

愛媛大学社会連携推進機構
研究成果報告書

第1号

平成19年
(2007)

社会連携推進機構研究成果報告書第1号の発刊にあたって

愛媛大学社会連携推進機構長

樋口 富 壯

愛媛大学は、平成16年4月1日に国立大学法人愛媛大学となり、国の組織から独立した経営体として再出発することになりました。この法人化を契機として「優れた教育」や「高度な学術研究」と共に「社会貢献」が、新たな基本的使命として愛媛大学憲章で明確に位置づけられ、その「社会貢献」を推進するための地域社会との窓口および司令塔の役割を果たす組織として、社会連携推進機構が設置されました。

また、「社会貢献」の使命を果たすために、地域に立脚する大学として地域に役立つ人材や地域の発展を牽引する人材の育成に努めると共に、愛媛大学が持つ知の成果を社会に還元し、地域社会の発展に貢献する様々な活動を実施してきました。その活動の一つとして、社会や産業界などと産学官連携による共同研究を積極的に推進してきました。そして、これらの共同研究の成果結果については、社会に還元するために毎年取りまとめを行い年報として発行してきました。

一方、社会連携機能を強化するために、社会連携推進機構自体の体制を増強すると共に、「知的財産本部」、「産業科学技術支援センター」、「地域創成研究センター」及び「防災情報研究センター」からなる組織全体を整備・充実させてきました。

本研究成果報告書は、昨年度までは「地域共同研究センター」や「産業科学技術支援センター」の年報として発行してきましたが、この社会連携推進機構組織の改編に連動させて、今年度から「社会連携推進機構・研究成果報告書」として発行することに変更いたしました。

ここに第1号を発刊できることになり、関係者のご努力に対し敬意を表しますと共に、ご支援を頂いた関係者に厚く御礼を申し上げます。共同研究成果の報告を承認していただいた企業や本学研究者に感謝いたします。

地域の皆様方には、この成果報告書により、本学の研究に対しご理解をいただき、それらの知的財産を有効に活用するための情報源や共同研究企業などでの更なる飛躍に向けた情報源として、参考にしていただければ幸いに思います。本報告書を読まれ、いろいろとご意見やご提案などありましたらご連絡して下さいますようお願い申し上げます。

社会連携推進機構といたしましても、愛媛大学の全学組織と連携を取りながら、共同研究を始めとする社会貢献活動を今後ともしっかりと推進してまいります。地方自治体や銀行、産業界などと人的・技術的両面から交流機会を増やししながら、大学のシーズ紹介や地域のニーズを把握することにも一生懸命に努めてまいります。また、社会連携推進機構研究協力会とも連携を密にしながら、あらゆる面から社会貢献活動を活発に進めて行きたいと思っております。今後とも、皆様方のご指導・ご支援を賜りますよう、心からお願い申し上げます。

目 次

成果報告書第1号の発刊にあたって

愛媛大学社会連携推進機構長

樋口 富壯

研究成果報告

まちづくり人材育成・啓発事業 ----- 1

愛媛大学法文学部教授
松山市市民部市民参画まちづくり課

藤目 節夫
高田 稔

不登校及び教育総合相談に係る共同研究 ----- 4

愛媛大学教育学部教授

三浦 和尚

交流磁場誘導焼灼療法のためのアプリケーション式磁場発生装置の開発 ----- 6

愛媛大学大学院理工学研究科講師
株式会社アドメテック

前原 常弘
八木 泉

口腔乾燥症、舌痛症、味覚異常に対するエコデンタルハービィの有用性 ----- 8

愛媛大学大学院医学系研究科准教授
シナリー株式会社開発本部

中城 公一
塙 正義

能動学習法を活用したヒトHLA分子結合ペプチド予測と実証研究 ----- 11

愛媛大学大学院医学系研究科教授
高知大学医学部医学科教授
日本電気株式会社ビジネスイノベーションセンター

恩地 森一
宇高 恵子
宮川 知也

日本人における既知の疾患感受性遺伝子多型の臨床的意義付け ----- 12

愛媛大学大学院医学系研究科教授
愛媛大学大学院医学系研究科講師
株式会社ハプロファーマ代表取締役
株式会社ハプロファーマ研究部長

三木 哲郎
田原 康玄
根本 靖久
青山みさ子

日本式「認知症診断支援システム」開発のための研究 ----- 16

愛媛大学大学院医学系研究科教授	三木 哲郎
愛媛大学大学院医学系研究科講師	田原 康玄
愛媛大学大学院医学系研究科医員	田口 敬子
株式会社大栄電機工業代表取締役	大野 栄一
株式会社大栄電機工業技術責任者	大森 順二
株式会社大栄電機工業主任開発者	田野 岡直人
株式会社大栄電機工業技術開発者	時任 史人

卵巣ガンの遺伝子治療の基礎研究－産学共同研究報告－ ----- 17

愛媛大学大学院医学系研究科准教授	澄田 道博
愛媛大学医学部附属病院講師	濱田 雄行

ベイナイト組織を利用した高強度・高靱性鋼の開発 ----- 23

愛媛大学大学院理工学研究科教授	仲井 清真
愛媛大学大学院理工学研究科准教授	小林 千悟
愛媛大学大学院理工学研究科助教	阪本 辰顕
住友金属工業株式会社総合技術研究所	濱田 昌彦
大阪大学接合科学研究所教授	小溝 裕一

交流磁場焼灼療法のためのナノ微粒子材料の開発 ----- 28

愛媛大学大学院理工学研究科准教授	青野 宏通
愛媛大学大学院理工学研究科准教授	猶原 隆
愛媛大学大学院理工学研究科講師	前原 常弘
株式会社アドメテック代表取締役	中住 慎一

溶接欠陥と非破壊検査の相関性に関する調査研究 ----- 32

愛媛大学大学院理工学研究科准教授	西田 稔
四国電力株式会社原子力本部原子力保安研修所 技術開発研究グループリーダー	金尾 利彦

絶縁油中PCBの簡易迅速分析法の開発
－機器分析法及び生物検定法への適用－ ----- 39

愛媛大学農学部附属環境先端技術センター教授	本田 克久
愛媛大学農学部附属環境先端技術センター	澤田 石一之
三浦工業株式会社三浦環境科学研究所	高橋 知史
株式会社アイシンコスモス研究所	大坪 功
株式会社アイシンコスモス研究所	伊藤 雅幸

無細胞タンパク質合成系を活用した牛妊娠認識物質の
合成等に関する研究

----- 43

愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター教授
愛媛県畜産試験場経営室

戸澤 譲
木下 政健

まちづくり人材育成・啓発事業

愛媛大学法文学部教授

藤目節夫

松山市民部市民参画まちづくり課

高田稔

本文

平成の大合併の目的のひとつは地方分権の受け皿整備であるが、地方分権は団体自治のみならず住民自治の確立により達成されるものである。このような基本的認識から、松山市・市民部・市民参画まちづくり課と法文学部藤目節夫とは、地域におけるまちづくりの中心となるリーダー養成のための人材育成プログラムを共同で開発するとともに、そのプログラムを活用して人材育成のための「地域リーダー養成セミナー」を年間12回開催した。さらには、市民啓発を目的として「公開シンポジウム」を開催した。

詳細は以下に示すとおりであるが、このプロジェクトの結果、松山市の実情に合致した人材育成プログラムが作成でき、受講生の住民自治意識も向上し、各地で住民主体のまちづくりの実践が展開されるようになった。

○地域リーダー養成セミナー

期間：平成19年4月～平成20年2月

セミナー概要：別紙

受講生：約30名

○まちづくりシンポジウム

期日：平成19年11月25日

場所：松山市青少年センター

内容：別紙

参加者：約150名

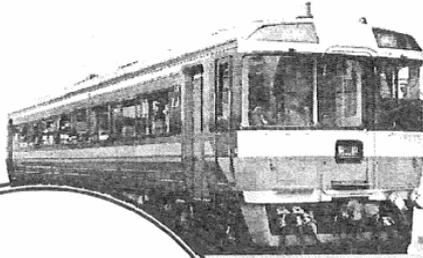
平成 19 年度 共同研究 実績 (期間:平成 19 年 4 月～平成 20 年 3 月)

○第 3 期地域リーダー養成セミナーのカリキュラム《応用編》時期:平成 19 年 4 月～平成 19 年 8 月

回	テ マ	日時 (曜日)
概 要		
1	基礎編の振り返りと、組織・計画について	4.20(金)19:00～
基礎編 6 回の振り返りと、まちづくり計画の策定過程を「まちづくり教本」に沿って説明、また住民自治組織の必要性について学び、次回(先進地視察)につなぐ。		
2	先進地視察(内子町での課外研修)	5.19(土)9:00～
住民主体のまちづくりを実践している先進地である内子町に行き、地元の方たちの活動などを学んだり、地元住民との意見交流をしたりする		
3	実地演習 中島のまち歩き	6月10日(土)9:00～
中島を教材に実際にまちづくり計画を作るための調査方法を学ぶ		
4	中島のミニまちづくり計画づくり I	6月10日(土)13:00～
午前中に得た調査結果や地元協力者の意見などを参考にしながら、まちづくり計画の策定過程を学ぶ(※)第3回と第4回は併催		
5	中島のミニまちづくり計画づくり II	7月27日(金)19:00～
第4回の続き、中島の将来像を具体的に実現するための活動について検討する		
6	ミニまちづくり計画の発表とセミナーを終えての豊富を語る	8月24日(金)19:00～
第3回から作成してきたミニまちづくり計画を完成させ、発表会を開く。また最後にセミナー全12回を受講しての感想など話し合う		

○第 4 期地域リーダー養成セミナーのカリキュラム《基礎編》時期:平成 19 年 9 月～平成 20 年 3 月

回	テ マ	日時 (曜日)
概 要		
1	コミュニティに関する基礎学習	平成 19 年 9 月 28 日(金)
趣旨説明、自己紹介及びよい「まちづくり」のイメージの共有		
2	住民主体のまちづくりとは	平成 19 年 11 月 2 日(金)
住民主体のまちづくりについて学ぶ		
3	住民主体のまちづくりの事例紹介及び地元学とは	平成 19 年 11 月 30 日(金)
先進的なまちづくりを行う他市の取り組みや、地元学について学ぶ		
4	実際にまち歩きを行ってみる(三津地区)	平成 20 年 1 月 12 日(土)
まちを知る手法を学び、その一例としてまち歩きを実践してみる 第4回と第5回は併催		
5	まち歩きのまとめと、まちの現状・課題を見つける	平成 20 年 1 月 12 日(土)
まち歩き、地元住民の話や文献などからまちの現状・課題のまとめ方を学ぶ第4回と第5回は併催		
6	自治型のまちづくりと松山市の取り組み方針	平成 20 年 2 月 22 日(金)
自治型のまちづくりについて学ぶとともに、次回の応用編へつなげる		



まちづくり列車 発車オーライ!!

■ 日時 11月25日(日)
13:00~15:30
(開場 12:30)

■ 場所
青少年センター
3階大ホール

※どなたでも参加できます。(定員 200 人)
ただし、満席になり次第、入場をお断りします。

基調講演 13:00~13:50

「安芸高田市の取り組み」



小田 忠
広島県安芸高田市自治振興課長

セミナー卒業生による
パネルディスカッション 14:00~15:30

—学びから実践へ— 「まちを動かす 市民の力」

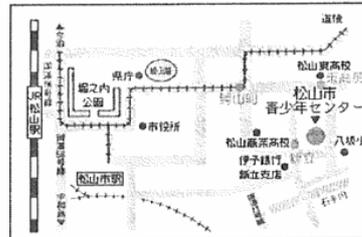
パネラー:
本田 精志 地域リーダー養成セミナー1期生
田中 孝広 地域リーダー養成セミナー2期生
松本 真美 地域リーダー養成セミナー3期生
ゲスト: 小田 忠 広島県安芸高田市自治振興課長
コーディネーター: 藤目 節夫 愛媛大学法文学部教授

お問い合わせ

松山市 市民参画まちづくり課
〒790-8571 愛媛県松山市二番町四丁目7-2
TEL 089-948-6383
E-mail: siminseikatu@city.matsuyama.ehime.jp

松山市青少年センター
松山市築山町 12-33

マップ



※当日は公共交通機関をご利用ください

松山市駅からのアクセス

〈バス〉

・⑧番道後温泉駅前行きまたは川内行き等のバスで新立下車 徒歩約2分

・⑩番久米駅前行きバスで東高前下車 徒歩約3分

〈市内電車〉

・道後温泉行き、②番環状線等で勝山町駅下車 徒歩約9分

列車写真提供: JR四国

不登校及び教育総合相談に係る共同研究

愛媛大学教育学部教授 三浦和尙

1 研究の概要

本研究は、愛媛大学教育学部と松山市教育委員会教育支援センターとの、平成16年度から3年間の共同研究である。

研究の概要は以下のとおりである。

- (1) 研究題目 不登校及び教育総合相談に係る共同研究
- (2) 研究目的 不登校及び教育総合相談について事例研究を行い、また、学生・院生による実践活動により、相談機能の充実をはかる。
- (3) 研究内容 不登校及び教育総合相談における相談活動の事例研究及び事例研究のまとめの作成
大学生及び大学院生による不登校児童生徒への対応に関する調書の作成
- (4) 研究分担 愛媛大学教育学部教員 8名(代表者含む)
松山市教育委員会教育支援センター職員 23名(年度により多少の異同)
- (5) 研究実施場所 愛媛大学教育学部
松山市教育委員会教育支援センター事務所

実際の活動としては、愛媛大学教育学部教育実践総合センターの臨床心理専門の教員、愛媛大学教育学部研究科学校臨床心理専攻臨床心理学コースの大学院生、松山市教育委員会教育支援センターの教育総合相談担当指導員・不登校対策担当指導員が中心となったが、研究としては二つの組織の共同研究である。

2 研究の意義

小学校・中学校などの教育現場には、教育相談を必要とする事例は多いが、その事例の多様さもあいまって、必ずしもその専門家が十全に配置されているわけではない。しかし当然、そういった専門家のニーズは高まっており、カウンセラーの配置などの対応は一定の成果を挙げているにせよ、いまだ十分とは言えない状態である。

本研究は、不登校をはじめとする今日の教育実践課題について、教育相談の立場から、その事例研究を行うところにある。しかし同時に、その相談活動の過程に、教育学部の専門家がかかわり、その相談を実のあるものにしていくとともに、大学院生等の参画も含め、相談にかかわる担当者の能力向上を図るところに大きな意義を有する。

また、地方大学教育学部と、地方教育委員会が、教育相談というきわめて重要な教育実践課題に共同して研究的な取り組みを行うことにも、特長と意義を見出すことができる。

3 研究活動

主たる研究活動は以下のようなものである。

- ① 教育相談にかかわる研修会の開催
- ② 大学教員によるカンファレンス
- ③ 事例研究
- ④ 教育相談にかかわる調査・資料収集
- ⑤ 研究成果としての報告書の作成

4 研究の成果

研究の成果として、さまざまな教育相談について、その実が得られたことは言うまでもないが、次のような点も成果として挙げられる。

- ① 教育相談というきわめて専門的な領域において、大学と教育委員会の交流が行われ、そのことが愛媛大学教育学部と松山市教育委員会との連携協力の具体となったこと。
- ② 教育相談というきわめて専門的な領域において、大学の理論と現場での実践の融合が図られたこと。
- ③ 継続的に事例研究を行うことで、担当者の力量形成に資することができたこと。
- ④ 研究成果としての事例報告が、他のケースへの対応の参考資料となること。
- ⑤ 大学院生の実践的な研修の場となったこと。

5 研究成果物

- ① 『適応指導・教育相談 資料』（平成16年度）
教育総合相談窓口案内
研究論文 夏野良司『不登校の教育支援』
雑誌文献資料
- ② 『不登校及び教育総合相談に係る共同研究 平成17年度研究報告書』
相談員による実践事例報告
- ③ 『不登校及び教育総合相談に係る共同研究 平成18年度研究報告書』
教育実践センターの実践
分析研究「教育相談機関における連携のあり方」
相談員による実践事例報告

なお、本研究成果物については、教育相談という性格上、プライバシー等の教育的配慮から、一般公開はしていないため、本報告においてもその具体は省くこととした。御了解いただきたい。

