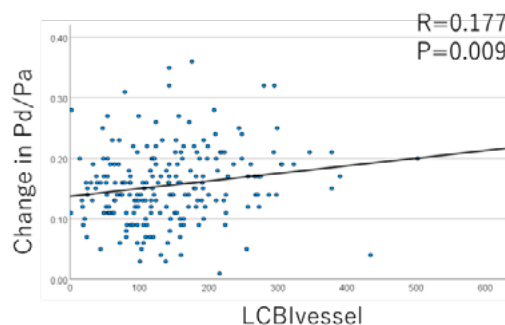


Fig. 3 Change in Pd/Pa と LCBIvessel との相関

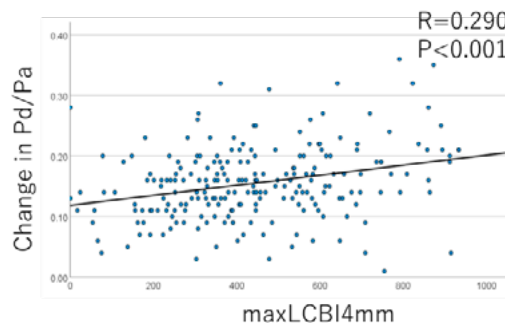


Fig. 4 Change in Pd/Pa と maxLCBI4mm との相関

2.3.4. Lipid-rich plaque の予測因子

さらに、多変量ロジスティック解析を用いて、Lipid-rich plaque を予測する因子を検討した。過去研究から Lipid-rich plaque の形成に影響を及ぼしうる因子で調整した結果、Change in Pd/Pa は独立した Lipid-rich plaque 予測因子であることが

示された。

Table 3 Lipid-rich plaque の予測因子

	Odds 比	95%信頼区間	P
径狭窄度	0.997	0.972-1.023	0.84
病変長	1.002	0.978-1.027	0.85
最小血管面積	0.941	0.759-1.166	0.84
プラーク面積率	1.058	1.009-1.108	0.02
Change in Pd/Pa (0.01 increase)	1.054	1.002-1.109	0.04

以上の結果から、Change in Pd/Pa は冠動脈病変における脂質性プラークの同定に有用な指標であることが示された。

3. 研究 (2) 心筋虚血陰性症例における Change in Pd/Pa を用いた心血管イベント発生予測能の解明研究

3.1. 目的

心筋虚血陰性症例を対象とし、FFR と Change in Pd/Pa による将来の心血管イベント発生予測モデルの構築を目指す

3.2. 研究の対象と方法

3.2.1. 研究対象

2012 年 1 月～2022 年 8 月の期間に国立循環器病研究センターにおいて冠動脈造影検査が行われた冠動脈疾患症例のうち、FFR が測定され、虚血陰性 (FFR>0.80) を示して血行再建が見送られた 899 症例を対象とした。

3.2.2. 研究方法

冠動脈造影検査や FFR、Change in Pd/Pa の測定方法は研究 (1) と同様の手法を用いた。同一症例から複数血管で FFR/Change in Pd/Pa を測定した場合は、Change in Pd/Pa が最大であった血管のデータのみを採用した。

主要評価項目は、FFR 測定後 7 年間における心血管死亡・対象病変における非致死性急性心筋梗塞・対象病変における虚血に基づく冠血行再建

(経皮的冠動脈形成術または冠動脈バイパス手術)の複合アウトカム (TLF: Target lesion failure) 発生率とした。

3.2.3. 統計解析手法

各イベント発生率は Kaplan-Meier 法によって算出した。連続変数の比較において、正規分布の場合は Student の T 検定、非正規分布の場合は Mann-Whitney の U 検定を使用した。カテゴリー変数の比較はカイ二乗検定を用いた。TLF 発生を予測する Change in Pd/Pa のカットオフ値は、ROC 曲線を用いて求めた。イベント発生率は Cox 比例ハザードモデルを用いて比較した。調整因子は年齢、性別、eGFR 値、径狭窄度とした。

3.3. 結果

3.3.1. 臨床イベントと患者背景

観察期間の中央値は 1,144 日であった。Kaplan-Meier 法で解析した結果、7 年間における TLF 発生率は 28 例 (6.7%) であった。内訳として、心血管死亡は発生せず、対象病変における非致死性急性冠症候群 (0.6%)、対象病変における虚血に基づく血行再建 (6.7%) であった。

対象患者全体と、TLF 発生の有無で比較した患者背景を Table 4 に示す。平均年齢は 72.7 歳、71%が男性であった。70%以上の症例が高血圧症、脂質異常症を有し、30%が心筋梗塞の既往を有していた。88%の症例がスタチンを内服しており、LDL コレステロールの平均値は 72.1mg/dL であった。TLF を発症した群では、アスピリン・ β 遮断薬の服用率が高かった。

Table 4 研究 (2) 患者背景

	Overall N=899	TLF+ n=28	TLF- n=871	P
年齢, 歳	72.7±9.9	70.7±9.7	72.7±9.9	0.29
男性	71%	79%	71%	0.36
BMI, kg/m ²	23.6±3.5	23.9±3.7	23.6±3.5	0.72
高血圧	77%	82%	77%	0.50
脂質異常症	75%	68%	75%	0.37
糖尿病	34%	32%	34%	0.85
喫煙	13%	11%	13%	0.68
心筋梗塞既往	30%	39%	29%	0.26
透析	6%	11%	5%	0.21
左室駆出率, %	57.5±12.0	56.7±13.7	57.5±11.9	0.72
急性冠症候群	13%	7%	13%	0.34
アスピリン	67%	93%	66%	0.003
スタチン	88%	96%	88%	0.16
β遮断薬	59%	82%	59%	0.01
LDL-C, mg/dL	72.1±24.4	69.4±20.9	72.2±24.5	0.56
HDL-C, mg/dL	51.2±16.2	48.9±22.3	51.3±16.0	0.59
HbA1c, %	6.19±0.87	6.04±0.83	6.19±0.87	0.36
eGFR, mL/min/1.73 m ²	58.4±19.6	54.0±19.9	58.6±19.6	0.23

3.3.2. CAG, FFR と Change in Pd/Pa

Table 5 に、カテーテル検査関連の結果を示す。対象冠動脈の分布には両群で有意差は認められず、左前下行枝病変が約 40~60% を占めていた。径狭窄度は TLF 発症群で有意に高値であった。Pd/Pa at rest は両群で同等であったが、FFR は TLF を発症した群で有意に低値であり、Change in Pd/Pa は有意に高値であった。

Table 5 研究 (2) 病変背景

	TLF+ n=28	TLF- n=871	P
血管造影所見			
病変分布			0.22
左主幹部	4%	5%	
左前下行枝	39%	58%	
左回旋枝	21%	14%	
右冠動脈	36%	24%	
最小血管径, mm	1.54±0.32	1.62±0.48	0.18
対照血管径, mm	3.21±0.64	3.07±0.78	0.33
径狭窄度, %	51.0±9.2	46.4±12.4	0.04
病変長, mm	14.2±5.4	14.2±8.1	0.98
冠循環生理学的指標			
Pd/Pa at rest	0.96±0.04	0.95±0.04	0.75
FFR	0.84 (0.82–0.87)	0.86 (0.83–0.90)	0.02
Change in Pd/Pa	0.11±0.03	0.09±0.04	0.002

3.3.3. Change in Pd/Pa と心血管イベント

Change in Pd/Pa 値による TLF 発生予測能を検証するため、ROC 曲線を作成した (Fig. 5)。C statistics 値は 0.67 であった。本曲線から、TLF 発生を予測する Change in Pd/Pa のカットオフ値は 0.10 (感度 68%、特異度 62%) と設定した。

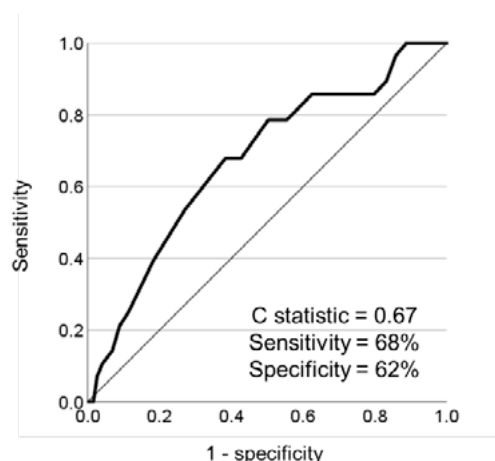


Fig. 5 ROC 曲線を用いた Change in Pd/Pa による TLF 予測能

このカットオフ値を用いて対象症例を Change in Pd/Pa 高値群 (≥ 0.10) と低値群 (< 0.10) へと層別化し、TLF 発生率の比較を行った。その結果、Change in Pd/Pa 高値群では低値群と比較し、高頻度で MACE を発生していた (10.5% vs. 3.5%, 調整ハザード比=2.94, 95%信頼区間=1.30-6.69, $P=0.01$, Fig. 6)。

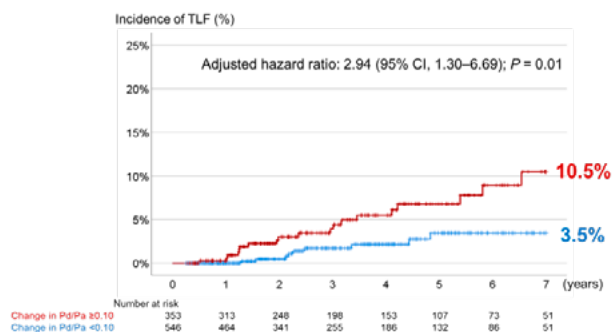


Fig. 6 TLF 発生率

3.3.4. FFR と Change in Pd/Pa

FFR 値に基づく対象症例の分布を Fig. 7 に示す。FFR が低値になるほど、Change in Pd/Pa ≥ 0.10 を示す症例の割合が増加する傾向にあった。FFR 値そのものも心血管イベントに関連していたため、FFR 値の中央値に基づいて対象症例を分割し、Change in Pd/Pa が TLF 発生に及ぼす影響を検討した。その結果、FFR が虚血陽性に近い $0.81 \leq \text{FFR} \leq 0.85$ の範囲にある病変において、Change in Pd/Pa ≥ 0.10 を示す群は高率に TLF を発生していることが明らかとなった。一方、 $0.86 \leq \text{FFR} \leq 1.02$ の範囲にある病変では Change in Pd/Pa によるリスク層別化は観察されなかった (Fig. 8)。

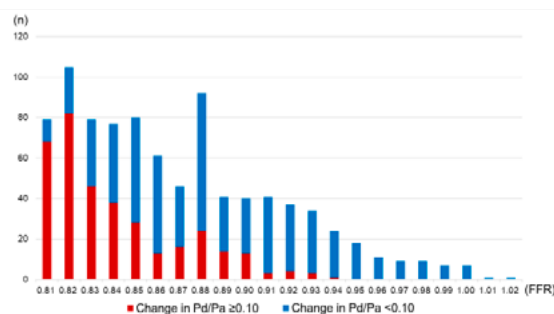


Fig. 7 FFR 値に基づく Change in Pd/Pa の分布

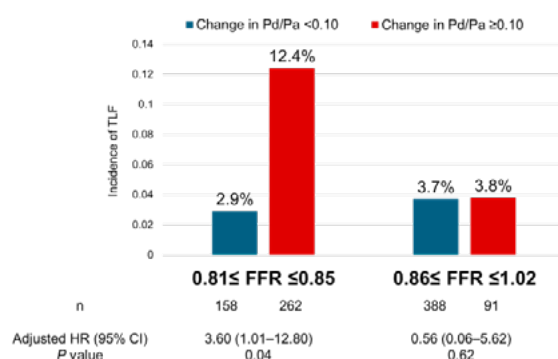


Fig. 8 FFR の中央値で層別化した Change in Pd/Pa と TLF 発生率

4. 考察

本研究の結果、Change in Pd/Pa は冠動脈病変内の脂質蓄積量を反映する指標であり、さらに、FFR に基づいて虚血陰性と判定され血行再建が行われなかった症例においても、将来の心血管イベント発症を予測する因子であることが示された。これにより、従来の FFR による虚血評価に Change in Pd/Pa を加味することで、心血管イベントのリスク層別化精度の向上が期待される。

心血管イベントの発症には主に2つの要因が関与していると考えられる。すなわち、(1)虚血を惹起するような解剖学的狭窄度の高度な病変、(2)急性冠症候群やプラーク進展を引き起こす脂質豊富な不安定プラークである。前者は FFR や核医学検査で、後者は冠動脈 CT や血管内画像診断 (IVUS, OCT, NIRS) で評価されてきた。これ

らは従来、別個の評価対象とされてきたが、近年では冠動脈 CT や近赤外線分光法 (NIRS) などの研究から、不安定プラークの存在が FFR 低下と独立に関連することが報告されている^{[9][10]}。

筆者らも、心筋虚血陽性 (FFR $\leq$ 0.80) 病変を対象とした過去の研究において、NIRS で評価された脂質含有量が FFR と負の相関を示し、さらに Change in Pd/Pa とは正の相関を示すことを報告している^[8]。本研究ではこれをさらに拡張し、虚血陰性例も含めた症例群においても、Change in Pd/Pa が脂質性プラークの蓄積を反映することが確認された。

不安定プラークが FFR 低下に寄与する機序としては、脂質に富む病変では血管内皮機能障害のために血管拡張薬への反応性が低下し、十分な血管拡張が得られない一方、健常部位は拡張するために相対的に病変部での狭窄が強調され、結果として冠動脈圧損失が増大し、FFR がさらに低下するという仮説がある^{[11][12]}。このような反応性の変化を反映する指標が Change in Pd/Pa であり、本研究で得られた「脂質豊富な病変において Change in Pd/Pa が大きくなる」という知見は、この仮説を支持するものである。

すなわち、FFR 測定に加えて Change in Pd/Pa を併用することで、解剖学的狭窄度とプラークの不安定性という両側面を同時に評価することが可能となる。さらに本研究では、FFR で虚血陰性とされた症例群においても、Change in Pd/Pa の評価により将来の心血管イベント発症リスクをより高精度に予測できる可能性が示された。たとえば FFR が 0.80 を超えて治療が見送られたとしても、Change in Pd/Pa が高値であれば脂質プラークを多く含むハイリスク病変の可能性がある、スタチンなどの薬物療法の強化による予防効果が期待される。

本研究の限界点としては、以下が挙げられる：

1. 単施設・後ろ向き研究である点、2. FFR 測定の実施が術者の裁量に委ねられており、選択バイアスが否定できない点

5. 今後の展望

今後は、FFR および Change in Pd/Pa の両指標によりハイリスクとされた症例を対象とした前向きランダム化比較試験を計画しており、薬物療法や予防的血行再建の有効性について検証する予定である。

6. 結語

Change in Pd/Pa は、冠動脈病変における脂質性プラークの蓄積を反映し、FFR で虚血陰性と判断された症例群においても将来の心血管イベント発症を予測しうる有用な指標であることが示された。

7. 参考文献

- [1] Nakamura M, Yaku H, Ako J, et al.; JCS/JSCVS 2018 Guideline on Revascularization of Stable Coronary Artery Disease, Circ J., **86** - 3, (2022), 477-588.
- [2] Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al.; 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization, Eur Heart J., **40** - 2, (2019), 87-165.
- [3] Lawton JS, Tamis-Holland JE, Bangalore S, et al.; 2021 ACC/AHA/SCAI Guideline for Coronary Artery Revascularization: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines, Circulation, **145** - 3, (2022), e18-e114.
- [4] Cho YK, Hwang J, Lee CH, et al.; Influence of

- Anatomical and Clinical Characteristics on Long-Term Prognosis of FFR-Guided Deferred Coronary Lesions, JACC Cardiovasc Interv., **13** - 16, (2020), 1907-1916.
- [5] Nakajima K, Nishimura T.; Cardiovascular events in Japan. Lessons from the J-ACCESS multicenter prognostic study using myocardial perfusion imaging, Circ J., **76** - 6, (2012), 1313-21.
- [6] Otsuka F, Joner M, Prati F, Virmani R, Narula J. Clinical classification of plaque morphology in coronary disease. Nat Rev Cardiol. 2014 Jul;11(7):379-89.
- [7] Kedhi E, Berta B, Roleder T, et al.; Thin-cap fibroatheroma predicts clinical events in diabetic patients with normal fractional flow reserve: the COMBINE OCT-FFR trial, Eur Heart J., **42** - 45, (2021), 4671-4679.
- [8] Murai K, Kataoka Y, Nakaoku Y, et al; The association between the extent of lipidic burden and delta-fractional flow reserve: analysis from coronary physiological and near-infrared spectroscopic measures, Cardiovasc Diagn Ther., **11** - 2, (2021), 362-372.
- [9] Park HB, Heo R, Ó Hartaigh B, et al.; Atherosclerotic plaque characteristics by CT angiography identify coronary lesions that cause ischemia: a direct comparison to fractional flow reserve, JACC Cardiovasc Imaging., **8** -1, (2015), 1-10.
- [10] Usui E, Yonetsu T, Kanaji Y, et al; Optical Coherence Tomography-Defined Plaque Vulnerability in Relation to Functional Stenosis Severity and Microvascular Dysfunction, JACC Cardiovasc Interv., **11** - 20, (2018), 2058-2068.
- [11] Lupi A, Buffon A, Finocchiaro ML, et al; Mechanisms of adenosine-induced epicardial coronary artery dilatation, Eur Heart J., **18** - 4, (1997), 614-7.
- [12] Lavi S, Bae JH, Rihal CS, et al.; Segmental coronary endothelial dysfunction in patients with minimal atherosclerosis is associated with necrotic core plaques, Heart, **95** - 18, (2009), 1525-30.

8. その他成果発表等

- ・ 邑井洸太, 片岡有, 岩井雄大ら, Predictive Ability of Delta-FFR for Future Cardiac Events at FFR-guided Deferred Coronary Lesions - Insights from the NCVC-DEFER Registry-, 第32回日本心血管インターベンション治療学会学術集会 Late Breaking Clinical Studies, 北海道札幌市, 2024年7月26日.
- ・ Murai K, Kataoka Y, Kiyoshige E, et al; Change in Pd/Pa: Clinical Implications for Predicting Future Cardiac Events at Deferred Coronary Lesions, Circ Cardiovasc Interv., **17** - 9, (2024), e013830.
- ・ 邑井洸太, 公益財団法人 福田記念医療技術振興財団 論文表彰事業, 2025年2月10日.

