

HITACHI
Inspire the Next

S CIENTIFIC
I NSTRUMENT
NEWS

SEPTEMBER 2024

Vol. **67** No.2

September 2024
Vol.67 No.2

«コラム

5898

分離場における相(phase)と界面(interface), そして分配(partition)と吸着(adsorption)

渡川 雅美

«研究報文

5901

同一切片から広がるマルチモードなtranslational pathologyに向けて

河崎 秀陽

5908

感染対策最前線の現場から—衛生研究所での電顕活用—

左近 直美

5912

フィジカル技術とデジタルで挑戦するサーキュラーエコノミーイノベーション

谷口 伸一

«技術解説

5919

EM Flow Creatorを用いたSEM観察フローの自動化

設楽 宗史

5924

日立アミノ酸分析計の進化—アジア初から認定化学遺産第066号まで

伊藤 正人, 源 法雅, 井上 陽子

«インタビュー

5930

自動車のタイヤ用合成ゴム技術にイノベーションを
～その可能性をもたらすMIと分析装置～

井上 芳久

«セミナーレポート

5935

第33回日本医療薬学会年会 メディカルセミナー10

「うちでもデキル!」「私でもデキル!!」タイムリーなTDM の実践!!! Part2

座長: 石井 伊都子

演者: 阿部 裕子, 森川 剛

5942

第51回日本集中治療医学会学術集会 教育(ランチョン)セミナー28

集中治療領域のTDM最前線

座長: 橋本 英樹

演者: 尾田 一貴, 橋本 英樹

分離場における相(phase)と界面(interface), そして分配(partition)と吸着(adsorption)



埼玉大学大学院理工学研究科
名誉教授

渋川 雅美 理学博士

化学物質の分離法は、「二相間分配平衡または相と界面との間の吸着平衡を利用する分離」と「単一相において外部から物理的な力(外場(outer field)とも呼ばれる)を印加することによって行なう分離」の二つに大別される。蒸留法、沈殿法、液液抽出法、各種のクロマトグラフィーなどは前者に、また電気泳動法、超遠心法、フィールドフローフラクショネーションなどは後者に属する分離法である。このうち、現在多くの物質分離、特に分取目的の分離に関しては、ほとんどが前者の方法で行われている。

さて、前者の分離法においては、「相」および「界面」が分離場を構成することになる。したがって、「相」や「界面」の構造と物性(特に溶質分子との相互作用)が明らかにされていないと、分離機構を知ることができず、選択した分離法でどの程度の分離が達成できるのか(分離度や分離係数など)を予測することができない。では、「相」と「界面」はどのように定義されているのだろうか。標準化学用語辞典(第2版, 日本化学会編, 2005年)によると、「相」は「物質系において、物理的および化学的な性質が均一で、他の部分とははっきりした境界で区別される部分」、また「界面」は「気体、液体、固体のうちの二つの相が接するとき、相と相の間にできる境界面」と定義されている。

ここでまず一つの疑問が生じる。すなわち、いったいどれだけの分子が集合すれば「相」を形成していると言えるのかということである。蒸留や液液抽出を考えると、分離場となっている「相」は通常目に見えているので(あるいは目に見える大きさなので)、大きさを意識することはあまりない。しかし、クロマトグラフィーではそう簡単ではなくなる。たとえば、固体充填剤を充填したカラムを用いる液体クロマトグラフィー(LC)では、移動相と固定相との間の分子やイオンの分配で分離が説明されるが、固定相はもちろん、場合によっては移動相も頭の中で想像しているだけのことが多く、その大きさを正確にとらえていることは少ない。

「相」を定義するにあたって、化学大辞典(東京化学同人, 1989年)ではその大きさについて次のように触れている。「ある熱力学的系のどの部分も同じ物理的・化学的性質をもつ場合、全体を一つの相とよぶ。相は見かけの大きさには無関係であるが分子の単位以下には細分しない。」つまり、「相」は分子やイオンの集合体となってはじめて気体、液体、固体という性質を示すのであるから、分子1個では「相」とはよべないわけである。しかし、これは相を形成するのに必要な分子が1個以上であることを述べているだけで、前述の疑問に答えてはいない。分子1個はもちろんであるが、2個や3個集まっても「相」を形成しているとは到底言えないであろうことは想像に難くない。かつて35年以上も前になるが、日本化学会が主催した若手研究者向けの講座があり、それに参加した折に講師の先生(高分子物理の専門家であったと記憶している)に、この疑問をぶつけたことがあったが、先生も明確なお答えはできないと言いながら、Stirlingの公式(解析学や統計力学で学ぶ近似公式)が成り立つくらいの数の分子が集まれば「相」と言ってよいのではないかという研究者が海外にいと教えてくださった。実際にこの式を使ってみるとわかるが、分子数10を少し超える程度でそこそこ近似が成立する。しかし、どの程度まで(たとえば何桁まで)一致すればStirlingの公式が成り立つと言えるのかという問題が次に生じてくる。結局のところ、これも物理化学的に明確な根拠があるわけではないので、すべての系にあてはまる定義を定めることはできないということになるのだろう。

LCを例にとると、それでも移動相は「相」としてイメージできる。カラムに入る前の溶液(移動相)が瓶の中に入っているのを見ているからである。したがって、カラム内に入った後でも、少なくとも充填剤粒子間あるいはモノリスカラムであればマクロ孔内では、移動相は瓶の中に存在しているときと同じ状態を保っていると考えるのは妥当であろう。しかし、どのよう

な固定相がカラム内で構成されているのかをイメージするのは容易ではない。カラムに充填する材料(充填剤)が、カラム内で移動相液体と接した後も形を変えずにそのまま固定相になるわけではないからである。ここで考えなくてはならないのが充填剤と移動相液体が接することによって生じる「界面」の構造と大きさである。「界面」は上述したように相と相との境界面として定義されるので、その字句通りに理解すれば、「2次元」であり厚さはないことになる。前述の化学大辞典にも、「物質の表面や界面が内部と異なる性質をもつことに注目するならば、それら(およびそこに吸着する分子の集まり)を通常の相と区別して2次元の相と考えることができる。」という記載がある。

「相」には厚さがあるが、「界面」にはないという描像が、「分配」と「吸着」の区別を生み出す。「分配」は溶質分子が2つの相間を移動する現象で、溶質分子はそれぞれの相の中では相を構成する分子に完全に取り囲まれている状態であるのに対して、「吸着」は2相間の界面に一方の相から溶質分子が集まる(正吸着)あるいは界面から遠ざけられる(負吸着)現象であると説明される。したがって、例えば液相中の溶質分子が固体表面(液固界面)に正吸着する場合には、溶質分子は界面にもともと存在していた溶媒分子と置換すると考える。しかし、このように単純化したイメージでは、LCはもちろん、液液抽出でも界面が非常に大きくなる場合(マイクロ液滴を用いる場合など)における分離現象を説明することはできない。

例として、親水性と疎水性の固体が水と接する場合を分けて考えてみよう。固液および液液界面は、特に水試料中の化学物質の分離においては、最も多用される分離場の一つであり、LCや固相抽出(SPE)は、界面を主要な分離場の一つとして用いる分離法の代表例である。水との間に界面をつくり出す分離材料としては、多くの種類のものが使用されている。それらの材料が水と接したとき、その表面がどのような状態になるのかは一義的には決まらない。たとえば、デキストランやポリアクリルアミド、ポリエチレングリコールなどの親水性高分子材料を基材あるいは表面被覆材料として用いたカラム充填剤・固相抽出剤では、水と一部または全部が混和して液相を形成し、これが分離媒体として機能する¹⁻³⁾。この場合、高分子材料は共有結合によって架橋または固定されているので水相に溶け出すことはなく、固定化された液相として振舞う。ただし、形成した液相は必ずしも水分子とのランダムな混合物ではなく、一定の構造を有していることがある⁴⁾。このような場合、固定相として作用する高分子溶液相の厚さは架橋高分子ゲルの場合では水で膨潤したゲル本体の大きさ(LC充填剤の場合は数 μm ～数十 μm)になることもあるので、吸着よりは分配のイメージに近くなる。

一方、疎水性物質の表面に水を置くと丸い水滴となる。これは、水分子どうしが水素結合によって強く引きつけあうことによるが、裏返すと疎水性表面との接触を水分子が嫌うことによるともいえる。したがって、疎水性物質表面に強制的に水を接触させると、より明確な境界面を水相との間に形成することになる。このような系は、逆相LCにおいて最も汎用される C_{18} 結合シリカ(オクタデシルシリル基を表面化学修飾したシリカゲル)を充填したカラムに高圧で水を通液することによってつくり出すことができる(ただし、通常の逆相LCでは純水を移動相として用いることは少なく、メタノールやアセトニトリルを添加した水溶液が使用される)。しかし、疎水性材料表面近傍の水の物性や構造はバルク水とは大きく異なっていることが多くの研究によって示されている。すなわち、界面に接する水分子同士の水素結合あるいは水分子の配向が変化し、疎水性表面においては、水は特異的な構造をとる^{5,6)}。したがって、疎水性材料と水との間には2次元界面が存在するといえるが、界面近傍の水は、界面から遠く離れた位置にある水とは異なる液相を形成している(ただし、 C_{18} 結合シリカ表面は一般に平面ではなく、凹凸をもっている)。これを分離の対象である溶質分子から見ると、界面に対して垂直方向に構造が変化する液相水(界面水)が、ある一定の厚さをもって存在していることになり、分子が界面にまで到達しなくても、その領域に入り込むことがマクロの目では吸着とみなされることになる。

筆者らは、イオンをプローブとして C_{18} 結合シリカと水との界面における界面水の厚さを測定し、約1.3 nmという値を得た⁵⁾。これは水分子にして4～5層の厚さに相当するが、この値はイオンや分子が界面水を感じる、あるいは疎水表面を認識する距離を示しているといえる。図1に水と C_{18} 結合シリカが接したときの界面近傍におけるメタノール、ニトロメタン、およびベンゼンの分布を界面水の厚さとともに模式的に示す⁷⁻¹⁰⁾。興味深いことに、メタノールはバルク水と界面水に主に存在するのに対して、ベンゼンは界面水とアルキル鎖層内に存在することが明らかになった。一方、ニトロメタンはバルク水と界面水に加えてエンドキャップされたシリカ表面にも分布することがわかった。一方、強く水和する無機イオンは界面水に入り込むことができず、いわゆる負吸着とよばれる現象を示す⁵⁾。これらの結果は、最近報告された分子動力学計算の結果ともよく一致している¹¹⁻¹³⁾。

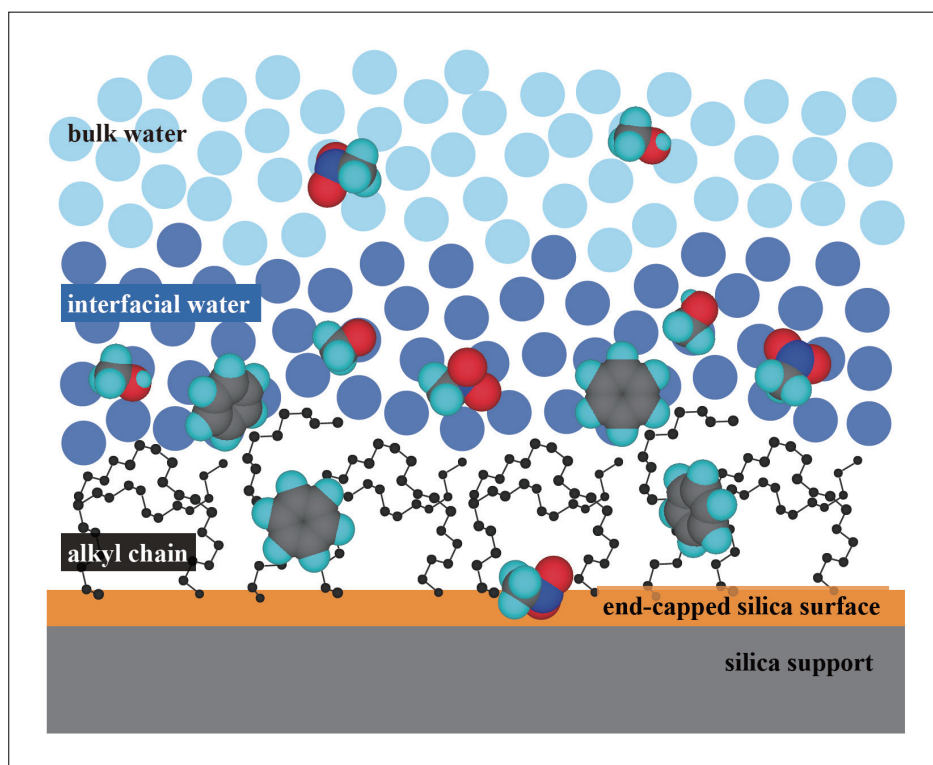


図1 水/C₁₈結合シリカ界面における界面水と溶質の分配挙動

このように、2相が接する界面の存在によって、その近傍の「相」の構造が変化すること、および変化する界面近傍の相の厚さは溶媒の種類や混合溶媒の場合はその割合にも依存するが、少なくとも1～数 nm あることが明らかになった。筆者らは分子やイオンをプローブとして用いることによって界面計測を行っているが、和周波発生分光法など界面選択的な分光法のほか、原子間力顕微鏡による計測や分子動力学計算による研究も多く報告されており、種々の界面の描像が明らかにされつつある。研究の進展に伴って、「相」と「界面」、およびそれにともなって「分配」と「吸着」の概念も、両者を明確に区別する従来の考え方から変化していくと考えられる。

参考文献

- 1) M. Shibukawa, K. Aoyagi, R. Sakamoto, K. Oguma, *J. Chromatogr. A*, **832**, 17-27 (1999).
- 2) T. Baba, R. Sakamoto, M. Shibukawa, K. Oguma, *J. Chromatogr. A*, **1040**, 45-51 (2004).
- 3) M. Shibukawa, R. Ichikawa, T. Baba, R. Sakamoto, S. Saito, K. Oguma, *Polymer*, **49**, 4168-4173 (2008).
- 4) M. Shibukawa, T. Hirasawa, S. Saito, *Polymer*, **293**, 126668 (2024).
- 5) M. Shibukawa, Y. Kondo, Y. Ogiyama, K. Osuga, S. Saito, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **13**, 15925-15935 (2011).
- 6) 渋川雅美, ぶんせき, 21-27 (2012).
- 7) K. Nakamura, S. Saito, M. Shibukawa, *J. Phys. Chem. C*, **122**, 4409-4418 (2018).
- 8) K. Nakamura, R. Ubukata, H. Mizuno, S. Saito, M. Shibukawa, *J. Phys. Chem. C*, **122**, 28674-28683 (2018).
- 9) M. Shibukawa, H. Okutsu, S. Saito, *ACS Omega*, **7**, 15158-15166 (2022).
- 10) M. Shibukawa, *Anal. Sci.*, **39**, 791-813 (2023).
- 11) J. Rybka, A. Hölzel, A. Steinhoff, U. Tallarek, *J. Phys. Chem. C*, **123**, 3672-3681 (2019).
- 12) J. Rybka, A. Hölzel, N. Trebel, U. Tallarek, *J. Phys. Chem. C*, **123**, 21617-21628 (2019).
- 13) A. Steinhoff, A. Hölzel, N. Trebel, U. Tallarek, *J. Phys. Chem. B*, **126**, 10554-10568 (2022).

同一切片から広がるマルチモードなtranslational pathologyに向けて

Towards Multimodal Translational Pathology Expanding from a Single Slice



浜松医科大学 光医学総合研究所
先端生体イメージング研究部門
ナノスーツ開発研究分野
分野長

河崎 秀陽 博士(医学)

1. はじめに

光学顕微鏡を利用した組織学的検索は、生命科学や診断医学にとって欠かせない手法である。ほとんどのホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織切片はヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色され、病理医が観察して病理診断が行われている。この手法は100年以上続けられ、膨大な知識の蓄積とともに病気の診断・分類が行われ、組織切片スライドガラスの量は天文学的な数に上っている¹⁾。免疫組織化学染色も1940年代ころから開発され、特異的な抗体を用いてタンパク質の局在を明らかにし、現在の病理診断では欠かせない手法となっている。光学顕微鏡による観察は迅速・簡便で、色彩豊か(カラー)であることが特徴だが、解像度は比較的低い。

透過型電子顕微鏡 (TEM) を中心とする超微細形態情報は、確定診断、疾患の進行度や予後の判定において重要な意義を持つ。しかし、電子顕微鏡観察には様々なデメリットがある。HE 染色と同一切片による光 - 電子相関顕微鏡法 (Correlative light and electron microscopy: CLEM) 画像を取得しようとすると、トリミングや特殊な染色などで不可逆的に組織切片を取り扱わなくてはならない、専門的な知識と技術が必要、観察までに時間がかかる、病変の同定が難しい、電顕画像の解析が容易ではない、などの理由で実際の医療現場では電顕診断が普及していない。世界に膨大に存在する HE 染色を中心とした FFPE 切片を、非破壊的かつ可逆的に電子顕微鏡観察する方法は今までなかった。

筆者は生物適合性高分子溶液(ナノスーツ液)と走査型電子顕微鏡 (SEM) を使用して、光学顕微鏡で同定した組織切片病変を「非破壊的」かつ「高解像で立体的」に観察することに成功した²⁾。この方法により、世界中に現存する膨大な病理標本を失うことなく、同一切片同一部位のマルチモードな光 - 電子相関顕微鏡法 CLEM 観察への道が開かれた。本稿では、(株)日立ハイテクの電界照射型電子顕微鏡 (Field Emission-scanning electron microscopy, 以下 FE-SEM と略) (S-4800) と卓上型の低真空走査電子顕微鏡 (Low-vacuum Scanning Electron Microscope, 以下 LV-SEM と略) (TM4000) を利用した報告例を紹介し、同一切片から広がる「マルチモードな translational pathology に向けた」技術の可能性について述べる。両 SEM 機器とも、スライドガラスを破壊せず(切断せず)にそのまま使用できる大きなチャンバーを備えていたことは、これから紹介する技術の発展を加速させる大きな要因となった。

2. ナノスーツ法を利用したFFPE切片の光-電子相関顕微鏡法(CLEM)観察法

ナノスーツ法は、浜松医科大学で独自に開発された技術で、試料周辺にナノ薄膜を短時間で形成することにより、生きたままの高分解能 SEM 観察を可能にする方法である。針山らは、ショウジョウバエの幼虫が細胞外に分泌し体表面を保護する粘性の細胞外物質 (ECS: Extra Cellular Substance) に電子線やプラズマを照射することで、高真空下環境下でも乾燥することなく生きた状態で SEM 観察が可能であることを発見した³⁾。電子線あるいはプラズマ照射によって ECS が重合することでナノ薄膜が形成され、生体内部に含まれる気体や液体が高真空環境下でも保持されたためである。

バイオミメティクスの発想から、ECS を模倣する界面活性剤などの生体適合性物質を選択し、プラズマ重合することで生体表面にナノ薄膜を形成する技術が開発された。これにより、生物の表面微細構造や運動を SEM 内で生きたまま観察することが可能になった。また、グリセリンなどを主成分とする Surface Shield Enhancer (SSE) の開発にも成功した⁴⁾。この SSE は生体親和性があり、細胞や組織でも使いやすい溶液であり、薄膜でも蒸発を防ぎ、導電性を確保するため様々な研究分野に応用が可能である。

病理診断では光学顕微鏡で同定した部位をより高倍で観察する必要があることがあり、最近では超解像蛍光顕微鏡を

使用して大腸癌⁵⁾や乳癌⁶⁾のFFPE切片解析の報告がある。しかしこの方法は蛍光染色が必須の条件のため一般のHE染色切片には応用できない。そのために超高倍率の観察には電子顕微鏡は不可欠なツールである。最近ではLV-SEMを利用して、腎臓を中心としたパラフィン切片の解析が行われるようになり、腎生検LV-SEM研究会での活発な議論がなされている。従来法では、既存のHE染色組織切片をそのままSEM観察することは通常なく、連続切片を金・炭素・オスmium蒸着処理し導電性付与後に不可逆的に電子顕微鏡観察する。通常の蒸着処理では切片が完全に乾燥してしまい本来の含水状態の組織構築は失われてしまう。更に一度蒸着・乾燥した切片にHE再染色すると色合いが変化してしまい、元の状態に戻すことが困難であった。しかし、ナノスーツ液を利用することで、これらの問題を解決する糸口が開かれた。

同一切片同一部位を観察する際、SEM像は高倍率かつモノクロであるため、同一病変部位を見つけるまでに多くの時間と労力を必要とする。それを解決するためには切片に位置情報の付与が必要である。その行程は以下の通りである。組織切片上の関心のある箇所を特定、ガラスの裏面にマーキング後、光学顕微鏡による病変部デジタル画像を取得する。カバーガラスをキシレンで外し、親水化後にナノスーツ液を塗布し、スピコートで薄膜化する。薄膜形成後は特定した部位周辺に別途高濃度ナノスーツ液を滴下しマーキングする²⁾。この方法でSEMに移動しても容易に関心のある同一箇所を見つけることができる。以上の作業により既存のHE標本を簡便にCLEM観察することが可能となる(図1A)。

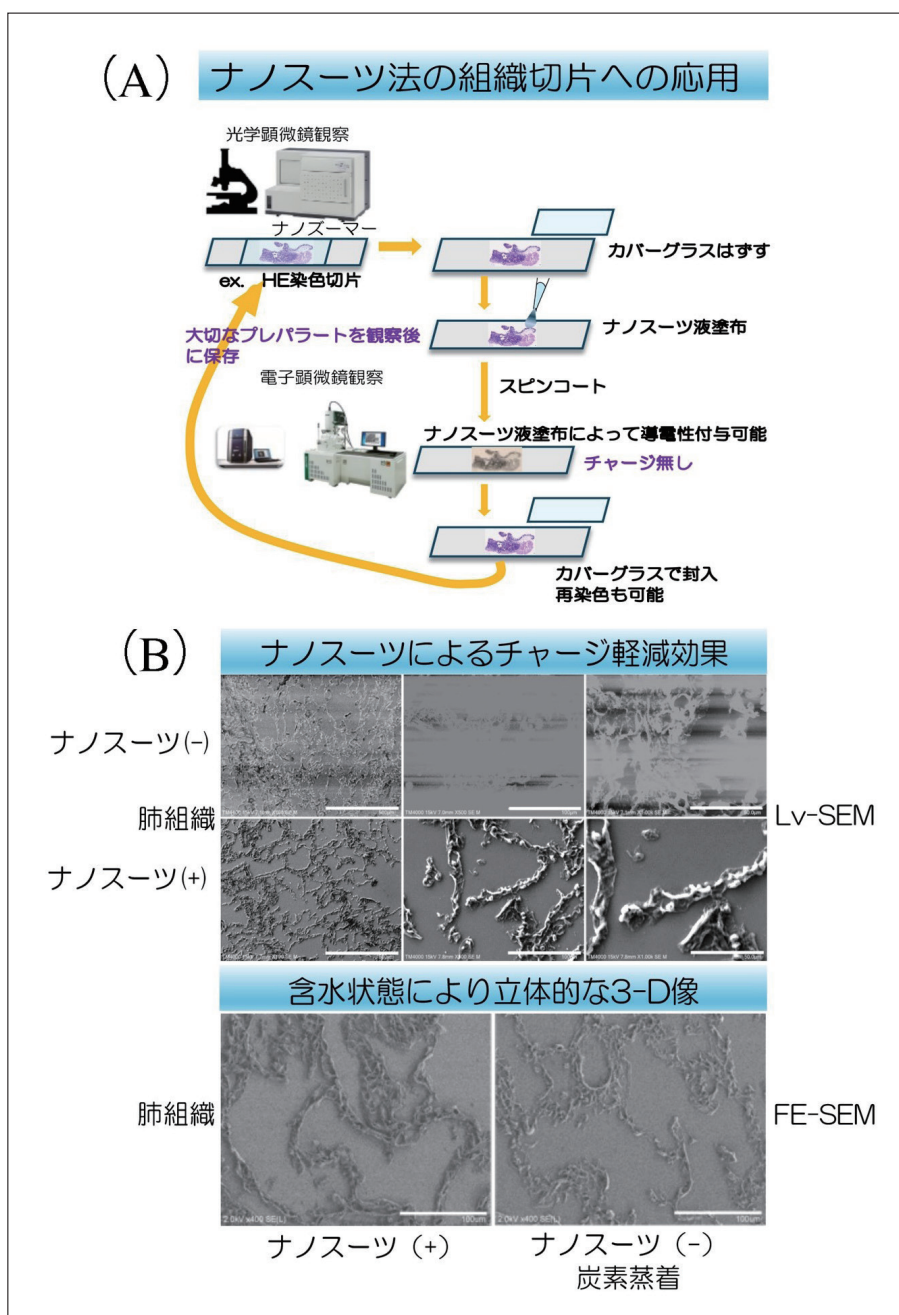


図1 FFPE切片におけるナノスーツ-CLEM法

A: ナノスーツ-CLEM法の作業手順。

B: ナノスーツによるチャージ軽減効果(LV-SEM)と含水状態組織像(FE-SEM)(二次電子モード)。

Lab Invest. 2020;100(1):161-173.の図を改変。CC-BY-4.0の下で使用²⁾。

ナノスーツ膜は絶縁体であるガラス上にある組織切片に導電性を付与するためチャージ(帯電現象)軽減効果がある。これにより、よりクリアで高分解能なSEM画像を得ることができ、含水状態の組織像を観察することができる(図1B)。またSEM観察後でもナノスーツ液によるマーキングも除去できるなど同一切片を非破壊的に扱い、切片をもとの状態に戻すことができ、貴重な切片を失わないという利点がある。また光学顕微鏡像は二次元カラー像であり、同一切片の三次元情報と比較検討することで、新しい知見を得ることが容易になる。この技術は特許出願後(特許第7089756号)に論文発表し「advanced in translational pathology」の一つとして紹介された²⁾。