交流磁場誘導焼灼療法のためのアプリケータ式磁場発生装置の開発

愛媛大学大学院理工学研究科助教 前原 常弘
株式会社アドメテック 八木 泉

磁性体を体内腫瘍部に留置し、外部から交流磁場を印加することで、磁性体の発熱を促し、腫瘍を焼灼する治療法の開発に取り組んでいる。H18年度から表層用に小型のアプリケータ式磁場発生装置の開発について取り組んでおり、この器について述べる。

<術式>

1. 発熱体として針状に加工した磁性体を子宮頸部に穿刺。
2. 経膈的にアプリケータを挿入、交流磁場を印加。
3. 針の温度を 60℃まで上昇させ、約 10 分保持。
4. 腫瘍を壊死させる。

<試作機>

試作機は、アプリケータ・共振ボックス・アーム・高周波電源・PC 等からなる。720mm の高さの本体には高周波電源と PC、温度調整器が備えつけられている。針には熱電対が取り付けられており、計測した温度は温度調整器を通じて PC に伝えられる。PC はその温度情報をもとに高周波電源を制御し、アプリケータから発生させる磁場をコントロールする (図 2)。磁場強度はアプリケータ表面から 5mm の位置で、1.9mT、周波数は 400kHz である。最初期は銅パイプを数回巻いた水冷コイルを利用していたが、磁場の一様性に問題があることや水冷に対する煩雑さもあり、試行錯誤の末、フェライトコアにリッツ線を巻き付ける方式にたどり着いた。現在は T 型フェライトコアにリッツ線を巻きつける構造となっている (図 3)。この構造により効率的に磁場を発生させることで、冷却水などによる冷却を不要としている (自然冷却)。

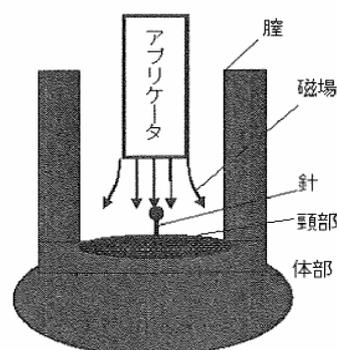


図 1 原理図

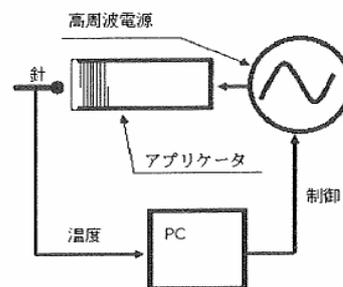


図 2 制御システム

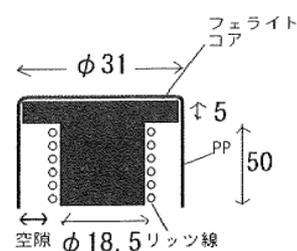


図 3 アプリケータ概念図

アプリケーションの外径は 31mm である。これは標準的な子宮頸部の大きさを考慮して決められた。

長さは 200mm で、膣に対して十分長いという条件から決定された。磁場の分布については図 4 に示すとおりである。これは半径 5mm の感度校正されたピックアップコイルにより求められている。アプリケーション表面から、3mm の位置でほぼ均一となっていることがわかる。

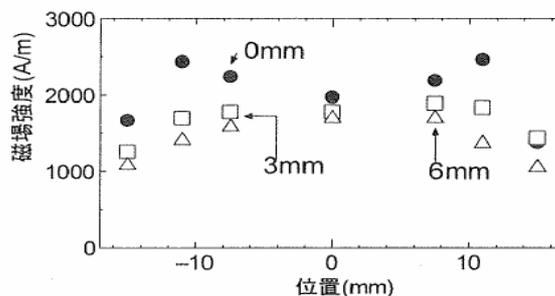


図 4 磁場強度分布

<動物実験>

子宮は大型霊長類を除き、人と類似の形状の動物はいない。そのため、人体への応用に先立ち、ウサギの正常な大腿筋を用いて、焼灼の効果を確認した。針 4 本の平均温度が 60°C となるよう制御を行った。針を差し入れた部分は組織が白変し、焼灼されていることが確認された。3 日後に、組織を取り出し、HE 染色したところ、細胞が壊死していることが確認された。ファイバー温度計のセンサを周辺 (針 4 本の中心から 5.5、8.5、12.5、15.5mm の距離) に刺し入れて熱の局所性を確認した。5.5mm の位置の温度計は 42°C を計測したが、それより遠方では 40°C 未満であり、熱作用が局所に留まっていることが確認できた。

<まとめ>

表層用に小型のアプリケーション式磁場発生装置の開発に取り組み、子宮頸癌用の装置を試作した。磁場分布を評価したほか、動物実験を行い、十分な焼灼効果がある上、熱の作用が局所に留まっていることが確認できた。

口腔乾燥症、舌痛症、味覚異常に対するエコデンタルハービィの有用性

愛媛大学大学院医学系研究科准講師 中 城 公 一

シナリー株式会社開発本部 埴 正 義

高齢化社会の深刻化、食生活の欧米化、加工食品の増加に伴って、難治性といわれる口腔乾燥症、舌痛症、味覚障害を有する患者数も年々増加している。これらの疾患では原因不明な場合が多いため、臨床において治療には苦慮している。

口腔粘膜は飲食物や嗜好品などによって刺激を受け、多様な障害が引き起こされていると考えられる。中でも日常生活において連日使用している市販の歯磨剤には、合成界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (sodium dodecyl sulfate, SDS) やプロピレングリコールが含まれている。特に、SDS は蛋白質変性作用を有しており、口腔粘膜に対して有害であると考えられる。

エコデンタルハービィは合成界面活性剤である SDS やプロピレングリコール、無水ケイ酸などの研磨剤、安息香酸ナトリウムなどの防腐剤を含まず、植物由来成分のみを用いて開発された歯磨剤である。しかしながら、その口腔粘膜に対する影響や口腔粘膜疾患に対する有用性について科学的検証は未だ十分に行われてはいない。そこで、本研究では特に口腔乾燥症、舌痛症、味覚異常に対するエコデンタルハービィの有用性および使用時の副作用について検討した。

対象および方法

1) 対象

2006年1月から2007年11月までに口腔乾燥、舌の疼痛(心因性を含む)、味覚異常などを主訴に愛媛大学医学部附属病院歯科口腔外科を受診した患者で、エコデンタルハービィの継続的使用に同意が得られた80名(男性14名、女性66名:平均62.8歳)を対象に検討を行った。

2) 使用方法

対象患者にエコデンタルハービィ(シナリー株式会社,東京)を1日3回、3ヶ月間使用させ、その間他の歯磨剤の使用を控えるよう指示した。

3) 評価項目および方法

(1) 唾液分泌量

唾液分泌量はサクソンテストにて測定した。

(2) 自覚症状

口腔乾燥症症例では使用前、使用 1 ヶ月後、2 ヶ月後、3 ヶ月後に口腔乾燥感 (口の中が渇く)、口腔内粘稠感 (口の中がねばねばする)、食物摂取困難 (渇いた食べ物が飲み込みにくい)、夜間睡眠困難 (口腔乾燥で眠れない) の 4 項目の自覚症状について 6 段階にて評価した。舌痛症症例では疼痛スコアを 11 段階にて評価した。

(3) 他覚症状

使用前、使用 1 ヶ月後、2 ヶ月後、3 ヶ月後に口腔内乾燥症状、口腔内発赤、舌乳頭萎縮、口角びらん、歯牙・口腔の汚染、舌苔の付着の 6 項目について他覚所見の診察を行い、所見の程度を「強度」、「中度」、「軽度」、「なし」の 4 段階にて評価した。

(4) 電気味覚検査

電気味覚検査は電気味覚計 (リオン TR-06 型, リオン株式会社, 東京) を用いて各神経支配領域 (左右計 6 ヶ所) で検査を行った。各測定部位の正常値は鼓索神経領域が 8 dB 以下、舌咽神経領域が 14 dB 以下、大錘体神経領域が 22 dB 以下とした。

結果

1) 口腔乾燥症症例

唾液分泌量の増加は認められず、口腔乾燥感など自覚症状や他覚症状の改善は認められなかった。

2) 舌痛症症例

使用后 2 ヶ月目以降、有意な疼痛改善が認められた。

3) 味覚異常症例

味覚閾値の低下や味覚症状の改善は認められなかった。

口腔乾燥症、舌痛症、味覚異常 80 症例についてエコデンタルハービィ使用前後の変化を全 15 項目について評価したところ 1 項目、すなわち舌痛症の疼痛症状のみ有意な改善を認めた。その他の 14 項目については有意な改善は認められなかった。

考察

近年、食生活の変化や嗜好品にて口腔粘膜疾患に罹患する患者数は年々増加している。口腔粘膜疾患は外因性の刺激だけでなく、加齢に伴う口腔粘膜の形態変化や唾液分泌機能低下、服用薬剤の増加なども複合的に絡み合っって口腔粘膜障害を引き起こしている。

口腔乾燥感（口渇）は一般的に一定以上の唾液分泌減少に伴うが、その閾値は個人差が大きく、唾液分泌量が正常範囲内でも強い口腔乾燥感を訴える患者もいる。また、舌痛症では主に舌尖部や舌縁部にヒリヒリ感や灼熱感を認めることが多く、視診や触診および血液検査でも明らかな器質的変化や異常所見を認めない患者も多い。味覚異常では味蕾の数の減少や舌乳頭の形態変化など加齢に伴う生理的変化や血液中に含まれる鉄や亜鉛などの微量元素の欠乏が関係していることが示唆されている。当科では、これら難治性疾患の治療には M3 型ムスカリン受容体作用薬である塩酸ゼビメリンや漢方薬、含嗽剤などを使用している。しかしながら、それぞれの疾患の病態解明が進んでいないことや、それらを主訴とする患者の多くが口腔内にさまざまな愁訴を併せ持っているため、多くの患者に有効な治療法が見出せないのが現状である。実際には、個々の症例に応じて治療方法を試行錯誤しなければならず、苦慮する場合が多い。

本研究では口腔乾燥症、舌痛症、味覚異常に対するエコデンタルハービィの有用性を検討した。3 ヶ月の使用期間で、舌痛症症例において疼痛の改善は認められたが、口腔乾燥症および味覚異常では全ての評価項目において明らかな改善は認められなかった。エコデンタルハービィには有害な人工添加物が含まれておらず、誘発刺激が少ないことが舌痛症症例における自覚症状の改善につながっていると考えられる。今後、従来法による治療効果が認められない難治性舌痛症症例に対する有用性が期待される。エコデンタルハービィを使用した大部分の症例で、歯磨剤誘発性の疼痛がほとんど認められないことは高く評価でき、使用感も多くの症例で概ね良好であった。

能動学習法を活用したヒトHLA分子結合ペプチド予測と実証研究

愛媛大学大学院医学系研究科教授

恩 地 森 一

高知大学医学部医学科教授

宇 高 恵 子

日本電気株式会社ビジネスイノベーションセンター

宮 川 知 也

C型肝炎ウイルス(HCV)に対する標準的治療法はペグインターフェロン(Peg-IFN)、リバビリン併用療法である。しかし、C型慢性肝炎患者の40%程度に対しては無効であり、新しい治療法が必要である。HCVの持続感染は、自然免疫(NK細胞、樹状細胞など)と獲得免疫(細胞傷害性T細胞;CTL)の機能低下が一因である。自然免疫と特異的CTLの活性化によりHCVを排除できる可能性がある。

著者らはHCV特異的CTLを効果的に誘導しうる、HLA-A*2402高結合HCVペプチドを隠れマルコフアルゴリズム(HMM)を用いて同定し、その特異性を証明した。HLAクラスI分子に結合するCTLエピトープは約5000億通りの多様性がある。そのため、ペプチドの配列を事前に予測することは困難であり、従来の方法では限界があった。著者らはCTLに抗原を提示するMHCクラスI分子に高結合するペプチドの予測方法を隠れマルコフモデルを解析アルゴリズムとして開発した。この方法を用いて、日本人の半数以上にみられるHLA-A*2402に高結合するペプチドを、本邦に多いHCV genotype 1bの遺伝子配列から予測し同定した。さらに同定したペプチドでCTL誘導が得られるかどうか確認するため、HLA-A*2402陽性のC型慢性肝炎患者の末梢血から分離した末梢血単核球に予測ペプチドを加えて培養し、刺激を繰り返した後、⁵¹Cr release assayでCTLの細胞傷害性を評価した。その結果、隠れマルコフアルゴリズムで同定したHLA-A*2402結合性ペプチドの約8割で、HLA-A*2402陽性のHCV患者の末梢血単核球からペプチド特異的なCTL誘導が可能であった。またA*2402陽性のHCV genotype 1b発現細胞株を標的細胞とした場合にも、細胞傷害性がみられた。

HCVはRNAウイルスであり、遺伝子変異を起こしやすいウイルスである。ウイルスが変異を起こして、ペプチドワクチンにより誘導されたHCV特異的CTLからエスケープする可能性がある。いくつかのHCVペプチドでは、HCV発現細胞中のHCVのアミノ酸配列と1アミノ酸の置換がある場合にも、CTLによる細胞傷害が得られた。また、過去に報告されている日本人のHCV genotype 1b 70株で解析したところ、隠れマルコフアルゴリズムで同定したエピトープ部位では、その他の部位と比較してアミノ酸置換出現率に差はみられなかった。

隠れマルコフアルゴリズムを用いたHLAクラスI結合性ペプチドの自動予測法により、HCV特異的かつ効果的なCTLを誘導可能な新しいHCVエピトープが複数同定できた。また、これらのペプチドはHCVウイルスの変異にも対応でき、ペプチドワクチン療法に適していると考えられた。今後、HCVペプチドを用いた免疫療法は、難治性C型肝炎患者に対して有効な治療法となる可能性がある。

日本人における既知の疾患感受性遺伝子多型の臨床的意義付け

愛媛大学大学院医学系研究科教授 三 木 哲 郎
愛媛大学大学院医学系研究科講師 田 原 康 玄
株式会社ハプロファーマ代表取締役 根 本 靖 久
株式会社ハプロファーマ研究部長 青 山 みさ子

【目 的】 肥満や高血圧、糖尿病、脂質代謝異常に関する感受性候補遺伝子多型について、日本人における影響力を明らかにすることで遺伝子診断/個別化医療への知見を集約することを目的に、本年度は尿酸トランスポーター遺伝子多型と血清尿酸値、ならびに動脈硬化性マーカーとの相関を検討した。

尿酸は、ヒトにおけるプリン代謝の最終産物である。男女を問わず血清尿酸値 7.0mg/dL を超える状態を高尿酸血症と定義し、尿酸の産生過剰あるいは腎からの尿酸排泄低下によって生じる。高尿酸血症は、通風の原因となるばかりでなく、1次予防、2次予防の観点から脳・心血管事故のリスクとなりうる。日本において、近年の食生活や生活習慣の変化に伴って高尿酸血症が増加していることから明らかのように、過食や大量飲酒、肥満などの種々の環境因子がその発症に関与している。加えて、遺伝因子の関与も以前より指摘されていたが、これまで尿酸値と相関する明らかな遺伝子多型は見出されてこなかった。最近になって、尿酸代謝に関わる遺伝子A上の2つの一塩基対多型 (SNP-1, SNP-2) が血中尿酸値と相関する可能性が報告されたが、いずれの小規模な検討であることや海外からの報告であることなどから、より大規模な日本人集団での検証が必要といえた。そこで本研究では、大規模一般地域住民を対象とし、これら遺伝子多型と血清尿酸値との相関を検討した。加えて尿酸が心血管系疾患のリスクとなることを考慮し、中間形質としての炎症性マーカー (高感度 CRP) およびインスリン抵抗性 (HOMA 指数) との相関も併せて検討した。

【対象と方法】 対象は、愛媛県下の一般地域住民 1,945 例とした。血清尿酸値を含む対象者の一般臨床情報は、住民健診時の成績を利用した。高感度 CRP およびインスリン値は保存血漿を用いて定法により測定した。インスリン抵抗性の指標である HOMA 指数は、空腹時血糖×インスリン÷405 で求めた。遺伝子Aの多型 (SNP-1 と SNP-2) は末梢血より抽出した DNA を用いて TaqMan 法で解析した。