9. 謝辞

本研究に際して助成をいただきました公益財団法人島津科学技術振興財団ならびに関係者の方々に心より御礼申し上げます。

マイクロRNA検出紙の開発

東京大学大学院工学系研究科 准教授 森廣 邦彦 *

1. はじめに

悪性新生物（がん）は日本人の死亡原因の第一位であり、特に外科的切除が不可能な進行がんは予後不良の可能性が高い。がんの脅威に対抗するためには有効な治療法とともに、迅速・正確・簡便な診断技術の開発が不可欠である。しかし、既存のがんの診断は組織生検や内視鏡など侵襲的なものが多いため、患者への体力的・精神的負担が大きく技術的にも高い専門性が求められるといった問題点がある。そこで近年、侵襲性の低い疾病診断法としてリキッドバイオプシーが大いに注目を集めている^[1]。リキッドバイオプシーとは、患者の唾液や尿など液性検体に含まれるマーカー分子を検出することで疾病診断を行う技術であり、特にがんの早期発見に貢献すると期待され世界中で研究が進められている。しかし通常、早期がん患者の体液に含まれるマーカー分子は極めて微量であり、それらを高感度にセンシングして何らかのアウトプットを与えるデバイスの開発が強く求められている。

miRNA は短鎖（20-25 塩基長）の一本鎖ノンコーディングRNAであり、細胞死や分化など様々な生命現象に関わっていることが明らかにされつつある。特に、がん細胞や炎症細胞等で特定のmiRNA が異常発現していることが報告されており、病変細胞と正常細胞とを区別するマーカー分子として非常に魅力的である^[2]。しかし、miRNA は他の RNA 分子と比較して短鎖である上に細胞内濃度は最大でも数 nM であり^[3]、加えて RNA 結合タンパク質などの存在により miRNA に対するアクセシビリティはさらに減少していると考えられる。そのため、既存の技術では配列特異的

な miRNA の高感度検出や発現パターンの詳細な解析は非常に困難であった。即ち、がん患者の体液中に存在する miRNA を感度良く配列選択的に検出するためには、何らかの人工的なシステムによってアウトプットシグナルを増幅する必要があると考えられる。

本研究ではがん細胞内で発現している多種の miRNA を同時に検出するため、ターンオン型の DNA 蛍光プローブである ECHO プローブ^[4] (Fig. 1 A) と DNA ナノテクノロジーの 1 種であるハイブリダイゼーション連鎖反応 (HCR)^[5] (Fig. 1 B) を組み合わせた、高感度で拡張性の広いイメージング技術の開発に取り組んだ。

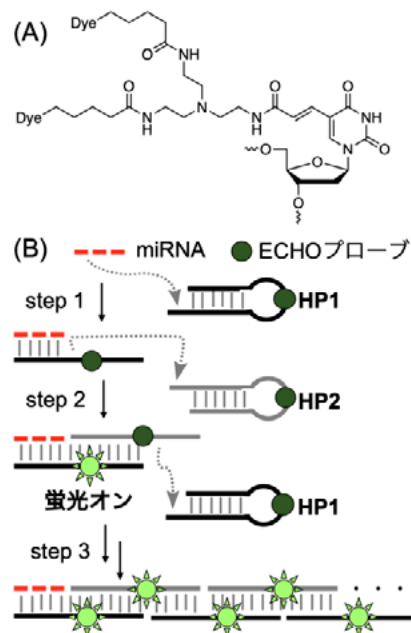


Fig. 1 本研究で開発するマイクロRNA検出技術の概要 (A) ECHO プローブの化学構造 (B) ECHO プローブと HCR を組み合わせた miRNA の蛍光検出

ECHO プローブの多色化と HCR のシグナル増幅効果により、複数の微量 miRNA を異なる蛍光

* (助成採択時) 東京大学大学院工学系研究科 助教

色によって同時に観察できると期待される。また、検出の場を紙媒体とすることで、pH 試験紙のような簡便に標的 miRNA の存在をセンシングできるツール開発につながることも期待できる。

2. 結果

2.1. ECHO-HCR プローブの設計と合成

HCR が細胞内 miRNA のイメージングに適用可能か検討するため、多くのがん細胞で過剰発現している miR-21 をトリガーとした HCR に用いるヘアピン型 DNA プローブセットを複数種設計・合成した。配列の設計には核酸高次構造の安定性予測に広く用いられているオンラインソフトウェア NUPACK^[6]を利用した。これらの配列は HCR の進行に最も大きな影響を与える一本鎖領域 (toehold と呼ばれる) の長さを種々変更している。また、ヌクレアーゼに対する抵抗性を高めるため、toehold 部分をホスホロチオエート化 (リン酸ジエステル結合の酸素原子の 1 つを硫黄原子に置換) している。まず、各プローブセットの HCR の進行効率をゲル電気泳動によって評価した (Fig. 2)。図中上部の 2 つの数字のうち、1 つ目の数字は HP1 の toehold の長さを、2 つ目の数字は HP2 の toehold の長さを表している。その結果、HP1 の toehold が 8 塩基長、HP2 の toehold が 6 塩基長の場合に最も選択的な HCR の進行が確認された。すなわち、miRNA を加えていない場合には HCR がほとんど進行せず、触媒量の miR-21 を加えた場合にのみ長鎖化が効率的に起こった。また、標的ではない miRNA を加えた場合は HCR が進行せず、標的である miR-21 に対する選択性が非常に高いことも明らかとなった。本実験の結果から今後の実験では全て、toehold が 8 および 6 塩基長の HP1 および HP2 を用いることとした。

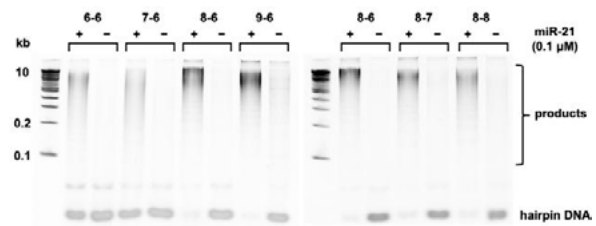


Fig. 2 HP1 および HP2 の toehold 長を様々に変えた際の miR-21 に応答した DNA 長鎖化のゲル電気泳動解析

2.2. 試験管内での miR-21 蛍光検出

続いて、非培養細胞系での miR-21 の蛍光検出を分光蛍光高度計を用いて実施した (Fig. 3)。HP1 と HP2 を同濃度 (各 1000 nM) で混合した緩衝液に対して様々な濃度の miR-21 を加え、一定時間経過後に蛍光スペクトルを測定した。その結果、加えた miR-21 の濃度の増加に伴い、ECHO-HCR プローブからの蛍光発光強度も増加することが明らかとなった。miR-21 濃度と蛍光発光強度には相関があり ($R^2 = 0.9899$)、優れた miRNA 検出システムであることが示された。

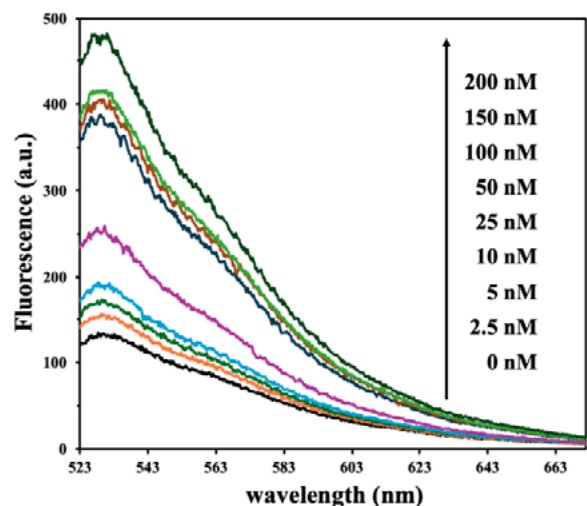


Fig. 3 HP1 および HP2 の混合溶液に miR-21 を加えた場合の蛍光発光強度の変化

2.3. 培養細胞系での miR-21 蛍光イメージング

さらに、生細胞中の miR-21 の蛍光イメージングを共焦点顕微鏡を用いて実施した (Fig. 4)。生

細胞へのプローブの導入法としてまずはリポフェクション法を検討した。まず、miR-21 を過剰発現していることが知られているヒト乳がん細胞 (MCF-7) に **HP1** と **HP2** をリポフェクションした結果、細胞内から ECHO プローブに由来する蛍光発光が観察された。この結果から、miR-21 をトリガーとした HCR が生きた細胞内でも進行することが分かった。一方、miR-21 をほとんど発現していないことがわかっている正常細胞 MCF-10A に同様に **HP1** と **HP2** をトランスフェクションした結果、HeLa 細胞と比較して蛍光発光強度の大幅な低下が見られ、HCR が miR-21 依存的に進行していることが示唆された。本実験から、HCR が細胞内の miR-21 濃度に依存して進行することが分かり、また選択的な miRNA 蛍光イメージングの可能を見出すことができた。

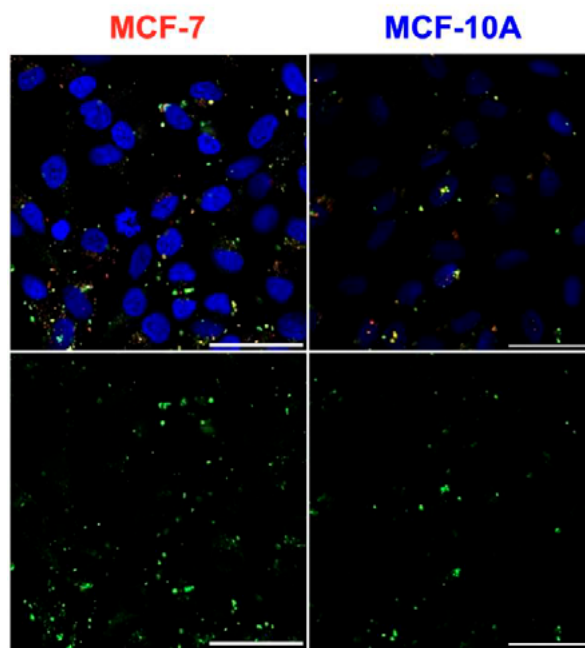


Fig. 4 共焦点顕微鏡による生細胞中の miR-21 の蛍光イメージング

2.4. Theragnostics としての応用

HCR によって生じる長鎖 DNA 二重鎖は細胞内で異物として認識され自然免疫を惹起するこ

とから^[7]、本技術は miR-21 を過剰発現しているがん細胞を選択的に検出かつ細胞死に導く、Theragnostics としての利用も期待される。実際に ECHO-HCR プローブを正常細胞である MCF-10A と HEK-293T およびがん細胞である MCF-7 と HeLa にトランスフェクションして細胞生存率を測定した結果、がん細胞選択的な細胞死が観察された (Fig. 5)。以上の結果から、本プローブが miRNA の検出のみならず、それに応答した細胞死を誘導する Theragnostics としても有用であることが分かった。

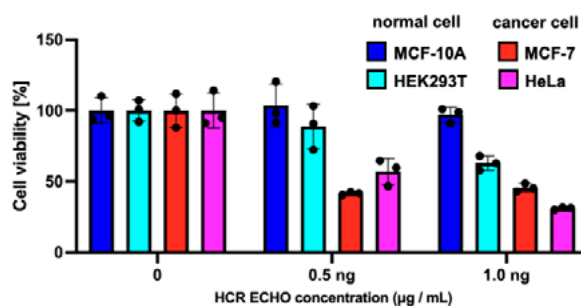


Fig. 5 各種細胞に ECHO-HCR プローブをトランスフェクションした際の細胞生存率

3. おわりに

本研究では、がんの早期発見および診断を目的としたターンオン型 DNA 蛍光プローブの開発に取り組んだ。開発した ECHO-HCR プローブは試験管内のみならず生細胞内でも効率的に標的 miRNA を蛍光検出できることが明らかとなった。また、検出のみならずがん細胞を選択的に細胞死に導く医薬としての機能も実証し、がんの診断と治療を同時に行う Theragnostics としての可能性を示すことができた。今後は蛍光発光の多色化による複数の miRNA の同時検出や、紙媒体による簡便ながん診断デバイスの開発を進めていく予定である。

4. 参考文献

- [1] M. Nikanjam, S. Kato, R. Kurzrock; Liquid

- biopsy: current technology and clinical applications, *J. Hematol. Oncol.*, **15**, (2022), 131.
- [2] G. A. Calin, C. M. Croce; MicroRNA signatures in human cancers, *Nat. Rev. Cancer*, **6**, (2006), 857.
- [3] S. Cermelli, A. Ruggieri, J. A. Marrero, G. N. Ioannou, L. Beretta; Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease, *PLoS One*, **6**, (2011), e23937.
- [4] A. Okamoto; ECHO probes: a concept of fluorescence control for practical nucleic acid sensing, *Chem. Soc. Rev.* **40**, (2011), 5815.
- [5] R. M. Dirks, N. A. Pierce; Triggered amplification by hybridization chain reaction, *PNAS*, **101**, (2004), 15275.
- [6] <https://www.nupack.org/>
- [7] K. Morihiro, H. Osumi, S. Morita, T. Hattori, M. Baba, N. Harada, R. Ohashi, A. Okamoto; Oncolytic hairpin DNA pair: Selective cytotoxic inducer through microRNA-triggered DNA self-assembly, *J. Am. Chem.*

Soc., **145**, (2023), 135.

5. その他成果発表等

- ・ 徐云嵩, 森廣邦彦, 岡本晃充, Simultaneous detection of multiple miRNAs in living cells, 日本化学会第 104 春季年会, 日本大学, 2024 年 3 月 18 日.
- ・ 徐云嵩, 森廣邦彦, 岡本晃充, Simultaneous detection of multiple miRNAs in cells through self-assembling on-off fluorescent DNA probes, XXV International Round Table on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 東京理科大学, 2024 年 9 月 4 日.

6. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金によるご支援のもと遂行したものであり、財団のご関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。また、東京大学大学院工学系研究科 岡本晃充教授に終始有益など指導をいただきました。この場を借りて感謝申し上げます。さらに、共同研究者として日夜実験に取り組んでくれた徐云嵩さんに深謝いたします。

超高速時間分解光電子分光法による 有機半導体単分子膜の電子状態・発光特性の相関評価

大阪大学大学院理学研究科 助教 山田 剛司

1. 研究の背景

有機半導体は光検出器、発光ダイオード、太陽電池などさまざまな光電子デバイスに幅広く応用されている。応用を志向した研究開発の現場では、固体試料の電気伝導度計測や発光測定に代表されるように、巨視的電気特性の計測を中心とした報告例が多くを占めており、微視的視点からのメカニズム解明が望まれている。本研究では有機半導体単分子膜をモデルとし、分子/電極接合界面における発光機構の解明-電子と正孔の動的挙動(キャリアダイナミクス)の解明-に焦点を当てた。励起状態から光子放出を伴う脱励起に至るまでの過程を、時間・空間次元において追跡し、構造・電子状態・光物性の三者の相関解明を目指した。

分子からの発光に関しては、液体・固体(結晶)や多層膜(膜厚数 10 nm 以上)を対象にした研究は多数の報告がある。しかしながら、電極表面との相互作用がもっとも顕著となる分子/電極接合界面からの発光については、観測例そのものが少なく、発光のメカニズムが十分に理解されていない。このため、微視的視点からの発光機構の理解が不可欠となっている。

具体的な課題として、下記二点を挙げた。

課題(1) 分子/電極接合界面において、両者の占有・非占有エネルギー準位はどのように接続され、発光にどのように関与するのか？

課題(2) 分子/電極接合界面に注入されたキャリア(電子・正孔)は時間・空間・エネルギーの各次元において、どのようなふるまいを経て発光(脱励起)に至るのか？

課題(1)に関し、有機 EL(Fig. 1 参照)では、有機半導体を輸送された電子・正孔が pn 接合界面で

結合することによって発光がおこる。有機半導体中の最低非占有準位(LUMO)は電子の通り道としての役割を果たす。したがって、分子ごとに異なる電子注入障壁(Fig. 1における右電極のフェルミ準位(E_F)と有機層 LUMO 準位とのエネルギー差)は、有機光デバイスの効率を決める鍵となる。

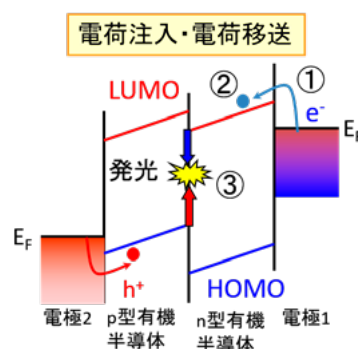


Fig. 1 有機 EL デバイスの原理 ①電極からの電荷注入と②電荷輸送を経て③有機薄膜界面で発光が起こる。この逆の過程が有機太陽電池に相当する。

しかしながら、各種有機分子において一般的に LUMO と記載されている数値の多くは実測値ではなく、紫外光電子分光(UPS、Fig. 2 参照)で求められた HOMO(最高占有準位)の値と、溶液や固体で測定された光吸収ギャップから推定された値が記載されていることも多い。この値は、実際に有機薄膜中を動く電子のエネルギーとは最大で 1 eV 近くも異なる。このため、分子/電極界面において、発光に関与する非占有準位について、精度の高い情報が求められているが、評価可能な手法が限られているため、得られている情報は少ない。

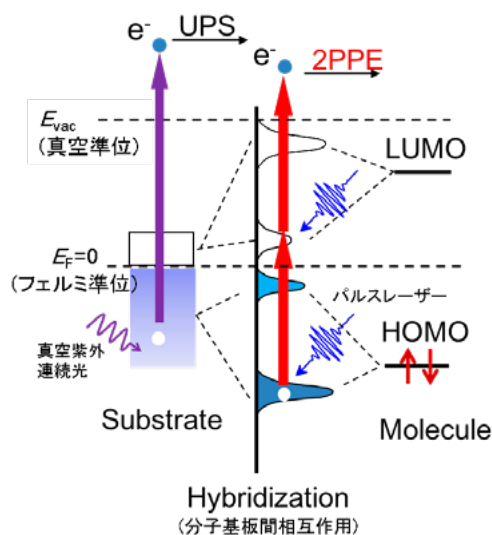


Fig. 2 (左)UPS (連続光源) による占有準位観測。
(右)表面 2PPE (パルス光源) における光励起過程と非占有準位の計測。

問(2)に関して、対象とする分子結晶そのものや、厚膜(膜厚数 10 nm 程度以上)からの発光に関しては比較的多くの情報が得られている。一方で、本研究で取り上げる、単分子膜(分子/電極界面)からの発光に関する研究はほとんど存在しない。一般的に、分子固体や厚膜で見られる発光はナノ秒～マイクロ秒程度の時間スケールで起こる。単分子膜は基板と接する界面に存在するため、基板の役割が大きく、失活(無放射過程)も含めた脱励起過程はフェムト秒時間スケールから始まる。このため、汎用の計測機器を用いた手法では、界面からの発光の全貌を捉えきれなかった。

本研究では有機半導体単分子膜をモデルとし、分子/電極接合界面における発光機構の解明～電子と正孔の動的挙動(キャリアダイナミクス)の解明～に焦点を当てた。励起状態から光子放出を伴う脱励起に至るまでの過程を、時間・空間次元において追跡し、構造・電子状態・光物性の三者の相関解明を目指した。

2. 実験と考察

本研究では、応募者が立ち上げたレーザー励起 2 光子光電子分光(2PPE)装置を改良して超薄膜からの発光分光と電子状態の同時計測を行った。2PPE(Fig. 2 右)では、光源に波長可変・フェムト秒超短パルスレーザーを用いる。これは、一つ目の光子で電子を非占有準位に励起し、二つ目の光子で真空準位上に励起された光電子の運動エネルギーを計測する。2PPE により、発光に参与する占有準位と非占有準位を同時に、フェルミ準位に対する絶対値として求めることができる。研究期間中には試料電圧印加用電源を高精度化し、レーザー光学系に良を加えることで、高分解能測定を実現した。

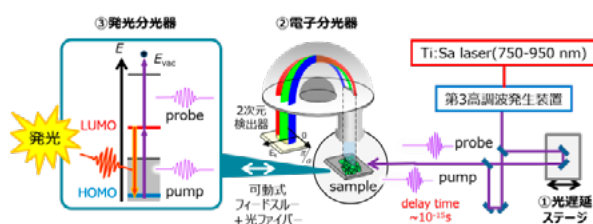


Fig. 3 ポンプ・プローブ法による時間分解発光・電子状態(2PPE)同時評価装置の構築。本研究では可動式フィードスルーを導入し、発光を効率よく捉えることに成功した。

具体的には、現有の 2PPE 装置を改良し、フェムト秒時間分解・発光/電子状態(2PPE)同時評価装置(Fig. 3)を構築した。既存の 2PPE 装置に可動式フィードスルーを導入し、微弱発光であっても効率よく検出できるよう装置改造を行った。特に、分子吸着構造に依存する脱励起過程を捉えることを目指し、薄膜の構造や、分子配向の違いによる発光機構の解明に着目して計測を行った。

Fig. 4 にはグラファイト基板上にペリレン単分子膜を作製し、蛍光発光の温度変化を測定した結果を示した。ペリレンの膜厚は単分子層であり、

構造を低速電子線回折で規定している。この結果、低温(Fig. 4 (b))でのみ規則構造が見られ、室温(Fig. 4 (c))では規則構造が無いことが分かった。なお、走査トンネル顕微鏡(STM)の結果からは、低温では分子が2量体を形成していることをすでに報告した。(Takashi Yamada, et al., The Journal of Physical Chemistry C 124, 12485 (2020).)