3. ナノスーツ-CLEM法を用いたFFPE切片微細構造観察

病理診断では光学顕微鏡で同定した部位をより高倍で観察する必要があることがある。ウイルスやある種の細菌は光学顕微鏡では病原体としてとらえることができないほど小さく、電子顕微鏡を用いた高倍率観察を必要とする場合がある。このため、ナノスーツ-CLEM法を用いて真菌、細菌、ウイルスを観察した。

まずアスペルギルス肺患者の標本を光学顕微鏡とFE-SEMを用いてナノスーツ-CLEM法で比較検討した。光学顕微鏡で観察されたアスペルギルス菌体やその周囲の淡い好酸性フィブリン様物質(図2A)は、SEMの二次電子モード(SEモード)によって明瞭かつ立体的に視覚化でき、その拡大像では胞子嚢、細胞壁、中隔、核の立体構造が描出された(図2B, C)。また、細菌コロニーの同定に難渋することがあるが(図2D)、ナノスーツ-CLEM法を利用して細菌塊の部分を観察すると立体的な桿菌の集合像が認められた(図2E, F)。これは培養検査により *Aeromonas hydrophila* と同定された。さらに、本法は光学顕微鏡では可視化不可能なウイルス粒子の同定に強力なツールとなる。サイトメガロウイルス(CMV)感染患者の腎臓に生じた巨細胞封入体(図2G)の付近には、CMVに相当する粒子(100 ~ 300 nm)が多数見られた(図2 H, I: 白矢印)。

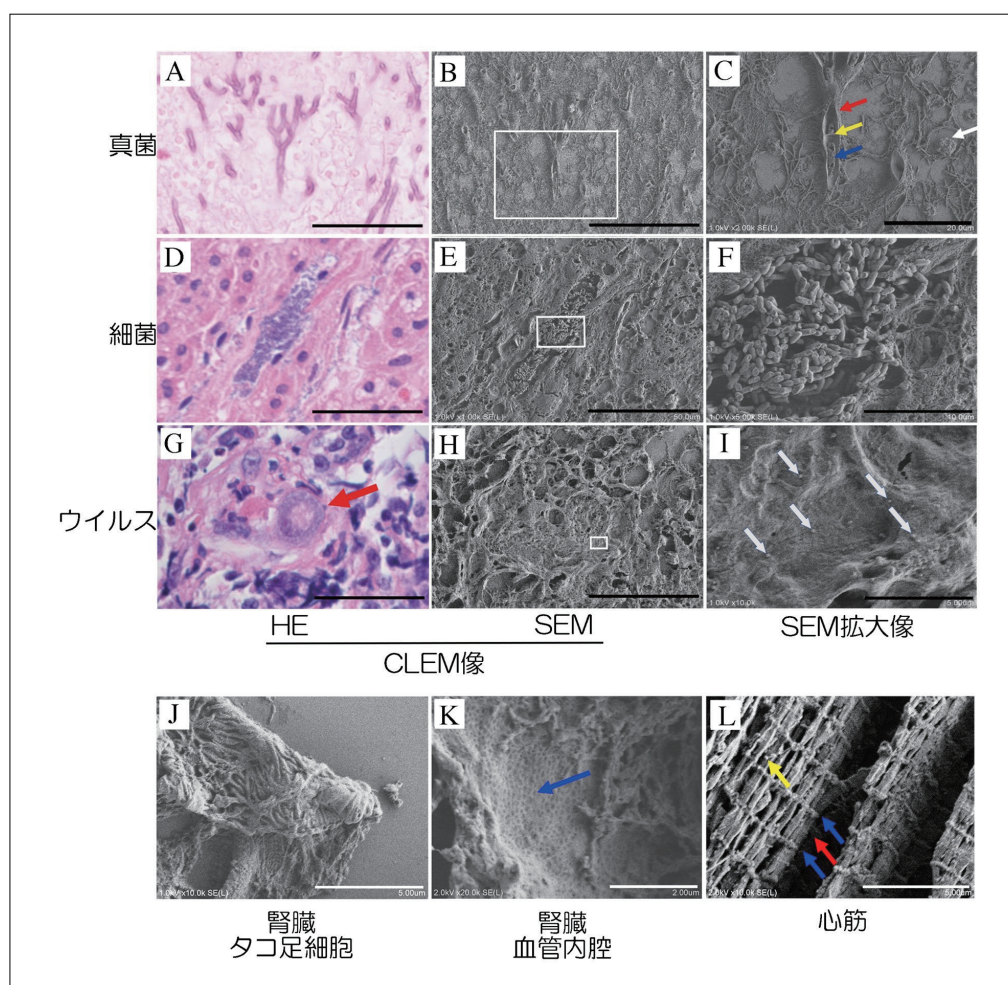


図2 FFPE切片におけるCLEM高解像SEM像(二次電子モード)

A-C: 肺アスペルギルス, A: HE像, B: AのCLEM-SEM像, C: B□部分を拡大SEM像, 白矢印: 胞子, 赤矢印: 細胞壁, 青矢印: 隔壁, 黄矢印: 核。 **D-F:** 細菌(*Aeromonas hydrophila*), D: HE像, E: DのCLEM-SEM像, F: E□部分を拡大SEM像。 **G-I:** サイトメガロウイルス(CMV), G: CMV巨細胞封入体HE像(赤矢印), H: GのCLEM-SEM像, I: H□部分を拡大SEM像, CMV粒子(白矢印)。 **J:** 腎臓糸球体タコ足細胞。 **K:** 腎臓血管内皮表面, 青矢印陥凹部。 **L:** 心筋の組織微細構造像, M line(赤矢印), Z line(青矢印), ミトコンドリア(黄矢印)。 Lab Invest. 2020;100(1):161-173.の図を改変。CC-BY-4.0の下で使用²⁾。

病原体以外にも光学顕微鏡でとらえた病変の微細構造を観察する必要性は常にある。我々はナノスーツ-CLEM 法により光学顕微鏡ではとらえることができない同一切片同一部位の組織微細構造を観察できることを報告した。具体的には、腎臓糸球体タコ足細胞(図2J)や有窓毛細血管の凹凸構造(図2K)も明瞭に描出できた。心筋線維を観察すると筋原線維の線条パターン(Iバンド内 Z line と Aバンド内 M line) および球状ミトコンドリアの立体像をとらえることができた(図2L)。またここでは示さないが、光学顕微鏡では不明瞭な細胞突起構造、細胞質内空胞、組織間線維などの明瞭な立体組織像の観察にも成功している。さらにヒト唾液腺腫瘍⁷⁾、肺小細胞癌⁸⁾には一次繊毛を有するものがあることを、免疫組織化学的解析とナノスーツ-CLEM 法を用いて明らかにした。

しばしば FFPE 組織切片の作成過程では固定、パラフィン包埋、親水化、脱水を繰り返し、場所によって微細構造が破壊されている部分がある。壊死部分を避け、十分に固定され、パラフィン充填されている場所であれば微細構造が保持され、走査型電子顕微鏡で確認できる。本法により様々な疾患の微細構造変化をナノスーツ-CLEM 法により発見できる可能性があり、新たな病理機序の解明につながると期待される。

4. 免疫染色DAB発色後のSEM観察

病理診断において、免疫染色はタンパク発現部位検出するための常套手段となっている。その発色のほとんどは DAB(3,3'-ジアミノベンジジン) 染色で行われている。塩化金やオスmium酸 (OsO_4) は高親和性に DAB に結合することができるため、DAB 染色部位を重金属で増感することが可能である。ナノスーツ膜は電子線のある程度透過させることができるため、SEM 観察で DAB/ 塩化金や DAB/ OsO_4 陽性部位を反射電子(後方反乱電子, backscattered electron (BSE)) 像で高コントラスト領域として観察することができる。

我々の研究室は FFPE 切片における Human papilloma virus^{9, 10)}, CMV⁹⁾, Varicella-Zoster virus (VZV)⁹⁾, SARS-CoV-2(unpublished) のウイルス粒子構成蛋白に対して免疫染色を行い DAB 発色をおこなった。その後 2% OsO_4 を DAB と反応させ、FE-SEM で DAB/ OsO_4 陽性部位を観察した。図3には VZV ウイルス粒子の観察例を示す。VZV 感染患者の皮膚水疱病変部および表皮下領域に VZV 抗原陽性(DAB 陽性)となった(図3A)。ナノスーツ-CLEM 法を用いた SEM 観察では DAB/ OsO_4 領域が BSE mode で白色領域として強調された(図3B)。拡大された領域には複数の白い点のスポットが見られ(図3C), 拡大画像には複数の粒子(矢頭)(図3D, E)が含まれていた。DAB/ OsO_4 染色陰性領域にはウイルス粒子様構造は見られなかった。形状、直径(150-200 nm), および電子増強信号(矢頭)の特徴から VZV 粒子と判断された。オスミウムコートでも VZV 粒子(矢頭)は描出されたが、ややコントラストが低いことが示された(図3F)。図3C に対応する CLEM-

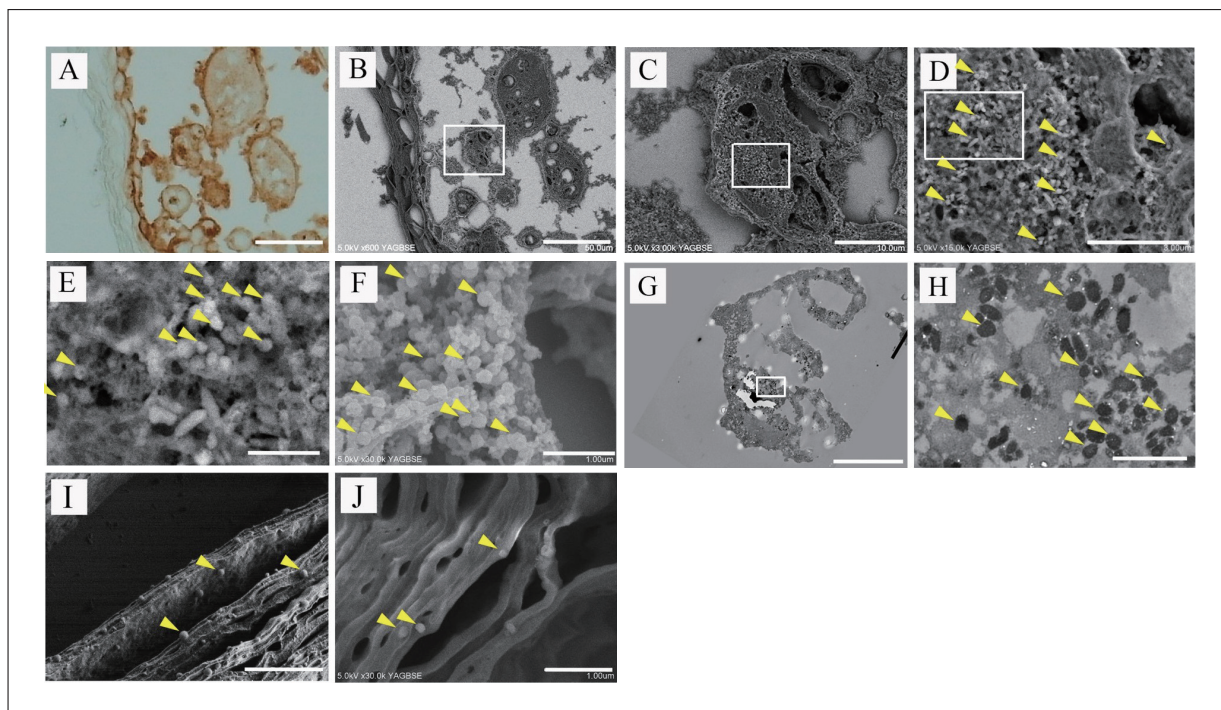


図3 Varicella-Zoster virus(VZV)の免疫染色CLEM像

A: VZV陽性DAB光顕像。B: AのCLEM-SEM像(反射電子モード(BSEモード))。DAB領域強調像(白色領域)。C: Bの□拡大像。D: Cの□拡大像。ウイルス粒子(黄矢頭)。E: Dの□拡大像。VZV粒子(黄矢印)。F: オスミウムコーティング像。G: Cに対応するCLEM TEM像。H: Gの拡大像。複数のVZV粒子(黄矢頭)。I: 表皮上の複数の孤立したVZV粒子(黄矢頭)。VZV粒子(黄矢頭)(二次電子モード)。J: DAB/ OsO_4 で強調された表皮上の複数の孤立したVZV粒子(黄矢頭)(BSEモード)。Lab Invest. 2023;103(1):100020の図を改変。CC-BY-4.0の下で使用⁹⁾。

TEM 画像には複数の VZV 粒子が観察される(図3G, H)。また水疱上皮表面にも、複数の孤立した VZV 粒子(矢頭)が二次電子モード(図3I)で見られると同時に、BSEモード(図3J)でも DAB/OsO₄ で強調された VZV 粒子が見られた(矢頭)⁹⁾。

5. ナノスーツ法を用いたFFPE切片元素分析(EDX)法

SEM は電子線を利用して試料表面の拡大像を観察する装置である。エネルギー分散型 X 線分析(EDX) 装置と組み合わせ特性 X 線を検出することにより、特定箇所の元素分析を行うことができる。病理医は HE 切片で異物沈着を発見し、その異物の元素を予想して特殊染色を行うことがある。ただし、この特殊染色は作業工程が複雑で経験が必要であり、かつ想定物質以外のものは特定できない欠点がある。Scimeca らは EDX 微量分析は組織および法医学における重金属の蓄積を検索するための強力なツールとなる可能性があると報告している¹¹⁾。しかし従来の TEM または SEM を用いた EDX 法では組織切片を破壊し、貴重な標本の再評価が難しかった。今回のナノスーツ-CLEM 法によって、従来の標本を破壊せずに多数の元素を一度に分析する道が開かれた²⁾。

その実例を以下に紹介する。まず臨床的に鉄沈着を疑う HE 標本の EDX 分析をおこなった。HE 染色後の鉄沈着部位を特定し(図4A)、ナノスーツ法によって LV-SEM の最大電子ビーム(15 kV)を使用しても明瞭な BSE 画像を撮影することができた(図4B)。SEM / EDX 分析の結果、茶褐色の沈着部位に鉄(図4C)と P(図4D)が存在していることを示すことができた。

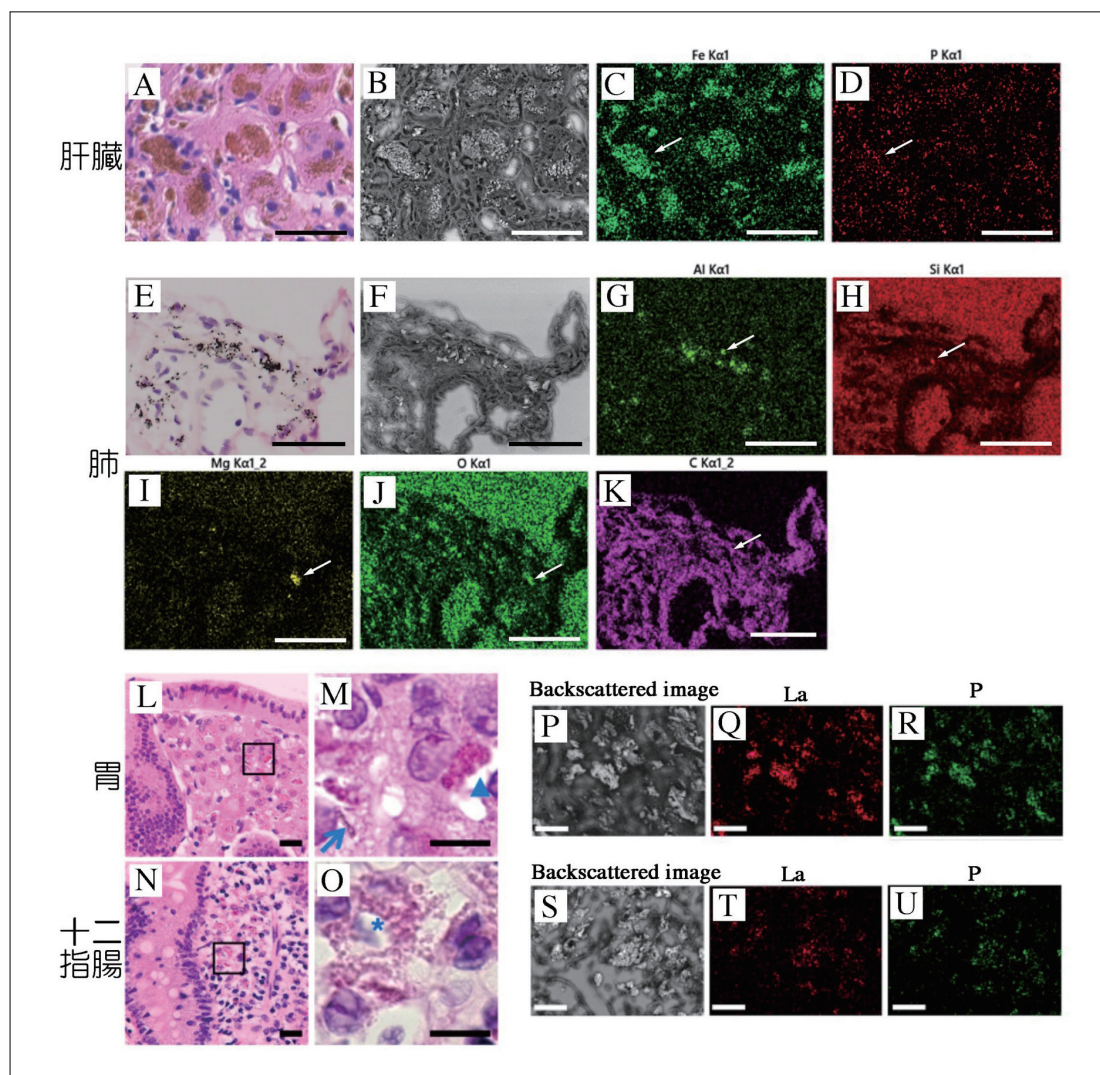


図4 FFPEにおける元素分析法

A : 沈着部位(褐色), HE染色。**B** : AのCLEM-SEM像(反射電子(BSE)モード)。**C** : 鉄(白矢印)。**D** : P(リン)(白矢印)。**E-K** : 肺の炭粉沈着症患者, **E** : HE染色, **F** : EのCLEM-SEM像(BSEモード), **G** : アルミニウム(Al)(白矢印), **H** : ケイ素(Si)(白矢印), **I** : マグネシウム(Mg)(白矢印), **J** : 酸素(O)(白矢印), **K** : 炭素(C)(白矢印)。Lab Invest. 2020;100(1):161-173.の図を改変。CC-BY-4.0の下で使用²⁾。**L-U** : 消化管におけるリン酸ランタン沈着。**L, M** : 胃 HE染色。**N, O** : 十二指腸HE染色: 褐色の粒状(*), 針状(矢印), または無定形構造を示す沈着(Δ)。**P, S** : 異物沈着部位SEM像(BSEモード)。**Q, T** : La (ランタン)。**R, U** : P(リン)。Diagnostics (Basel). 2019;10(1),1の図を改変。CC-BY4.0の下で使用¹²⁾。

次に、肺の炭粉沈着症の患者を分析した結果、HE 染色標本で複数の黒～茶褐色の沈着が観察された(図4E)。BSE 像では、ほとんどの沈着部位に強い後方散乱信号があったが、一部にはなかった(図4F)。ナノスーツSEM / EDX 分析により、肺組織切片に複数の元素(アルミニウム(Al)(図4G)、ケイ素(Si)(図4H)、マグネシウム(Mg)(図4I)、酸素(O)(図4J)、炭素(C)(図4K))の存在が明らかになり、多くの重金属堆積物は酸化されていたことを示していた。

さらに、消化管におけるリン酸ランタン沈着の観察を行った¹²⁾。HEスライドにおいてリン酸ランタン沈着の疑いがある症例において粒状、針状、または無定形構造を示す茶褐色の沈着物を認めた(図4L, M, N, O)。同じ領域をナノスーツ-CLEM 法(BSEモード)を用いて観察したところ、色素沈着が観察された領域は、明るいコントラストを示した(図4P, S)。さらに、SEM-EDS による元素マッピングでは、同領域にランタン(La)(図4Q, T)およびリン(P)(図4R, U)の局在が確認された。

他にも、同様の方法を用いて、FFPE 切片で血清カリウム抑制剤であるポリスチレンスルホン酸カルシウムイオン交換樹脂薬剤(カリメート)の構成元素の一つである硫黄元素を検出することにより、腸管へのカリメート沈着の確定診断に用いることができることを報告した¹³⁾。カリメートが腸管沈着すると、時に腸管穿孔など重篤な症状を引き起こすため、早期確定診断し、服薬停止を促すことが重要となる。また最近、*Helicobacter pylori* 除菌治療歴のある方では胃内に黒点が認められるのに対し、*Helicobacter pylori* 現感染の方では黒点がほとんど認められないことがわかり、本法で胃内黒点の元素分析をおこなった結果、主な構成成分が鉄であることを世界で初めて明らかにした¹⁴⁾。この発見からさらに胃疾患の病態に迫り、臨床検査の開発へとつながる可能性がある。

私は病理医として、この方法を日常診断業務に頻繁に利用し、各臓器標本における異物沈着物の診断に役立てている。今後、病理診断業務においてこの方法が強力なツールとなることが期待される。

6. おわりに

本大学で独自に開発されたナノスーツ液は、①粘稠性が低く薄膜化しやすく、導電性があるため微細構造の明瞭な SEM 画像を得られやすい、②ボウフラなどの生命体を電子顕微鏡内で生命維持できるほどに組織保護作用がある、③金属元素を使用しないことから観察対象元素の邪魔にならないなど、まとめると表1のような多くの独創的な成果を得ることができる。

この新たな方法で、病理医または人工知能(AI)により同定された組織病変 CLEM 観察部位から、予期せぬ立体微細構造病変の発見や従来の電子顕微鏡診断の代替可能性を探索することができる可能性がある。更に電子線ダメージからの保護効果のあるナノスーツ膜の特性を生かし、同一組織切片の CLEM 像と多様な分析方法の比較解析も行うことも目指している。今後、同一切片から広がるマルチモードな translational pathology の可能性を追求することで、今まで見えなかったものを可視化し、微細形態構造と分子構成との関連を解明できる可能性がある。新たな知見を通して病理機序の解明や新規診断法の確立につなげ、未来の医療の発展に貢献することを期待している。

表1 FFPE切片におけるナノスーツ-SEM法で期待される技術的効果

・簡便な同一切片同一部位の光学顕微鏡と SEM 比較観察 (CLEM)
・ SEM 観察時のチャージ軽減効果・FFPE 組織保護作用
・濡れたままの組織微細構造を三次元・高倍率 SEM 観察
・ SEM 観察後もとの状態に復元 (HE 再染色)
・ DAB 発色部位の SEM 観察
・ SEMエネルギー分散型 X 線分析 (SEM-EDX)

謝辞

本研究の遂行にあたり、(株)日立ハイテクの皆様にお世話になりました。本研究は科学研究費基盤 C (20K07390) のサポートにより行われました。

参考文献

- 1) Baker M. Biorepositories: Building better biobanks. *Nature*. 2012;486(7401):141-146. <https://doi.org/10.1038/486141a>.
- 2) Kawasaki H, Itoh T, Takaku Y, *et al.* The NanoSuit method: a novel histological approach for examining paraffin sections in a nondestructive manner by correlative light and electron microscopy. *Lab Invest*. 2020;100(1):161-173. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0309-7>.
- 3) Takaku Y, Suzuki H, Ohta I, *et al.* A thin polymer membrane, nano-suit, enhancing survival across the continuum between air and high vacuum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(19):7631-7635. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221341110>.

