

アカデミックチャレンジ(AC) 2025年度 研究成果報告書

はじめに

国立大学法人九州大学
ロバート・ファン / アントレプレナーシップ・センター (QREC)
准教授 金子 晃介

本報告書は、九州大学ロバート・ファン／アントレプレナーシップ・センター (QREC) が実施する「アカデミックチャレンジ」における学生たちの挑戦の記録をまとめたものです。

アカデミックチャレンジは、2008年から継続して実施されている研究者を目指す学生のための研究助成プログラムです。アカデミックチャレンジの目的は、学生が研究プロジェクトのマネジメントを実践し、その実践を通して、研究プロジェクトの管理及び遂行に関わる様々なスキルを習得することにあります。本プログラムで得られた経験を基盤として、九州大学の若手研究者研究助成や外部資金の獲得へと挑戦し、研究活動の一層の発展を促すことを目指しています。また、その積み重ねが、産業実用化につながる研究成果の創出へと発展していくことを期待しています。

本プログラムを通じて学生たちの挑戦を支えてくださった関係者の皆様に、心より感謝申し上げます。そして、本報告書が、基礎研究からの産業応用を考えるきっかけとなり、研究者を目指す学生達の次なる挑戦を生み出す一助となれば幸いです。

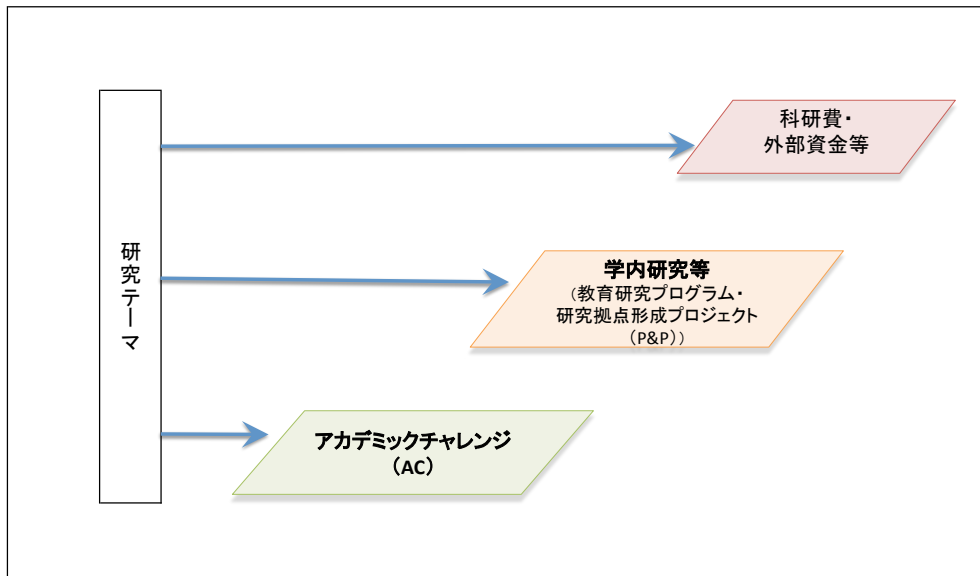
当報告書は、アカデミックチャレンジに参加した学生による研究成果報告書です。

アカデミックチャレンジ(AC)

九州大学院生を対象に研究助成し、学生がこの一連の実践を通じて「研究マネジメント」を習得することを狙っています。

アカデミックチャレンジは、下図のような段階を想定しています。

(アントレプレナーシップをもってアカデミック系統へ)



アカデミックチャレンジ（AC）

❖ 2025 年度 研究成果報告書 ❖

目次

はじめに.....	2
ロバート・ファン / アントレプレナーシップ・センター 准教授 金子 晃介	
アカデミックチャレンジの説明.....	3
アカデミックチャレンジ 2025 公募ポスター	
・水素結合ネットワークを活用した多孔質有機結晶の革新的分離・センシング技術.....	7
工学府 応用化学専攻 山本 雄世	
・複数近接覚センサを用いた形状柔軟多指ロボットハンドの状態推定.....	11
工学府 機械工学専攻 森田 雅人	
・マクロファージ貪食活性化を基盤としたがん治療へのドラッグ・リポジショニングと 基盤/臨床/育薬融合研究.....	17
薬学府 創薬科学専攻 鶴崎 文彬	
・ヒト型自己反応性B細胞の病原性解明と標的治療法開発に向けた新規マウスモデルの創出 ...	24
医学系学府 医科学専攻 伊藤 鈴華	
・Ti6Al4V 製歯科矯正用アンカースクリューの炭酸アパタイトコーティングによる 矯正治療の効率化.....	29
歯学府 歯学専攻 竹花 紗矢	
・Evaluating the Effects of Aromatherapy on Executive Functions: An EEG Study.....	35
システム生命科学府 システム生命科学専攻 Chi T. Q. Tran	
・人工チャネル複合合成二分子膜開発による高透過性・選択性・安定性気体分離膜の創製.....	51
工学府 応用化学専攻 竹綱 公祐	

巻末：チェンジ&クリエイション 2026 公募ポスター

その研究が、
未来を変える

2024年度

採択 **7** 件

採択テーマ例

『精神疾患の病態理解を目的とした、
遠隔記憶の想起基盤の解明』

『C3植物にCAM光合成を導入した
ストレス耐性作物の作成』



S.I.P

ACADEMIC CHALLENGE

アカデミックチャレンジ 2025

あなたの学術研究が実用化への第一歩になるチャンス!

採択されれば **金銭面の支援** **QREC施設(BasEや工房)の利用** **専攻の異なる学生と交流の機会**
を得られます。将来のイノベーションにつながる研究に向き合しましょう。

助成金額 1件につき上限 **500,000円**

応募資格 九州大学の大学院生で、30歳未満の方。※その他条件はHPを確認ください。

募集テーマ 自らの専攻に関する学術的な研究。(修士論文・博士論文等に関するテーマであっても可)

応募締切 2025年5月7日(水) 17:00

※九州大学の会計規則に沿って支給されます。現金で一括支給するわけではありません。



九州大学
KYUSHU UNIVERSITY



九州大学ロバート・ファン/アントレプレナーシップ・センター

伊都キャンパス センター5号館7階 TEL: 092-802-6060 E-mail: challengeinfo@qrec.kyushu-u.ac.jp



詳しくはこちら

Your research will change the future.

S.I.P

ACADEMIC CHALLENGE

2025

School year 2024

7 Adopted projects

Examples of adopted themes

[Elucidation of the basis of remote memory recall for understanding the pathophysiology of psychiatric disorders]

[Creation of abiotic stress tolerant crops by introducing CAM photosynthesis in C3 plants]



A chance for your academic research to become the first step towards practical application!

If selected, you will receive **financial support** **access to QREC facilities (BasE and workshops)** and **opportunities to interact with students from different majors**

Let's face the research that will lead to future innovations.

Amount of grants Up to **500,000** yen per case

Eligibility Graduate students of Kyushu University under 30 years old. *Please check our website for other conditions.

Themes of call for applications Academic research related to the application's own field of study. Themes can be related to the applicant's master's thesis or doctoral thesis.

Deadline for applications Wednesday, May 7, 2025, by 5:00 p.m.

*The funds will be granted in line with the Kyushu University accounting regulations. It is not a lump sum payment in cash.



Robert T. Huang Entrepreneurship Center of Kyushu University

Ito Campus, Center Zone 5 7F Japan Phone: +81-92-802-6060 E-mail: challengeinfo@qrec.kyushu-u.ac.jp



Visit our website for details

水素結合ネットワークを活用した多孔質有機結晶の
革新的分離・センシング技術

工学府 応用化学専攻

山本 雄世

水素結合ネットワークを活用した多孔質有機結晶 の革新的分離・センシング技術

山本雄世

九州大学大学院 工学府 応用化学専攻 博士1年

水素結合有機構造体 (HOFs) は結晶性・多孔性・柔軟性を兼ね備えた有機結晶材料である。本研究では芳香族イミド骨格と HOFs を融合した機能性共結晶材料の創製を行なった。使用した芳香族ゲスト分子の違いにより、発光波長、発光メカニズムの違いを見出し、発光特性の制御を達成した。

キーワード：水素結合有機構造体、芳香族イミド化合物、共結晶

1. はじめに

1.1 研究背景

多孔性結晶材料は、分子を取り込むためのナノ空間を有しており、分離、貯蔵、センシング、触媒、光機能材料などへの応用が期待されている。特に、分子間に生じる秩序ある細孔構造は、選択的な分子吸着や応答性の制御を可能にすることから、精密材料設計の観点からも注目されている。近年では、金属イオンと有機配位子から構成される金属有機構造体 (Metal Organic Frameworks: MOFs) や、共有結合を利用した共有結合性有機構造体 (Covalent Organic Frameworks: COFs) などが盛んに研究されてきたが、MOFs は重量や金属由来の安定性、COFs は合成の困難さや結晶性制御、構造同定の難しさといった課題を抱えており、デバイスへの応用展開や構造-物性相関といった学理の構築における制約が存在している。これに対し、水素結合を駆動力とする水素

結合有機構造体 (Hydrogen-bonded Organic Frameworks: HOFs) は、非共有結合性の自己組織化によって、比較的簡便な条件で結晶性・多孔性・柔軟性を兼ね備えた有機結晶材料の構築が可能である^[1]。構成要素を有機分子だけで設計可能な HOFs は、軽量かつ設計自由度が高く、持続可能な有機材料開発を可能としている。しかし、耐久性や設計性には課題があり、HOFs を用いた機能性材料の開発は MOFs や COFs に比べると立ち遅れており、未開拓な領域となっている。

1.2 研究の目的

n 型半導体として知られる芳香族イミド骨格は優れた①電子受容性、②剛直性、③三重項生成能を示す。本研究では、これらの性質を最大限に活用した機能性有機結晶 (紫外～近赤外発光・室温燐光発光・高導電性結晶・分子認識) の開発と分離・センシング材料への応用を目的とする。そこで水素結合を駆動力とする

HOFs に着目した。HOFs は先述したように結晶性、多孔性、柔軟性を有する構造体で、既存の多孔性材料とは一線を画する機能性材料として応用が期待されるが、詳細な機能性探求に関しては未開拓な領域となっている。よって本研究では、優れた機能性を持つ芳香族イミド骨格と HOFs を融合した機能性材料の創製を挑戦する (図 1)。具体的には芳香族イミド骨格の側鎖に水素結合サイトを導入した誘導体を合成し、水素結合と π スタックを介した HOFs の創製を行う。そこに機能性分子 (芳香族分子、有機小分子) をゲストとして導入し、共結晶の創製を進める。異なるゲスト分子との共結晶化により、発光特性制御、伝導性制御、分子認識能の付与といった物性発現が見込まれる。得られた共結晶を用いて、分離・センシング能を持つ革新的機能を有する結晶材料の開発に挑戦する。

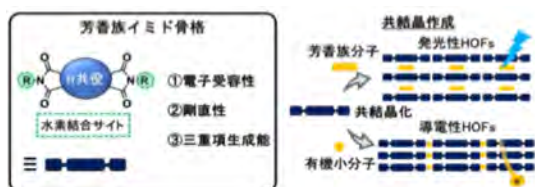


図 1 研究概要

2. 研究方法

2.1 HOFs の合成

ナフタレン酸無水物に対して、水素結合サイトを有する種々のアミンをマイクロ波照射条件下で加熱攪拌することにより、目的のナフタレンジイミド誘導体 (2) の合成を行なった。

2.1 共結晶作成

水素結合と π スタックを介した結晶化を

行い、HOFs の創製を行った。HOFs が作る構造体内部にゲスト分子を導入し、自己集合によって共結晶を作成した (図 2)。ゲスト分子としては、芳香族分子を用いた。作成した結晶においては、芳香族イミド骨格とゲスト分子の電荷移動 (CT) 相互作用によって固体発光が生じる。また、重原子を含む芳香族分子 (e、f) を使用した場合には、外部重原子効果により芳香族イミド骨格の励起一重項-励起三重項状態間の項間交差の促進し、燐光発光を生じることを予想した。

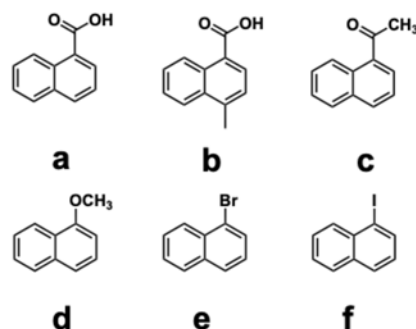


図 2 使用した芳香族ゲスト分子

3. 研究結果

3.1 HOFs の合成と共結晶の作成

マイクロ波照射下での加熱攪拌により合成したナフタレンジイミド誘導体は、 $^1\text{H-NMR}$ 、単結晶構造解析により同定を行なった。共結晶に関しては、合成した誘導体と芳香族ゲスト分子を固相反応、加熱再結晶を用いることで、ゲスト分子を包接した共結晶 (2-a, 2-b, 2-c, 2-d, 2-e, 2-f) の作成を行なった。共結晶を用いて、 $^1\text{H-NMR}$ 測定からホスト-ゲスト比を算出した。それぞれのホスト-ゲスト比 2-a は 1:2、2-b は 1:1、2-c は 1:1.5、2-d は 1:5.8、2-e は 1:1.1、2-f は 1:1.2 となった。また、

単結晶構造解析から、ゲスト分子が包接されているのが明らかになり、ゲスト分子が導入された結晶性粉末の調整に成功した。

3.2 光学特性評価

調整した共結晶に対して、光学特性評価を行なった。375nm の励起光照射下での発光スペクトルの結果から、**2-a** は 496 nm に極大発光波長を示した。また、**2-b** は 489 nm、**2-c** は 496 nm、**2-d** は 573 nm にそれぞれ極大発光波長を示した。さらに、発光寿命解析の結果から、**2-a** が 20 ns、**2-b** は 25 ns、**2-c** は 3 ns、**2-d** は 12 ns を示した。これらの結果より、共結晶の発光は蛍光発光であることが明らかになった。また、**2-d** において、発光波長が顕著にレッドシフトすることがわかった。これは、ゲスト分子のドナー性が向上するにつれて、より強力な CT 相互作用をし、発光波長がレッドシフトしたと示唆される。また、ゲスト分子として重原子を含む芳香族分子を使用した共結晶では、375nm の励起光照射下での発光スペクトルの結果、**2-e** は 492 nm、**2-f** は 636 nm にそれぞれ極大発光波長を示した (図 3)。また、発光寿命解析の結果、**2-e** が 0.5 ns、**2-f** は 0.1 ms を示した。この結果から、**2-e** では蛍光発光、**2-f** では燐光発光を示すことがわかった。芳香族分子の違いによって、発光波長、発光メカニズムが異なる理由は、ゲスト分子による外部重原子効果に

参考文献

- [1] J. Li, *et al.*, *Chem. Sci.*, **2024**, *15*, 9874.
- [2] M. A. Kobaisi, *et al.*, *Chem. Rev.*, **2016**, *116*, 11685.