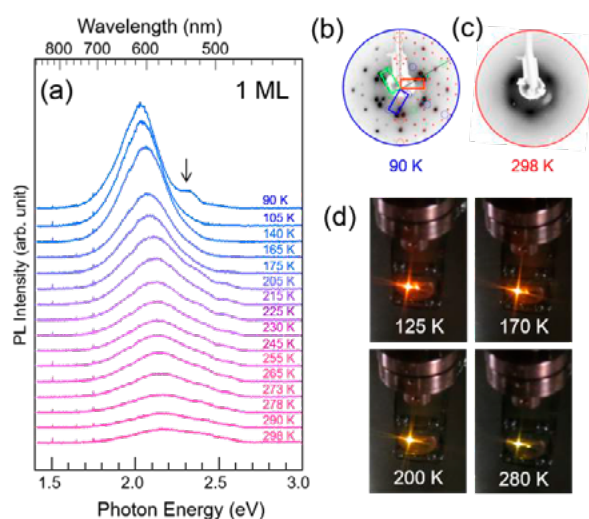


Fig. 4 (a)ペリレン薄膜からの発光の温度依存性と (b)(c)低速電子線回折で見た構造、(d)発光時の写真

低温では橙色の蛍光発光が見られ、室温では黄緑色の蛍光発光が観測されている。これらの薄膜発光色の差の原因は薄膜構造に起因するものと考えられる。室温付近では規則構造が見られず、単量体からの発光の寄与が大きい。一方で、低温では分子が2量体を形成し、励起2量体からの発光が観測されたと考えられる。同様の蛍光変化は結晶でも観測されている

この系における発光機構を明らかにするために、2光子光電子分光(2PPE)によって占有・非占有準位における電子状態を計測した。Fig. 5 は室温・低温で取得した、ペリレン単分子膜の 2PPE

スペクトルの波長依存性である。横軸は中間状態エネルギーに設定し、波長に依存せず一定のエネルギー位置に観測されるものが非占有準位(L0、L1、Ly、Lz、IPS等)、波長に依存して高エネルギー側に見かけ上シフトするピーク(H0)が占有準位由来となる。HOMO(最高占有準位)やLUMO(最低非占有準位)など、分子に由来するピークは室温・低温いずれでも出現している。

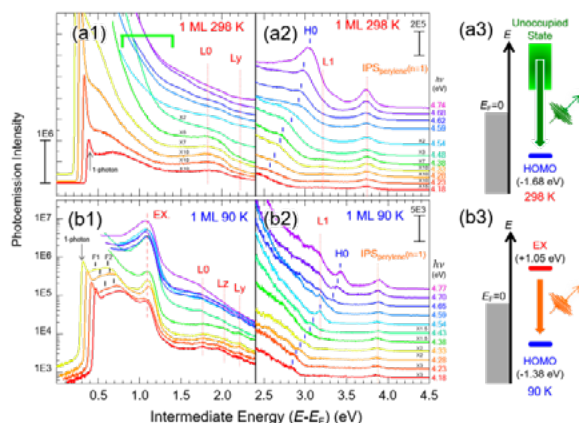


Fig. 5 光子光電子分光によるペリレン薄膜の電子状態計測の結果。L0、L1、H0 はそれぞれ LUMO、HOMO、HOMO + 1 準位を示し、IPS は鏡像準位を示す。低温でのみ観測された EX は励起子由来の非占有準位である。

IPS は鏡像準位を示している。固体表面近傍に電子が励起されると、基板側に鏡像電荷(正電荷)が生じた際と同等の静電引力を感じる。基板側にバンドギャップがある場合、励起準位は静電ポテンシャルに支えられた非占有準位として出現することがあり、これが鏡像準位の起源である。鏡像準位は2次元方向に自由電子的にふるまうが、表面平行方向には緩く束縛された準位として現れる。このような自由電子的振る舞いは、角度分解 2PPE の手法で計測されており、本研究もあらかじめ行った角度分解測定によって帰属を決めた。これら、分子由来・表面由来の準位以外に、低温でのみ、EX と表記したピークが表れていることが分かる(Fig. 5 (b1))。このピークが

出現しているときに橙色の蛍光発光が起こることから、EX が励起 2 量体(エキシマー)由来のピークであることが判明した。この準位に入った電子が HOMO に脱励起する過程で発光が起こっていると考えられる。(Fig. 5 (a3), Fig. 5(b3)) なお、室温基板では EX に相当するピークは見られておらず、代わりに Fig. 5 (a1) の 1.0 eV 付近になだらかに広がったピークが観測されて、これが発光に由来する非占有準位と考えられる。

続いて、観測された各準位についてポンプ・プローブ時間分解分光を行った結果を示す。2 PPE はパルス光源を使用しているが、Fig. 3 のように、光学遅延光路を設け、遅延ステージを掃引することで時間分解分光への展開が可能である。具体的には、Fig. 6 のように掃引時間ごとにスペクトルを取得して各ピークの強度トレースを取り (Fig. 6 (b-e))、ピークフィッティングにより寿命を算出した。

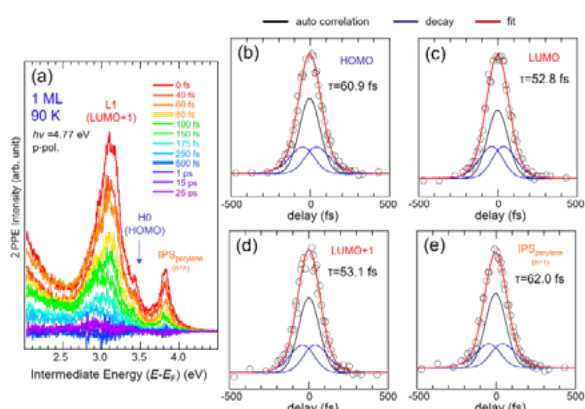


Fig. 6 ポンプ・プローブ法による時間分解発光・電子状態(2PPE)同時評価装置の構築本研究では可動式フィードスルーを購入し、発光を効率よく捉えることに成功した。

得られたパルス幅を用いて LUMO、LUMO + 1、鏡像準位に励起された電子の寿命を求めたところ、いずれも 50-60 fs 程度と決定された。これらは励起された電荷が超高速過程を経てすぐに失活することを意味している。具体的には、基板

由来と分子の波動関数が互いに混成し、正孔や電子が即座に散乱されることが考えられる。これら、分子由来の準位や、鏡像準位の寿命は金属表面上に吸着した分子でも数多く報告されてきた。

一方、EX 準位に由来するピーク強度の時間トレースを Fig. 7 (a) に示した。HOMO、LUMO などの分子由来の準位と明らかに異なり、ステージ掃引時間に対するスペクトルの時間変化が見られない。Fig. 7 (b) においても同様で、ある程度の強度のふらつきはあるが Fig. 6 (b-e) における挙動とは全く異なることが分かる。これは EX 準位に励起された電子が非常に長寿命であることを意味している。レーザーのパルス幅はフェムト秒オーダーであるが、繰り返し周波数は 78 MHz に設定され、時間に換算すると 12.8 ns に相当する。Fig. 7 (a) では、250 ps までに減衰がほとんど見られていないことが分かったが、次のパルス対が到達するまでの時間内での減衰は考えにくい。したがって、ナノ秒程度の寿命が予想される。寿命が長くなり、発光が目視で確認されたものと考えられる。ここで、表面における分子の配置が発光の有無に非常に重要な意味を持つと考えられる。低温では、分子が表面上に直立し、基板の電子状態と混成していないことが分かっている。分子は基板の電子状態から孤立した状態にあり、励起状態の寿命が延びたため、失活過程として発光に至るチャンネルが開かれたものと考えられる。

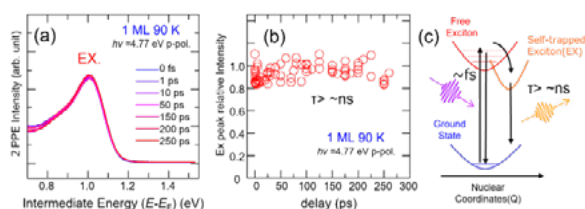


Fig. 7 (a) EX ピークの時間分解 2 PPE スペクトルと (b) 強度トレース, (c) 光にかかわるエネルギー準位の時間描像。

ここまでは、すべてペリレン薄膜の例を挙げた。ペリレン以外にも、芳香族炭化水素は発光特性に優れたものが多く、発光デバイス材料としての期待が高い物質も多い。一方で、分子量が比較的小さい芳香族分子に関する研究例は表面科学分野では極端に少ない。これは、超高真空条件で扱うには蒸気圧が高く($10^{-4} \sim 10^{-5}$ Pa)、扱いにくいいためである。

そこで、走査トンネル顕微鏡(STM)/低速電子線回折(LEED)を用いて吸着構造を明らかにし、特に基板-分子間相互作用/分子間相互作用に焦点を当て、Fig. 8 に示した分子群に対して構造を調べた。ここでは、Fig. 8①方向に沿ったアセン同士の比較を行うと同時に、②アセン系とフェナセン系、ならびに2次元系分子を検討対象とした。ベンゼンとナフタレンは蒸気圧が高いため、試験管に入れ、凍結脱気をしたのちパルスドーズを用いて蒸着した。その他の多環芳香族炭化水素は、蒸気圧に応じて試験管または蒸着源に入れ、ロードロックチャンバーから分子を導入することによって、超高真空の汚染を防いで蒸着を行った。

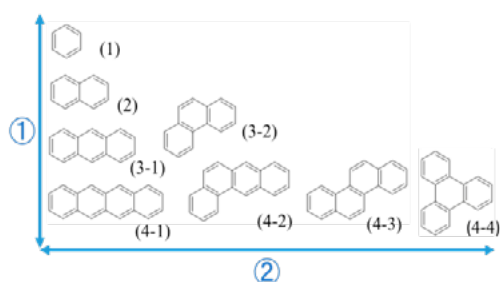


Fig. 8 分子間相互作用ならびに分子-基板間相互作用の大きさを検討した分子群。①方向に沿ったアセン同士の比較 ②アセン系とフェナセン系における比較を行っている。物質名は下記の通り。(1) Benzene, (2) Naphthalene [2], (3-1) Anthracene, (3-2) Phenanthrene, (4-1) Tetracene, (4-2) Benz[a]anthracene (4-3) Chrysene, (4-4) Triphenylene

Fig. 8 の対象分子のうち、代表例としてトリフェニレンの STM 像/LEED 像を Fig. 9 に示す。STM 像中の輝点 1 つ(楕円)が 1 分子に相当する。LEED 像には単位格子を示した。解析の結果、STM、LEED それぞれで求められた格子定数が一致しており、基板に対して一定の周期構造(point-on-line 構造)を持つことが判明した。その他の芳香族炭化水素についても同様に STM 像/LEED 像を取得し、1 分子あたりが占める面積を求めた。それぞれを比較した結果、占有面積には 2 つの傾向があった。Fig. 8①方向に沿ったアセン同士で比較したとき、ベンゼン環の増加に伴って実験値を計算によって求められるファンデルワールス面積との差が大きくなる。Fig. 8②方向に沿った構造異性体を比較したとき、アセン系分子の方がフェナセン系分子よりも占有面積が大きくなる。それぞれ、C-H 結合の反発と芳香族性の強さに起因していると考えられる。

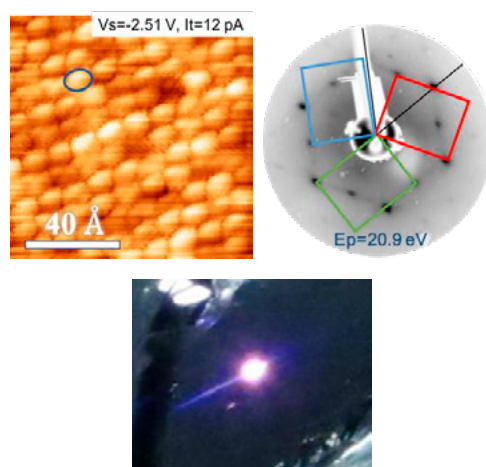


Fig. 9 Triphenylene 分子の STM 像、LEED 像、分子薄膜からの発光をとらえたもの。

STM、LEED の結果より、多くの芳香族炭化水素は基板に対して寝た構造を取ることが分かった。一方で、トリフェニレン(Fig. 8 (4-4))のみ基板に対して立ちあがった構造をしていた。この系について 2PPE を用いて非占有準位の電子状態を観測した。測定中の超薄膜からは基板への無輻射

失活が抑えられたことに起因する蛍光が観測された。単分子膜レベルで発光が起こった理由として、基板との π 電子相互作用が弱く励起後の失活が遅いこと、加えて分子間相互作用が強く、分子が基板に対して分子面を立てた配向を取るためであることが分かった。超薄膜から発光がおこる条件は、分子-基板間相互作用が弱いこと、吸着分子間相互作用が強いことが重要であることが明らかにになり、基板に接する分子の配向が発光特性に重要な役割を果たしていることが判明した。

3. 結論

本研究では-有機単分子膜発光における構造・電子状態・光物性の三者相関の解明-を志向した研究を行った。具体的には、芳香族炭化水素分子をターゲット分子として用い、構造の規定をナノスケールで行った。分子膜の中には光励起により、強い蛍光発光を示す薄膜が存在することも判明した。この系について時間分解光電子分光を行い、発光のメカニズムについて構造情報と合わせた議論を行った。

4. その他成果発表等

Natsumi Murase, Hiroyuki S. Kato, Megumi Akai-Kasaya, Takashi Yamada Real-space structural characterization of benzene monolayer on graphite (0001) surface

investigated by low-temperature scanning tunneling microscopy, Chemical Physics Letters 830, 140815 (2023).

- Takashi Yamada, Takenori Tawa, Natsumi Murase, Hiroyuki S. Kato, Formation and structural characterization of two-dimensional wetting water layer on graphite (0001), The Journal of Chemical Physics 157, 074702 (2022).
- Takashi Yamada, Photoluminescence properties and excited state dynamics of monolayer perylene on graphite (0001), Physical Review B 108, 205422 (2023).
- Shuto Nojima, Natsumi Murase, DaeGwi Kim, Hiroyuki S. Kato, Megumi Akai-Kasaya, Takashi Yamada, Masahiro Shibuta, Probing of Photocarrier Electrons and Excitons at an Organic Monolayer Film Studied by Two-Photon Photoemission Spectroscopy, The Journal of Physical Chemistry C, 128, 2043–2051 (2024).

5. 謝辞

本研究の一部は島津科学技術振興財団の助成金により行われました。ここに深く感謝申し上げます。

アザアントラセンの特性を活かした有機小分子蛍光プローブ開発

就実大学薬学部 講師 山本 浩司

1. はじめに

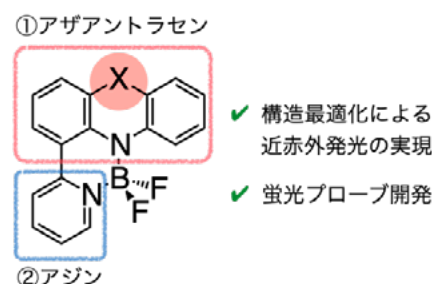
細胞内における生体分子の挙動や機能を直接可視化する蛍光プローブが注目を集めている。これまでのプローブ群の検出原理として、エネルギー移動や蛍光消光がよく利用されている。これらと異なる検出原理を用いた蛍光色素には、「これまで見えなかった生体現象を可視化できる」可能性があり、新現象の発見が期待される。また、近赤外光 (650-900 nm) は生体透過率が高いことから、近赤外蛍光色素は、生体組織を非侵襲的にリアルタイムで観察できる生体プローブに適する。したがって、これらの要請を満たす蛍光色素の開発は、生命現象の解析や病態要因の解明に貢献する。

蛍光色素として、BODIPY などに代表されるホウ素錯体に着目した^{[1][2][3][4][5]}。ホウ素錯体は、高い蛍光量子収率を示し、代表的な蛍光色素として注目を集めている。カルバゾールの1位にピリジンが置換したホウ素錯体 **1a** は高い蛍光量子収率と大きなストークスシフトを示すことから、新たな蛍光色素として関心がもたれている^[6]。

1a が2つ連結したような錯体の合成と物性の報告もされているが、これまでに **1a** のカルバゾール部位やピリジン部位を種々の芳香環で置き換えたBF₂錯体を合成し、各部位の構造が物性に与える効果を系統的に検討した例はない。

カルバゾールはアザアントラセン、ピリジンはアジンの一種であることから、**1a** はアザアントラセン-アジン BF₂ 錯体の一種とみなすことができる。本研究の目的は、新たな蛍光色素群であるアザアントラセン-アジン BF₂ 錯体の構造化学を解明するとともに、酸化イベントや粘度変

化などに応答する近赤外蛍光色素を開発することである (Fig. 1)。

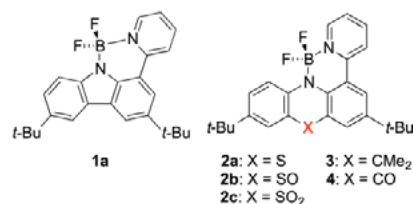
Fig. 1 アザアントラセン-アジン BF₂ 錯体の構造

アザアントラセンとアジンの組み合わせにより色素の電子状態を制御し、各誘導体の UV-vis, 蛍光, 蛍光量子収率, Stokes シフトの大小といった光学特性を評価し、アザアントラセン-アジン BF₂ 錯体の構造と物性の相関を解明することを目指した。また、アザアントラセンの中央六員環の反応性および動的挙動を検出原理とするプローブ分子を探索した。

2. 結果と考察

2.1. 化合物の合成

まず、**1a** のカルバゾール部位を種々のアザアントラセン、すなわち、フェノチアジン、ジヒドロアクリジン、アクリドンに置き換えた BF₂ 錯体 **2a**, **3**, **4** に加えて、**2a** の硫黄原子を酸化したモノオキシド **2b**, ジオキシド **2c** を合成した (Fig. 2)。

Fig. 2 BF₂ 錯体 1-4 の構造

錯体 **2**–**4** の合成を以下に示す (Fig. 3).