- 4) Takaku Y, Suzuki H, Kawasaki H, *et al.* A modified 'NanoSuit(R)' preserves wet samples in high vacuum: direct observations on cells and tissues in field-emission scanning electron microscopy. *R Soc Open Sci.* 2017;4(3):160887. <https://doi.org/10.1098/rsos.160887>.
- 5) Ilgen P, Stoldt S, Conradi LC, *et al.* STED super-resolution microscopy of clinical paraffin-embedded human rectal cancer tissue. *PLoS One.* 2014;9(7):e101563. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101563>.
- 6) Creech MK, Wang J, Nan X, Gibbs SL. Superresolution Imaging of Clinical Formalin Fixed Paraffin Embedded Breast Cancer with Single Molecule Localization Microscopy. *Sci Rep.* 2017;7:40766. <https://doi.org/10.1038/srep40766>.
- 7) Shinmura K, Kusafuka K, Kawasaki H, *et al.* Identification and characterization of primary cilia-positive salivary gland tumours exhibiting basaloid/myoepithelial differentiation. *J Pathol.* 2021;254(5):519-530. <https://doi.org/10.1002/path.5688>.
- 8) Shinmura K, Kato H, Kawasaki H, *et al.* Primary Cilia Are Frequently Present in Small Cell Lung Carcinomas but Not in Non-Small Cell Lung Carcinomas or Lung Carcinoids. *Lab Invest.* 2023;103(2):100007. <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2022.100007>.
- 9) Itoh T, Yamada S, Ohta I, *et al.* Identifying Active Progeny Virus Particles in Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Sections Using Correlative Light and Scanning Electron Microscopy. *Lab Invest.* 2023;103(1):100020. <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2022.100020>.
- 10) Yamada S, Itoh T, Ikegami T, *et al.* Association between human papillomavirus particle production and the severity of recurrent respiratory papillomatosis. *Sci Rep.* 2023;13(1):5514. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32486-8>.
- 11) Scimeca M, Pietroiusti A, Milano F, *et al.* Elemental analysis of histological specimens: a method to unmask nano asbestos fibers. *Eur J Histochem.* 2016;60(1):2573. <https://doi.org/10.4081/ejh.2016.2573>.
- 12) Shinmura K, Kawasaki H, Baba S, *et al.* Utility of Scanning Electron Microscopy Elemental Analysis Using the 'NanoSuit' Correlative Light and Electron Microscopy Method in the Diagnosis of Lanthanum Phosphate Deposition in the Esophagogastrroduodenal Mucosa. *Diagnostics (Basel).* 2019;10(1). <https://doi.org/10.3390/diagnostics10010001>.
- 13) Ooishi M, Yamada S, Itoh T, *et al.* Diagnosis of Ion-Exchange Resin Depositions in Paraffin Sections Using Corrective Light and Electron Microscopy-NanoSuit Method. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(7). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11071193>.
- 14) Sugiura K, Kawasaki H, Egami T, *et al.* Iron deposition in gastric black spots: Clinicopathological insights and NanoSuit-correlative light and electron microscopy analysis. *DEN Open.* 2024;5(1):e398. <https://doi.org/10.1002/deo2.398>.

感染対策最前線の現場から—衛生研究所での電顕活用—



地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 微生物部ウイルス課
主幹研究員

内閣府食品安全委員会 微生物・ウイルス専門調査会 専門委員

左近 直美 博士(医学)

1. はじめに

地方衛生研究所(地衛研)は都道府県又は指定都市に設置され、地域の科学的かつ技術的中核として地域保健行政を支える公的機関として位置づけされている。調査研究、試験検査、研修指導、公衆衛生情報の収集・解析の4分野を柱として業務を行っている。COVID-19の発生当初にPCR検査(遺伝子検査法)を担当していた機関は国立感染症研究所と全国の地衛研であった。

今後発生すると想起される新興・再興感染症に対しても初動はまず地衛研である。危機管理の重要性から、令和4年(2022年)12月に地域保健法が改正され、地衛研の設置が法定化された。大阪府においては衛生行政の機能強化にむけて大阪府と大阪市の研究所を2023年1月に一元化し、全国で唯一の独立行政法人として公衆衛生業務に取り組んでいる。一元化にあたり、透過型電子顕微鏡(TEM) HT7800が設置された。

2. ウイルス検査と電子顕微鏡

私が大学で研究室生活を送っていた頃、SRSV (small round structured virus)と呼ばれている一群の小型球形ウイルス(ノロウイルスを含む)が食中毒の原因物質として法的に認められそうだ、との話を聞いた。これが、私がノロウイルスに関わった最初である。SRSVの多くは培養ができないために、患者の便検体を試料として電子顕微鏡(以下、電顕)でウイルス粒子を直接観察する方法が検査法として採用されていた。非細菌性食中毒の原因究明のための疫学研究班でまとめられた報告書によると、およそ半分の地衛研が電顕法を活用し、非細菌性食中毒の7割ほどの事例(908事例中602事例)について実施されていた¹⁾。電子顕微鏡が検査法として重要であったことがよくわかる。

電顕法は視野にウイルスが存在していれば、非常に迅速に結果を得ることができる。その一方で、小さな粒子や粒子数が少ない場合は検出が困難な場合がある。そこで、通常は3分程度であるウイルス浮遊液のグリッドへの吸着時間を検討したことがある。結果はチャンバー内で8時間をピークとし、それ以上は減少した(図1)。実施検討数が少ないが、粒子数が少ない場合は効果が期待できるかもしれない。

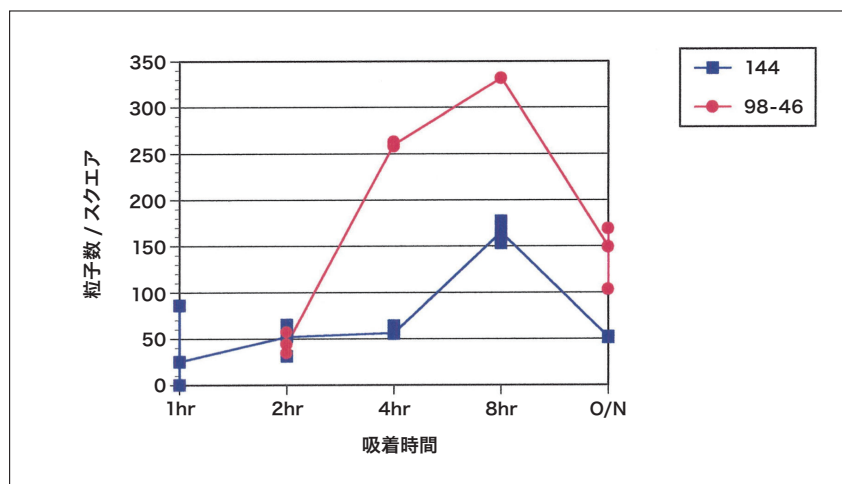


図1 グリッド吸着時間の検討

通常の吸着反応(3分)にて粒子が観察されたノロウイルス陽性サンプルを用いた

3. 電顕法の危機管理への応用

電顕を用いた検査が簡便な遺伝子検査法に代わっていき、多くのステップが必要な電顕試料の調整や電子顕微鏡の操作法の取得、ウイルス粒子の形態を判別する技術を担当する研究員が少なくなり、技術を継承し維持することが難しくなることが予想された。そのような折、ドイツのロベルト・コッホ研究所(コッホ研)が実施する電顕を用いた外部精度管理(External Quality Assurance Diagnostic Electron Microscopy of Infectious Diseases: EQA-EM)について、現・大阪医科薬科大学の後藤俊幸先生(電顕専門、故人)から大石功ら(当所の前身・公衛研ウイルス課)にEQA-EM参加への推薦を受けた。この研究チームのリーダーはコッホ研のH. Gelderblom博士で(図2参照)、1年に3度ばかり送付される不活化ウイルスの電顕観察の結果を先方に返送して照合するという手順であった。この方式は現在も年1回継続されている。

幸いにもGelderblom先生が2004年来阪され、2月18日に当所にて講演をいただく機会に浴した。その折に危機管理としての電顕の有用性について様々なご教示をいただいた。講演の中で、現在、話題となっているエムボックス(サル痘)に関する発表があり、生物テロとして天然痘ウイルスが使われた場合を想定した危険なサンプルの採取法にも触れられた²⁾。あらかじめ不活化剤を入れたシリンジで患者患部の水泡液を採取し、直ちに電顕観察するといった安全で即効性のある検査法を示されたことに衝撃を受けた。EQA-EMでは水疱を形成する原因ウイルスとして類症鑑別の重要性から、orthopoxvirus, orfivirus (*Parapoxvirus*), herpesvirus の観察経験を積むことができていた³⁾。さらに mimivirus といった新たに発見されたウイルスが含まれ、ウイルス図鑑では未見のウイルスの実像を観察できた。また2003年の香港におけるSARS発生の際は迅速にSARS-CoVの観察試料が提供された。ウイルス観察には観察経験とともに、懸念されるアウトブレイクやその原因ウイルスの情報収集を怠らないことが重要である。



左より後藤先生、宇田川先生、Gelderblom先生ご夫妻



Gelderblom博士

図2 Gelderblom先生来阪の際の記念写真

4. 次世代の研究者たちとの連携

当所が府市と一元化されたのを機にHT7800(日立)が導入され、およそ2年ぶりに電顕操作を再開させることができた。新規の電顕本体の操作性は従来の機種に比べて格段にあがっている。そればかりか、電顕の周辺機器も極めて簡易に使えるのに驚いた。これまで操作性の理由で敷居が高かった電顕だが、現有の機器であれば経験が少ない研究者に使ってもらうチャンスが到来したと思っている。

そこでまず手始めに、若手研究員を対象に様々な機材の準備から電顕の操作に至るまでの一連の研修を始めた。内容はウイルス不活化剤、PTA(リンタンゲステン酸)染色液の作製および支持膜およびカーボンコーティングしたグリッドの作製を行った。図3にはFormvar膜を支持膜として作製した例をお示しした。グリッドは市販品を購入することもできるが、ウイルスの電子顕微鏡観察はウイルス浮遊液、染色液をグリッドに載せるため、購入品よりも自家調整グリッドの方が観察中安定しているように感じている。次に、ウイルスの培養・不活化・濃縮そして観察の各ステップを実際に実行してもらった。この時に行った一連の電顕作業およびウイルスの粒子像は、ライブラリーに保存して今後活用していく予定である。

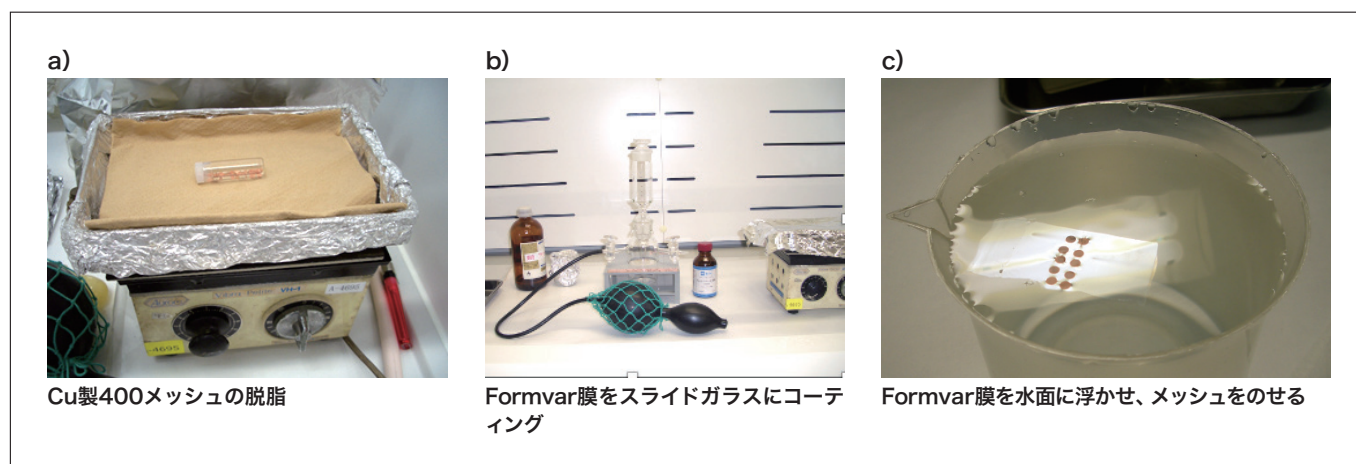


図3 Formvar膜作製研修に用いた研修資料より抜粋
クラシカルな道具は現役

小学生を対象にした当所のイベント「夏休み子ども科学体験イベント」が2024年8月5日に開催された。今回はミクロの世界を体験してもらいたいとの願いから、日立ハイテックの協力を得て実施した。光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡(SEM)、電子顕微鏡クイズの3つのカテゴリーを体験してもらった(図4)。卵の殻、塩やハーブなど身近なものから蟻、蝶の鱗粉などを試料とし、参加者に試料の選択と作製してもらい、SEMのオペレーションも体験してもらった。参加した子どもたちは試料の作製やクイズに楽しそうに取り組んでいた。



図4 夏休み子ども科学体験イベント「ミクロの世界を見てみよう」

5. これからの電顕と地衛研

新型コロナウイルス感染症は日常の生活様式を一変させたが、ウイルスが実際に環境中にどのように存在しているのか、その動態を考えさせるきっかけともなった。コロナウイルスは主に呼吸器疾患を引き起こすが、腸管でも増殖可能である(牛のコロナウイルスは下痢症の原因)。このことから新型コロナウイルスの原因である SARS-CoV-2 が下水から検出されることは予想された。すでに多くの論文において新規感染者数の集計数と下水中のウイルス濃度との関係性が示され、下水サーベイランスを加速させることとなった。その際、驚いたのは、ウイルスを研究していると(特にウイルス粒子観察において)いかに夾雑物をなくしウイルスを濃縮・精製するかということを念頭に作業していたが、取り除いていた夾雑物中にウイルスが、遺伝子検出においてではあるが多く存在していることがわかった。現在、当所にて実施している下水サーベイランスでは下水を遠心した沈渣を用いてウイルスの遺伝子検出を行っている。

下水にはこれまでのウイルス濃縮法とは異なる手法を用いているが、ロタウイルスやノロウイルスの陽性便におけるウイルス観察にも新たな発見が報告された³⁾。それは感染者の便から exosome を回収すると、その中に数個のウイルスが存在している(vesicle)というもので、このような構造物が環境抵抗性や感染効率に関連していると推察されている。当所においても exosome 回収法を用い、ノロウイルス陽性便中の vesicle 観察が再現できた(図5)。ウイルスの動態を明らかにする上で電顕法は必要と考えられる。

沈渣を用いたウイルスの検出や Vesicle の観察のように、これまで想定していなかった方法への試みは検査においても重要である。

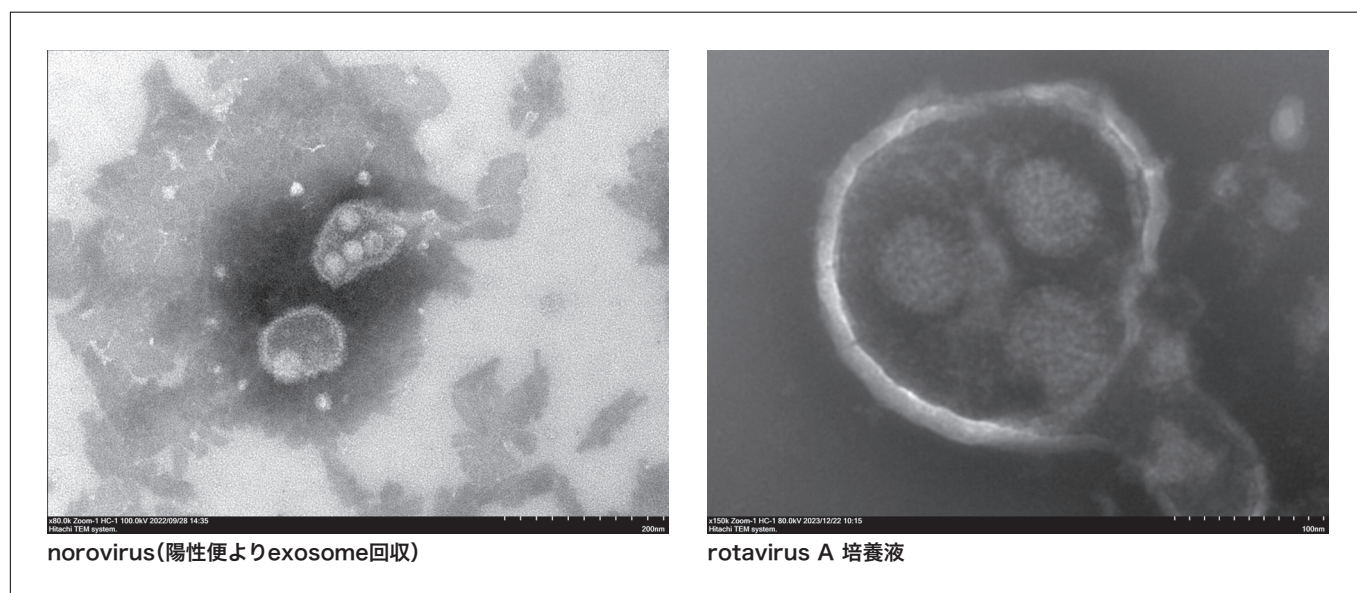


図5 Vesicleの観察
膜状の中にウイルス粒子が数個観察される

6. おわりに

当所では新規の電顕の導入を機に TEM および SEM の活用をさらに進めている。各地の地衛研ではそろそろ電顕の更新の時期にきているが、検査法として遺伝子検査が主流となった今日、電顕を更新しようとする地衛研は減少しているようである。各地衛研が独自で電顕を保有するのではなく、地域ブロックにおける活用が求められていると思われる。中核となる地研が率先して電顕技術の維持向上に努め、EQA-EM 用の陽性サンプルを提供して地研相互で観察するネットワークの構築が重要ではないだろうか。現在はオンラインで同時観察をすることも可能となっており、新しいシステムを活用して、連携を強化したい。危機管理上の衛生行政をよりの確でかつ迅速に取り組めるように、また研究としての活用に向けても、所内外に向けた研修や連携を通じて、地域におけるより広範な人材の育成に協力できればと思っている。

謝辞

これまでの電顕観察のご指導ならびに執筆にあたり多くのご助言を賜りました、元大阪府立公衆衛生研究所 大石功病理課長、西村公志主任研究員、元国立感染症研究所 宇田川悦子先生に感謝いたします。

参考文献

- 1) 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班 報告書「最近5年間の食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査 総合報告書」1995年12月8日発行。
- 2) Gelderblom HR, Möller L, Laue M. External quality assurance (EQA) in diagnostic electron microscopy (DEM) of infectious diseases: aim and roots, results and perspectives. <http://dx.doi.org/10.25646/5388>
- 3) Gelderblom HR, Madeley D. Rapid viral diagnosis of Orthopoxviruses by electron microscopy: optional or must? *Viruses*. 2018. 10(4):142. doi: 10.3390/v10040142
- 4) Santiana M, Ghosh S, Ho BA, Rajasekaran V, Du WL, Mutsafi Y, De Jesus-Diaz DA, Sosnovtsev SV, Levenson EA, Parra GI, Takvorian PM, Cali A, Bleck C, Vlasova AN, Saif LJ, Patton JT, Lopalco P, Corcelli A, Green KY, Altan-Bonnet N. Vesicle-Cloaked Virus Clusters Are Optimal Units for Inter-organismal Viral Transmission. *Cell Host Microbe*. 2018 Aug 8;24(2):208-220.e8. doi: 10.1016/j.chom.2018.07.006. PMID: 30092198; PMCID: PMC6226266.