よるものである。**Br**、**I** の順で重原子効果が大きくなり、励起一重項から励起三重項への項間交差を促進する。共結晶中に **Br** がある場合は重原子効果が小さいため、蛍光発光が示され、**I** では、大きな重原子効果より燐光発光が生じたのだと考察される。

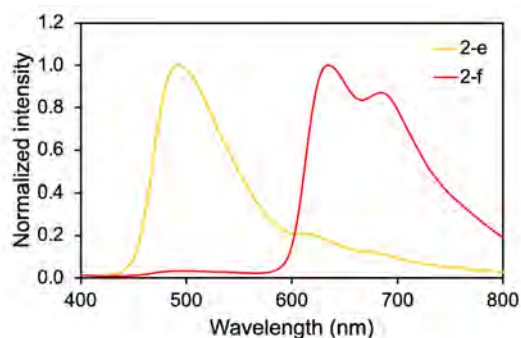


図 3 発光スペクトル

4. 今後の展望

水素結合サイトを有する芳香族イミド化合物を用いて、様々なゲスト分子との共結晶の作成を行った。ゲスト分子の違いにより発光波長、発光メカニズムの違いが生じることがわかった。このような HOFs による発光特性制御が可能であることがわかった。今後は、得られた共結晶を用いて、分離・センシング能を持つ革新的機能を有する材料の創製に挑戦する。

複数近接覚センサを用いた
形状柔軟多指ロボットハンドの状態推定

工学府 機械工学専攻

森田 雅人

複数近接覚センサを用いた 形状柔軟多指ロボットハンドの状態推定

森田 雅人

九州大学大学院 工学府 機械工学専攻 修士2年

本研究では、近接覚センサを用いた SLAM により連続体ロボット指の状態推定を行う手法を提案する。曲率一定モデルから導出した仮想関節角度をエンコーダ計測値の代替として用いることで、連続体ロボットへの適用を実現する。加えて、三次元形状の掌の利用と忘却機構により、特徴量の乏しい動的把持環境に対応する。

キーワード：連続体ロボット、近接覚センサ、SLAM

1. 緒言

インハンドマニピュレーションとは、アームの移動に依存せずに複数の指を協調させて把持物体の位置・姿勢を調整する技術であり、セル生産、精密作業、工具の使用など様々な応用において重要な技術である[1][2]。インハンドマニピュレーションの有効性は、手の内部空間において物体の位置・姿勢をどれだけ自由に調整できるかに大きく依存する。しかし、従来の剛体リンク指ではリンク同士の干渉などの物理的制約により可動範囲が制限されるため、広範な物体操作を実現することは依然として課題である。この制約を克服するため、著者らは連続体ロボット[3]に着想を得たロボット指を提案し[4]、優れた伸縮・屈曲能力によってより広い把持範囲を実現できることを示した。

インハンドマニピュレーションを実現

するためには、各指と把持物体との相対姿勢を正確に把握することが重要である。従来の剛体リンクロボットでは、各関節にエンコーダを取り付けて関節角度を計測することで、運動学モデルに基づく状態推定が可能である。しかし、連続体ロボットは明確に定義された関節を持たないため、同様の手法は適用できない。連続体ロボットの運動学には曲率一定モデル[5]が広く用いられているが、外部接触力によって生じる変形はこのモデルを破綻させる[6]。また、内界センサ[7][8][9]はロボット自身の形状のみを計測するものであり、環境や把持物体に対する相対姿勢を直接推定することはできない。指先が物体に接触する姿勢が未知であれば、接触計画や力制御が失敗し、滑りや過大な力の印加を招く。したがって、ロボットの姿勢と環境情報を同時に取得可能な外界センサを用いたセンシング手法が求

められる。しかし、外界センサとして広く用いられる視覚センサは、手の内部の狭隘な空間では指や把持物体による遮蔽や視野角の制約により、得られる情報が大きく制限される。

接触を伴うタスクにおいて、近接覚センサは環境との距離情報を直接取得可能な有効な外界センサである[10]。視覚センサが対象物に近づきすぎると視野が遮蔽されるのに対し、近接覚センサは接触直前を含む至近距離においても計測が可能である。また、小型かつ軽量であるためロボットの全身に分散配置することができ、構造全体を取り囲む環境情報を取得できる。しかし、個々のセンサ出力のみに着目した既存研究では局所的な環境形状の計測にとどまり、環境や把持物体に対するロボット全体の姿勢を直接推定することはできない。

SLAM(Simultaneous Localization and Mapping)は、LiDARなどの外界センサを用いてロボットの自己位置と環境地図を同時に推定する手法であり、広く研究されてきた[11]。Iwaoらは全身に分散配置された近接覚センサをSLAMに統合する手法を提案しており[12]、エンコーダに基づく運動学モデルとToF型近接覚センサを融合することで、根元から構造全体にわたって蓄積するバイアスを補正可能な状態推定を実現している。しかし、この手法はエンコーダによる関節角度計測を前提としており、明確な関節を持たない連続体ロボットには直接適用できない。さらに、インハンドマニピュレーションへの適用には以下の三つの課題がある。第一に、把持空間では観測可能な対象が把

持物体と指自体に限られるため、環境特徴が乏しい。第二に、把持環境は動的であり、操作中に把持物体や対向指が移動することで、蓄積された過去の点群と現在の環境状態との間に不整合が生じる。第三に、複数の指を用いる場合、各指から得られる情報の統合と整合性の確保が課題となる。

そこで本研究では、Iwaoらの近接覚SLAMを連続体ロボットへ拡張するとともに、上記の課題に対処するため以下の四つの拡張を行う。第一に、曲率一定モデルから導出した仮想関節角度をエンコーダ計測の代替として導入し、連続体構造への適用を実現する。第二に、ユーザーが設計可能な掌を持続的なランドマークとして配置し、その点群をSLAM地図に事前登録することで、環境特徴が乏しい状況においても安定した参照構造を確保する。第三に、忘却機構を導入し、事前登録した掌形状による幾何学的拘束と古い観測の除去を組み合わせることで、動的な把持環境においても頑健な状態推定を維持する。第四に、各指に対して独立した推定プロセスを実行し統合することで、複数指の状態を同時に推定する枠組みへと拡張する。

2. 提案手法

2.1 SLAMに基づく状態推定と連続体指への適用

Iwaoらの手法[12]はFAST-LIO2[13]をベースとし、多関節構造に沿って情報を時間方向・空間方向の両方に伝播させることで状態推定を行う。第 i リンクのステップ k における状態は、隣接する根本側リンクの状態とエンコーダ計測値 $\theta_{i,k}$ か

ら次式のように再帰的に算出される。

$$\mathbf{p}_{i,k} = \mathbf{p}_{i-1,k} + \mathbf{R}_{i-1,k}^{i-1} \mathbf{p}_i \quad (1)$$

$$\mathbf{R}_{i,k} = \mathbf{R}_{i-1,k} \text{Exp} \left\{ \theta_{i,k} - b_{i,k-1} \frac{\theta_{i,k}}{\|\theta_{i,k}\|} \right\} \quad (2)$$

ここで \mathbf{p} と \mathbf{R} はそれぞれ位置と回転行列、 $b_{i,k}$ はランダムウォークとしてモデル化されたエンコーダのバイアスである。誤差状態反復カルマンフィルタ[13]が近接覚センサの観測値と運動学モデルを融合する。

連続体ロボットはエンコーダで関節角度を計測できないため、曲率一定モデル[6]を用いて仮想関節角度を導出する(図1)。連続体ロボットでは、腱の変位や空気圧などのアクチュエータの入力から曲率 κ が得られる。構造を仮想リンクに離散化し、関節角度を $\theta_i = \arcsin(\kappa \|\mathbf{p}_{i+1} - \mathbf{p}_i\| / 2)$ として計算することで、近接覚センサの観測値と連続体の運動学を融合した状態推定が可能となる。

2.2 掌の形状による幾何学的特徴の提供

把持空間では観測可能な環境が把持物体と指に限られるため、環境の特徴が乏しい。これに対処するため、安定した参照構造として掌の幾何形状を設計する。観測モデルは局所的な平面フィッティングを用いるため、三次元形状は多様な法線方向を提供して幾何学的拘束を強化する一方、平面状の掌では縮退に似た曖昧さが生じる。そこで複合波状の掌を設計し、事前構築した点群として初期地図に統合する。

2.3 忘却機構と複数指の同時推定

把持環境は動的であり、操作中に把持物体や対向指が移動すると、蓄積された過去の点群と現在の環境状態との間に不

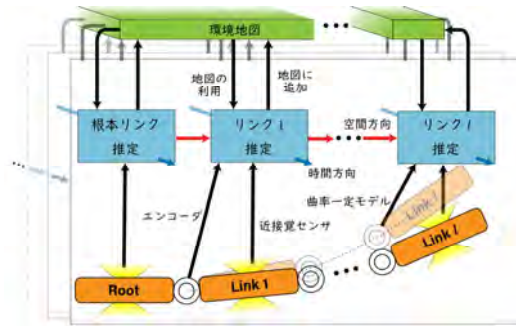


図1 Iwao らの手法[13]を連続体ロボット指に適用した場合の提案手法の概要

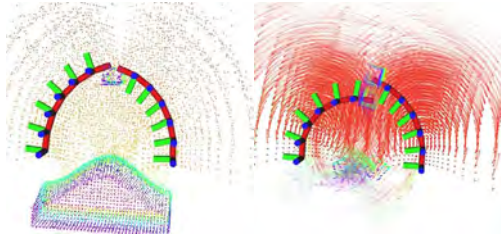
整合が生じる。この問題に対処するため、蓄積された点群に有効期間 T_{validity} を設定し、古い観測を自動的に削除する忘却機構を導入する。事前登録した掌形状による幾何学的拘束と忘却を組み合わせることで、動的な把持環境においても頑健な状態推定と高品質な地図を維持する。複数指の推定は、各指に対して独立した推定プロセスを実行することで実現する。

3. シミュレーション

Gazebo 上の連続体指を多関節構造体と離散化したモデルを用いてシミュレーションを実施する(図2)。連続体指は5リンク(各0.04 m)でモデル化され、各リンクにVL53L5CX[14]をモデルとした近接覚センサを8個配置する。各センサは64点の距離計測値を取得し、1リンクあたり合計512点、計測範囲は0.05~1.0 mである。距離計測ノイズは分散 σ^2 が $2.7\sigma = \alpha r$ (r : 計測距離, $\alpha = 0.01$: ノイズレベル)を満たすホワイトノイズでモデル化される。関節角度計測には0.05 radのバイアスを付加する。2本の指を0.4 m間隔で対向させ、その間に直方体(0.05 m × 0.05 m × 0.20 m)を配置し、曲率一定モデルを満たす正弦波軌道をロボットの指令値として与える。



(a) ロボットハンド



(b) 提案手法 (c) 曲率一定モデルのみ

図2 複合波状の掌を用いたシミュレーション結果。(a) ロボットの実状の状態、(b) 初期地図あり・ $T_{\text{validity}} = 1.0$ s における提案手法による姿勢推定および環境地図構築の結果、(c) 曲率一定モデルのみによる推定結果。

表 1 に先端リンク位置の x, y, z 方向の二乗平均平方根誤差 (RMSE) のノルムを示す。曲率一定モデルのみのベースラインの RMSE は 0.026 m である。忘却なし ($T_{\text{validity}} = \infty$) かつ初期地図なしの条件で比較すると、複合波状の掌は平面状の掌 (0.053 m) より低誤差 (0.017 m) であり、三次元形状が推定精度向上に有効であることが確認される。有効期間を短く設定 ($T_{\text{validity}} = 1.0$ s) し初期地図なしの場合、複合波状の掌でも大きな誤差 (0.091 m) が生じる。これは忘却が過度に積極的となり、推定に必要な環境情報が失われるためである。一方で初期地図を用いることで、掌形状が安定した参照

参考文献

[1] M. Suomalainen, Y. Karayiannidis, and V. Kyrki, "A survey of robot manipulation in contact," *Robot. Auton. Syst.*, vol. 156, p. 104224, Oct. 2022.

表 1 先端リンク位置の RMSE の比較
(単位:メートル)

Palm shape	Condition	Total
—	Kinematics only	0.026
Composite wavy	$T_{\text{validity}} = 1.0$ s, with initial map	0.014
Composite wavy	$T_{\text{validity}} = 1.0$ s, without initial map	0.091
Composite wavy	$T_{\text{validity}} = \infty$, without initial map	0.017
Flat	$T_{\text{validity}} = \infty$, without initial map	0.053

として機能し、同じ設定で RMSE は 0.014 m に抑制される。これらの結果から、三次元の掌形状と初期地図の組み合わせが推定精度向上に有効であることが確認できる。また、最も RMSE の小さい条件 (初期地図あり・ $T_{\text{validity}} = 1.0$ s) における推定結果を図 2(b)に示す。提案手法では推定された指の姿勢が実際の状態 (図 2(a)) と整合しており、把持物体や掌の形状を反映した環境地図が構築されている。一方、曲率一定モデルのみの推定 (図 2(c)) では、バイアスの影響により推定姿勢が実際の状態から大きくずれていることが確認できる。

4. 結論

本研究では、曲率一定モデルから導出した運動学と分散配置した近接覚センサを融合し、設計した掌形状と対向指を環境特徴の乏しい把持空間における持続的なランドマークとして活用する、連続体指のための SLAM に基づく状態推定手法を提案した。シミュレーション結果から、三次元複合波状の掌が推定精度を大幅に向上させること、および忘却機構と初期地図の組み合わせが動的な把持環境における頑健な推定を可能にすることが確認された。今後の課題は、実機による検証および伸縮動作への拡張である。

- [2] S. Suresh, H. Qi, T. Wu, T. Fan, L. Pineda, M. Lambeta, J. Malik, M. Kalakrishnan, R. Calandra, M. Kaess, J. Ortiz, and M. Mukadam, "NeuralFeels with neural fields: Visuotactile perception for in-hand manipulation," *Sci. Robot.*, vol. 9, no. 96, Nov. 2024.
- [3] R. Matsuda, U. K. Mavinkurve, A. Kanada, K. Honda, Y. Nakashima, and M. Yamamoto, "A Woodpecker's Tongue-Inspired, Bendable and Extendable Robot Manipulator With Structural Stiffness," *IEEE Robot. Autom. Lett.*, vol. 7, no. 2, pp. 3334–3341, 2022.
- [4] M. Morita, H. Arita, A. Kanada, and K. Tahara, "Multi-fingered Robotic Hand with Shape Flexibility for Expanding the Feasible Range of In-hand Manipulation," in *Proc. IEEE/SICE Int. Symp. Syst. Integr. (SII)*, 2025, pp. 216–221.
- [5] R. J. Webster and B. A. Jones, "Design and Kinematic Modeling of Constant Curvature Continuum Robots: A Review," *Int. J. Robot. Res.*, vol. 29, no. 13, pp. 1661–1683, June 2010.
- [6] J. M. Ferguson, D. C. Rucker, and R. J. Webster, "Unified Shape and External Load State Estimation for Continuum Robots," *IEEE Trans. Robot.*, vol. 40, pp. 1813–1827, 2024.
- [7] P. Wang, Z. Xie, W. Xin, Z. Tang, X. Yang, M. Mohanakrishnan, S. Guo, and C. Laschi, "Sensing expectation enables simultaneous proprioception and contact detection in an intelligent soft continuum robot," *Nat. Commun.*, vol. 15, no. 1, Nov. 2024.
- [8] F. Stella, C. D. Santina, and J. Hughes, "Soft Robot Shape Estimation With IMUs Leveraging PCC Kinematics for Drift Filtering," *IEEE Robot. Autom. Lett.*, vol. 9, no. 2, pp. 1945–1952, Feb. 2024.
- [9] L. Hou, X. Zhao, T. Chen, Y. Zhang, Q. Ling, and B. Tao, "A Sensing Strategy Combining Kinematic Model With FBG Sensors for Continuum Robots," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 74, pp. 1–11, 2025.
- [10] S. E. Navarro, S. Muhlbacher-Karrer, H. Alagi, H. Zangl, K. Koyama, B. Hein, C. Duriez, and J. R. Smith, "Proximity Perception in Human-Centered Robotics: A Survey on Sensing Systems and Applications," *IEEE Trans. Robot.*, vol. 38, no. 3, pp. 1599–1620, June 2022.
- [11] X. Yue, Y. Zhang, J. Chen, J. Chen, X. Zhou, and M. He, "LiDAR-based SLAM for robotic mapping: state of the art and new frontiers," *Ind. Robot.*, vol. 51, no. 2, pp. 196–205, Jan. 2024.
- [12] K. Iwao, H. Arita, and K. Tahara, "State Estimation and Environment Recognition for Articulated Structures via Proximity Sensors Distributed Over the Whole Body," *IEEE Robot. Autom. Lett.*, vol. 10, no. 3, pp. 3030–3037, Mar. 2025.
- [13] W. Xu, Y. Cai, D. He, J. Lin, and F. Zhang, "FAST-LIO2: Fast Direct LiDAR-Inertial Odometry," *IEEE Trans. Robot.*, vol. 38, no. 4, pp. 2053–2073, Aug. 2022.
- [14] STMicroelectronics, "Time-of-flight (tof) 8x8 multizone ranging sensor with wide field of view," <https://www.st.com/en/imaging-and-photonics-solutions/v15315cx.html>. Accessed January 30, 2026.