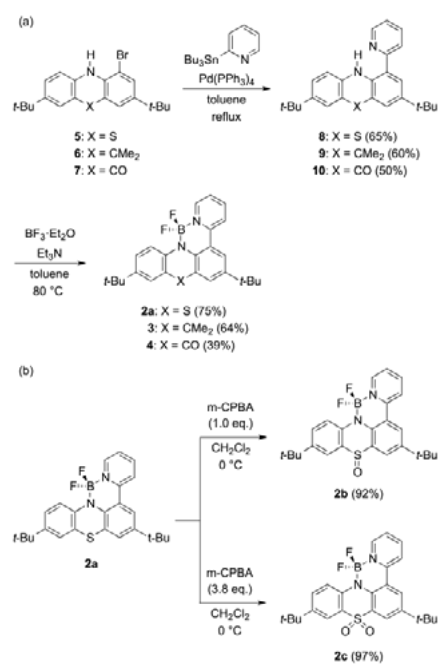


Fig. 3 BF₂ 錯体 **2**–**4** の合成

モノブromo体 **5**–**7** に 2- (トリブチルスタニル) ピリジン を 0 価パラジウム触媒存在下作用させることで対応する配位子 **8**–**10** を合成し、さらにホウ素化することで BF₂ 錯体 **2a**, **3**, **4** を得た。さらに、**2a** に対して 1.0 当量の *m*-CPBA を作用させることで、**2b** を得た。また、**2a** に対して過剰量の *m*-CPBA を作用させることで、**2c** を得た。

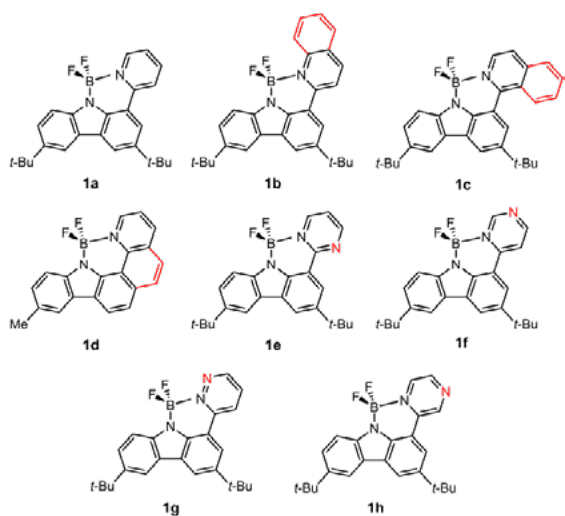


Fig. 4 BF₂ 錯体 **1a**–**1h** の構造

次に、**1a** のピリジン部位を種々のアジン環に置き換えた錯体、すなわち、**1a** のピリジン環にベンゼン環が縮環した **1b** (キノリン), **1c** (イソキノリン), ピリジン環とカルバゾールとの間にベンゼン環が縮環した **1d**, また、ピリジン環をピリミジン環に置き換えた **1e**, **1f**, ピリダジン環に置き換えた **1g**, ピラジン環に置き換えた **1h** を合成した (Fig. 4).

錯体 **1b**, **1c** および **1e**–**1h** は共通の中間体であるボロン酸エステル **11** から合成した (Fig. 5).

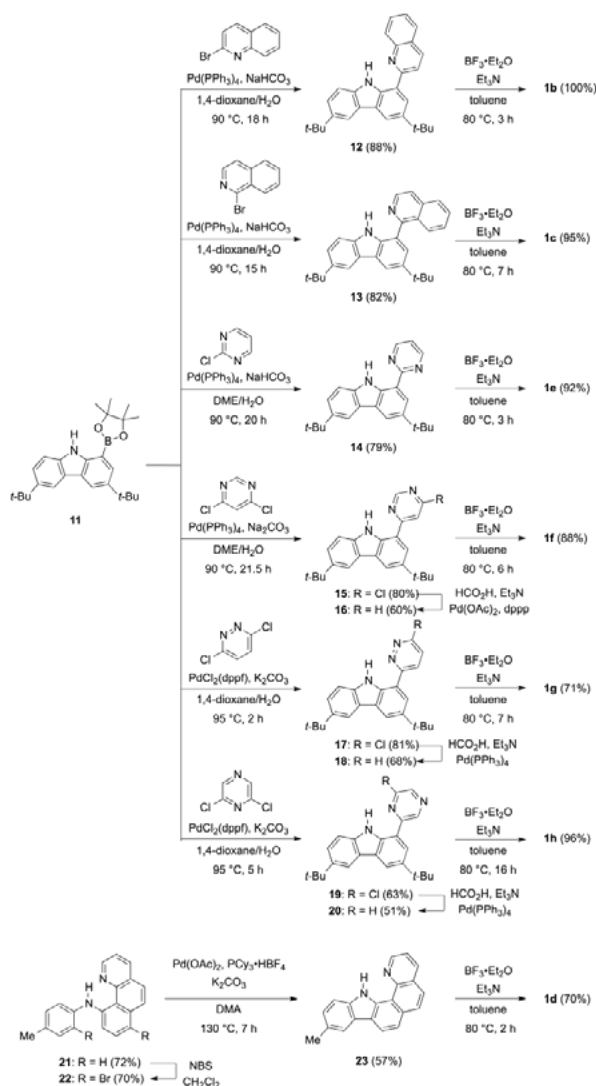


Fig. 5 BF₂ 錯体 **1b**–**1h** の合成

2 と 2-ブromoキノリン, 1-ブromoイソキノリン, 2-クロロピリミジン, 4,6-ジクロロピリミジン,

3,6-ジクロロピリダジン, 2,6-ジクロロピラジンとの鈴木宮浦反応により, 化合物 **12**, **13**, **14**, **15**, **17**, **19** を得た. 得られた **15**, **17**, **19** を水素化することで脱塩素化し, **16**, **18**, **20** に導いた. 配位子 **12**, **13**, **14**, **16**, **18**, **20** を $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ で処理することで錯体 **1b**, **1c** および **1e–1h** を得た. 完全に縮環した **1d** は **21** のジブromo化, 分子内環化および脱bromo化, 錯形成により合成した.

得られた錯体の構造は各種スペクトル測定により確認した. **2a**, **2b**, **2c**, **3**, **4**, **1b–1d**, **1f**, **1g** については良質な単結晶が得られ, X線構造解析にも成功した.

2.2. 錯体 2–4 の光物理的性質

得られた BF_2 錯体 **2a**, **3**, **4** の紫外可視吸収および蛍光スペクトルをジクロロメタン中で測定した. これらのスペクトルを Fig. 6 に **1a** の結果とともに示す.

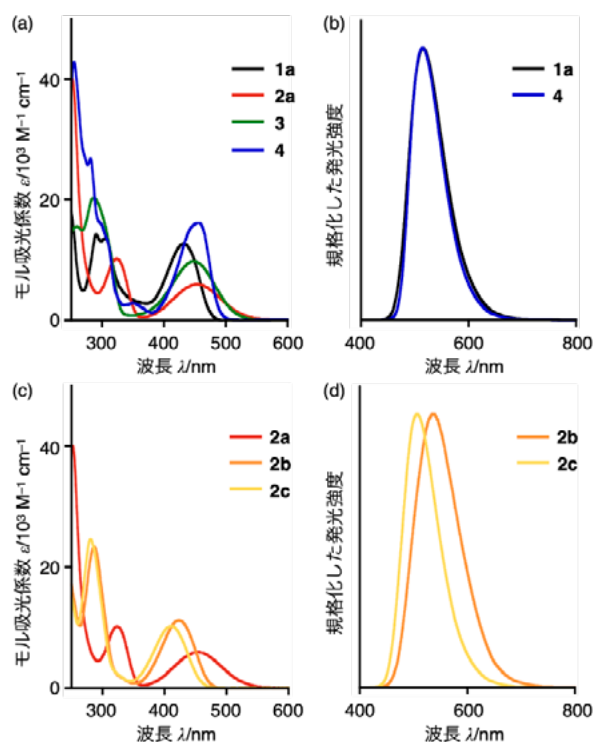


Fig. 6 BF_2 錯体 **2–4** の吸収 (a, c) および蛍光スペクトル (b, d) (ジクロロメタン中)

これらの比較により, アザアントラセン部位の構造が錯体の光物理的性質に与える効果を明らかにした.

吸収スペクトルにおいて, フェノチアジンを有する **2a**, ジヒドロアクリジンを有する **3**, アクリドンを有する **4** の最長極大吸収波長 λ_{max} はいずれもカルバゾールを有する **1a** と比較して長波長シフトし, $\mathbf{1a} < \mathbf{3} < \mathbf{2a} < \mathbf{4}$ の順に長波長側に観測された (**1a**: 433 nm, **2a**: 454 nm, **3**: 448 nm, **4**: 456 nm). 蛍光について, **2a** と **3** の蛍光量子収率 ϕ_f は約 0.01 でほぼ消光したのに対し, **4** では **1** と比較して増加した (**1a**: 0.52, **4**: 0.64). **4** の蛍光波長 λ_{em} は **1a** と同程度であり (**1a**: 517 nm, **4**: 516 nm), **4** のストークスシフト $\Delta\nu$ は **1a** と比較して減少した (**1a**: 3750 cm^{-1} , **4**: 2550 cm^{-1}).

次に, **2a** のフェノチアジン硫黄原子を酸化したモノオキシド **2b** およびジオキシド **2c** を比較し, フェノチアジン硫黄原子の酸化が錯体の光物理的性質に与える効果を明らかにした.

吸収スペクトルにおいて, **2b** の λ_{max} は酸化前の **2a** と比較して大きく短波長シフトし, **2c** ではさらに短波長シフトした (**2a**: 454 nm, **2b**: 423 nm, **2c**: 411 nm). 蛍光について, 酸化前の **2a** の蛍光はほぼ消光したのに対して, **2b** の ϕ_f は 0.35 に増加し, **2c** では, さらに増加し 0.76 となった. **2c** の ϕ_f が **2b** より増加したのは, **2c** の無放射速度定数 k_{nr} が **2b** の約 1/5 であることに起因する. **2c** の λ_{em} は **2b** に比べて短波長シフトした (**2b**: 535 nm, **2c**: 507 nm). なお, **2b** および **2c** の $\Delta\nu$ は大きい (**2b**: 4950 cm^{-1} , **2c**: 4610 cm^{-1}). これは, フェノチアジン骨格が柔軟であり, 励起状態において容易に構造変化するためと考えられる. さらに, 酸化により ϕ_f が向上することから, 酸化プローブとしての応用が期待できる.

固体状態の蛍光発光についても検討した (Fig.

7). 溶液中とは異なり, **2a** および **3** を含むすべての錯体が蛍光を示した. 固体状態における **2b**, **2c**, **4** の λ_{em} は溶液中に比べて短波長シフトした. これは, 固体状態では励起状態の構造緩和が制限されているためと考えられる. **2a**, **2b**, **3** の ϕ_f が固体状態で高くなった. 特にジヒドロアクリジンをも有する **3** では 0.61 にも達した.

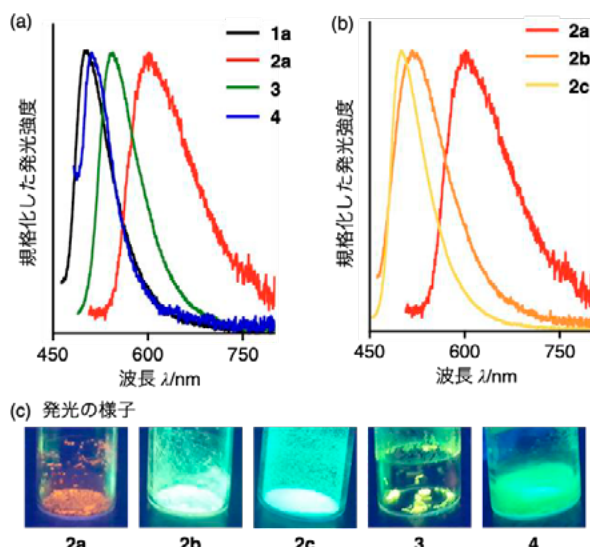


Fig. 7 BF₂ 錯体 **2-4** の固体発光スペクトル (a, b) および発光の写真 (c)

2.3. 錯体 1b-1h の光物理的性質

次に, アジン部位の構造が錯体の光物理的性質に与える効果を明らかにした. **1b-1h** の紫外可視吸収および蛍光スペクトル (ジクロロメタン中) を Fig. 8 に **1a** の結果とともに示す.

1b-1d と **1a** の比較より, **1a** のピリジン環におけるベンゼン環の縮環位置と縮環様式の違いが, 光物理的性質に与える効果を明らかにした. 吸収スペクトルにおいて, **1b-1d** の λ_{max} はいずれも **1a** と比較して長波長側に観測された. これは, ベンゼン環の縮環による π 共役系の拡張を示している. λ_{max} は **1d** < **1c** < **1b** の順に長波長側に観測された. 蛍光スペクトルにおいて, λ_{em} は **1d** < **1c** < **1b** の順に長波長側に観測され, λ_{max} の順序

と一致した. **1b-1d** のストークスシフトはいずれも **1a** と同程度であった. **1b-1d** の ϕ_f は **1a** と比較して低下した.

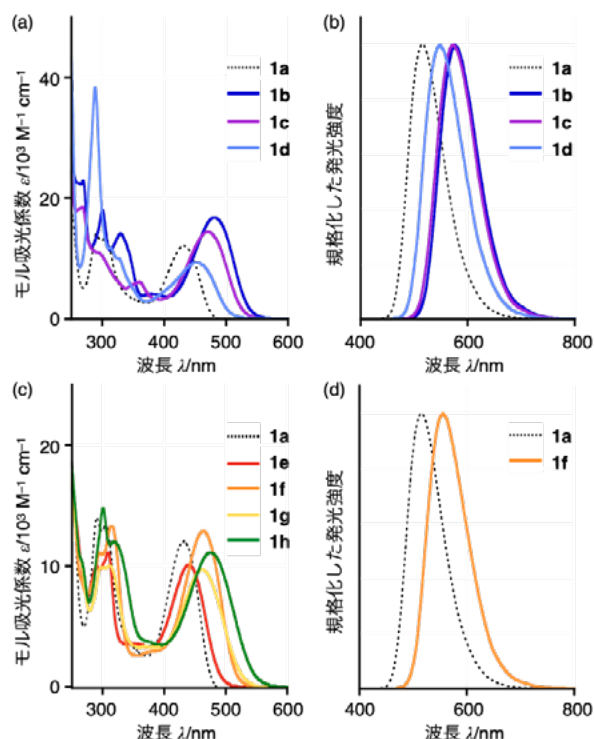


Fig. 8 BF₂ 錯体 **1b-1h** の吸収 (a, c) および蛍光スペクトル (b, d) (ジクロロメタン中)

1e-1h と **1a** の比較より, **1a** のピリジン環における窒素原子の数および置換位置の違いが, 光物理的性質に与える効果を明らかにした. 吸収スペクトルにおいて, **1e-1h** の λ_{max} はいずれも **1a** より長波長側に観測され, ピラジン環を有する **1h** で最も長波長側となった. 蛍光について, **1e-1h** の ϕ_f は **1a** に比べて低下し, 特に **1e**, **1g**, **1h** での低下が顕著であり, 約 0.01 でほぼ消光した. **1f** について, λ_{em} は λ_{max} と同様に **1a** に比べて長波長側に観測され, ストークスシフトは **1a** と同程度であった.

錯体 **2-4** と同様に, 固体状態の蛍光発光についても興味をもたれた (Fig. 9).

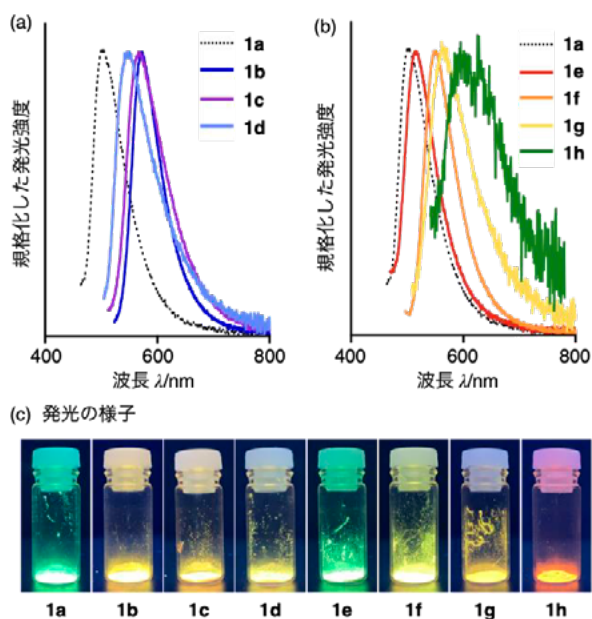


Fig. 9 BF₂錯体 2-4 の固体発光スペクトル (a, b) および発光の写真 (c)

この場合も、溶液中とは異なり、**1e**, **1g** および **1h** を含むすべての錯体が蛍光を示した。**1a** の固体状態における ϕ_f は、溶液中と比較して低下した。これは、分子同士の凝集による消光と考えられる。一方、**1b**, **1d**–**1h** の固体状態の ϕ_f は溶液中よりも向上した。これは分子同士の凝集において、分子内振動が抑制され、無放射失活が起こりにくくなったためと考えられる。固体状態における λ_{em} は、いずれも溶液中に比べて短波長シフトした。このように、固体状態で ϕ_f が向上する凝集誘起発光は環境変化の検出に有用な性質である。

3. 結論

本研究では、錯体 **2–4** および **1b–1h** を系統的に合成し、新たな蛍光色素群であるアザアントラセン-アジン BF₂ 錯体の構造が光物理的性質に及ぼす効果を解明した。また、**2a** の硫黄原子を酸化し、**2b** または **2c** とすることで光学特性が大きく変化すること、また、上記の化合物群で

は多くの場合に固体状態で蛍光量子収率が向上することから、アザアントラセンの中央六員環の反応性および錯体の動的挙動を検出原理とするプローブ分子の開発のための萌芽的知見を得ることができた。

4. 参考文献

- [1] Loudet A.; Burgess K.; BODIPY Dyes and Their Derivatives: Synthesis and Spectroscopic Properties. *Chem. Rev.* **107**, (2007), 4891-4932.
- [2] Boens N.; Leen V.; Dehaen W.; Fluorescent indicators based on BODIPY. *Chem. Soc. Rev.* **41**, (2012), 1130-1172.
- [3] Kamkaew A.; Lim S. H.; Lee H. B.; Kiew L. V.; Chung, L. Y.; Burgess, K.; BODIPY dyes in photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.* **42**, (2013), 77-88.
- [4] Lu H.; Mack J.; Yang Y.; Shen Z.; Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region BODIPYs. *Chem. Soc. Rev.* **43**, (2014), 4778-4823.
- [5] Kowada T.; Maeda H.; Kikuchi K.; BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells. *Chem. Soc. Rev.* **44**, (2015), 4953-4972.
- [6] Araneda J. F.; Piers W. E.; Heyne B.; Parvez M.; McDonald R.; High Stokes Shift Anilido-Pyridine Boron Difluoride Dyes. *Angew. Chem., Int. Ed.* **50**, (2011), 12214-12217.

5. その他成果発表等

- Yamamoto K.,* Imai W.; Kanamori S.; Yamamoto K.; Nakamura Y.,* Phenothiazine-, Dihydroacridine-, and Acridone-Based Boron Difluoride Complexes: Synthesis and Structure–

Property Relationships, *J. Org. Chem.* **88**,
(2023), 4003-4007.

· Yamamoto K. ;* Matsui S.; Kato S.-i.; Nakamura
Y. ;* A Series of Boron Difluoride Complexes of
Azinylcarbazoles: Synthesis and Structure-
Property Relationships, *Org. Biomol. Chem.* **21**,
(2023), 5398-5405.