フィジカル技術とデジタルで挑戦する サーキュラーエコノミーイノベーション

Circular Economy Innovation with Digital & Physical Technology



(株)日立製作所 研究開発グループ
生産・モノづくりイノベーションセンタ長

谷口 伸一 博士(学術)

1. はじめに

我々を取り巻く環境では、海面上昇、自然災害の激甚化、など地球規模での環境負荷が同時に進行しており、総合的な解決の方途が必要となっている。人間の活動が地球システムにおよぼす影響を客観的に評価する方法の一つに、地球の限界、惑星限界(プラネタリーバウンダリー)という概念がある¹⁾。この概念では、人間が地球システムの機能に9種類の変化を引き起こしており、限界を超えると不可逆的、壊滅的な変化となるという考え方に基づく。特に「気候変動」、「生物圏の一体性」、「土地利用変化」、「生物地球化学的循環」については、人間が地球に与えている影響とそれに伴うリスクが既に顕在化しており、人間が安全に活動できなくなると分析される。

加えて、資源の局在化やブロック経済による調達の高騰へのレジリエンスが、資源の安定的な確保に必須である。資源消費量の増大や、金属の価格高騰からも実感できる²⁻⁶⁾。

こうした課題に対して、サーキュラーエコノミー(CE)が担う役割について述べる。プラネタリーシステムの健全化につながる気候変動の抑制、特に炭素排出削減39%に有効との試算がある⁷⁾。加えて、従来の線形経済(リニアエコノミー)から循環経済(サーキュラーエコノミー)への移行は、資源の安定調達の源泉になる⁸⁾(図1)。

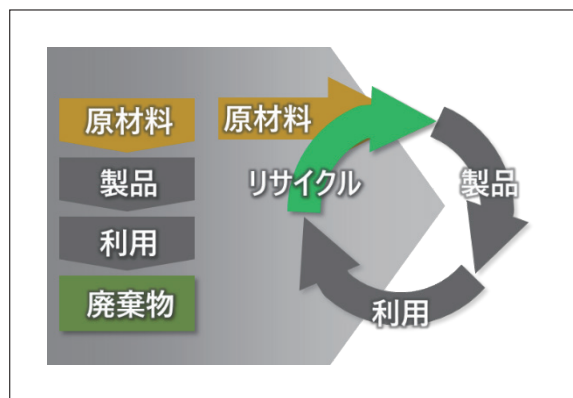


図1 線形経済(リニアエコノミー)から循環経済(サーキュラーエコノミー)への移行

サーキュラーエコノミーに関連した各地域のルール、エコシステムの形成が進んでいる。欧州では、グリーンディール産業計画のもと、エネルギー・資源の域内調達が進み、日本では、日アジアサプライチェーン共創戦略の構想が打ち出され、アジアとともに進む経済圏構想が掲げられている。北米では、Buy American 法の整備が進むとともに、修理する権利、米国内での調達強化、プロダクト長寿命化の議論が進んでいる。こうしたルール、エコシステムにアラインしないと、ビジネスが成立しないリスクがある。

経済活動、研究活動に加えて、最も大事なことはエンドユーザーの価値観である。環境志向の高まりや環境配慮製品の需要が増えるとともに、モノからコトへの変化により、サービスプロバイダーとユーザーとの接点は増える傾向にある。

2. 日立の研究開発

上記で述べたような状況と課題認識を踏まえて、私たちは、「エネルギーを最小化しながら、資源のライフサイクル価値を最大化する“サーキュラーエコノミー”の実現した社会」をめざしている。この社会では、「モノの来歴がわかり、安心して使える」、「無駄なエネルギーを使用せず、地域に適した再生方法を選べる」、「愛着のあるものを長く使える」、「再生したモノに新たな価値を感じる」、ことができる。

一方で、このような社会の実現には多数の課題があるが、人の生活に直結する3つの観点から課題を整理した(表1)。まずエネルギーでは、循環に追加エネルギーを必要とすると更なる環境負荷のリスクがある。つぎに、マテリアル、プロダクトレベルにおいては、単純な資源循環では品質が低下することが一般的であり、ユーザーが最終的に満足できない可能性がある。そしてグローバルのルールについては、現状の企業活動では、価格、品質が評価軸の中心でサーキュラーエコノミーの評価軸はほぼない。循環の促進にあたっては、ルール策定、社会実装、エコシステム形成が必須となる。

表1 克服すべき課題：3つの観点から

エネルギー	マテリアル・プロダクト	ルール・エコシステム
循環に追加エネルギーを必要とすると更なる環境負荷のリスクとなる	単純な資源循環では品質の低下を招きユーザーが満足できない	企業活動では、価格、品質が評価軸の中心でCEの評価軸がほぼない

これらの克服すべき課題に対して、イノベーションに挑戦している(図2)。ライフサイクルマネジメントでは、循環網をサイバー空間上でモデリング、資源・データの流れを計測・制御することで最適な循環を提示する。アップサイクルでは、循環のたびに資源の価値を向上させる技術を提供する。そして、資源とデータが適正に流通するルール戦略の推進である。これらに統合的に取り組み、社会と顧客が必要とする「ソリューションの提供」と「ルールの確立」をめざす。



図2 私たちの挑戦

上記で述べた課題への挑戦に向けて、デジタル活用によるサーキュラーエコノミーに向けた研究開発では、日立の有するナレッジとLumadaを組み合わせ、サイバーフィジカルシステムの構築をめざしている(図3)。ビジョンやルールの発信において、日立は、産業技術総合研究所(産総研)と、循環経済社会の実現をめざす共同研究拠点「日立・産総研サーキュラーエコノミー連携研究ラボ」を産総研臨海副都心センターに設立した⁹⁾。循環経済社会のグランドデザイン、それを実現するデジタルソリューションの開発と標準化戦略を立案・施策を提言し、広く社会に発信することを狙っている。共同研究の内容や成果は、オープンフォーラムや提言書などを活用し、社会へ情報発信している。

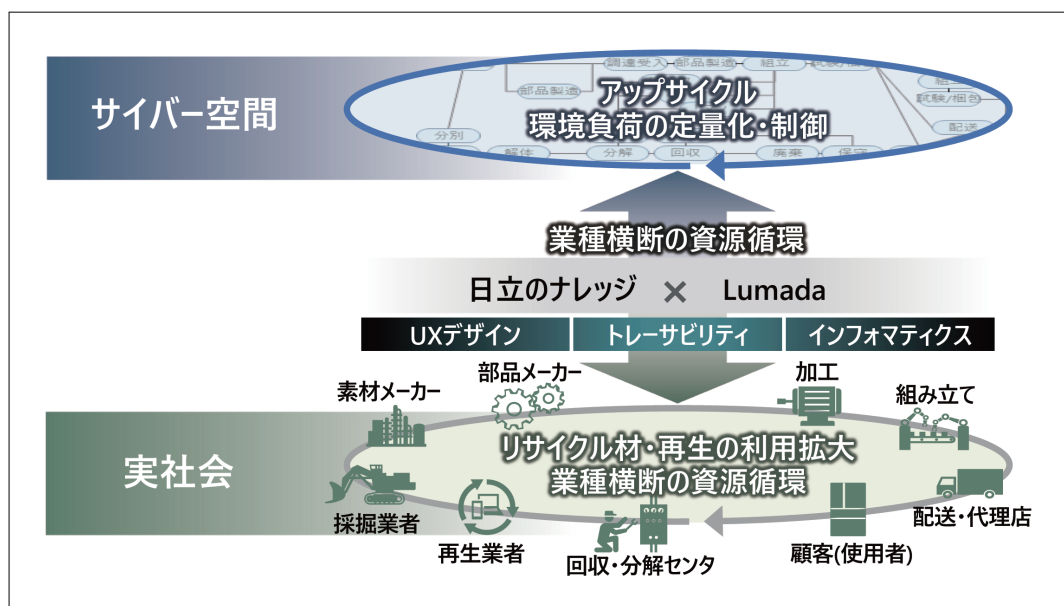


図3 デジタル活用によるサーキュラーエコノミーに向けた研究開発

3. ライフサイクルマネジメント

まず、ライフサイクルマネジメントに関する取り組みについて述べる。多様なユーザーニーズを満足しながら限りある資源を有効活用していくことが重要であることはすでに述べた。例えば、ユーザーが長く使いたい製品・サービスが提供されることや再生品の利活用を前提とした循環網が整備されていることであり、最終的には環境価値と経済価値の両立が求められる。プロダクトや部品をなるべくそのまま活かそうとするアプローチとして、サーキュラーエコノミーへの基本アプローチのうち本文では、リサイクル(1R)とそれ以外3R(リユース, リペア, リマン[再製造])を区別して述べる(図4)。

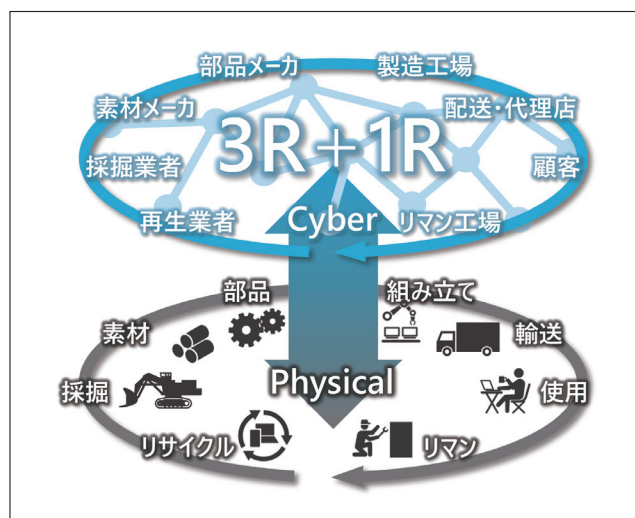


図4 ライフサイクルマネジメント

こうした4Rのうち、どの循環ルートが適切であるか判断することは多数の因子が相互に関係するため非常に難しい。そこでライフサイクルにわたる「循環性」「カーボン排出量」「コスト」のデータを計測・見える化・制御することで社会全体でのエネルギーを最小化しながら資源循環を実現するソリューション群を提供する。循環シナリオ生成ソリューションでは、製品ライフサイクルにおけるカーボン排出量、コストを定量化、最適な循環シナリオを顧客に提案する。取り組みにおける本質課題は、カーボンとコストの観点から顧客が最適な製品の循環を選択できることである。

そこで、製品ライフサイクルでのCO₂排出量とコストを自動計算し、市場や製品の変化に応じて顧客ごとに循環シナリオを提示することとした(図5)。プロダクト設計で培ったBOM・BOP情報、サプライヤー1次データ、運用・保守実績データ、環境原単位などを基にして、モノ、データ、実績を活用した循環シナリオ生成技術がコアとなる。例えば、お客様のプロダクトのリニューアルにおける価値を検証、仮説シナリオを最適化することで、経済価値を有しながらCO₂を削減するリニューアル時期を提示することを可能にする。



図5 循環シナリオ生成ソリューション

4. アップサイクル

続いて、アップサイクルの概略(図6)と事例について述べる。従来のリユース、リペア、リマン(再製造)の高度化をプロダクトアップサイクルで実現する。回収したプロダクト・部品の「高精度計測・診断」と「精密プロセス」の連携でアップグレードして再生を狙っている(4-1)。

続いて、リサイクルの高度化をマテリアルアップサイクルで実現する。User Experience (UX) デザインとインフォマティクスの融合により、再生材の価値を向上させ、適用範囲を拡大する。社内プロダクトへの適用をまずは進めた(4-2)。

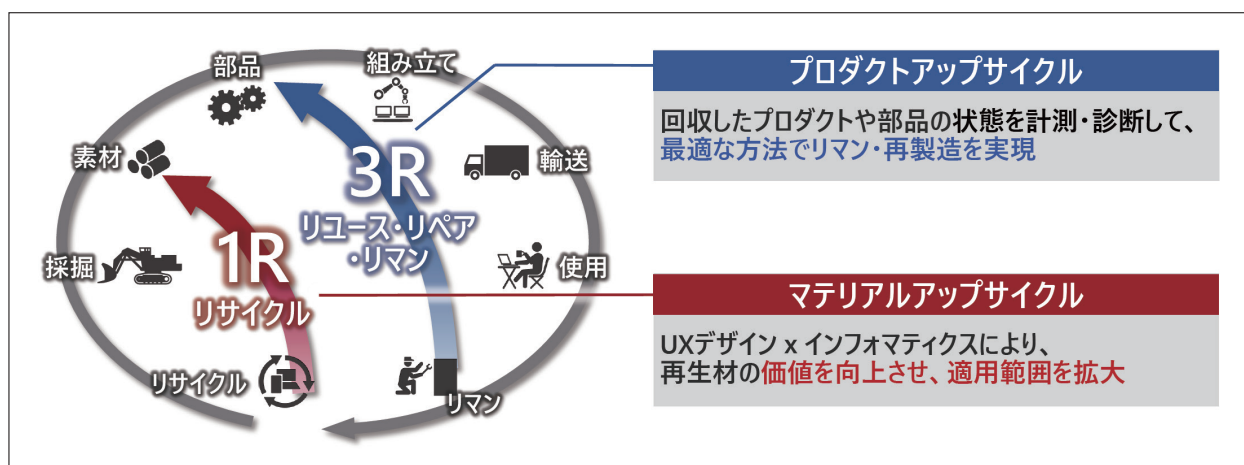


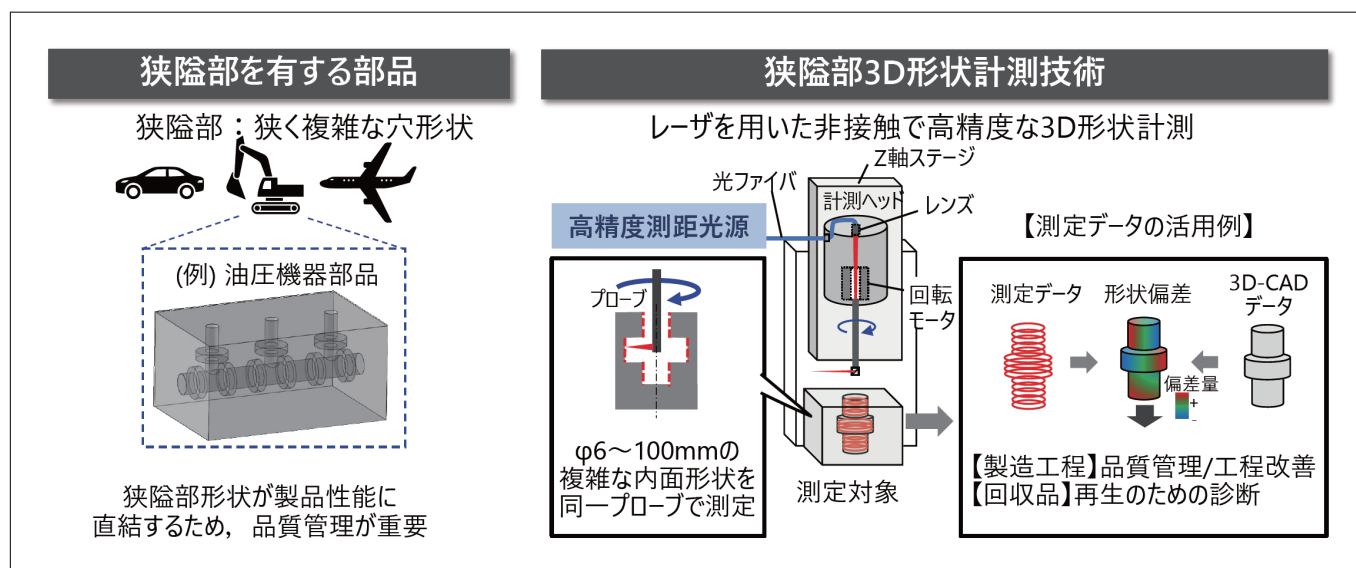
図6 アップサイクルの概略

4-1. プロダクトアップサイクルの事例

プロダクトレベル・部品レベルでのアップサイクルの実現に向けては、回収部品の診断と再生プロセスの実施が求められる。

高精度計測・診断技術：自動車、航空機、建設機械の油圧機器やエンジン機器等、内部に流路面や摺動面などの狭く複雑な穴形状(以下、狭隘部)を持つ部品は、穴の内面形状が製品稼働時のエネルギー性能に直結するため、その品質管理が重要である。従来技術では狭隘部の形状計測が困難であったことから、狭隘部の3次元(3D)形状を非接触で高精度に計測できる技術を開発した¹¹⁾。また、製品性能に直結する狭隘部を有する部品の品質管理に加え、サーキュラーエコノミーで必要となる「回収品の診断」も可能とする。光を射出して、プローブを回転走査することで、狭隘部の3次元(3D)形状を計測することが可能である(図7)。

今後、本技術で得られた計測結果を用いて生産工程を改善することで、歩留まり向上による廃棄物の削減をめざす。更には、回収した製品や部品を計測・診断し、次に進める再生工程へと展開することで、製品ライフサイクル全体での環境負荷を低減し、持続可能な社会の実現に貢献していく。

図7 高精度計測・診断技術^{10b)}

4-2. マテリアルアップサイクルの事例

マテリアルリサイクルでまず着目したのはプラスチックである。プラスチックの大量消費に起因する温室効果ガス発生、石油資源枯渇、環境汚染等がプラネタリーバウンダリーに関わる重要な課題と認識され、プラスチックの再生(リサイクル)が地球規模で推進されている。プラスチックの再生材は多様な廃材から作られるため、再生材特有の色調変動と材料品質のばらつき抑制が求められる。この課題に対して、高級感を持たせるデザインと材料・製品の品質制御により従来の“隠す”から“魅せる”再生材活用へ変革した。デザイナーとモノづくりのインフォマティクスにより再生プラスチックの利活用を進めている(図8)。弊社製品に対して、製品外観へ再生プラスチックを適用した¹²⁾。

リサイクル材を射出する金型内に設置したセンサから、機械学習に適した特徴量の抽出に成功して、特性が変動するリサイクル材に対し成形品の品質を自動で安定化可能なことを実証した¹³⁾。デジタル技術を駆使することで、再生プラスチックの射出成形におけるプロセスのインフォマティクス化を推進している。ロットごとに特性が変動しやすい再生材を利用するためには、プラスチックを成形する際に、熟練した作業者が再生材の特性に応じて成形加工のプロセス条件を細かに調整する必要がある、実用化が困難であったが、プラスチック成形プロセスの条件を自動で最適化するAI技術を開発した(図9)。

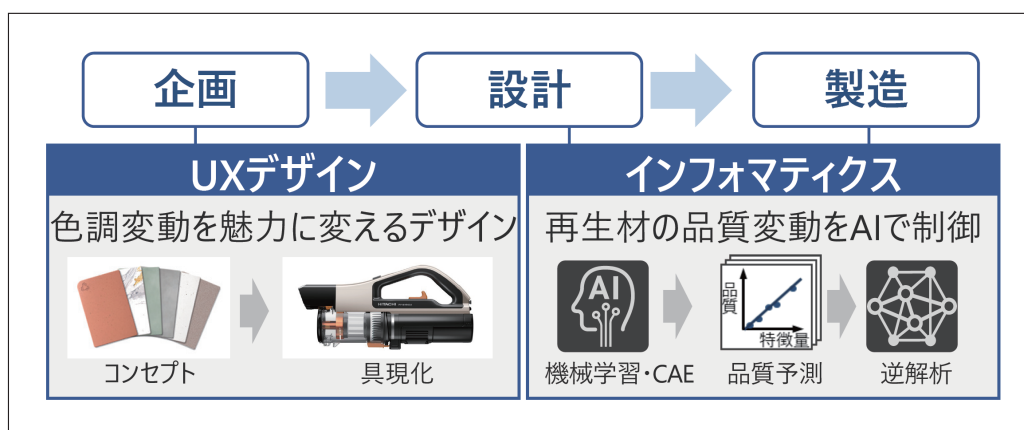


図8 UXデザイン×インフォマティクスソリューション

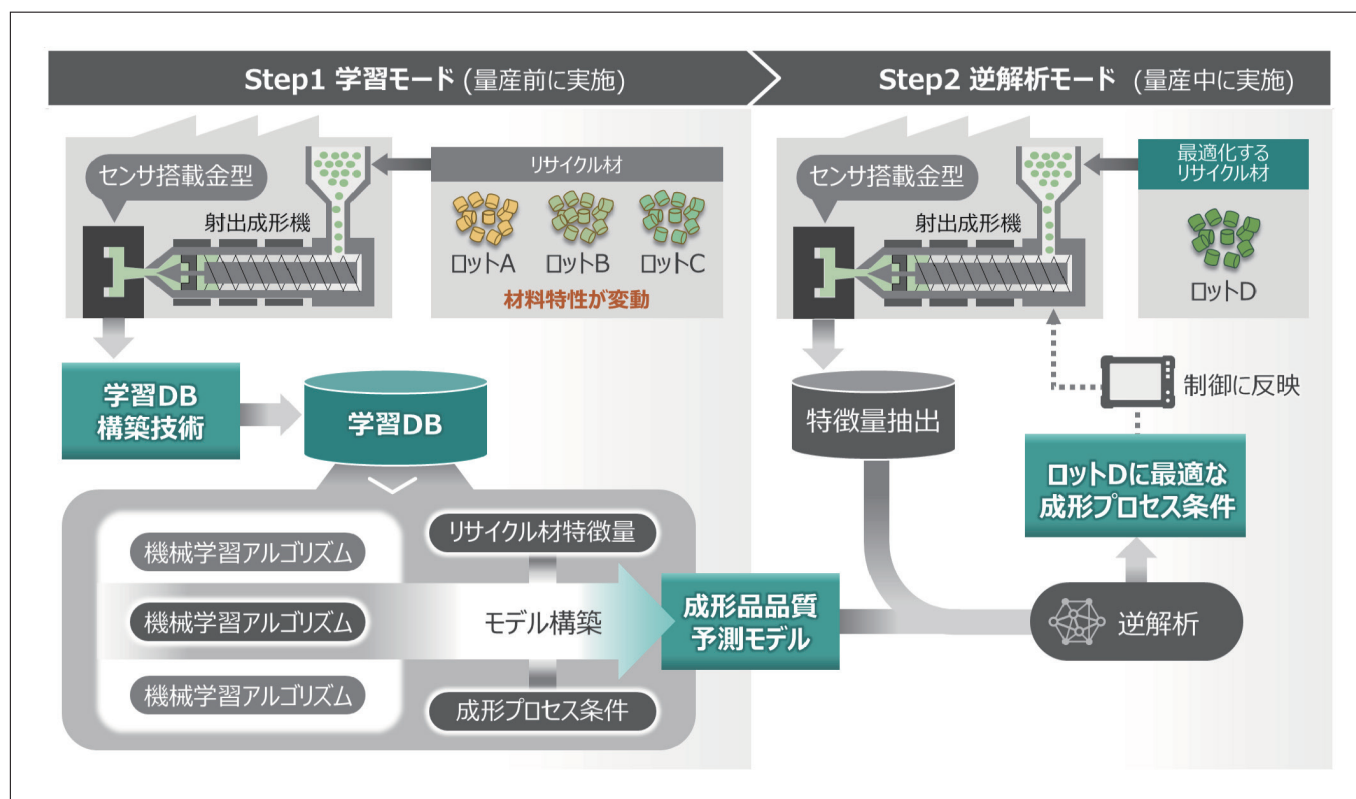


図9 機械学習を活用した最適成形条件の生成

5. おわりに

エネルギーミニマムで資源のライフサイクル価値を最大化する「サーキュラーエコノミーイノベーション」への私たちの挑戦について述べた。循環網をサイバー空間上でモデリング、資源・データの流れを把握・制御する「ライフサイクルマネジメント」および循環のたびに資源の価値を向上させる「アップサイクル技術」を開発中である。さらに、2022年10月に開設した「日立・産総研 サークュラーエコノミー連携研究ラボ」とともに、「循環経済社会のグランドデザインの策定」「デジタルソリューションの開発」「標準化戦略の立案・施策の提言」を進めている。経済価値と環境価値を両立するサーキュラーエコノミーの実現に向け更なる挑戦を続けたい。

謝辞

本報告で紹介した技術は、(株)日立製作所研究開発グループ生産・モノづくりイノベーションセンタの研究者の尽力によるものである。ここに厚く感謝申し上げる。

参考文献

- 1) オーウェン・ガフニー, ヨハン・ロックストローム, 戸田早紀(訳): 地球の限界, 河出書房 (2022).
- 2) IPCC: Climate Change 2021, The Physical Science Basis, Summary for Policymakers (2021).
https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg1/downloads/report/IPCC_AR6_WGI_SPM_final.pdf
- 3) Reuters: 「世界の自然災害, 22年の保険損害1120億ドルに＝仲介会社」(2023年1月3日).
<https://jp.reuters.com/article/insurance-catastrophes-idJPKBN2TIOGO>
- 4) OECD: 環境アウトlook 2050: 行動を起こさないことの代償概要版 (2012).
- 5) OECD: 「2060年までに世界のプラスチック廃棄物はほぼ3倍に－OECD発表」(2022年6月3日).
<https://www.oecd.org/tokyo/newsroom/global-plastic-waste-set-to-almost-triple-by-2060-japanese-version.htm>
- 6) Federal Reserve Bank of New York: Global Supply Chain Pressure Index (GSCPI).
<https://www.newyorkfed.org/research/policy/gscpi#/overview>
- 7) Circularity Gap Report 2021/Circularity Gap Report 2023.