マクロファージ貧食活性化を基盤とした
がん治療へのドラッグ・リポジショニングと
基礎/臨床/育薬融合研究

薬学府 創薬科学専攻

鶴崎 文彬

マクロファージの貪食活性化を基盤とした がん治療へのドラッグリポジショニングと 基礎/臨床/育薬融合研究

鶴崎文彬

九州大学大学院 薬学府 創薬科学専攻 博士後期課程 1年

がん免疫療法は悪性腫瘍に対する主要な治療法の一つとなった。本研究では、当研究室で明らかにした新規貪食制御分子 Gene#4 の阻害剤（既承認薬）に着目し、その抗腫瘍効果を検証した。その結果、Gene#4 阻害剤がマクロファージのがん細胞に対する貪食を亢進し、腫瘍増殖を抑制することが明らかとなった。本研究の結果は Gene#4 阻害剤の新たな抗がん治療への応用可能性を示し、がん免疫療法の新規戦略の基盤を提供するものである。

キーワード：がん免疫療法、マクロファージ、臨床研究

1. 序論

オプジーボ（2014年承認）やキムリア（2019年承認）等の販売を皮切りに、生体の免疫機能を標的としたがん免疫療法は本邦においても悪性腫瘍に対する主要な治療法の一つとなった。がん免疫療法として最も一般的なのは、免疫細胞の免疫チェックポイントを標的とした薬剤であり、免疫チェックポイント阻害剤は多くのがん種に適用が拡大されている。一方で、腫瘍変異負荷の低いがん種に対する効果は限定的であるため、既存の治療法に加えた新規治療法の開発が求められる。

腫瘍組織に浸潤する免疫細胞の中でもマクロファージはがん細胞を「貪食」と呼ばれる機能により取り込み、T細胞への抗

原提示を行うことからがん免疫の起点となる重要な役割を果たしている。そのため、マクロファージの機能を制御することはがん免疫療法の新たな標的として注目されている。

マクロファージの機能を制御する機構の一つとして概日時計機構が存在する。ヒトをはじめとする様々な哺乳動物の生理機能には約24時間を1周期とする概日リズムが認められる。マクロファージにおいても多くの遺伝子発現に概日リズムが認められ、またこのリズムを反映し、炎症性サイトカインの産生や貪食などの機能にも概日性の変動が形成されている。当研究室ではこれまでに、微弱な電気刺激（MCS）を概日時計機構に介入可能な手法として確立し¹、このMCSがマクロフ

アージのがん細胞に対する貪食能を高めることを発見した²。また、このメカニズムとして Gene#4 (仮称) を介した経路が関与することを明らかにした。

Gene#4 は阻害剤が既承認薬として実際の臨床現場で用いられている。しかしながら、Gene#4 ががん治療に有効であることを示す知見は極めて乏しいため、これまでにがん治療へ適用はなされていなかった。そこで、本研究では Gene#4 阻害剤をがん治療へ応用するドラッグリポジショニング研究を行うことを目的とした。

2. 方法

2.1 細胞培養

マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞、マウス肝臓がん細胞株 Hepa1-6、マウス卵巣がん細胞株 ID8 は 5% Fetal bovine serum (FBS)、0.5% penicillin-streptomycin を含む Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 中で 37°C、5% CO₂ / 95% 大気条件下で継代・培養し各実験に用いた。

マウス乳がん細胞株 4T1 細胞は 5% FBS、0.5% penicillin-streptomycin を含む Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI) 培地中で 37°C、5% CO₂ / 95% 大気条件下で継代・培養し各実験に用いた。

2.2 担癌モデルマウスの作製

4 週齢 BALB/c AnNCrI/CrIj 雌性マウスをジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社 (Kanagawa, Japan) から購入し、自由摂食・摂水、明暗周期 (明期: 7:00-19:00)、恒温 (24±1°C) 条件下で 1 週間飼育後、各実験に用いた。担癌モデルマウスの作

製には、 5.0×10^4 の 4T1 細胞を BALB/c 雌性マウスの背部皮下に移植した。各実験における実験動物の取り扱いについては九州大学動物実験規則に従った。

2.3 マクロファージ貪食能の測定

RAW264.7 細胞に Gene#4 阻害剤を曝露し、12 時間後に GFP を発現する各種がん細胞と 3 時間共培養した。細胞を回収し、フローサイトメーターを用いてポピュレーション解析を行った。その際、CD11b 陽性細胞かつ GFP 陽性細胞をがん細胞を貪食したマクロファージとした。

C57BL/6J マウスに GFP 発現 ID8 を腹腔内移植し、24 時間後に腹腔内細胞を回収した。F4/80 陽性、CD11b 陽性、Ly6G 陰性、GFP 陽性細胞をがん細胞を貪食したマクロファージとしてフローサイトメーターを用いてポピュレーション解析を行った。

2.4 患者データを用いた解析

解析対象薬剤は Gene#4 阻害剤およびその適応疾患の第一選択薬とした。基準日 (Day0) を乳がん診断以降において初めて薬剤が処方された日とし、除外基準を基準日から 180 日間の期間で解析対象薬剤が処方された患者、基準日において 18 歳未満の患者、基準日に解析対象の両方の薬剤が処方された患者とした。患者背景を Day0 以前の 180 日間から取得し、乳がんに関連する因子を Inverse Probability of Treatment Weighting (IPTW) により調整した。

3. 結果

3.1 Gene#4 がマクロファージの貪食能に及ぼす影響

Gene#4 がマクロファージの貪食能に及ぼす影響を解析するため、単球/マクロファージ特異的に Gene#4 を KO (ノックアウト) したマウスを作成した。このマウスにマウス卵巣がん細胞株 ID8 を腹腔内に移植し、その後がん細胞を貪食した腹腔マクロファージのポピュレーション解析を行った。その結果、KO マウスの腹腔マクロファージでは、コントロールマウスの腹腔マクロファージと比較して、がん細胞に対する貪食能が高値を示し、Gene#4 がマクロファージの貪食能を制御することが示唆された。

3.2 Gene#4 阻害剤がマクロファージの貪食能と抗腫瘍効果に及ぼす影響

次に、Gene#4 阻害剤がマクロファージの貪食能に及ぼす影響を解析した。マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 に Gene#4 阻害剤を曝露し、マウス乳がん細胞株 4T1、マウスメラノーマ細胞株 B16、マウス肝がん細胞株 Hepa1-6、ID8 と共培養することでがん細胞に対する貪食能を評価した。その結果、いずれのがん細胞においても Gene#4 阻害剤の曝露によりマクロファージの貪食能の上昇が認められた。そこで、Gene#4 阻害剤により最も貪食能の上昇が認められた 4T1 を背部皮下に移植した担がんモデルマウスを作成した。このマウスに Gene#4 阻害剤を投与し、腫瘍径の経時変化を測定したところ、Gene#4 阻害剤の投与により、腫瘍増殖の抑制が確認された。以上の結果から、Gene#4 阻害剤が抗腫瘍効果をもたらすことが示唆された。

3.3 患者データを用いた Gene#4 阻害剤のがん治療への有効性の検証

ここまでの検討から、基礎研究レベルにおいて、Gene#4 阻害剤ががん治療に有効であることが示唆された。次に、実際の患者データを用いて Gene#4 阻害剤の有効性を検証した。

本検討では患者背景を考慮した生存時間解析を実施し、解析対象薬剤は Gene#4 阻害剤とその適応疾患の第一選択薬とした。基準日を乳がん診断以降において初めて解析対象薬剤が処方された日とし、患者背景を基準日以前の 180 日間から取得した。アウトカムを全死亡とし、患者背景を逆確率重み付けにより調整したところ、Gene#4 阻害剤と第一選択薬との間には有意な差は認められなかった。

3.4 生体の概日リズムに基づいた Gene#4 阻害剤の育薬研究

当研究室ではこれまでに、生体の概日リズムに基づき、薬物の効果を最大化するために薬物の投与時刻を設計する時間薬理学研究を行ってきた。そこで、Gene#4 阻害剤の育薬的最適化に向けた検討として、まずマクロファージにおける Gene#4 発現の概日リズムの有無を評価した。マウスから腹腔マクロファージを 9:00、13:00、17:00、21:00、1:00、5:00 の 6 時点で採取し、Gene#4 の発現を測定した。その結果、Gene#4 の発現には 9:00 を最小、21:00 を最大とする概日リズムが認められた。

4. 考察

本研究では、実際の臨床現場で用いられる Gene#4 阻害剤をがん治療へドラッグリポジショニングすることを目標とした。そのための担癌モデルマウスを用いた基礎研究、患者データを用いた臨床研

究、生体の概日リズムに基づいた育薬研究を行った。

基礎研究では、Gene#4 阻害剤はマクロファージのがん細胞に対する貪食を亢進させ、4T1 細胞移植マウスの腫瘍増殖を抑制した。さらに、腫瘍組織においても Gene#4 阻害剤投与群では Vehicle 群と比較してマクロファージの 4T1 に対する貪食能が高値を示しており、Gene#4 阻害剤がマクロファージの貪食能を亢進させ、腫瘍増殖を抑制したことが考えられた。一方で、腫瘍微小環境にはマクロファージに加えて T 細胞や B 細胞など多様な免疫細胞が浸潤しており、腫瘍増殖に対して抑制的あるいは促進的に作用する。Gene#4 阻害剤がこれらマクロファージ以外の免疫細胞に及ぼす影響は未解明であり、本検討のみで抗腫瘍効果がマクロファージの貪食に起因すると断定することは困難である。今後は、本研究で作製したマクロファージ特異的 Gene#4 ノックアウトマウスに Gene#4 阻害剤を投与し、抗腫瘍効果への影響を解析することで、Gene#4 阻害剤の作用機序をより厳密に検証する必要がある。

本研究では、Gene#4 阻害剤およびその適応疾患における第一選択薬を対象として、実臨床に基づく患者データを用いた生存時間解析を実施した。年齢、性別、併存疾患などの臨床的に重要な共変量を調整した上で解析を行ったが、両群間において統計学的に有意な生存期間の差は認められなかった。Gene#4 阻害剤は比較的新しい薬剤であることから、解析に利用可能な症例数 (n 数) が限られていたことに加え、追跡期間が十分に確保できてい

なかった点が、生存時間解析における検出力低下の一因となった可能性が考えられる。また、共変量調整を行った後ろ向き解析であっても、実臨床データ特有の未測定交絡因子の影響を完全に排除することは困難であり、これらが結果に影響した可能性も否定できない。今後は、より大規模かつ長期の追跡が可能な別のデータセットを用いた解析を行うことで検出力の向上を図るとともに、解析手法のさらなる精緻化を通じて、Gene#4 阻害剤の有効性を多角的に検証していく必要がある。これにより、基礎研究で示された抗腫瘍効果との整合性を評価し、Gene#4 阻害剤の臨床応用可能性をより明確にしたいと考えている。

本研究では、育薬研究の一環として、生体の概日リズムに着目した解析を実施した。当研究室ではこれまでに、抗がん剤テガフルンにおいて、投与時刻に依存した腫瘍増殖抑制効果が認められ、その背景に薬物代謝酵素の発現リズムが関与することを明らかにしてきた³。これらの知見から、薬剤の標的分子の発現リズムを考慮した投薬設計が、治療効果の最適化につながると考えられた。そこで本研究では、Gene#4 阻害剤の育薬的最適化を目的として、マクロファージにおける Gene#4 の発現リズムを解析したところ、Gene#4 発現は 9:00 をトラフ、21:00 をピークとする概日リズムを示すことが明らかとなった。このことは、Gene#4 阻害剤の抗腫瘍効果が投与時刻によって変動する可能性を示す重要な知見である。一方、本研究で実施した基礎研究では Gene#4 阻害剤は 9:00 に投与されており、標的分子の発現

が最も低い時間帯での評価に留まっていた。今後は、Gene#4 発現が高値を示す 21:00 に阻害剤を投与することで、より高い標的阻害効率が得られ、抗腫瘍効果がさらに増強される可能性が期待される。

本研究の結論として、Gene#4 阻害剤はマクロファージの貪食能を介した抗腫瘍効果を有する可能性が示され、さらに投

与時刻を考慮した治療最適化により、その効果を増強できる可能性が示唆された。基礎・臨床・育薬の三側面から得られた本研究の知見は、Gene#4 阻害剤のがん治療への応用可能性を検討する上で重要な基盤を提供するものであり、今後の前臨床研究および実臨床への展開が期待される。

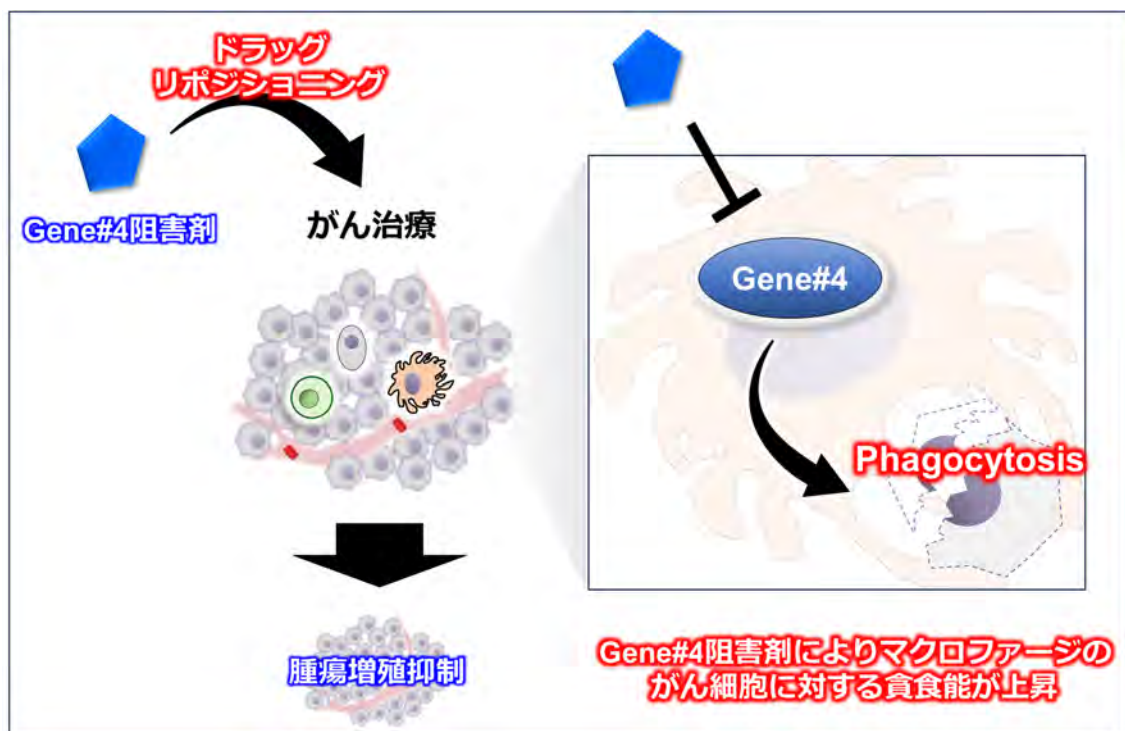


図:本研究の概要

5. 謝辞

本研究をご支援いただいた九州大学ロバート・ファン／アントレプレナーシップ・センターの皆様にご礼申し上げます。本研究の遂行にあたり、支援いただきました QREC 教員の方々や QREC 事務室の方々に厚く御礼申し上げます。

6. 参考文献

1. Matsunaga N et al., Microcurrent stimulation activates the circadian machinery in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2019
2. Yoshida Y et al., Targeting macrophage circadian rhythms with microcurrent stimulation to activate cancer immunity through phagocytic defense. *Theranostics.* 2025
3. Yoshida Y et al., Circadian rhythms in CYP2A5 expression underlie the time-dependent effect of tegafur on breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2024

ヒト型自己反応性 B 細胞の病原性解明と
標的治療法開発に向けた新規マウスモデルの創出

医学系学府 医科学専攻

伊藤 鈴華

ヒト型自己反応性 B 細胞の病原性解明と標的治療法開発に向けた新規マウスモデルの創出

伊藤 鈴華

九州大学大学院 医学系学府 医科学専攻 修士 2 年

ヒト体液性免疫系を模倣するマウスモデルは、ワクチンおよび抗体治療薬の開発を加速するために極めて重要である。我々は、内因性マウス免疫グロブリン遺伝子をノックアウトさせ、ヒト免疫グロブリン遺伝子を人工染色体として導入した完全ヒト抗体産生マウス（TC-mAb マウス）を利用して SLE 様疾患を誘導した。SLE を誘導した TC-mAb マウスはヒト SLE 患者で増えるとされる VH4-34 が増加していた。さらにここで検出された VH4-34 の自己反応性も認めた。

キーワード：B 細胞 BCR 自己免疫疾患

1. 研究背景と目的

抗体は本来、ウイルスや細菌といった外来抗原を認識・排除することで私たちの生体防御に重要な役割を果たしている。一方で、自己免疫疾患においては、自身の正常な組織を標的とする自己抗体が産生され、臓器障害や慢性炎症を引き起こす。その原因となる自己反応性 B 細胞は、通常は骨髄や末梢での免疫寛容機構により排除、無反応化、あるいは機能制限されている。しかし、何らかの機序でこの免疫寛容が破綻すると、自己反応性 B 細胞が活性化・分化し、自己抗体の産生に至る。したがって、自己免疫疾患の発症・進展機構の解明において、自己反応性 B 細胞の挙動やレパートリーの解析は極めて重要である。

近年、次世代シーケンシング技術の発展

により、B 細胞受容体 (BCR) レパトワの網羅的解析が可能となった。これにより、自己免疫疾患患者では健常者と比較して、BCR レパトワに特異的な偏りが存在することが報告されている。特に全身性エリテマトーデス (SLE) 患者では、重鎖可変領域に VH4-34 を有する B 細胞クローンの増加が一貫して観察されており、この VH4-34 は自己抗原への高い親和性を示すことから、自己反応性レパトワとして知られている (1)。さらに、VH4-34 陽性 B 細胞の一部は、抗 dsDNA 抗体など病原性自己抗体を産生することが報告されており、SLE の病態における役割が強く示唆されている (2)。しかし、ヒト自己免疫疾患患者の組織における B 細胞の動態を時系列で解析することは倫理的・技術的制約が大きく、自己反応性 B 細胞がどの

ように分化・活性化されるか、その詳細な機序は依然として不明な点が多い。マウスを用いた実験モデルはこの課題を解決する強力なツールとなるが、従来のマウスモデルでは BCR の種差や免疫環境の違いがあり、ヒト B 細胞の病態を正確に模倣できないという限界があった (3-9)。そこで本研究では、ヒト由来の完全な免疫グロブリン遺伝子座を導入することで、すべてのクラスのヒト抗体を産生可能な新規マウスモデル「完全ヒト抗体産生マウス (TC-mAb マウス)」を活用する (10)。このマウスを用いることで、ヒト型 BCR を持つ自己反応性 B 細胞の分化・活性化の過程を生体内で追跡可能となり、ヒト疾患により近いモデルを用いた研究が可能となる。本モデルは、自己免疫疾患研究において自己反応性 B 細胞の機能的意義を明らかにするための革新的かつ強力なツールである。

本研究では、ヒト BCR を恒常的に発現する新規マウスモデル (TC-mAb マウス) に SLE 様の自己免疫状態を誘導し、ヒト自己反応性 B 細胞、特に VH4-34 遺伝子を利用する B 細胞クローンの病原性と分化・活性化過程を詳細に解析する。