6. 謝辞

本研究は、島津科学技術振興財団の助成金により、行われたものです。研究室の立ち上げ、特に合成実験設備の整備に大いに役立てさせていただきました。本研究を遂行し、今後の研究展開に重要な基礎的知見を得ることができました。心より感謝申し上げます。

形状センシングと深層学習を相補的に用いた フレキシブル超音波イメージングの開発

国立研究開発法人 産業技術総合研究所健康医工学研究部門 主任研究員 津村 遼介 *

1. はじめに

従来の超音波（US）プローブと比較して、柔軟なフレキシブル超音波プローブ（トランスデューサ）に注目が集まっている^[1]。従来の超音波プローブでは、診断画像の取得が操作者に大きく依存するため、臨床現場で使用するには熟練した技術と広範な訓練が必要となる。さらに、従来のトランスデューサは身体に接触するために硬い構造となっており、接触圧や位置の変化により、毎回異なる解剖学的変化が生じる可能性がある。一方で、柔軟な超音波トランスデューサは皮膚にフィットする特性を持ち、さまざまな部位に適応可能で、操作者依存の課題に対応する可能性がある。

Bモード画像は、超音波エコーを表す輝点で構成された2次元超音波画像であり、超音波検査で一般的に使用される。柔軟な超音波トランスデューサでBモード画像を生成するには、その形状を正確に取得する必要がある。Delay-and-Sum（DAS）ビームフォーミングは、無線周波（RF）データから超音波画像を再構成する際に最も広く利用されているアルゴリズムである^[2]。DASでは、各素子と再構成したい画素との間の伝播時間（ToF）を正確に計算するために、トランスデューサの形状情報が必要である。従来の硬いトランスデューサでは素子の位置が固定されているため、計算は幾何学的に定義されている。しかし、柔軟なアレイトランスデューサでは身体表面との接触に応じて形状が変化する。トランスデューサの形状を正確に定義できていない場合、DASビームフォーミングでRFデータに誤った遅延が適用され、再構成された画像に重

大なぼやけや歪みが生じる。そのため、柔軟な超音波トランスデューサによる画像再構成には、正確な形状推定技術が不可欠である。

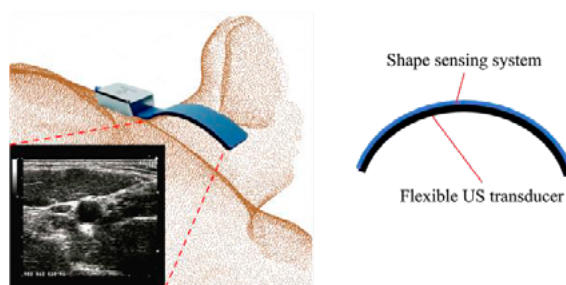


Fig. 1 Conceptual illustration of flexible ultrasound imaging system.

前述のように、形状センシングにはいくつかの手法が存在する。柔軟な超音波トランスデューサは大きく変形するため、形状センシングは困難である。また、臨床現場での使用を想定して、形状センシングのシステムはコンパクトでシンプルである必要がある。最近の研究では、静電容量差を利用したマルチベンド型形状センサが提案されており、高精度な形状計測が可能であることが示されている^[3]。このセンサは、内層と外層に埋め込まれた静電容量センサ間の相対的な変位に着目することで、局所的な曲率を計測し、形状を一連の接続された弧としてモデル化する。このセンサは、大きな変形にも対応可能で、良好な線形性が保証されており、その小型なフットプリントにより他の応用への統合が容易である。そのため、静電容量差を用いた形状センサは、柔軟な超音波トランスデューサと高い互換性を持つと考えられる。柔軟な超音波トランスデューサへのセンサ統合に際しては、センシング精度およびロバスト性をさらに

*（助成採択時） 国立研究開発法人 産業技術総合研究所健康医工学研究部門 研究員

向上させる必要がある。さらに、超音波トランスデューサに許容されるフットプリントが限られているため、センサ構成を最適化して収まるようにする必要がある。

本研究では、柔軟なアレイトランスデューサによる高精度な超音波画像再構成のために、静電容量差を用いた形状センシングを提案する。最終的には、[Fig. 1](#) に示すように、柔軟な超音波トランスデューサ上に形状センシングシステムを組み込み、首などの身体形状に応じてリアルタイムに超音波画像を再構成するオールインワンシステムを構築する予定である。

2. 手法

2.1. 幾何学モデル

静電容量差を利用した形状センシングシステムは、両端が固定された2本のストリップから構成されており、内側と外側のストリップに埋め込まれた静電容量センサ間の相対的なずれに着目している。システムがある曲率半径で曲がると、2本のストリップの間にずれが生じる。

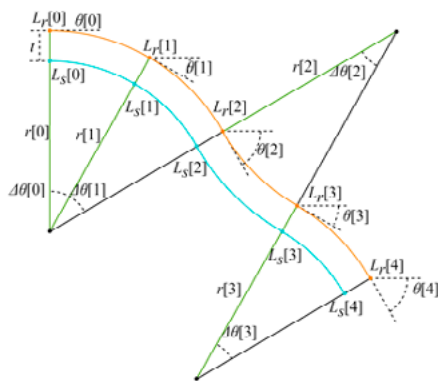


Fig. 2 Definition of estimated parameters with shape sensing system.

このずれを複数の点で計測することで、全体の形状の曲率を推定する。

[Fig. 2](#) に示すように、まず半径が異なる2つの円弧 L_r および L_s を考える。任意のセクション n における各円弧の長さ $\Delta L_r[n]$ 、 $\Delta L_s[n]$ および中心角 $\Delta \theta[n]$ は以下のように定義される：

$$\Delta L_r[n] = L_r[n+1] - L_r[n] \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\Delta L_s[n] = L_s[n+1] - L_s[n] \quad \text{Eq. (2)}$$

$$\Delta \theta[n] = \theta[n+1] - \theta[n] \quad \text{Eq. (3)}$$

L_r と L_s の半径をそれぞれ r および $r-t$ とすると、式 (1) は次のように変形される：

$$\Delta L_r[n] = r[n] \Delta \theta[n] \quad \text{Eq. (4)}$$

$$\Delta L_s[n] = (r[n] - t) \Delta \theta[n] \quad \text{Eq. (5)}$$

このとき、円弧の半径 $r[n]$ は以下の式で表される：

$$r[n] = \frac{t \Delta L_r[n]}{\Delta L_r[n] - \Delta L_s[n]} \quad \text{Eq. (6)}$$

また、三角関数の定理を用いることで、中心角 $\Delta \theta[n]$ は次のように求められる：

$$\Delta \theta[n] = \frac{\Delta L_r[n] - \Delta L_s[n]}{t} \quad \text{Eq. (7)}$$

したがって、2つの円弧長の差 $\Delta L_r[n] - \Delta L_s[n]$ を測定することで、物体の中心角 $\Delta \theta[n]$ を取得することができる。複数点において測定された曲率半径 $r[n]$ および中心角 $\Delta \theta[n]$ から、物体の形状は一連の円弧として表現される。

2.2. 差動容量測定

中心角 $\Delta \theta[n]$ を測定するために差動容量の変化が使用される。円弧 L_r には RX1 および RX2 の2つの電極が、円弧 L_s には TX 電極が配置される。各電極間の距離 d は、RX1-TX および RX2-TX の2つの容量から算出され、[Fig. 3](#) に

示すようにこの距離 d から円弧長差 $\Delta Lr[n]$ - $\Delta Ls[n]$ が求められ、最終的に物体形状が推定される。



Fig. 3 Mechanisms of differential capacitance occurrence due to the local shift of two layers.

2.3. 電極設計

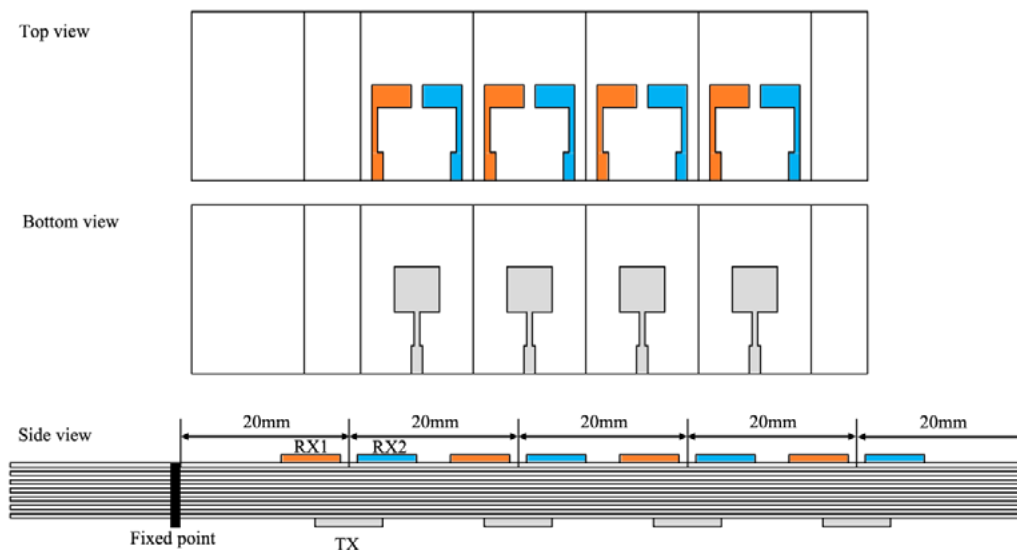


Fig. 4 Detailed layout of the electrodes on the shape sensing system.

[Fig. 4](#) は設計された電極を示している。4 対の電極が 20mm 間隔で配置され、各点で差動容量が測定される。電極層の間に適切な厚さの紙をスペーサーとして挿入することで、層間の距離を維持しつつセンサの柔軟性を保っている。

本研究では、[Fig. 5](#) に示すように異なるサイズの 2 種類の電極パターンが試作された。大きな電極面積は容量の増加を可能にし、寄生容量の影響を低減することで測定精度の向上が期待される。

一般に静電容量 C は、電極面積 S 、電極間距離 d 、誘電率 ε を用いて次の式で表される：

$$C = \varepsilon \frac{S}{d} \quad \text{Eq.(8)}$$

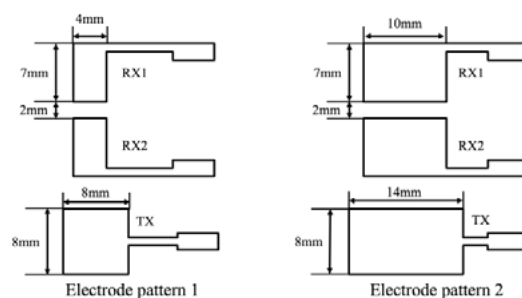


Fig. 5 Utilized electrode patterns

したがって、電極面積を増加させることで容量が増加し、誤差の影響を抑えることができる。また、センサの基板には折り曲げ剛性の高い紙を使用しており、その表面にシリコンオイルを塗布している。シリコンオイルは紙の層間や空隙に浸透し、静電容量を増加させるとともに、

層間の分離を抑制する分子間力を強化する効果が期待される。

2.4. システム構成

Fig. 6 は開発したプロトタイプを示している。静電容量の測定には静電容量-デジタル変換器 (AD7745、Analog Devices) が使用されている。4 点の差動容量を同時に測定するために、容量マルチプレクサ (TC4052BP、東芝) が使用されている。また、Arduino UNO がマイコンとして、マルチプレクサの制御および容量データの取得・PC への送信を行っている。

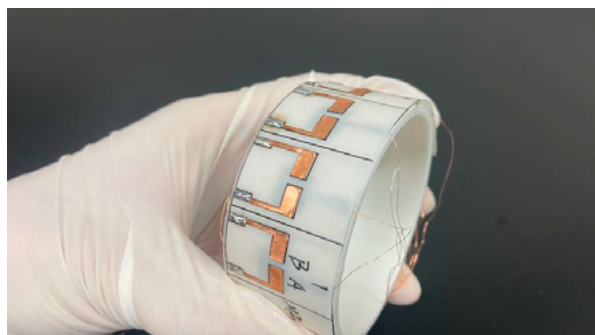


Fig. 6 Overview of developed prototype shape sensing system

各推定パラメータの計算は、マイコンから送信された測定データを元に、Java で作成されたカスタムプログラムによりホスト PC 上で行われている。システム全体の構成を Fig. 7 に示す。

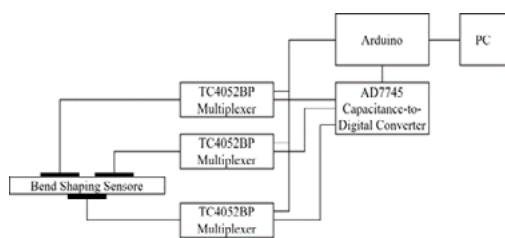


Fig. 7 Whole system architecture for measuring

3. 形状センシング精度評価

3.1. 実験方法

本実験では、開発した形状センシングシステ

ムの精度を、既知の形状を持つ物体を用いて評価した。センサ上に 1mm 間隔で配置された 80 点において、推定位置と実際の位置 (グラウンドトゥールス) とのユークリッド距離を計算し、これを推定誤差とした。実験条件としては、シリコンオイルの有無、電極の大小という 2 つの要素で比較を行った。測定対象として、直径が 40mm から 100mm の 7 種類の円柱物体を用意した。各条件下で 3 回の試行を行い、各測定前にはキャリブレーションを実施した。キャリブレーションでは、全ての対象物を測定し、それらに対して一次近似を行った。

3.2. 実験方法

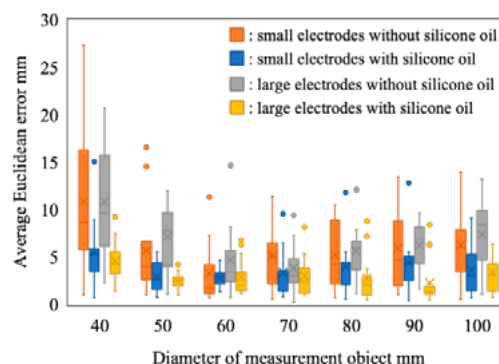


Fig. 8 Result of the shape sensing error comparing small and large electrodes with and without applying the silicone oil.

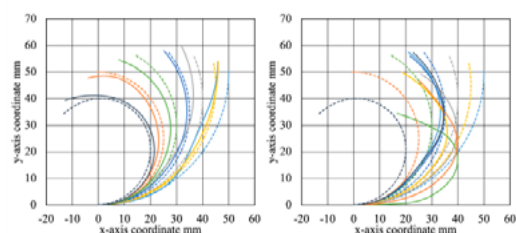


Fig. 9 Representative cases of the shape sensing: (left) the best case of large electrode with silicone oil and (right) the worst case of small electrode without silicone oil. Solid and dot lines represent the measured shape and theoretical shape.

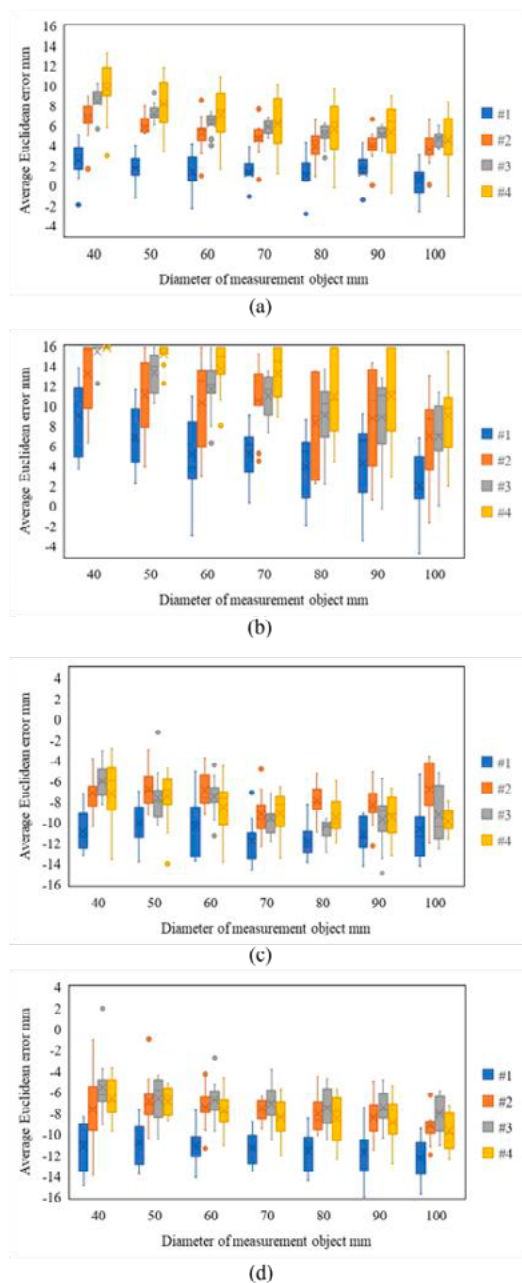


Fig. 10 Measured capacitance in each electrode at 4 points: (a) large electrode without silicone oil, (b) large electrode with silicone oil, (c) small electrode without silicone oil, and (d) small electrode with silicone oil. Noted that #1-#4 represents the number of each embedded sensor.