- 8a) 環境省：令和 3 年版環境・循環社会・生物多様性白書.
- 8b) Ellen MacArthur Foundation: Complete the picture How the circular economy tackles climate change (2019).
- 8c) Ellen MacArthur Foundation: Circular economy system diagram, Drawing based on Braungart & McDonough Cradle to Cradle C2C (2019).
- 9a) 日立 - 産総研 CE ラボ：ラボについて (aist.go.jp)
<https://unit.aist.go.jp/hitachi-cecrl/about/index.html>
- 9b) 日立 - 産総研サーキュラーエコノミー連携研究ラボ 第 1 回オープンフォーラム CE 社会の実現に向けた道のりとその方法論について、日立評論
<https://www.hitachihyoron.com/jp/column/content/vol40/index.html>
- 10a) 循環に関わるすべての人が自信を持って次の再生方法を選択できる社会の実現に向けて 協創の森ウェビナー第 14 回「サーキュラーエコノミーがめざす次の社会」プログラム 1「サーキュラーエコノミーの現状と日立の取り組み」- Linking Society (hitachi.co.jp)
https://linkingsociety.hitachi.co.jp/_ct/17621002
- 10b) サーキュラーエコノミー時代のモノづくりに向けた研究開発, 2022 年度精密工学会秋季大会.
- 11) 針山 達雄, 渡辺 正浩, 丸野 兼治: スマート製造を実現する狭隘部 3D 形状計測技術, 日立評論 vol. 104 (2022).
- 12a) 日立グローバルライフソリューションズ株式会社 ニュースリリース 2022 年 7 月 25 日
<https://www.hitachi.co.jp/New/cnews/month/2022/07/0725.html>
- 12b) 日立グローバルライフソリューションズ株式会社 ニュースリリース 2023 年 7 月 25 日
https://corp.hitachi-gls.co.jp/_ct/17643016
- 12c) 株式会社日立製作所 ニュースリリース 2023 年 10 月 5 日
<https://www.hitachi.co.jp/New/cnews/month/2023/10/1005.html>
- 13a) 株式会社日立製作所 ニュースリリース (トピックス) 2022 年 3 月 31 日
https://www.hitachi.co.jp/rd/news/topics/2022/2203_pla.html
- 13b) Daisuke Yagi, Hiroki Nakatsuchi, Ryotaro Shimada and Kan Kobayashi: Injection molding process optimization for stabilizing parts quality of recycled materials by using in-mold sensors, the 37th International Conference of the Polymer Processing Society (PPS-37) (2022).

EM Flow Creatorを用いたSEM観察フローの自動化

Automation of SEM Observation Workflow Using EM Flow Creator

設案 宗史

1. はじめに

走査電子顕微鏡 (SEM : Scanning Electron Microscope) は、得られる情報の豊富さや試料の取り扱いが比較的簡便なことから、ナノテクノロジー、半導体・エレクトロニクス、ライフサイエンス、材料などの幅広い分野において、微細構造の観察から計測、分析まで活用されている。また情報処理技術の進展に伴い、大量のデータ取得を必要とするデータ駆動型研究開発が活発化しており、SEMにおいても大量データを自動かつ短時間で取得でき、さらには自動化実現にかかるユーザーの操作負荷や属人性の低減が求められている。

そこで日立ハイテックでは、様々な分野かつ要求に柔軟にこたえられる自動化支援機能として、EM Flow Creator を開発した。本稿では、EM Flow Creator の特長とその適用事例を紹介する。

2. 観察ワークフロー自動化支援機能 EM Flow Creator

EM Flow Creator は、様々な観察ワークフローの自動化を実現するための SEM 観察レシピを作成・実行するソフトウェアである。ビジュアルプログラミング技術を採用することで、“順次実行”、“繰返し”、“条件分岐”といった処理がノーコード、かつ視覚的な操作で実現される。

図1に複数試料を自動観察する際の一般的な観察ワークフローと EM Flow Creator 操作画面を示す。

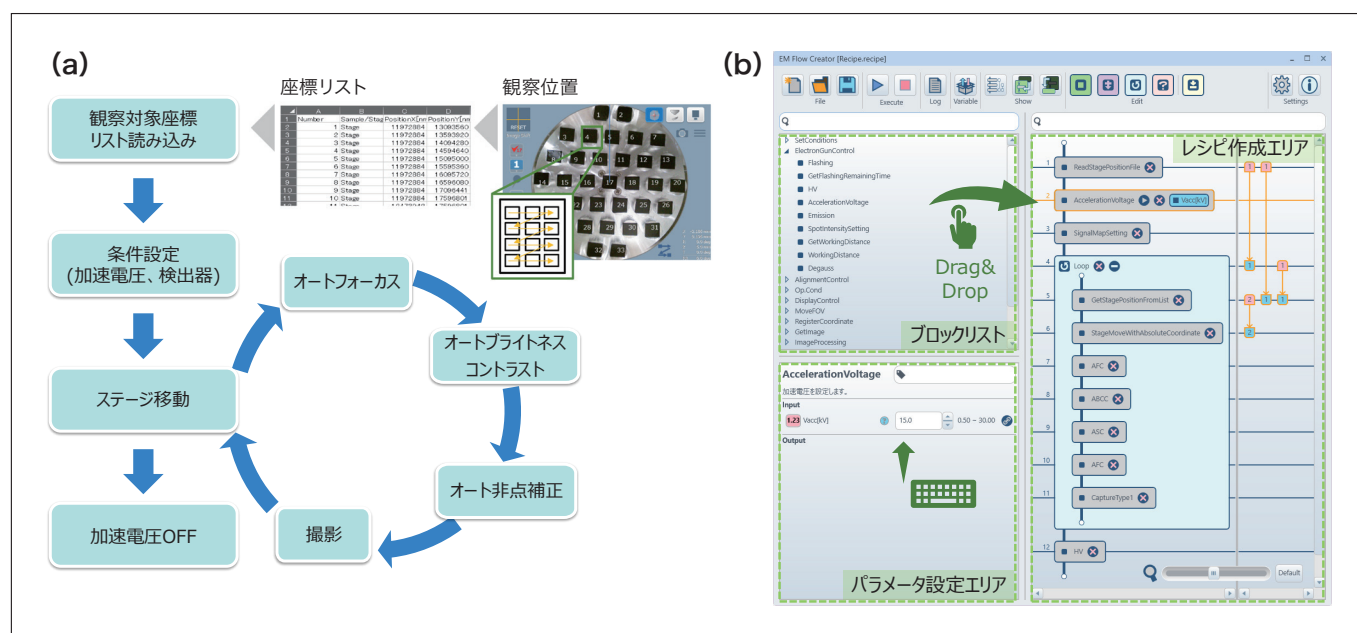


図1 観察ワークフロー例とEM Flow Creator操作画面
(a)観察ワークフロー例, (b) EM Flow Creator操作画面

EM Flow Creator の SEM 観察レシピは、ブロックリストから必要なブロックを選択し、レシピ作成エリアにドラッグ＆ドロップで処理を行う順番に並べ、またブロックごとにパラメータを設定することで作成できる。ブロックリストには、加速電圧の設定、ステージ移動、オートフォーカスなどの SEM 制御を実行するブロックの他に、四則演算を行うブロックや条件判定を行うブロックなどが多数存在する。またブロック間で入出力パラメータを受け渡すこともできる (図1 (b))。これらにより図1 (a)に示すような観察ワークフローを容易かつユーザーの技量に依存せずに自動化が可能である。

なお観察ワークフローの内容によっては、ブロックリストに存在しない処理が必要な場合がある。そのため EM Flow Creator には、様々なプログラミング言語の中で最も利用されているスクリプト言語である Python 形式¹⁾のスクリプトを実行できる機能を備えており、高い拡張性も持ち合わせている。

3. EM Flow Creatorを用いた自動化事例

3-1. リチウムイオン電池正極活物質粒子の自動観察

リチウムイオン電池 (LiB: Lithium-ion Battery) 正極材の自動観察事例を示す²⁾。LiB 正極活物質では、電池の内部抵抗を減少させる目的で微粒化や高充填化が進められており、粒径や形状を管理するために SEM を用いた粒子計測が行われている。本事例では、画像認識を用いた特定粒径・形状の粒子の探索と、特定粒子についての高倍率表面形状観察を自動化した。

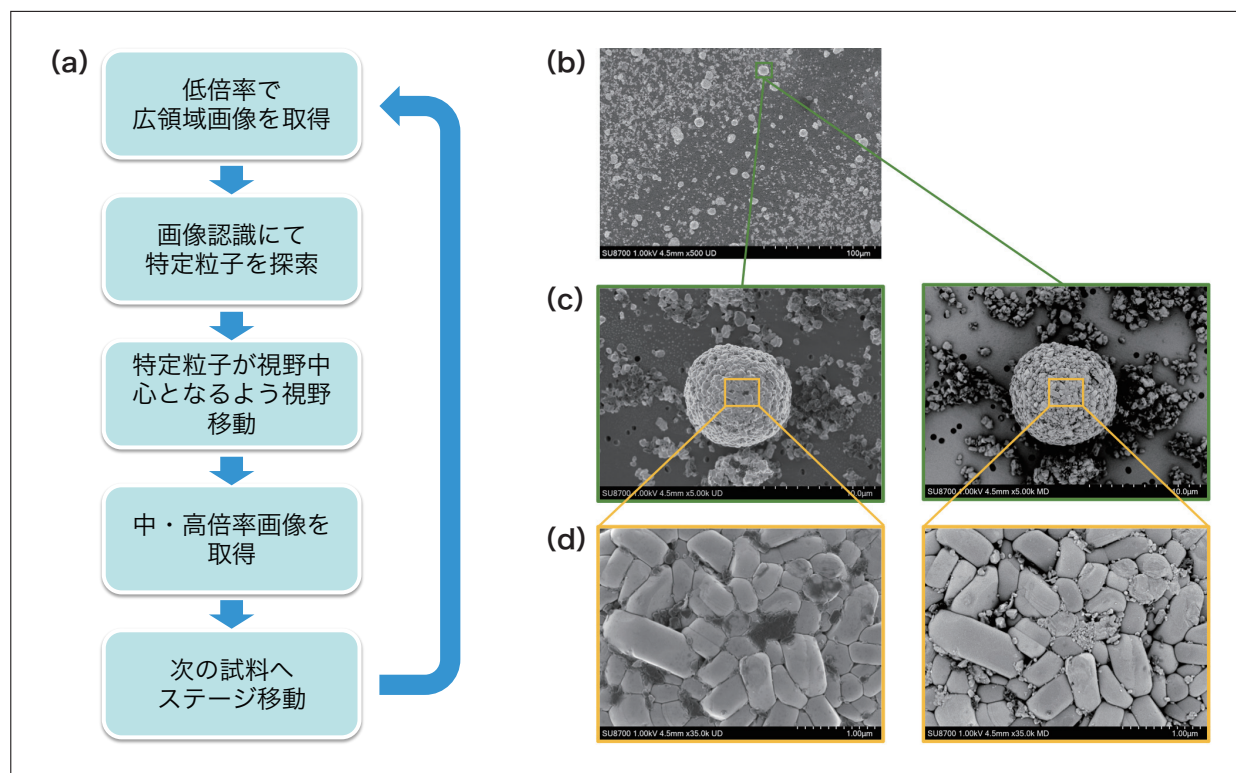


図2 リチウムイオン電池正極材の自動観察事例

(a) 観察ワークフロー, (b) 500x 二次電子像, (c) 5 kx 二次・反射電子像, (d) 35 kx 二次・反射電子像
(装置: SU8700, 加速電圧: 1 kV, 検出器: Upper検出器+Middle検出器)

本観察では、500倍の低倍率画像を取得後、視野内から画像認識により特定粒子を探索する。類似度の高い粒子が存在した場合は、図2 (b) のように特定粒子を緑矩形で示した探索結果画像を保存後、特定粒子が視野中心となるようにステージ移動やイメージシフトで視野移動を行い、5,000倍 (図2 (c)) および 35,000倍 (図2 (d)) の中・高倍率で二次・反射電子像の同時取得をしている。このように特定粒子の探索から、粒子全体とその表面構造および組成情報の詳細画像取得を自動化可能である。

3-2. LiB セパレータの多点自動撮像

LiBセパレータの多点かつ複数倍率での自動観察事例を示す^{3,4)}。LiBの製造過程における品質管理では、セパレータの厚さや細孔構造、表面微細構造の評価が求められている。本事例では、製造条件が異なる試料を複数搭載し、それぞれについて複数倍率で画像取得することによる構造比較を自動化した。

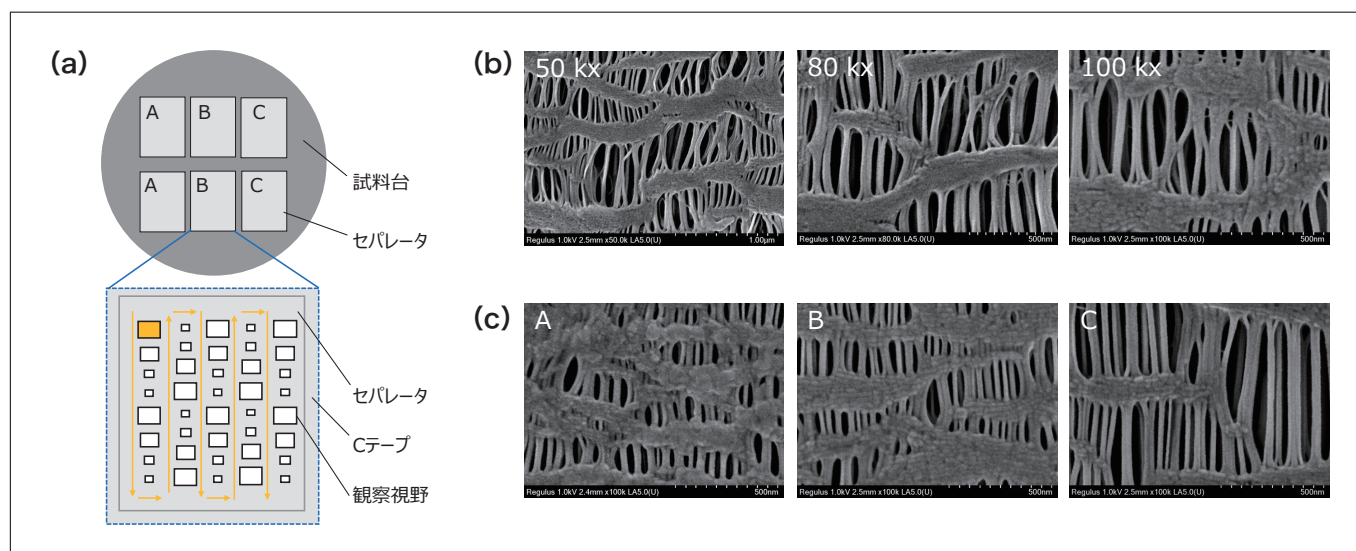


図3 LiBセパレータの多点自動観察事例

(a) 試料台模式図と自動撮像順, (b) 50 kx・80 kx・100 kx 二次電子像, (c) 100 kx 二次電子像
(装置: Regulus8200, 加速電圧: 1 kV, 検出器: Upper検出器)

本観察では製造条件の異なるLiBセパレータフィルム3種類(A, B, C)を用い, 図3(a)に示すように, 2検体ずつ試料台に固定した。また観察時の構造変形などを最小限に抑えるために, 矢印の示す方向で, 観察倍率毎に視野を変更しつつ観察を実施した。図3(b)が50,000倍, 80,000倍, 100,000倍の二次電子像, 図3(c)がセパレータ3種類(A, B, C)の100,000倍の二次電子像での構造比較である。高分解能で観察することで, イオン透過性など電池性能に影響を与える繊維幅や孔径, 表面の微細な凹凸を捉えることができ, また大量データを安定的に取得することで各セパレータの構造の違いを把握することができた。

3-3. 半導体デバイスパターン断面の自動観察

半導体デバイスパターン断面の自動観察事例を示す⁵⁾。半導体製造の前工程では, 様々な工程の後にデバイスパターン断面のSEM観察を行い, 形状確認や測長を行い, プロセスの評価を行っている。

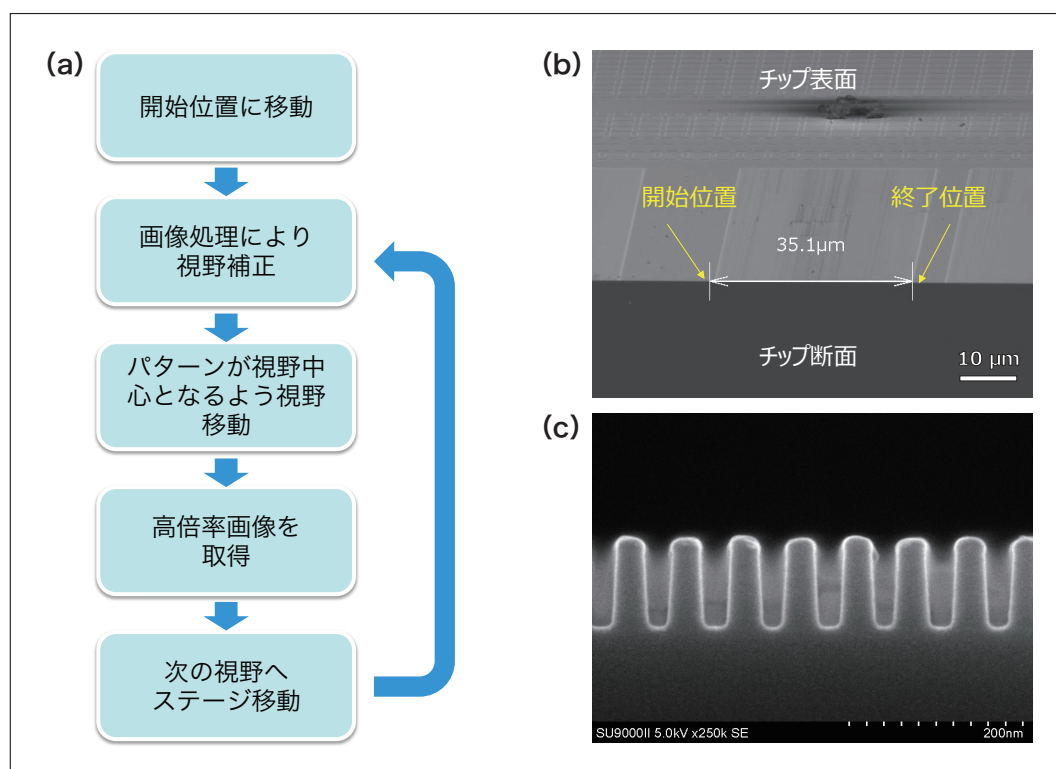


図4 半導体デバイスパターン断面の自動観察事例

(a) 観察ワークフロー, (b) 800 x 二次電子像, (c) 250 kx 二次電子像
(装置: SU9000II, 加速電圧: 5 kV, 検出器: Upper検出器)

本観察では、図4 (b) に示す幅が約35 μm の領域に作成された微細パターン形状を、図4 (c) のように250,000倍で連続撮像した。なお250,000倍での撮像前には都度、画像処理によりパターンが視野中心となるように視野補正を行っている。視野補正を含めても合計56視野を約15分で撮像することができ、ユーザーが手動操作で観察する場合と同程度の時間でのデータ取得が可能であった。

3-4. ウイルス計測用センサー電極

ウイルス計測用センサー電極における自動観察事例を示す。ウイルス計測用センサー電極は、図5 (a) に示すように Si 基板上に約10 μm のギャップを持つ電極構造を持ち、そのギャップ間に付着しているウイルスを計測するデバイス(バイオセンサー)である。SEM 観察の目的は、この電極ギャップを連続撮像していき、実際にどのくらいのウイルスが存在するかを確認することである。

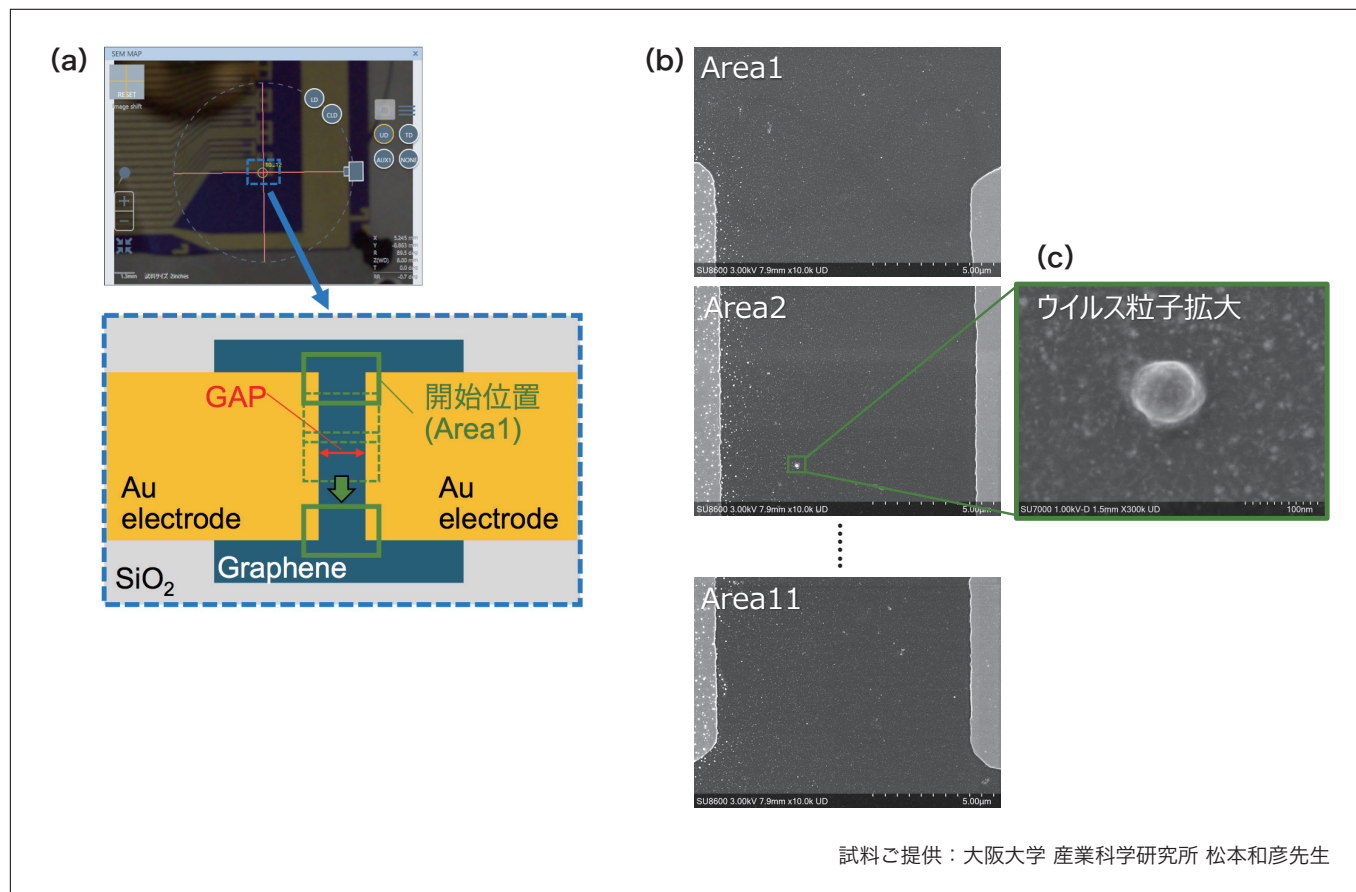


図5 ウイルス計測用センサー電極の自動観察事例

(a)光学像およびギャップ電極模式図, (b)10 kx 二次電子像, (c)300 kx 二次電子像
(装置：SU8600, 加速電圧：3 kV, 検出器：Upper検出器)