2. 方法

2.1 R848 誘導性 SLE モデル

R848 (TLR7) を耳介に繰り返し塗布することで、SLE 様病態を誘導した。R848 (SIGMA) を 10 $\mu\text{g/ml}$ になるよう DMSO で溶かし、それをアセトンで 10 倍希釈して週 3 回、右耳に 4~8 週間塗布した (11)。

2.2 ELISA

プレートには、10 $\mu\text{g/ml}$ の dsDNA

(Invitrogen)、0.1 $\mu\text{g/ml}$ の Sm/RNP (AROTEC) を PBS に溶解した溶液を添加し、4°C で一晩コーティングした。血清を希釈し、コーティングしたプレート上で 4°C で一晩インキュベートした。その後、プレートを anti-human IgG (SouthernBiotech) とともに 3 時間インキュベートした。吸光度 (OD450) はマイクロプレートリーダー (Varioskan LUX) で測定した。

3. 結果

3.1 SLE モデル誘導時の VH4-34 の挙動

ヒト SLE 患者では VH4-34 陽性 B 細胞が健常者に比べて有意に増加しており、特に非クラススイッチ B 細胞分画での増加が疾患の病勢と相関することが知られている (1)。そこで、TC-mAb マウスに SLE を誘導した際の VH4-34 陽性細胞の分布を検証した。R848 塗布後 4 週間の TC-mAb マウスで B 細胞サブセットごとに VH4-34 陽性率を評価したところ、記憶 B 細胞分画における VH4-34 陽性細胞の割合が有意に増加しており、これらの VH4-34 陽性記憶 B 細胞は IgM 陽性 IgG 陰性の非クラススイッチ B 細胞であった。

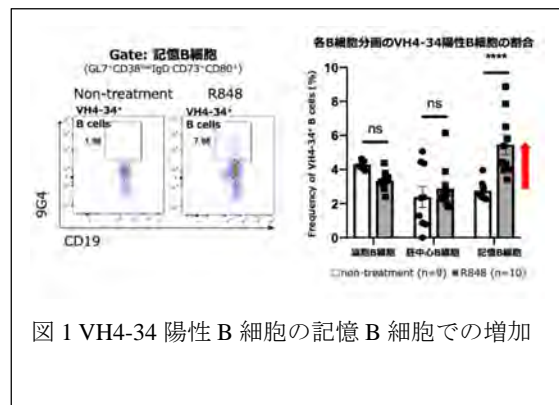


図 1 VH4-34 陽性 B 細胞の記憶 B 細胞での増加

3.2 VH4-34 の病原性

SLE 様疾患を誘導した TC-mAb マウスで増えた VH4-34 が病原性を持つか検証するために、R848 を投与した TC-mAb マウスから得られた血清を用いて、自己抗原陽性 VH4-34 抗体の検出を行った。抗 dsDNA 陽性 VH4-34、抗 Sm/RNP 陽性 VH4-34 とともに R848 投与群で有意に増加していた。

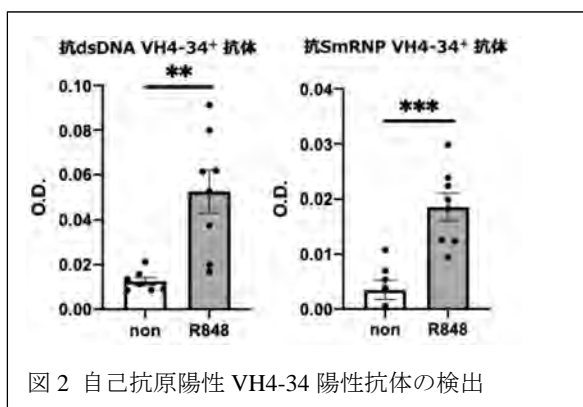


図2 自己抗原陽性 VH4-34 陽性抗体の検出

参考文献

- (1) Yuuki H, Itamiya T, Nagafuchi Y, Ota M, Fujio K. B cell receptor repertoire abnormalities in autoimmune disease. *Front Immunol.* 2024
- (2) Bhat NM, Lee LM, van Vollenhoven RF, Teng NN, Bieber MM. VH4-34 encoded antibody in systemic lupus erythematosus: effect of isotype. *J Rheumatol.* 2002
- (3) Allen TM, Brehm MA, Bridges S, Ferguson S, Kumar P, Mirochnitchenko O, et al. Humanized immune system mouse models: progress, challenges and opportunities. *Nat Immunol.* 2019
- (4) Shultz LD, Keck J, Burzenski L, Jangalwe S, Vaidya S, Greiner DL, et al. Humanized mouse models of immunological diseases and precision medicine. *Mamm Genome.* 2019
- (5) Stripecke R, Münz C, Schuringa JJ, Bissig KD, Soper B, Meeham T, et al. Innovations, challenges, and minimal information for standardization of humanized mice. *EMBO Mol Med.* 2020
- (6) Martinov T, McKenna KM, Tan WH, Collins EJ, Kehret AR, Linton JD, et al. Building the Next Generation of Humanized Hemato-Lymphoid System Mice. *Front Immunol.* 2021
- (7) Ye W, Chen Q. Potential Applications and Perspectives of Humanized Mouse Models. *Annu Rev Anim Biosci.* 2022
- (8) Ito M, Hiramatsu H, Kobayashi K, Suzue K, Kawahata M, Hioki K, et al.

4. 考察

VH4-34 陽性細胞は R848 誘導性 SLE において記憶 B 細胞分画に顕著な増加を示しており、この結果はヒト SLE 病態と類似している点で重要である (1,12)。現時点では、VH4-34 陽性記憶 B 細胞が SLE の病態にどのように関与するのかわかりませんが、遺伝子改変による VH4-34 の削除や VH4-34 除去療法を本マウスモデルに適用することにより、SLE 病態における VH4-34 の作用機序や病態的意義を評価できる可能性がある。本マウスモデルはヒト液性免疫および抗体関連疾患を詳細に解析する基盤として有用と考えられる。

- NOD/SCID/gamma (c) (null) mouse: an excellent recipient mouse model for engraftment of human cells. *Blood*. 2002
- (9) Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, Gott B, Chen X, Chaleff S, et al. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol*. 2005
- (10) Satofuka H, Abe S, Moriwaki T, et al. Efficient human-like antibody repertoire and hybridoma production in trans-chromosomal mice carrying megabase-sized human immunoglobulin loci. *Nat Commun*. 2022
- (11) Yokogawa M, Takaishi M, Nakajima K, Kamijima R, Fujimoto C, Kataoka S, et al. Epicutaneous application of toll-like receptor 7 agonists leads to systemic autoimmunity in wild-type mice: a new model of systemic Lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2014
- (12) Ota M, Nakano M, Nagafuchi Y, Kobayashi S, Hatano H, Yoshida R, et al. Multimodal repertoire analysis unveils B cell biology in immune-mediated diseases. *Ann Rheum Dis*. 2023

Ti6Al4V 製歯科矯正用アンカースクリューの
炭酸アパタイトコーティングによる矯正治療の効率化

歯学府 歯学専攻

竹花 紗矢

Ti6Al4V 製歯科矯正用アンカースクリューの 炭酸アパタイトコーティングによる 矯正治療の効率化

竹花 紗矢

九州大学大学院 歯学府 歯学専攻 博士2年

本研究では、Ti6Al4V 製矯正用アンカースクリューに炭酸アパタイト (CA) コーティングを施し、早期固定性向上の可能性を検討した。材料解析により均一な CA 被覆層の形成および十分な接着強度を確認した。ウサギ大腿骨モデルにおいて、CA 群は植立後 2 週で有意に高い撤去時トルクおよび骨-スクリュー接触率を示した。一方、植立時トルクには影響を与えず、機械的特性を維持したまま早期固定性を向上させることが示された。キーワード：炭酸アパタイト・矯正用アンカースクリュー・早期固定性

1. 研究背景と目的

従来の矯正用アンカースクリューは、簡便に絶対的固定源を確保できる有用な装置として広く臨床応用されている。しかし、植立後早期に脱落する症例が一定数報告されており、特に荷重開始後 1~3 ヶ月以内に不安定化するケースが多いことが知られている。この時期は骨との生物学的固定が十分に確立されていない段階であり、初期固定性の不足が臨床的課題となっている。治療成否は植立直後から荷重開始までの早期安定性に大きく依存し、初期固定が不十分な場合には微小動揺が生じ、骨結合の形成が阻害されることで脱落リスクが高まる。その結果、治療計画の変更や再植立が必要となり、患者負担の増加や治療期間の延長につながる可能性がある。

従来のアンカースクリューは主として機械的嵌合に依存して固定されており、骨との生物学的結合は十分とはいえない。このため、植立初期における骨形成を積極的に促進し、早期骨接触および固定性を向上させる表面改質技術の導入が求められている。これまでにハイドロキシアパタイト (hydroxyapatite : HA) などの骨伝導性材料が検討されてきたが、HA は生体吸収性が低く、撤去性を必要とする矯正用アンカースクリューへの応用には必ずしも適していない。

一方、生体骨は炭酸を含有するアパタイトで構成されており、より生体骨に近い組成を有する材料として炭酸アパタイト (carbonate apatite : CA) が注目されている。CA は高い骨伝導性に加えて生体吸収性

を示すことから、早期固定性の向上と撤去性の両立という矯正用アンカースクリュー特有の要求に適合する可能性がある。CA コーティングは植立初期における新生骨形成を促進し、より安定した界面形成を実現する有望な手法と考えられる。

本研究の目的は、Ti6Al4V 製矯正用アンカースクリューに対する炭酸アパタイト (CA) コーティング技術を確立するとともに、同コーティングが植立初期における固定性に及ぼす影響を動物モデルにおいて評価することである。さらに、機械的固定と生物学的固定の双方の観点からその有効性を検証し、矯正治療におけるアンカースクリューの早期安定性向上に寄与する基礎的知見を得ることを目指した。

2. 研究の方法

2.1 材料作製

本研究では、Ti6Al4V 製矯正用アンカースクリュー (デュアル・トップ オートスクリューⅢ) を基材として用いた。まず、表面前処理として混酸 (50 vol% 硫酸 (H_2SO_4)、7 vol% 塩酸 (HCl)) を用い、30~70°Cの条件下で 30 分間エッチング処理を行った。エッチング処理後は十分に洗浄・乾燥し、以降の被覆形成工程に供した。

次に、硝酸カルシウムエタノール溶液 [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$] (0.5~3.0 mol/L) にスクリューを浸漬し、 CO_2 雰囲気下にて 550°C、5 時間の熱処理を施した。これにより、表面に炭酸カルシウム (CaCO_3) 層を形成した CaCO_3 コーティングスクリューを作製した。さらに、作製した CaCO_3 コーティングスクリューをリン酸二ナトリウム (NaH_2PO_4) 水溶液 (0.2 mol/L) に浸漬し、80°Cで 7 日間反応させることで、 CaCO_3 層を CA へと組成変換し、CA コーティングスクリューを得た。

得られた CA コーティングスクリューに

ついて、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察により表面形態を評価するとともに、エネルギー分散型 X 線分析 (EDX) により元素組成を解析した。さらに、X 線回折 (XRD) 解析を行い、形成された被覆層の結晶相を同定した。また、被覆層の機械的安定性を確認する目的で接着強度試験を実施し、各 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液濃度条件で作製した CA 被覆の接着強度を評価した。

2.2 in vivo 試験

本研究では、ウサギを用いた動物実験を実施した。全身麻酔下において両側大腿骨を外科的に露出し、所定の位置に矯正用アンカースクリューを埋入した。各個体には未処理スクリューおよび CA コーティングスクリューを割り付け、同一個体内で両群を比較できる条件下で植立を行った。

植立後は創部を縫合し、術後管理のもと通常飼育とした。スクリューには外力を加えず、非荷重条件下で経過観察を行った。

植立後 2 週、4 週、12 週の各時点で動物を安楽死させ、評価用標本を採取した。

なお、本研究におけるすべての動物実験は、九州大学動物実験規則に従い、倫理的配慮のもと実施した。(承認番号 :A24-325-0)

2.3 評価方法

2.3.1 植立時トルク試験

スクリュー植立時には、挿入操作中に発生するトルクをデジタルトルクゲージで測定した。測定はスクリューを所定の位置まで連続的に挿入する過程で行い、挿入中に記録されたトルク値のうち最大値を植立時トルクとして採用した。すべての測定は同一条件下で実施し、測定値はスクリューごとに記録した。

2.3.2 撤去時トルク試験

各観察期間 (植立後 2 週、4 週、12 週) 終了後、検体採取に先立ち、各スクリューの撤去時トルクを測定した。撤去時トルク

は、スクリューと周囲骨との固定性を評価する指標として用いた。測定にはデジタルトルクゲージを使用し、スクリューに対して回転方向へ一定速度で連続的に負荷を加えた。撤去操作中に記録されたトルク値のうち最大値を撤去時トルクとして採用し、スクリューごとに記録した。なお、すべての測定は同一条件下で実施し、測定方法の統一を図った。

2.3.3 組織学的評価

採取した標本は 10%ホルマリン液により固定した後、非脱灰標本を作製した。固定後の標本は樹脂包埋を行い、骨-スクリュー界面を含む部位を薄切片として作製した。得られた切片には所定の染色を施し、光学顕微鏡下にて観察を行った。

観察では、骨-スクリュー界面における骨接触の連続性および密着状態を評価するとともに、周囲骨組織の形成状況や骨成熟度などの形態学的変化についても確認した。

3. 結果

3.1 炭酸アパタイトコーティングの表面性状評価

各表面構造解析を図 1・2 に示す。SEM 観察の結果、50°Cでの酸エッチング処理により、アンカースクリュー表面全域に微細な凹凸構造が形成されていることが確認された。次に CA コーティングを施したスクリュー表面では、未処理群と比較して、アパタイト結晶からなる被覆層が全周にわたり均一に形成されていることが観察された。(図 1) さらに断面観察より、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液 (2.0 mol/L) 条件で作製した CA 層の膜厚は $3.6 \pm 0.5 \mu\text{m}$ であり、比較的均一な被覆層が得られていた。

EDX では Ca および P の存在が確認され、また XRD 解析により CA 特有の回折ピークが検出されたことから、目的とする CA コーティングが形成されていることが示された。

図 1 : スクリューの表面構造解析

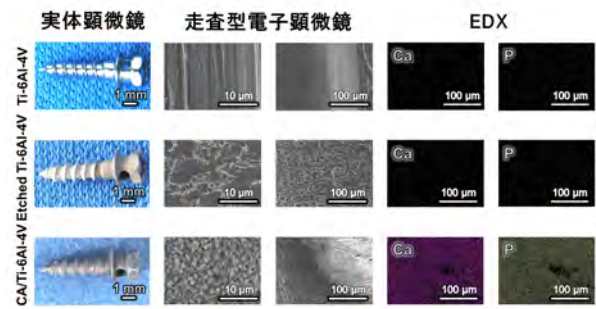
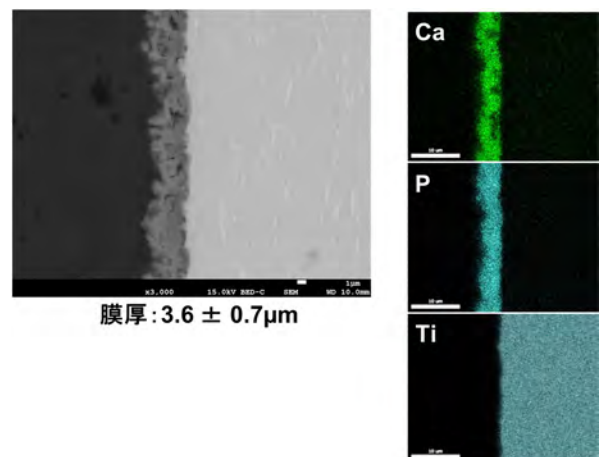


図 2 : 膜厚の解析



加えて、接着強度試験の結果、いずれのコーティング溶液濃度条件においても ISO 13779-2 の基準 (>15 MPa) を満たしていた。

3.2 in vivo 試験

3.2.1 植立時トルク試験

植立トルク試験の結果を図 3 に示す。植立時トルクの測定結果において、未処理群と CA コーティング群の間に有意差は認められなかった。

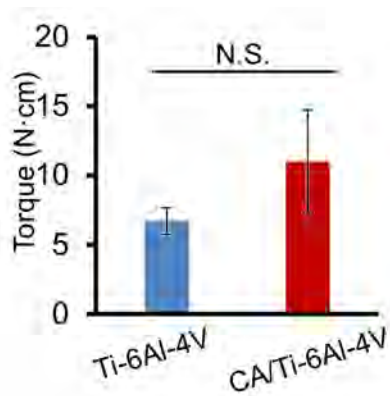


図3：植立時トルク試験結果

3.2.2 撤去時トルク試験

各時点における撤去時トルクの平均値を表1に示す。撤去時トルクは、植立後2週および4週においてCAコーティング群で有意に高値を示した ($p < 0.05$)。12週では両群間に有意差は認められなかった。

表1：撤去時トルク試験

	Ti6Al4V	CA/Ti6Al4V
植立直後	5.9	6.9
2週	6.7	11.0
4週	3.4	12.8
12週	5.9	6.1

3.2.3 組織学的評価

組織学的観察の結果、植立後2週および4週において、CAコーティング群ではスクリュー表面に沿った新生骨形成が広範に認められ、骨とスクリュー界面において連続的かつ密接な接触が観察された。一方、未処理群では骨形成は認められるものの、骨-スクリュー界面の一部に間隙を伴う部位が確認された。