【結 果】 対象者の基本属性を表 1 に示した。これまでの報告と一致して、血清尿酸値は男性で有意に高値であった。血中クレアチニン値より推定した糸球体濾過率 (eGFR: $175 \times \text{血中クレアチニン}^{-1.154} \times \text{年齢}^{-0.203} \times 0.741$ ($\times 0.742$ 女性の場合)) に性差は認められなかった。解析した2つの遺伝子多型は完全な連鎖不平衡にあった ($D' = 1.00$, $r^2 = 0.999$)。遺伝子多型頻度はハーディーワインベルグ平衡に一致した ($\chi^2 = 0.012$, $p = 0.912$)。

SNP-1 と平均血清尿酸値との相関を図 1 に男女別に示した。当該遺伝子多型と血中尿酸値とは男女とも極めて強い相関が認められ、Tアレルキャリアで高値を示した。

表1 対象者の基本属性

	男性 (841)	女性 (1,104)	p
年齢 (歳)	61±14	63±12	<0.001
Body mass index (kg/m ²)	24±3	23±3	0.269
日本酒換算飲酒量 (合)	0.9±1.0	0.1±0.3	<0.001
心血管系疾患の既往 (%)	8.6	6.2	0.051
服薬治療 (%)			
高血圧	24.3	25.8	0.460
高尿酸血症	5.6	0.3	<0.001
収縮期血圧 (mmHg)	140±20	139±23	0.077
HDL コレステロール (mg/dl)	58±15	65±16	<0.001
中性脂肪 (mg/dl)	127±100	103±54	<0.001
血糖 (mg/dl)	101±24	96±19	<0.001
インスリン (uU/ml)	6.1±5.4	7.2±5.3	<0.001
HOMA 指数	1.6±1.7	1.8±1.7	0.007
高感度 CRP (mg/dl)	0.1±0.2	0.1±0.2	0.158
クレアチニン (mg/dl)	0.8±0.2	0.6±0.1	<0.001
eGFR (ml/min/1.73m ²)	78±17	78±17	0.344
尿酸 (mg/dl)	6.0±1.4	4.5±1.0	<0.001

この遺伝子多型と血中尿酸値との相関をさらに明確化するために、関連する交絡因子を調整した多変量解析を行った。その結果、SNP-1 は年齢、肥満 (body mass index)、アルコール摂取量 (日本酒換算飲酒量)、eGFR を調整した上でも、血中尿酸値の独立した危険因子であった (表2)。また、CC型に比して CT 型では血中尿酸値が男性で 0.892 mg/dl、女性で 0.270 mg/dl 高く、CC 型では男性で 1.201 mg/dl、女性で 0.450 mg/dl 高値になることが示された。

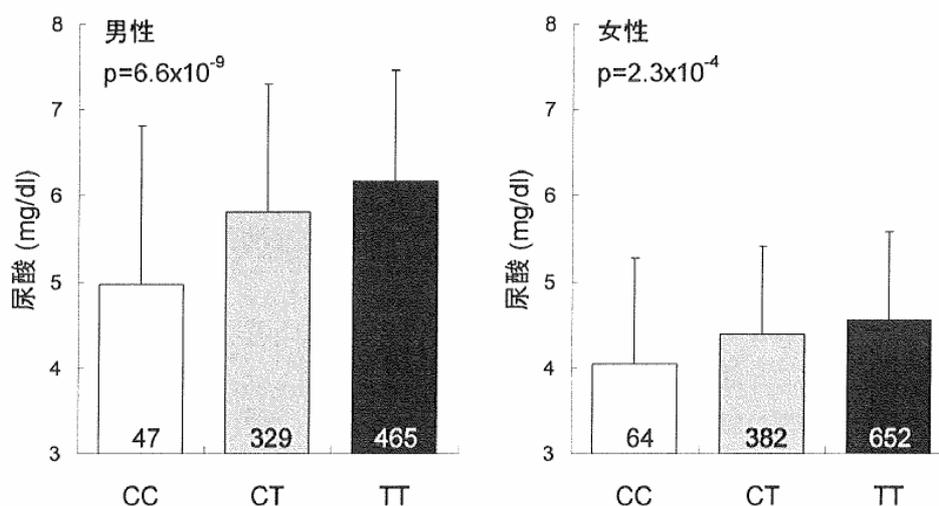


図1 SNP-1 と血清尿酸値との相関

表2 血清尿酸値に対する多変量解析

	非標準化係数	標準化係数	p	
男性				
年齢 (歳)	-0.030	-0.293	<0.001	
Body mass index (kg/m ²)	0.053	0.110	0.084	
日本酒換算飲酒量 (合)	0.287	0.195	<0.001	
高尿酸血症の服薬治療	1.041	0.167	<0.001	
eGFR (ml/min/1.73m ²)	-0.027	-0.310	<0.001	
SNP-1		reference		
	CC			
	CT	0.892	0.305	<0.001
	TT	1.201	0.418	<0.001
女性				
年齢 (歳)	0.003	0.029	0.306	
Body mass index (kg/m ²)	0.084	0.274	<0.001	
日本酒換算飲酒量 (合)	0.471	0.127	<0.001	
高尿酸血症の服薬治療	1.951	0.097	<0.001	
eGFR (ml/min/1.73m ²)	-0.018	-0.302	<0.001	
SNP-1		reference		
	CC			
	CT	0.270	0.123	0.030
	TT	0.450	0.212	<0.001

次に SNP-1 および血清尿酸値と高感度 CRP、HOMA 指数との相関を検討した (表3)。その結果、年齢、性別、肥満度、血圧、HDL コレステロール、中性脂肪、血糖、日本酒換算飲酒、心血管疾患の既往、高尿酸血症の治療歴を調整した上でも、血清尿酸値は hsCRP および HOMA 指数の独立した危険因子であった。しかし、表3に示したいずれのモデルにおいても、SNP-1 と hsCRP、HOMA 指数とは直接的な相関は認められなかった。

【考察】本研究から、遺伝子AのSNP-1 (およびSNP-2) が血清尿酸値の独立した危険因子となることが明らかとなった。これまでに報告されてきた遺伝子A上の多型と比してマイナーアレル頻度が最も高く、かつ尿酸値との相関も顕著であったことから、高尿酸血症の多型性マーカーとしての応用が期待される。

本研究では血清尿酸値と高感度 CRP および HOMA 指数との間に有意な相関を認めた。このことは、尿酸が動脈硬化の独立した危険因子となることを裏付ける成績といえる。遺伝子Aの多型とこれら中間形質とは直性の相関は認められなかったものの、当該遺伝子多型は血清尿酸値の増加を介して、間接的に動脈硬化性疾患のリスクになると考えられる。

今回の検討は一般地域住民を対象としたため、当該遺伝子多型と痛風との相関を検討することはできなかった。今後の疾患/対象研究等を通じて、痛風の多型性マーカーとしての意義が確立されることが期待される。

表 3 高感度 CRP および HOMA 指数に対する多変量解析

		Model 1		Model 2		Model 3	
		β	p	β	p	β	p
<u>高感度 CRP</u>							
尿酸 (mg/dl)		0.096	<0.001	0.076	0.009	0.089	0.003
SNP-1	CC	reference		reference		reference	
	CT	0.017	0.725	0.014	0.781	0.013	0.791
	TT	0.022	0.649	0.028	0.564	0.030	0.541
<u>HOMA 指数</u>							
尿酸 (mg/dl)		0.117	<0.001	0.099	<0.001	0.058	0.033
SNP-1	CC	reference		reference		reference	
	CT	0.052	0.285	0.027	0.547	0.032	0.458
	TT	0.011	0.816	0.003	0.945	0.013	0.776

Model 1 ; 調整なし、Model 2 ; 年齢・性・BMI・eGFR を調整、Model 3 ; 血圧、HDL コレステロール、中性脂肪、血糖、日本酒換算飲酒、心血管疾患の既往、高尿酸血漿の治療歴をさらに調整

日本式「認知症診断支援システム」開発のための研究

愛媛大学大学院医学系研究科教授	三木哲郎
愛媛大学大学院医学系研究科講師	田原康玄
愛媛大学大学院医学系研究科医員	田口敬子
株式会社大栄電機工業代表取締役	大野栄一
株式会社大栄電機工業技術責任者	大森順二
株式会社大栄電機工業主任開発者	田野岡直人
株式会社大栄電機工業技術開発者	時任史人

【目的】 認知症には、アルツハイマー型認知症、脳血管性認知症、レビー小体型認知症、前頭側頭葉型認知症などのサブタイプが存在し、サブタイプ間の鑑別診断、進行度の判定や予後の予測等は適切かつ効率的な医療を実践する上で不可欠である。そこで本共同研究では、認知症の鑑別診断、進行度判定、予後予測を支援するプログラムを開発するための基礎研究を行った。

【方法と結果】 これまでの学術報告や自験データをもとに、認知症診断プログラムのプロトタイプを作成した。プロトタイプのブラッシュアップならびに構成概念妥当性、外的基準妥当性、感度・特異度を検証する目的で、松山市内の医療機関および地域包括支援センターの協力を得て、一般地域住民を対象にデータを収集する体制を構築した。現在、種々の臨床検査値、ならびに長谷川式簡易認知知能評価スケールなど既知の評価スケールと共にデータの収集を行っている。一定数のデータが得られた後に診断アルゴリズムの最適化を行い、日本人に最適な診断アルゴリズムの構築を目指す。

(本研究プロジェクトのホームページ)

卵巣ガンの遺伝子治療の基礎研究—産学共同研究報告—

愛媛大学大学院医学系研究科准教授 澄田道博

愛媛大学医学部附属病院講師 濱田雄行

はじめに

愛媛大学医学系研究科に統合医科学が新設されて、筆者の澄田が移籍したおり、附属病院、濱田雄行講師からの申し出があり、表記遺伝子治療研究の開発をすでに手がけ、特徴のある方法論を展開して特許も獲得してきた本テーマで共同研究をはじめた。その後、平成 19 年度の 4 月以来、神戸の“株式会社ジーンメディスンジャパン（現 GMJ 社、阪井寛史社長）”と、細胞培養系を基礎として、動物実験系、さらに臨床試験を目指して共同研究を締結してきた。この間、統合医科学講座へ、GMJ 社から研究員が派遣され、実験研究を開始した。また、平成 19 年 9 月以降、本学医学研究科、統合医科学講座の医局員として、沢崎哲哉博士を迎え、本格的な研究体制を整えた。この経緯では、カルタヘナ協定に基づき、文科大臣の「組み換えウイルス実験の確認申請」や、中国、中山大学（広州）の研究提携などを行った。上記の過程で、1：本研究の特徴や経緯、2：大臣認可の要点、3：GMJ 社との役割分担、などについて、以下に概要を報告する。

1：「卵巣ガンの遺伝子治療の基礎研究」の特徴と経緯

すでに、濱田らは、婦人科領域で罹患率が増大し、また世界的にも、患者数の著しく多い「卵巣ガン」に焦点を合わせ、卵巣がん細胞の特徴として「特異的なプロモーター、IAI. 3B を発見した（文献 1）。これを同ガン治療の指標および手がかりとするべく、GMJ 社は新産業創造研究機構（NEDO）と協力して「国際特許：WO 03-025190」等を得た。またこのプロモーターを利用して、卵巣ガンに特異的に発現させるように組んだオンコリティック（細胞融解型）アデノウイルス（AdE3-IAI. 3B）を、目的のガン細胞に感染させると、プロモーターの下流の遺伝子から、感染させた卵巣ガンのみに発現するターゲットタンパク質や、免疫細胞の活性化因子が産生されることで、同ガン細胞は、周囲の正常細胞に

ほとんど影響なく、排他的に攻撃を受けて消滅するという論法である。

しかし、実際には、2回目(second challenge)以降、動物に注射して導入するウイルスが、初回の注射に反応した動物の免疫系により中和され、癌細胞への効果が著しく低下する。これを克服するために、ウイルスを直接動物に注射せず、一旦キャリアー細胞として、別の培養細胞に感染させた後、その細胞ごと（放射線照射により予め増殖能を失わせておき）動物に静脈注射した（日本分子生物学会発表 2008年）この研究では、キャリアー細胞として優れているA549（ヒト肺ガン）細胞を使用する特許も取得した。

この他にも、キャリアー細胞の動物内のモニターとして、蛍光タンパク質EGFPを発現するキャリアー細胞をクローン化する試み（図1）や、走査電子顕微鏡によるウイルスの感染経過の観察（Hamada K.ら、日本ガン治療学会 2008年発表予定）、およびどのようなマーカータンパク質をウイルスに組み込むと効果的か？、プラスミドのような、ウイルス以外のより安全性の高いベクター遺伝子はあるか？、免疫による中和を避けるために用いる細胞系やその代用に、リポソームのような、より扱い易く保存や運搬も容易な系が無いかなど、多くの改善の余地がある。

2：文科大臣認可の要点

感染力のあるウイルスの遺伝子をベクターとして研究に供用するとき、カルタヘナ議定書の締約国である日本では、その規定に準拠して、文科省に申請し、確認認可を受けねばならない。しかし、その規定では、「用いるDNAの配列をすべて記述すること」など厳密な記載が要求されるが、その参考と成る事例が未だ少ないこと、また、事前に当大学での組み換え安全委員会の承認をとっておくことなど、煩雑である。幸い、本医学部研究協力課に支援して頂き、平成19年6月にはクリアできたので、種々の条件下でのウイルスへの遺伝子の組み込みや、細胞、動物への適用などの準備が整い、実験が再開できた。その後、この内容での認可は、GMJ社（神戸大学ベンチャー機関）でも取得できた。

3：GMJ社との役割分担

本研究の実施のためには、研究資金の調達以外にも、研究の進め方や安全性試験などの分担により、効率良く進める必要がある。実験系などの概要が、GMJ社のHTMLに図式化して説明されているので、その一部を図2に紹介し、他の詳

細は同 HTML(<http://www.genemedicine.jp/>)を参考にして頂きたい。

4：謝辞

今回の共同研究を実施するにあたり、愛媛大学 INCS の皆様には常時ご支援を頂きましたことを感謝致します。特に、直接実験に指導援助頂きましたバイオハザード部門の岡敬三技官，電子顕微鏡担当の首藤政親技官，マウス飼育担当の和田省三技官に深謝致します。

参考文献

1 K, Kohno S, Iwamoto M, Yokota H, Okada M, Tagawa M, Hirose S, Yamasaki K, Shirakata Y, Hashimoto K, Ito M.

Identification of the human IAI. 3B promoter element and its use in the construction of a replication-selective adenovirus for ovarian cancer therapy.

Cancer Res. 2003 May 15;63(10):2506-12.

2: Hamada K.

[Gene therapy for ovarian cancer]

Nippon Rinsho. 2005 Dec;63 Suppl 12:552-61. Review. Japanese.