本観察では、まずギャップ電極の位置を登録した座標リストを読み込み、電極端の近傍にステージ移動する。その後、正確にギャップ電極間を観察するために画像認識を用いて視野補正後、その位置を開始位置としてギャップ電極間を連続撮影していく(図5 (a))。また1つのギャップ電極を撮影したら次の電極へ移動し同様の撮影を繰り返した。図5 (b) が10,000倍の連続撮影した二次電子像、図5 (c) がギャップ電極間に存在したウイルスを手動で300,000倍にて観察した二次電子像である。本観察では、30箇所のギャップ電極をそれぞれ11視野、合計330視野の観察が必要であり、ユーザーの手動操作と比較した場合は、2時間半の省力化効果が得られた。

4. まとめ

EM Flow Creator を用いた様々な SEM 観察フローの自動化事例を紹介した。このように EM Flow Creator は、多様な観察フローに柔軟に対応でき、安定した連続動作での大量データ取得が可能である。本ソフトウェアにより、ユーザーの操作負担を低減させ、データ取得や解析のさらなる促進が期待できる。

参考文献

- 1) 安藤：プログラミング言語利用実態調査2021：日経コンピュータ，2021年8月5日号 pp.46-53
- 2) 日立ハイテク会員制サイトS.I.navi, アプリケーションデータシート HTD-SEM-207
- 3) 日立ハイテク会員制サイトS.I.navi, アプリケーションデータシート HTD-SEM-182
- 4) 日立ハイテク会員制サイトS.I.navi, アプリケーションデータシート HTD-SEM-172
- 5) 日立ハイテク会員制サイトS.I.navi, アプリケーションデータシート HTD-SEM-213

著者紹介

設楽 宗史

(株) 日立ハイテク コアテクノロジー&ソリューション事業統括本部 CT システム製品本部 CT ソリューション開発部

日立アミノ酸分析計の進化 —アジア初から認定化学遺産第066号まで

Evolution of Hitachi Amino Acid Analyzers — From the First in Asia to Chemical Heritage No. 066

伊藤 正人^{*1}, 源 法雅^{*1}, 井上 陽子^{*2}

1. はじめに

2024年3月、日本化学会は、835形日立高速アミノ酸分析計がアミノ酸分析計の初期からHPLC (High Performance Liquid Chromatography) 機に至る技術の変遷を詳細に把握することのできる貴重な装置であり、日本に現存する最古のアミノ酸分析計として化学遺産(第066号)に認定した¹⁾。835形は、日本分析化学会 液体クロマトグラフィー研究懇談会からも2020年、科学遺産第3号に認定されており、SI NEWS にその解説記事を載せた²⁾。本稿では日立アミノ酸分析計の進化を遡るため、少しカメラを引き、初期の装置から835形に至るまでの系統樹を眺めてみたい。

2. アジア初の日立アミノ酸分析計

1958年、京都大学 理学部と日立製作所 多賀工場(日立市)との共同研究が始まった。1960年、我が国初の液体クロマトグラフKLF-1形を京都大学に納めた丁度その頃、アミノ酸分析計の開発も始まっていた。そして、多賀工場から新設の那珂工場(旧・勝田市＝現・ひたちなか市)へ移転した1961年、最初のアミノ酸分析計 KLA-1形が完成した。KLA-1形は試作機であったにもかかわらず、珍しい写真が残っていた(図1)。



図1 KLA-1形試作機
製品版であるKLA-2形日立アミノ酸分析計とそっくりである。

翌年の1962年、製品版のKLA-2形へすぐ発展した。このたび、日本化学会はKLA-2形をアジア初のアミノ酸分析計と認めた。外観はまるで間違い探しクイズのようにそっくりである(前稿²⁾ 図4のKLA-2形の写真を参照)。KLA-2形は、Moore 博士らの有名な論文³⁾をベースにして開発された^{4,7)}。高度経済成長期に入った頃だったからであろうか、我が国のアミノ酸分析計はまずお手本を忠実に再現することから開発が始まったようである。Moore 博士の論文と同じ長さのガラス

製カラムを2本装備した。いずれもガラス製なのでカラムの中が見えた。長いカラムは酸性・中性アミノ酸を分離する1.5 mのカラムである。気泡を抜けやすくするためにカラムを鉛直に立てることになり、装置は必然的にロッカーのように縦型に設計された。

カラムを2本用いることは高速化の工夫であった。最初に15 cmの短いカラムで塩基性アミノ酸を分離してから、長いカラムへ手動でつなぎ替えて溶離液も切り替える。こうすることにより反応系や検出系は同じ流路を利用できた。この高速化の工夫もありKLA-2形はそれまで1週間かかっていた分析時間を一挙に24時間以内に短縮してしまった⁴⁾(図2)。その進歩は、目の当たりにした人々を驚かせた。発売の翌年から輸出されたことからそのインパクトの大きさがうかがえる。最初の輸出国が旧ソビエト連邦であったことは当時の時代背景を反映している。

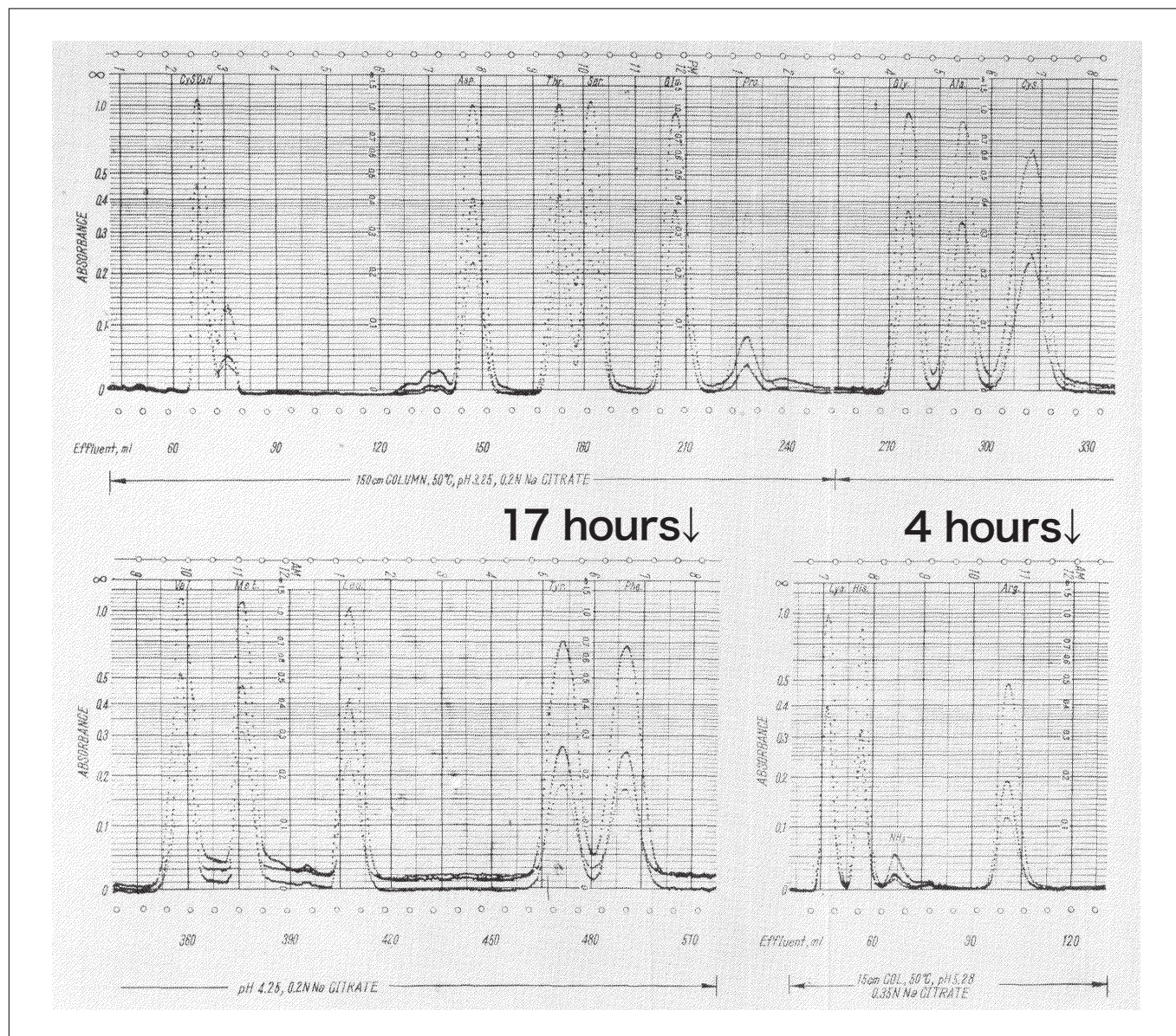


図2 KLA-2形のクロマトグラム

横軸は保持容量(ml)。流量30 ml/時で保持時間に換算できる。

(S. I. NEWS, Vol. 5, No. 1 (1962)より再掲載)

この時期はデータ処理装置がまだなかったため、ピーク面積はピークを三角形に近似して、ピーク幅に対応する底辺と高さを掛けて2で割って求めた。そして、ピーク面積の再現性を確認するためには相対標準偏差(%)を手動で計算していた。電卓のまだない時代である。2乗和を求めることまでは何とかできたとしても、平方根の計算は大変だったことであろう。1検体を測定するのに1日間かかっていたのだから、ピーク面積の再現性試験まで含めたら、据付け作業は1週間かそれ以上かかったそうである。当時はカラムの上端を開放してピペットで試料を滴下していたので、据付け者は装置につきっきりであった。試料注入やカラムのつなぎ替えのための踏み台も製品の付属品として納入された。さらに、据付け時にはカラムの充填方法も顧客に説明していた。初期の装置にはオートサンプラーが付いていなかったのだけれども、グルタミン酸(Glu)のピーク面積再現性で1%が報告されているので、技量をもってすれば現在と同様の実力が既にあったことがわかる⁵⁾。

3. 背の高い床置き型

1964年、KLA-3形、1965年、KLA-3A形⁸⁾、1966年、KLA-3B形⁹⁾と毎年モデルチェンジを繰り返した(図3)。高速化や高分離化のため、カラム長さなどを最適化して、分析法は多様化していった。この頃は米国への輸出も始まり、アミノ酸分析計が急速に進歩する時期だったに違いない。また、今はアミノ酸をクロマトグラフィーにより分取して精製する用途はないが、当時はアミノ酸の調製装置 LP-2形シリーズも開発されていた¹⁰⁾。

1971年発表の KLA-5形は背の高い床置き型の最終進化形である(図4)。標準的なカラムとして内径6 mm、長さ50 cmのカラムを用いて、分析時間は4時間まで短縮された。ちなみに KLA-2形のカラムの内径は Moore 博士の論文と同じ9 mmであり⁶⁾、KLA-5形でカラム内径を細くする意図は高感度化や試薬の消費量低減であった¹¹⁾。



図3 KLA-3形日立アミノ酸分析計
旧ソビエト連邦、米国、中国などに輸出された。



図4 KLA-5形日立アミノ酸分析計
背の高い床置き型の最終版。

KLA-5形の最大の開発コンセプトは全自動化であった^{11,12)}。操作者が装置に常時付いていなくとも、分析が連続的に実行できるようにまずオートサンプラーが搭載された。当時にできたことは、プログラムを穿孔した紙テープに記録する方式だった。その穴がどのタイミングでどこにあいているかを電氣的な導通をもって金属製ドラムとブラシで刻々と読み出し、その時刻と穿孔位置に応じてリレーを動作させる、まるでオルゴールのような方式だった。この方式により、KLA-5形の頃には操作者が手動で行っていた溶離液の切替え、カラムの切替え、サンプリングの開始などの動作を紙テープが代行して命令できたわけである。

操作者は予め最大24個のサンプル管に測定用の試料をそれぞれ充填しておき、オートサンプラーに保管する。あとは紙テープに従ってターンテーブルが回転する。サンプル管は導入チューブに接続され、試料は一旦、導入チューブへ移動する。そして、溶離液を送液するポンプからカラムへの流路に導入チューブを割り込ませることにより、試料をカラムへ送り込んだ。導入チューブを介在させて、サンプル管と流路を分けることによりサンプル管を高圧下に置く必要がなくなる。また、サンプル管は500 μL の定容量コイルとして利用するだけでなく、溶離液に満たされたサンプル管にマイクロシリンジにより10～250 μL の任意の試料量を予め注入できる設計でもあった。

さらにKLA-5形にはJ221形積分器も採用された¹³⁾。まだコンピューターが世の中に普及する前なので、本積分器は現在のようなデジタル変換された信号値を数値演算する方式ではなかった。電気回路を用いて検出器からのアナログ信号を直接扱ったのである。検出信号の電圧を繰り返し周波数のパルスに変換するVFC (Voltage to Frequency Converter) 回路が採用された。回路上でピークのスタート点とエンド点を検出して、回路でベースラインも決定して、スタート点とエンド点の間の信号値を電気回路で積算して、ピーク面積をプリンターに出力する。また、同時にピークの保持時間も見出すことができた。まさにアナログ回路技術の芸術品である。ピーク面積を求める手動計算を自動化できたのだから、それだけで当時としては実に画期的な機能であったであろう。手動計算との比較のうえ、その有用性も報告されている¹¹⁾。なお、次に登場する835形のために、KLA-5形では既にシングルカラムによる分析法が準備されていた。

4. 化学遺産の835形高速アミノ酸分析計

日本に現存する最古のアミノ酸分析計は茨城県ひたちなか市の日立ハイテクに保管されている。図5は本稿執筆のために、筆者と当時のエンジニアとが認定化学遺産066号といっしょに撮った写真である。

1977年発売の835形は1970年代の技術潮流に上手く乗った装置だったと言える¹⁴⁾。まず第一に液体クロマトグラフィーにはHPLCの大きな波が押し寄せた。象徴的に表現すれば、カラムがガラス製からステンレス鋼に置き換わった。これにより10 MPa (約100気圧) を超えるポンプの吐出圧力により強制的に溶離液をカラムに送り込むことができた。KLA-5形の分析時間が4時間だったものが、835形では1時間未満に縮まった。KLA-5形の充てん剤の粒子径が17 μm だったものが、835形で5 μm に微細化できたことが主要な理由である。シングルカラム分析法を採用するうえで、さらに高速化を実現するために物理学的にも化学的にもいくつものハードルを飛び越えている¹⁵⁾。HPLC化によりカラムの長さが25 cm 以下になり、835形以降、背の高くない床置き型に高速アミノ酸分析計を設計することができるようになった。また、経済成長の影響であろうか、この頃から中国への輸出も増えてきた。

もう一つの大きな波はマイコンブームである。当時は洗濯機や炊飯器にまでマイクロコンピューターが搭載された。ちょうど今なら家電品に何でもAI (Artificial Intelligence) が搭載されるような流行である。KLA-5形では紙テープ方式のプログラマーや、積分器のような電気回路の芸術品のようなユニットを搭載していたが、全てマイコンに置き換わった。分析法のタイムプログラムは紙テープから銀行のキャッシュカードのような磁気媒体に取って替わった。約20成分のたんぱく質加水分解物法から、約40成分の生体液分析法へカード1枚を交換するだけでタイムプログラムを移行できたのである。

前述のJ221形積分器はマイコンのデータ処理装置へと置き換わった。デジタル処理は電気回路でアナログ信号を処理するものではないので複数の演算処理を実行してもSN比が劣化しない。従って、高精度にピーク面積の測定ができるようになった。また、ピークのスタート点、エンド点検知の閾値やベースライン決定法に関するパラメータの設定、および分離ピークのピーク面積処理法、ノイズ計算などに多様な機能を持たせることができるようになった。また同時に各ピークの頂点を探し出し、保持時間の決定、ピーク高さの測定、各種定量計算法の選択などもデジタル処理で実行できたわけである¹⁶⁾。

何でもデジタルになったかと言えば、必ずしもそうでもない。ポンプは脈流のない送液が理想であり、保持時間の再現性を向上するためにKLA-3形の頃よりダブルピストン駆動式のポンプが採用されていた。835形ではさらに高性能化するために往復周期の短いシングルプランジャーポンプを開発したが、流量設定はまだツマミネジを回して固定するアナログ方式だった。従って、現在のように1つの分析工程内で流量を変更するような芸当はできなかったわけである。

前稿²⁾でも詳しく述べたように、835形の開発は今では想像もできないような正に昭和の一大プロジェクトだった。機械系、電気・電子系、マイコンのソフトウェア設計者、分析の専門家、および検査・製造部門から精鋭の技術者が選ばれた(図5)。

そして、その開発責任者が故・鴈野重威博士であった。幸いなことに1,000台出荷記念式で挨拶する博士の写真も残っていた(図6)。プロジェクトを駆け抜けて、ニューネッシーのアミノ酸分析にたどり着いたことは期せずして舞い込んできた幸運な835形のデビュー劇であった¹⁾。



図5 835形日立高速アミノ酸分析計、および開発者と著者
後列左から佐竹尋志氏(機械), 藤井芳雄氏(分析), 沼田昭氏(検査)。
前列左から源法雅, 井上陽子, 伊藤正人。



図6 1,000台出荷記念式と鴈野重威博士
製造現場での挨拶。

5. おわりに

2019年、835形のユーザーに最新鋭機のLA8080高速アミノ酸分析計AminoSAAYA®を購入して頂いた¹⁷⁾。その時に譲り受けた835形(図5)が日立ハイテクに展示され、その結果、このたびの化学遺産として認定された。今見てきたようにKLA-1形の試作機から現在のLA8080までの中間点に835形は位置する¹⁸⁻²⁰⁾。そして、その約60年間のパズルの何か1つのピースが違っていたらと考えるととても不思議であり、幸運であった。

835形には以上述べてきたように歴史的な価値があり、その現物が見られるのだから貴重である。LA8080も835形もアミノ酸分析の原理はMoore博士³⁾からずっと共通である。本稿では835形から少しズームアウトして、最初の試作機KLA-1形からその歴史を覗いて来たわけだが、その間の進化がおおよそ平坦だったとは言えないほどの技術革新が幾つも重なっていたことを共有頂けたらだろうか？

参考文献

- 1) 伊藤正人, 化学と工業, **77**, 484-486 (2024).
- 2) 伊藤正人, 成松郁子, 清水克敏, *S. I. NEWS*, Vol. 64, No. 2, 5642-5647 (2021).
- 3) D. H. Spackman, W. H. Stein, S. Moore, *Anal. Chem.*, **30**, 1190-1206 (1958).
- 4) 小沼武男, 島田三男, *S. I. NEWS*, Vol. 5, No. 1, 121-122 (1962).
- 5) 波多野博行, 江藤 暁, 小沢恭一, 鷹野重威, 黒羽逸平, 宮内圭治, 日立評論, **44**, 2068-2072 (1962).
https://www.hitachihyoron.com/jp/pdf/1962/12/1962_12_23.pdf
- 6) 波多野博行, *S. I. NEWS*, Vol. 5, No. 5, 161-167 (1963).
- 7) 宮内圭治, 藤井芳雄, *S. I. NEWS*, Vol. 7, No. 3, 278-279 (1964).
- 8) 篠野雄一, *S. I. NEWS*, Vol. 10, No. 2, 478-479 (1967).
- 9) 石家駿治, *S. I. NEWS*, Vol. 10, No. 6, 522-525 (1967).
- 10) 宮内圭治, 藤井芳雄, *S. I. NEWS*, Vol. 6, No. 6, 253-255 (1963).
- 11) 塚田勝男, 藤井芳雄, 嶋田三男, 日立評論, **54**, 888-893 (1972).
https://www.hitachihyoron.com/jp/pdf/1972/10/1972_10_08.pdf
- 12) 吉田霞, *The Hitachi Scientific Instrument Digest*, No. 61, 2-5 (1971).
- 13) 中村了司, 吉成幸男, 日立評論, **55**, 999-1004 (1973).
https://www.hitachihyoron.com/jp/pdf/1973/10/1973_10_06.pdf
- 14) 鷹野重威, 山崎義一, 嶋田三男, *S. I. NEWS*, Vol. 40, No. 4, 1784-1788 (1977).
- 15) 鷹野重威, 藤井芳雄, 藤田一紀, 武内澁土, 日立評論, **61**, 379-384 (1979).
- 16) 西脇耕治, 小西忠雄, 高島洋平, 猪俣博, 日立評論, **61**, 295-298 (1979).
- 17) 伊藤正人, 成松郁子, 裴敏伶, 森崎敦己, 鈴木裕志, 福田真人, 八木隆, 大月繁夫, 関一也, 豊崎耕作, *S. I. NEWS*, Vol. 61, No. 1, 5360-5364 (2018).
- 18) 高田芳矩, 藤井芳雄, 高橋秀夫, 鷹野重威, 日立評論, **69**, 333-338 (1987).
- 19) 波多野博行, *S. I. NEWS*, Vol. 32, No. 1, 2887-2892 (1989).
- 20) 伊藤正人, 成松郁子, 生物工学誌, **101**, 634-637 (2023).