各時点における吸光度の平均値を表2に示す。撤去スクリュー周囲骨を Alizarin Red S 染色し、石灰化量の指標として吸光

度を測定した。各時点における吸光度は、2週で Ti-6Al-4V 群 0.11、CA/Ti-6Al-4V 群 0.92、4週で Ti-6Al-4V 群 0.04、CA/Ti-6Al-4V 群 1.01、12週で Ti-6Al-4V 群 0.09、CA/Ti-6Al-4V 群 0.26 であった。いずれの時点においても CA/Ti-6Al-4V 群は Ti-6Al-4V 群と比較して高値を示し、特に4週で最大値を示した。

表2：Alizarin Red S 吸光度測定結果

	Ti6Al4V	CA/Ti6Al4V
2週	0.11	0.92
4週	0.04	1.01
12週	0.09	0.26

各時点における BSC の平均値を表3に示す。骨-スクリュー接触率 (bone-screw contact : BSC) の定量解析の結果、植立後2週において、CAコーティング群は未処理群と比較して有意に高い値を示した。

表3：骨-スクリュー接触率 (BSC)

	Ti6Al4V	CA/Ti6Al4V
2週	14.1	22.0
4週	18.7	19.7

4. 考察

本研究で用いたコーティングは、スクリューの挿入抵抗に有意な変化を与えないことが確認された。このことは、コーティング処理が従来と同様の手技で植立可能であることを示唆している。したがって、本技術は臨床操作性を損なうことなく適用可能であり、実際の矯正治療においても導入しやすい表面改質法であると考えられる。

一方、撤去時トルクは植立後2週および4週においてCA群で有意に高値を示し、組織学的評価においても同時期に BSC は 2

週で増加傾向を示し、界面の密接な骨接触が観察された。これらの結果は、CA が有する骨伝導性により植立初期における新生骨形成が促進されたことを示唆するものである。また、Alizarin Red S 染色による吸光度測定においても CA 群で高値を示したことから、石灰化骨形成の促進が示唆され、本研究で認められた骨-スクリュー接触の増加および撤去時トルクの向上を支持する結果と考えられる。特に、機械的保持に依存する従来スクリューに対し、生物学的固定の寄与が早期に得られた点は重要である。さらに、時間経過に伴う骨成熟およびリモデリングの進行により、CA コーティングは長期的な骨結合形成を阻害しないことが示唆された。

以上より、CA コーティングは機械的特性を損なうことなく、生物学的固定を早期に促進する表面改質法として有用である可能性が示された。本手法は、矯正治療におけるアンカースクリューの初期脱落リスク低減および治療予測性の向上に寄与し得る基礎的知見であると考えられる。

5. 結論

本研究により、CA コーティングを施した Ti6Al4V 製矯正用アンカースクリューは、植立初期において未処理群と比較して高い

参考文献

- Rui S, et al. Rapid osseointegration bestowed by carbonate apatite coating of rough titanium. *Biomaterials*, 2020.
- Motoyoshi M, et al. Stability of orthodontic mini-implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2007.
- Miyawaki S, et al. Factors associated with failure of miniscrews. *AJODO*. 2003.
- Deguchi T, et al. Histomorphometric evaluation of bone-implant contact. *ISO 13779-2: Implants for surgery - Hydroxyapatite - Part 2: Coatings*.

撤去時トルクおよび BSC を示し、石灰化骨形成の促進が確認された。一方で、植立時トルクには有意差が認められず、スクリューの挿入抵抗に影響を与えず、従来と同等の臨床操作性を維持したまま適用可能であることが示された。

これらの結果より、CA コーティングはスクリューの挿入操作性を損なうことなく、植立初期における生物学的固定を促進する有効な表面改質法であることが示唆された。特に、早期骨形成の促進により固定性が向上した点は、矯正治療における初期脱落リスクの低減に寄与する可能性を有する。以上より、本研究は、CA コーティングが矯正用アンカースクリューの早期安定性向上に有効であることを動物モデルにおいて実証したものであり、臨床応用に向けた基礎的知見を提供するものである。

6. 謝辞

本研究のご支援を賜りました九州大学ロバート・ファン／アントレプレナーシップ・センターの皆様にご心より御礼申し上げます。

また、本研究の遂行にあたり、多大なるご指導およびご支援を賜りました QREC 教員の先生方ならびに QREC 事務局の皆様にご厚く御礼申し上げます。

Evaluating the Effects of Aromatherapy on
Executive Function : An EEG Study

システム生命科学府 システム生命科学専攻

Chi T. Q. Tran

Evaluating the Effects of Aromatherapy on Executive Functions: An EEG Study

Chi T. Q. Tran

九州大学大学院 システム生命科学府 システム生命科学専攻 統合博士課程5年

Executive function skills are cognitive processes that allow humans to plan, pay attention, remember instructions, and perform multiple tasks successfully. The core mechanisms of executive functions comprise **working memory, mental flexibility, and self-control**. This study aims to investigate how the human's central nervous system responds to essential oils, focusing on executive functions through EEG-measured brain activity.

Keywords: essential oils, executive functions, EEG

1. Introduction

1.1 Executive functions

Executive functions (EFs) are cognitive processes that allow humans to plan, pay attention, remember instructions, and perform multiple tasks successfully. The core mechanisms of executive functions comprise working memory, mental flexibility, and self-control. These functions are crucial for learning and development. EFs are essential processes for mental and physical health, as executive dysfunction often leads to poor quality of life, impulsivity, deteriorating physiological health, violence, crimes, and more (Broidy et al., 2003; Brown & Landgraf, 2010; Eakin et al., 2004; Miller et al., 2011). Currently, treatments for executive

dysfunction vary depending on the prognosis of the psychological conditions, to which medication or psychotherapy would be mainly applied; however, these available interventions are discrete and inconclusive. Preferred medication options such as neuroleptics, anti-depressants, or antipsychotics are often associated with adverse side effects (Kales et al., 2015; Schneider et al., 2006). Additionally, non-pharmacological approaches such as cognitive behavioral therapy might not apply to complicated cases.

1.2 Essential oils

Complementary and alternative medicine is a cost-effective option with minimal side effects that many practitioners have been

utilizing in their treatment plans for behavioral and psychological symptoms. Among them, aromatherapy is one of the potential treatments for enhancing cognitive performance. Aromatherapy is the use of essential oils to impact the body and, alternatively, the brain. Essential oils have long been known to promote physical and psychological well-being. It has been reported to help reduce stress, improve sleeping quality, and strengthen cognitive performance (Louis & Kowalski, 2002; Moss et al., 2003). Aromatherapy has shown promising results in improving cognitive functions in patients with neurological disorders (Koulivand et al., 2013; Sowndhararajan & Kim, 2016a). Although there have been various aromatherapy studies in recent decades, results supporting aromatherapy as a standalone treatment for different high-order cognitive and executive processes (i.e., executive functions) remain subjective, incomprehensible, and contradictory (Bagheri-Nesami et al., 2016). Further research is needed to ascertain the efficacy of aromatherapy for executive dysfunction.

1.3 The relationship between executive functions and essential oils

The objective of this study is to investigate the effects of essential oils on executive functions through brain activity.

Most results on essential oils have been on physiological changes rather than cognitive alteration. Several studies from the current decade have focused on the impact of essential oils on cognitive ability using animal models

or fMRI on humans. However, there were no reports on the impact of essential oils on cognitive ability comprehensively (i.e., executive functions) using a temporal measurement (i.e., EEG). Data collected from behavior tasks can provide valuable insights into cognitive changes behaviorally; however, to further understand these cognitive changes from a neuroscience perspective, implementing a brain activity measurement is necessary. EEG provides excellent temporal resolution, capturing neural activity within milliseconds, allowing real-time brain process confirmation. Neural response after essential oil inhalation can be observed immediately. Thus, while behavioral data from cognitive tasks is valuable, it often provides an incomplete picture of cognitive processing. EEG complements behavioral measures by offering neural perspectives, detecting subtle and preconscious changes in cognition, and providing real-time monitoring of brain activity. This combination leads to a more comprehensive understanding of how essential oils affect comprehensive cognitive abilities.

To accurately collect and analyze brain activities during executive function processes under odor inhalation, a noninvasive and temporal measurement of the central nervous system, such as EEG, shall be utilized. EEG can simultaneously access and analyze the alteration of brain activity during essential oil inhalation and cognitive processes. We believe the connection between essential oils and the high-level cognitive process of

executive functions will fill the current literature gap with fundamental mechanisms in healthy adults.

Therefore, while this study does not directly offer solutions for patients, its findings are expected to inform the design of future studies that do. In this way, results from this project can help strengthen the current knowledge of olfactory and executive functions. Furthermore, it also plays a significant role in clarifying the fundamental mechanisms in healthy adults and providing positive insights in future clinical studies.

2. Methods

2.1 Participants

An a priori power analysis conducted via G*Power (ver. 3.1.9.6) (Faul et al., 2009) indicated that 54 participants were required to achieve a power of 0.95 ($1-\beta$) for detecting a medium effect size ($f=0.25$) at a significance level of $\alpha=.05$. This calculation was based on a repeated measures ANOVA (3 groups \times 3 measurements) with an assumed correlation of .5 among repeated measures, focusing on the within-between interaction. To account for potential data loss, recruitment was increased by 10% to a target of 60 (20 per group). Currently, data from 53 recruited Kyushu University-affiliated members are reported.

Of the 53 recruits, one was excluded because the EEG headset could not be properly fitted, leaving a final sample of 52 participants (30 females; $M = 21.67 \pm 0.50$). All participants had normal or corrected vision and no history of color blindness, pregnancy, neurological disorders, recent brain surgery, or

psychoactive medication use. Additionally, individuals with odor allergies, smoking habits, or recent aromatherapy practice experience were excluded. Participants received a total of 2,000 yen QUO cards as monetary compensation for participating in the study. The study followed protocols approved by the Kyushu University Institutional Review Board (IRB: #202504), and all subjects provided written informed consent. Demographic details are reported in *Table 1*.

Before the main procedure, participants underwent two primary screening tests for color vision and cognitive ability using the Ishihara Color Blindness Physical Test Plates (Ishihara, 1917) and the Mini-Cog© (Borson et al., 2000), respectively. A short version of the 6-plate version of the Ishihara Color Blindness Test was used. Any discrepancies in identification would trigger a full assessment to confirm eligibility. The Mini-Cog© was administered to ensure adequate cognitive function. A cutoff score of 4 or fewer out of 5 was used to exclude participants with potential cognitive impairment.

2.3 Experiment setup

2.3.1 Room setup

The study was conducted in a dark and soundproofed room (1714 x 2594 x 1918 mm, 3-Tatami). Participants were seated approximately 120 cm in front of a 32-inch 4K display monitor. Participants needed to use a 35-key keypad to perform cognitive tasks in this study (See *Fig. 1*). Odor stimuli used in this experiment include lavender, bay leaf

All participants			N = 52		
Age in years \pm SD**	21.67 \pm 0.50				
Min - Max	18.00 - 32.00				
	N	%		N	%
Sex			Year in College		
Male	22	42.31	Freshman	17	32.69
Female	30	57.69	Sophomore	4	7.69
Handedness			Junior	7	13.46
Right-handed	47	90.38	Senior	9	17.31
Left-handed	2	3.85	Master student	9	17.31
Ambidextrous	3	5.77	PhD student	3	5.77
Race			Non-degree student or Staff	3	5.77
Asian	48	92.31	Daily Sleeping Habit		
White	1	1.92	Less than 4 hours	0	0.00
Others	1	1.92	4-6 hours	10	19.23
Multiracial	2	3.85	6-8 hours	36	69.23
Ethnic Background			more than 8 hours	4	7.69
Japanese	33	63.46	Sleeping hours the night before the experiment		
Chinese	8	15.38	Less than 4 hours	0	0.00
Others	6	11.54	4-6 hours	14	26.92
Mutiple ethnic backgrounds	6	11.54	6-8 hours	33	63.46
Highest Education Level			more than 8 hours	4	7.69
High School Degree	38	73.08	Daily Caffeine intake		
Bachelor Degree	10	19.23	Yes	17	32.69
Master Degree	3	5.77	No	35	67.31
Doctorate Degree	1	1.92			

** standard deviation

Table 1 Participant demographics details

laurel, and water as the control. The room was maintained at a constant 20°C to 23°C temperature and 30 to 35% humidity.

2.3.2 Odor stimuli

Essential oils used in this study were labeled as 100% pure organic natural essential oils, that were certified by the Aroma Environment Association of Japan – AEAJ, or by USDA, JAS, Ecocert. Previous research investigating the effects of essential oils on aspects of cognitive ability, such as working memory, generally employed a broad range of oil

stimuli between five and ten different types (Sattayakhom et al., 2023b; Sowndhararajan & Kim, 2016b). These studies were commonly utilized between subjects with two groups: the control and an experimental group, exposing all types of essential oils through inhalation. To this end, in a previously conducted study (unpublished), we selected four essential oils: Japanese Cypress, Citrus Yuzu, Lavender, and Bay Leaf based on their previously reported impacts on cognitive enhancement in animal models. Based on the

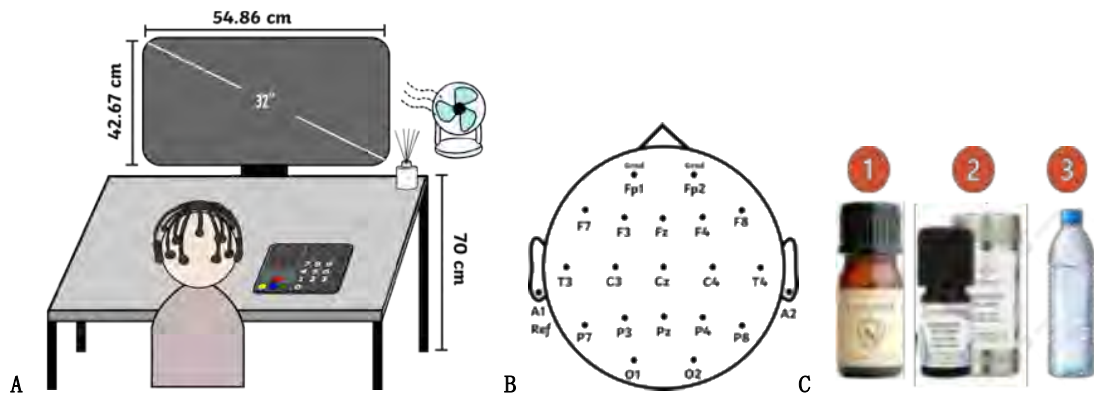


Figure 1 Details for experiment setup
 A: environment setup; B: EEG device electrode map; C: odor stimuli

unpublished results, Japanese Cypress and Citrus Yuzu showed prominent influence in behavior data, while Bay Leaf and Lavender revealed promising results in both behavior and physiological data obtained from EEG. Therefore, this project would focus solely on Lavender and Bay Leaf.

Lavender has long been known for having positive cognitive effects following inhalation (Liu et al., 2019; Sattayakhom et al., 2023b). Regarding bay leaf laurel, a 2021 study demonstrated that laurel incense enhanced memory formation in an animal study (Brinza et al., 2021), suggesting that bay leaf laurel extract may act as a cognitive enhancer, particularly in relation to memory retention. Furthermore, another study published in 2024 also supported the hypothesis that bay leaf laurel improved memory performance in a mouse model of dementia (Smach et al., 2024).

Although these studies provide a valuable and comprehensive retrospective into the positive effects of Bay Leaf and Lavender on memory performance, most of them were conducted utilizing animal models or

physiological measurements (i.e., heart rate and blood flow) on humans. However, this current project aims to further expand the current insights and knowledge by examining the distinct effects of each essential oil on comprehensive cognitive abilities (i.e., executive functions: response inhibition, working memory, and cognitive flexibility) reflected through brain activity using human participants.

This project utilized a between-subject design with three groups: control (no odor/pure water), lavender, and bay laurel. To ensure a balanced distribution of participants throughout the study, participants were randomly assigned to one of three experimental groups: control, Lavender, and Bay Leaf through block randomization. A random allocation sequence will be computer-generated in blocks of six, with each block containing two assignments for each of the three groups. The order of the assignments within each block will be randomized (e.g., Block 1: Lav, Con, Bay, Lav, Bay, Con; Block 2: Bay, Lav, Lav, Con, Con, Bay). As each

participant enrolled and was assigned a unique ID number, they were allocated to the group corresponding to the next position in the predetermined block sequence. This method guarantees that the number of participants in each group remains balanced and prevents selection bias, as the allocation sequence is generated before the study begins.