PMID: 16416852 [PubMed - indexed for MEDLIN]

第 30 回日本分子生物学会年会 発表要旨

A549 キャリアー細胞を用いた、卵巣癌特異的プロモーター組換えアデノウイルスによるマウスの卵巣ガン退縮効果

澄田 道博 愛媛大学, 医、統合医科学、

永井 彩子 愛媛大学, 医、加齢制御内科学、

服部 祐嘉 愛媛大学, 理工、環境建設工学、

井内 國光 愛媛大学, 理工、環境建設工学、

加藤 敬一 愛媛大学, 理工、物質生命工学

亀田 健治 愛媛大学, INCS

濱田 雄行 愛媛大学, 医、産婦人科

[目的] 複製能を持つ腫瘍溶解性アデノウイルスが、ガンの治療目的で開発されて来た。しかし、投与後、患者に生じる抗アデノウイルス抗体の中和により、抗ガン効果が妨げられてしまう。そこで、免疫原性を解消し、高い抗ガン活性を得る目的で、卵巣ガン特異的な腫瘍融解性アデノウイルスを、非小細胞性肺ガン A549 細胞をキャリアーとして感染させた。

[方法] A549 細胞をキャリアーとして、卵巣癌特異的プロモーター、IAI. 3B を組み込んだアデノウイルス、AdE3-IAI. 3B を感染させ、アデノウイルスで事前免疫しておいた同系マウス皮下の OVHM 卵巣ガンに注射した。卵巣ガン増殖の抑制効果は、ガン組織の直径を、ノギスを用いて計測し、さらに、Kaplan-Meier 法による生存率曲線において検討した。

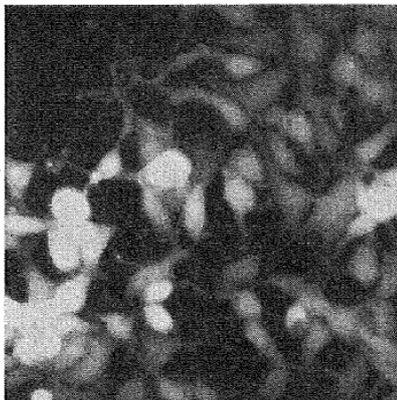
[結果および結論] AdE3-IAI. 3B を含む A549 細胞断片は、目的とする増殖中の卵巣ガン細胞に取り込まれた。この過程で取り込まれたアデノウイルスは、抗アデノウイルス抗体によって阻害されず、繰り返し投与して感染させることができた。アデノウイルスの事前免疫により、細胞毒性 T 細胞の抗アデノウイルス反応が誘導されたが、今回、A549 細胞キャリアーとする投与方法により、卵巣癌はほぼ完全に退縮した。

この新規、キャリアー細胞によるウイルス感染法は、卵巣癌の遺伝子治療に特異的で効率が高く、特に有用であると考えられた。

図 1

蛍光タンパク質 (EGFP) を発現するクローン化した293T培養細胞

293T培養細胞にEGFPのcDNAを持つプラスミドを導入し、EGFPを発現して蛍光発色する細胞をクローン化した。



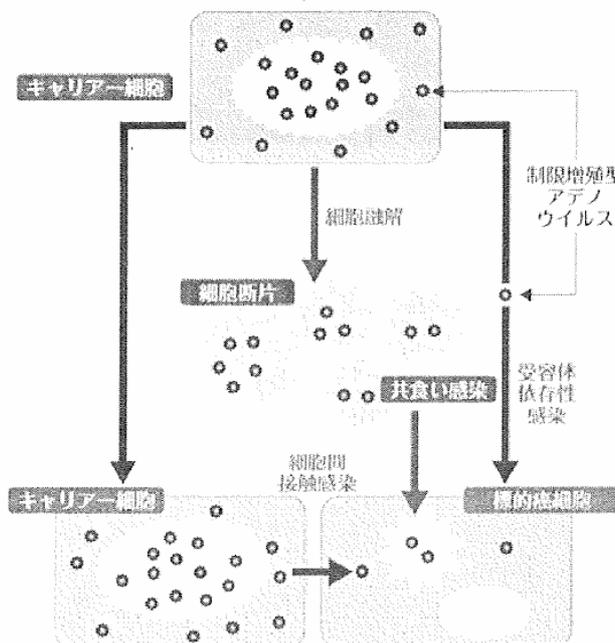
293T細胞の蛍光写真

図 2

癌遺伝子治療新技術事業

手術等による既存の療法を根本的に変え、癌根治を期す医薬品を開発する事業です。遺伝子治療の基礎研究、遺伝子治療治験の申請、前臨床研究毒性試験、Phase I & II → III 臨床試験の実施 等を行います。特に、当社が保有する技術シーズ、即ち癌遺伝子治療用医薬品に関する技術（特願2003-354983）は、動物実験の結果、抗腫瘍効果が極めて強く、直径十数ミリの巨大腫瘍が消退あるいは完全に消失することが実証されています。現在、米国FDA並びに中国SFDAへのIND申請を準備しております。

キャリアー細胞システムにおける制限増殖型アデノウイルスの感染様式



従来の癌遺伝子治療の難点を克服し、抗癌作用を飛躍的に高めた遺伝子治療薬を開発するものです。癌遺伝子治療の最大の課題は、遺伝子導入効率の向上と腫瘍免疫の誘導です。

本技術は、これらの課題を克服すべく、ドラッグデリバリーシステムとしてウイルス感染キャリアー細胞を応用しました。キャリアー細胞と癌細胞が融合することにより、遺伝子を導入するウイルスへの免疫反応が誘導されず、腫瘍免疫が惹起されます。遺伝子を導入するベクターへの免疫を誘導せず、直接的にベクターが癌細胞に感染するので、頻回投与が可能で、遺伝子導入効率が向上します。またベクターに感染した癌細胞に対する強力なCTL(細胞障害性T細胞)反応が誘導され抗腫瘍効果の向上が期待できます。

ベイナイト組織を利用した高強度・高靱性鋼の開発

愛媛大学大学院理工学研究科教授	仲井清眞
愛媛大学大学院理工学研究科准教授	小林千悟
愛媛大学大学院理工学研究科助教	阪本辰顕
住友金属工業株式会社総合技術研究所	濱田昌彦
大阪大学接合科学研究所教授	小溝裕一

(i) 溶体化前処理の粒内ベイナイト生成および機械的性質に及ぼす影響

1. 緒言

鋼の靱性向上の重要な因子の1つとして粒内ベイナイト形成促進があり、その手法として当研究グループでは溶体化処理時間の変動および溶体化処理前に熱処理を行うことを検討している。この手法によりオーステナイト中に小角粒界を導入し、粒内ベイナイト生成を促進させることを目的として研究を行った。

2. 実験方法

供試材の組成を Table 1 に示す。供試材は 900~1200°C で熱間鍛造した後に 1200°C×1.5h 保持したものである。供試材は S 濃度の低い試料を SP、S 濃度の高い試料を SR とする。各試料に対し、1400°C で 1 分あるいは 5 分間溶体化処理を行った後 500°C で 5 秒間ベイナイト生成処理を施し氷塩水中に焼き入れた。溶体化処理の前に 500°C で 1200s 保持 (前熱処理) したのも準備した。組織観察には光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡等を用いた。更に引張試験も行い、組織観察結果と対比させて機械的性質に関する考察を行った。

3. 実験結果および考察

試料 SP に関しては Fig.1 および Fig.2 に見られるように、溶体化処理時間の短縮によって粒内ベイナイト核生成および破断伸びの上昇が見られた。また前熱処理を施したのもでも粒内ベイナイト核生成の促進および破断伸びの上昇が見られた。これらの結果から、溶体化処理の短縮においては転位の回復の抑制、前熱処理においては炭化物の粗大化に起因してオーステナイト化領域が分散され、変態歪の影響を受けやすくなった結果、オーステナイト中への転位導入に起因した小角粒界の生成が粒内ベイナイト生成を促進したと考えられる。

試料 SR では粒内ベイナイトが細かくなっていることがわかり、これが伸びの増大に影響していると考えられる。

Table 1 Chemical composition (mass%)

Steel	C	Si	Mn	P	S	Cu	Ni	Cr
SP	0.14	0.29	1.44	0.001	0.001	0.01	0.01	0.01
SR	0.13	0.29	1.44	0.001	0.062	0.01	0.01	0.01

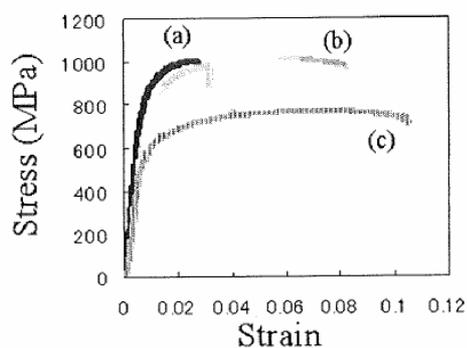


Fig.1. Stress-strain curves taken from SP austenitized for (a) 300 and (b) 60s , and from SR austenitized for (c) 300s.

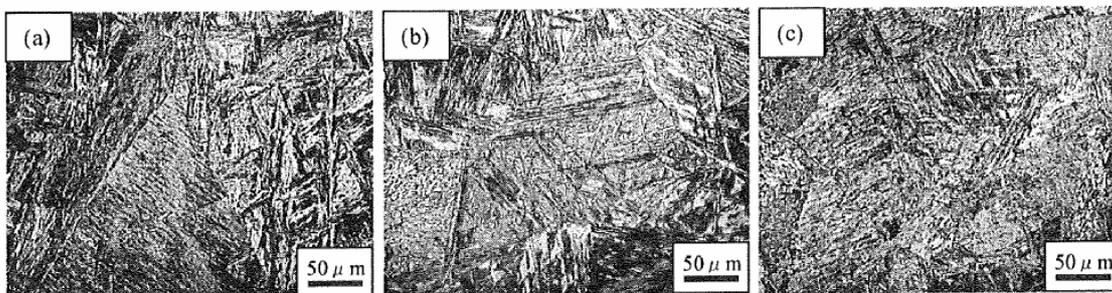


Fig.2. Optical micrographs taken from SP austenitized for (a) 300 and (b) 60s , and from SR austenitized for (c) 300s.

(ii) 粒内ベイナイト微細化に及ぼす S の効果

1. 緒言

鋼の靱性を向上させる方法の 1 つとして、粒内ベイナイト生成の促進があげられる。

そこで粒内ベイナイトを効率良く生成させるために S を利用した。つまり, S によるコトトレル効果を利用して小角粒界の形成・安定化を図り、この小角粒界の歪場を利用して粒内ベイナイトの核生成を促進させようと試みた。

2. 実験方法

供試材の組成を Table 2 に示す。S 濃度の異なる 3 種類の試料を作製した。1 つは標準試料として S をほとんど含有しない鋼を ST、高濃度 S の試料を SR,ならびに低濃度 S の試料を SP と呼ぶ。熱処理過程を Fig.3 に示す。組織観察および構造解析等に光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いた。

3. 実験結果および考察

光学顕微鏡観察の結果 (Fig. 4), ST では粒界ベイナイトが顕著に析出しているのに比べ(a), SR では細かい粒内ベイナイトが顕著に析出していた(b)。1450°Cにて溶体化した SR においても同様に生成された(c)。S によるコトトレル効果に起因して、小角粒界が形成・安定化されているため、小角粒界近傍には、各種の方向にせん断応力場が存在しており、この応力場の緩和のために各種の方向にベイナイト・ラスが核生成したと考えられる。よって SR において粒内ベイナイトが顕著に析出していたと考えられる。

Table 2 Chemical composition (mass%)

Steel	C	Si	Mn	P	S	Cu	Ni	Cr
ST	0.14	0.29	1.44	0.001	0.001	0.01	0.01	0.01
SP	0.12	0.29	1.45	0.001	0.028	0.01	0.01	0.01
SR	0.13	0.29	1.44	0.001	0.062	0.01	0.01	0.01

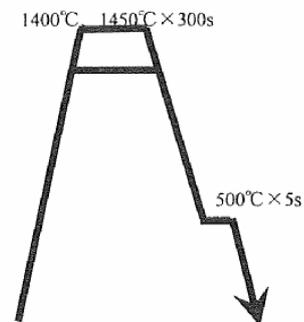


Fig. 3 Schematic diagram of heat treatment.

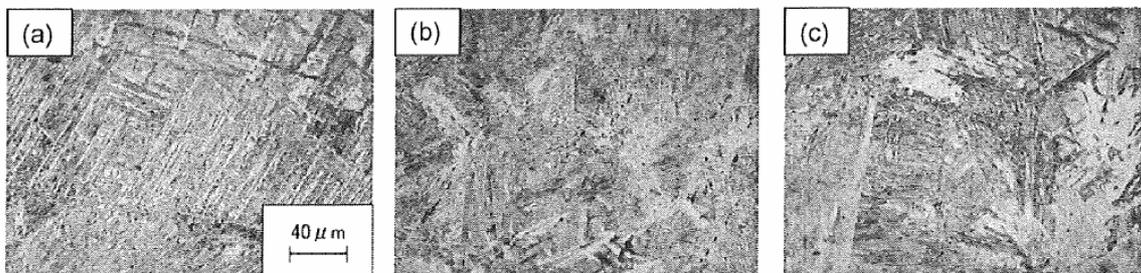


Fig. 4 Optical micrographs taken from (a) ST (b) SR held at 1400°C for 300s. and (c) SR held at 1450°C for 300s.

(iii) 鋼の機械的特性に及ぼすベイナイト組織の効果

1. 緒言

ベイナイト鋼の機械的特性がラス組織と炭化物によって支配されていることは良く知られている。そこで、本研究では炭化物の析出形態、ラスのサイズやその集合組織であるパケットおよびマルテンサイトがベイナイト鋼の機械的特性に及ぼす効果について検討した。

2. 実験方法

Table 3 に示す C 濃度の異なる 3 種類のベイナイト鋼 (LC:0.006%C, MC:0.029%C, HC:0.086%C) を 1400°C で 10min 間オーステナイト化後、500 および 600°C で 120s 間等温保持し、ベイナイトを生成させた。LC-,MC-, HC-50 は 500°C、LC-,MC, HC-60 は 600°C で保持した試料とする。これらの試料を光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて組織観察した。さらに、ビッカース硬度試験および引張試験によって機械的特性を調べ、組織と機械的特性の関係について調べた。

3. 実験結果および考察

Fig. 5 の光学顕微鏡組織観察の結果、炭素濃度が上昇するにつれてラスは微細になることが分かった。600°C で熱処理した試料ではマルテンサイトが生成されている。また、Fig.6 の TEM 観察の結果、LC に炭化物は見られず、炭素濃度の増加に伴い、炭化物の析出量が増加することが分かった。

降伏強度は HC-60 が最大であったが、これはマルテンサイト生成に起因している。MC-50 と HC-50 を比べると、HC-50 のほうが高い降伏強度を示すが、ラスサイズが小さく、かつ、炭化物の析出量が多かったことに起因している。伸びは、MC-50 が最大であったが、パケットサイズが小さく、ベイナイトラスが多種のバリエーションからなっているため、変形に伴うせん断歪の緩和がバリエーション間で生じやすいからであると考えられる。

LC-60 が低い降伏応力を示すのは、極低炭素マルテンサイト生成のために、活動転位の導入が顕著であるためと考えられる。

Table3 Chemical composition (mass %)

symbol	C	Si	Mn	P	S	sol.Al
LC	0.006	0.27	1.78	0.009	0.0004	0.018
MC	0.029	0.28	1.78	0.009	0.0004	0.021
HC	0.086	0.28	1.78	0.009	0.0006	0.024

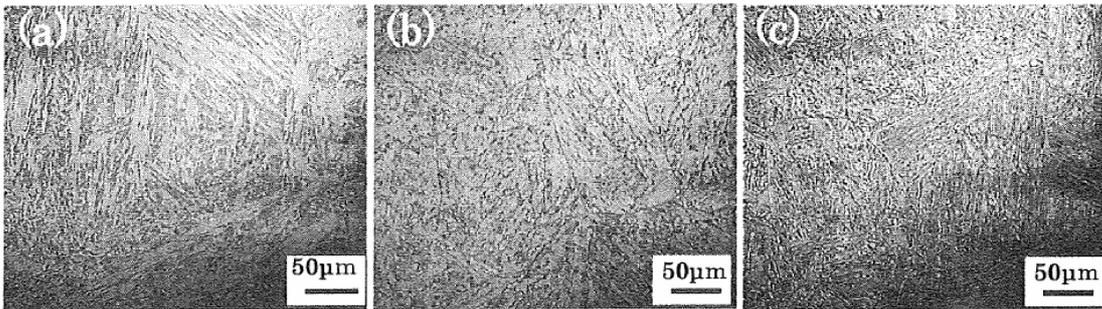


Fig. 5 Optical micrographs taken from (a)LC-60, (b)MC-50 and (c)HC-50.

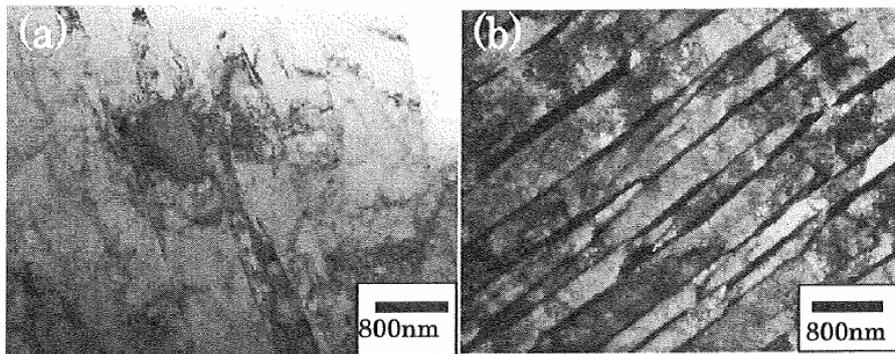


Fig.6 Bright field images taken from (a) LC-50 and (b) HC-50.