[Fig. 8](#) には、シリコンオイルの有無および電極サイズ（小・大）による形状センシング誤差の

ボックスプロットを示している。

[Fig. 9](#) は、全条件における最良および最悪の形状センシング結果の代表例である。

[Fig. 10](#) には、各電極における測定された静電容量の生データを示している。

シリコンオイルの有無で比較した場合、小電極においては推定誤差が平均 46.1%、最大で 66.8%改善され、大電極では平均 52.8%、最大 67.2%の改善が見られた。また、シリコンオイルを適用した条件下で大小の電極を比較した場合、大電極において平均 10.4%、最大 35.8%の推定誤差の改善が確認された。さらに、小電極と大電極間での静電容量を比較すると、大電極の平均容量は小電極の約 2.38 倍であった。

4. 超音波画像評価

4.1. 実験方法

前節では、さまざまな曲率形状を用いて開発したセンサの評価を行った。しかし、そこで生じたセンシング誤差が超音波画像の再構成品質にどのような影響を与えるかは明らかではない。そこで本節では、センシング誤差が超音波画像再構成に与える影響を、US（超音波）シミュレーションを用いて調査した。

シミュレーションには、Matlab 上で動作する Field II シミュレータを使用した。シミュレーションで使用した柔軟な超音波トランスデューサは、1mm ピッチで配置された合計 80 個の素子から構成されており、素子サイズは 0.8mm × 10mm である。各素子の位置は、トランスデューサがある曲率で上向きに凸状に曲がった際の位置に設定されている。このシミュレーションで使用した曲率半径は、前回の実験と同様に 7 種類（40、50、60、70、80、90、100mm）である。さらに、それぞれの曲率において最適な条件

(シリコンオイル塗布+大サイズ電極)で得られたセンシング誤差に基づいて、各素子の位置をシフトさせている。

送信信号としては、3 MHz のガウス窓付き 1 サイクル正弦波バーストが使用され、サンプリング周波数は 40 MHz とした。音速はシミュレーション中、1540 m/s と仮定している。再構成には、DAS (Delay-and-Sum) とコヒーレンスファクタ (Coherence Factor) を組み合わせたビームフォーミング手法を用いた。これは、センシング誤差に起因するサイドローブやノイズを抑制する目的である。全ての画像には、ヒルベルト変換を用いた包絡線検出を行い、得られたラインは正規化および対数圧縮されて最終画像が形成される。

可視化対象としては、[Fig. 10](#) (a)に示すように 4 つの点ターゲットを配置した。点ターゲットを用いたビームフォーミングの品質評価として、以下の式により SNR (信号対雑音比) を測定した：

$$SNR = 20 \log_{10} \left\{ \frac{|A_{Max}|}{\sigma_{noise}} \right\} \quad \text{Eq.(9)}$$

ここで、 A_{max} は各点ターゲットでのピーク信号振幅、 σ_{noise} はサイドローブの影響を受けないノイズ領域での画素振幅の標準偏差である。さらに、点ターゲットを用いてビームフォーミングの解像度を評価するために、FWHM も算出した。SNR および FWHM は、深さ 20mm に配置された点ターゲットの中心にて評価を行った。

4.2. 画像再構成への影響

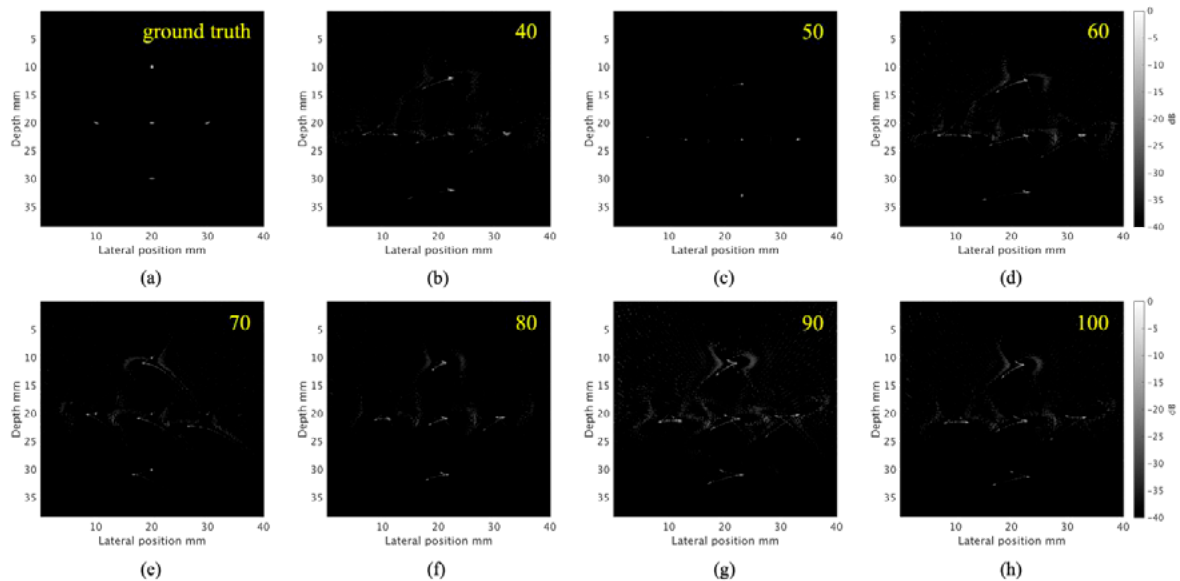


Fig. 11 Simulated US images reconstructed with the shape sensing error in each radius: (a) the ground truth case and the cases with the sensing errors in the radius of (b) 40 mm, (c) 50 mm, (d) 60 mm, (d) 70 mm, (d) 80 mm, (d) 90 mm, and (h) 100 mm.

Fig. 11 (b) ~ (h) は、各曲率半径においてセンシング誤差の影響を受けた再構成画像の結果を示している。Table 1 には、SNR、FWHM、およびそれに対応するセンシング誤差の結果を示している。ここでの誤差は、80 測定点における平均値と標準偏差を意味する。結果から、センシング誤差に応じて点ターゲットがぼやける（ピントが合わない）ことが示された。最悪のケースでは、曲率半径 70mm の条件において、全ての点ターゲットが二重に表示されるほど明確にぼやけていた。一方で、誤差が小さい条件下でも、点ターゲットの位置がわずかにずれて表示されることが確認された。また、評価された画像指標（SNR および FWHM）とセンシング誤差との間には明確な相関関係は見られなかった。

Table 1 Evaluated Image Metrics

	Curvature radius						
	mm						
	40	50	60	70	80	90	100
SNR							
dB	15.55	18.4	20.35	18.15	21.25	24.19	22.56
FWHM							
mm	4.94	7.7	0.59	0.26	1.77	0.69	8.48
sensing							
error	1.91	1.99	1.13	3.50	2.63	3.23	2.19
mm	±1.65	±1.94	±0.68	±3.98	±1.29	±1.54	±1.01

5. 考察

5.1. 絶縁性液体

シリコンオイルの浸透により、紙内部の空隙や層間の空気層が置き換えられ、誘電率が向上した。その結果、静電容量が増加し、測定精度の向上につながったと考えられる。さらに、シリコンオイルの表面張力により、曲率が大きくなった際の層の剥離が抑制され、測定円の直径

が小さい約 40mm 付近での測定精度向上に寄与したと考えられる。シリコンオイルよりも高い誘電率を持つ液体や、液体の浸透を促す高い多孔性を持つ材料を使用することで、さらなる精度向上が期待できる。

5.2. 電極デザイン

電極面積を増加させることによるセンサ性能の向上効果が確認された。一方で、電極面積を大きくしたことで差動容量が測定範囲を超えてしまい、逆に測定精度の向上が妨げられた。測定範囲内での計測を実現するために、電極の設置位置に応じてサイズを調整したり、最適な設計を行うことで、さらなる測定精度の向上が期待される。

5.3. 超音波イメージング

ある程度のセンシング誤差があっても、全ての条件下で点ターゲットは再構成画像として可視化された。一方で、誤差が大きい場合には、再構成画像において点ターゲットが二重に表示される（ダブルビュー）現象が確認された。また、比較的小さな誤差の条件においても、点ターゲットの可視化位置が真値からわずかにずれている場合があった。この結果から、センシング誤差は焦点位置のずれを引き起こすことが示唆される。

現在、センシング誤差の影響を補償するために、深層学習の敵対的生成ネットワークの一つの手法「Pix2Pix」を用いた手法を構築中である。これは推定誤差によってノイズが生じた再構成画像と正確に描写された画像をペアとして学習させる手法であり、今回の実験結果のような焦点位置のずれによるダブルビューなどを低減することが期待される。

6. 終わりに

本報告では、柔軟なアレイトランスデューサによる高精度な超音波画像再構成を目的として、静電容量差を用いた形状センシングシステムを提案した。開発したプロトタイプ形状センシングシステムについては、さまざまな形状の円柱体を用いて推定誤差の評価を行った。さらに、発生した誤差が超音波画像再構成に与える影響についてシミュレーションによって検討した。その結果、提案した形状センシングシステムが柔軟な超音波トランスデューサによる画像再構成に応用可能であることが示された。今後の研究では、開発したセンシングシステムを柔軟な超音波トランスデューサに統合し、臨床応用としての有効性を検証する予定である。

7. 参考文献

- [1] T. G. La and L. H. Le, “Flexible and Wearable

Ultrasound Device for Medical Applications: A Review on Materials, Structural Designs, and Current Challenges,” *Adv. Mater. Technol.*, vol. 2100798, (2021), pp. 1-19.

- [2] V. Perrot, M. Polichetti, F. Varray, and D. Garcia, “So you think you can DAS? A viewpoint on delay-and-sum beamforming,” *Ultrasonics*, vol. 111, (2021), pp. 1-12.

- [3] F. Shahmiri and P. H. Dietz, “ShArc: A Geometric Technique for Multi-Bend/Shape Sensing,” *Conf. Hum. Factors Comput. Syst. - Proc.*, vol. 142, (2020), pp. 1-12.

8. 謝辞

本研究は島津科学技術振興財団の助成金によって実施したものである。ここに謝意を示す。

超音波計測と数値計算の融合による複雑流体のメゾスケール挙動予測

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター 主任研究員 芳田 泰基*

1. 序論

1.1. 本研究課題における到達目標

近年、液晶材料をはじめとする高機能性流体の実用化が進む一方で、これらの流体の複雑な挙動を精度高く予測・制御する技術の確立が急務となっている。特に、ミクロスケールの分子構造が支配する局所物性と、マクロスケールの回路設計や装置動作といった工学的応用をつなぐ中間領域—いわゆるメゾスケール領域—における流動挙動の理解と予測は、流体力学や材料科学における未解決課題の一つである。

従来、この課題に対しては、数値シミュレーションを用いたマイクロレオロジーと、回転式レオメータ等によるマクロレオロジーの二つの手法が、それぞれ独立に発展してきた。しかしながら、両者の技術的分断と評価手法の細分化が進みすぎた結果として、これらの手法がメゾスケールの物理現象を十分に捉えられていないという現状がある。たとえば、市販のレオメータでは計測誤差が相対値で10~20%を下回らず、再現性や異常検出能力にも限界がある。また、数値計算によるモデル化においても、実験観測と計算結果の間に顕著な乖離が見られることが少なくない。これらの要因は、従来の物理モデルが流体の多様な非線形性や複雑構造を十分に組み込んでいないことに起因しており、経験則だけでは有効なモデル構築が困難であることを示唆している。

このような背景のもと、本研究は、実験計測と数値計算を統合し、メゾスケール領域における複雑流体の挙動を高精度に予測する新たなアプローチの確立を目的とする。本手法では、筆者が有する高精度な超音波計測技術および機械学習

手法を活用し、①メゾスケールに特化した実験評価ツールの開発と、②複雑流体に適したモデル式の自動獲得アルゴリズムの構築を進める。これにより、従来の手法では困難であった流体挙動の予測可能性が大きく向上し、材料設計やプロセス開発における新たな道を拓くことが期待される。

本研究ではまず、メゾスケールにおける複雑流体の局所挙動を高い空間・時間分解能で捉えるための実験評価ツールの構築を目指す。従来のレオメータやPIV (Particle Image Velocimetry) では、分散相の微細構造や流れ場の非一様性を十分に可視化・定量化することが難しく、特にメゾスケール領域においては、局所的な流動・構造変化の検出に限界がある。

そこで本研究では、極微小サイズの分散体をトレーサ粒子として利用し、超音波を用いた流速場の非侵襲・高精度計測を実現する新たな流速センシング技術の開発に第一に取り組む必要がある。ナノ~サブミクロンオーダーの粒子を可視化できる基盤技術を創成することで、粘性が高く光学的に不透明な媒体においても、局所的なせん断流や構造変化を定量的に捉えることが可能となる。本報告における技術は、これまでブラックボックス的に扱われてきたメゾスケール現象の「見える化」を可能にし、マクロ・ミクロスケールを橋渡しする上で不可欠なデータ取得手段となる。

1.2. 極微小分散体の流動を計測する技術の開発

超音波流速分布計測法は、金属管内流れの可視化や流量計測、血流モニタリング、非侵襲的評価など、広範囲な産業用途で実用化されている。加えて、流体物理の解明を目指す学術的な研究にも不可欠な技術である。近年では、不透明液体のダ

* (助成採択時) 国立研究開発法人 産業技術総合研究所計量標準総合センター 研究員

イナミクスや混相状態を含む複雑な流体レオロジーの評価において、重要な役割を果たしている。超音波流速分布計測の原理に関しては、さまざまな方法に基づいている。代表的なものには、超音波ドップラー流速計測法^[1] (UDV) や超音波時間領域相関法^[2] (UTDC) がある。これらの原理を基に、多次元の流速ベクトル情報を取得する技術は目覚ましい進展を遂げている。したがって、流速分布計測技術の進歩という観点から、超音波を用いた流体可視化技術は着実に発展している。

一方で、超音波を利用した流速分布の測定には依然として実用上の課題が存在する。その一つは、「トレーサ粒子（分散体）のサイズに関する技術的制約」である。超音波流速分布計測における信号処理では、エコー信号に求められる要件が存在する。UDV や UTDC など、代表的な手法では、超音波波長の 1/4 以上の大きさを有する粒子が望ましいとされる。例えば、水中で 8 MHz の超音波を使用する場合、粒子の下限サイズは数 10~100 μm 程度である。当然粒子が大きいほど、超音波のエコー信号強度は増加する。その分、流速計測は容易になるが、粒子の持つ「流れに対する追従性能」が損なわれる。流れの可視化、その精度を担保する上で流れに対する追従性能は重要である。ストークス緩和時間や乱流中での粒子の位相差・振幅比など、追従性を定量評価する指標はいくつか存在する^[3]。一般的には、小さく、かつ低密度の粒子は、流れに対して優れた追従性を持つ「理想的なトレーサ」として取り扱われる。

本研究で提案するのは、画像処理型超音波速度計測法^[4] (IPUV) である。0.1 μm に匹敵する極微小分散体をトレーサ粒子として利用する新たな超音波解析法である。従来の方法は、微小な粒子で流速計測を実現するために、超音波の発信周波数を高くする必要がある。対して、IPUV は、

超音波の波形とその解析方法に着目するアプローチであり、単純に周波数を高くするという手段を取らない。本報告では、IPUV の原理およびその妥当性について詳細に述べ、極微小粒子を対象とした計測結果を紹介する。

2. 画像処理型超音波流速分布計測法 (IPUV) の測定原理

本節では、画像処理型超音波速度計測法 (IPUV) の基本的な測定原理について説明する。IPUV 解析には、超音波の時空間音圧分布が必要となる。水平軸と垂直軸は、それぞれ超音波の飛行時間（液相の音速と乗ずることで超音波の伝播距離と同義）とパルス繰り返し時間を表す。超音波音圧分布の収録には、超音波トランスデューサ、パルスレシーバ、高速デジタイザ、外部クロック生成器を用いる。パルスレシーバは数十波のチャープパルスを生成する機能を有し、5.4 MHz の帯域幅を持つ固有周波数 8 MHz のトランスデューサを介して、エコーを受信する。このトランスデューサは、約 3~13 MHz の広い帯域のエコーを受信できる。前処理として、音圧の時間平均分布で背景差分処理を施し、定在するノイズを除去する。

大まかな解析の流れは、次の通りである。①超音波エコーの時空間データ (Fig. 1(a)) から $N \times M$ の解析窓を作る (Fig. 1(b))。ここで、 N と M は奇数の自然数とする。 N と M は IPUV における解析精度に影響するため、適当な調整が必要である。②解析窓と同じサイズの二次元のガウス分布を乗算する (Fig. 1(c))。この処理を行うことで、解析窓中心に近い波面情報が重みづけされるため、解析における誤差が緩和される。③二次元フーリエ変換を施す (Fig. 1(d))。この処理によって、波面の方向がスペクトル強度として現れる。

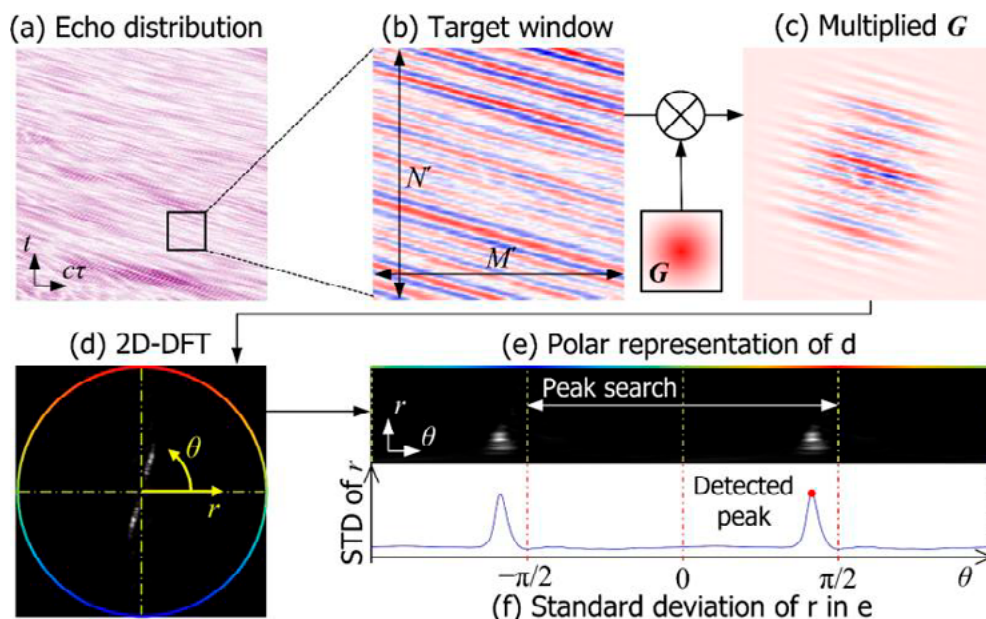


Fig. 1 IPUV の解析手順：(a) 超音波エコー波形の音圧強度時空間画像、(b) 解析窓画像、(c) ガウス分布を乗じた解析窓画像、(d) 2次元フーリエ変換後画像、(e) 極座標変換後画像、(f) 極座標変換画像の半径方向の輝度値分散分布

④フーリエ変換画像を極座標変換する (Fig. 1(e))。⑤極座標変換画像の輝度値の半径方向に分散値を計算し、波面方向成分を θ として抽出する (Fig. 1(f))。極座標変換後の画像輝度に対して、分散計算をすることで波面方向角度 θ の決定確度が向上する。Fig. 1(b)における超音波エコーの時空間分布画像内の波面方向は、超音波を反射する粒子を分散する液体の流動速度の法線方向を反映する。解析窓内の波面方向を定量化し、流速を計算するのが、IPUV の基本原理である。Fig. 1(f)中の点は、検出された波面方向の角度位置を示す。受信波形がチャープ波の場合、広帯域の周波数を含むスペクトルが検出される。チャープ波を利用することによる IPUV の性能向上の有効性については、数値計算に基づいた評価が行われており、既報^[4]にて詳説されている。同様の解析手順を、解析窓を時空間の双方向にシフトし、逐次行うことで時空間の流速分布が得られる。この IPUV 解析は、画像処理のみで完結するため、GPU を用い

た並列計算による高速化が可能である。

流速は、上記解析方法で抽出した波面方向角度 θ から、

$$u = \frac{cf_{\text{prf}}}{2f_{\text{samp}}} \frac{M}{N} \tan \theta \quad \text{Eq.(1)}$$

で決定される。ここで、 N と M は解析窓の縦横データ数、 c は液体の音速、 f_{prf} は繰り返しパルス周波数、および f_{samp} はサンプリング周波数である。

IPUV における時間および空間分解能は、

$$\Delta t = \frac{1}{f_{\text{prf}}} \quad \text{Eq.(2)}$$

$$\Delta x = \frac{c}{2f_{\text{samp}}} \quad \text{Eq.(3)}$$

で与えられる。IPUV における計測可能距離と流速について、計測可能な深度（超音波送受信面からの伝播距離）は、超音波が反射して受信されるまでの伝播時間から、

$$x < \frac{c}{2f_{\text{prf}}} \quad \text{Eq.(4)}$$

で与えられる。また、流速の最大および最小測定範囲は、

$$\frac{20cf_{\text{prf}}}{Nf_{\text{samp}}} < |u| < \frac{cf_{\text{prf}}}{2f_d} \quad \text{Eq.(5)}$$

で見積もれる。ここで、 f_d は発信されたチャープ波の最高周波数を示す。この速度の測定可能範囲についての詳細は既報^[4]を参照されたい。

Fig. 2 は、超音波の基本周波数 f_d 、サンプリング周波数 f_{samp} 、およびパルス繰り返し周波数 f_{prf} 、それぞれの増減で変化する IPUV の測定可能流速範囲を示す。横軸は繰り返し周波数、縦軸は流速である。また、赤線は最大測定可能流速を示し、青線は最小流速の閾値を示している。