2.3.3 Odor stimuli presentation

Diffuser reeds were used to release faint essential oil stimuli in the experiment room. According to Shi et al., 2025, odor's release frequency is significantly important as their results revealed that shorter release of aroma odor can improve memory performance, but results are inconsistent and need further studies. Our previous unpublished study focused on multiple brief presentations of odor stimuli throughout the entire experiment using an olfactometer. In this current study, a second phase was employed, where essential oil stimuli will be released into the air via diffuser reeds throughout the whole experiment (i.e., the environment is fully essential oil-filled). A traditional diffuser was thought to increase the temperature and humidity of an enclosed, sound-proofed room, which can easily result in fatigue.

diffuser reeds were chosen for their convenience, low maintenance, and low cost, while maintaining room temperature and humidity. Each essential oil will be transferred to a colored, labelless bin to prevent bias from participants. Four diffuser sticks were placed inside the bottle to diffuse the odor into the air. The odor stimulus will be placed at a fixed unnoticeable position from the participant. A circulator was also positioned in the experiment room. All essential oil bottles were stored at 10°C to maintain the best quality and consistency of the original condition of the odor sample. After an experiment session was concluded, the experiment room was deodorized and ventilated carefully for at least 2 hours before the next experiment session.

2.4 Cognitive tasks

The effects of essential oils on different domains of executive functions, response inhibition, working memory, and cognitive flexibility were the main interest of this study. Each executive function domain will be assessed by a short cognitive task (See *Table 2*). The three cognitive tasks will make a set, and one experiment session will be conducted with three sets in total. The

Cognitive Task	Trials		Duration	Executive function domain
	Total	Details		
Stroop color-word test	144 trials	48 congruent trials, 48 incongruent trials, 48 neutral trials	5 mins	response inhibition
Digit Span Backward	12 trials (max.)	3-5-7-9 digit sequence 3 trials per sequence	4 mins	working memory
Wisconsin Card Sorting Task (WCST)	128 trials	8 blocks with 16 trials per block	5 mins	cognitive flexibility

Table 2 Details about experimental tasks used in this study

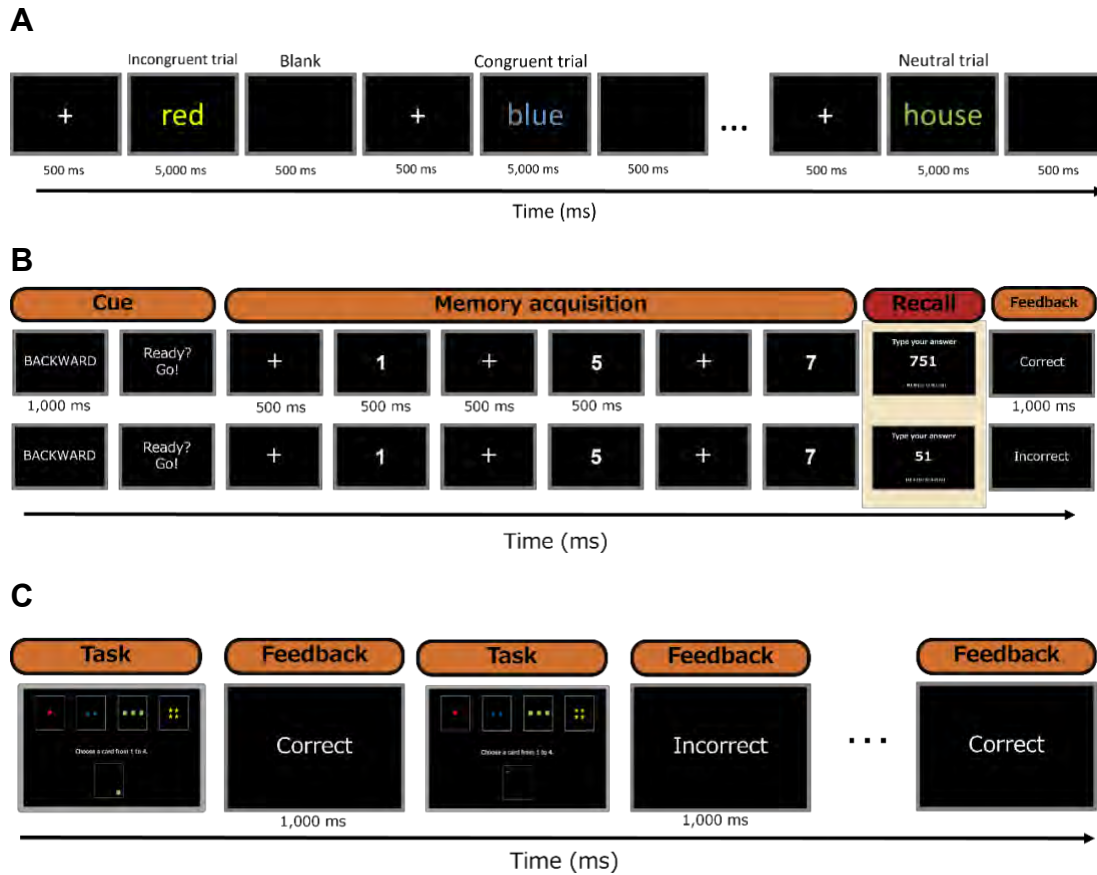


Figure 2 Cognitive tasks
A: Stroop color word test; B: Digit span backward; C: Wisconsin Card Sorting Test (WCST)

minute break in between sets will be carried out to prevent mental fatigue. In total, the experiment is expected to last for approximately 2 hours, including the main experiment tasks, paperwork procedure, pre-experiment assessment, task explanation, and setting up the EEG device. All three cognitive tasks will be available in both Japanese and English. Depending on participants' language preferences, an English or a Japanese version of the experiment was chosen. Participants' language preferences would also be applied to the study's explanation and distributed materials.

2.4.1 Stroop Color-Word Test

This task's primary purpose is to assess *response inhibition*. The Stroop phenomenon showed that it is challenging to name the color meaning of a color word if there is a mismatch between the ink color and the color-word meaning. There were three types of trials utilized in this task: incongruent (the word RED printed in yellow ink), congruent (the word BLUE printed in blue ink), and neutral (non-color words printed in random color ink) (See Fig. 2A). In total, there were 144 trials with 48 trials in each type (See Table 2). Neutral trials take up about 30% of the total trials, serving as a baseline comparison for better observation of the interference effect. A

threshold of 5,000 ms is set in each trial; if participants fail to give an answer within 5,000 ms, the trial would be counted as an omission trial. The analysis parameters for the Stroop color-word test were percent accuracy based on each trial type, omission rate, interference score, and a' parameter from Signal Detection Theory calculation.

2.4.2 Digit Span Backward Test

The Digit Span Task is mainly used to assess *working memory span*. In this task,

participants were asked to remember the presented digits (numbers) in the backward order (See *Fig. 2B*). Different from the traditional digit span, the task was configured to only have 4 digit sequences, starting from 3-digit, 5-digit, 7-digit, and 9-digit (See *Table 2*). In a digit sequence, there are no repeating numbers (i.e., 9-digit-sequence: 123456789). There were 3 trials per digit sequence. The sequence length was increased only after the participant had correctly recalled two out of three trials (e.g., increasing from 3 to a 5-digit sequence). Otherwise, the task would stop. The latest, most correct answer in a sequence will be the working memory span. The maximum possible number of trials was 12 (i.e., successfully move to the 9-digit-sequence length). The analysis parameters for the digit span task would be maximum span length (best performance) and the number of correct trials per sequence.

2.4.3 Wisconsin Card Sorting Task (WCST)

Wisconsin Card Sorting Task (WCST) (Grant & Berg, 1948) is a cognitive reasoning task, which is often used to measure *cognitive*

flexibility. In WCST, participants would need to classify cards according to different criteria: color, shape, or quantity. Participants needed to figure out which classifying rule (i.e., color, shape, or quantity) to sort the card at the bottom of the screen into the four cards at the top of the screen (See *Fig. 2C*). Participants will receive feedback indicating whether their answer was correct. There were 128 trials in total, with the classification rule changing every 16 cards, making 8 blocks (See *Table 2*). Participants would not know when the rule would change, leading to 1 or 2 mistakes when a new block starts. This task's purpose is to measure how well people can adapt to changing rules. Analysis parameters used in this study include percent correct in the whole task.

2.5 Experiment procedure

Baseline EEG (90 seconds) was recorded before and after each cognitive task. During the baseline session, participants were asked to have both hands on their laps and have their eyes closed. When they hear a "beep" sound (i.e., when baseline recording finishes at 90 seconds), they can open their eyes, and continue the experiment. The three cognitive tasks (Stroop color-word test, digit span, WCST) completed a set, and participants would need to finish three sets for the main experiment (See *Fig. 3*). By implementing three sets, a natural cognitive ability decline in the third set (i.e., poorer attention, memory, and flexibility) was hypothesized. Each cognitive domain (i.e., response inhibition, working memory, and cognitive flexibility)

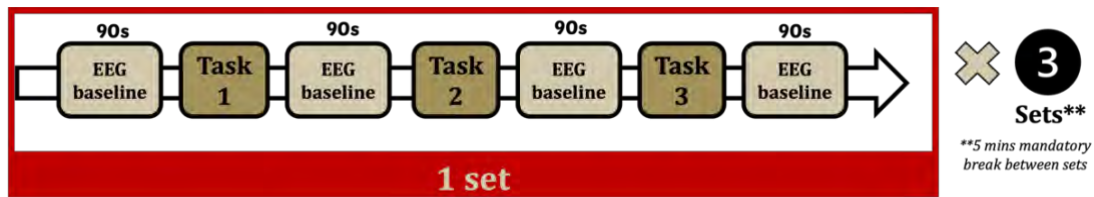


Figure 3 Experiment procedure

after exposure to essential oils would be assessed temporally via EEG. The order of the tasks in each set will be completely random with six separated lists prepared for different order variations.

2.6 Physiological measurement

A 19-channel active dry electroencephalogram device (EEG) called “Quick-20” (Cognionics Inc., United States) was used to acquire physiological data. Quick-20 is a noninvasive device; however, placement of the EEG cap can sometimes cause temporary, minor skin irritations or discomfort. Participants were informed about the discomfort prior to joining the study. The electrode placement was configured according to the International 10/20 system (See Fig. 1B). Electrode impedances were consistently maintained below 500 kΩ.

right mastoid (A1) and subsequently re-referenced to the average of the left and right mastoids (A1 and A2) during offline processing. Ground electrodes were positioned at Fp1 and Fp2. The analog data were digitized at a 500 Hz sampling rate, applying a 0.5–30 Hz bandpass filter and a 60 Hz notch filter to minimize power line interference.

3. Results

It should be noted that the present dataset has not yet reached the targeted sample size. Therefore, the current interpretation is based on descriptive (non-statistical) analysis of trends rather than formal inferential testing. Once recruitment reaches the predefined sample size, appropriate statistical analyses (e.g., mixed-design ANOVA or linear mixed-

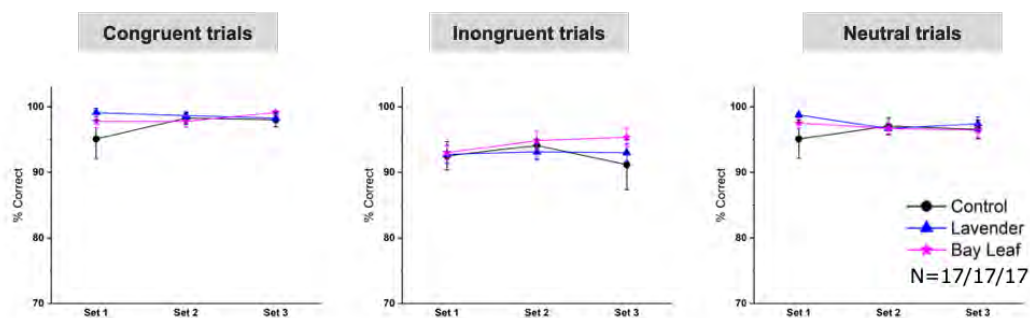


Figure 4 Percent accuracy for different Stroop trials. Congruent trials are those in which both the ink color and its meaning are the same. Incongruent trials are those in which the ink color and its meaning differ. Neutral trials are trials in which the word is a non-color word but is displayed in color. For color words, participants needed to identify the meaning of the color, and for non-color words, they needed to identify the ink color.

Signals were initially referenced online to the

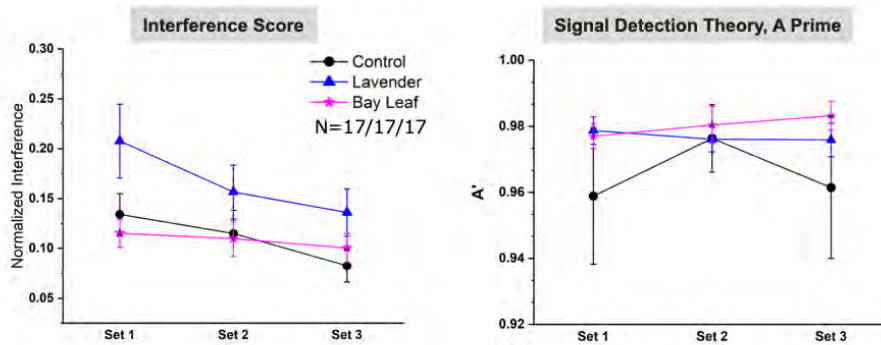


Figure 5 Interference score and A' prime values when performed Signal detection Theory Analysis

effects modeling) will be conducted to determine whether the observed patterns reach statistical significance and to evaluate potential aroma-related effects more rigorously.

3.1 Behavior results

3.1.1 Stroop Color-Word Test

First, when looking at percent accuracy, in congruent trials, accuracy was uniformly high across all groups and sets (approximately 95–99%). A slight increase from Set 1 to Set 3 was observed in the Control group, whereas Lavender and Bay Leaf remained stable at near-ceiling levels. Performance was lower in incongruent trials when compared to congruent trials, but showed modest improvement across sets for all groups. Lavender and Bay Leaf exhibited slight increases from Set 1 to Set 3, whereas the Control group showed a small fluctuation with a minor decline at Set 3. Overall, the aroma groups tended to maintain slightly higher accuracy in later sets. In neutral trials, accuracy remained high and stable across sets. A slight decrease from Set 1 to Set 2 was

observed in the aroma groups, followed by stabilization. The Control group showed minimal change (See Fig. 4).

Normalized interference decreased across sets in all groups, indicating reduced Stroop interference over time. The largest reduction was observed in the Lavender group. Bay Leaf showed a gradual decline, while the Control group demonstrated a moderate but consistent decrease (See Fig. 5).

A' values were high across all conditions (approximately 0.96 - 0.99). The Control group showed a peak at Set 2 followed by a decline at Set 3. Lavender remained stable, whereas Bay Leaf demonstrated a slight upward trend across sets (See Fig. 5).

3.1.2 Digit Span Backward Test

In the 3-digit sequence, a near-ceiling performance across all sets and groups, with minimal variation. In the 5-digit sequence, accuracy increased from Set 1 to Set 2 in all groups, followed by stabilization or slight

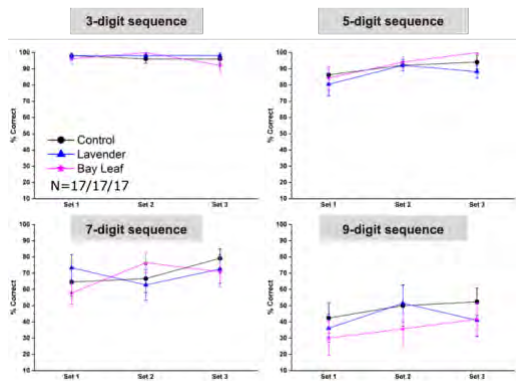


Figure 6 Percent accuracy for each digit sequence: 3-digit, 5-digit, 7-digit, and 9-digit

decline at Set 3. Greater variability was observed in the 7-digit sequence. Lavender showed a dip at Set 2 and recovery at Set 3. Bay Leaf increased at Set 2 then slightly declined. Control showed gradual improvement. Lastly, in the 9-digit sequence, performance was lowest overall, which is consistent with the difficulty of the designed task. Overall, the Control group showed gradual improvement across sets. Lavender peaked at Set 2, then declined. Bay Leaf showed modest improvement at Set 2 with a small decrease at Set 3 (See Fig. 6). For maximum span analysis, working

memory span increased from Set 1 to Set 2 in all groups. The Control group continued to improve at Set 3, whereas Lavender plateaued and Bay Leaf showed a slight decline at Set 3 after peaking at Set 2. Accordingly, all groups demonstrated positive learning rates. Control and Lavender showed comparable mean increases, whereas Bay Leaf exhibited a smaller mean improvement and greater variability (See Fig. 7).

3.1.3 Wisconsin Card Sorting Test (WCST)

Overall percent accuracy increased across sets in the Control group, particularly at Set 3. Lavender remained relatively stable with minor fluctuations. Bay Leaf showed the highest overall accuracy and a modest increase from Set 1 to Set 2, followed by stabilization (See Fig. 8).