交流磁場焼灼療法のためのナノ微粒子材料の開発

愛媛大学大学院理工学研究科准教授 青野 宏 通

愛媛大学大学院理工学研究科准教授 猶原 隆

愛媛大学大学院理工学研究科講師 前原 常 弘

株式会社アドメテック代表取締役 中住 慎 一

1.はじめに

癌の代表的な治療法は外科的切除であるが、患部の位置や進行具合によっては化学療法・放射線療法・温熱(または焼灼)療法などを組み合わせることとなる。従来の焼灼法として、「ラジオ波焼灼法」と「マイクロ波焼灼法」などがあり、これらは体外から患部に刺した穿刺針の先端より電磁波を照射し、90°C以上に加熱する。しかし、患者の肉体的及び精神的負担が大きいこと、穿刺針が臓器の呼吸性移動に追従出来ないことが課題である。また、腫瘍の位置が画像により抽出でき、針を安全に刺入できる場所に存在することが必要である。他の熱を利用する方法として「温熱治療(ハイパーサーミア)」がある。これは、外部電極から癌におかされた臓器に8MHzの交流磁場を印加すると全体が42°C程度に加熱され、熱に弱い癌細胞にダメージを与えるというものである。しかし、この方法は、深部臓器の温度を十分に上昇させることが困難で、表層の健常組織への熱影響が無視できない。

しかしながら、癌治療における熱の有効性は疑いのないところであり、我々は新たな熱を利用した治療法として「交流磁場焼灼法」の研究開発を進めている。これは交流磁場中で発熱する材料を癌に留置し、焼灼治療へ応用することを目的としたものである。この交流磁場焼灼法は、効果的に患部に熱によるダメージを与え、さらにヒートショックプロテイン(HSP)の発現により正常細胞の免疫機能を活性化させる。

本共同研究では、

- ① 焼灼器具として使用する針状金属磁性材料
- ② 腫瘍に塞栓するための球状フェライト粒子
- ③ 選択的に癌細胞のみ焼灼する粉末磁性材料

の3種の材料の開発を行ない、数年以内に、①の針状金属磁性材料の商品化・実用化、②③の球状および粉末材料の動物実験用材料としての実用化を目指している。本稿では、③の粉末材料の研究について述べる。

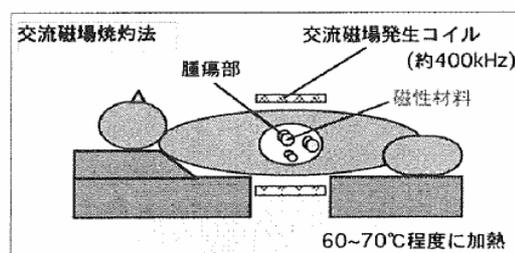


図1 交流磁場焼灼法

2. ビーズミル粉碎による微粒子化

癌の抗体の付いたりポソームにフェライト微粒子を包埋した100nm以下の材料(血管の最小サイズが100nmであるため)を作製し、これをカテーテルにより血管に導入し、選択的に癌細胞に堆積させる究極の方法の実用化を目指す。この方法は、癌細胞へ選択的に薬を運搬させるDDS(Drug Delivery System)の「薬」が「フェライト微粒子」に置き換わったものであり、外科手術では切除できない患部に対して有効であり、選択的に腫瘍のみ焼灼する究極の治療法といえる。

これまでにマグネタイト(FeFe_2O_4)や MgFe_2O_4 や、フェライトの中で最も発熱特性が優れている $\text{Mg}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ 系の $x=0.5$ を、逆共沈法や高分子化法などの化学的合成法により前駆体を作製し、低温焼成でフェライトの複合酸化物とし微粒子化を図ってきた。この微粒子化により、結晶が単磁区となり保磁

力が高まるに伴い、ヒステリシス損失が増大し、発熱を向上させることが期待できる。逆に、結晶が小さくなりすぎると、保磁力の発生しない超常磁性状態となるため、最適な結晶子サイズを得ることが重要となる。しかし、化学的合成により得た前駆体を、焼成による粒子成長を制御して発熱特性の優れたナノサイズの酸化物を設計することは非常に困難であるためできておらず、特に結晶子径が十数 nm の多結晶材料ができたとしても、焼成により必ず凝集・焼結するため、個々の粒子を 100nm 以下にするのはきわめて困難であった。図2に粉末磁性材料の作製過程を示す。化学的合成法により微粒子化するのには困難であり、物理的粉砕が必須である。

ビーズミルによる粉砕は結晶子径が 10nm 以下とすることができ、物理的に粉砕した微粒子材料の研究が可能である。そこで、最も優れた結晶子径および粒子径をもつフェライト微粒子の作製およびキャラクタリゼーションを行なっている。既に、ビーズミル粉砕による交流磁場中での発熱性能の向上が確認されており、これについては平成 19 年 11 月中に特許出願を行なった。

図3にその結果を示している。原料となる $MgFe_2O_4$ は、様々な方法で作製が可能であるが、ここでは信頼できる $MgFe_2O_4$ として、高純度化学研究所製(純度 99.9%)の $MgFe_2O_4$ 粉末を購入し粉砕を行なった。エチルアルコールを分散液とし、ビーズミルを用い、最初 0.3mm のジルコニア製ビーズで最大 10 時間、さらに小さい結晶粒を得るために 0.3mm ビーズで 2 時間粉砕した試料を 0.1mm ビーズを用いて最大 10 時間の粉砕を行ない微粒子化を行なった。最も小さい結晶粒は、0.3mm ビーズで 2 時間粉砕した後に 0.1mm ビーズで 2 時間粉砕した試料を、0.05mm ビーズを用いて最大 10 時間の粉砕を行なうことにより得た。得られた粉末試料を十分乳鉢で混合した後、X 線回折(リートベルト法)による結晶の同定を行ない、その測定結果からシェラー法により(440)面のピークの半値幅により結晶子径を決定した。全くビーズミル粉砕を行っていない場合、X 線回折のピークが非常にシャープとなり、これは結晶子がきわめて大きいことを示していたが、粉砕時間の増加に伴いピークが幅広くなっていき、これは結晶子サイズが粉砕時間とともに小さくなっていることを示すものである。0.1mm ビーズ、さらには 0.05mm ビーズを用いた場合はさらにピーク幅が増大した。また、粒子径については、BET 法により粉末試料の表面積値を求め、粒子が球状と仮定して粒子径を算出した。この試料粉末 1g を、交流磁場(370kHz、磁場強度 1.77kA/m)中で 20 分間保持したときの上昇温度 ΔT を求めた。なお、上昇温度 ΔT は、試料の温度から、実験を開始したときの温度を差し引いたものである。また、表1には、粉砕条件や時間に対する、結晶子径、粒子径および上昇温度をまとめた。

市販の粉末は表1には「未粉砕」として示しており、 ΔT は 26.2°C であり、粉砕時間の短い試料は逆に低下したが、0.3mm ビーズで 8h 以上、0.1mm ビーズで粉砕した 4h 以上粉砕した試料、0.1mm ビーズで 0.05mm ビーズで 2h~6h 粉砕した試料について、粉砕していない市販の粉末よりも高い発熱を示した。一方、BET 法による表面積から求めた粒子径については、

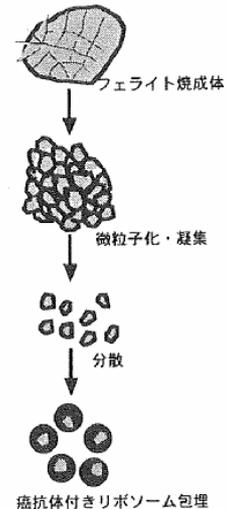


図2 粉末磁性材料の作製過程

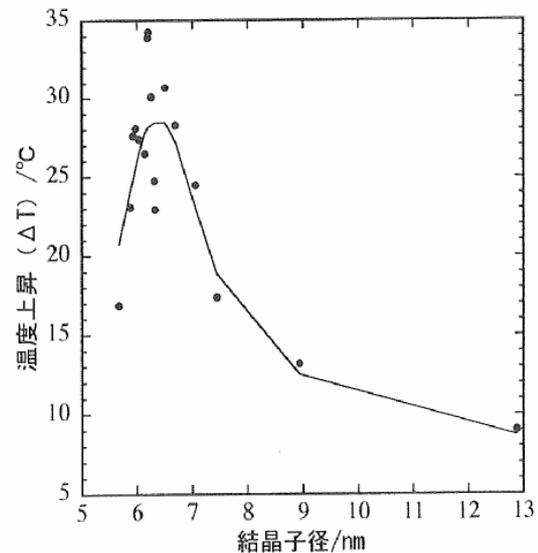


図3 ビーズミル粉砕した $MgFe_2O_4$ の粒子径(nm)と、 $MgFe_2O_4$ 粉末 1g を交流磁場(370kHz、1.77kA/m)に置いたときの上昇温度 ΔT との関係。

粉碎時間の増加およびビーズ径の減少に伴い、すなわち粉碎を十分行うことにより小さい値となり、結晶の凝集が少なくなっていることがわかった。発熱特性 ΔT の優れた材料はいずれも50nm以下の粒子径となっており、リポソームを包埋後に100nm以下にするということは十分達成できると考えられる。

(440)面のピークから計算により得られた約7nmよりも小さい平均結晶子径、あるいは表面積から計算された約50nmよりも小さい平均粒径をもつ試料については、何も粉碎を行わない市販品の ΔT よりも値が大きくなり、発熱特性が向上することがわかる。

図2に示した最終段階として、液中にフェライト微粒子を分散させ、リポソームへの包埋を行ない、究極のリポソーム包埋微粒子材料の完成である。液中の分散過程と包埋過程とも現在詳細に検討を行っており、双方とも非常に有望な方法を見いだしつつある。これについては、現段階では詳細に検討を行っており、特許への出願をまだ行っていないため、詳細な実験結果については公表を差し控える。

表1 MgFe₂O₄ 粉末(市販品, 高純度化学製:99.9%)の粉碎条件と、得られた粉末の結晶子径および粒子径、試料1gを交流磁場(370kHz, 1.77kA/m)に置いたときの上昇温度 ΔT 。

使用ビーズ(mm)	粉碎時間 (h)	結晶子径 (nm)	粒子径 (nm)	上昇温度 ΔT (°C)
未粉碎	0	測定不能	4300.0	26.2
0.3	1	12.88	143.0	9.03
0.3	2	8.93	82.9	13.2
0.3	4	7.44	62.8	17.4
0.3	6	7.05	48.2	24.5
0.3	8	6.69	43.8	28.3
0.3	10	6.50	36.5	30.7
0.1	1	6.32	70.0	22.2
0.1	2	6.31	42.6	24.8
0.1	4	6.25	34.4	30.1
0.1	6	6.20	20.4	34.3
0.1	8	6.19	18.6	33.9
0.1	10	5.92	15.5	27.6
0.05	2	6.14	34.7	26.5
0.05	4	6.03	21.5	27.4
0.05	6	5.97	17.8	28.1
0.05	8	5.87	13.9	23.1
0.05	10	5.67	11.5	16.9

3. 今後の研究

現在、ビーズミル粉碎により微粒子材料を作製し、MgFe₂O₄について、単磁区となり保持力が增大することにより発熱が最大となる、最適の結晶子径を実験的に得ることができている。このXRD測定により求めた結晶子径は6~7 μ mと非常に小さく、粉碎時間を増やすと、液中の凝集が取り除かれることをBET法による表面積測定により確認している。しかし、粉碎時間を長くしすぎると、結晶子径が小さくなりすぎて超常磁性状態となった粒子が混入し、発熱特性の低下がみられるようになる。これらの粉碎による発熱特性の変化を、Mgフェライトだけではなく、他のFeFe₂O₄やMg_{0.5}Ca_{0.5}Fe₂O₄などと比較し、フェライトにおける微粉碎の影響を確認する必要がある。

また、現在、検査機関においての生体適合性試験を行っており、実際の応用に向けての準備を進めつ

つある。

4. 平成19年1月以降における研究成果

<学術論文誌>

1. H. Aono, H. Hirazawa, T. Naohara, and T. Maehara, Surface Study of Fine $MgFe_2O_4$ Ferrite Powder Prepared by Chemical Methods, *Applied Surface Science*, **254**, 2319–2324 (2008).
2. H. Hirazawa, S. Kusamoto, H. Aono, T. Naohara, K. Mori, Y. Hattori, T. Maehara, and Y. Watanabe, Preparation of Fine $Mg_{1-x}Ca_xFe_2O_4$ Powder Using Reverse Coprecipitation Method for Thermal Coagulation Therapy in an AC Magnetic Field, *J. Alloys and Compounds*, 印刷中.

<国際会議発表>

1. H. Hirazawa, K. Uchihara, H. Aono, T. Naohara, K. Hiraoka, S. Nomura, and T. Maehara, Computer simulation of heat generation ability in AC magnetic field for Ti tube filled with ferrite powder, Proc. of 24th International Japan–Korea Seminar on Ceramics, 11/2007, Shizuoka, Japan, pp. 609–612.
2. H. Hirazawa, S. Kusamoto, H. Aono, T. Naohara, T. Maehara, and M. Sato, Heat generation ability under AC magnetic field of sized nano $MgFe_2O_4$ ferrite powder prepared by bead milling, Proc. of 24th International Japan–Korea Seminar on Ceramics, 11/2007, Shizuoka, Japan, pp. pp.635–638.
3. H. Hirazawa, S. Kusamoto, S. Ageta, H. Aono, T. Naohara, and T. Maehara, Preparation of Fine MFe_2O_4 (M=Mg and Sr) Ferrites Powder and Their Electrical Properties, Technical Digest of The 7th East Asia Conference on Chemical Sensors, 12/2007, Singapore, pp.70–71.

<国内学会発表>

1. 内原高大, 平澤英之, 猶原 隆, 青野宏通, 平岡耕一, 野村信福, 前原常弘, $MgFe_2O_4$ を充填したTi管の交流磁場下での発熱シミュレーション, 中国四国支部 鉄鋼第50回・金属第47回 合同支部講演大会.
2. 内原高大, 平澤英之, 猶原 隆, 青野宏通, 平岡耕一, 野村信福, 前原常弘, フェライトを充填した金属管の交流磁場下での発熱シミュレーション, 日本金属学会.
3. 前原常弘, 磁性体針を用いた癌誘導焼灼療法の開発, 第23回ナノバイオ磁気工学専門研究会.