1. “AminoSAAYA®” は日立ハイテクサイエンスの日本国内における登録商標です。

著者紹介

*1 伊藤 正人, 源 法雅

(株) 日立ハイテクサイエンス 分析システム第二設計部

*2 井上 陽子

(株) 日立ハイテク 医用システム第二設計部

会員制サイト“S.I.navi”では、S.I.NEWSのバックナンバーを含む全内容をご覧いただけます。<https://biz.hitachi-hightech.com/sinavi/>

S I N E W S
I N T E R V I E W

Vol. 27

自動車のタイヤ用合成ゴム技術にイノベーションを

～その可能性をもたらすMIと分析装置～

近年、自動車の世界ではEVシフトなどが進み、タイヤに求められる性能もより高度化しています。新たに有力な材料を開発するためには、経験や属人的なスキルに基づく従来からの手法だけでなく、良質なデータから高速で材料開発を行うMI(マテリアルズ・インフォマティクス)の活用が欠かせません。旭化成株式会社は、MIの可能性にいち早く着目し、製品化への展開を推進しています。MI活用の大きな一歩になった合成ゴムの開発で注目される同社の合成ゴム技術開発部を訪問し、その経緯や開発における分析装置の役割などについて井上芳久 主幹研究員に話を伺いました。



旭化成株式会社
環境ソリューション事業本部
エラストマー事業部
合成ゴム技術開発部
主幹研究員

井上芳久 博士(工学)

情報科学の発達によって材料開発の現場は大きく進化

製品の機能は、材料が持つ特性によって大きく左右される。従来、良い特性の材料をつくるためには、研究者の知識と勘と経験によって成分の種類、構造などの組み合わせを考え、実証実験を行うという手法が一般的だった。ほぼ無限にある条件の組み合わせから正解を導くには何度も研究と実験を繰り返す必要があり、そのため新材料が製品として世に出るまでに、長い期間を要することは避けられない課題でもあった。

井上氏は次のように話す。

「私は現在合成ゴム技術開発部に所属し、タイヤ用合成ゴムの研究開発チームで、新しい材料の評価解析と技術サービスを担当しています。自動車タイヤ用の合成ゴムの開発も、以前は文字通りトライ&エラーの世界でした。作ってみて評価して、性能を満たしていればタイヤメーカーで評価を受け、その結果をフィードバックして改善し、評価する。

その繰り返しのラリーをいかに速く回すかが競争優位に立つための鍵でした」

井上氏の言葉にあるように、開発現場においてスピードは大きな価値を持つ。社内に蓄積された経験やノウハウ、研究成果などを利用し、競争力のある素材をいかに短時間で開発することができるかは、つねに至上命題だった。しかし、すでに多くの素材が開発され実用化された今、より高性能で、要求される特性にマッチする合成ゴムを開発するのはコストがさらにかかり、時間も必要になっている。

そこで近年、材料開発の効率を一気に引き上げる手段として、これまでの計算シミュレーションや実験に加え、機械学習やデータマイニングなどといったAIが活用されるようになった。これがMIと呼ばれる手法だ。その進化によって、現在、材料の開発プロセスは劇的な変化を始めている。



Optimisation

- ① LRR (低転がり抵抗)
- ② Wet Grip (ウェットグリップ性能)
- ③ TB (引張破断強度)
- ④ Wear (耐摩耗性)

〔図〕 MIによるタイヤ性能の最適化

S I NEWS
INTERVIEW

サステナブルな社会の実現に貢献するために

次世代のタイヤに求められている性能も高度化していると書いたが、タイヤ用合成ゴムには実際にどのような機能、性能を要求されているのか。

「これまでは低燃費性とウェットグリップ性能へのニーズが高かったですが、現在は、低燃費性と耐摩耗性へのニーズが高いです。最近では、電費という言葉も使われ始めていますが、EVやFCV(燃料電池車)などのいわゆる次世代車を想定したときには、タイヤの転がり抵抗を低減することはもちろん、耐摩耗性が一段と重要になると考えています」

EVやFCVは、電池を積載しているため、一般にガソリン車と比べ約2割程度重量が増すと言われている。重量増はタイヤの摩耗に影響するため、合成ゴムの原料であるポリマーの最適な分子設計や混練りなど高度な加工が必要とされる。

さらに、サステナブルな社会の実現に向けて、さ

まざまな国と地域での環境規制に対応するためにも耐摩耗性は外せない機能になっている。

例えば欧州。EUでは大気汚染への対策として自動車からの排出基準を設けており、現在のEuro 6から、Euro 7へと、さらに条件が厳しくなることがわかっている。従来の基準に比べ、非常に厳しい内容となっているためEU内でも賛否があるが、Euro 7では排出ガス以外に、ブレーキからの粒子状物質とタイヤからのマイクロプラスチック排出に規制がかかることされている。この規制はEVにも適用され、加えてEVの搭載バッテリーについても交換頻度削減などを目標としているため、タイヤが省電費であることは環境対策としても必須の機能になる。

「企業のニーズだけでなく社会全体の仕組みが変わってきていることを実感しています。材料メーカーとしても、いかにサステナブルな社会の実現に貢献するか、つねに模索しなければなりません」

MIの活用によって短期間で革新的な素材の開発に成功

MIは、これまで膨大な時間とコストを要していた材料開発の現場に、劇的な高速化やコスト削減をもたらす。

「当社のMIを活用する取り組みは2019年頃から一気に加速しました。構造や物性の最適化を図るためデータベースを構築し、精度を高めて、すばやく製品をアウトプットできるようになっています。MIは最適化するためのツールであり、シミュレーションとは違います。目標とする材料に向かって、この機能とこの機能を最大化したい、その時のポリマー構造は？といったときに候補をいくつも出してくれます。そのステップが格段にスピードアップし

ました」

すでにMIを活用した合成ゴムの開発が行われており、新規のグレードとしてタイヤメーカーで採用されているようだ。井上氏によると、その開発期間は従来に比べはるかに短く、それでいて性能はタイヤメーカーの要求を満たすものだという。新しい製品は、低燃費かつ耐摩耗性に優れ、雨天時など濡れた路面でのグリップも損なわない革新的な素材になった。

S I NEWS
INTERVIEW画像を見ることは、
仮説を検証するための欠かせないステップ

高度化するタイヤ用合成ゴムの研究開発において、分析装置はどのような役割を果たしているのだろうか。

「低燃費タイヤの進歩を支える代表的な技術としてシリカ配合があります。シリカを配合することによって、低燃費性とウェットグリップ性能を両立することができますが、そのためにはゴムとシリカの分散状態が非常に重要になります。そして、シリカの分散は耐摩耗性にも重要です」

MIで最適化された材料因子であっても、製品化に向けてのステップでは、やはり分析装置で実際の分散状態を確かめることは欠かせないと井上氏言う。

「こうすれば低燃費性の向上とウェットグリップが両立し、耐摩耗性も向上できるとわかっていても、あくまで仮説であり、電子顕微鏡などの分析装置で実際の姿を見て検証することは、これまで以上に大事です」



事例として提示いただいた画像にはゴム中のシリカがナノレベルで均一に分散されている様子が見てとれた。シリカとの親和性を高める工夫により、ゴム中にシリカがきれいに分散されることによって、低燃費性とウェットグリップ性能の向上という背反する性能が両立し、耐摩耗性も向上することができるのだという。

「ミクロの世界の話ですが、これが何万台、何千万台という自動車に適用されることになれば、地球規模の環境負荷を低減する効果は決して小さくはないでしょう」

MIを活用するためには材料に関する高度な専門知識が不可欠

製品の環境性能を含めて、顧客の要求はますます高度で複雑なものになっているが、時代が大きく動くときは、ソリューションによって新たな市場を拓くチャンスのあるときでもある。材料メーカーとして競争を優位に運ぶためにも、MIを駆使して研究開発の効率化・高速化を図ることは大きな意味を持つ。

一方で、MIの開発や実用化を進める上で、一般的に重要な課題となるのが人材育成だ。

MIの分野においては、材料に対する深い理解とデータサイエンスの知見の両方を兼ね備えた人材が求められる。合成ゴム技術開発部では、化学・材料分野の専門知識を持った研究者自らが情報科

S I NEWS
INTERVIEW

学を学び、自分たちで MI による材料開発を行っている。旭化成が MI 活用で成果を上げている理由の一つがここにある。

「やはり MI の条件などを設定するためには、人のノウハウと経験値が必要になります。研究者自身が MI を使いこなせるようになることは、見落とし

がちですが大事なポイントだと思っています」と井上氏。

MI は、人の能力を拡張してくれるものであり、もともと開発能力がある人が便利に活用しているからこそ、期待を超える成果につながっているとも言えるだろう。

MI と設計と分析の連携でイノベーションを

将来、分析データと MI を活用することによって、どんな展望が開けるのかという問いを井上氏に投げかけたところ、しばらく考えたのちに次のように語った。

「今後 EV や FCV がモビリティの主役になっても、

すでにニーズとしてあった低燃費や耐摩耗性という方向性は継続しているわけです。しかし、次の次の世代の開発を考えるとときには、これまでの延長線上にないような、飛躍した性能向上が必要になるはずです。私たちはそれを作り出さなければいけない。そのためにもっと多くのデータを蓄積しながら、MI とポリマー設計と分析とを連携させることで、イノベーションを生み出すことができると考えています」

SDGs の目標達成には、マテリアルの革新が不可欠であるとも言われている。日本が得意としてきた材料分野の研究開発が、産業の力になり、社会課題の解決に貢献していくことを期待して、今後も同社が生み出す新材料に注目したい。



取材後記

常識を塗り替えるようなイノベーションの可能性について聞いたとき、井上氏は「ある」と断言しました。井上氏はシリカを例に、こう説明してくれました。「タイヤのトレッド面（路面に設置する部分）の材料として、シリカが使用されるようになったのはおよそ 30 年前。それ以前は、カーボンブラックがメインで使われていましたが、転がり抵抗とウェットグリップの両立は難しかった。そこでミシュランがシリカを使うタイヤを開発し、タイヤの常識がガラッと変わりました」 同じように、歴史を変えるようなイノベーションが起きる日を楽しみに待ちながら、日立ハイテクの分析装置が開発の最前線に立つ人たちの力になればと願っています。（取材・記事：山口としなり）

第33回日本医療薬学会年会 メディカルセミナー 10

株式会社日立ハイテク／株式会社日立ハイテクサイエンス共催

「うちでもデキル!」「私でもデキル!!」 タイムリーなTDMの実践!!! Part2

座長：石井 伊都子氏 千葉大学医学部附属病院 薬剤部

株式会社日立ハイテクと株式会社日立ハイテクサイエンスは共催で、第33回日本医療薬学会年会においてメディカルセミナー「『うちでもデキル!』『私でもデキル!!』タイムリーなTDMの実践!!! Part2」を2023年11月4日、第3会場において開催した。阿部裕子氏(健生会明生病院薬局)が、単科精神科病院における高速液体クロマトグラフ「LM1010」を用いたTDMの実践例を講演。同装置の開発に携わった森川剛氏(JA長野厚生連北信総合病院薬剤部)が、装置の開発に至ったきっかけと実践例についての講演を行った。座長は石井伊都子氏(千葉大学医学部附属病院薬剤部)が務めた。

同セミナーは2022年に群馬県で開催された第32回年会で企画され好評を博したメディカルセミナーのPart2にあたる。

実施日 2023年11月4日(土)

セミナー動画は特設ページにご登録のうえ閲覧いただけます。

ご登録済みの方はこちらから>

https://www.hitachi-hightech.com/jp/ja/products/life-medical-systems/hplc/lm1010_lp/seminar.html



ご登録がまだの方はこちらから
(入力フォーム)>

<https://i-entry.jp/v4/form/hhs/lm1010/input>



演題 1

『うちでもデキル!!』

～単科精神科病院における TDM の実践と工夫～

阿部 裕子 氏 健生会明生病院 薬局

健生会明生病院(熊本市北区)薬局の阿部氏は、同病院における熊本大学との共同研究で取り組んだ「LM1010」の実践例を紹介した。同病院は創立60年の234床の単科精神科病院で、精神科急性期病棟、精神療養病棟、一般病棟で構成。常勤医師7名、非常勤医師10名、常勤薬剤師5名、非常勤薬剤師1名、調剤助手1名、常勤臨床検査技師1名で運営されている。

2023年6月時点での入院患者構成は、統合失調症67%、認知症11%、アルコール使用障害8%、気分障害9%で約230人が入院している。

■ 共同研究参加への3つの課題

同病院が共同研究に参加するには3つの課題が存在した。機器の設置場所などの環境、マンパワー、自身のようにHPLCに不慣れでも「LM1010」の操作や管理ができるのかという3点だった。

まず環境については、薬局には設置スペースがなかったが、臨床検査技師の協力が得られ、かつ検体の遠心分離と冷凍保存までの作業を担当してくれることになった。看護師が検体を検査室に持って行く作業は通常通りであるため、これにより円滑な装置の運用が可能になった。設置方法などについては、昨年(2022年)の講演の武蔵ヶ丘病院での事例がそのまま役に立ったという。

次にマンパワーについては、当時の薬剤師数は同病院史上最多であったものの不安を覚えていたが、12月に薬剤師1名が産休からの復帰が決まり、かつ臨床検査技師からも協力を提案され解決をみた。臨床検査技師は調整会議に出席してくれるだけでなく、最終的には一部装置の操作も担当してくれることになった。

また共同研究を受ける大きな動機の1つとして、入社3年目の薬剤師の存在があった。薬剤師不足の中、精神科の同病院を新卒から選んでくれた熱意に対し、やりがいにつながってくれば良いという想いがあったという。

最後の課題である操作については、若手薬剤師は大学時代にHPLCの操作の経験があるとのことだったが、阿部氏自身は大学時代には経験があるものの数十年前で初心者も同然だった。一方で、「LM1010」は、操作手順通りに行うことにより30分程度で結果を得ることができ、その速さに驚いたという。2回程度の練習で、本検体の測定を行うことができるようになった。

同病院のTDM対象薬は、カルバマゼピン(抗てんかん薬)、バルプロ酸ナトリウム(抗てんかん薬)、炭酸リチウム(躁病治療薬)、ハロペリドール(抗精神病薬)だった。従来これら薬剤については、TDMは100%外注で、数日後に判明する値をもとに処方提案を行っていた。「測定は外注するもの!」「タイムラグは解決し得ないもの!」と思い込んでいたという。すぐに結果を知りたいという症例があっても、解決し得ないものとして捉えていた。

また昨年(2022年)4月にクロザピンが特定薬剤治療管理料の対象となった。当時は外注で同薬剤の測定についてサービスを開始しておらず、やむを得ず大学病院に協力を求めたこともあった。その中で当時、「LM1010」ではクロザピンが測定準備中であったことは導入のモチベーションとなったという。

■ “私でもできる”高い操作性

測定は前述の若手薬剤師、阿部氏、臨床検査技師の3名が担当し、必ず2名以上で実施。ダブルチェックで取り違えを防いだ。原則として測定は火曜日の午後2時から行うこととし、午前中の空き時間に準備を行った。準備はシステムを起動してコンディショニングボタンをクリック、性能確認のためのQC測定を行うまでで10分程度である。午後の本測定では、検量線の作成を行いながら検体の前処理を行った。前処理は5検体をまとめて行って30分程度だった。条件の検討等は必要ないため、操作手順通りに行えばよく、「まさに私でもできるという操作」という。

測定は薬剤にもよるが、1検体あたり10分程度で結果を得ることができた。同病院で主に行われたカルバマゼピンとクロザピンは7分程度で結果を得ることができた。

同病院では「LM1010」設置期間半年で147検体の測定を行った(クロザピン85, カルバマゼピン45, フェニトイン13, ラモトリギン4)。1日10検体が最大だった。

いずれも「LM1010」の測定結果は外注と良い相関を示した。

■ 「LM1010」で防げた有害事象

阿部氏は最後に、2023年9月に開催された第7回精神薬学会で阿部氏が発表したクロザピンに関する報告を紹介した。

クロザピンは治療抵抗性統合失調症に適用をもつ唯一の薬剤だが、無顆粒球症や心筋炎、高血糖といった重篤な副作用が出現するおそれがあるため、クロザリル患者モニタリングサービス(CPMS)の管理下で定期的な血液検査が義務づけられている。初回投与から18週間は入院管理が必要になる。投与初期に発現することが多い白血球減少の重篤化を防ぐためのシステムで、毎回投与時には白血球値と好中球値をCPMSのシステム上に登録し、判定後で投与の可否が決定する。投与開始から26週までは毎週、52週までは隔週、約1年経過したそれ以降は4週ごとの検査になる。

何らかの理由で基準値を下回った場合は週2回の検査になり、白血球が $3000/\text{mm}^3$ 未満または好中球が $1500/\text{mm}^3$ 未満になると投与中止になる。直接のクロザピンとの因果関係が認められないなどの理由がない限りは、原則として生涯再投与は認められない。

報告は、クロザピン投与患者のCOVID-19罹患を契機に、好中球が減少した症例に対し、血中クロザピン濃度上昇を疑い処方提案したという報告で、院内測定は「LM1010」を用い、外注はLSIメディエンスに依頼した。外注は概ね7日を要した。

患者は6年前からクロザピンにより治療を行っている60歳の治療抵抗性統合失調症の女性で、通常は白血球、好中球ともに数値は安定していたが、COVID-19感染中の2月13日の定期採血時に白血球は4040、好中球が1810に減少し、CPMS上で重度イエローと判定された。

先行研究でCOVID-19感染時にクロザピンの血中濃度が上昇するという報告があったため、血中濃度の上昇が好中球減少の一因である可能性を検証するため血中クロザピン濃度を測定した。

これまで同患者の投与量は2年以上1日300mgで変更はなかった。感染前までは血中濃度は外注で約500ng、「LM1010」で約400ngであったが、感染時には25～29%上昇しており、好中球減少の一因が血中濃度上昇にあることが推察された。本研究は介入研究ではなく、その時点で外注の結果は得られていなかったことから、「LM1010」の値は参考値として先行研究などのデータと共に医師に提示してクロザピンの一時的な減量を提案した。

3日間は100mg投与、次の3日間は200mg投与、1週間後には元の300mg投与に戻したところ、白血球、好中球

ともに安定。投与量の減少で血中濃度も減少したが、投与量を戻すことで血中濃度も戻った。

薬剤師が事前に血球濃度の予測や迅速な測定を行うことでクロザピンの有害事象を防ぎうることが示唆された。薬剤師が積極的にTDMを行うことで、患者の利益に直接つながることを実感できた経験だったという。またこれまでも感染時に白血球が上昇した経験はあったが、今回のように好中球が低下したのは初めての経験だった。

阿部氏は「マンパワーや環境に恵まれていない精神科領域でも、無理と思い込んでいたタイムリーな血液濃度測定が『LM1010』で可能になりました。また若い薬剤師のやりがいにもつながりました。精神科では薬剤師が処方設計に関与する場面は非常に多いと感じています。即戦力のあるツールを持っていることは、チーム医療の推進に大きな役割を果たす可能性があると感じています」と締め括った。

演題 2

『さあ、TDM 業務を拡大しよう!』

～ LM1010 の導入と実践例～

森川 剛 氏 JA 長野厚生連北信総合病院 薬剤部

JA長野厚生連北信総合病院薬剤部の森川氏は6年制の薬学部卒業1期生であり、卒業後に薬学部で学んだことが活かせると考え病院薬剤師の道を選択した。一方で、病院薬剤師の業務につくと病院内のTDMには限界があるという事実直面。同期の研修医が実践的に熱意をもって働く姿を見て、自身の臨床能力の低さを実感し憤りを覚えることもあったが、研修医から患者に投与される薬剤について相談を多く受ける中で、医師は薬物動態については学ばないため薬剤師の意見は重要と聞き、薬剤師としてのアイデンティティに気づいたという。

■ 誰でも使える液クロがあれば

当時、同病院では院内で薬物血中濃度が測定できる薬剤は7剤に限られ、他の薬剤は外注委託され結果を得るのにタイムラグが生じていた。森川氏は自身が分析化学の研究室出身だったこともあり、薬剤師が積極的にTDMに参加するには液体クロマトグラフィー（液クロ）をもっと使えばよいのではないかと思いついたという。とはいえ、液クロはUV検出器や質量分析計をつなぐことで、選択性と信頼性が高い結果を得られるものの、機器操作のための技術の習得が必要かつ、導入コストが高いことや維持管理に手間がかかることが課題であった。

■ 「LM1010」の導入と実践例

当然ながらTDMでは①用法・用量の個別化、②服薬アドヒアランスの評価、③有害事象や中毒の回避、④入院期間の短縮、⑤治療が無効な際の原因検索、が可能である。また病院薬剤師はTDMを行わないと医師とディスカッションが困難な事例は多く、患者に服薬指導を行う際にも数字で説明が必要な事例は多い。よりよい病棟業務、薬剤師の仕事をするためにもTDMは重要だという。

森川氏の勤務する病院では、経営者、上司との相談のもとで、従来行っていたLBA法と、HPLC/UV法として「LM1010」を使用し、今年(2023年)の6月からTDM業務の拡大が決定した。測定可能な25種類の薬剤全てを測定するのはハードルが高かったことから、まずは汎用的なポリコナゾール、ラモトリギン、アミオダロン

の3剤に限定して測定を開始した。病棟だけでなく外来にも適用している。ステップバイステップを繰り返すことで薬剤師の成長につながると考え、上司との相談のもとで、TDMは固定メンバーをつくるのではなく希望者を募って行うこととした。

ポリコナゾールについては、推奨とされている3日目からTDMが可能になり、当日中の投薬量の提案が可能になった。血中濃度が5.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と高かった症例では、投薬量の提案を行い、退院前には2.3 g/ml と良好な数値を維持した。従来からバンコマイシンについては医師から用量設計を依頼されていたが、現在はポリコナゾールについても同様の依頼を受けている。

ラモトリギンについては、ラモトリギン中毒の症例について測定したところ約20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と高く、一方で意識障害や心毒性もみられなかったが目眩があったことから入院による経過観察を行い、2日後には約2.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ まで低下し目眩も改善したことから、服薬指導の後に患者は退院した。外来の主治医にも情報を伝え、フォローを依頼した。また妊婦へのラモトリギンの投与については単剤使用であれば奇形発現率が低いことから使うことが多いが、妊娠中はUGT1A4活性が増加するため血中濃度が低下することがある。同病院の妊婦授乳婦認定薬剤師が外来の患者に測定を提案したところ測定が行われ、0.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と低かったことから投与量の漸増とフォローを提案した。

アミオダロンについては、デスエチルアミオダロンも測定可能になっており、デスエチルアミオダロンが1.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ だった症例では、0.6以上で肺毒性リスクが上昇するため、投与量の再検討とCTのフォローアップを提案した。また血中濃度が0の症例では服薬ノンアドヒアランスが推察され、電話で様子を伺ったところ、飲んでいないとの返答を得た。同患者は心室頻拍に対し処方されていたことから突然死リスクの上昇の恐れがあり、外来患者であったため医師にも報告した。

情報化社会の現代、利用できるデータは膨大に存在するが、知識と経験は異なる。森川氏は「考えることを教える教育は時間がかかりますし、効率も悪いです。しかし体験することで人は考え始め、進んでいくということはあります」と述べた。今後、同病院でこれまで行っていなかったTDMを行うことで、TDMの本質的な理解が進むと考えているという。

森川氏は「薬剤師にとって、また薬学に携わっている者にとって、投与量に関わり、貢献でき、探究できることを夢のようだと感じています。『LM1010』が夢をもった薬剤師の一助となれば幸いです」と述べて締め括った。

対 談



セミナー後、座長の石井氏を司会に対談の機会が設けられた。

森川氏は11年間、TDMを現場で行いたいと夢見て業務に取り組んで来た。「LM1010」の運用を開始した際に、まず3剤から他の薬剤師の協力を得て実施でき、かつそれが現在は病棟業務の1つとして実施できていることがとても良いことだと感じているという。また、他の薬剤師も「LM1010」のような装置を求めていることがわかったのはとても有意義だったという。森川氏の病院では、希望者を募ってTDM業務にあたったが、最終的には業務外の薬剤師も測定に参加しているという。



石井氏



森川氏

また阿部氏は、「LM1010」を知ることによって、これまでTDMは外注するもの、タイムラグがあるものと思い込んでいたが、実際の測定の経験により検査結果を単なる数字ではなく検査値として理解し、自信を持って医師に提案できるようになり、TDMを実感できたという。阿部氏の病院では阿部氏と若手、検査技師で「LM1010」のTDM業務にあたったが、精神科領域は概ね薬剤師が不足しており、誰でも測れる同装置をチーム医療で利用することで業務の効率化の可能性を感じているという。

一般的に薬学生は卒業後、TDM業務に取り組むことを想定して病院薬



阿部氏

剤師になるが、実際の医療現場では相当の薬剤が外注で処理される現実がある。こうした現実には、タイムラグによる医療の質の低下につながるだけでなく、病院薬剤師のモチベーションを下げることもつながる。

実際「LM1010」の導入により、医師との関わりも増加し信頼関係が深まり、また薬剤師の業務に関する熱意の向上を実感しているという。

また、外来患者に対するTDMは縮小傾向にあったが、「LM1010」の導入によりこの拡大も期待できる。

両氏は最後に、TDMに取り組む薬剤師に向けてメッセージを述べた。

森川氏は「本来薬剤師にとってTDMは重要な業務であったものが、費用対効果、時間対効果の関係でいつのまにか外注することが普通になっていました。技術があるのに使わないことは、アイデンティティの喪失、離職にもつながりかねません。測定を改めて考える機会になれば幸いです」と述べた。

阿部氏は「先ほどセミナーが終わったあとも、目をきらきらさせて『自分のところでもやってみたい』と言われる先生がおられました。精神科でも、うちでもできる、私でもできる、ということで、是非前向きに検討していただければと思います」と締め括った。

装置や試薬、サポートメニューなどの詳細は特設ページにご登録のうえ閲覧いただけます。

ご登録済みの方はこちらから>

https://www.hitachi-hightech.com/jp/ja/products/life-medical-systems/hplc/lm1010_lp/seminar.html



ご登録がまだの方はこちらから
(入力フォーム)>

<https://i-entry.jp/v4/form/hhs/lm1010/input>



第51回日本集中治療医学会学術集会 教育（ランチョン）セミナー 28

株式会社日立ハイテク／株式会社日立ハイテクサイエンス共催

集中治療領域のTDM最前線

座長：橋本 英樹氏 日立総合病院救急集中治療科／筑波大学附属病院日立社会連携教育研究センター感染症科

株式会社日立ハイテクと株式会社日立ハイテクサイエンスは共催で、第51回日本集中治療医学会学術集会において教育（ランチョン）セミナー「集中治療領域のTDM最前線」を2024年3月15日、ロイトン札幌（北海道札幌市）において開催した。近年その有用性が増しているTDM（治療薬物モニタリング）であるが、本講演では、保険収載されていないβラクタム系抗菌薬のTDMについて、実践例を紹介いただいた。