3.2 Physiological data results

Physiological EEG data are not included in the present analysis due to the current sample size not yet reaching the predetermined target. Comprehensive electrophysiological analyses will be conducted once participant recruitment is completed and the target sample size is

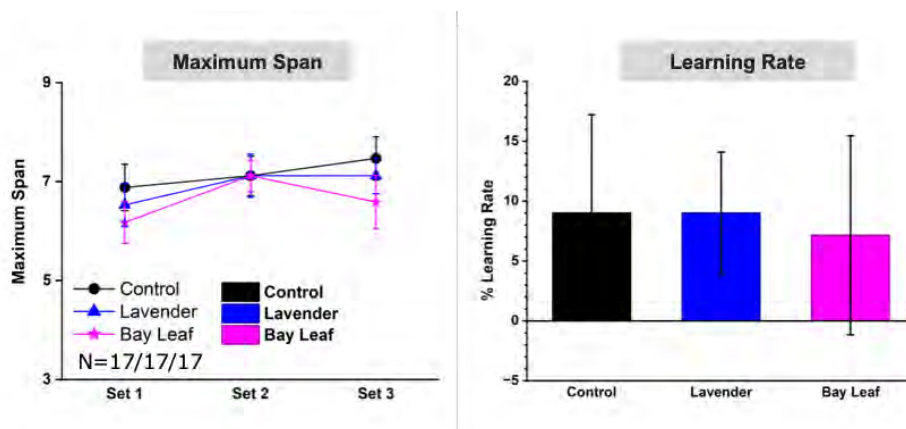


Figure 7 Maximum Span and Learning Rate for the digit span backward task

achieved.

4. Discussion

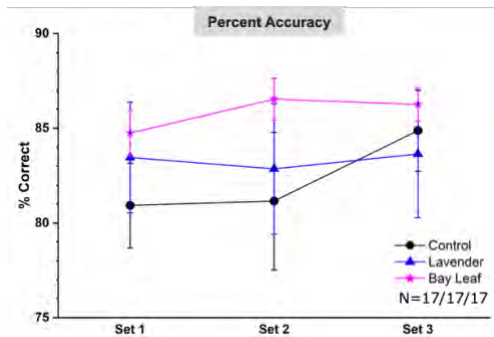


Figure 8 Percent Accuracy for WCST

The present results indicate overall high task performance across groups, with modest practice-related improvements and limited evidence of large aroma-specific effects.

4.1. Stroop Performance: response inhibition

Accuracy in congruent and neutral trials was near ceiling across all sets and groups, suggesting that the task difficulty in these conditions was low and unlikely to be sensitive to subtle modulation by aroma exposure. In contrast, incongruent trials demonstrated slightly lower accuracy and modest improvement over sets, consistent with practice-related gains in cognitive control.

Interference scores decreased across sets in all groups, indicating reduced Stroop interference with repetition. Notably, the Lavender group showed the largest reduction, suggesting a potential facilitative effect on conflict resolution efficiency. However, given that the Control group also improved, the reduction is likely driven primarily by task repetition, with only a possible additive effect

of aroma.

Signal detection sensitivity (A') remained high throughout. The Bay Leaf group showed a slight upward trend, whereas the Control group declined at Set 3. These patterns may suggest more stable attentional engagement under aroma exposure, although the magnitude of differences appears small.

4.2 Digit Span Backward Test: working memory

Performance on shorter sequences (3-digit) was at ceiling, indicating limited sensitivity to detect group differences. For moderate load (5-digit), all groups improved from Set 1 to Set 2, consistent with short-term learning or strategy adaptation. Under higher working memory load (7 and 9-digit sequences), greater variability could be observed. The Control group demonstrated gradual improvement across sets, particularly in the 9-digit sequence. Lavender and Bay Leaf groups showed non-linear patterns, often peaking at Set 2 and slightly declining at Set 3. This may reflect initial facilitation followed by fatigue or reduced incremental benefit over time.

Maximum span increased from Set 1 to Set 2 in all groups, supporting a general practice effect. Continued improvement at Set 3 was clearest in the Control group, whereas the aroma groups plateaued or slightly declined, suggesting no robust enhancement of maximal working memory capacity.

Learning rate estimates were positive across all groups, with comparable mean slopes in Control and Lavender. Bay Leaf showed somewhat lower improvement and larger

variability, indicating less consistent learning across participants.

4.3. Wisconsin Card Sorting Test (WCST): cognitive flexibility

Percent accuracy in the WCST showed modest practice-related improvement across sets, particularly in the Control group.

Control participants demonstrated a gradual increase from Set 1 to Set 3, suggesting progressive adaptation to rule-shifting demands and improved cognitive flexibility over repeated exposure. The Bay Leaf group exhibited the highest overall accuracy across sets, with a marked increase from Set 1 to Set 2 and subsequent stabilization at Set 3. This pattern may indicate relatively rapid adjustment to task demands early in the session, followed by performance maintenance. In contrast, the Lavender group showed relatively stable performance with minor fluctuations, including a slight decrease at Set 2 and recovery at Set 3. This pattern suggests neither clear facilitation nor impairment, but rather consistent task engagement across repetitions.

Overall, improvements across sets are consistent with learning or familiarization effects inherent to repeated WCST administration. While Bay Leaf displayed numerically higher accuracy, group differences appear modest at the descriptive level. As the current dataset has not yet reached the targeted sample size, these interpretations remain preliminary and will require confirmatory statistical testing once recruitment is complete.

4.4 Overall Interpretation

Across tasks, performance improvements were primarily driven by repetition effects. While minor trends suggest possible stabilization or slight facilitation under Lavender or Bay Leaf exposure, particularly in interference reduction and sensitivity measures, the effects appear modest and not uniformly stronger than Control.

Ceiling effects in easier conditions likely constrained sensitivity to detect aroma-related modulation. Effects, if present, may be more detectable under higher cognitive load or with longer exposure durations.

Overall, without statistical analysis results, the raw data suggest that aroma exposure does not substantially alter any domain of executive function in this paradigm, though subtle modulatory effects on conflict processing or attentional stability cannot be ruled out. Further analysis using inferential statistics would be required to determine whether these observed trends reach statistical significance.

References

1. Bagheri-Nesami, M., Shorofi, S. A., Nikkhah, A., Espahbodi, F., & Ghaderi Koolaee, F. S. (2016). The effects of aromatherapy with lavender essential oil on fatigue levels in haemodialysis patients: A randomized clinical trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 22, 33–37. <https://doi.org/10.1016/J.CTCP.2015.12.002>
2. Bikmoradi, A., Seifi, Z., Poorolajal, J., Araghchian, M., Safiaryan, R., & Oshvandi, K. (2015). Effect of inhalation aromatherapy with lavender essential oil on stress and vital signs in patients undergoing coronary artery bypass surgery: A single-blinded randomized clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 23(3), 331–338. <https://doi.org/10.1016/J.CTIM.2014.12.001>
3. Borson, S., Scanlan, J., Brush, M., Vitaliano, P., & Dokmak, A. (2000). The Mini-Cog: A cognitive “vital signs” measure for dementia screening in multi-lingual elderly. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 15(11), 1021–1027. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1099-1166\(200011\)15:11<1021::AID-GPS234>3.0.CO;2-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1099-1166(200011)15:11<1021::AID-GPS234>3.0.CO;2-6)

4. Brinza, I., Boiangiu, R. S., Hancianu, M., Cioanca, O., Orhan, I. E., & Hritcu, L. (2021). Bay Leaf (*Laurus Nobilis* L.) Incense Improved Scopolamine-Induced Amnesic Rats by Restoring Cholinergic Dysfunction and Brain Antioxidant Status. *Antioxidants*, *10*(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020259>
5. Broidy, L. M., Nagin, D. S., Tremblay, R. E., Bates, J. E., Brame, B., Dodge, K. A., Fergusson, D., Horwood, J. L., Loeber, R., Laird, R., Lynam, D. R., Moffitt, T. E., Pettit, G. S., & Vitaro, F. (2003). Developmental trajectories of childhood disruptive behaviors and adolescent delinquency: a six-site, cross-national study. *Developmental Psychology*, *39*(2), 222–245. <https://doi.org/10.1037//0012-1649.39.2.222>
6. Brown, T. E., & Landgraf, J. M. (2010). Improvements in executive function correlate with enhanced performance and functioning and health-related quality of life: evidence from 2 large, double-blind, randomized, placebo-controlled trials in ADHD. *Postgraduate Medicine*, *122*(5), 42–51. <https://doi.org/10.3810/PGM.2010.09.2200>
7. Chen, J., Zhang, N., Pei, S., & Yao, L. (2022). Odor perception of aromatherapy essential oils with different chemical types: Influence of gender and two cultural characteristics. *Frontiers in Psychology*, *13*, 998612. <https://doi.org/10.3389/FPSYG.2022.998612/BIB/TEX>
8. De Beukelaer, S., Sokolov, A. A., & Müri, R. M. (2023). Case report: “Proust phenomenon” after right posterior cerebral artery occlusion. *Frontiers in Neurology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/FNEUR.2023.1183265>
9. Dehghan, N., Azizzadeh Forouzi, M., Etminan, A., Roy, C., & Dehghan, M. (2022). The effects of lavender, rosemary and orange essential oils on memory problems and medication adherence among patients undergoing hemodialysis: A parallel randomized controlled trial. *EXPLORE*, *18*(5), 559–566. <https://doi.org/10.1016/J.EXPLORE.2021.10.004>
10. Eakin, L., Minde, K., Hechtman, L., Ochs, E., Krane, E., Bouffard, R., Greenfield, B., & Looper, K. (2004). The marital and family functioning of adults with ADHD and their spouses. *Journal of Attention Disorders*, *8*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1177/108705470400800101>
11. Farner, J., Reed, M., Abbas, J., Shmina, K., & Bielawski, D. (2019). Aromatherapy Hand Massage for Test Anxiety and Self-Efficacy in Nursing Students: A Pilot Study. *Teaching and Learning in Nursing*, *14*(4), 225–230. <https://doi.org/10.1016/J.TELN.2019.04.008>
12. Grant, D. A., & Berg, E. (1948). A behavioral analysis of degree of reinforcement and ease of shifting to new responses in a Weigl-type card-sorting problem. *Journal of Experimental Psychology*, *38*(4), 404–411. <https://doi.org/10.1037/H0059831>
13. Grella, S. L., Fortin, A. H., McKissick, O., Leblanc, H., & Ramirez, S. (2020). Odor modulates the temporal dynamics of fear memory consolidation. *Learning & Memory*, *27*(4), 150–163. <https://doi.org/10.1101/LM.050690.119>
14. Haehner, A., Chen, B., Espin, M., Hausmann, R., Matthes, C., Desser, D., Loessner, L., Brandt, M. D., Donix, M., & Hummel, T. (2022). Training with Odors Impacts Hippocampal Thickness in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, *88*(2), 743–755. <https://doi.org/10.3233/JAD-220248>
15. Ikei, H., Jo, H., & Miyazaki, Y. (2023). Physiological Effects of Visual Stimulation by a Japanese Low Wooden Table: A Crossover Field Experiment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *20*(14). <https://doi.org/10.3390/IJERPH20146351>
16. Ikei, H., Song, C., & Miyazaki, Y. (2015). Physiological effect of olfactory stimulation by Hinoki cypress (*Chamaecyparis obtusa*) leaf oil. *Journal of Physiological Anthropology*, *34*(1). <https://doi.org/10.1186/S40101-015-0082-2>
17. Ishihara, S. (1917). *The series of plates designed as tests for colour blindness* (1st Ed). Handaya Hongo Harukich. <https://search.worldcat.org/title/The-series-of-plates-designed-as-tests-for-colour-blindness/oclc/19648337>
18. Jellinek, J. S., Chu, S., & Downes, J. J. (2004). Proust Remembered: Has Proust's Account of Odor-cued Autobiographical Memory Recall Really been Investigated? *Chemical Senses*, *29*(5), 455–458. <https://doi.org/10.1093/CHEMSE/BJH043>
19. Kales, H. C., Gitlin, L. N., & Lyketsos, C. G. (2015). Assessment and management of behavioral and psychological symptoms of dementia. *BMJ (Online)*, *350*. <https://doi.org/10.1136/bmj.h369>
20. Ko, L. W., Su, C. H., Yang, M. H., Liu, S. Y., & Su, T. P. (2021). A pilot study on essential oil aroma stimulation for enhancing slow-wave EEG in sleeping brain. *Scientific Reports*, *11*(1), 1078. <https://doi.org/10.1038/S41598-020-80171-X>
21. Koulivand, P. H., Khaleghi Ghadiri, M., & Gorji, A. (2013). Lavender and the Nervous System. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : ECAM*, *2013*. <https://doi.org/10.1155/2013/681304>
22. Liu, J., Cai, S., Chen, D., Wu, K., Liu, Y., Zhang, R., Chen, M., & Li, X. (2019). Behavioral and Neural Changes Induced by a Blended Essential Oil on Human Selective Attention. *Behavioural Neurology*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/5842132>
23. Louis, M., & Kowalski, S. D. (2002). Use of aromatherapy with hospice patients to decrease pain, anxiety, and depression and to promote an increased sense of well-being. *The American Journal of Hospice & Palliative Care*, *19*(6), 381–386. <https://doi.org/10.1177/104990910201900607>
24. Matsumoto, T., Asakura, H., & Hayashi, T. (2014). Effects of Olfactory Stimulation from the Fragrance of the Japanese Citrus Fruit Yuzu (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) on Mood States and Salivary Chromogranin A as an Endocrinologic

- Stress Marker. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 20(6), 500. <https://doi.org/10.1089/ACM.2013.0425>
25. Miller, H. V., Barnes, J. C., & Beaver, K. M. (2011). Self-control and health outcomes in a nationally representative sample. *American Journal of Health Behavior*, 35(1), 15–27. <https://doi.org/10.5993/AJHB.35.1.2>
 26. Moss, M., Cook, J., Wesnes, K., & Duckett, P. (2003). Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. *The International Journal of Neuroscience*, 113(1), 15–38. <https://doi.org/10.1080/00207450390161903>
 27. Okuda, M., Fujita, Y., Takada-Takatori, Y., Sugimoto, H., & Urakami, K. (2020). Aromatherapy improves cognitive dysfunction in senescence-accelerated mouse prone 8 by reducing the level of amyloid beta and tau phosphorylation. *PLoS ONE*, 15(10). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0240378>
 28. Rezaie, S. M., Shahabinejad, M., Loripoor, M., & Sayadi, A. R. (2021). The effect of aromatherapy with lavender essential oil on the working memory of women with multiple sclerosis. *Journal of Medicine and Life*, 14(6), 776. <https://doi.org/10.25122/JML-2020-0115>
 29. Salimi, M., Tabasi, F., Nazari, M., Ghazvineh, S., & Raoufy, M. R. (2022). The olfactory bulb coordinates the ventral hippocampus–medial prefrontal cortex circuit during spatial working memory performance. *Journal of Physiological Sciences*, 72(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12576-022-00833-5/FIGURES/7>
 30. Sattayakhom, A., Wichit, S., & Koomhin, P. (2023a). The Effects of Essential Oils on the Nervous System: A Scoping Review. *Molecules*, 28(9). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28093771>
 31. Sattayakhom, A., Wichit, S., & Koomhin, P. (2023b). The Effects of Essential Oils on the Nervous System: A Scoping Review. *Molecules*, 28(9). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28093771>
 32. Schneider, L. S., Dagerman, K., & Insel, P. S. (2006). Efficacy and adverse effects of atypical antipsychotics for dementia: meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *The American Journal of Geriatric Psychiatry: Official Journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*, 14(3), 191–210. <https://doi.org/10.1097/01.JGP.0000200589.01396.6D>
 33. Smach, M. ali, Hafsa, J., Ben abdallah, J., Charfeddine, B., & Limem, K. (2024). Neuroprotective and anti-amnesic effects of Laurus Nobilis essential oil against scopolamine-induced memory deficits in mice brain. *Journal of Ethnopharmacology*, 319, 117151. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2023.117151>
 34. Sowndhararajan, K., & Kim, S. (2016a). Influence of Fragrances on Human Psychophysiological Activity: With Special Reference to Human Electroencephalographic Response. *Scientia Pharmaceutica*, 84(4), 724. <https://doi.org/10.3390/SCIPHARM84040724>
 35. Sowndhararajan, K., & Kim, S. (2016b). Influence of Fragrances on Human Psychophysiological Activity: With Special Reference to Human Electroencephalographic Response. *Scientia Pharmaceutica 2016, Vol. 84, Pages 724-751*, 84(4), 724–751. <https://doi.org/10.3390/SCIPHARM84040724>
 36. The Royal Children’s Hospital Melbourne. (2021, July). *Clinical Practice Guidelines : Essential Oil Poisoning*. https://www.rch.org.au/clinicalguide/guideline_index/Essential_Oil_Poisoning/
 37. Woo, C. C., Miranda, B., Sathishkumar, M., Dehkordi-Vakil, F., Yassa, M. A., & Leon, M. (2023). Overnight olfactory enrichment using an odorant diffuser improves memory and modifies the uncinat fasciculus in older adults. *Frontiers in Neuroscience*, 17, 1200448. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2023.1200448/BIBTEX>
 38. Yang, H. J., Hwang, J. T., Kwon, D. Y., Kim, M. J., Kang, S., Moon, N. R., & Park, S. (2013). Yuzu Extract Prevents Cognitive Decline and Impaired Glucose Homeostasis in β -Amyloid–Infused Rats1–3. *The Journal of Nutrition*, 143(7), 1093–1099. <https://doi.org/10.3945/JN.112.173401>

人工チャネル複合合成二分子膜開発による
高透過性・選択性・安定性気体分離膜の創製

工学府 応用化学専攻

竹綱 公祐

人工チャネル複合合成二分子膜開発による 高透過性・選択性・安定性気体分離膜の創製

竹綱 公祐

九州大学大学院 工学府 応用化学専攻 博士1年

要約

チャネル型分離機構の模倣に向けて、リン脂質気体分離膜開発を目指した。高透過性高分子自立膜の底面に貼り付けると、最大約 55 nm 程度のリン脂質膜について、 $\text{CO}_2 \cdot \text{N}_2 \cdot \text{H}_2$ の 3 種類の気体透過度を測定できた。用いた差圧は従来研究よりも数倍高く、本研究の脂質膜における耐久性の高さを実証できた。