<特許>

平成19年内に3件の出願を行なった。

溶接欠陥と非破壊検査の相関性に関する調査研究

愛媛大学大学院理工学研究科准教授

西 田 稔

四国電力株式会社原子力本部原子力保安研究所
技術開発研究グループリーダー

金 尾 利 彦

1. はじめに

四国内で溶接技能検定受験者は、年間 5,000 人程度であり、その合格率は 73% である。日本での合格の判定は、曲げ試験での割れの有無にしたがっているが、EU では X 線透過試験および超音波探傷試験で行われている。本研究では、受験者が最も多い板厚 9 mm、裏板金ありの溶接継手試験片について、曲げ試験と非破壊検査と関連性および X 線透過試験と超音波探傷試験の関連性について検討した。

2. 溶接継手試験片の作製および非破壊試験方法

溶接継手試験片は、手溶接および炭酸ガス半自動溶接とも JIS Z にしたがって各 20 組加工した。溶接姿勢は下向き、立向きおよび横向きとした。

X 線透過試験の撮影条件は、JIS Z 3104 鋼溶接部の放射線透過試験方法および透過写真の分類方法にしたがって行った。透過度計 F02 は、線径が 0.1mm から 0.4mm が 7 本ならであり、本試験では、6 本確認できることから 0.2mm 以上の欠陥の判別ができる。図 1 は手溶接および図 2 は半自動溶接における、X 線透過試験の結果を示す。なお、手溶接の溶接長さは 150 mm、半自動溶接の溶接長さは 200 mm である。図 1 は、初層部に発生した欠陥であり、比較的判定しやすいが、図 2 に示す透過写真では、最終層のアンダーカットは明瞭であるが、白色の矢印で示す線状欠陥については、判断が困難であり、以下の判定は全て有資格者が判定したスケッチを用いることとした。

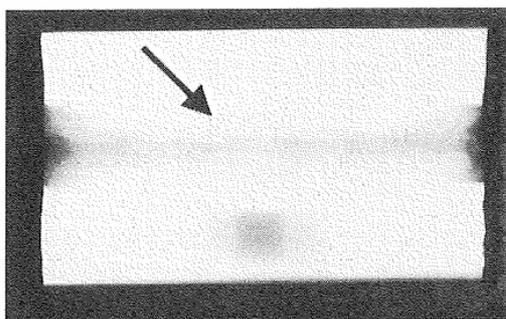


図 1 下向溶接手溶接に発生した初層欠陥

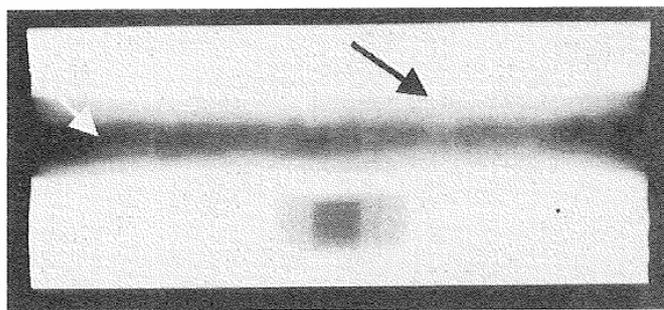


図 2 半自動溶接に発生したアンダーカットと線状欠陥

超音波探傷試験は、裏金ありで余盛を削除しないで行ったため、斜角法でおこない、エコー高さが L 線以上になった箇所を溶接欠陥とみなした。その他の条件については、JIS Z3060 にしたがって行った。

3. 曲げ試験片および曲げ方法

J I S 検定では、溶接開始より表曲げ、終端部より裏曲げ試験片を採取し、180° 曲げを行い合否を判定しているが、本研究では、欠陥の長さ、深さ方向を考慮して、裏当金および余盛を削除した後、欠陥を含む位置より幅 40mm の曲げ試験片を採取し、J I S 検定で使用されている曲げ試験機を使用して 180° 曲げ試験を行った。

4. 実験結果および考察

4. 1 手溶接

図 3 に示す試験片は、下向姿勢溶接で試験材と裏当金の間を 1 mm 設定し、初層溶接での溶接欠陥を再現させた試験片である。RT では、初層の溶込み不良部が鮮明に映し出されているが、UT では裏当金の間を 1 mm 設定しているため、欠陥として判定しなかった。しかし、右側より 3 番目の欠陥は、RT および UT とも一致していた。裏当金を除去し、右および左端部より裏曲げ試験片を採取し曲げ試験を実施した。実施前には、RT と一致した溶込み不良部が存在した。曲げ後、3 mm 以上に進展した割れは、UT で検出した溶込み不良部であった。このことより、UT で検出された欠陥は、裏面部の溶込み不良ではなく、その位置より少し上部での開先面の融合不良であることが明らかとなった。なお、裏曲げ試験の欠陥と X 線透過試験の欠陥の位置は、左右が反対になっている。また、RT で検出された右側端部の欠陥はまで曲げ試験では 3 mm 以上の割れを引き起こす欠陥ではなかった。RT で検出された右側に欠陥は、曲げ試験後のサイド側の写真からも明らかなように、溶接積層間の欠陥であるが欠陥が板厚中央部に存在するため、曲げ試験には影響しなかった。

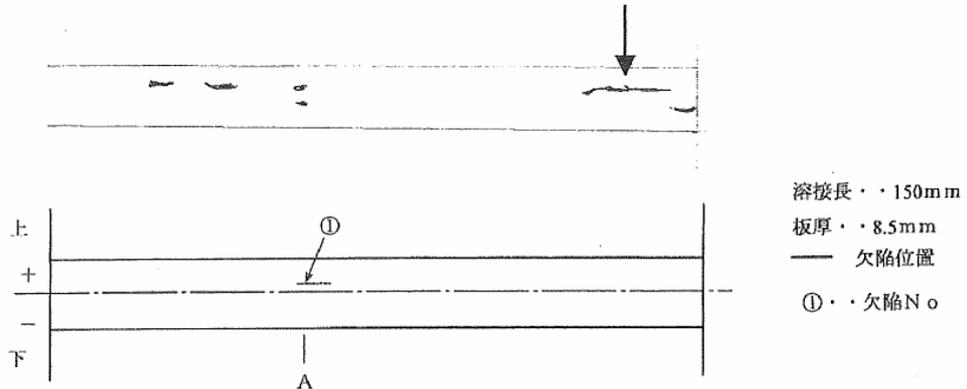


図 3 RT および UT 試験結果

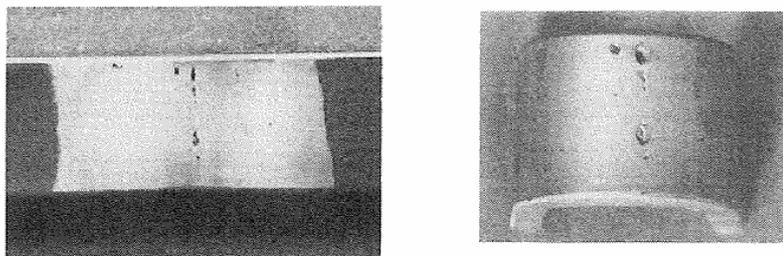


図 4 融合不良部の裏曲げ前後の試験片 (縮尺 1/2)

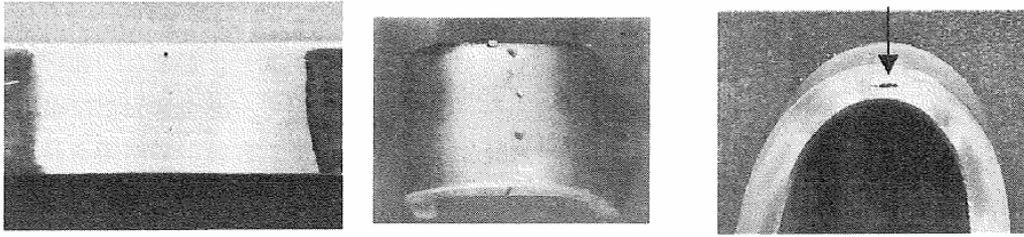


図5 融合不良部の裏曲げ前後の試験片（縮尺 1/2）

図6は、溶接姿勢を立向とし裏当金の間を 0.5mm設定し、初層溶接に欠陥を出やすくした結果である。その結果、欠陥の位置はRT、UTとも一致し、UTより欠陥は初層部であった。

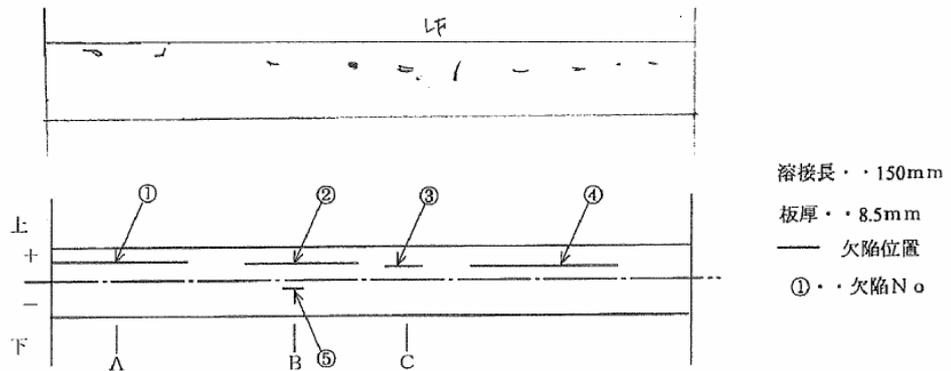


図6 RTおよびUT試験結果

欠陥①と②を含む領域および④を含む領域から裏曲げ試験を採取し、曲げ試験を行った。

①を含む領域では、図7の曲げ試験の表面写真における欠陥位置とRTの欠陥の位置は一致し、溶込み不良部の上に割れが発生していた。したがって、UTでは連続した欠陥と捕らえたのは、裏当金を 0.5mmに設定したため裏当金と溶接金属との隙間からのエコーを検出したと考えられる。

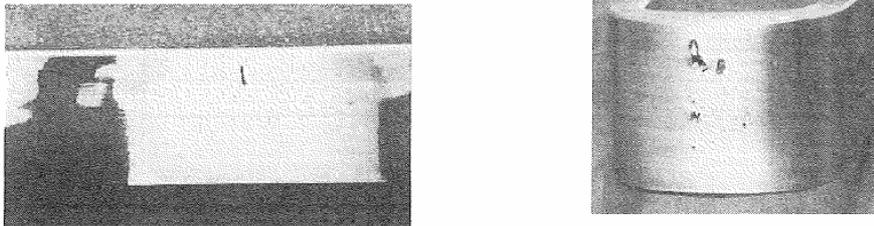


図7 欠陥①含む領域での裏曲げ前後の試験片

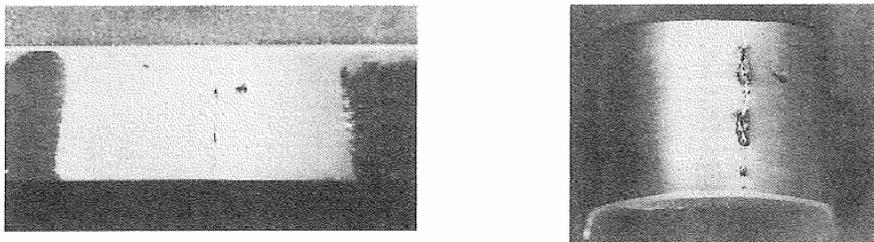


図8 欠陥④含む領域での裏曲げ前後の試験片

それに対して、④を含む領域では、曲げ後、図8に示すように溶込み不良だけでなく④の欠陥長さに相当する割れが発生した。このことより、UTの欠陥は、溶込み不良および底部近傍の開先の融合不良を検出したとえられる。

横向姿勢での溶接は、昨年のJIS検定不合格の共同研究結果より、最終溶接層での溶接欠陥での不合格になる場合が多くあり、本共同研究においても最終層の溶接欠陥を再現した。溶接外観は、浅いアンダーカットは存在したが、割れを発生させるような深いアンダーカットは見られなかった。したがって、図9に示すRTでの見られる欠陥は、UTの結果表面近傍の開先融合不良と考えられる。特に最終溶接に伴う欠陥は、RT、UTとも一致していた。

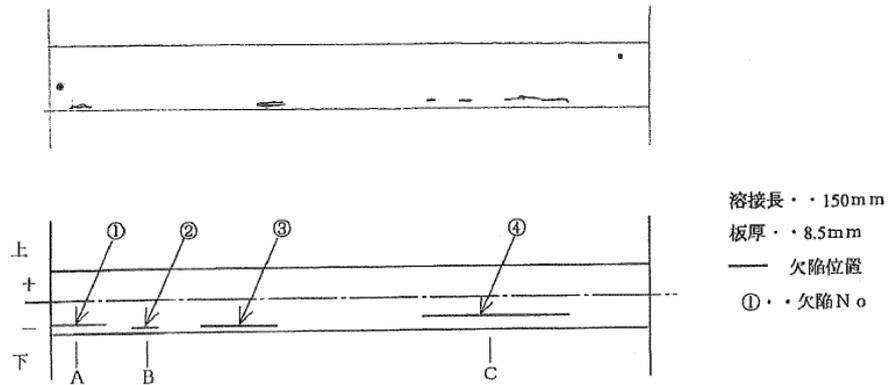


図9 RTおよびUT試験結果

欠陥①、②および③を含む領域および欠陥④を含む領域から表曲げ試験片を採取し曲げ試験を行った。

図10は、欠陥①、②および③を含む領域であり、矢印で示した写真右側にRTおよびUTで検出された欠陥が存在する。

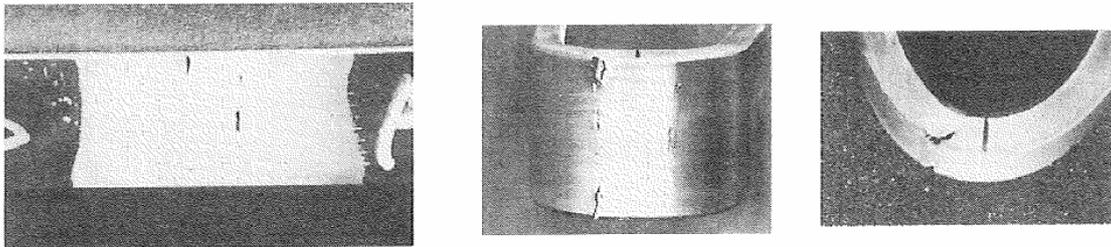


図10 欠陥①、②および③を含む領域での表曲げ前後の試験片

表面研削し、曲げ前の試験片には浅いアンダーカットが見られるのみであったが、曲げ後試験片

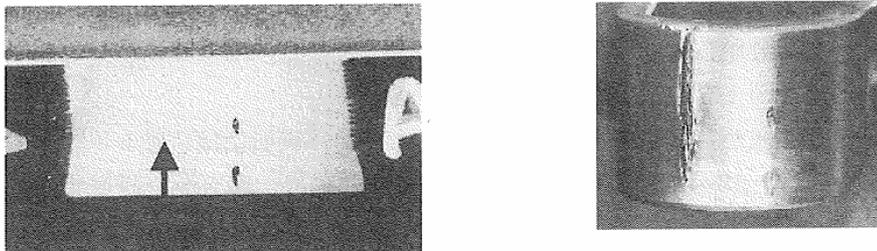


図11 欠陥①、②および③を含む領域での表曲げ前後の試験片

全長にわたり割れが発生しており、その深さも板厚の2/3に達していた。このような割れは、表面近傍の開先が溶融せず、曲げによって表面に現れたものである。

図11は、欠陥④を含む領域であり、曲げ試験前後のアンダーカットを比較するとアンダーカットから割れは発生せず、30mmを超える割れは欠陥④に伴う割れであった。

4.2 半自動溶接

試験片番号3は、裏当金と溶接試験片の間を0.5mm開けて溶接した。

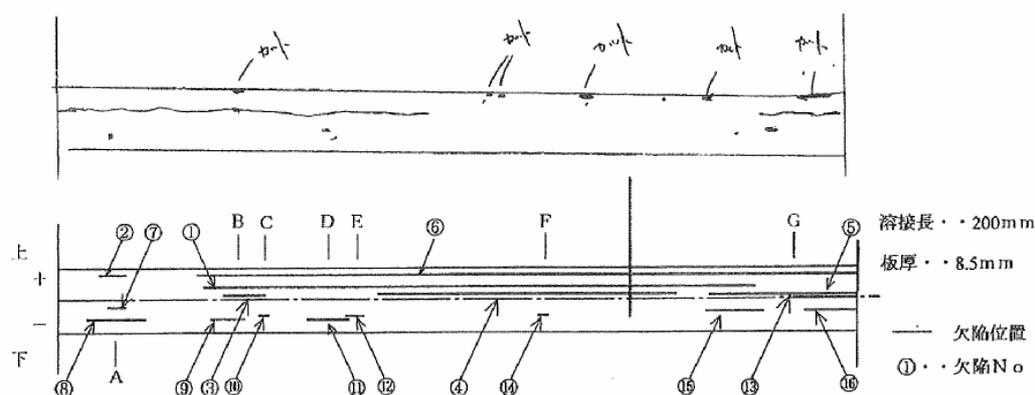
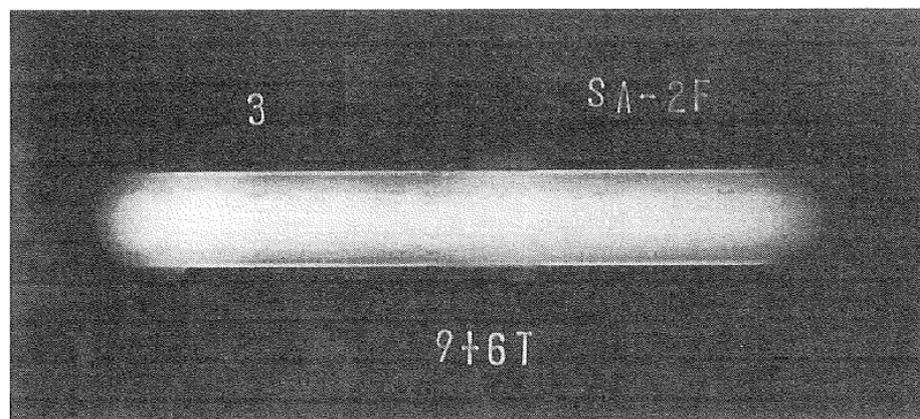