演者は尾田一貴氏（熊本大学病院薬剤部／感染制御部 薬剤師）と橋本英樹氏（日立総合病院救急集中治療科／筑波大学附属病院日立社会連携教育研究センター感染症科 医師）が務め、座長を橋本氏が兼任した。

実施日 2024年3月15日（金）

セミナー動画は特設ページにご登録のうえ閲覧いただけます。

ご登録済みの方はこちらから>

https://www.hitachi-hightech.com/jp/ja/products/life-medical-systems/hplc/lm1010_lp/seminar.html

ご登録がまだの方はこちらから（入力フォーム）>

<https://i-entry.jp/v4/form/hhs/lm1010/input>

演題 1

抗菌薬TDMの現状と発展

～ β ラクタム系薬の評価を踏まえて～

尾田 一貴 氏 熊本大学病院薬剤部／感染制御部

■ 日本の抗菌薬投与で起こりえる濃度不足と過剰投与

2022年に改訂された「抗菌薬TDM臨床実践ガイドライン」では集中治療領域で頻用されTDMの診療報酬が得られるバンコマイシン、テイコプラニン、ボリコナゾール、アミノグリコシド系薬が紹介されている。一方で日本以外ではこれら抗菌薬にとどまらずTDMが行われることが少なくない。

近年Robertsらによって行われた国際多施設協働研究 (DALI study) では、集中治療領域において様々な β ラクタム系薬のTDMを行ったところ、患者によって血中濃度のばらつきがみられ、敗血症時の抗菌薬の濃度不足は許されないにもかかわらず16%が濃度不足であったと報告している。これに対し日本では、TDMを実施せずにこの濃度不足を防ぐため投与量の増量で対処しているが、濃度不足でない患者に対しては過剰投与になっている。

尾田氏は抗菌薬全般について、年々投与量は増加傾向にあり、救命のためとはいえこの方針を継続することには倫理的に問題があると指摘する。TDMを行うことでコストは生じるが、84%について過剰投与を減少させることで医療経済的なコストを回収できる可能性がある。

TDMでは β ラクタム系薬はTime Above MIC (% f T > MIC) を指標にし、これは微生物の最小発育阻止濃度 (MIC) を超える時間の割合がどのくらいあるか意味している。2000年代には40%を超えると殺菌効果が得られると考えられていたが、近年では国際的に100%が必要との意見が主流で、臨床研究でもその妥当性が確かめられている。

インドではTDMが活発に行われ、 β ラクタム系薬のうちメロペネムを投与した915名、ピペラシリンを投与した477名についてのルーチンデータ解析により行った後ろ向き研究では、推定死亡率50%に対してはTime Above MICが100%を超えると死亡率がより減少すると報告している。フランスではTime Above MIC 100%の4倍を推奨しているが、インドの研究ではこれによる死亡率の改善効果はなかった。

DALI studyで行われた治療効果に対する多変量解析では、Time Above MICを50%および100%のカットオフ値で解析すると有意な治療効果および死亡率の改善効果があるという結果が得られている。こうした知見をもとにTime Above MICが100%を超えるべきであるという意見は国際的に支持されている。

ではどのような形でどのような人にこういった目的でTDMを行うべきなのだろうか。2022年の報告では腎臓の悪い (eGFR値が低い) 患者や、透析患者はオーバードーズ (過量摂取) になる傾向がある。また腎臓の良い (eGFR値が高い) 患者や輸液が多い患者、過度の肥満患者などがアンダードーズ (適正用量を下回る低用量使用) になる傾向がある。そのためこれら傾向がある患者にはいずれもTDMを行うなどの対応がとられる。

■ MIC 4 倍の是非

2013年には腎臓の性能が一時的に非常によくあるARC (過大腎排泄) の患者では、Time Above MICの達成率が異なるという報告がなされている。61名の患者を対象に行った観察研究で、ARCがある患者はTime Above MICが100%に3割しか到達しなかった。こうした知見を踏まえ、フランスではポジションペーパー (エビデン

スは十分ではないが専門家により検討された現段階での統一見解文書)でβラクタム系薬を推奨し、これにヨーロッパをはじめとした国際社会は追随している。このポジションペーパーでは投与開始後24～48時間でトラフ値の測定や、可能であれば髄液の測定も推奨している。一方で、Time Above MIC が $100\% \times 4$ (上限8倍)を目標としていることに関しては、まだエビデンスが不足していると共に、過剰な濃度による意識障害の発生への危惧があると尾田氏はいう。実際にヨーロッパでβラクタム系薬に対するTDMがどのくらい行われているかというと、例えばオランダのサーベイランスでは大学病院では2022年時点で40%以上が行われ、一般の病院でも10～20%が行われ、この傾向は増加し続け、現在ではさらに増加していると推測されている。国際的にはTDMは実施を強化する方向に進み、特に欧州およびオーストラリアではその傾向が顕著で、研究も活発に進められているという。

■「LM1010」との関わり

尾田氏はTDMの研究を10年来続けており、「LM1010」の開発にも共同研究で関わってきた。近年TDMの重要性はますます増し、その中で特別なスキルを必要とせず30分程度でTDMを可能にする「LM1010」は、特に医療機器であることからより広範な薬物に対するTDMの普及を後押しするものと期待される。尾田氏は引き続き、より広範な抗菌薬を対象にすべくHPLC法による「LM1010」による測定値の評価を続けるという。施設内でより広くTDMを実施したいというユーザーの期待は高いと感じ、その声に応えるため研究を続けていくと述べた。

■ βラクタム系薬におけるTDMの症例紹介

最後に、尾田氏は熊本大学病院でこれまで行ったβラクタム系薬のTDMを紹介した。

症例報告1は、既に有名な報告になっているカルバペネム系のアレルギーを持ち腎臓の数値が低い59歳女性の肺炎治療に、βラクタム系薬であるセフェピムの投与を開始して数日で意識障害が生じた症例で、既に論文文化されている。主治医は脳神経内科等に相談したが意識障害の原因は不明だった。同患者では原因菌として緑膿菌が同定されており、他薬にしようとするも、タゾバクタム・ピペラシリン耐性、セフェピム感受性低下、トブラマイシン感受性ではあるがレボフロキサシン耐性で、治療の中心となる代替薬が無くセフェピムの継続が必要だった。

セフェピムは添付文書で、過剰投与することで意識障害、痙攣が生じ、特に腎機能障害患者では顕著であることが示されているが、日常臨床で生じやすいことが最近わかってきている。目標濃度はまだ確定していないが、少しずつ情報が集積されつつある。複数の報告から神経毒性発現のトラフ値としてセフェピムは効果が期待できるMIC値と、期待できないMIC値の分岐にあたるブレイクポイントが $8 \mu\text{g/mL}$ であるため、先行研究の $22 \mu\text{g/mL}$ という報告が妥当ではないかと考えられている。こうした知見をもとに意識障害の原因がセフェピムである可能性が考えられた。

感受性があるトブラマイシンの単剤投与は一般的に選択されず、治療の中心であるβラクタム系薬としてのセフェピムの継続が必要だったことから、この継続のためにTDMを実施した。するとセフェピム濃度が 71.3 mg/L と非常に高濃度だった。そこでセフェピムを減量し、トブラマイシンも投与することで意識障害が解消され治癒に至った。

症例報告2は、70歳男性のCOVID-19による肺炎患者のセフトアジジムを測定した症例。同患者は1カ月ほどICUにて治療歴があり、血液培養で緑膿菌を検出し、治療するも血培陽性が継続した。いったんはセフトアジジムの不足を予想されたが、TDMを行うとトラフ値 $56 \mu\text{g/mL}$ と異常に高濃度が示され、続けると意識障害が生

じる可能性が高いことがわかった。減量して治療を1カ月継続したところ血培養陰性化し、入院116日で転院に至った。

症例報告3は、心臓にEbstein奇形をもつ肺炎患者にドリペネム(カルバペネム系薬)を持続投与して救命に至った症例。緑膿菌による菌血症に至っておりドリペネム耐性と判定されたが代替薬は無く3 g/dayで高用量の持続投与し、トブラマイシン(2-6 mg/kg)を加えた。血中濃度を測定すると47 mg/Lないし33 mg/Lと高濃度だが、MICの4倍以上の血中濃度の維持を確認した上で治療を継続したところ炎症が低下し退院に至った。

最後の症例報告4は、他病院からTDMを依頼された症例で、透析患者へのセフトリアキソン投与で痙攣が生じた症例。TDMでセフトリアキシソンの濃度を測定した結果、セフトリアキシソンのMICは1-2 µg/mLであるのに対し、遊離型で100 µg/mLを超えていた。同濃度は毒性が発現する濃度で、髄液でも高い濃度が示され、セフトリアキソン脳症と症例報告されたという。

セフトリアキシソンの添付文書には腎障害で血中濃度を頻回に測定できない場合には1 g/日を超えてはならないとある。一方でβラクタム系薬では現在、日本では欧州を追従する形で高用量投与が行われる傾向があり、過剰投与を避けることができない。欧州の高用量投与はあくまでもTDMを行っての投与量という前提がある。尾田氏は、TDMを行わない高用量投与がこうした症例を生じさせることを危惧しているという。

最後に尾田氏は「日本で耐性菌も踏まえて治療をしていく中で、有害事象の回避や耐性菌の治療に関してもTDMは有効だと言えます。不要なものをコストカットすることで機器のランニングコストも回収できるという先行例も出ておりますので、医療経済性の観点からも有用性は高いと考えております。私は現在もLM1010の臨床評価を進めておりますが、引き続き他のメソッドについても、多くの要望が寄せられておりますので、しっかり対応してこれからも研究を続けていきたいと考えております」と述べた。

演題2

臨床現場におけるベッドサイド迅速TDMの実践

～βラクタム系薬を中心に～

橋本 英樹 氏 日立総合病院救急集中治療科／筑波大学附属病院日立社会連携教育研究センター感染症科

2023年夏に「LM1010」を導入

橋本氏は、昨年(2023年)の夏に日立総合病院に「LM1010」を導入してからの経験と実感、集中治療領域におけるTDMの立ち位置について講演した。「LM1010」の登場以前は、TDMの重要性は理解しながら半ば諦めていたという。橋本氏は現在、主に敗血症の治療におけるTDMに「LM1010」を用いている。

日立総合病院は茨城県北地域に位置し、同病院救急センターは同地域で唯一の救命救急センターとして2012年に開設され、橋本氏は同救命センターでセンター長を務めている。同センターは年間約7千台の救急車を受け入れ、コロナ禍では茨城県内の重症患者の積極的な受け入れを行ってきた。感染症に関連した集中治療に強みを持ち、筑波大と連携して救急集中治療／感染症専門医をはじめとした専門医の養成に取り組んでいる。

敗血症治療をもう1歩進めるために

橋本氏は日本救急医学会と日本集中治療医学会の合同委員会による敗血症のガイドライン「日本版敗血症診療ガイドライン2024」の作成委員を務めている。

同ガイドラインは4年に1回改訂され、改訂されるごとに治療は標準化し、死亡率の低下に貢献してきた。一方で、敗血症／敗血症性ショックの世界的な死亡率は、日本版のもととなる海外のガイドライン (SSCG) が作成・公開されて以降は2011年くらいまでは低下するも、ここ数年は20～30%の横ばい状態が報告され、日本でも約20%前後の横ばい状態が続いていることがコホート研究で報告されている。

こうしたトレンドに対し、最近の敗血症診療ではガイドラインの普及に加え、治療をもう1歩先に進め、重症の患者を救命することがテーマの1つとなっている。欧州の敗血症研究の大家であるJean-Louis Vincent氏は敗血症診療の3本柱として、「血行動態の管理」、「宿主免疫反応の調節」、「感染症コントロール」をあげている。橋本氏は敗血症診療をもう1歩進めることのできる可能性は、感染症コントロールで抗菌薬の血中濃度を保っているかを見ていくことだという。

一方で集中治療領域の患者の血中濃度は、様々な要因で変動が激しく読めないことも多々ある。例えば海外の報告ではあるが、ECMO下で、ピペラシリン、メロペネムについて目標血中濃度 ($100\% \text{ f T} > 4 \times \text{MIC}$) を達成できなかった割合を調べた研究では、薬剤の種類で差はあるものの、ピペラシリンでは約半数の患者で十分な血中濃度を保つことができなかった。そのため一定数の患者で血中濃度が不十分となる可能性が否定できず、その結果としてグレード2Bという弱い推奨でβラクタム系抗菌薬の持続／長時間投与は推奨されている。

■ TDMの世界情勢

日本ではTDMに関してエビデンスを積み上げている段階にあり、有用性は理解しても一般化はされていない状態にある。

それに対し世界的には集中治療領域で、メロペネム、ピペラシリン／タゾバクタムについては約60%が持続／長時間投与を行っている。また同領域のβラクタム系薬のTDMについては世界で約40%、地域別でみると、欧州だと58%、東アジアは18%、北米7%と地域差がある。欧州と日本では温度差があるが、TDMのエビデンスは集積しつつあり、欧州ではβラクタム系薬のTDMは弱く推奨されている。この根拠として、複数の観察研究およびランダム化比較試験 (RCT) で、TDM群の方が血中濃度の維持が有意に高いことが示されている。一方で死亡率に関する研究が乏しく、現時点ではTDMの有無で死亡率に有意差はでていない。

最近のオランダの多施設ICUのRCTでは、ICUに入室して2日以上抗菌薬投与を受ける患者398人の患者を対象に、TDMを用いて容量調整を行う群と標準治療群で血中濃度の推移をみたところ、両群について低心拍出量症候群の頻度や死亡率に有意差はなかった。

一方で、橋本氏は個別の患者に対しTDMの効果は確かにあることを実感しているという。こうした観察研究やRCTで有意差がでない原因として、集中治療領域の患者の多様さがあり、研究デザインに課題があることを指摘。これら研究では患者群の敗血症率が5割程度で、抗菌薬の投与日数も中央値が4日間と短く、TDMが必要な重症患者に対する重要性を捉えられていない可能性が高い。また初回の投与から測定までの中央値が20時間と長く、超急性期の患者の実情が反映されていない。解決には迅速に測定できる機器と、重症敗血症、人工呼吸器関連肺炎、MICの高めな感受性菌といった患者選定が必要だという。

■ 「LM1010」を導入してみても

日立総合病院救急集中治療科では昨年 (2023年)、「LM1010」を導入した。ICUの一角に場所を確保し、ICUの専従薬剤師が測定に取り組んでいる。HPLCではトータルで300分を要していた計測が「LM1010」では30分で終了し、実臨床での使用に耐えることを実感しているという。

続いて、橋本氏は「LM1010」によりTDMを行った症例3件を紹介した。

症例1：糖尿病・肥満がある40代男性の重症市中肺炎患者で、敗血症性ショック・ARDS（急性呼吸窮迫症候群）で来院。緑膿菌を血液培養・喀痰で検出し、最終的にVV-ECMOで管理するに至った。腎機能は悪くないが、敗血症性ショックからの離脱が困難で、メロペネムの長期間投与を選択したが、十分な量なのか、また有害事象の懸念もありトラフ値でのTDMをICU薬剤師に依頼した。その結果、血中濃度は8.685 µg/mLと十分にMICを上回っていたことがわかった。

症例2：重症肺炎疑いの敗血症の30代女性で、ARC（過大腎排泄）の影響の大きさを実感した例。同患者は精神科の基礎疾患があり、腎機能は正常であったが、当直帯でメロペネム1 g、12時間ごとの投与が開始されていた。8時間ごとの投与が望ましく血中濃度の低さが疑われたためTDMを行ったところ、濃度が1.060 µg/mLとかなり低かった。当初は意識障害もあり、髄膜炎が疑われたため2 g、8時間ごとに変更し、最終的には8.283 µg/mLまで上がった。適切な用量用法選択の重要性を裏付ける例となった。

症例3：重症腸管虚血／消化管穿孔で敗血症性ショックのある70代女性の患者で、腎不全を合併し、CHDF（持続的血液濾過透析）管理中だった。メロペネム＋バンコマイシンであったのを、バンコマイシンの有害事象と思われる皮疹が生じ、原因菌として腸球菌の可能性があったことからメロペネム＋リネゾリドに変更した。当初は通常の投与量で行っていたがTDMを行った結果、23.752 µg/mLと高かった。リネゾリドは腎不全だと高値になりやすく、その場合血球減少などのリスクが報告され、TDMの重要性を示せた例になった。

橋本氏は導入以降、紹介した症例以外についても有用性を実感しているという。当初、TDMはハードルが高いと感じていたが、「LM1010」を自身でも操作してみること、経験がなくとも迅速な測定が可能であることを確かめている。検査項目も随時アップデートされ、1台あることでパラダイムシフトが起こるという。ただ、同病院ではICU薬剤師が担当してくれることになったが、実務上、導入にあたり誰が担当するのかということについては、導入の課題になることが推測される。

最後に橋本氏は「特に敗血症ではリアルタイムの介入が望ましく、これは近年でできた迅速診断検査とも共通した問題です。いかに迅速に微生物を同定し、いかに迅速に適切な用量調整を行い、そしてしっかり患者さんに最も良い治療を提供できるか、そういうところが今後の鍵になってくると思っています」と締め括った。

対 談



セミナー後に、橋本氏と尾田氏による対談が行われた。

まず橋本氏から尾田氏に、TDMでは患者の選定が難しく導入の課題になると考えているが、実際に尾田氏がどのような枠組みでTDMを行っているのか、もしくは理想とするTDMはどのようなものか質問した。

尾田氏は、施設ごとに事情があることが予想されるため、一施設の経験、また私見ではあるが、と前置きした上で、どのような患者にTDMを適用するかについては、敗血症では生死の瀬戸際にいる患者は間違いなく適用になり、講演でも述べたオーバードーズまたはアンダードーズになるようなリスクファクターに該当する患者は積極的に測定していくことが考えられるため、これをポジションペーパーに落とし込んでいく必要があると述べた。同病院ではTDMの測定をAST(抗菌薬適正使用支援チーム)の業務にしており、業務は増加するも、その重要性をチームが認識し円滑に導入している。理想的な運用方法については、むしろ今回の学会のようなコミュニティで議論していきたいという。



橋本氏



尾田氏

次に橋本氏は、自身は「LM1010」を使用し、迅速で簡便という印象を抱いているが、逆に他の測定機器を使用したことがないため従来の測定との違いについて聞いた。

尾田氏は、日常業務ではHPLCを用いているが、臨床で使用し継承していく上でHPLCには技術的に難易度が高く、「LM1010」にはこうした課題を全てクリアし、TDMの普及に貢献すると感じているという。

橋本氏は、普及の課題として、日常業務として同機器を運用する際の人材の調整があると意見を述べた。それに尾田氏は同意すると共に、従来の測定は技術者が行うものであったのが、それをクリアし、人と時間だけクリアできればというフェーズになった最近の技術革新に驚いているという。学生に測定を行わせても全く問題ない結果を得ており、現在17施設に設置が広がり運用できている実績を普及の機運として、協力体制で今後の1年も進めていけることを期待していると述べた。

また橋本氏は、本日の講演を通して、日本における普及にはエビデンスを作ることが大事だと痛感したという。

それに対し尾田氏は、これまで多施設で研究を行うストラテジーは全く無かったが、それが同装置の開発でクリアできたことは大きく、また装置を運用している施設との共同研究が実施できるのではないかと期待し、これからの普及啓発活動と研究に取り組みたいとの考えを述べた。また、欧州ではTDMのエビデンスは豊富である一方で「LM1010」のような装置は存在せず、研究も踏まえた臨床薬理部門を病院に設置して血中濃度を測定あるいは容量の調整を行ってきた歴史がある。毒性学や中毒の治療が先行したと推測され、日本とはTDMの成立の経緯が異なる。TDMの普及の地域差は、こうした背景の違いに由来し、また地域によって課題が異なる。例えば日本ではまれだが、欧州ではカルバペネム耐性菌が少し多く、中国では多剤耐性結核が多く、これら地域ではTDMの臨床の需要が高かったことも関係している。一方で、こうした状況は今後日本でも起こりえることで、今から研究あるいはエビデンスを出すことで対策を行って行く必要があると尾田氏は述べた。

橋本氏は、診療報酬がTDM普及のドライバーになることを期待しているという。

尾田氏はそれに同意するも、AST加算の枠組みの中でも多少は行ってもよいのではないかと考えていると述べた。

橋本氏は、今回の講演の質問では聞ききれなかった質問として、例えばASTで枠組みを作っていくなかでβラクタム系薬のTDMを測定して、治療介入に落とし込む際にはどのようにしているかについても尋ねた。

尾田氏は、βラクタム系薬については、Time Above MICを超えている時間の割合が降下の指標となり、それについては手計算では困難で、特にバンコマイシンなどのAUC（薬物血中濃度時間曲線下面積）はソフトウェア

を使用しているという。一方で、MIC を超えている濃度まで持って行くためにはトラフ値で判定するならば必ずしもソフトウェアは必要としない。ただ、その場面場面でソフトウェアを使った方が良い場合は必ずあり、そして日本の薬剤師はソフトウェアがあれば使いこなせると感じているという。尾田氏はバンコマイシンのソフトウェアをつくる研究にも取り組んでいる。

橋本氏は最後に、 β ラクタム系薬の TDM は黎明期にあるが、今後普及させるために尾田氏のような研究者が主導することを期待し、自身もエビデンス送出を積極的に行い「LM1010」をはじめとした機器の普及につなげたいとし、尾田氏に今後の意気込みを聞いた。

尾田氏は、自身の研究領域の研究者は日本にまだ少なく、その中で企業と協力体制を組むことができ地道な努力が実を結んだことに喜びを感じているという。また特に β ラクタム系薬についてはまだ先進的で診療報酬がすぐつくかは不明で、薬剤師が院内に TDM を提案して導入するのは簡単でないことが推測され、それに対し薬剤師だけでなく多職種でとりくみ、まずは患者のニーズを医師から得て、それに呼応するかたちで対応し、自身がドライバーになれるよう講演等を行うと共に、研究に取り組みフィードバックすることで最終的によりよい治療につなげることを意識してこれからも動いていきたいという。

橋本は、ニッチな領域ではあるが大事な領域であるとの認識をもっており、尾田氏の言葉を胸に、医師として薬剤師や他のコメディカルと共に草の根で普及を続け、最終的に同装置による TDM からの適切な治療を一般化していきたいと述べて締め括った。

装置や試薬、サポートメニューなどの詳細は、特設ページにご登録のうえ閲覧いただけます。

ご登録済みの方はこちらから>

https://www.hitachi-hightech.com/jp/ja/products/life-medical-systems/hplc/lm1010_lp/seminar.html



ご登録がまだの方はこちらから（入力フォーム）>

<https://i-entry.jp/v4/form/hhs/lm1010/input>



株式会社 日立ハイテク

本社(サポートセンタ)	東 京	(03)3504-7211	中 部 支 店	名古屋	(080)8420-6408
北 海 道 支 店	札 幌	(080)8021-5427	関 西 支 店	大 阪	(080)8020-3544
東 北 支 店	仙 台	(080)8438-0969	九 州 支 店	福 岡	(080)9564-0285

分析機器に関する各種お問い合わせは…
お客様サポートセンタ 電話(03)3504-7211
受付時間 9:00~11:50 12:45~17:30
(土・日・祝日および弊社休日を除く)

本ニュースに関するお問い合わせは、下記へご連絡ください。

HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS September 2024 VOL. 67 No. 2

発行日 2024年9月30日
編集人 許斐麻美
発行人 五十嵐真人

発 行 株式会社日立ハイテク
〒105-6409
東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門ヒルズ ビジネスタワー
電話 (03)3504-7211

ホームページ URL: www.hitachi-hightech.com/jp/science/