キーワード： CO_2 分離膜・リン脂質・PDMS

1. 緒言

1.1 気体分離膜の薄膜化

大気中の CO_2 濃度低減に向けて、 CO_2 分離・回収技術が注目を集めている。 CO_2 が選択的に透過する膜を用いる膜分離法は、既存技術（溶液/固体吸着法など）と比べて低エネルギーかつ小設備なため、低コストな分離技術として開発が期待されている。分離性能として重要視されるのは、 CO_2 純度を定める CO_2/N_2 選択性と、回収量を左右する CO_2 透過量であり、特に透過量の向上が回収コストに大きく影響する。¹⁾ 透過量向上に向けて薄膜化（100 nm 未満）が必要だが、薄膜化に耐えうる膜材料は非常に限られている。

1.2 生体膜の物質分離機構

生体膜は、フォスファチジルコリン構造（親水部）とアルキル鎖（疎水部）を

併せ持つ、リン脂質を基本構成単位とする。この二分子が集合すると、親水部間・および疎水部と水の反発により、二分子が並んだ非常に薄い構造が得られる。さらに、リン脂質間にチャネル構造を持つたんぱく質を導入すれば、任意の親水性化合物（ex. 水、イオン）を高透過性かつ選択的に回収できる。この薄さとチャネル型分離機構は、 CO_2 分離膜としての理想形の 1 つといえる（図 1. A）。

1.3 脂質膜の応用に向けた課題と

本プロジェクトの着想

脂質膜の気体分離への応用は熱心に研究されてきたが、実用的な透過条件への耐久性を持たないと考えられてきた。^{2,3)} これは、脂質分子が小さく、また強固な結合でなく相互作用で結ばれているため、そもそも膜構造が弱いためだ。

親水部間は、四級アンモニウムとリン

酸構造間のイオン性相互作用が働いている。外力が加わり、数原子分のずれができてしまうと、電荷が反発して膜が破壊される。そこで本プロジェクトでは、気体透過時の膜表面を保護して、この電荷のズレを抑制できないかと考えた。保護層として、高い気体透過性を持つポリジメチルシロキサン(PDMS)膜(膜厚: 2 μm)を用いるため、水溶性犠牲層を用いた高分子超薄膜作製に着想を得た。⁴⁾ 具体的には、荷電性高分子層上に製膜された脂質-PDMS 複合膜について、高分子層を溶かして剥離し、自立型脂質超薄複合膜を開発した。

その後、PDMS 膜が気体導入面、脂質膜が底面となるように転写し、脂質膜表面を保護した(図 1. B)。

汎用的なリン脂質である 1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPPC) について、最大 10 層(膜厚: 約 55 nm) まで高い差圧(200 kpa) に耐え、その気体透過度と選択性について議論できた。またチャンネル型分離への発展の前に、結合ではなく相互作用を用いた膜の利点として、単純操作である溶媒浸漬による、膜分解性を評価した。

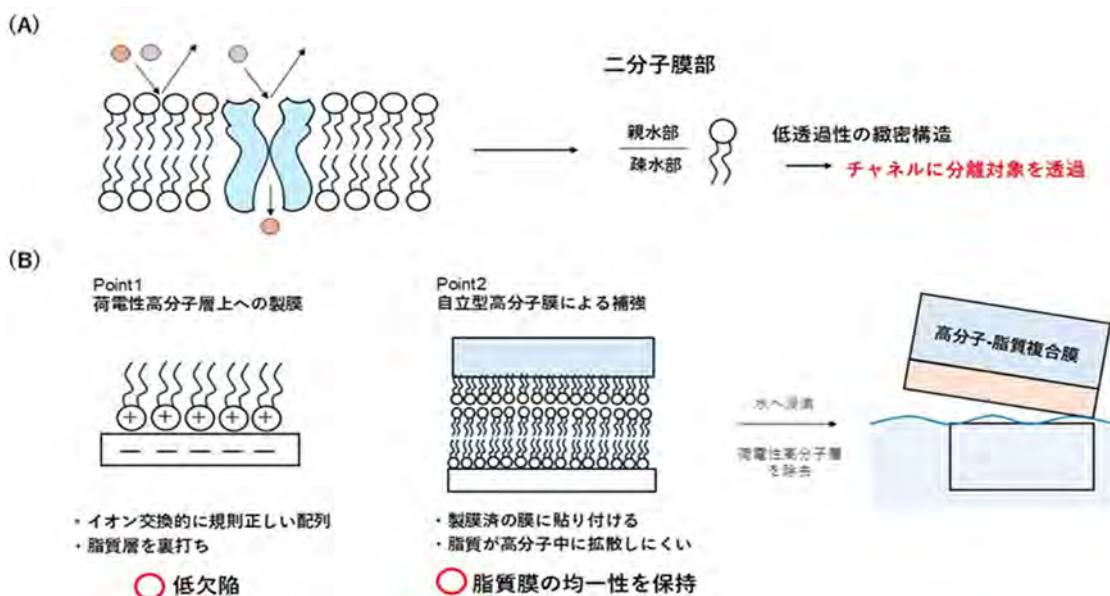


図 1. (A)チャンネル型分離機構の概要, (B)本研究の戦略

2. 実験手法

2.1 概要

最適なリン脂質を探索するため、異なるアルキル鎖長を持つ 3 種類のリン脂質 (DMPC, DPPC, DSPC) を用いた(図 2.)。製膜手法は、シリコンウェハ上で二分子膜が作製されており⁵⁾、短時間で簡便

に薄膜が作製可能なスピコート法を用いた。

2.2 リン脂質の製膜手法

まず、水溶性犠牲層としてポリスチレンスルホン酸ナトリウム (PSS) を、洗浄済みガラス基板の上にスピコート法により製膜した (溶液濃度: 10 wt%, 回転数: 3000 rpm, 40 s)。100°Cで 5~10 分加熱し、冷却した PSS 層上に、リン脂質層をスピコート法により製膜した (溶液濃度: 5~100 mM, 回転数: 2000 rpm, 60 s, 10 s slope)。100°Cで 60 分加熱し、ゆっくり冷却した。

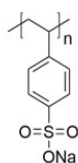
2.3 PDMS 製膜手法

2.2 と同条件で作製された PSS 層上に、Sylgard184 のヘキサン溶液をスピコートし、PDMS 膜を製膜した (溶液濃度: 10 vol%, 回転数: 3500 rpm, 40 s, 5 s slope)。100°Cで 30 分加熱して冷却した後、水に浸漬して PSS 層を溶かした。水面に浮かんだ PDMS 膜を 2.2 で作製した DPPC 層上に貼り付けた。

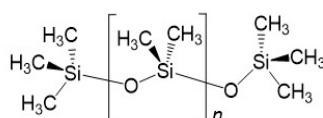
2.4 リン脂質-PDMS 複合膜の製膜手法

PDMS が張り付いた DPPC 層含有基板を、100°Cで 60 分加熱し、ゆっくり冷却した。水に浸漬して PSS 層を溶かし、PDMS-DPPC 複合自立膜を多孔質支持層に転写した。

PSS



PDMS



DPPC

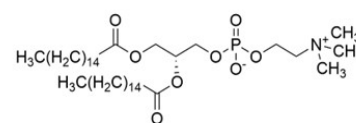


図 2. 用いた膜材料

3. 結果と考察

3.1 PSS 層上でのリン脂質製膜状況

リン脂質は電荷反発を抑制するため、分子全体が約 30° 程度傾いた二分子膜構造を取ると言われている。この規則構造の有無を観察するため、PSS 層上に製膜されたリン脂質膜 (膜厚: 約 600 nm) について、X 線回折 (XRD) 測定を行った。すると、3 種類のリン脂質の中で DPPC が最もピーク数が多く、最も二分子膜構造を持つと考えられた (図 3. A)。一方二分子膜構造の厚み (d 値) は約 5.4 nm と、傾いた DPPC 分子 (分子長: 約 2 nm) から想定される厚みよりも 0.5~1 nm 程度大きかった。終夜真空引きを行うと d 値が約 0.2 nm 程度減少したため、

水層の存在が疑われる。チャンネル埋め込みに向けて、二分子膜間の空間の正体を突き止めるのが今後の課題の一つである。

3.2 PDMS 膜による転写後の DPPC 膜と

その分解性

PDMS 膜に転写した後も、XRD 測定で得られるピーク位置に大きな変化はなかった (図 3. B 2 μ m)。走査型電子顕微鏡 (SEM) でその膜断面を見てみると、上部 (PDMS 部: 約 1.8 μ m) と下部 (DPPC 部: 約 600 nm) に明確な境界があり、両者ともに単独で製膜した際と膜厚に大きく変化がなかった (図 3. C)。以上より、二分子膜構造を保った転写に成功したと言える。膜モジュールから古い分離膜を取り換え、

もしくは廃棄する場合、操作の簡便化は膜分離技術のコスト低減に貢献する。分子間相互作用のみで製膜した分離膜の利点として、膜単体の分解性に焦点を当てた。PDMS-DPPC 複合膜を DPPC の良溶媒（クロロホルム）に 4 時間程度浸漬し、その膜断面を SEM で観察した。

すると、膜底面に見られた DPPC 層が無く、PDMS 層のみが見られた（図 3. D）。分解性の高い分離膜として期待が持てる一方で、X 線光電子分光法（XPS）等を用いた詳細な解析が必要である。

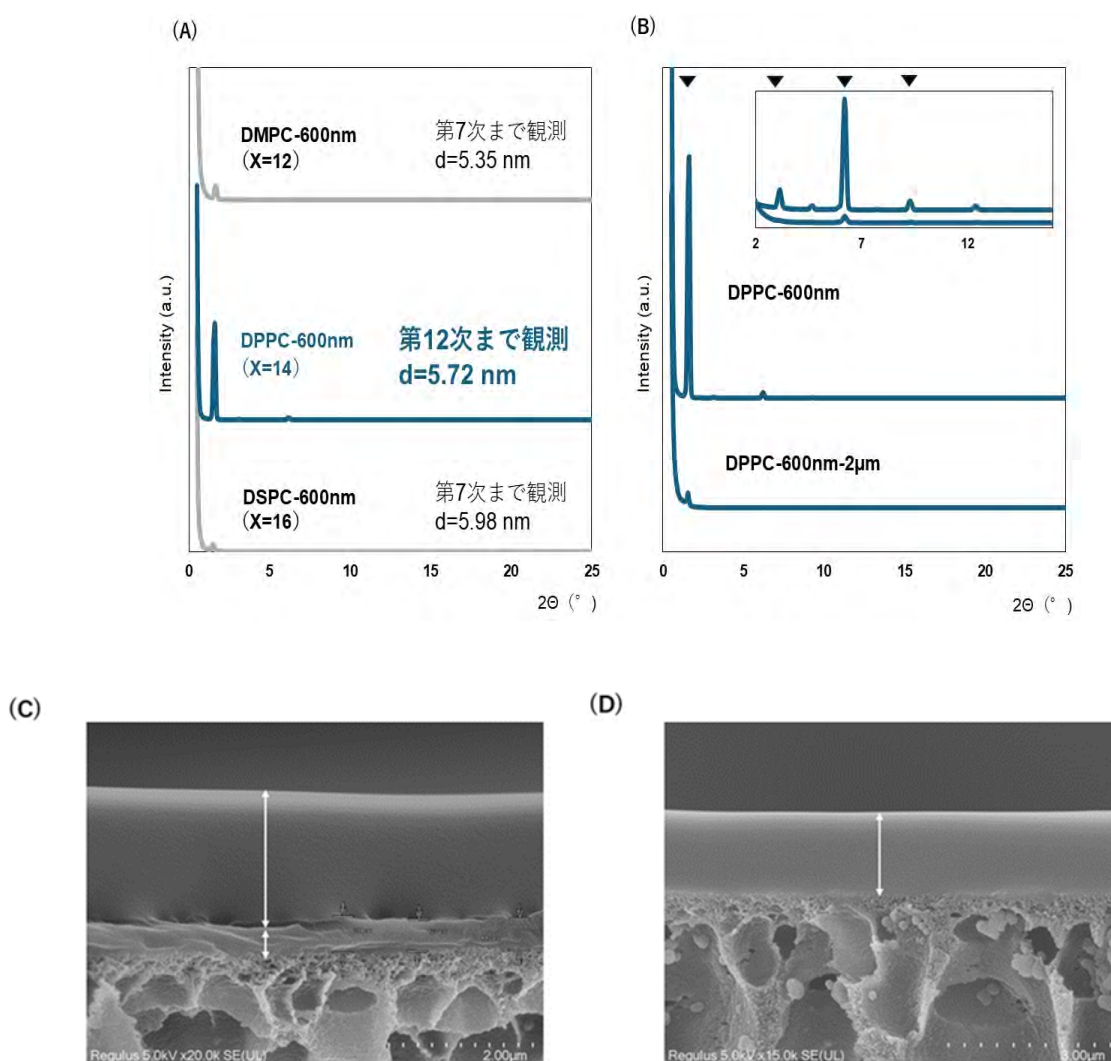


図 3. XRD 測定結果 (A)異なるリン脂質を用いた場合, (B)PDMS 膜上への転写前後
クロロホルム浸漬 (C) 前および (D) 後の PDMS-DPPC 複合膜の SEM 測定結果

3.3 PDMS-DPPC 複合膜の気体透過試験結果

高分子膜と同じ測定条件（200 kpa, 100 sccm, 室温）で、脂質複合膜（DPPC 膜厚: 55~600nm）の CO₂, N₂, H₂ 透過度を測定した。PDMS 膜の CO₂ 透過度は概ね 1800 GPU 程度であり、CO₂/N₂, CO₂/H₂ 選択性はそれぞれ 11, 5 程度と知られている。一方 DPPC を複合すると、その膜厚によらず概ね 50~150 GPU 程度の CO₂ 透過度を示した。またその選択性は、N₂ に対しては 1~2 程度、H₂ に対しては 1~1.5 程度であった。PDMS と異なる気体選択性を示したため、DPPC 層の気体透過が律速段階だと分かる。一方、55 nm よりも DPPC 層を薄膜化した場合、透過量の大幅な透過量増加が見られ、欠陥生成が疑われた。二分子膜厚を目指すには、複合化する PDMS 膜構造の最適化などが必要になると考えられる。

参考文献

- 1) Shigenori, F.; Selyanchyn, R.; Kunitake, T. *Polym. J.* **2021**, *53*, 111–119.
- 2) Rose, G. D.; Quinn, J. A. *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *27* (2), 193–207.
- 3) Li, J.; Janout, V.; Regen, S. L. *Langmuir* **2005**, *21* (5), 1676–1678.
- 4) Fujikawa, S.; Ariyoshi, M.; Selyanchyn, R.; Kunitake, T. *Chem. Lett.* **2019**, *48* (11), 1351–1354
- 5) Nielsen, M. M. B.; Simonsen, A. C. *Langmuir* **2013**, *29* (5), 1525–1532.
- 6) Sato, K.; Muraoka, T.; Kinbara, K. *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54* (19), 3700–3709.

4. まとめおよび今後の展望

200 kpa の差圧まで耐久性を持つ、リン脂質分子積層膜作製に成功した。DPPC 分子間の水量、および傾きの詳細な評価が必要である。一方、DPPC は汎用的なリン脂質であり、既に多数の実験系で合成分子チャンネルの埋め込みが報告されている。⁶⁾ 気体分離に適切なチャンネル分子設計指針が無いため、このような既存チャンネルの埋め込みが、チャンネル型分離機構の再現に向けた今後の方針となるだろう。

CHANGE & CREATION

—— チェンジ&クリエイション 2026

S.I.P

前年度
採択実績

8件

あなたのアイデアや研究で
社会変革を起こす

採択
されたら

1件につき最大
50万円助成

QREC施設
コミュニティスペースや
工房の利用

VCや起業家
からの
アドバイス

応募締切

2026年5月13日 (水) 17:00

応募資格

学部生もしくは院生

※本事業は九州大学基金の支援を受け、実施しております。
※九州大学の会計規則に沿って支給されます。現金で一括支給するわけではありません。

詳細はWEBから



CHANGE & CREATION



2026

S.I.P

Projects
Selected in the
Previous Fiscal Year

8

projects

Drive social change with your ideas and research

If
selected

Up to
500,000 yen
per project

QREC Facilities
You can use
community spaces
and workshops

You can get advice
from VCs and
entrepreneurs

Application Deadline May 13, 2026 (Wed) 5:00 PM

Eligibility Undergraduate or Graduate Students

*This program is implemented with support from the Kyushu University Fund.
*The funds will be granted in compliance with Kyushu University's accounting regulations.
It will not be provided as a lump-sum cash payment.

For details, please
check our website





九州大学
KYUSHU UNIVERSITY



REC

九州大学 ロバート・ファン/アントレプレナーシップ・センター

〒819-0395 福岡市西区元岡744 センター5号館7階

TEL : 092-802-6060 FAX : 092-802-6065

URL : <https://qrec.kyushu-u.ac.jp/>

2026年3月発行