図12 RTおよびUT試験結果

図12は、RT、UT試験結果およびCTスキャンの結果を示す。CTスキャンの矢印で示した位置に線状欠陥と考えられる欠陥とアンダーカットが見られる。しかし、UTではこれ以外に多くの欠陥エコーが見られた。そこで、UT試験（添付資料（2））溶接裏面より2mm程度に離れた位置に欠陥が存在する①および⑦を含む領域より裏曲げ、および欠陥①、④、⑥のように開先片面に集中している部分から表曲げ試験（図24で棒線を中心に幅40mm）を採取し、曲げ試験を行い、その結果を図13および14に示す。

欠陥①および⑦を含む領域から裏当金を除去した面および曲げ表面には、図13に示すように欠陥は見られなかった。したがって、RTで検出された線状欠陥は、裏当金を研磨せずに用いたことにより、初層溶接における浅い溶込み不良が裏当金を研削した時に削除されたと考えられる。それに対して、側面部には矢印で示す2箇所に開先との融合不良があり、その位置は欠陥①および⑦と一致しており、融合不良に対してはUTの方がよりの確に検査しうる。

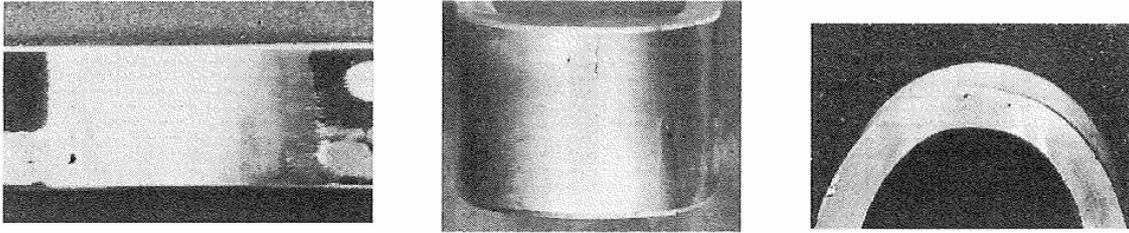


図13 欠陥①および⑦を含む領域での裏曲げ前後の試験片

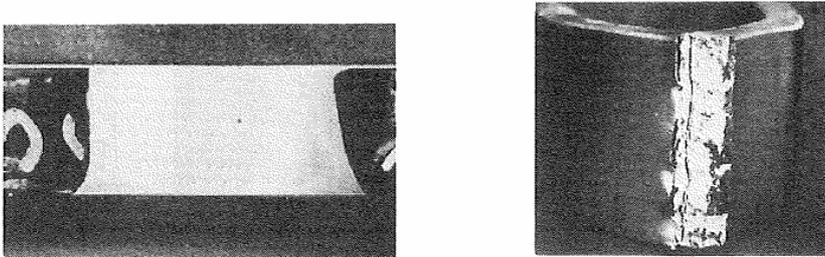


図14 欠陥①、④および⑥領域での表曲げ前後の試験片

表曲げの表面は、図14に示すように浅いアンダーカットが存在するのみであったが、曲げ試験を行うと、完全破断であった。曲げ試験を行う前、溶接位置を確認するため、マクロエッチングを施しており、破面上部が腐食されている。したがって、RTでアンダーカットと判定された欠陥は、開先の融合不良であった。

図15に示す欠陥は、立向姿勢で裏当金を研磨せず電流を150Ampと高くし3層で立向溶接し、初層溶接に欠陥をでやすくした。図15に示すように、RTで線状の欠陥と考えられる位置にUTのエコー③も存在し、両試験とも結果位置が一致した。しかし、UTでは①および②のエコーもあり、欠陥①および②を含む領域と欠陥③を含む領域から裏曲げ試験片を採取し、曲げ試験を行った。

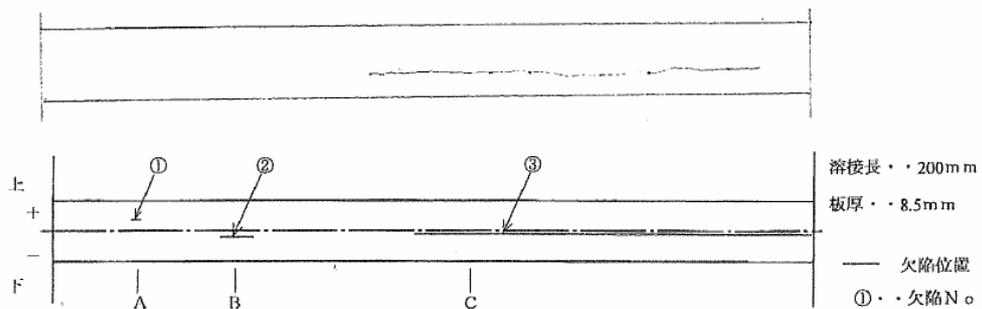


図15 RTおよびUT試験結果

欠陥②および③を含む裏曲げでは、図16に示すように、曲げる前では確かめられなかった欠陥が曲げ後生じており、これらの位置は、欠陥②および③と一致していた。それに対して欠陥①を含む裏曲げでは、RTおよびUTで検出された位置に割れが発生していた。これらの割れは初層溶接での溶込み不良ではなく、底面近傍の開先の融合不良によるものである

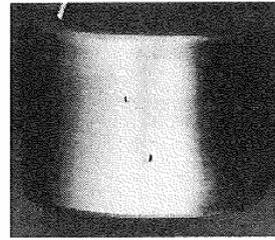
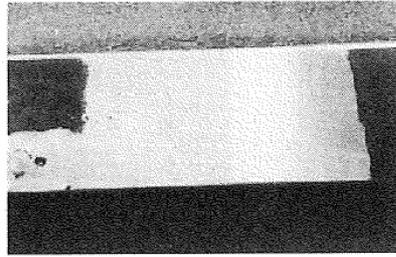


図16 欠陥②および③含む領域での裏曲げ前後の試験片

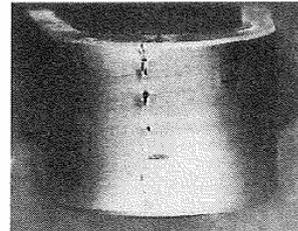
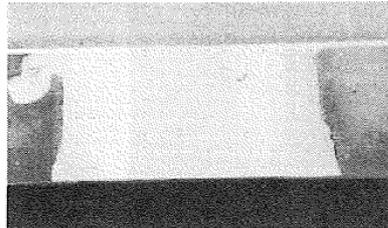


図17 欠陥①含む領域での裏曲げ前後の試験片

5. 総括

5.1 非破壊試験と曲げ試験との相関性

非破壊試験は、継手内部の情報を得るための試験方法であり、曲げ試験は裏および表近傍の欠陥を検査するものであり、その手法が根本的に異なっている。本研究で得られた結果より、裏表関係なく表面より深さ方向で1mm以内に発生した欠陥は、曲げ試験においても表面に割れが認められるが、2mm以上であると、内部欠陥は曲げにおいてJIS検定で不合格となるような表面割れにはならないことが明らかとなった。

5.2 RTとUTとの相関性

RTとUTでは、欠陥識別方法が異なるため、一概に論じることができない。RTは、その原理から板厚方向に幅が存在する、ブローホール、スラグ巻き込み、深いアンダーカットについては十分検出できるが、開先面に熔融金属が存在し、開先面が熔融していない場合には欠陥に厚さがなく、検出できなかった。今回の研究では、特に開先面の融合不良を起こすような溶接条件を設定したため、曲げ試験との相関性は、RTよりUTの方があった。

6. 終わりに

溶接欠陥と非破壊試験との相関性を調査方法として、開先面や溶接層間にアルミナ等の耐火酸化物を挿入する方法があるが、今回は、実溶接における欠陥を対象としたため、想定した欠陥ができなかったこともあった。また、溶接内部でUTエコーが見られた継手では、今後曲げ試験片を切断し顕微鏡的視野で観察する必要がある。本研究の結果が非破壊検査の向上に役にたてば幸いである。最後になりましたが、このような研究・調査の機会をいただいた四国電力株式会社に感謝します。

また、困難な溶接欠陥を作製していただいた四国溶材株式会社、CTスキャン等採算に合わない非破壊試験を行っていただいた住重試験検査株式会社には感謝の意を表します。

絶縁油中 PCB の簡易迅速分析法の開発—機器分析法及び生物検定法への適用—

愛媛大学農学部附属環境先端技術センター教授 本 田 克 久
愛媛大学農学部附属環境先端技術センター 澤田石 一 之
三浦工業株式会社三浦環境科学研究所 高 橋 知 史
株式会社アイシンコスモス研究所 大 坪 功
株式会社アイシンコスモス研究所 伊 藤 雅 幸

1. はじめに

PCB 汚染した電気絶縁油の選別(PCB スクリーニング)が急務である。

平成 13 年制定の PCB 特別措置法において、平成 28 年 7 月までに全ての PCB 廃棄物の処理が義務付けられた。現在、全国 5 箇所において PCB の分解処理が進められている。しかし、その後の調査から、現存する電気機器約 600 万台のうち約 2~3 割が低濃度で PCB 汚染されている可能性が示唆された¹⁾。環境省ではこれら低濃度 PCB 汚染された油を焼却処理する方針であるが、汚染状況を機器の銘盤から判別できないという問題点がある。安全のために全ての電気機器を焼却対象とすることは、処理期間や処理コスト、エネルギーコストを考慮すると非現実的である。そこで、PCB 濃度測定により汚染機器を選別する必要がある。しかし、この選別に公定法を適用することはコストと分析時間の浪費といった問題点がある。以上のことから、安価で簡便かつ迅速な PCB 分析法及び測定法の確立が早急に望まれている。我々は「固相精製-固相転溶」を原理とする迅速前処理法の開発を行った。つまり、PCB 測定において、GC-MS、GC-ECD などの分析機器及びイムノアッセイなどの生物検定用キットやセンサーに適用することが可能であり、かつ多くの分析機関に受け入れられやすい絶縁油中 PCB 測定法を確立することを目的とした。以下にその概要を述べる。

2. 迅速前処理法について

2.1 迅速前処理法(固相精製-固相転溶法)の特徴

本法は独自開発した加熱併用の固相精製カラム及びアルミナを充填した固相転溶カラムを連結して用いる。Fig.1に連結カラムを示す。本法は絶縁油中 PCB の精製効果が高いため分析機器類への付加が非常に少ない。充填するアルミナは我々が開発したダイオキシン類向けアルミナ^{2),3)}を改良して更に高活性化したもので、絶縁油中 PCB の吸着能力が非常に優れている。分析に必要とする充填剤量と有機溶媒量は極少量であり、エバポレーターや窒素気流による煩雑な濃縮操作が一切不要のため前処理時間は 2 時間以下を達成した。Fig.2に分析フローを示す。絶縁油 0.1~0.2g を 80℃の精製カラムにて 30 分加熱保持する。冷却後、ヘキサン 20ml を流下させる。PCB が吸着した転溶カラムを取り外し、加熱と窒素気流で乾燥後、転溶カラムを加熱しながら機器分析用には約 200 μ l のトルエンで、また生物検定用には約 200 μ l の DMSO でそれぞれ PCB を溶出する。

2.2 測定の特徴

試料量約 0.10~0.2g に対して PCB 溶出液量はトルエンと DMSO のいずれも約 200 μ l のため、窒素濃縮することなくそれぞれの機器類の測定感度が確保できる。GC-ECD や GC-MS などの分析機器においてはオートサンプラーを付属すれば多検体自動測定が可能である。本自動前処理法の回収率はほぼ 90%以上で安定しているため、測定液量さえ調整すれば指標となる内標準添加法等を必要とせず、絶対検量線法での定量も可能である。この場合、高価なサロゲート物質が不要となり、低コストが求められる PCB スクリーニング法として最適である。もちろん内標準法や標準添加法であればより厳密な測定が可能となる。

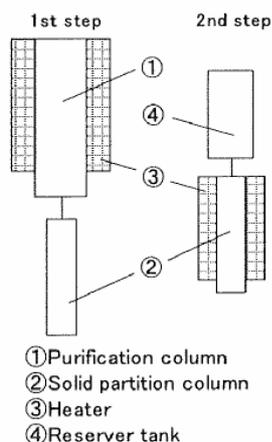


Fig. 1 Columns for rapid pretreatment

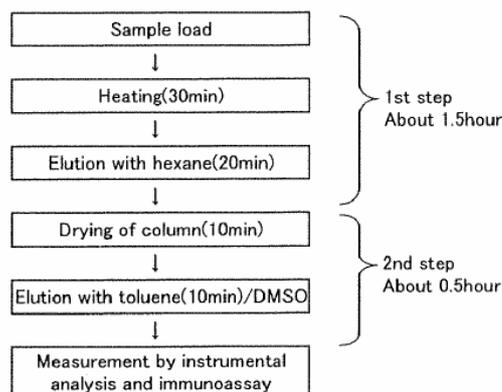


Fig. 2 Procedure of rapid analysis

2.3 機器分析法への適用

2.3.1 精製能力評価

新油 (JIS1 種 4 号 JOMO 製) を用いて本迅速前処理の精製能力を評価した。GC-MS を用いて測定した結果を Fig.3 に示している。上段が精製前のクロマトグラムである。新油の成分である、パラフィン系、ナフテン、芳香族炭化水素等の影響により多数のピークが検出されているが、下段の前処理後では、これらのピークが消失しており、精製が良好に行われているのがわかる。これは、加熱併用の固相精製カラムによる芳香族炭化水素の分解除去と、ヘキサン溶出による連結カラムからの絶縁油成分の排除が十分に行われた結果である。

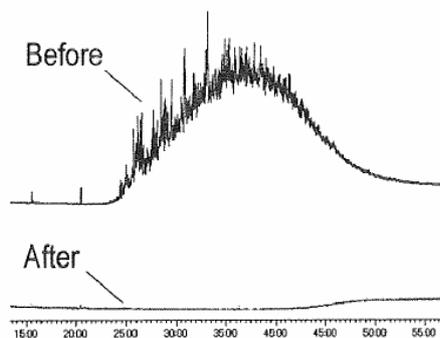


Fig. 3 TIC chromatogram by GC-MS

2.3.2 PCB 定量性と回収率評価

3 種類の PCB 油を用いて本法の定量性及び回収率を評価した。Sample1 は新油に KC-MIX (GL 社製) を添加し、0.4ppm に調整した。Sample2 は PCB が混入していない使用済み絶縁油に KC-MIX を添加し、0.4ppm に調整した。Sample3 は実際に PCB 汚染された絶縁油 (濃度: 3.2ppm) を用いた。これら 3 種類の PCB 絶縁油を用いて前処理を行い、HRGC-LRMS にて定量し回収率の評価を行った。また比較のため公定法を用いて前処理を行い、HRGC-HRMS にて定量し、回収率の評価を行った。結果を Table1 に示す。

Sample1, 2, 3 共に 2 塩素化物～9 塩素化物 PCB において、回収率約 90% を達成し良好な結果が得られた。また、1 塩素化物 PCB 及び 10 塩素化物 PCB において回収率が極端に低いという結果となった。1 塩素化物は加熱に伴う分解によって消失、10 塩素化物はヘキサンを 20ml 流す操作においての流出が原因であると考えている。但し、実際の汚染油は Sample3 に代表されるように 1 及び 10 塩素化物 PCB がほとんど存在しないため、総 PCB 濃度の定量には影響を与えないと考えている。

Table 1 Comparison of rapid and official analysis method for PCB concentration and recovery by three samples