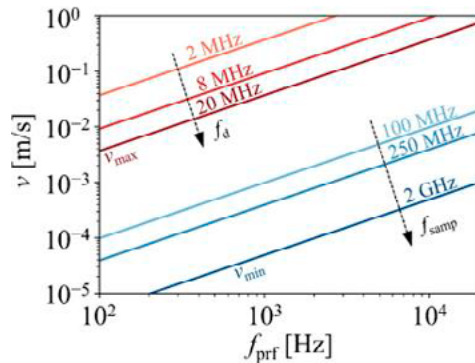


Fig. 2 基本周波数 f_d 、サンプリング周波数 f_{samp} 、および繰り返し周波数 f_{prf} に関する、IPUV の測定可能な速度範囲 ($c = 1480 \text{ m/s}$, $N = 151$)

Fig. 2 に示されるように、最大および最小流速の閾値は、支配周波数とサンプリング周波数の関数として変化し、から得られる。基本周波数 f_d の増加に伴って、最大測定可能流速範囲が制限される。一方、 f_{samp} の増加に伴い最小測定可能流速範囲は広がるが、より高速に電圧収録できるデジタイザが必要となる(費用的なコストが増加)。 f_{prf} の増減によって、最大測定深さと流速範囲が調整可能となる。 f_{prf} を適切に調整することで、対象流速の範囲に応じて計測パラメータが最適化される。

3. IPUV による計測例

まず、二重円筒間のクエット流れを対象として、実験による流速と理論値を比較した結果について報告する。

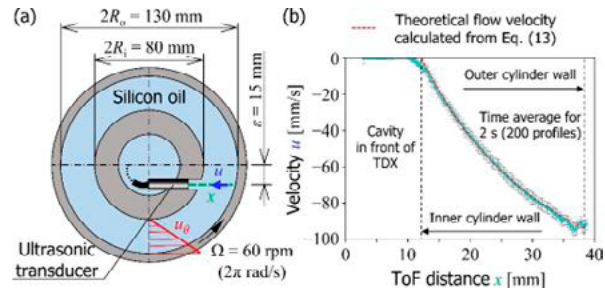


Fig. 3 (a) 広い隙間を持つ二重円筒の実験装置図、
(b) IPUV で測定した平均速度分布とクエット流れの厳密解との比較結果

動粘度 $300 \text{ mm}^2/\text{s}$ のシリコンオイルに、粒子径 $120 \text{ }\mu\text{m}$ のイオン交換樹脂を分散させ、Fig. 3 (a) のような二重円筒容器を用いて、流速分布を計測した。内側の円筒は直径 80 mm で、外側の円筒は直径 130 mm である。内側の円筒は固定、外側の円筒容器のみを 60 rpm で回転させた。上部は自由界面、底部は固定壁であり、円筒の高さは 130 mm であった。超音波トランスデューサは、円筒の軸中心から 15 mm ずらした位置に設置した。トレーサ粒子とシリコンオイルには密度差があるが、粘度は水の 300 倍あり、粒子の流れに対する追従性は非常に高いという実験設定である。Fig. 3 (b) に時間平均した流速の空間分布から計算した速度分布と、理論的に導出された速度分布を示す。ここで、プロットは実験による平均速度、破線はクエット流れの解析解に基づく速度分布を示す。Fig. 3 (a) に示すように、超音波トランスデューサの送受信面と内筒表面の間には隙間がある。Fig. 3 (a) から、その隙間の距離分を除いて、IPUV で計測した時間平均速度分布は、共軸二重円筒系におけるクエット流れの理論値と一致し

ていることがわかる。

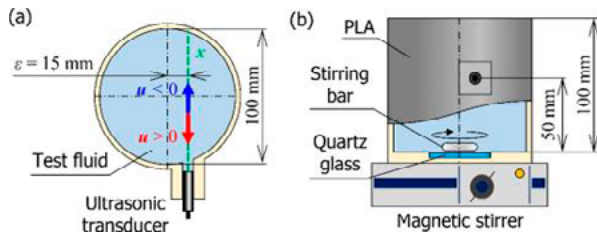


Fig. 4 攪拌流発生容器の模式図：(a) 超音波トランスデューサ軸方向の横断面図、(b) 縦断面図

次に、微粒子をトレーサとした流動計測結果について報告する。実験対象として選択した粒子は、粘土粒子のカオリン、板形状を持つ雲母粒子のマイカ、軽質炭酸カルシウムの微粒子の三種である。これらを水に分散させ、Fig. 4 に示す容器内に攪拌流を起こす。この容器は上部が開放されており、直径 100 mm、高さ 100 mm である。容器の中心軸から 15 mm ずらした位置に孔を設け、8 MHz の超音波トランスデューサを挿入した。容器下部には磁気スターラーを設置し、長さ 30 mm の攪拌子を 520 rpm で回転させることで、高さ 80 mm まで分散液で満たされている。本研究において開発する IPUV では、超音波トランスデューサに近づくか、遠ざかる方向の速度強度が取得される。

Fig. 5 は、一般的に用いられる超音波用の樹脂トレーサ粒子(Fig. 5(a)、120 μm 、密度 1.01 g/cm^3)と実験対象とした粒子の顕微鏡拡大写真である。カオリン (Fig. 5 (b)) は、代表粒子径が約 5~10 μm 、密度 2.6 g/cm^3 、不定形な微粒子である。マイカ (Fig. 5 (c)) は、雲母とも呼ばれる層状構造を持った鉱物粒子であり、簡単に剥がる薄い形状を持つ。球形近似粒径 (アスペクト比を考慮しない参考値) は、3 μm 、密度は約 2.7~3.0 g/cm^3 (製造原料に起因して変動) である。流線に沿って配向する特性を持ち、乱流渦の可視化実験にしばしば使用されてきた。軽質炭酸カルシウム (Fig. 5

(d)) は、細かいメッシュでふるい分けして製造されたものを用い、その平均粒子径は 0.7 μm 、密度は 2.7 g/cm^3 で、不定形な形状を持った粒子である。既報^[4]の付録では、流速分布計測の市販装置である UVP-DUO を用いて、マイカ分散液の流動を試みた測定結果について紹介しているので、関心がある場合はそちらを参照されたい。要約すると、市販されている超音波ドップラー法の解析装置では、マイカ粒子に匹敵する大きさの粒子を懸濁させた液体の速度計測は技術的に厳しいという結果である。

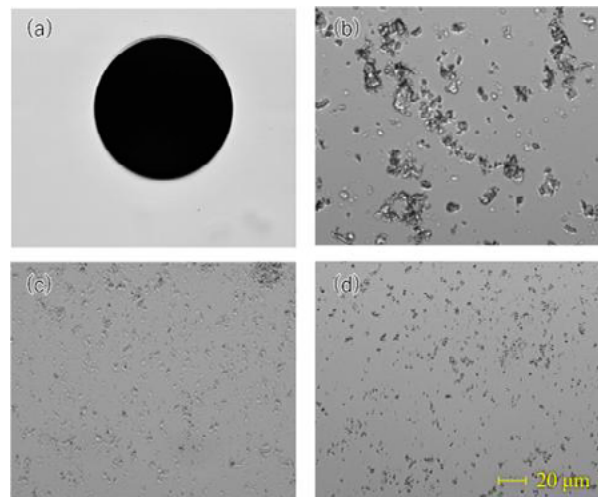


Fig. 5 計測対象とした粒子の顕微鏡写真：(a) イオン交換樹脂 CHP20/P120、(b) カオリン、(c) マイカ、(d) 軽質炭酸カルシウム

Fig. 6 に、樹脂トレーサ、カオリン、マイカ、軽質炭酸カルシウムの分散液における攪拌流を対象とした、IPUV による流速解析結果を示す。横軸は経過時間、縦軸はトランスデューサからの距離 (超音波飛行時間と液体音速の積)、濃淡は速度強度をそれぞれ示す。本計測条件では、円筒容器内に生成した攪拌流を対象としており、円筒の中心に近づくほど周方向速度は大きくなる。円筒容器の側面に設けた孔にトランスデューサを設置している幾何形状から、約 60 mm 程度で円筒の

中心に最も近づくと考えられる。

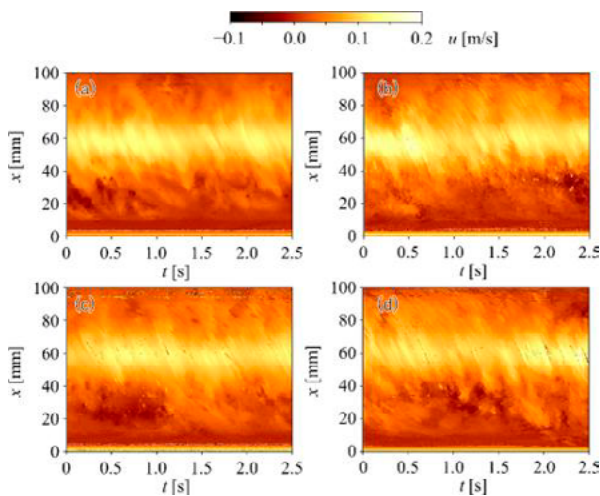


Fig. 6 各粒子をトレーサとして IPUV 計測した時空間流速分布：(a) イオン交換樹脂 CHP20/P120、(b) カオリン、(c) マイカ、(d) 軽質炭酸カルシウム

この距離において、[Fig. 6](#) の時空間流速分布からも流速が最大となる領域を確認できる。攪拌流では乱流渦に近い細かな流速変動が伴うが、その最大の領域は時間によらず変化しない。それぞれの粒子分散体の条件で比較しても、流速分布の傾向は定性的にほぼ一致している。従来から理想的なトレーサ粒子として使用されてきた樹脂トレーサより、100 倍以上小さな粒子でも流速計測が可能していることを示している。

IPUV の技術的な側面において白眉な点を挙げると、非常に微弱なエコー信号であっても機能が担保されることに他ならない。本報では紙面の都合上割愛するが、IPUV は低濃度条件（例えば、マイカでは 0.007 wt.%）から、高濃度条件（マイカでは 10 wt.%）まで計測が可能である。このような利点は、解析画像に対して二次元のフーリエ変換を施す処理を基盤にしたことから生まれている。既報^[4]における検証では、エコー信号に対して 5 倍のノイズを重ねても精度をほぼ損なわ

ずに速度評価が可能という報告がある。従来の技術である、UDV や UTDC では、直交検波や相互相関による信号処理が要求されるため、エコー信号がある程度強い強度で得られている必要がある。そのため、発信される超音波の波長に対して 1/4 以上の大きさを持った粒子、あるいは水に対して高音響インピーダンスを持った分散体（マイクロバブル等）が望ましいとされていた。板状の微粒子や、 $0.1 \mu\text{m}$ オーダーの粒子から得られる超音波エコー強度は非常に弱く、従来の超音波流速計測法で測定された事例はない。既報^[4]では、時空間速度分布の振幅スペクトルについて解析し、議論している。その結果から、粒子の種類に関係なく、周波数の増加に伴って、振幅スペクトル強度が単調に減少する傾向を示し、乱流渦における運動量拡散に起因する典型的な結果であった。しかし、10 Hz 以上の振幅周波数領域に注目すると、粒子の大きさ毎に、スペクトル強度に差が生じていた。大概して、代表的な粒子径が小さい粒子ほど、高い周波数での流速強度が高いことがわかった。つまり、細かな乱流変動に対しても追従している可能性が示唆された。攪拌流の乱流場には理論的な参照値が与えられる条件ではないため、決定的な証拠にはなり得ないが、同実験条件における相対的な変化という観点では議論の余地がある。

4. 結論

IPUV は、超音波を用いた流速分布計測法として初めて、 $0.1 \mu\text{m}$ の極微小分散体を対象に、 $O(0.001 \text{ wt.}\%)$ から $O(1 \text{ wt.}\%)$ という広範な濃度条件下での計測を実現した。これは、従来の超音波流速計測法における課題の一つである「適用可能な粒子径の制約」を大きく緩和する成果である。また、微小なエコー信号から流速分布を定量化で

きる特徴から、超音波センサ小型化や MEMS センサ化など、技術展開に伴う微弱エコー信号に対しても、十分に機能する可能性がある。

現在、食品や化学産業、微生物培養などでは、液部汚染の懸念からトレーサの人為的な添加が困難な計測環境が数多く存在する。分子コロイド、微生物、鉱物など、もともと液中に存在する極微小分散体を活用して流速分布を計測できる IPUV は、これまで諦められてきたような環境にも対応可能な新技術となる。「槽内の流れは実測できない」と半ば放棄されていた計測環境において、無添加での流速計測を可能にする技術として、IPUV には大きな展開可能性が期待される。

一方で、IPUV による流速計測の物理的背景は、依然として完全には解明されていない。波の反射・散乱には、粒子径に応じた波長の短さが求められるが、IPUV で解析された音圧波面の情報が、粒子単体ではなくクラスターによるエコーに起因するのかどうかは明らかでない。この根本的な計測原理の曖昧さについては、今後、異なる分散特性や流動条件を有する液体への IPUV の適用を通じて、解明を進めていきたい。

5. 参考文献

- [1] Yasushi Takeda, Walter E. Fischer, and Jun Sakakibara; Decomposition of the modulated waves in a rotating Couette system, Science, **263** - 514, (1994), 502-505.
- [2] Sanehiro Wada, and Noriyuki Furuichi;

Improving accuracy of pipe flow rate measurement with ultrasonic time-domain correlation method under small number density of reflectors, Measurement, **179**, (2021), 109439.

- [3] Adrian Melling, “Tracer particles and seeding for particle image velocimetry,” Measurement science and technology, **8** - 12 1406 (1997).
- [4] Taiki Yoshida, Sanehiro Wada, Noriyuki Furuichi; Image-processing-based ultrasonic velocimetry development with high applicability to flows in microparticle dispersion, Physics of Fluids, **36**, (2024), 053329.

6. その他成果発表等

- ・ 芳田泰基、画像処理型超音波流速計測法の応用例紹介：様々な微粒子をトレーサとした乱流計測，日仏間国際共同研究 SAKURA プログラム 2024 年度 報告会，北海道大学，2025 年 2 月 28 日.
- ・ 芳田泰基，極微小分散体をトレーサにする超音波流速分布計測法，混相流シンポジウム 2025，OS キーノート講演，神戸，2025 年 9 月.

7. 謝辞

このたびの研究は、島津科学技術振興財団の助成金を受けて実施されたものであり、心より感謝申し上げます。

局所 C-V マッピング法と機械学習の融合による 強誘電ドメインダイナミクス分析

東北大学電気通信研究所 准教授 平永 良臣

1. 研究の背景および目的

強誘電体は、双安定性に基づく不揮発性メモリ機能や、圧電・焦電・非線形光学特性など多様な物理特性を備えており、メモリ素子、アクチュエータ、センサ、高周波デバイスなどへの応用が進んでいる[1][2][3][4]。しかし、これらの特性は結晶構造や欠陥、応力状態などの微細構造に強く依存しており、材料の性能を最大限に引き出すには、その組成設計やプロセス制御を精緻に最適化する必要がある。とりわけ、ナノスケールにおける分極反転挙動（ドメインダイナミクス）を定量的に理解することは、強誘電材料の高機能化およびデバイスの信頼性向上において極めて重要な課題である。

近年、 HfO_2 系強誘電体をはじめとする多結晶薄膜材料において、マクロスケールでは見えにくい局所的な分極の空間的ばらつきや、スイッチング特性の非均質性が、デバイス特性に重大な影響を及ぼすことが報告されている[5]。このようなナノスケールの非均質性を正確に捉えるためには、高分解能な局所計測技術に加え、その膨大なデータを定量的に解析するための情報科学的手法の導入が不可欠である。

本研究では、筆者が独自に開発した局所 C-V マッピング法[6][7][8]を中核とし、この手法によって得られる高精細ハイパースペクトル画像データを、機械学習を含む統計解析・画像解析技術により可視化・分類・定量化することで、強誘電体薄膜の分極ダイナミクスに対する新たな理解の獲得を目指した。局所 C-V マッピング法は、原子間力顕微鏡 (AFM) をベースに、ナノスケールでの C-V 特性を高解像度・高空間分解能で観察する

ことを可能にした新規手法であり、空間的なばらつきのある強誘電応答を統計的に評価するうえで優れた適性を持つ。

さらに本研究では、局所的な計測とマクロ的な物性評価を結びつける「マルチスケール解析」や、圧電応答顕微鏡 (PFM) と局所 C-V 法を統合した「複合型計測システム」の構築にも取り組み、分極状態とスイッチング挙動の関係を多角的に解明する枠組みを構築した。これにより、強誘電体材料における構造—物性の相関理解を深め、将来的な材料設計やデバイス最適化に貢献する解析手法の確立を行った。

2. 研究の成果

2.1. 機械学習的アプローチによる局所 C-V マッピングデータの多変量データ解析法の確立

2.1.1. 局所 C-V データセットのクラスタ解析

局所 C-V マッピング法により取得されるデータは、各画素に高次のフーリエ係数情報を含む C-V 応答が記録されたハイパースペクトル画像として構成されている。本研究では、この膨大かつ複雑なデータを統計的に分類・可視化するため、教師なし学習に基づくクラスタリング解析を導入し、ナノスケールにおける分極反転応答の空間的多様性の把握を試みた。

具体的には、イットリウム (Y) 添加 HfO_2 強誘電体薄膜に対して局所 C-V マッピングを実施し、 256×128 の測定点における C-V カーブを含むデータセットを取得した。各画素の C-V カーブをフーリエ級数展開によりベクトル化した後、主成分分析 (PCA) によって次元削減を行った。得られた特徴ベクトルに対し、ガウシアン混合モデル (GMM) によるクラスタリングを適用し、類似し

た応答を示す領域の分類と可視化を行った。

その結果、反転が起こらない非スイッチング領域、対称性の高い典型的なバタフライ型 C-V カーブを示す領域、ならびに非対称なピークを有する領域など、複数の特徴的なクラスタが抽出された (Fig. 1)。クラスタ数を段階的に増やすことで、ピーク位置のシフトや非対称性の強弱といった、より細部の違いも識別可能となり、局所的なドメイン挙動のバリエーションを的確に捉えることが可能となった。

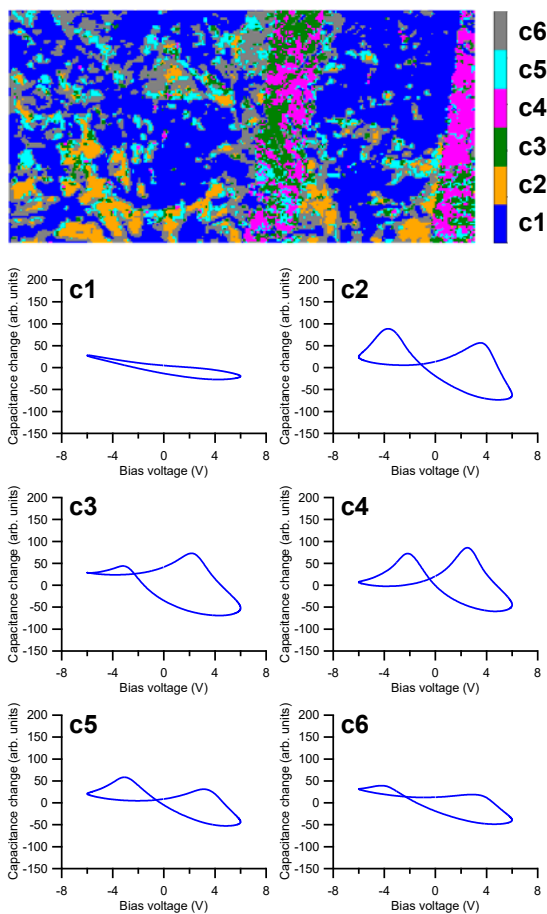


Fig. 1 局所 C-V カーブのクラスタ解析の例: マップ表示 (上) と各クラスタの平均 C-V カーブ (下)、ガウシアン混合モデル、クラスタ数 6

クラスタリング結果を実空間マップ表示したところ、ストライプ状やパッチ状の構造が可視化され、分極反転特性が薄膜全体に無秩序に広がっているのではなく、構造的なまとまりをもって空間的に組織化されていることが示唆された。これらの特徴的な構造は、薄膜成長過程や内部応力の影響が反映された結果である可能性がある。

このように本研究を通じて、ナノスケールの C-V 応答を統計的に解釈し、ドメイン構造の特徴を分類・把握するための有効な手法が確立された。

2.1.2. 局所 C-V データセットと表面形状像の相関解析

強誘電体薄膜における分極反転挙動は、グレイン構造や界面状態といった微細構造に大きく影響される^{[9][10]}。中でもグレイン境界は、分極反転の阻害点 (ピンニングサイト) となる可能性が指摘されてきた^[9]。しかしながら、その影響をナノスケールで定量的に評価した研究は限られていた^[11]。本研究では、局所 C-V マッピング法により得られたナノスケールの分極反転特性と、表面形状像から抽出されたグレイン境界パターンとの相関を統計的に解析し、両者の関係性を明らかにすることを試みた。

先述の Y 添加 HfO₂ 薄膜の局所 C-V データセットを引き続き解析対象とした。局所 C-V データと同時に測定された AFM 表面形状像に対しラプリアンフィルタと watershed アルゴリズムを適用し、グレイン境界パターンを抽出して空間ラベル化を行った (Fig. 2)。これと局所 C-V データセットのクラスタリング結果との間のクロス集計において、両者の相関に関するカイ二乗検定を実施した。

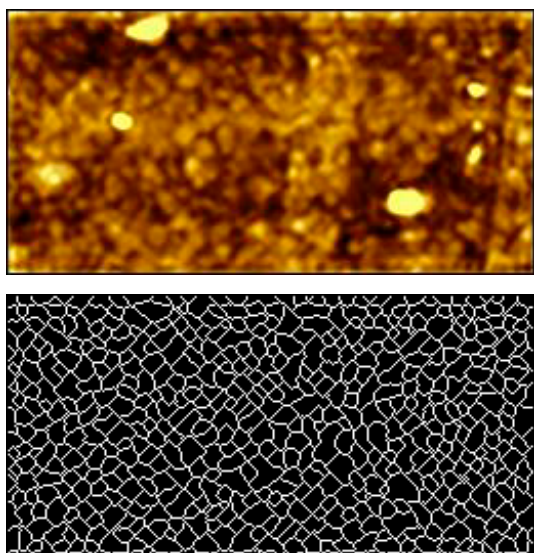


Fig. 2 Y 添加 HfO_2 薄膜の表面形状像（上）と画像処理によって抽出されたグレイン境界パターン（下）

解析の結果、非対称な C-V カーブを示すクラスターが、グレイン境界上に高頻度で出現する傾向を示した。一方で、比較的対称な C-V カーブを示すクラスター群は、主にグレイン内部に分布していた。クラスターラベルとグレインラベルのクロス集計に基づきカイ二乗検定を行ったところ、両者を無相関とする帰無仮説は p 値 0.022 で棄却され、統計的に有意な相関が確認された。

一方、効果量として求めたクラメールの連関係数（ ϕ 係数）は 0.083 と小さく、グレイン境界が分極反転特性に及ぼす影響は有意ではあるものの、その寄与は限定的であることも明らかとなった。すなわち、グレイン境界は非対称な分極応答の発現に関与している可能性はあるが、それが主要因であるとは言い難く、その他の欠陥構造やそれに起因する局所的な内部電界分布、あるいは結晶配向など、他の構造的要因の影響が支配的である可能性が高いことが示された。

本解析により、局所 C-V 応答のクラスター情報と表面構造像を統合的に扱うことで、強誘電体薄膜

における微細構造と分極反転特性の関係を空間的・統計的に可視化・定量化する新たな手法の枠組みが確立された。

2.1.3. 空間微分に基づく局所 C-V データセットの解析

クラスタリングに基づく局所 C-V データセットの解析は、様々な分極反転特性が空間的にどのように偏在しているかを視覚的に捉えるのに極めて有用である一方、その結果は事前に設定したクラスター数に依存し、得られたマップにおけるクラスターの境界に必ずしも物理的な意味は無いといった問題点があった。そこで本研究ではクラスタリングとは異なるアプローチによる視覚化手法についても検討を行った。具体的には、画像処理における空間微分フィルタの考え方を応用した新たな手法を導入し、C-V 応答の空間的な変化を直接的に抽出・可視化することを試みた。

隣接画素間におけるフーリエ係数ベクトル同士のユークリッド距離を「空間微分」として定義し、これを 2 次元マップとして可視化した(Fig.3)。この空間微分マップにおいて、局所的な変化が急峻な箇所は高輝度として現れ、C-V 応答があまり変化しない領域は低輝度で表示される。言い換えれば、明るい領域は分極反転特性が急激に切り替わる“境界”を示し、暗い領域は分極反転特性がほぼ均一な“ドメイン内部”を表すと解釈できる。

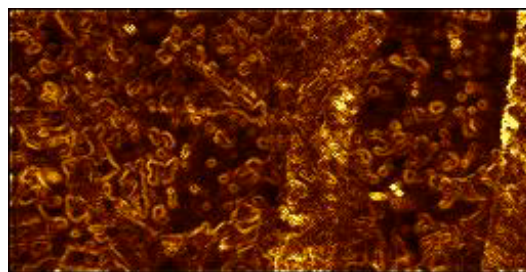


Fig. 3 局所 C-V データセットから得られた空間微分マップ

先述の Y 添加 HfO_2 薄膜に対する局所 C-V データセットに本解析手法を適用したところ、空間微分マップにおいて、明瞭な輝線構造が多数出現し、それらが閉じたループを形成するように分布していた。これらの輝線構造は、クラスタリングによる領域分割とは異なり、局所的な物性変化の急峻な遷移点を直接的に捉えており、実際のドメイン構造のような実体的な構造により強く対応していると考えられる。

本解析により、従来のクラスタリング手法では捉えきれなかった C-V 応答の急峻な変化領域を、非パラメトリックかつロバストに抽出する手法として、空間微分解析の有効性が実証された。

2.2. ナノスケール観察とセミマクロ計測を組み合わせたマルチスケール分析手法の確立

局所 C-V マッピング法は、ナノスケールでの分極反転挙動を可視化する強力な手法であるが、プローブ先端からの電界が非一様に広がるという計測原理上の特性により、得られた C-V カーブの定量的解釈には一定の制約がある^[12]。印加電圧値を膜厚値で除することで電界値を容易に算出できる平行平板キャパシタとは異なり、不均一な電界を印加したときに得られた応答信号からマクロ計測に対応した抗電界などの物性値を直接算出することは困難であり、ナノスケールで取得したデータをマクロ物性との定量的な比較を行う上での障壁となることがしばしばある。

そこで本研究では、電界分布の均一性を高めたセミマクロ的な計測手法として、上部電極付きのナノキャパシタ構造を作製し、これに対する局所 C-V 測定を行った。具体的には、Cr 下部電極付き LiTaO_3 単結晶基板上に、電子線リソグラフィにより直径 100~900 nm の Pt 上部電極をアレイ状に形成し、各サイズのナノキャパシタに対して C-V カーブを測定した。

得られた C-V カーブはいずれも強誘電体特有のバタフライ型を示し、その大きさは電極面積に比例して増大した。各 C-V カーブから往路・復路のピーク面積 (S_f, S_r) およびピーク電圧 (V_f, V_r) を抽出したところ、 $S_f + S_r$ は電極面積に対して明確な比例関係を示し、反転分極量に対応する指標であることが示唆された (Fig. 4)。一方、 V_f および V_r は電極サイズに依存せず、一定の値を示した。これは、ピーク電圧が抗電界の物性値を反映していることを示唆しており、局所 C-V 測定によりマクロ物性値と整合する定量情報が得られることを示している。

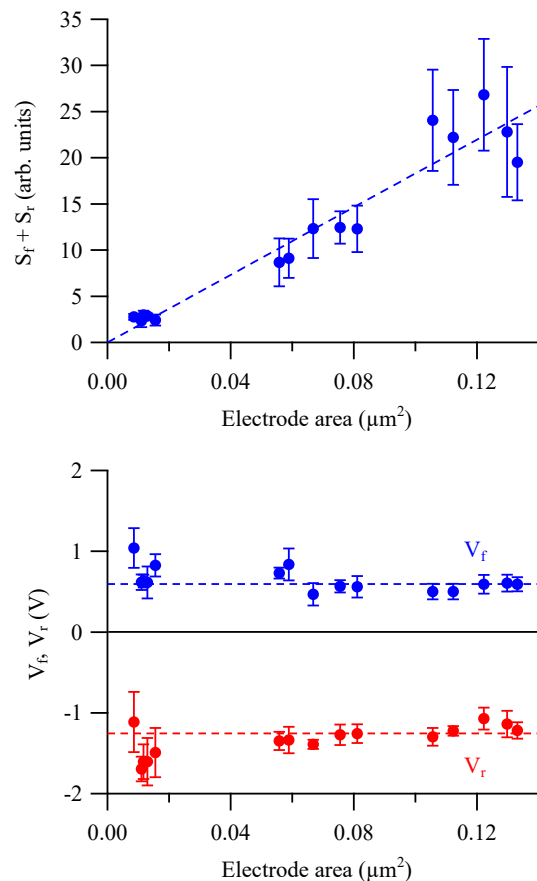


Fig. 4 ナノキャパシタの C-V カーブ形状と電極面積の関係：ピーク面積 ($S_f + S_r$) と電極面積の関係 (上) とピーク電圧 (V_f, V_r) と電極面積の関係 (下)

このように、ナノキャパシタ構造を導入することで、局所 C-V 測定とマクロ的な物性評価との橋渡しが可能となり、ナノとマクロのスケールを接続するマルチスケール解析の基盤が整備された。本手法は、ナノスケールで観測される分極挙動がデバイススケールでの性能にどのように関与しているのかを評価する上で有効であり、今後の強誘電体材料の設計指針構築に大きく貢献するものと期待される。

2.3. 複合型局所 C-V マップ測定システムの開発

局所 C-V マッピング法と圧電応答顕微鏡(PFM)^[13]は、ともに強誘電体のナノスケール解析に有効な手法であるが、それぞれ観測対象とする物理量が異なり、相補的な特徴を有している。そこで本研究では、両手法を統合した SNDM-PFM 複合計測システムを構築し、Y 添加 HfO₂ 薄膜を対象としてその有用性を検証した。まず、PFM により分極の y 方向成分を可視化したところ、空間的に不均一なドメイン構造が観察された(Fig.5)。一方、同一領域における局所 C-V マッピングでは、2 ω 像から分極反転の有無に対応する空間分布が得られ、その各点では多様な C-V 応答が確認された。

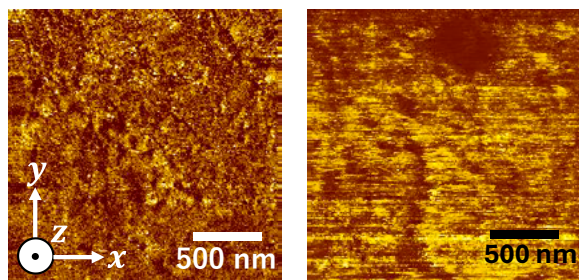


Fig. 5 Y 添加 HfO₂ 薄膜の圧電応答顕微鏡像 (左) と局所 C-V データセット 2 ω 像 (右)

得られた C-V カーブから抽出した特徴量($S_f + S_r$)と PFM 信号強度との関係を解析した結果、両者間に明確な線形相関は見られなかったが、分極方向や反転挙動の局所的不均一性が複雑に絡み

合っていることが示唆された。これは、初期分極状態や結晶配向、局所的な相構造など、複数の因子が分極反転特性に影響している可能性を示すものである。今後、分極 x 方向成分や z 方向成分の PFM 信号を含めた多次元的解析へと展開することで、ドメインダイナミクスの理解が一層深まることが期待される。

3. 結論

本研究では、局所 C-V マッピング法を中核技術として、機械学習的解析および複数スケールの計測技術や他の計測手法を融合することで、強誘電体のドメインダイナミクスを多角的に分析するための新たな手法を確立した。まず、C-V カーブの形状に基づくクラスタリング解析により、対称・非対称・非スイッチングといった多様な分極応答を空間的に分類し、HfO₂ 薄膜内の局所的な分極挙動の偏在性を明らかにした。次に、クラスタ分布とグレイン境界との統計的相関解析により、非対称応答の発現にグレイン境界が寄与することが示唆されたが、その影響は限定的であることも判明した。さらに、空間微分手法を導入することで、従来手法では捉えにくかった“動的ドメイン境界”の可視化に成功した。加えて、ナノキャパシタ構造を用いた C-V 測定によって、局所計測とマクロ物性との整合性が実証され、スケールを横断した解析の有効性が示された。最後に、SNDM と PFM を統合し、分極方向と反転特性を同一領域で取得することが可能な計測システムを構築した。これら一連の成果は、強誘電体材料の多様な構造—物性相関の理解に向けた強固な解析基盤を提供するものである。

4. 参考文献

- [1] W. Banerjee, “Challenges and Applications of Emerging Nonvolatile Memory Devices,”

- Electronics 9(6), 1029 (2020).
- [2] W. Jo, R. Dittmer, M. Acosta, J. Zang, C. Groh, E. Sapper, K. Wang, and J. Rödel, “Giant electric-field-induced strains in lead-free ceramic actuator applications – status and perspective,” *Journal of Electroceramics* 29(1), 71–93 (2012).
- [3] E.K. Akdogan, M. Allahverdi, and A. Safari, “Piezoelectric composites for sensor and actuator applications,” *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 52(5), 746–775 (2005).
- [4] Y. Satoh, T. Nishihara, T. Yokoyama, M. Ueda, and T. Miyashita, “Development of Piezoelectric Thin Film Resonator and Its Impact on Future Wireless Communication Systems,” *Japanese Journal of Applied Physics* 44(5A), 2883–2894 (2005).
- [5] T. Schenk, M. Hoffmann, J. Ocker, M. Pešić, T. Mikolajick, and U. Schroeder, “Complex Internal Bias Fields in Ferroelectric Hafnium Oxide,” *ACS Applied Materials & Interfaces* 7(36), 20224–20233 (2015).
- [6] Y. Hiranaga, T. Mimura, T. Shimizu, H. Funakubo, and Y. Cho, “Local C–V mapping for ferroelectrics using scanning nonlinear dielectric microscopy,” *Journal of Applied Physics* 128(24), 244105 (2020).
- [7] Y. Hiranaga, T. Mimura, T. Shimizu, H. Funakubo, and Y. Cho, “High-precision local C–V mapping for ferroelectrics using principal component analysis,” *Japanese Journal of Applied Physics* 60(SF), SFFB09 (2021).
- [8] Y. Hiranaga, T. Mimura, T. Shimizu, H. Funakubo, and Y. Cho, “Nanoscale mapping to assess the asymmetry of local C–V curves obtained from ferroelectric materials,” *Japanese Journal of Applied Physics* 61(SN), SN1014 (2022).
- [9] B.J. Rodriguez, Y.H. Chu, R. Ramesh, and S.V. Kalinin, “Ferroelectric domain wall pinning at a bicrystal grain boundary in bismuth ferrite,” *Applied Physics Letters* 93(14), 142901 (2008).
- [10] T. Nattermann, Y. Shapir, and I. Vilfan, “Interface pinning and dynamics in random systems,” *Physical Review B* 42(13), 8577–8586 (1990).
- [11] D.M. Marincel, H.R. Zhang, J. Britson, A. Belianinov, S. Jesse, S.V. Kalinin, L.Q. Chen, W.M. Rainforth, I.M. Reaney, C.A. Randall, and S. Trolor-McKinstry, “Domain pinning near a single-grain boundary in tetragonal and rhombohedral lead zirconate titanate films,” *Physical Review B* 91(13), 134113 (2015).
- [12] M. Molotskii, “Generation of ferroelectric domains in films using atomic force microscope,” *Journal of Applied Physics* 97(1), 14109 (2005).
- [13] N. Balke, I. Bdikin, S.V. Kalinin, and A.L. Kholkin, “Electromechanical imaging and spectroscopy of ferroelectric and piezoelectric materials: State of the art and prospects for the future,” *Journal of the American Ceramic Society* 92(8), 1629–1647 (2009).

5. その他成果発表等

- Y. Hiranaga, Y. Noguchi, T. Mimura, T. Shimizu, H. Funakubo, and Y. Cho, “Data-Driven Analysis of High-Resolution

- Hyperspectral Image Data Sets through Nanoscale Capacitance–Voltage Measurements to Visualize Ferroelectric Domain Dynamics,” ACS Applied Nano Materials 7(8), 8525–8536 (2024).
- Yoshiomi Hiranaga, Yuki Noguchi, Takanori Mimura, Takao Shimizu, Hiroshi Funakubo and Yasuo Cho, “Research on Correlation Between Grain Boundaries and Ferroelectric Switching Behaviors Through Statistical Analysis of Local C-V Map Datasets,” 2023 ISAF-ISIF-PFM Joint Conference, Cleveland, 2023/07/24.
 - Y. Hiranaga, “Visualization of Nanoscale Ferroelectric Domain Dynamics Based on Local Capacitance Measurements,” JAIST International symposium of Nano-Materials for Novel Devices, 金沢, 2024/01/11.
 - Yoshiomi Hiranaga, Takanori Mimura, Takao Shimizu, Hiroshi Funakubo, Yasuo Cho, “Analysis of Nanoscale Ferroelectric Domain Dynamics Based on Image Processing of Local C-V Maps,” 2024 IEEE Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control Joint Symposium, Taipei, 2024/09/24.
 - Yuki Noguchi, Takanori Mimura, Takao Shimizu, Hiroshi Funakubo, Yoshiomi Hiranaga, “Development of Integrated Measurement System for Local C-V Mapping and Piezoresponse Force Microscopy,” 2024 IEEE Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control Joint Symposium, Taipei, 2024/09/25.
 - Yoshiomi Hiranaga, Yuki Noguchi, Takanori Mimura, Takao Shimizu, Hiroshi Funakubo, and Yasuo Cho, “Multivariate Statistical Analysis of High-Resolution Hyperspectral Image Datasets Using Nanoscale Capacitance–Voltage Measurements for Ferroelectric Thin Film Characterization,” 2024 MRS Fall Meeting & Exhibit, Boston, 2024/12/03.
- ## 6. 謝辞
- 本研究は、島津科学技術振興財団の助成金によるご支援の下で実施致しました。心より感謝申し上げます。

発行者 公益財団法人 島津科学技術振興財団

〒604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町1番地

電話 (075) 823-3240 FAX (075) 823-3241

<https://www.shimadzu.co.jp/ssf/>

E-mail : admin@ssf2012.onmicrosoft.com

発行日 2025年8月20日

印刷所 株式会社島津総合サービス

公益財団法人

島津科学技術振興財団

〒604-8445 京都市中京区西ノ京徳大寺町 1 番地

Tel 075-823-3240

Fax 075-823-3241

URL <https://www.shimadzu.co.jp/ssf>

E-mail admin@ssf2012.onmicrosoft.com