	Sample1				Sample2				Sample3			
	Rapid anal.		Official anal.		Rapid anal.		Official anal.		Rapid anal.		Official anal.	
	Conc. mg/kg	Recovery %										
M1CBs	-	0	N.D.	83	-	1.7	N.D.	78	-	1.3	N.D.	79
D2CBs	0.011	90	0.0088	90	0.0079	95	0.0081	88	0.015	97	0.014	80
T3CBs	0.073	97	0.077	95	0.072	93	0.083	94	0.14	94	0.11	89
T4CBs	0.11	93	0.12	82	0.11	93	0.11	75	0.41	96	0.40	84
P5CBs	0.082	90	0.085	83	0.087	91	0.081	97	1.6	92	1.6	90
H6CBs	0.062	92	0.064	75	0.073	102	0.068	87	0.89	100	0.94	85
H7CBs	0.041	92	0.049	68	0.052	93	0.051	91	0.16	91	0.15	74
O8CBs	0.0087	86	0.0085	75	0.0077	83	0.0087	85	0.022	85	0.020	81
N9CBs	N.D.	85	N.D.	68	N.D.	83	N.D.	79	N.D.	83	N.D.	73
D10CB	-	2.4	N.D.	49	-	3.3	N.D.	55	-	3.5	N.D.	55
Total	0.39	-	0.41	-	0.41	-	0.41	-	3.2	-	3.2	-

2.3.3 各種測定機器への適用

4種の機器(GC-HRMS, GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-ECD)を用いて本前処理の適用性を評価した。評価はPCB定量性, 検出下限, クロマトグラム形状で行った。結果をFig.4に示す。実験はKC-MIXを添加した新油を用いて行った。いずれの機器もピーク分離が良好であり, 精製が十分に行われていると考えられる。なお, クロマトグラムは記載してないが, GC-ECDを用いても良好な結果が得られている。

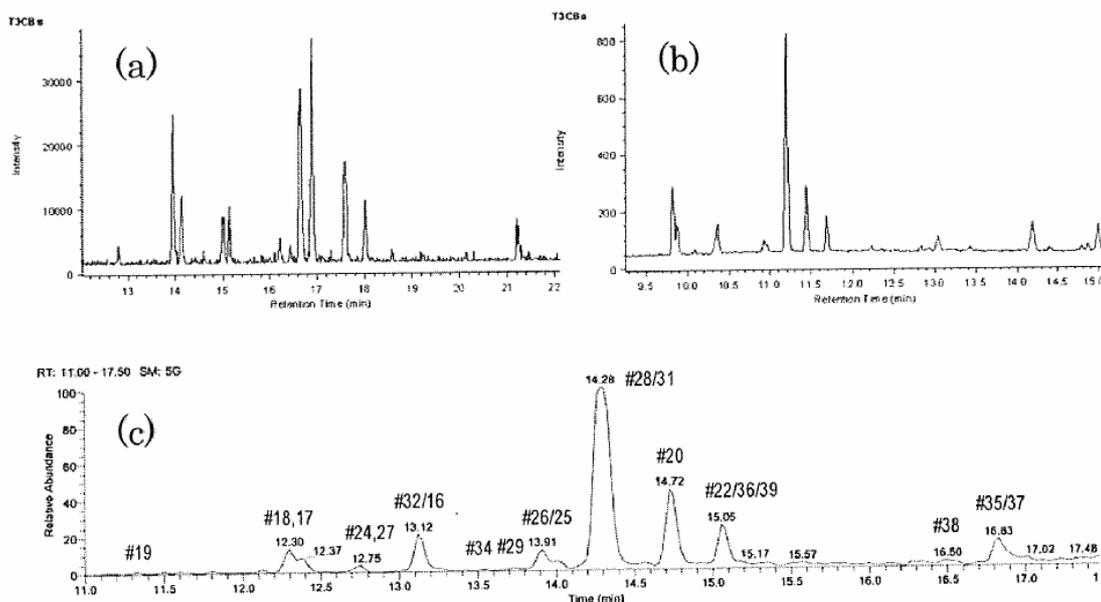


Fig.4 Results of PCB measurement by instrumental analysis

(a) GC-HRMS (0.44 mg/kg, 0.005 mg/kg) ※, (b) GC-LRMS (0.45 mg/kg, 0.05 mg/kg) ※, (c) GC-MS/MS (0.44 mg/kg, 0.01 mg/kg) ※, ※(Measured value of PCBs, Lower detection limit)

2.4 生物検定法への適用

2.4.1 精製効率

PCB 不含絶縁油 7 種類を「固相精製-溶媒転溶法」と「固相精製-固相転溶法」で前処理した。更に、精製不足の例として「常温の多層カラム(JISK0311 参照)」で絶縁油を直接処理した。結果を Fig.5 に示す。精製効率は試薬 DMSO 蛍光強度との相対値で評価し、相対値 1.0 が精製効率 100%を示す。常温の多層カラムでは精製不足と油種のばらつきを確認した。「固相精製-固相転溶法」の精製効率は溶媒転溶法と同等で 90%以上を示し、油種によらず十分な精製能力を示した。

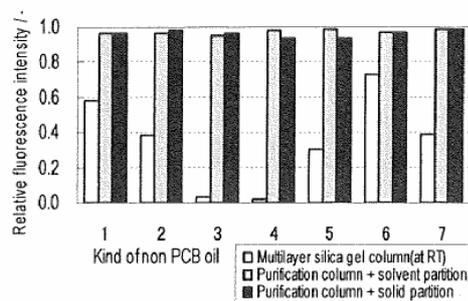


Fig.5 Purity evaluation about 7oils

2.4.2 用量応答曲線

新油(JIS 1 種 2 号松村石油製:以降同じ)を用いて KC-MIX(GL 社)が 0.040~10mg/kg になるように調整したものを、「固相精製-溶媒転溶法」と「固相精製-固相転溶法」で前処理して測定した。結果を Fig.6 に示す。本結果より、「固相精製-固相転溶法」は溶媒転溶法と同様の用量応答曲線を描き、PCB 定量性に優れることが分かった。定量下限値は 0.10mg/kg 程度であり、PCB スクリーニング法として十分な性能を示した。

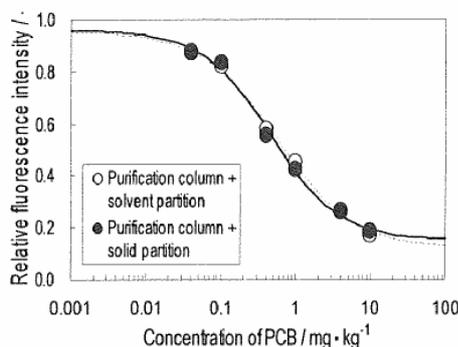


Fig.6 Dose-response curve

2.4.3 添加回収率

新油を「固相精製のみ」、「固相精製-溶媒転溶法」及び「固相精製-固相転溶法」にて前処理後、KC-MIX を添加して 0.50mg/kg に調整して測定した。結果を Fig.7 に示す。回収率は検量線での 0.50mg/kg の蛍光強度を参照して算出した。固相精製のみでは妨害成分残存のため回収率が低下した。「固相精製-固相転溶法」は溶媒転溶法と同等で回収率が高く、妨害成分を排除できている。本法により絶縁油中 PCB の測定系を確立することができた。

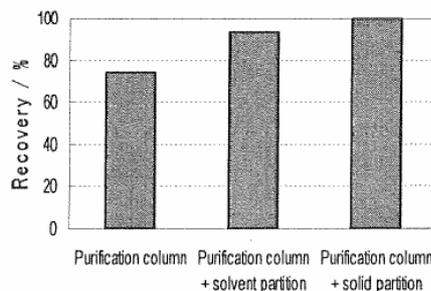


Fig.7 Recovery test of PCB oil

3. まとめ

絶縁油中のパラフィンや妨害物質の除去を目的として、より迅速で簡便な高性能アルミナを用いた「固相精製-固相転溶法」を開発した。GC-MS, GC-ECD 等の機器分析及びイムノアッセイ等の生物検定に適用可能であり、本法を絶縁油中 PCB の定量法としての分析機器やスクリーニング法としての生物検定に適用可能であることは、導入が容易かつランニングコストが低いため有用であると考えている。

【参考文献】

- 1) (財)産業廃棄物処理事業振興財団編『誰でもわかる!!日本の産業廃棄物 平成 17 年度版』
- 2) 宮脇ら:第 14 回環境化学討論会要旨集,p364(2005)
- 3) 宮脇ら:第 15 回環境化学討論会要旨集,p28(2006)

無細胞タンパク質合成系を活用した牛妊娠認識物質の合成等に関する研究

愛媛大学無細胞生命科学工学研究センター教授 戸 澤 讓
愛媛県畜産試験場経営室 木 下 政 健

【研究の目的】

ウシ胚の栄養膜細胞から産生されるタンパク質性因子インターフェロン τ (タウ) (bIFN- τ) は、PGF2 α の産生を抑制し、黄体の退行を阻止する物質 (妊娠認識物質) として作用することが知られている。さらに、栄養膜細胞の細切によって作成される栄養膜小胞と胚を共移植することにより、bIFN- τ が補強され、受胎率が向上することが報告されている。しかしながら、栄養膜小胞を用いた bIFN- τ 補強技術は、細切後の栄養膜小胞作成効率及び凍結保存技術等に問題があるため、畜産生産現場への普及には至っていない。そこで、我々は、無細胞タンパク質合成系を活用し、畜産生産現場への普及性の高い bIFN- τ 補強技術の開発に取り組むこととなった。本課題では、愛媛県畜産試験場との共同研究として、これまでに遺伝子の単離からタンパク質の合成および精製行程の確立に成功しており、今年度は精製 bIFN- τ タンパクの抗ウイルス活性などを明らかにした。

【方法および結果】

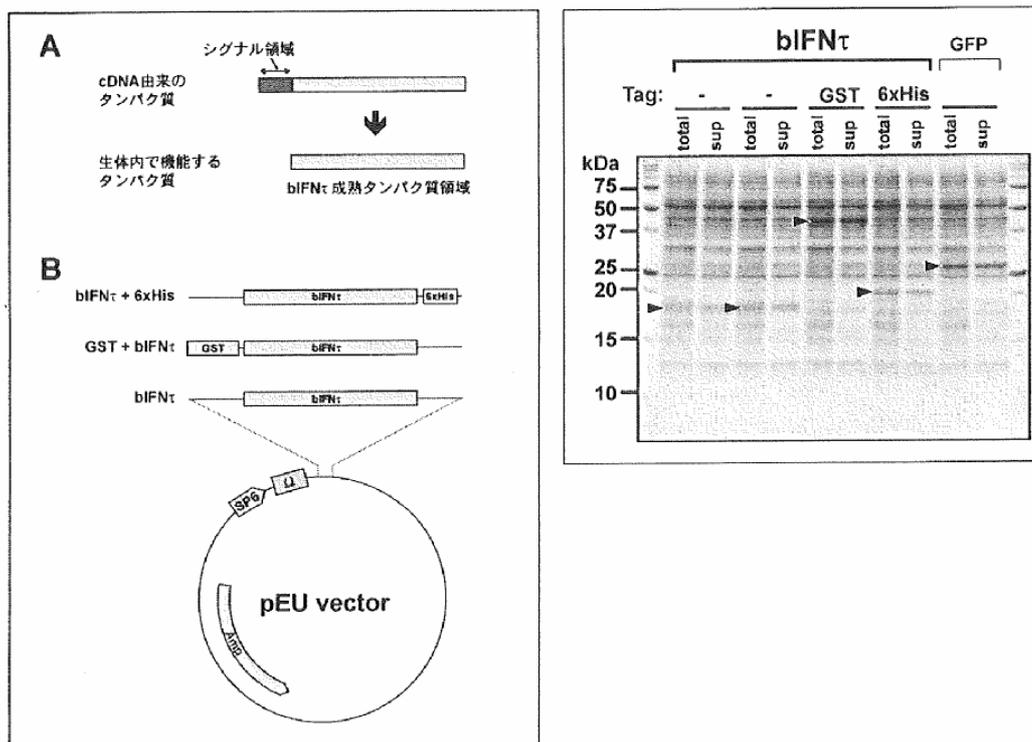
1. インターフェロン τ (bIFN- τ) 遺伝子の単離

ウシ生体より調製した胚より mRNA を抽出し、文献情報に基づきインターフェロン τ (bIFN- τ) タンパク質をコードする cDNA のクローニングを行なった。DNA シーケンス決定作業により得られた遺伝子は目的とするタンパク質をコードする塩基配列を有する事を確認した。

2. タンパク質合成試験

単離することに成功した bIFN- τ 遺伝子がコードするタンパク質性因子インターフェロン τ (bIFN- τ) を、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系により合成し、精製タンパク質を用いた生物活性検定を行なった。まず無細胞系に専用のプラスミドベクターへの cDNA のクローニングを行なった。bIFN- τ は分泌性タンパク質でありアミノ末端に小胞体移行に必要なシグナル配列と呼ばれる領域

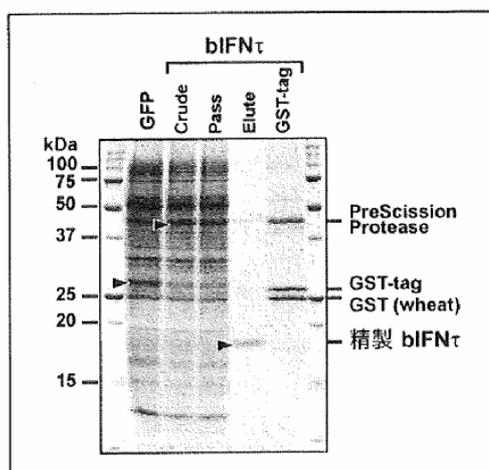
を含む形で前駆体合成されるため、得られた cDNA 全長をそのまま利用すると余計なタンパク質領域まで含むことになってしまう (右図 A)。そのため、生体内で最終的に除去される「シグナル配列領域」を除いた部分 (成熟型タンパク質) を最終的に精製する必要がある。このような理由のため、成熟型タンパク質をプロテアーゼ認識ペプチドをはさんでグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) を付加した融合タンパク質として合成する系の構築を進めた (下左図 B)。タンパク質合成は下右図に示す様に良好な結果を示したため、次に精製の行程を確立した。



3. タンパク質精製行程の確立

合成したタンパク質はコムギ胚芽抽出液を含むため、効率的に精製する必要がある。まず、融合タンパク質の GST 領域が特異的にグルタチオンに結合する性質を利用し、市販のグルタチオンカラムにより合成タンパク質の精製を行なった。効率的な精製を確認した後に、合成タンパク質をカラム担体に結合させた状態でプレジジョンプロテアーゼを用いて GST と成熟型タンパク質の間に入れたプロテアーゼ認識部位で目的とする成熟型タンパク質を切り離す作業を行なった。これらの行程により、成熟型 bIFN- γ タンパク質の精製に成功した (下

図)。



4. 精製 bIFN- τ タンパク質の機能検証

まず、インターフェロンに共通する機能の確認を行なうため、抗ウイルス活性の検証を行なった。この実験は特別な培養細胞を用いるため、外注により実施し、精製 bIFN- τ が文献値と同等な抗ウイルス活性を有することを確認した。この結果は、本課題において合成・精製した bIFN- τ タンパク質が生体より抽出するタンパク質と同等な機能を有する質の高いサンプルであることを示すものである。

5. 精製 bIFN- τ タンパク質を利用した受精試験

共同研究機関にて作出した体外受精後 5 日目 (媒精日=0) の桑実期胚を供試胚として用い、発生培養液 (20%FBS 加 TCM-199+100 μ M β -ME、気相:5%CO₂、95%air) に精製した bIFN τ タンパク質を 0、10、100、200 ng/ml の各濃度で添加する試験区を設け、9 日目までの胚盤胞期胚発生率を調査した。その結果、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系由来 bIFN τ を発生培養液中に 200ng/ml 添加することにより、胚盤胞発生率が向上する傾向が認められた。

【問題点および次年度の計画】

(1) 現状における精製方法では、最終産物に目的タンパク質以外の物質が微量に含まれていることから、精製度をさらに上げるために分子量によるタンパ

ク質の分画法を行程に加えるなどの条件検討が必要である。

(2) コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系は、極めて質の高い機能タンパク質の調製を可能にする系である。その反面、コストを考慮すると大量合成には不向きであり、生体投与試験に必要な量(1~2mg/頭)を常時確保するために本系を利用することは経済的にはメリットが無い。よって、本研究により確立した合成システムで作成した bIFN τ の有効活用法については、体外受精胚の成長因子としての活用法を中心に検討する実験を推進する計画である。

愛媛大学社会連携推進機構研究成果報告書第1号

発 行 2008年3月

発行者 愛媛大学社会連携推進機構

〒790-8577 松山市文京町3番

TEL (089)927-8819

FAX (089)927-8820

印 刷 セキ株式会社